

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

**EFFECTO DEL TIPO DE GRASA SATURADA SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES
INVOLUCRADOS EN LA RESISTENCIA A LA INSULINA**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRA EN CIENCIAS GENÓMICAS**

**PRESENTA:
DOMÍNGUEZ VELÁZQUEZ ZULEIMA NATALI**

DIRECTOR INTERNO:
DRA. LILIA LÓPEZ CÁNOVAS
[Universidad Autónoma de la Ciudad de México](#)

DIRECTOR EXTERNO:
DRA. NIMBE TORRES Y TORRES
[Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán](#)

Ciudad de México, junio 2020

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

Coordinación de Certificación y Registro

F6 AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Ciudad de México, a 25 de Junio de 2020

DOMÍNGUEZ VELÁZQUEZ ZULEIMA NATALI

Estudiante de la Maestría en Ciencias Genómicas

P r e s e n t e

En virtud, de que cuenta con los dos votos aprobatorios necesarios para presentar la réplica de sus publicaciones tituladas **Efecto del tipo de grasa saturada sobre la expresión de genes involucrados en la resistencia a la insulina**, esta Coordinación le autoriza la impresión de su trabajo final.

Por lo que deberá reproducir 5 ejemplares, de los cuales deberá **entregar 8 días hábiles antes del evento** uno a la Coordinación del posgrado, uno a cada Lector y a **esta Coordinación 2 ejemplares, así como 2 discos compactos** con la versión electrónica en formato PDF.

No omito recordarle que no hay prórroga en la entrega de materiales, ya que de ello depende la reconfirmación de fecha de examen.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

COORDINACIÓN DE CERTIFICACIÓN Y REGISTRO

INTEGRACIÓN DEL JURADO

PRESIDENTE: Dra. Elisa Azuara Liceaga

SECRETARIO: Dra. Lilia López Cánovas

VOCAL: Dra. Nimbe Torres y Torres

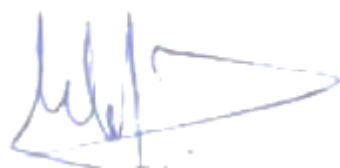
1^{ER}. SUPLENTE: Dra. Mauricio Castañón Arreola

2^{DO}. SUPLENTE: Dra. Claudia Selene Zarate Guerra

Plantel de adscripción:

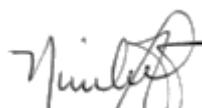
PLANTEL DEL VALLE, UACM

DIRECTOR INTERNO



DRA. LILIA LÓPEZ CÁNOVAS
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

DIRECTOR EXTERNO



DRA. NIMBE TORRES Y TORRES
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Agradecimientos

A Dios por dejar que sea obra e instrumento de su plan.

A mis padres, Leyva Rosaura Velázquez Pérez y Apolinar Domínguez Aguilar, por brindarme su apoyo incondicional, su inmenso amor y ser la fuente de mis enseñanzas. Sus sacrificios y esfuerzos hoy se ven reflejados.

A mis hermanas, Dania Guadalupe y Belinda Esmeralda por ser la luz de mis ojos, su inmenso e incondicional amor, su alegría y sus logros, porque a pesar de la distancia, siempre estuvieron ahí para mí, como amigas, compañeras y hermanas. A Dania por inyectarme siempre de energía, animarme y estar ahí siempre. A Belinda por ser esa niña increíble que amo inmensamente y aprender de ella.

A mi abuela Vicenta Pérez por ser guía y luz en mi vida y enseñarme que todo se puede con perseverancia, a todos mis tíos, primos y sobrinos de la familia Velázquez Pérez y Domínguez Aguilar por siempre estar ahí conmigo apoyándome y ser testigo de mi crecimiento personal y académico. A los que se fueron, pero que siempre estarán en mi corazón.

A Nathan Vilchis porque el ser su ejemplo me ha permitido estar aquí y estar ansiosa de que este orgullo de su madrina.

A la Sra. Patricia Jiménez por acogerme cómo una familia, quererme y apoyarme en este gran recorrido. A Mariana Pérez, Hugo Tenorio y Nicolás por divertirme tanto y ser una familia ejemplo de amor, pasión y dedicación, que me apoyaron y me quisieron cómo si fuera de la familia.

A mi hermana postiza Berenice Jiménez, por ser esa hermana mayor incondicional, por ser una gran guía, una gran asesora y siempre tener su apoyo personal y académico, por ese amor y cariño, gracias por hacerme parte de tu vida. A ti y a tu esposo Carlos Huerta gracias por ayudarme y brindarme su apoyo en este trayecto.

A mis amigas Mariana Villegas, Saraí Vázquez, Angélica Borja, Lorena Patricia por ser grandes compañeras, amigas, cómplices, tener esa paciencia de enseñarme y de ayudarme, de siempre animarme y estar conmigo. Gracias por todas sus enseñanzas y por hacerme parte de ustedes.

A Gabriela Xiomara Díaz Acero por ser una amiga incondicional, que siempre estuvo ahí en las buenas y en las malas y nunca dejo que me diera por vencida. A mis floris tan queridas: Vale Ruíz, Florinda Pérez, Karla Jiménez, Alejandra Vilchis que siempre han estado ahí apoyándome y dándome ánimos. A Diana Cristal Coutiño Hernández por venir a esta aventura conmigo y estar cuando más la necesitaba, siendo una cómplice de este logro. A mis amigas: Fernanda, Maricarmen, Perla, Yareli, Jessica, Nancy, Sonia, Yadira, Janeth, Vania por su cariño y su amistad. A mis amigos de la UACM: Enrique, Jose, Roger, Darío, Iván, Blanca, Maribel por su valiosa amistad y su cariño. A mi amigo Rigoberto Pérez y a su hermoso hijo Emiliano, porque de ti Rigo aprendí muchas cosas y eres un gran amigo que siempre creyó en mí, a mis GIPRICAS: Miriam, Yuliana, Ana Laura, Nigenda, Fátima por ser un apoyo incondicional y estar conmigo siempre apoyándome y dándome ánimos.

A mis compañeros del laboratorio qué gracias al trabajo en equipo, cada uno apporto que tuviera nuevos conocimientos y también una valiosa amistad: a los clínicos: Luis, Lili, Karlita, Rocio, Pamela; a los de aminoácidos: Ricardo, Hildita, Itzayana y a mi grupo favorito lípidos: Joshua, a mamá Rebeca Fuentes. A Ariana Vargas por ser una gran mentora, compañera y amiga. A Sandra Tobón por ayudarme y guiarme. Al Ingeniero Javier Pinto por ser un compañero, amigo y formar parte de este logro. A Renato

Suárez por divertirme tanto y ser un buen amigo. A Daniel Luna por su cariño, amistad, ayuda y darme ánimos siempre que lo necesitaba. A Jonathan Martínez por asesorarme y apoyarme en cada fase del proyecto y ser un hermano genial. A mi nueva amiga en la Ciudad Griselda Acero porque me ha apoyado en mi estadía aquí y ha sido lindo conocerla.

A los investigadores y personal del Departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMSZ, al Dr. Omar Granados, Dra. Gabriela Alemán, Dra. Lilia Noriega, Dra. Viridiana Olín, Dr. Víctor Ortiz, Dra. Adriana López, Dra. Martha Guevara, Dra. Adriana López, Dr. Edgar, al tío favorito al Dr. Iván Villalvazo, al compañero que siempre tenía una solución al QFB Guillermo Ordaz, a la que siempre me recibía con una sonrisa a la Química Irma Mata, a Griselda y a Laura, a todos ellos gracias por todo lo que hicieron por mí y la inmensa ayuda en todos los aspectos de mi vida. Al teacher Miguel Ochoa por hacer parte de mí su “make the impossible, possible”. Al Dr. Martín Velázquez por su apoyo y sus porras.

A Mónica Todd por ser parte del inicio de este logro y ser mi primera maestra, gracias por todo tu apoyo y tu guía como asesora de este proyecto, por compartir tu conocimiento y además por ser una gran amiga, compañera y compartir grandes momentos.

A mi tutora de la UACM la Dra. Lilia López Cánovas por asesorarme, guiarme y apoyarme durante el desarrollo de mi proyecto, por todas sus enseñanzas y por aceptarme y confiar en mí para el desarrollo de este proyecto. A la UACM y a toda la plantilla de investigadores del PCG por formarme académicamente, a Caty, Viviana y Danna por su ayuda incondicional y su valiosa amistad.

Al Dr. Armando Tovar por recibirme en su departamento y guiarme en el transcurso de este proyecto con sus enseñanzas, ideas y aportaciones.

A mi tutora la Dra. Nimbe Torres y Torres por integrarme a su grupo de trabajo, ser una guía, mentora y su apoyo incondicional en el desarrollo de este trabajo, gracias por todas sus enseñanzas, todo el conocimiento compartido y la confianza que deposito en mí para la realización de este trabajo.

A los miembros del comité tutor a la Dra. Elisa Azuara, el Dr. Mauricio Castañón y a la Dra. Selene Zarate, por las aportaciones y consejos que enriquecieron el trabajo durante estos años.

A esa persona que dio inicio a esta emoción de estudiar un posgrado a la Dra. Ana Cañas Urbina que, gracias a su ejemplo, dedicación y esfuerzo, sembró en mí grandes aprendizajes. A ella y a sus hijos Daniel, Renata y Sofía por hacerme parte de su familia.

Al CONACYT por otorgarme la beca de maestría.

Índice

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 13 |
| ABSTRACT | 14 |
| I. INTRODUCCIÓN | 15 |
| 1.1 Grasas y aceites | 15 |
| 1.2 Ácidos grasos | 15 |
| 1.3 Digestión y metabolismo de ácidos grasos | 20 |
| 1.4 Manteca de cerdo | 21 |
| 1.5 Aceite de coco | 22 |
| 1.6 Señalización de la insulina | 24 |
| 1.7 Endotoxemia metabólica e inflamación | 26 |
| 1.9 Tejido adiposo | 27 |
| 1.9.1 Disfunción del tejido adiposo | 29 |
| 1.10 Azúcares en la dieta | 30 |
| II. ANTECEDENTES PARTICULARES | 31 |
| III. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN | 46 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 46 |
| V. HIPÓTESIS | 46 |
| VI. OBJETIVOS | 47 |
| 6.1 General | 47 |
| 6.2 Objetivos específicos | 47 |
| VII. Estrategia Experimental | 48 |
| VIII. METODOLOGÍA | 49 |
| 8.1 Animales y grupos de experimentación | 49 |
| 8.2 Determinación del coeficiente respiratorio | 50 |
| 8.3 Tolerancia a la glucosa | 51 |
| 8.4 Determinación de parámetros bioquímicos | 51 |
| 8.5 Evaluación de genes involucrados en el metabolismo de glucosa | 51 |
| 8.5.1 Extracción de RNA | 51 |
| 8.5.2 Cuantificación del RNA y obtención del cDNA | 52 |
| 8.5.3 Expresión génica por <i>RT-qPCR</i> | 52 |

| | |
|---|-----|
| 8.6 Abundancia de proteínas involucradas en el metabolismo de glucosa, inflamación y metabolismo de lípidos. | 53 |
| 8.6.1 Extracción de proteínas | 53 |
| 8.6.2 Western blot | 53 |
| 8.7 Análisis histológico..... | 54 |
| 8.8 Extracción de triglicéridos y colesterol en tejido hepático | 55 |
| 8.9 Análisis estadístico | 55 |
| IX. Resultados..... | 56 |
| 9.1 Curva de crecimiento e ingesta de alimento | 56 |
| 9.2 Composición corporal | 56 |
| 9.3 Curva de tolerancia a la glucosa..... | 59 |
| 8.4 Parámetros bioquímicos séricos en ayuno | 59 |
| 9.5 Evaluación del gasto calórico y coeficiente respiratorio..... | 63 |
| 9.5.1 Coeficiente de intercambio respiratorio (RER) | 63 |
| 6.5.2 Volumen de oxígeno..... | 63 |
| 9.6 Endotoxemia metabólica..... | 65 |
| 9.7.1 Evaluación del transportador de glucosa (GLUT4), adiponectina y leptina en tejido adiposo | 66 |
| 9.7.2 Abundancia de proteínas involucradas en la señalización de la insulina en tejido adiposo | 66 |
| 9.8 Marcadores de inflamación en el tejido adiposo | 70 |
| 8.9 Tamaño de los adipocitos | 73 |
| 8.10 Señalización de insulina en músculo | 75 |
| 8.11 Síntesis de triglicéridos en tejido adiposo e hígado | 77 |
| X. Discusión | 80 |
| XI. Conclusiones | 87 |
| XII. Perspectivas | 88 |
| XIII. Referencias..... | 89 |
| ANEXO I. | 100 |

Índice de tablas

| | |
|---|-----------|
| Tabla 1. Ácidos grasos más comunes en los sistemas biológicos..... | 17 |
| Tabla 2. Parámetros bioquímicos. | 62 |

Índice de figuras

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Componentes de las grasas y aceites..... | 16 |
| Figura 2. Cambios metabólicos producidos por diferentes tipos de ácidos grasos..... | 19 |
| Figura 3. Metabolismo de los ácidos grasos..... | 20 |
| Figura 4. Vías de absorción de los ácidos grasos con respecto a la longitud de la cadena..... | 21 |
| Figura 5. Perfil de ácidos grasos de la manteca de cerdo y el aceite de coco... | 23 |
| Figura 6. Vías de señalización de la insulina..... | 25 |
| Figura 7. Esquema de las cascadas de señalización TLR4..... | 28 |
| Figura 8. Hipertrofia del adipocito y características asociadas..... | 30 |
| Figura 9. Metabolismo de los ácidos grasos de cadena media (MCFA) y de cadena larga (LCFA) en el hígado y la mitocondria..... | 33 |
| Figura 10. Metabolismo del ácido láurico en hígado..... | 34 |
| Figura 11. Translocación de LPS del intestino al torrente sanguíneo..... | 38 |
| Figura 12. Activación de TLR4 inducido por LPS..... | 39 |
| Figura 13. Disfunción del tejido adiposo..... | 42 |
| Figura 14. Señalización autocrina en el adipocito..... | 44 |
| Figura 15. Grupos de estudio..... | 49 |
| Figura 16. Curva de crecimiento de peso corporal y consumo de alimento..... | 57 |
| Figura 17. Composición corporal..... | 58 |
| Figura 18. Tolerancia oral a la glucosa..... | 60 |
| Figura 19. Coeficiente de intercambio respiratorio y tasa de oxígeno consumido mediante calorimetría indirecta..... | 64 |
| Figura 20. Concentración de LPS en circulación..... | 65 |
| Figura 21. Cuantificación relativa de la expresión del transportador de glucosa..... | 67 |
| Figura 22. Abundancia relativa de proteínas involucradas en la vía de señalización de insulina en el tejido adiposo retroperitoneal..... | 69 |

| | |
|--|----|
| Figura 23. Cuantificación relativa de la expresión del receptor tipo toll tipo 4 (TLR4) y el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNFα) en tejido adiposo retroperitoneal. | 71 |
| Figura 24. Abundancia relativa de proteínas y expresión génica de marcadores de inflamación en tejido adiposo blanco. | 72 |
| Figura 25. Morfología y tamaño de los adipocitos del tejido adiposo retroperitoneal. | 74 |
| Figura 26. Abundancia relativa de proteínas involucradas en la vía de señalización de insulina en músculo esquelético. | 76 |
| Figura 27. Cuantificación de la expresión relativa del gen que codifica para el receptor del sustrato de insulina (IRS) en músculo de ratas Wistar. | 77 |
| Figura 28. Cuantificación de triglicérido y colesterol hepáticos de ratas Wistar. | 78 |
| Figura 29. Abundancia relativa de la proteína AGPAT en tejido adiposo e hígado de ratas Wistar. | 79 |
| Figure 30. Alteraciones metabólicas producidas por el consumo de manteca de cerdo o aceite de coco | 86 |

Abreviaturas

| | |
|---------------|--|
| ABC | área bajo la curva |
| ACC | carboxilasa de acetil CoA |
| AG | ácidos grasos |
| AGCC | ácidos grasos de cadena corta |
| AGCL | ácidos grasos de cadena larga |
| AGCM | ácidos grasos de cadena media |
| AGIs | ácidos grasos insaturados |
| AGL | ácidos grasos libres |
| AGMIs | ácidos grasos monoinsaturados |
| AGPIs | ácidos grasos poliinsaturados |
| AGSSs | ácidos grasos saturados |
| AKT | proteína cinasa B |
| AL | ácido linoleico |
| ALN | ácido alfa linolénico |
| ATP | adenosín trifosfato |
| COX2 | ciclooxigenasa 2 |
| CPT1 | Carnitina palmitoiltransferasa I |
| DAG | dieta alta en grasa |
| DMT2 | diabetes mellitus tipo 2 |
| ELISA | ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas |
| FABP | proteína de unión a ácidos grasos |
| FAS | ácido graso sintasa |
| GLP-1 | péptido similar al glucagón-1 |
| GLUT4 | transportador de glucosa tipo 4 |
| HbA1c | hemoglobina A1c |
| HDL | lipoproteínas de alta densidad |
| IL | interleucina |
| IMC | índice de masa corporal |
| INCMSZ | Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán |
| iNOS | sintasa inducible por óxido nítrico |
| IR | receptor de insulina |
| IRS | sustrato del receptor de insulina |
| JNK | cinasa N-terminal |
| LBP | proteína de unión a lipopolisacárido |
| LDL | lipoproteína de baja densidad |
| LPS | lipopolisacárido |
| MAPK | quinasas activadas por mitógeno |
| MD-2 | proteína de diferenciación mieloide 2 |
| NAFLD | enfermedad del hígado graso no alcohólico |
| NF κ β | factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas |

| | |
|-----------------------|--|
| PAI-1 | inhibidor activador del plasminógeno |
| PI3K | fosfatidilinositol-3-cinasa |
| PPAR | receptor activado por proliferadores de peroxisomas |
| pT896 ^{IRS1} | fosforilación de IRS-1 en la tirosina 896 |
| RT-qPCR | reacción de la cadena de la polimerasa en tiempo real |
| SREBP | proteína de unión a elementos regulatorios de esteroides |
| TA | tejido adiposo |
| TAB | tejido adiposo blanco |
| TABe | tejido adiposo beige |
| TAP | tejido adiposo pardo |
| TCM | triglicéridos con ácidos grasos de cadena media |
| TLR | receptores tipo toll |
| TLR4 | receptores tipo toll tipo 4 |
| TNF α | factor de necrosis tumoral alfa |
| VLDL | lipoproteína de muy baja densidad |

RESUMEN

El consumo de una dieta alta en grasa saturada y azúcares sencillos se han relacionado con el desarrollo de obesidad. Se ha estudiado el efecto de la manteca como fuente de grasa saturada, sin embargo, en los últimos años se ha recomendado el consumo del aceite de coco pese a contener 90% de ácidos grasos saturados. El efecto benéfico del aceite de coco ha sido atribuido a su contenido de ácidos grasos de cadena media. Por otro lado, no se sabe si es la grasa saturada, el consumo de azúcares o ambos los que favorecen el desarrollo de obesidad. Teniendo este antecedente, se evaluó en ratas machos Wistar el efecto de dos dietas altas en grasas saturadas, una de origen vegetal como es el aceite de coco y otra de origen animal como lo es la manteca de cerdo y la combinación de estas grasas con la sacarosa sobre el peso corporal, composición corporal, ingesta calórica, gasto energético, tolerancia a la glucosa, tamaño de los adipocitos, parámetros bioquímicos, inflamación de bajo grado mediada por el lipopolisacárido (LPS) y cascada de la señalización de insulina mediada por TLRs, en tejido adiposo, músculo e hígado. Se encontró que el consumo de manteca de cerdo indujo endotoxemia metabólica con un incremento en los niveles de LPS séricos 80 veces mayor que el grupo control ($p < 0.005$), además de producir hiperinsulinemia, hiperleptinemia, intolerancia a la glucosa, hipertrofia de los adipocitos, alteración en la vía de señalización de la insulina e incremento en la abundancia de la 1-acilglicerol-3-fosfato-O-aciltransferasa en el tejido adiposo. El consumo de aceite de coco además de producir endotoxemia metabólica, alteración en la vía de señalización de la insulina en el tejido adiposo y músculo, incremento el colesterol LDL, la concentración de triglicéridos en hígado y una disminución de la expresión de IRS en músculo. Finalmente, se encontró que la sacarosa tuvo un efecto similar a ambas grasas y que todas las alteraciones se vieron potenciadas por la combinación de una dieta alta en grasa saturada con sacarosa.

ABSTRACT

Consumption of a diet high in saturated fat and simple sugars has been associated with the development of obesity. The effect of lard as a source of saturated fat has been studied, however, in recent years' consumption of coconut oil has been recommended despite their 90% saturated fatty acids content. The beneficial effect of coconut oil is attributed to its medium chain fatty acid content. It is not known whether the consumption of saturated fat, sugar or both promotes the development of obesity. Regarding this precedent, the effect of two high saturated fat diets, one from vegetable origin such as coconut oil and another from animal origin such as lard, as well as the combination of these fats with sucrose were tested in male Wistar rats. In this study body weight, body composition, calorie intake, energy expenditure, glucose tolerance, adipocyte size, biochemical parameters, lipopolysaccharide-mediated low-grade inflammation (LPS), Tlrs-mediated insulin signaling cascade in adipose tissue, muscle and liver were all evaluated. It was found that the consumption of lard induces metabolic endotoxemia, since there is an increase in the levels of LPS, 80 times greater than the control group ($p < 0.005$), in addition hyperinsulinemia, hyperleptinemia, glucose intolerance, adipocyte hypertrophy, altered insulin signaling pathway and increased abundance of 1-acylglycerol-3-phosphate-O-acyltransferase in adipose tissue were observed. The consumption of coconut oil, besides to producing metabolic endotoxemia and impaired insulin signaling pathways in adipose tissue and muscle, also increased LDL cholesterol and triglycerides in the liver and decreased expression of IRS in muscle. Finally, it was found that sucrose has a similar effect when compared to both fats and that all alterations were maximized by the combination of a high saturated fat and sucrose diet.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Grasas y aceites

Los lípidos provenientes de la dieta tienen diferentes funciones celulares: son fuentes de energía y reserva, poseen un rol estructural al formar parte de las membranas biológicas, regulan la permeabilidad en la membrana, son precursores de ácidos biliares, prostaglandinas, eicosanoides, participan en la mielinización, en vías de señalización, regulan la expresión de algunos genes y son componentes de diferentes proteínas. En los seres humanos, se recomienda que en la dieta debe consumirse del 25% al 35% (56-78 g) de lípidos (FAO, 2010). Los principales lípidos de la dieta son las grasas y aceites (Bordonada, 2007; Fahy *et al.*, 2012). Las grasas y aceites son una mezcla de triglicéridos (95%-98%) y otros componentes menores (~5%) (Li, Fabiano-Tixier and Chemat, 2017), estos pueden ser divididos en dos tipos: glicerolípidos (mono y diglicéridos, fosfolípidos) y no glicerolípidos (esterol, tocoferol/tocotrienoles, ácidos grasos libres, vitaminas, pigmentos, proteínas, componentes fenólicos, entre otros) (**FIGURA 1**). Una grasa es definida como una mezcla de triglicéridos que es sólida a temperatura ambiente (~20°C), mientras que el aceite es líquido. Las grasas que contienen una gran proporción de ácidos grasos saturados son sólidas a temperatura ambiente y se conocen como grasas saturadas. Estas grasas son generalmente de origen animal como la manteca, el sebo y la mantequilla. Por el contrario, la mayoría de las grasas vegetales son ricas en ácidos grasos poliinsaturados o monoinsaturados y generalmente son líquidas a temperatura ambiente, excepto las grasas de palma y coco que tienen un alto contenido de grasa saturada (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005).

1.2 Ácidos grasos

Los ácidos grasos (AG) tienen funciones importantes en el cuerpo humano: forman parte integral de los fosfolípidos en las membranas celulares, son una fuente primaria de energía, algunos son esenciales y requeridos para la síntesis de eicosanoides y docosanoides (de 20 y 22 átomos de carbono, respectivamente), y algunos actúan como segundos mensajeros y reguladores de la expresión de genes (*ppars*, *rxr*, *lxrs*, *rar*, entre otros) (Zúñiga *et al.*, 2011; Valenzuela y Valenzuela, 2013). Los tipos más comunes de ácidos grasos biológicos se enumeran en la **TABLA 1**.

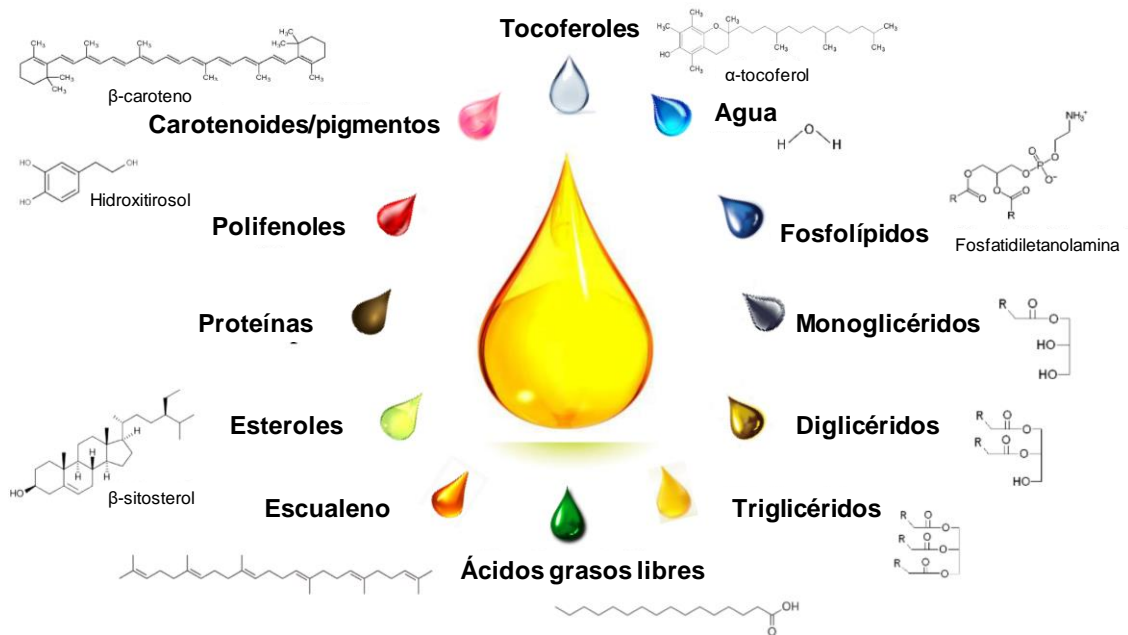


Figura 1. Componentes de las grasas y aceites. Los triglicéridos son los principales componentes de los aceites y grasas (95-98%), además de los triglicéridos, la presencia de componentes menores (diglicéridos y no diglicéridos) atribuye a las grasas y aceites propiedades biológicas y valores nutricionales. Tomado de Li Y, *et al.* (2017).

Los AG se clasifican de acuerdo al grado de saturación en saturados (AGSSs) o insaturados (AGIs). Los AGSs se caracterizan por tener una cadena hidrocarbonada con enlaces sencillos. Los AGIs contienen dobles enlaces y se dividen en: monoinsaturados (AGMIs) con un solo doble enlace y poliinsaturados (AGPIs) con más de dos. Además del grado de saturación, los AG pueden clasificarse de acuerdo a la longitud de la cadena: AG de cadena corta (AGCC; C2-C6); de cadena media (AGCM; C7-C12); de cadena larga (AGCL; C13-C22) y de cadena muy larga (AGCML; mayor a C22). Se ha asociado que el perfil de ácidos grasos presentes en una dieta también puede estar involucrado en el desarrollo de obesidad (Roger and Calder, 2018). Aunque la magnitud de los efectos de los AG puede variar dependiendo del perfil específico de AG y de la susceptibilidad individual, si existe evidencia científica que señala que la ingesta de AGSs propician un aumento en los niveles de colesterol total (DiNicolantonio, Lucan and O'Keefe, 2016). Debido a que se ha relacionado el consumo de AGSs con enfermedades cardiovasculares, diferentes recomendaciones han sido propuestas (AGSs <10%), como la reducción de alimentos con alto contenido de AGSs y un incremento en el consumo de AGMIs y AGPIs, que están asociados

con protección cardiovascular (Timmers *et al.*, 2011; Figueiredo *et al.*, 2017; Palomer *et al.*, 2017).

Tabla 1. Ácidos grasos más comunes en los sistemas biológicos.

| Símbolo ^a | Nombre común | Nombre sistemático | Estructura | PF (°C) |
|----------------------|--------------------|---------------------------------------|---|---------|
| 12:0 | Ácido láurico | Ácido dodecanoico | CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH | 44.2 |
| 14:0 | Ácido mirístico | Ácido tetradecanoico | CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH | 52.0 |
| 16:0 | Ácido palmítico | Ácido hexadecanoico | CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH | 63.1 |
| 18:0 | Ácido esteárico | Ácido octadecanoico | CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH | 69.6 |
| 20:0 | Ácido araquídico | Ácido eicosanoico | CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH | 75.4 |
| 22:0 | Ácido behénico | Ácido docosanoico | CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH | 81.0 |
| 24:0 | Ácido lignocérico | Ácido tetracosanoico | CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH | 84.2 |
| 16:1n-7 | Ácido palmitoleico | Ácido 9-Hexadecenoico | CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH | -0.5 |
| 18:1n-9 | Ácido oleico | Ácido 9-Octadecenoico | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH | 13.4 |
| 18:2n-6 | Ácido linoleico | Ácido 9,12-Octadecadienoico | CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₂ (CH ₂) ₆ COOH | -9.0 |
| 18:3n-3 | Ácido α-linoleico | Ácido 9,12,15-Octadecatrienoico | CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₆ COOH | -17.0 |
| 18:3n-6 | Ácido γ-linolenico | Ácido 6,9,12-Octadecatrienoico | CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₃ COOH | |
| 20:4n-4 | Ácido araquidónico | Ácido 5,8,11,14-Eicosatetraenoico | CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₂ COOH | -49.5 |
| 20:5n-4 | EPA | Ácido 5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico | CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₅ (CH ₂) ₂ COOH | -54.0 |
| 22:6n-4 | DHA | Ácido 4,7,10,13,16,19-Docosahexenoico | CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₆ CH ₂ COOH | |
| 24:1n-4 | Ácido nervónico | Ácido 15-Tetracosenoico | CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₃ COOH | 39.0 |

^aNúmero de átomos de carbono: número de dobles enlaces. Para los ácidos grasos insaturados, n es el número de átomos de carbono, n-x es el átomo de carbono con el doble enlace. PF: Punto de fusión. Tomado de López-Salazar. (2016)

El consumo de diferentes AG puede a su vez inducir diferentes cambios metabólicos (Figueiredo *et al.*, 2017) (FIGURA 2). La ingesta de AGSs, principalmente cuando se consume una dieta alta en grasa (DAG) induce la activación de una respuesta inflamatoria, mediada por la infiltración de células del sistema inmune y la producción de macrófagos con un fenotipo M1 (proinflamatorio), que tienen la característica de producir citocinas proinflamatorias. Se ha reportado que los macrófagos corresponden a ~40% del total de células del tejido adiposo blanco en ratones y humanos que tienen obesidad, con respecto al 18% de los controles (Lumeng *et al.*, 2007; Rogero and Calder, 2018). Este proceso de inflamación está relacionado con la microbiota intestinal, que también promueve la expresión de citocinas proinflamatorias y la liberación de endotoxinas. Por otra parte, los AGMIs y AGPIs son considerados benéficos al inducir una disminución en la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática. Existen dos AGPIs que el organismo no puede sintetizar, el ácido linoleico

(AL) y el ácido alfa linoléico (ALN), estos ácidos grasos pertenecen a la familia n-6 y n-3 y son considerados AG esenciales, debido a que los mamíferos carecen de las enzimas necesarias para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono que están más allá del carbono 9 a partir del carboxilo terminal (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005). El AL es un precursor del ácido araquidónico (C20:4n-6), que a su vez es un precursor de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. La ingesta de AGPIs puede modular la expresión de genes involucrados en la inflamación (Marion-Letellier, Savoye and Ghosh, 2015). La proteína de unión a elementos regulatorios de esteroides (SREBP) forma parte de una familia de factores de transcripción formada por tres miembros SREBP-1a, 1c y 2. SREBP-1 se traslada al núcleo y activa la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos. Actualmente se han propuesto diferentes mecanismos por los cuales los AGPIs regulan la lipogénesis a través de SREBP-1. El primero sugiere que los AGPIs reducen la forma nuclear activa de SREBP-1 en ratas, segundo, los AGPIs disminuyen la estabilidad del mensajero de SREBP-1 y tercero suprimen la expresión del RNAm de SREBP-1, por lo que, una dieta alta en AGPIs disminuirá la lipogénesis (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2005). El receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR) pertenece a la familia de factores de transcripción involucrados en la regulación de la homeostasis de los lípidos. Existen 3 isoformas de PPARs (α , δ y γ). Los AGPIs se unen con mayor afinidad a PPAR α . La activación de los PPARs por los AGPIs genera efectos benéficos ya que se aumenta la oxidación de ácidos grasos, que inducirá una disminución de triglicéridos. Por otro lado, se ha reportado que el ácido oleico que es un AGMI activa mecanismos que previenen la alteración inducida por el ácido palmítico, y que este efecto es dependiente de la activación de AMPK (proteína quinasa activada por AMP), un sensor metabólico que también modula la inflamación (Palomer *et al.*, 2017).

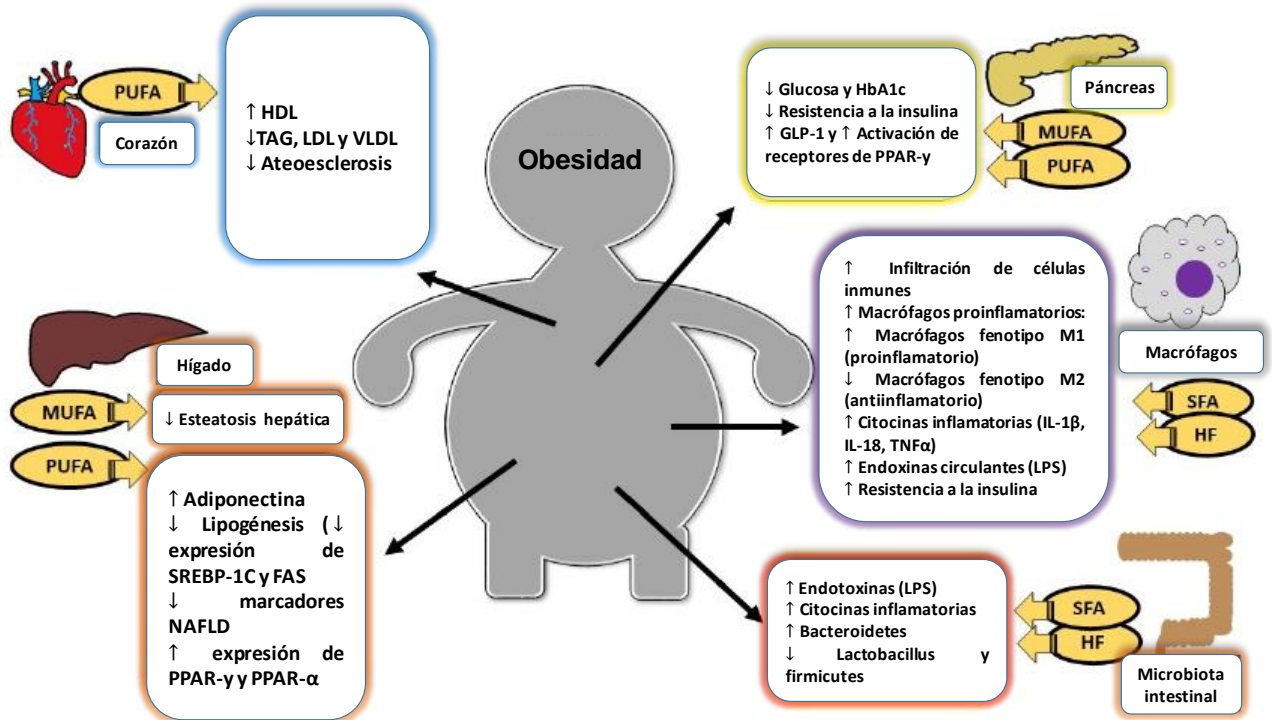


Figura 2. Cambios metabólicos producidos por diferentes tipos de ácidos grasos. Una dieta con alto contenido en ácidos grasos saturados (SFA) y una dieta alta en grasa (HF), modulan procesos inflamatorios, provocando la infiltración de macrófagos con un fenotipo M1 considerado proinflamatorio, promoviendo la expresión de citocinas proinflamatorias y el incremento de endotoxinas en circulación. Este proceso inflamatorio está relacionado con la microbiota intestinal, que también promueve la liberación de endotoxinas, producción de citocinas proinflamatorias, así como variaciones en la proporción de bacterias presentes. La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y monoinsaturados (MUFA) está relacionada con un aumento de adiponectina y citocinas antiinflamatorias, que promueven un beneficio metabólico hepático, se incrementan los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), reduciendo así el riesgo de aterosclerosis. Lipoproteína de baja densidad (LDL); lipoproteína de muy baja densidad (VLDL); péptido similar al glucagón-1 (GLP-1); Receptores activados por proliferadores peroxisomales alfa (PPAR α); gamma (PPAR- γ); unión a elementos reguladores de esteroides (SREBP); ácido graso sintasa (FAS), enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); hemoglobina A1c (HbA1c); Interleucina (IL); factor de necrosis tumoral alfa (TNF α); Lipopolisacárido (LPS). Modificado de Figueiredo PS, *et al.* (2017).

1.3 Digestión y metabolismo de ácidos grasos

La absorción de la grasa incluye una serie de pasos: emulsificación mecánica en el estómago, degradación lipolítica por las lipasas generando ácidos grasos, fosfolípidos y ésteres de colesterol; solubilización con sales biliares primarias (ácido quenodesoxicólico y ácido cólico) en el duodeno y, finalmente, absorción en las células epiteliales o enterocitos que recubren la superficie luminal del intestino. Los lípidos se unen a proteínas para sintetizar a los quilomicrones, la lipasa de lipoproteínas, que se encuentra en la pared interior de los capilares sanguíneos, hidroliza los triglicéridos, liberando ácidos grasos. Los ácidos grasos libres (AGL) son transportados por unión con la albumina o como parte de las lipoproteínas. Adentro de la célula los AGL también requieren de una proteína para su transporte a la proteína de unión a ácidos grasos (FABP). Los AGL son activados (acil-CoA) después pueden ser metabolizados por β oxidación en la mitocondria o los peroxisomas o enviados al retículo endoplásmico para la esterificación de diferentes tipos de lípidos (FIGURA 3).

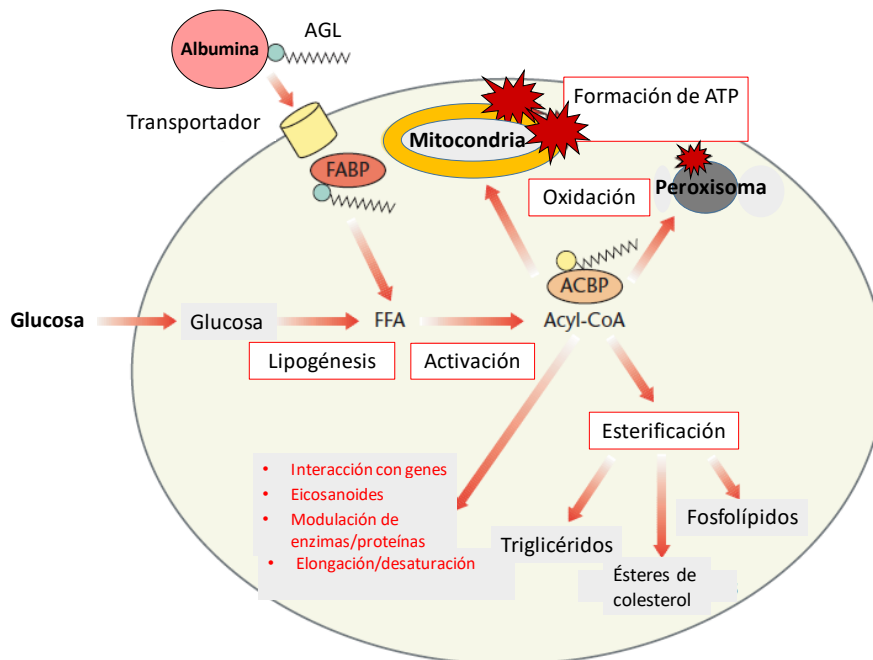


Figura 3. Metabolismo de los ácidos grasos. Los ácidos grasos libres son activados para su transporte a la mitocondria o peroxisoma para su β oxidación o al retículo endoplásmico para la esterificación de diferentes lípidos. La glucosa puede transformarse a ácidos grasos si existen concentraciones elevadas de glucosa. Tomado de Rustan, *et al.* (2005).

La longitud de la cadena también afecta la manera en que se transportan los AG (FIGURA 4). los AGCM se transportan al hígado vía vena porta, donde se oxidan rápidamente, debido a que son independientes de la acción de la enzima transportadora de ácidos grasos en la mitocondria (CPT1) (Bosch *et al.*, 2011; Mccarty and Dinicolantonio, 2016). Los AGCL son re esterificados a triglicéridos en los enterocitos, se incorporan a los quilomicrones y entran al sistema linfático.

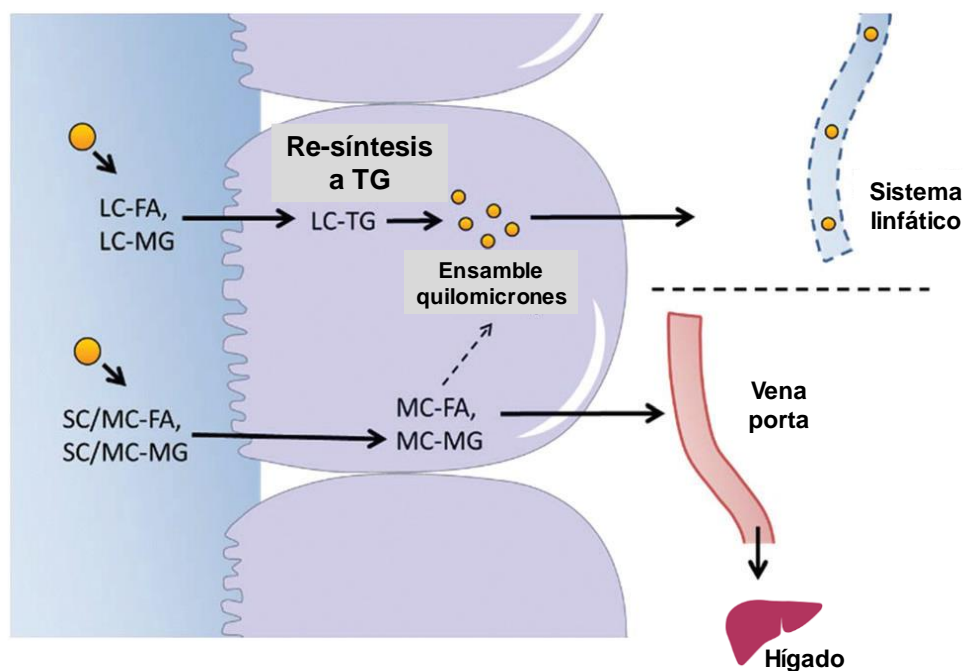


Figura 4. Vías de absorción de los ácidos grasos con respecto a la longitud de la cadena. Los MC-FA y SC-FA son absorbidos directamente a través de la vena porta y su rápido transporte al hígado permite su β -oxidación o transformación a cuerpos cetónicos. Modificado de Acquistapace, S. *et al.* (2019). MC-FA: ácidos grasos de cadena media; SC-FA: de cadena corta; LC-FA: de cadena larga.

1.4 Manteca de cerdo

La manteca de cerdo es aquella grasa que proviene de la espalda del cerdo, es una grasa blanda, insípida, inodora, de consistencia viscosa y textura granulosa, se obtiene por diferentes procedimientos, tales como: proceso en seco, proceso húmedo y proceso húmedo en autoclave (Fundación Española de Nutrición, 2018). La manteca de cerdo es un ingrediente utilizado en la cocina de los mexicanos, para cocinar y/o potenciar los sabores de los alimentos. Uno de los alimentos más consumidos por la población mexicana son los tamales, dentro de sus ingredientes se encuentra la

manteca de cerdo que es necesaria para obtener la textura deseada. Varios estudios en modelos animales han mostrado que el consumo de manteca de cerdo puede inducir alteraciones en el peso corporal, en las concentraciones de triglicéridos en circulación e hígado y en el desarrollo de hígado graso (Baum *et al.*, 2012; Karimi, 2012; Rosas-Villegas *et al.*, 2017; Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Sin embargo, aún no se comprende del todo bien sus efectos, debido a que en proporción, predomina el ácido oleico (47%) que es AGMI y su contenido de AGSs es de 41% (FIGURA 5A), principalmente el ácido palmítico (27%) y el ácido esteárico (12.5%) que son AGCL (FIGURA 5B), además, la manteca de cerdo contiene en su composición 95 mg de colesterol por cada 100 g de grasa (ISEO, 2016; USDA, 2018a), por lo que sus efectos sobre las alteraciones metabólicas podría estar influenciado por su perfil de AG.

1.5 Aceite de coco

El coco es el fruto del *Cocus nucifera* (familia *Arecaceae*) un árbol originario de Asia. Uno de los usos más conocidos es la obtención de aceite, la pulpa del coco seco o copra contiene más de 60% de aceite que puede ser extraído (Dasilva *et al.*, 2017). El aceite de coco de la copra se produce al triturar la pulpa de cocos secos, luego pasa por un proceso de refinación, blanqueado y desodorizado. El uso del aceite de coco como aceite para cocinar o como producto cosmético se ha popularizado en los últimos años, debido a que distintos estudios proponen que su consumo tiene efectos benéficos, debido a la estructura de los AG que lo componen (Boateng *et al.*, 2016; Wallace, 2019). México se posiciona en el octavo lugar en el mundo por el consumo de aceite de coco, debido a que se ha aumentado el consumo de 100 toneladas métricas por año en 1990 a 139 toneladas métricas por año en el 2019 (Index Mundi, . El aceite de coco está compuesto principalmente de AGSs (91%) (FIGURA 5A). De estos AGSs, los ácidos grasos principales son ácido láurico (C12:0), mirístico (C14:0) caprílico (C8:0). El ácido láurico representa más del 50% de los AGSs en el aceite de coco (FIGURA 5B). El ácido láurico se puede clasificar como un AGCM o un AGCL, algunos estudios señalan que se comporta más como un AGCL (Denke and Grundy, 1992), mientras que otros mencionan que al ser un AGCM permite tener efectos benéficos sobre la salud, como pérdida de peso, prevención de enfermedades cardiovasculares y metabólicas (Clegg, 2017; Sankararaman and Sferra, 2018; Wallace, 2019).

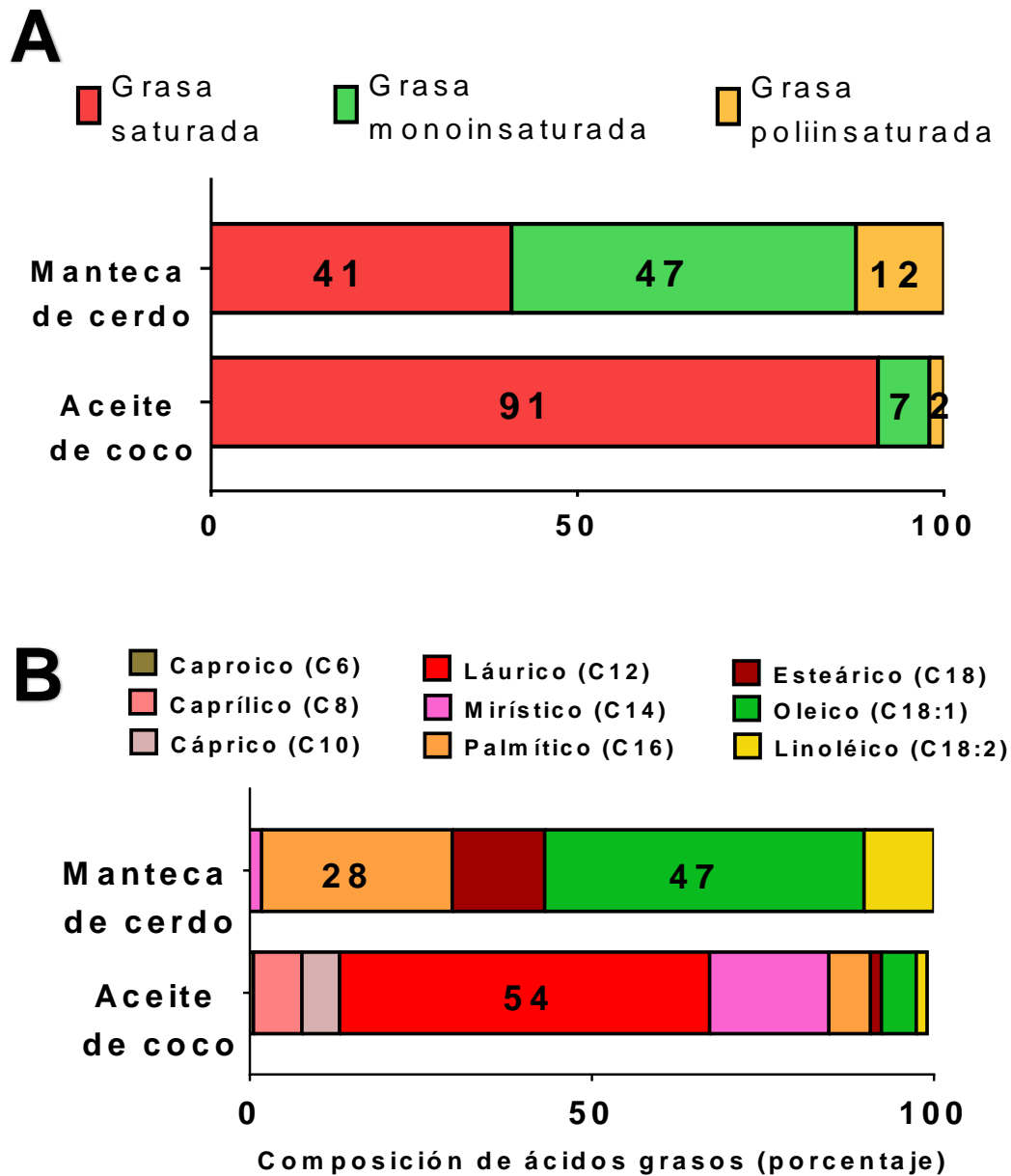


Figura 5. Perfil de ácidos grasos de la manteca de cerdo y el aceite de coco. Composición de ácidos grasos de la manteca de cerdo y el aceite de coco por su grado de saturación (A) y por la longitud de la cadena (B) (%/100g). Modificado de USDA (2015).

1.6 Señalización de la insulina

La resistencia a la insulina es una condición en la cual las células ya no responden apropiadamente a la acción de la insulina en circulación, a nivel celular, el sustrato del receptor de insulina (IRS) se fosforila en un residuo de serina lo cual genera una disminución en su actividad, reduciendo así la sensibilidad de la insulina (Sears and Perry, 2015). Después del consumo de hidratos de carbono o grasa, se activa la secreción de insulina para mantener las concentraciones de glucosa dentro de los valores normales. La insulina actúa a través del reconocimiento de receptores de insulina en el tejido adiposo (TA), hígado, músculo esquelético y endotelio (Gutiérrez-Rodelo, *et al.*, 2017). El receptor de insulina (IR) es una glucoproteína de membrana heterotetramérica que consiste en dos subunidades α y dos β . La insulina se une a la subunidad α extracelular del receptor e induce un cambio conformacional que promueve la unión de adenosín trifosfato (ATP) para autofosforilar el dominio intracelular de la subunidad β , que tiene actividad intrínseca de tirosina cinasa. Los residuos de tirosina son autofosforilados y reconocidos por diferentes proteínas adaptadoras, entre las que se incluye el IRS, de los cuales IRS-1 e IRS-2 constituyen los dos principales sustratos (Shengli and Pauline, 2011).

La señalización de la insulina activa dos vías principales (**FIGURA 2**): la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa/proteína cinasa B (PI3K/Akt) y la vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), que regula la expresión génica asociados a la insulina. En la vía de PI3K/Akt, la activación de Akt desempeña un papel importante en las acciones metabólicas, incluyendo la incorporación de glucosa en el músculo y el TA a través de la translocación de un transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) de compartimentos intracelulares a la membrana celular, que aumenta la captación de glucosa en la célula (Cohen and Spiegelman, 2016).

El consumo de una DAG se ha asociado al desarrollo de resistencia a la insulina por algunos mecanismos moleculares: a) Incremento en la síntesis de complejos lipídicos; b) alteración en la función de organelos celulares y c) inflamación mediada por los receptores tipo toll (TLR) (Palomer *et al.*, 2018). Primero, la ingesta de una DAG genera una acumulación de lípidos en el TA, cuando el TA es incapaz de almacenar estos

lípidos da lugar a una deposición ectópica de lípidos a hígado, músculo, corazón, islotes pancreáticos.

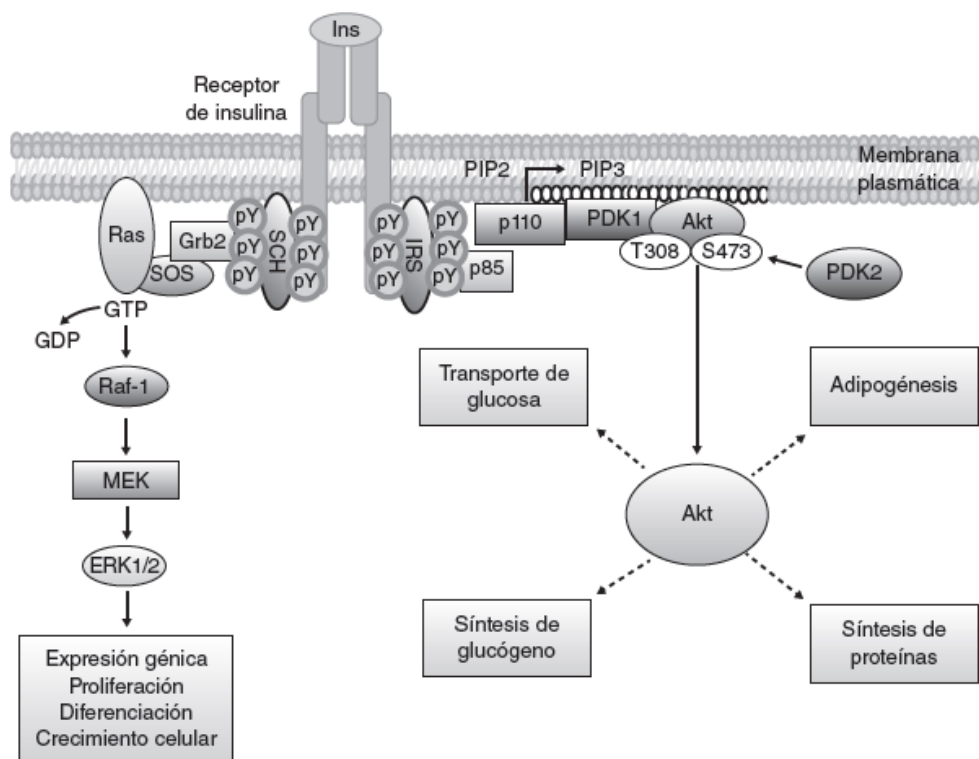


Figura 6. Vías de señalización de la insulina. Al interaccionar la insulina con su receptor, este recluta y fosforila principalmente dos proteínas adaptadoras: sustrato del receptor de insulina (IRS), el principal mediador de las acciones metabólicas de la insulina, y proteína quinasa activadas por mitógenos (MEK/ERK), que media las acciones de proliferación y crecimiento celular. Tomado de Gutiérrez-Rodelo, *et al.* (2017).

La deposición ectópica de lípidos promueve disfunción celular metabólica (lipotoxicidad) (Torres, Torre-Villalvazo and R Tovar, 2006) y muerte celular programada (lipoapoptosis) (Palomer *et al.*, 2018). El exceso de lípidos puede ser convertido en complejos derivados de lípidos como los diacilgliceroles y ceramidas. El incremento en las concentraciones de diacilgliceroles atenúa la vía de señalización de la insulina al fosforilar en residuos de serina a IRS-1 (Perry *et al.*, 2014), mientras que el incremento en la síntesis de ceramidas induce la desfosforilación e inactivación de AKT. Segundo, el incremento en la acumulación de lípidos causa desregulación en el retículo endoplásmico, esto resulta en un proceso conocido como estrés del retículo

endoplásmico, la activación de esta vía puede inducir la activación de vías proinflamatorias (Palomer *et al.*, 2018). Por último, la grasa saturada puede activar rutas proinflamatorias a través de receptores de membrana como TLR4, un receptor que reconoce componentes bacterianos, en el que se incluye el lipopolisacárido (LPS). Una vez activado, TLR4 promueve la activación de citocinas proinflamatorias (Daira *et al.*, 2012).

1.7 Endotoxemia metabólica e inflamación

El intestino humano está colonizado por más de 100 billones de microorganismos que constituyen la microbiota intestinal. La alteración en la composición de la microbiota intestinal está estrechamente relacionada con un proceso inflamatorio y anomalías metabólicas, incluyendo obesidad y resistencia a la insulina (Guinane and Cotter, 2013). El LPS es un componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas (G-) y puede inducir un proceso inflamatorio a través de la activación del receptor TLR4. El LPS es raramente detectado en circulación, a excepción de patologías como infecciones y colitis (Fuke *et al.*, 2019). Sin embargo, investigaciones recientes se han enfocado en la influencia que tiene el consumo de una DAG sobre la composición de la microbiota intestinal, fue así que, en el 2007, Cani, *et al.*, demostró que una DAG inducía un aumento en los niveles de LPS en circulación, y, fue así como los autores definieron esta condición como endotoxemia metabólica (Cani *et al.*, 2007). El LPS está formado por tres componentes principales: un componente hidrofóbico (lípidos A), un *core* de oligosacáridos ligado a una región externa (región-O). La toxicidad del LPS está asociada con el componente hidrofóbico lípidos A (Sampath, 2018).

En la fase temprana de un proceso de endotoxemia metabólica, los LPS presentes en el lumen intestinal ingresan al sistema linfático y eventualmente llega a circulación a través del transporte transcelular (Nishizawa, 2016). En circulación los LPS son reconocidos por una proteína de unión a LPS (LBP), está lo transfiere a una molécula accesoria CD14, y de acuerdo con estudios *in vitro*, la LBP también podría tener la capacidad de transferir los LPS a los quilomicrones (Laugerette *et al.*, 2011). CD14 es una proteína multifuncional que tiene especificidad por los LPS y junto a TLR4 y la proteína de diferenciación mieloide 2 (MD-2), forman un complejo, que permite el

reclutamiento intracelular de proteínas adaptadoras que llevan a la activación de citocinas proinflamatorias, asociadas con la inhibición de la señalización de insulina (Fusaru *et al.*, 2012). TLR4 es un receptor de membrana, con un dominio extracelular, un solo dominio transmembranal y su dominio intracelular. La activación de TLR4, cómo se muestra en la **FIGURA 7**, ocasiona que TLR4 se dimerice y sufra un cambio conformacional que permite el reclutamiento de moléculas adaptadoras (MyD88). Esta activación puede desencadenar varias rutas de señalización, entre ellas, la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFκβ). NFκβ se encuentra en el citoplasma en forma dimérica e inactiva, su activación mediada por la activación de TLR4, produce la translocación de NFκβ al núcleo para activar la transcripción de varios genes en el que se incluyen: el factor de necrosis tumoral tipo alfa (*tnfa*), Interleucina (*il-1β*), *il-6*, ciclooxigenasa 2 (*cox2*) y la sintasa inducible por óxido nítrico (*iNOs*). Por otro lado, la activación de TLR4 también activa a la familia de las cinasas como la cinasa N-terminal (JNK), que es capaz de fosforilar a la proteína IRS-1 en su residuo de serina (307), causando una disminución en la activación de la vía de AKT, que da lugar a una disminución en la expresión o translocación del transportador GLUT-4 (Rutkowski, 2015).

1.9 Tejido adiposo

En mamíferos existen tres tipos de tejido adiposo: tejido adiposo pardo (TAP) especializado en la producción de calor (termogénesis), tejido adiposo beige (TABe) que promueve el gasto de energía y el tejido adiposo blanco (TAB). La obesidad y la progresión de la obesidad a diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) puede ser explicada en parte por cambios en la composición y función del TAB (Szablewski, 2018; Lee, Lee and Oh, 2019). En humanos hay dos sitios principales en el que se acumula el TAB: visceral y subcutáneo. El TA subcutáneo representa más del 80% del TA total en el organismo y se localiza dentro de la cavidad abdominal, debajo de la piel, y se intercala entre los músculos esqueléticos. Dependiendo de la localización el TA visceral se clasifica en retroperitoneal, mesentérico, perigonadal y omental (Torres, Vargas-Castillo and Tovar, 2015). El TA está compuesto de adipocitos, que son las células más abundantes (35-70% de masa adiposa en adultos), y células del estroma vascular (fibroblastos, macrófagos, pericitos, elementos vasculares, elementos nerviosos,

preadipocitos y células con capacidad de células madres hematopoyéticas) (Torres, Vargas-Castillo and Tovar, 2015).

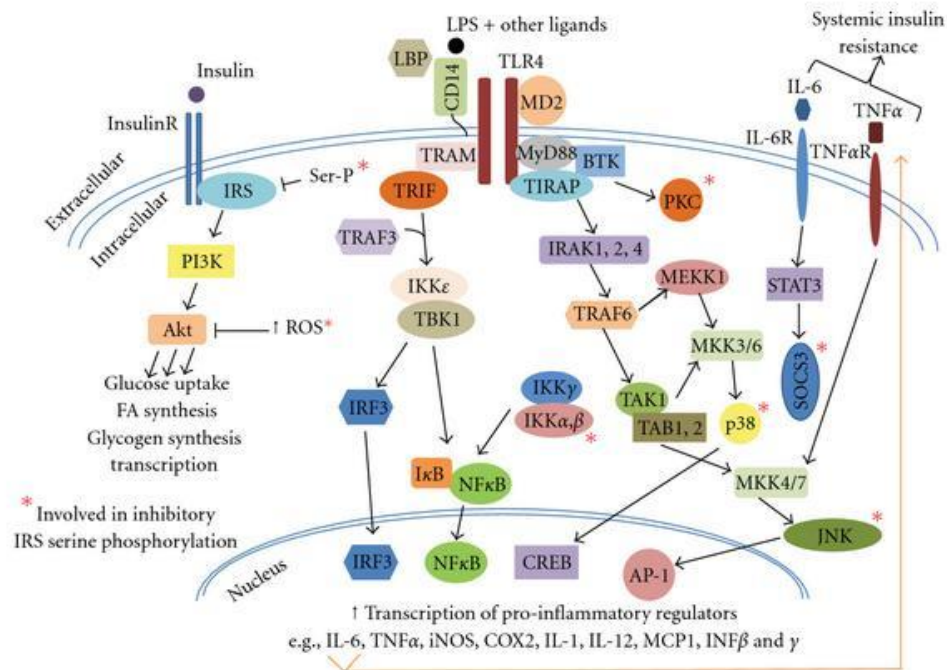


Figura 7. Esquema de las cascadas de señalización TLR4. La activación de la transducción de señales TLR4 conduce a la activación de respuestas inmunes innatas e inhibición de la transducción de señales de insulina, principalmente a través de la fosforilación de serina de la proteína IRS. Tomado de Sears, *et al.* (2010).

El TAB es el órgano principal que tiene la función de almacenar el exceso de energía en forma de triglicéridos y de liberar a AGL a través de lipólisis durante el ayuno para cubrir las demandas energéticas del organismo. Actualmente también se ha descrito que el TAB es un “regulador maestro” por ser un órgano endocrino que regula la homeostasis de la energía sistémica (Kusminski, Bickel and Scherer, 2016; Lee, Lee and Oh, 2019).

En el TAB los adipocitos tienen una forma esférica y un tamaño variable de 30-160 μm, tienen una gota lipídica unilocular, pocas mitocondrias y una tasa de oxidación baja (Torres, Vargas-Castillo and Tovar, 2015; Luo and Liu, 2016). El TA secreta péptidos bioactivos y proteínas, conocidos como adipocinas. Estas adipocinas están involucradas de manera primordial en mantener una regulación inmune, por lo que se

clasifican en adipocinas anti-inflamatorias (adiponectina, omentina-1, SFRP5, cardiotropina-1) e inflamatorias (FABP4, ASP, RBP4, lipocalina-2, chemerina, visfatina, leptina, vaspina, resistina) (Lee, Lee and Oh, 2019). La leptina y la adiponectina son las principales adiponectinas, ya que juegan un papel primordial en la regulación de la homeostasis. Los niveles de leptina circulantes son directamente proporcionales a la masa grasa corporal. A través del reconocimiento del receptor específico para leptina, esta adipocina media numerosos procesos biológicos, como la saciedad, ingesta de alimentos, gasto energético, función reproductiva, aterogénesis y presión arterial. La adiponectina por otro lado, protege de la resistencia a la insulina y de procesos pro-inflamatorios (Kusminski, Bickel and Scherer, 2016).

1.9.1 Disfunción del tejido adiposo

La disfunción del TA se ha denominado como aquel proceso en el que hay una producción y liberación desequilibrada de adipocinas proinflamatorias, generando una inflamación crónica de bajo grado, incrementando la presión arterial, dislipidemias y resistencia a la insulina (Schrover *et al.*, 2016). Durante la obesidad el TAB se vuelve disfuncional al ser incapaz de almacenar el exceso de lípidos, esto promueve una acumulación de lípidos ectópica en otros tejidos que regulan la homeostasis de la glucosa y esto es conocido como "lipotoxicidad" (Torres, Torre-Villalvazo and R Tovar, 2006). El TA tiene la capacidad de almacenar el exceso de grasa, para ello puede expandirse para incrementar el tamaño de las células (hipertrofia) y/o reclutar células precursoras para su diferenciación (hiperplasia). Se ha señalado que una respuesta hiperplásica es protectora contra la expansión celular y el desarrollo de TA desregulado y disfuncional, ya que el proceso hipertrófico puede deteriorar la función del TA induciendo inflamación local, estrés mecánico y metabolismo alterado, debido a que los adipocitos al expandirse se enfrentan a un espacio limitado y ocurre una disminución en la angiogénesis y un estado de hipoxia (Goossens y Blaak, 2015; Smith y Kahn, 2016) (FIGURA 8).

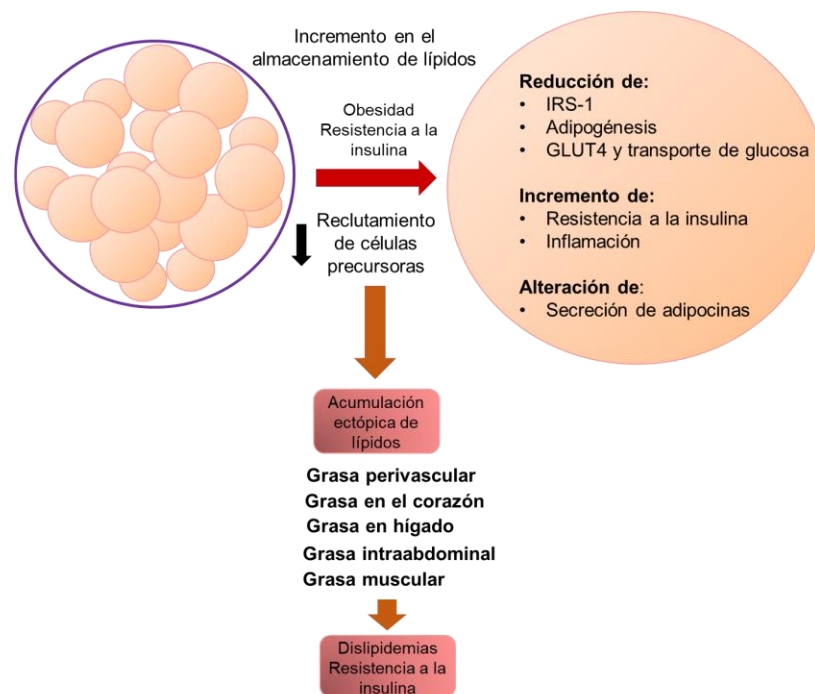


Figura 8. Hipertrofia del adipocito y características asociadas. El aumento en la acumulación de grasa induce una alteración en el tamaño del adipocito (hipertrofia) promueve el almacenamiento ectópico de la grasa en diferentes sitios del organismo. IRS-1, receptor del sustrato de insulina, GLUT4, transportador de glucosa tipo 4. Modificado de Smith, *et al.* (2016).

1.10 Azúcares en la dieta

En el mundo, el incremento de la obesidad, en la mayor parte de los casos está asociada a una ingesta excesiva de alimentos altos en grasa (sobre todo, grasa saturada) y de carbohidratos como monosacáridos, principalmente la fructosa o la glucosa o disacáridos, como la sacarosa (Sánchez-Tapia *et al.*, 2019). En México se reporta que la proporción de personas con consumos mayores a los recomendados (>60%) es de más de 64% en todos los grupos de edad (ENSANUT-MC, 2016; Rosas-Villegas *et al.*, 2017). El consumo excesivo de sacarosa (glucosa+fructosa) está relacionado con el desarrollo de ganancia de peso y ganancia de masa grasa (Stanhope, 2016). Una dieta alta en sacarosa (DAS) promueve la biosíntesis de ácidos grasos en un proceso conocido como lipogénesis *de novo* que se lleva a cabo en el hígado. El incremento en los productos de la lipogénesis *de novo* puede incrementar el desarrollo de la enfermedad del hígado graso no alcohólico que está relacionada con la DMT2 y la obesidad (Sanders and Griffin, 2016).

II. ANTECEDENTES PARTICULARES

El aceite de coco popularmente se utiliza para freír, hornear, cómo un componente de panes y aderezos para ensaladas. Una de las ventajas del aceite de coco es su resistencia a la oxidación y la polimerización, que hace que sea un aceite estable para cocinar. Debido a su alto contenido de AGSs, el aceite de coco, se ha clasificado como una fuente de grasa saturada, por lo que su consumo debería ser limitado, que de acuerdo a las recomendaciones se sugiere que se debe reducir la ingesta de grasa saturada a menos del 10% de la ingesta total de calorías (USDA, 2015; WHO, 2018).

Actualmente hay una promoción generalizada de los beneficios del aceite de coco en medios populares, incluidos periódicos, revistas, libros de cocina, internet y televisión. Su popularidad ha sido creciente, y su producción ha aumentado a 137 mil toneladas en el 2018, con respecto a los 129 mil que se producían en el 2017. La disociación entre las recomendaciones basadas en evidencia y la opinión que prevalece entre la población con respecto al consumo de aceite de coco fue expuesta en una encuesta publicada recientemente en el *New York Times*. Esta encuesta sugirió que el 72% de los americanos en contraste con el 37% de expertos en nutrición consideraban que el consumo de aceite de coco era saludable (Quealy and Sanger-Katz, 2016). Entre alguno de los beneficios propuestos del aceite de coco está, que promueve la pérdida de peso, por su contenido de triglicéridos con AGCM (TCM), sin embargo, es necesario enfatizar que el aceite con TCM y el aceite de coco no tienen el mismo perfil de AG, debido a que el aceite con alto contenido de TCM está compuesto de ~65% de ácido caprílico (C8) y 30% de ácido cáprico (C8), mientras que el aceite de coco contiene aproximadamente 50% de ácido láurico (Clegg, 2017). En un estudio realizado a 75 mujeres con obesidad examinaron el consumo por 8 semanas de aceite de coco vs aceite de girasol, aceite de chía, y, aceite de oliva, demostrando una disminución en el peso corporal, circunferencia de cintura, y masa grasa en todos los grupos. La intervención con el aceite de coco resultó en un incremento de la masa magra (2.6%) con respecto al grupo que consumió aceite de girasol (Oliveira-De-Lira *et al.*, 2018). Otro ensayo clínico que involucró a 40 mujeres recibieron una suplementación de 30 mL de aceite de coco o una cantidad equivalente de aceite de soya, en conjunto con una dieta hipocalórica (~1700 Kcal/día) y un programa de ejercicio (caminar 50

minutos por día) durante 12 semanas. Ambos grupos tuvieron una reducción del índice de masa corporal (IMC), pero sólo el grupo que consumió aceite de coco indujo una disminución en la circunferencia de cintura (\sim -1.4 cm; $p=0.005$) (Assunção *et al.*, 2009). Además del efecto del consumo de aceite de coco sobre la composición corporal, también se ha sugerido que induce saciedad, por la producción de cuerpos cetónicos dado un incremento de acetil-CoA a través de la β oxidación, debido a que los TCM tienen una tasa más rápida de absorción que los AGCL (Clegg, 2017).

El aceite de coco es considerado un aceite vegetal, que pese a su origen contiene una gran cantidad de AGSs (\sim 90) (Orsavova *et al.*, 2015; USDA, 2018b), principalmente AGCM. Por otro lado, la manteca de cerdo es una grasa de origen animal que contiene 42-43% de AGSs, pero con un mayor contenido de AGCL y además contiene 95 mg de colesterol por cada 100 g de manteca, componente que la mayoría de las grasas no lo contienen (ISEO, 2016; USDA, 2018a). El efecto del aceite de coco sobre los cambios producidos en la composición corporal está incitado por su contenido de ácido láurico, que es considerado un AGCM con respecto al ácido palmítico, que es un AGCL, presente en mayor proporción (28%) en la manteca de cerdo. Sin embargo, algunos reportes señalan que el ácido láurico tiene características bioquímicas similares a los AGCL, ya que aproximadamente el 70% del ácido láurico se absorbe vía quilomicrones, por lo que la afirmación de que el aceite de coco es un aceite rico en MCT es contradictorio (Sankararaman and Sferra, 2018). Durante la digestión la lipasa lingual y la lipasa gástrica son las encargadas de hidrolizar todos los triglicéridos (incluyendo los TCM). A diferencia de los AGCM, los AGCL necesitan combinarse con proteínas para formar lipoproteínas para poder transportarse a circulación vía sistema linfático. Debido a que las lipoproteínas circulan por el torrente sanguíneo, pueden llevar a los AGCL a los tejidos, contribuyendo así a que, si hay un exceso en el consumo de lípidos, estos se acumulen en forma de grasa corporal. Por otro lado, los AGCM, son directamente absorbidos vía vena porta, metabolizados por el hígado, esto induce que este tipo de AG tenga una menor contribución a su almacenamiento (**FIGURA 9**). El metabolismo de todos los AG es iniciado en la mitocondria. Los AGCM, con respecto a los AGCL, pueden entrar de manera más sencilla a la mitocondria, debido a que son independientes del sistema de transporte de AG por carnitina, es así

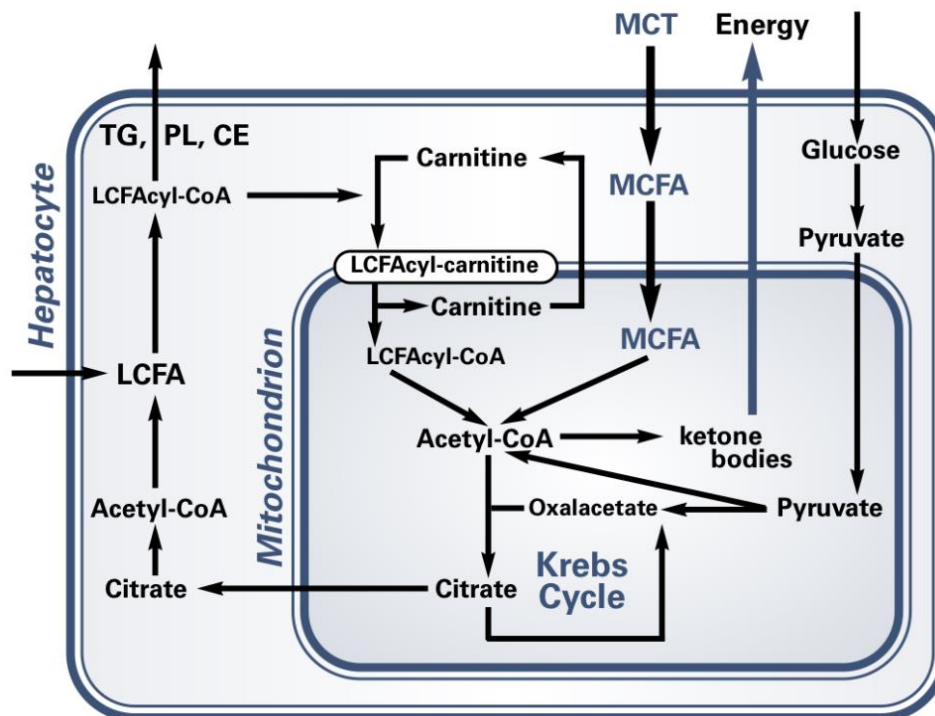


Figura 9. Metabolismo de los ácidos grasos de cadena media (MCFA) y de cadena larga (LCFA) en el hígado y la mitocondria. Los MCFA no requieren el transporte a la mitocondria a través de carnitina como los LCFA. El resultado es un exceso de acetil-CoA producidos mediante β -oxidación, este acetil-CoA puede seguir varias vías como el ciclo de Krebs o la producción de cuerpos cetónicos. TG: triglicéridos, PL: fosfolípidos, CE: colesterol esterificado. Tomado de Dayrit, (2014).

como los AGCM pueden ser convertidos a cuerpos cetónicos (acetoacetato y β -hidroxibutirato) por la enzima deshidrogenasa de acil-CoA grasa de cadena media (FIGURA 9). En un estudio realizado en ratas y humanos para comparar la composición en los quilomicrones después de ingerir tres aceites diferentes (aceite de oliva, aceite de bacalao y aceite de coco), encontraron que, en ambos modelos, tanto en ratas como en humanos los quilomicrones contenían 68% menos AGCM (C8:C12) (Karmen, 1960). En otro experimento utilizando intestino de rata, se observó que los AGSs fueron dirigidos hacia la vena porta en cantidades decrecientes según el número de carbonos en la cadena: C12 (72%); C14 (58%); C16 (41%); C18 (28%) (McDonald *et al.*, 1980). Sin embargo, otros estudios también señalan que la distribución de los AGCM vía vena porta o vía linfa depende de la cantidad de TCM consumidos en proporción al total de lípidos en la dieta (Peters, 1990). Esto puede significar, que, de

acuerdo a las condiciones de la dieta, el ácido láurico se puede distribuir entre la vena porta y vía linfática a través de los quilomicrones, mientras que los AGCL necesariamente necesitan empaquetarse en quilomicrones para su digestión y metabolismo. El ácido láurico es rápidamente metabolizado en hígado por diferentes vías (**FIGURA 10**), la β oxidación es la principal vía por la cual se metaboliza, convirtiéndolo en acetil-CoA para incorporarse al ciclo de Krebs. En la mitocondria en el hígado, el acetil-CoA producido del ácido láurico también puede convertirse a β -hidroxibutirato y acetona. La omega oxidación (ω -oxidación) es una vía menor que representa menos del 10% de la oxidación de AG en el hígado, sin embargo, bajo condiciones de AGCM, la actividad de las ω -hidroxilasas aumentan. El ácido láurico es utilizado como sustrato de la ω -oxidación por enzimas del citocromo P450, formando 11 y 12 ácidos hidroláuricos. El ácido láurico también puede ser usado para formar AGCL en el hígado (Dayrit, 2014).

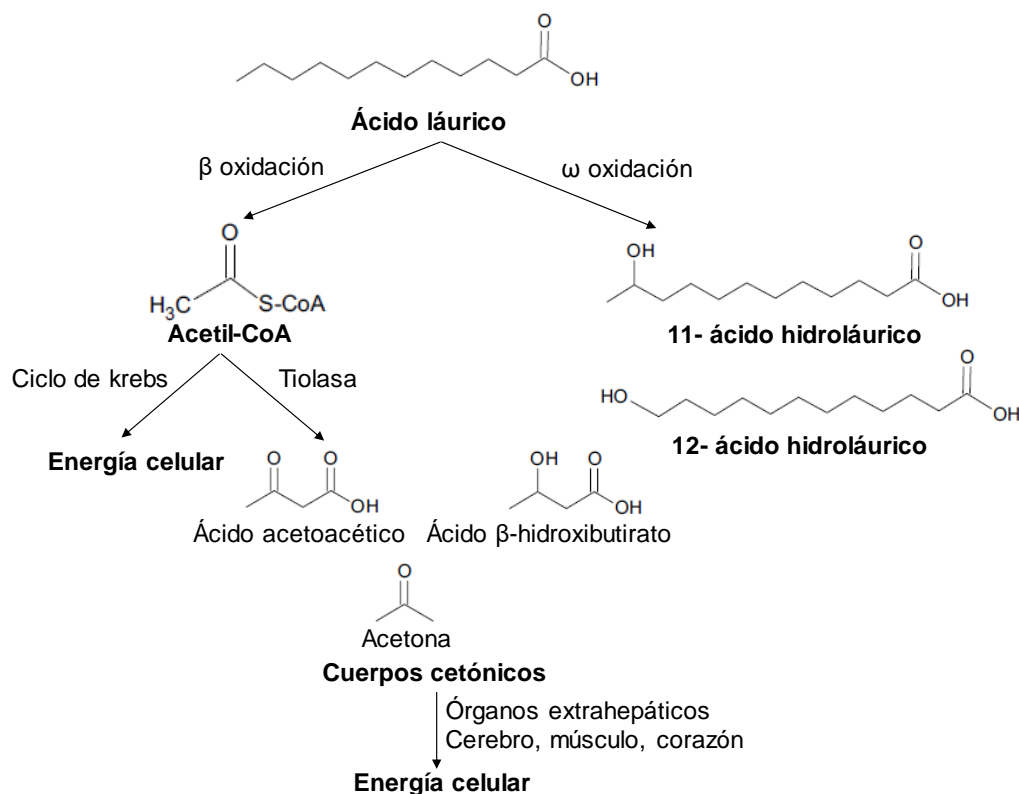


Figura 10. Metabolismo del ácido láurico en hígado. Tomado de Dayrit, (2014).

En 1957, se describió una relación entre el contenido de grasa en la dieta y la elevación de la concentración sérica de colesterol, que a su vez se relaciona al desarrollo de enfermedad coronaria. Sin embargo, también se señaló que no todas las grasas tienen este efecto, siendo aquellas grasas con un alto contenido de AGSs las que inducen hipercolesterolemia y los AGPIs lo reducen (Keys, 1957). Sin embargo, este hallazgo ha sido debatido a lo largo del tiempo, dado que las grasas saturadas son un grupo heterogéneo y sus efectos están mediados por el perfil de ácidos grasos que las componen (DiNicolantonio, Lucan and O'Keefe, 2016). Resultado de algunos experimentos, diferentes autores han descrito que el consumo de aceite de coco reduce los niveles de colesterol sérico. Por ejemplo, un estudio en ratas, mostró que el consumo de aceite de coco disminuyó las concentraciones de colesterol en hígado con respecto a los grupos que consumieron aceite de maíz y aceite de canola (Wood and Migicovsky, 1958). Otro estudio realizado también en ratas Wistar que se les administró 1 mL por kg de peso de solución salina (control), aceite de soya, manteca de cerdo o aceite de coco durante 21 días, tuvo como resultado, que el consumo de aceite de coco indujo un incremento en las concentraciones de colesterol de alta densidad (HDL-C) y una reducción en los niveles de triglicéridos séricos (Figueiredo Santana *et al.*, 2016). Debido a que los estudios que hacen mención del efecto protector del consumo de aceite de coco y los niveles séricos de lípidos son de un tiempo de exposición corto, aún es necesario, realizar estudios a largo plazo para ver el posible efecto de este aceite, asimismo, es necesario realizar investigación sobre el metabolismo del colesterol por el consumo de aceite de coco, debido al efecto que tiene sobre la síntesis de HDL-C y el LDL-C. Algunos estudios en los que hay una exposición de un tiempo más prolongado al consumo de aceite de coco reportan incremento en el LDL-C (Dayrit, 2014). En una revisión sistemática del efecto del aceite de coco se reporta en 21 estudios clínicos que el consumo de aceite de coco induce un incremento en los niveles de LDL-C, HDL-C y colesterol total comparado con otros aceites vegetales (Eyres *et al.*, 2016), mientras que en ningún otro estudio se encontró cambios en las concentraciones de triglicéridos. En otro ensayo se evaluó el efecto de una dieta suplementada con 15% de aceite de coco o aceite de palma o aceite de maíz en ratas macho Sprague Dawley durante 4 y 8 semanas, encontrando que los grupos que consumieron aceite de coco y aceite de palma tuvieron un incremento en el

colesterol LDL-C después de las 8 semanas de tratamiento (Dauqan *et al.*, 2011). Los pocos estudios realizados en humanos también generan conclusiones encontradas. Cox *et al.* (1995) encontró que el consumo de aceite de coco aumentaba la concentración de LDL-C comparado con el aceite de girasol en 28 individuos. El autor señala que este resultado podría ser esperado por la proporción de AGSs que contiene el aceite de coco con respecto al contenido de AGISs del aceite de girasol (Cox *et al.*, 1995). Por otro lado Shedden (2017) reportó en un estudio aleatorizado con 42 hombres adultos entre 18 a 40 años de edad que la ingesta de cápsulas con 2 g de aceite de coco o de placebo de harina no generó cambios en las concentraciones de colesterol total, LDL-C, HDL-C (Shedden *et al.*, 2016). Los efectos del aceite de coco sobre el perfil de lípidos en humanos aún no cuentan con un respaldo científico sólido, debido al número insuficiente de estudios, el pequeño número de sujetos utilizados en los estudios, los períodos cortos y las diferentes concentraciones de aceite de coco en la dieta, además de que no estudian el efecto a nivel molecular del aceite de coco en diferentes tejidos.

El perfil de AG en la dieta también se relaciona con el desarrollo de obesidad. Actualmente, además de los factores ambientales y genéticos que interaccionan con el desarrollo de esta patología, se ha sugerido que la microbiota intestinal tiene un rol principal en la patogenia de la obesidad y sus comorbilidades (Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Esto es debido, en parte a que un desequilibrio en la homeostasis de la microbiota intestinal, es decir, una variación en la proporción de bacterias que colonizan el intestino, conocido como disbiosis, es caracterizada por cambios en la diversidad, producción de toxinas, incremento en la permeabilidad, y, cambios hormonales e inmunológicos, que culminan en un estado de inflamación de bajo grado (Netto, Bressan and Goncalves, 2018). Recientes investigaciones, se han enfocado en dilucidar el efecto del consumo de una DAG sobre la composición de la microbiota intestinal. La microbiota intestinal, es un reservorio de endotoxinas, en las que se incluye los LPS, que son un componente de la membrana externa de las bacterias Gram negativas. En condiciones normales, los LPS circulantes (0.5 a 6.5 pg/mL) no son un componente dañino en el organismo, sin embargo, en situaciones de disbiosis, el cuál puede ser ocasionado por el tipo de AG en la dieta, los LPS pueden transportarse a circulación, proceso conocido como endotoxemia metabólica e inducir

una variedad de reacciones inflamatorias a través de su reconocimiento por TLR4 (Netto, Bressan and Goncalves, 2018; Fuke *et al.*, 2019). El contenido y el tipo de AG en la dieta influyen en la endotoxemia metabólica, permitiendo la translocación de los LPS al torrente sanguíneo, a través del incremento de la permeabilidad intestinal, lo que induce una invasión de LPS por irrupción de las uniones estrechas del epitelio (FIGURA 11). El proceso de endotoxemia metabólica, fue primero reconocido en un modelo animal, dónde se demostró que ratones alimentados con una DAG (72% aceite de maíz y manteca de cerdo) tenían altos niveles en sangre de LPS con respecto a ratones alimentados con una dieta control (dieta chow), dando como resultado un proceso inflamatorio en hígado y TA, originado por cambios en la microbiota intestinal (reducción de *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, y *Eubacterium*) por el consumo de la DAG (Cani *et al.*, 2007). Además del efecto de una DAG sobre la concentración de LPS, también se ha demostrado que el consumo de grasa saturada combinado con sacarosa en ratas Wistar, induce un incremento en la concentración de LPS en suero de 6708 veces más con respecto al grupo de ratas alimentadas con una dieta control (Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Estos hallazgos también se han replicado en humanos, encontrando que aquellos sujetos con DMT2 aumentan ~54 veces los niveles circulantes de LPS en comparación con sujetos sanos (Medina-Vera, 2018). Así mismo, se ha visto que hay un aumento en las concentraciones de LPS en circulación de un 18% después de una ingesta de una DAG (42% de grasa del total de calorías) con respecto a un estado de ayuno (Erridge *et al.*, 2007). Ghanim *et al.* mostraron en humanos que el consumo de una dieta alta en carbohidratos también aumenta los niveles de LPS 47% más a la hora, 2 y 3 h después de su consumo. Este incremento se relacionó con un incremento en la expresión del RNAm de TLR2 y TLR4 en células mononucleares en sangre (Ghanim *et al.*, 2009). El tipo de AG está estrechamente relacionado con la endotoxemia metabólica, ya que son los AGSs los responsables de este proceso. En un estudio en ratones por 8 semanas con dietas enriquecidas con grasa de leche, aceite de palma, aceite de canola y aceite de girasol, se encontró que el grupo que consumió aceite de palma (50% de AGSs) indujo el mayor aumento en las concentraciones de LPS. Esta observación sugirió que los AGSs tienen una acción sinérgica con los LPS (Daira *et al.*, 2012). Estos estudios han dado lugar a investigaciones de como es el comportamiento de la grasa saturada sobre la

concentración de LPS y que el resultado de inducir endotoxemia metabólica lleva a una inflamación sistémica de bajo grado, la cual está implicada en varios desordenes metabólicos, incluyendo la obesidad y la resistencia a la insulina.

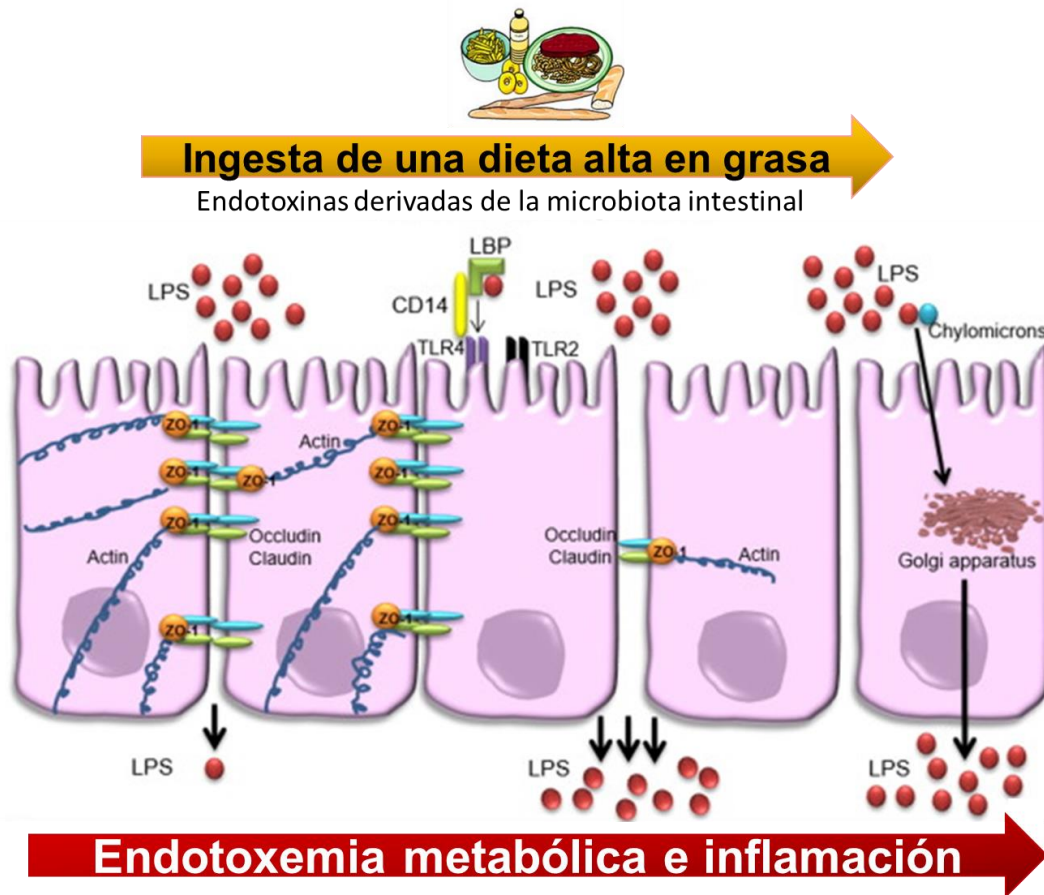


Figura 11. Translocación de LPS del intestino al torrente sanguíneo. Los lipopolisacáridos (LPS) pueden llegar al torrente sanguíneo a través del transporte intracelular facilitado por los quilomicrones y/o a través del epitelio intestinal debido a la alteración en las uniones estrechas. ZO, claudinas de la zona de oclusión; TLR4, receptor tipo toll tipo 4, LBP, proteína de unión a lipopolisacárido. Modificado de Nishizawa (2016).

Cuando se describió el proceso de endotoxemia metabólica por Cani *et al.* también se encontró que junto con el aumento de LPS en circulación, también se inducía un incremento en la expresión de citocinas inflamatorias TNF α , IL-6, IL-1 y el inhibidor activador del plasminógeno (PAI-1) en TA, encontrando que estos efectos estaban mediados por CD14 y TLR4 (Cani *et al.*, 2007). TLR4 es un receptor de membrana y se ha señalado que los LPS son su principal ligando. La activación de TLR4 causa el

reclutamiento de moléculas adaptadores que promueven la activación de $\text{NF}\kappa\beta$, que a su vez induce la expresión de citocinas proinflamatorias, principalmente $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , las cuales se ven aumentadas en pacientes con obesidad y resistencia a la insulina (Neves *et al.*, 2013) (FIGURA 12).

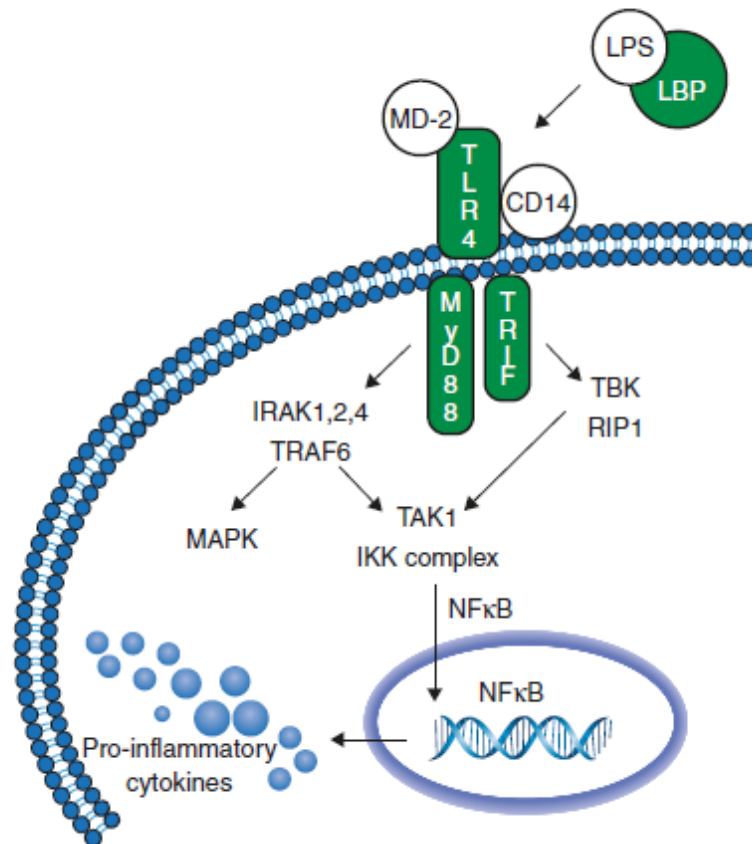


Figura 12. Activación de TLR4 inducido por LPS. La activación de TLR4 promueve la transcripción de citocinas proinflamatorias, vía el reclutamiento de moléculas adaptadoras como Myd88 y TRIF. Los LPS son censados por TLR4. CD14 y MD-2 son elementos críticos para formar el complejo TLR4-LPS. Myd88 activa el complejo IKK vía el reclutamiento de cinasas IRAK/TRAF6, lo que lleva a la translocación de $\text{NF}\kappa\beta$ al núcleo. TRAF6 también promueve la activación de MAP cinasas. Tomado de Neves, *et al.* (2013).

Un proceso inflamatorio crónico de bajo grado se ha asociado al desarrollo de resistencia a la insulina, debido a que citocinas proinflamatorias como $\text{TNF}\alpha$ promueven la fosforilación de IRS en el residuo de serina (Hotamisligil *et al.*, 1996). En modelos de obesidad inducida u obesidad genética se ha identificado un aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias en el TA, como $\text{TNF}\alpha$, IL-1 , e IL-6

(Hotamisligil, Shargill and Spiegelman, 1993; Weisberg *et al.*, 2003). Los AGSs pueden desencadenar el proceso inflamatorio a través de la vía de TLR4 ligado al aumento de los LPS en circulación. El rol de los LPS y el consumo de una DAG ligados a inflamación y resistencia a la insulina ha sido evidenciado en estudios con ratones knockout de CD14 (CD14^{-/-}). Después de una infusión crónica (4 semanas) de LPS, los ratones de la cepa silvestre mostraron un incremento de masa grasa, intolerancia a la glucosa, aumento en el peso del hígado, TA subcutáneo y visceral. Cuando los ratones consumieron una DAG sin infusión de LPS, se encontraron los mismos efectos, aunado a un incremento de citocinas proinflamatorias. Estos efectos no se vieron en los ratones CD14^{-/-} (Cani *et al.*, 2007). La activación de TLR4, por la estimulación con LPS, puede desencadenar varias vías, dos de ellas se relacionan con el desarrollo de resistencia a la insulina: una de ellas en la activación y translocación al núcleo de NFκβ, que promueve la estimulación en la expresión de citocinas proinflamatorias; la otra vía es la activación de las MAPK, que a su vez inducen la fosforilación de JNK. JNK puede suprimir la fosforilación de IRS-1 en los residuos de tirosina (pT896^{IRS1}) (Boroni Moreira and de Cássia Gonçalves Alfenas, 2012). En un ensayo se mostró que un AGCL como el palmítico y esteárico inducen la activación de NFκβ y la expresión de la COX2 en macrófagos, mientras que AGPIs como el ácido docosahexanoico o AGMIs como el ácido oleico, reducen subsecuentemente un proceso inflamatorio inducido por el ácido palmítico (Lee *et al.*, 2001). Se ha reportado que el ácido palmítico también puede inducir la activación de JNK, alterando así la vía de señalización de la insulina por inducir la fosforilación de IRS-1 en el residuo de serina en la posición 307 (Rogero and Calder, 2018). Caesar *et al.* (2015), encontró que una DAG con AGSs contribuye al proceso de inflamación en TA vía TLR4. En un estudio en ratones alimentados durante 11 semanas con manteca de cerdo o aceite de pescado se encontró que TLR2 y TLR4 fueron activados en ratones alimentados con manteca de cerdo. Aunque no encontraron diferencias significativas en los niveles de TLR4 ligado a LPS, se observó una tendencia al incremento de los LPS en suero de los ratones alimentados con manteca de cerdo. Esto sugiere que la alteración de la microbiota intestinal estimula la inflamación a través de moléculas proinflamatorias producido por la translocación de LPS del intestino a la circulación (Caesar *et al.*, 2015). Aunque se ha descrito que los AGSs

están involucrados en la endotoxemia metabólica ligada a inflamación, aún no se tiene del todo claro cuál es el efecto del aceite de coco sobre estos procesos. Se ha reportado que cerdos alimentados con una dieta control y dietas enriquecidas con aceite de pescado o aceite vegetal o aceite de coco, los niveles de LPS incrementaron de manera significativa en los alimentados con aceite de coco. Los autores también realizaron análisis *ex vivo* en muestras de íleon de los cerdos, encontrando que el aceite de coco aumentó la permeabilidad de los LPS (Mani, Hollis and Gabler, 2013). Sin embargo, es necesaria mayor evidencia para elucidar si igual a otras grasas saturadas, el aceite de coco induce endotoxemia metabólica ligada a inflamación.

La inflamación crónica de bajo grado asociada a obesidad es considerada un punto clave para el desarrollo de resistencia a la insulina y DMT2 en modelos animal y humanos (Makki, Froguel and Wolowczuk, 2013). Aunque los procesos inflamatorios relacionados a obesidad dañan al hígado y el músculo, es el TA el sitio clave que media la inflamación sistémica. El TA es un órgano muy activo, cuya función involucra el almacenamiento de lípidos, regular procesos metabólicos y funciones endocrinas. Se ha establecido que una disfunción del TA es característico de la obesidad, esta disfunción ocasiona una expansión del TA, la cual está acompañada de un proceso inflamatorio y de resistencia a la insulina (Rutkowski, Stern and Scherer, 2015) (**FIGURA 13**).

Se ha propuesto que el consumo de AGSs puede inducir disfunción del TA al ocasionar su expansión, un estudio reportó que el consumo de ácido palmítico induce hipertrofia del TA, inflamación y apoptosis a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), estrés del retículo endoplásmico e incremento en la síntesis de diacilgliceroles (Kennedy *et al.*, 2009). Yang *et al.* (2012) demostraron que la aparición rápida de hipertrofia del TA e hiperinsulinemia puede deberse a la activación rápida de genes lipogénicos, de señalización de la insulina e inflamatorios. En un estudio con ratones se encontró que el grupo que consumió una DAG (21% de manteca de cerdo) durante 2 semanas produjo un aumento en la expresión de genes relacionados con la lipogénesis (SREB1c, SCD-1, FAS, LPL) y con la inflamación (MAC1, CD68 y MMP3) (Yang *et al.*, 2012). Caesar *et al.* (2015) también demostraron que el consumo de manteca de cerdo induce inflamación en el TA y una disminución en la sensibilidad en

la insulina y que estos efectos estaban mediados por afectación de la composición y la diversidad en la microbiota intestinal, al incrementar los niveles de *Bilophila*, a diferencia del consumo de aceite de pescado que indujo un incremento de *Lactobacillus sp* y *Akkermansia muciniphila*, que están asociadas a una reducción de la inflamación, masa grasa e infiltración de macrófagos en TA (Caesar *et al.*, 2015).

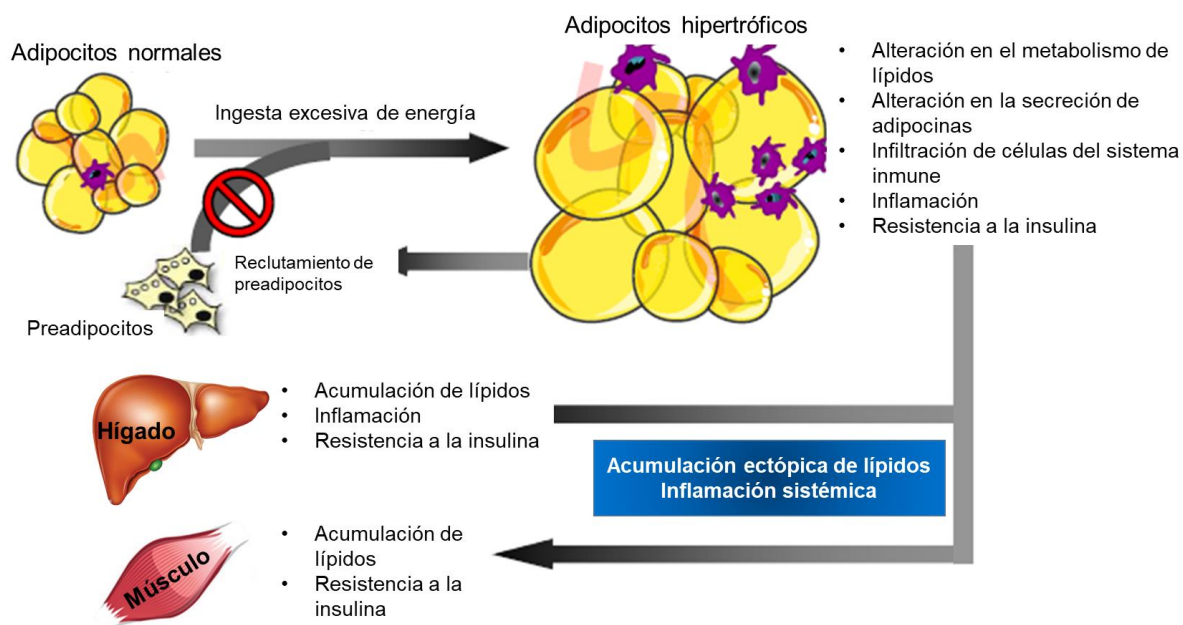


Figura 13. Disfunción del tejido adiposo. La ganancia de peso corporal, aumenta el tamaño de los adipocitos, acompañado por disturbios en el metabolismo de lípidos y alteraciones en la secreción de adipocinas, que lleva a un fenotipo proinflamatorio. Tomado de Rutkowski, *et al.* (2015).

También hay evidencias en ratones alimentados con una dieta de aceite de palma, cuyo efecto es el aumento en la concentración de IL-6 en plasma y los niveles de expresión relativa de TLR4 y CD14 en el TA, todo esto asociado a un aumento en la proporción de *Escherichia coli* (bacterias Gram negativas que contienen LPS) (Daira *et al.*, 2012). Sin embargo, aún es desconocido cuál es el efecto del aceite de coco sobre el proceso de inflamación ligado a resistencia a la insulina y si el ácido láurico como su principal AG ocasiona efectos similares cómo el ácido palmítico de la manteca de cerdo. Hay indicios que señalan que el consumo de aceite de coco podría ocasionar esteatosis hepática en un modelo animal sin ocasionar inflamación (Buettner *et al.*, 2006). Sin embargo, este mecanismo, ni la vía por la cual se podría estar induciendo

está del todo claro, o si este efecto está mediado también por la alteración en la concentración de LPS, debido a que aún no se ha analizado cual es el efecto del aceite de coco sobre los niveles de LPS en circulación. Por otra parte, hay un reporte que señala que los ratones alimentados con una dieta enriquecida con aceite de coco se caracterizan por presentar una abundancia relativa intestinal de *Alobaculum*, *Anaerofustis*, *F16*, *Lactobacillus reuteri* y *Deltaproteobacteria*, y una disminución de *Akkermansia muciniphila* (Gram positiva) en comparación con ratones alimentados con una dieta alta en grasa enriquecida con aceite de soya (Patrone *et al.*, 2018), lo que podría inducir a un aumento de LPS en circulación.

El TA también tiene la función de liberar citocinas: adiponectina y leptina, las cuales son las principales adipocinas producidas por el TA (**FIGURA 14**). La adiponectina es una citocina antiinflamatoria que es capaz de inducir la producción de otras citocinas antiinflamatorias como IL-10, IL-1, además puede atenuar procesos inflamatorios. Por otro lado, la leptina correlaciona directamente con la masa grasa y el tamaño del adipocito, por lo que es considerada una citocina proinflamatoria, estimulando la producción de varios mediadores de la inflamación como IL-6, IL-12 y TNF α . Los estudios en humanos han revelado que la ingesta de AGSs derivados de fuentes de origen animal resulta en un incremento de citocinas proinflamatorias como TNF α , en comparación con la ingesta de AGMIs y AGPIs (Rocha, Bressan and Hermsdorff, 2017). Estudios *in vitro* también han señalado que los AGSs influyen en el desencadenamiento de vías inflamatorias que inducen a la resistencia a la insulina a través de la producción de citocinas inflamatorias (Piya, McTernan and Kumar, 2013). Un incremento de las citocinas inflamatorias depende de la adiposidad y se relaciona con la inflamación, resistencia a la insulina, alteración en el metabolismo de glucosa y otras condiciones metabólicas. Por lo que, identificar cambios en estas moléculas, permitirá comprender la patogénesis y fisiología de las enfermedades metabólicas. Se ha descrito que una DAG con aceite de manteca induce hiperleptinemia en ratas Wistar (Avila-Nava *et al.*, 2016; Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Sin embargo, aún se desconoce cuál es el efecto del aceite de coco sobre estas citocinas, por lo que este estudio

permitirá describir como se involucra el aceite de coco sobre la producción de adipocinas por el TA.

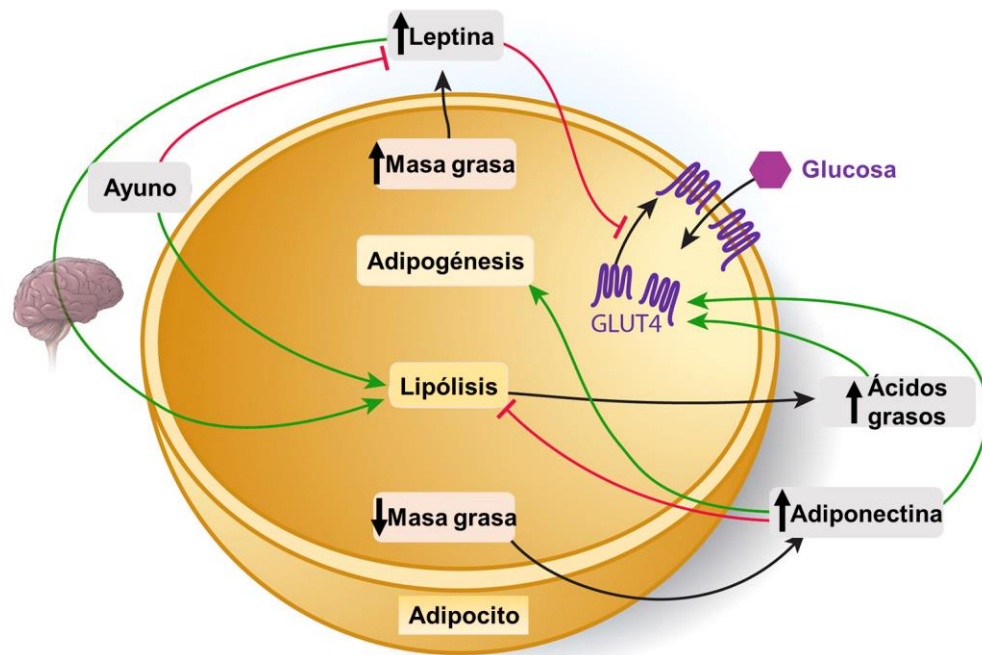


Figura 14. Señalización autocrina en el adipocito. La adiponectina, aumenta a medida que disminuye la masa grasa, actúa localmente en el adipocito para aumentar la captación de glucosa mediada por GLUT4 al tiempo que mejor la adipogénesis y el almacenamiento de lípidos en adipocitos. La acción lipolítica predomina a través de la leptina, que puede estar mediada a través del sistema periférico nervioso. Modificado de Rutkowski, *et al.* (2015).

Varios descubrimientos han permitido relacionar la endotoxemia metabólica con la dieta, permitiendo entender que hay una relación estrecha entre la endotoxemia metabólica, la inflamación y la resistencia a la insulina (Nishizawa, 2016; Rogero and Calder, 2018). En un estudio realizado por el grupo de investigación del Departamento de Fisiología de Nutrición del Instituto Nacional Salvador Zubirán (INCMSZ) se observó que ratones silvestres que consumieron aceite de coco al 21% produjeron un incremento en la concentración de insulina (López-Salazar, 2016), debido a ello en este trabajo se evaluó el consumo de aceite de coco sobre la endotoxemia metabólica, inflamación y resistencia a la insulina en TA en comparación con otra grasa saturada como la manteca de cerdo, que son diferentes en su proporción y tipo de AGSs.

Aunado a esto, actualmente, se ha reportado que además del consumo de grasa saturada, también el consumo en exceso de carbohidratos está estrechamente relacionado con la obesidad y enfermedades metabólicas. El consumo de azúcares se ha incrementado de 225 g por día en 1990 a 325 g por día en el 2017, debido a la amplia disponibilidad de alimentos cuyo contenido es alto en azúcar (FAO, 2017). Existen reportes que señalan que una dieta alta en glucosa y fructosa regulan la microbiota intestinal incrementando la permeabilidad intestinal, que precede al desarrollo de endotoxemia metabólica, inflamación y acumulación de lípidos (Do *et al.*, 2018). Otros estudios han reportado que la combinación de grasa saturada y sacarosa induce un aumento en la concentración de LPS séricos (Avila-Nava *et al.*, 2016; Rosas-Villegas *et al.*, 2017; Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Debido a lo anterior, la propuesta del presente trabajo también fue evaluar si el efecto de una grasa de origen animal (manteca de cerdo) y una de origen vegetal (aceite de coco) sobre el TA, hígado y músculo se potenciaba al combinar el consumo de grasa saturada con sacarosa.

III. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Diferentes tipos de grasa saturada inducen de la misma manera la endotoxemia metabólica, inflamación y alteración en la señalización de la insulina?
2. ¿La adición de azúcar a una dieta rica en grasa saturada de diferente tipo induce de la misma manera la endotoxemia metabólica, inflamación y alteración en la señalización de la insulina?

IV. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que el aceite de coco contiene aproximadamente el 90% de grasa saturada, se ha considerado como benéfico para la salud, por lo que se requiere más evidencia científica que permita elucidar el efecto de este aceite sobre el tejido adiposo e hígado. Además, se desconoce si el consumo de aceite de coco puede tener un efecto diferente al observado en el consumo de otras grasas saturadas como la manteca de cerdo y si este puede ser potenciado por el consumo de algún tipo de azúcar. Por lo tanto, el propósito de este estudio es evaluar los efectos a largo plazo (cuatro meses) sobre el desarrollo de resistencia a la insulina e inflamación de bajo grado (endotoxemia metabólica) de una dieta con aceite de coco o manteca de cerdo (ambas altas en grasas), solas y en combinación con sacarosa.

V. HIPÓTESIS

El consumo de aceite de coco, solo o en combinación con sacarosa, produce mayor inflamación en tejido adiposo e hígado que la manteca de cerdo, así como disminución en la señalización de la insulina, a través de un mecanismo mediado por endotoxemia metabólica.

VI. OBJETIVOS

6.1 General

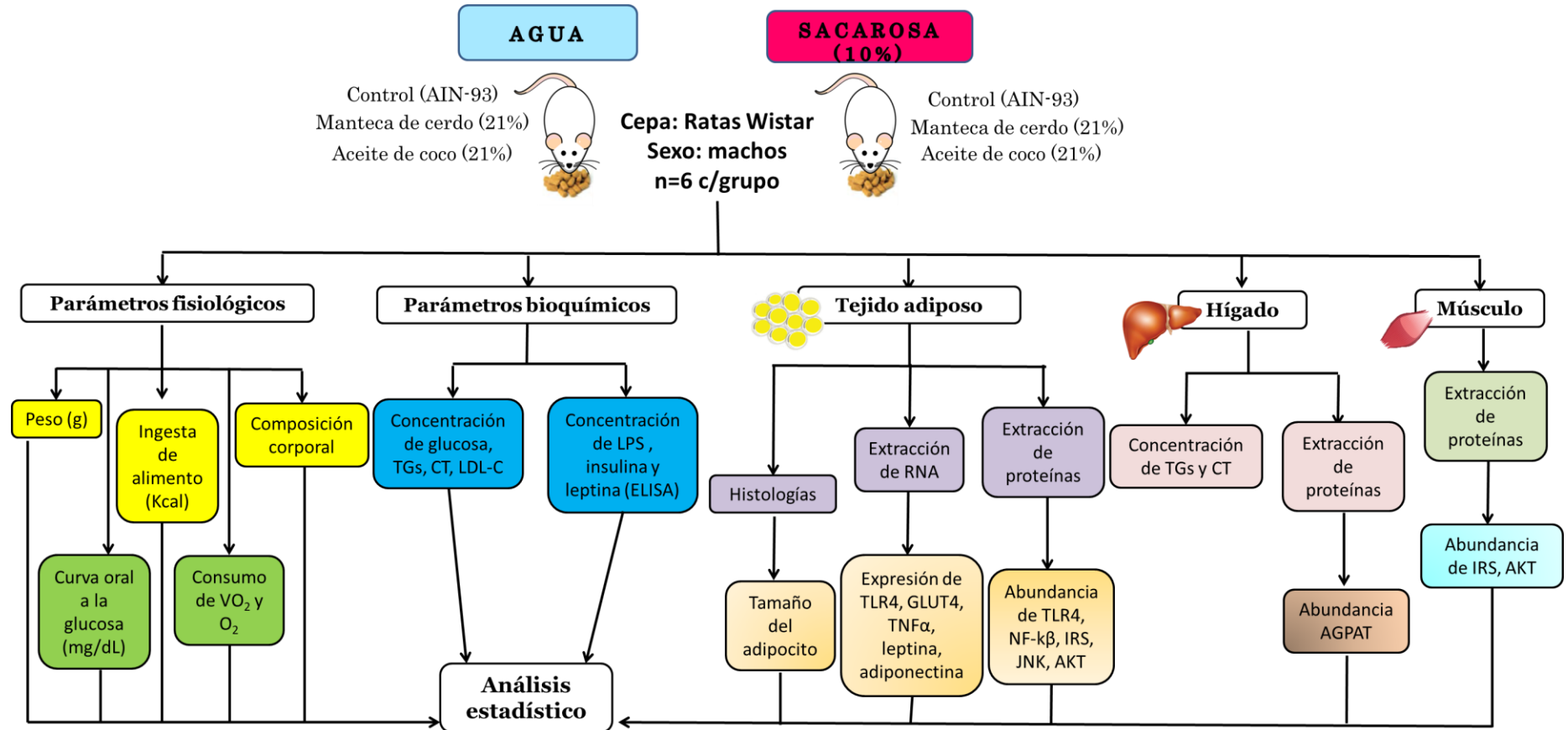
Evaluar el efecto del aceite de coco y manteca de cerdo solas y en combinación con sacarosa sobre la concentración de LPS y la expresión de genes involucrados en la resistencia a la insulina en tejido adiposo.

6.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto del consumo de diferentes tipos de grasas saturadas, solas y en combinación con sacarosa en relación a:

1. La ingesta calórica y ganancia de peso corporal.
2. Los parámetros bioquímicos (glucosa, triglicéridos, colesterol, LDL, insulina y LPS en suero).
3. El gasto energético y la tolerancia a la glucosa.
4. La expresión de genes y la abundancia de proteínas en la resistencia a la insulina e inflamación mediada por LPS en tejido adiposo.
5. La variación en la morfología y tamaño de los adipocitos.

VII. Estrategia Experimental



TGs: Triglicéridos, CT: colesterol total, LPS: lipopolisacárido, TLR4: receptor tipo toll 4, GLUT4: transportador de glucosa 4, TNF α : factor de necrosis tumoral alfa, IRS: receptor del sustrato de insulina, NF κ β : factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas, JNK: cinasa N-terminal, AGPAT: glicerol-3-fosfato aciltransferasa.

VIII. METODOLOGÍA

8.1 Animales y grupos de experimentación

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar del bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMSZ). Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas durante todo el estudio ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclos de luz/oscuridad de 12 h y 50-55% de humedad) con acceso a agua y alimento *ad libitum*. Al alcanzar un peso de aproximadamente 250 g, las ratas fueron divididas al azar en seis grupos experimentales (n=6 por grupo) (FIGURA 15). El estudio tuvo una duración de 4 meses, durante los cuales se alimentaron a las ratas con una dieta control para roedores de mantenimiento (AIN-93M) y dos DAG, una enriquecida con manteca de cerdo y otra con aceite de coco al 21% a ambas ANEXO 1. A 3 de los 6 grupos se les adiciono 10% de sacarosa (S) en la bebida. Este estudio fue aprobado por el comité de ética (CICUAL) del INCMSZ.

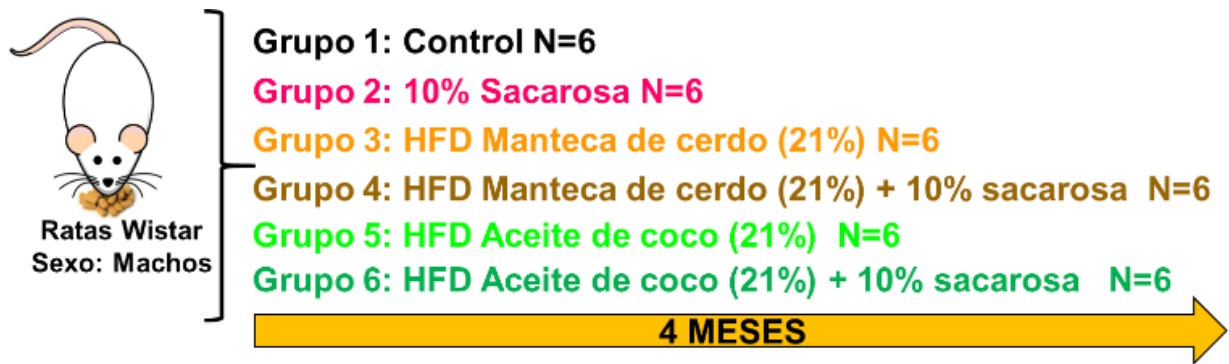


Figura 15. Grupos de estudio. Diseño del estudio para evaluar el efecto del tipo de grasa saturada en la endotoxemia metabólica, inflamación y alteración en la señalización de la insulina y conocer si la adición de sacarosa potencia el efecto.

Se registró el peso corporal, el consumo de alimento y el volumen de bebida ingerida. Con los datos de peso se obtuvieron los promedios por grupo, para realizar la curva de crecimiento y calcular el cambio en el peso corporal de los animales. Para determinar la ingesta calórica, se usaron los datos de consumo de alimento y volumen de bebida, convirtiendo los g de carbohidratos, proteína y lípidos de la dieta a kcal (1 g de CHOS y proteína= 4 kcal; 1 g de lípidos= 9 kcal). Adicionalmente, se realizó un análisis mediante resonancia magnética nuclear (EchoMRI™), de la composición corporal de los animales al inicio y cada 15 días durante los 4 meses que duró el

estudio, para determinar los porcentajes de masa magra y grasa con respecto al peso del animal.

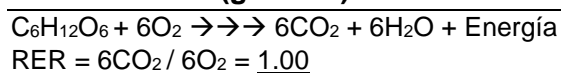
8.2 Determinación del coeficiente respiratorio

Se realizó calorimetría indirecta por medio del Sistema de Monitoreo de animales de laboratorio Oxymax (Columbus Instruments, Columbus OH). El gasto energético se deriva de la evaluación del intercambio de oxígeno por dióxido de carbono que ocurre durante el procesamiento metabólico de los alimentos. Para el ensayo, se mantuvieron a los animales en jaulas individuales durante 48 h. Las primeras 24 h fueron para aclimatar a los animales y evitar el menor estrés para estos, las otras 24 h se dividieron en 2 ciclos, 12 h de luz en ayuno y los animales se alimentaron con sus respectivas dietas en el ciclo de oscuridad. Se midió el consumo de oxígeno (O_2 , mL/kg/h), la producción de dióxido de carbono (CO_2 , mL/kg/h) durante lapsos de 90 s, con repeticiones en las mediciones a intervalos de 22 minutos.

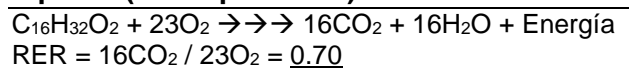
A partir de los datos de O_2 y CO_2 , se calculó la relación de intercambio respiratorio (RER) que se obtiene del cálculo de CO_2 producido/ O_2 consumido. Esta relación indica el tipo de sustrato que se está utilizando como fuente de energía. En el estado de ayuno hay una reducción de los niveles de glucosa en circulación por lo que el organismo comienza a oxidar predominantemente los lípidos, sin embargo, cuando ya hay disponibilidad calórica, durante el período postprandial, las células β pancreáticas responden al aumento de nutrientes, mediante la liberación de insulina en el torrente sanguíneo, suprimiendo la oxidación de lípidos y aumentando la absorción de glucosa. A este recambio de sustrato o coeficiente respiratorio se le denomina flexibilidad metabólica (Smith *et al.*, 2018).

Posterior a la obtención del valor del RER, se identificó la fuente de carbono que se estaba oxidando:

Carbohidratos (glucosa)



Lípidos (ácido palmítico)



8.3 Tolerancia a la glucosa

Las ratas machos Wistar se mantuvieron en un ayuno de 8 h. Posteriormente, a cada animal se le realizó una pequeña incisión en la vena coccígea para tomar muestras de sangre y medir la concentración de glucosa utilizando un glucómetro FreeStyle Optium (Abbot laboratories, AbbotPark, IL, EUA). Se midió la concentración basal de glucosa e inmediatamente en seguida, a cada animal se le administró por vía intraperitoneal una solución de glucosa filtrada a una dosis de 2 g/kg de peso corporal. Se tomaron muestras de sangre venosa a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos posterior a la infusión de glucosa para medir las concentraciones de glucosa en sangre total. Con los datos obtenidos de la prueba de tolerancia a la glucosa se graficaron las concentraciones de glucosa ajustadas por grupo y se determinó el área bajo la curva (ABC) por el método de los trapezoides.

8.4 Determinación de parámetros bioquímicos

Se practicó la eutanasia de los animales de experimentación empleados en el estudio después transcurridos los 4 meses del mismo. La sangre de los animales fue colectada a través de la vena cava inferior con una aguja heparinizada y se obtuvo el suero por centrifugación a 1.000 g durante 10 min a 4°C y se almacenó a -80°C hasta su análisis. Los sueros de los animales se utilizaron para cuantificar glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL por métodos enzimáticos colorimétricos mediante el uso del Autoanalizador Cobas c111 de Roche®. Los niveles de insulina y leptina se determinaron por medio de un kit de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) comercial (Alpco, EUA). Finalmente, se determinó la concentración plasmática de LPS mediante ELISA (Raybiotech—Cloud-Clon Corp, Houston, TX).

8.5 Evaluación de genes involucrados en el metabolismo de glucosa

8.5.1 Extracción de RNA

Se evaluó la abundancia de RNAm involucrados en la señalización de la insulina e inflamación en el tejido adiposo (TA) y músculo. Para ello, se extrajo el RNA total de las muestras de TA y músculo por medio del reactivo TRIzol de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, Carlsbad, CA). En un tubo se colocaron ~250 mg de TA o músculo con 1 mL de TRIzol. El tejido se homogeneizó completamente

utilizando el equipo TissueLyser (QIAGEN, Valencia, California) por 3 minutos. para las muestras de TA se realizó un paso extra, el cual consistió en centrifugar la muestra, después de la homogeneización con Trizol, a 12, 000 g por 10 minutos a 4°C para separar la grasa. Posteriormente, a cada muestra se le adicionó 200 µL de cloroformo, se agitó vigorosamente por 15 segundos y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugaron a 12, 000 g por 15 minutos a 4°C. Luego de centrifugar, se conservó la fase superior (incolora) que contenía el RNA y se transfirió a un nuevo tubo. Se añadió isopropanol en una relación 1:1 (~500 µL) para precipitar el RNA. Se incubó para el caso de TA toda la noche a -80°C y para el músculo 1 hora. El RNA se aisló por centrifugación a 12,000 g por 15 minutos a 4°C, se descartó el sobrenadante, y se realizaron 2 lavados con etanol al 75% en agua libre de nucleasas (Thermo Fisher, Scientific, UK). Finalmente, se eliminó el etanol del pellet y se disolvió el RNA en agua libre de RNasas.

8.5.2 Cuantificación del RNA y obtención del cDNA

Se cuantificó el RNA aislado usando el espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware) para evaluar la pureza por la relación 260/280 nm (~2) y contaminación por solvente con la relación 260/230 nm (1.8-2.2). Se evaluó la integridad del RNA utilizando electroforesis capilar (QIAxcel Advanced System, QIAGEN, Valencia, California) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

A partir del RNA obtenido (3000 ng/µL) se sintetizó mediante retrotranscripción utilizando la enzima transcriptasa inversa M-MLV (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU) siguiendo las instrucciones del fabricante y oligo (dT) 12-18 cebador (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.) en un MyCycler cycler térmica (BIO-RAD, California, U.S.A.) durante 60 min a 42 ° C y 5 min a 95 ° C.

8.5.3 Expresión génica por *RT-qPCR*

Para determinar la concentración de cDNA a utilizar se realizaron rangos dinámicos usando diluciones del cDNA en concentraciones de 3000, 600, 120, 24, 4.8 y 0.96 ng/µL para los genes de interés (GLUT-4, adiponectina, leptina, TLR4, TNFα, IRS-1) y para los estructurales usados (36B4 y GAPDH en tejido adiposo y actina en músculo). Para los genes GLUT-4, adiponectina, TLR4, TNFα se utilizó la dilución a 24 ng/µL y

para leptina, IRS-1 se utilizó 120 ng/ μ L, con sus respectivos estructurales, para realizar los ensayos por reacción de la cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR).

Para evaluar la expresión de los genes de interés, se determinó la expresión relativa por medio de *RT-qPCR* a través de un termociclador Roche LightCycler 480 II utilizando el sistema de SYBR Green (LightCycler 480 SYBR Green I Master, Penzberg, Upper Bavaria, Germany). El esquema de amplificación de PCR utilizado fue de 50°C durante 2 min, 95°C durante 10 min, y 45 ciclos de 94°C durante 15s seguido por 60°C durante 1 min. La expresión relativa se obtuvo por el cálculo de $2^{-\Delta\Delta CT}$.

8.6 Abundancia de proteínas involucradas en el metabolismo de glucosa, inflamación y metabolismo de lípidos.

8.6.1 Extracción de proteínas

Se extrajeron proteínas de TA, músculo e hígado. En un tubo se colocó ~200 mg de cada tejido, se añadió 200 μ L de RIPA activado con inhibidor de proteasas complete e inhibidor de fosfatasa (Roche Applied Science, Penzberg, Upper Bavaria, Germany). Se homogeneizó completamente el tejido utilizando el equipo TissueLyser por 3 minutos. La muestra se incubó en un homogeneizador rotatorio por 40 minutos. Se obtuvieron los extractos totales de proteínas por centrifugación a 12,000 g por 15 minutos a 4°C y se recuperó la fase superior. Se cuantificaron las proteínas por un ensayo fluorométrico por medio del kit de ensayo de proteína Qubit® de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

8.6.2 Western blot

Los extractos totales de proteína (30-40 μ g) de proteína, se separaron por electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS (7-10%) durante 30 min a 75 V y 150 min a 100V. A continuación, las proteínas se transfirieron, por electrotransferencia húmeda (100 V por 90 minutos), a una membrana de difluoruro de polivinilo, la cual se bloqueó durante 1 hora con albúmina al 3% en TBS 1X y 0.1% Tween, posteriormente se incubaron con los anticuerpos primarios en solución de TBS 1X y 0.1% Tween durante la noche a 4°C. Los anticuerpos primarios se detallan a continuación. Los blots se incubaron con anticuerpos secundarios anti-conejo (1:20 000) o anti-ratón (1:20 000)

conjugados con peroxidasa de rábano. Las imágenes de los blots fueron analizadas con el equipo ChemiDoc™ XRS y el Software System Image Lab™ se utilizó para calcular el área de cada una de las bandas. Se realizaron tres réplicas independientes de cada experimento y para el análisis se promediaron las áreas de las tres replicas para cada una de las proteínas estudiadas. Las áreas promediadas de cada proteína estudiada se normalizaron con respecto al área promedio de GAPDH. Además, se calculó la relación de las proteínas fosforiladas utilizando el cociente del área de la banda de las proteínas fosforiladas entre el área de la banda de las proteínas totales.

Anticuerpos primarios utilizados en el análisis de Western Blot

| Proteína | Dilución | Número de catálogo | Compañía |
|------------------------------|----------|--------------------|------------|
| TLR4 | 1:1000 | sc-293072 | Santa Cruz |
| NF- κ B total | 1:1000 | sc-372 | Santa Cruz |
| pNF- κ B (serina 536) | 1:5000 | ab86299 | Abcam |
| IRS total | 1:750 | sc-560 | Santa Cruz |
| pIRS (tirosina 896) | 1:2000 | ab4873 | Abcam |
| AKT total | 1:2500 | sc-8312 | Santa Cruz |
| pAKT (serina 473) | 1:5000 | sc7985-R | Santa Cruz |
| JNK total | 1:1000 | 06-748 | Millipore |
| pJNK (tirosina 185) | 1:1000 | sc-12883 | Santa Cruz |
| AGPAT | 1:2500 | PA5-38698 | Invitrogen |

8.7 Análisis histológico

Para determinar el tamaño de los adipocitos se realizaron histologías de TA. Posterior a la eutanasia de los animales de experimentación se removió el TA retroperitoneal y se fijó con formalina al 10%. Las muestras se colocaron en moldes separados para inclusión en parafina. Para la inclusión primero se deshidrataron las muestras con disoluciones con concentraciones crecientes de etanol (50%, 60%, 70%, 80%, 96% y 100%) durante 40 minutos para cada una de ellas. Posteriormente, se procedió a la diafanización (etanol/Xilol 1:1, Xilol 100%, Xilol 100%) durante 1 h en cada una de las disoluciones. Finalmente, las muestras se pasaron a parafina fundida a 60°C para su inclusión. Se procedió a realizar cortes de 4 μ m y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina.

Las imágenes se analizaron por medio de un microscopio Leica (Leica DM750 Wetzlar, Alemania). El área de los adipocitos se analizó por medio de AdipoSoft (ImageJ, 1.14 versión, NIH, Bethesda, MD, USA).

8.8 Extracción de triglicéridos y colesterol en tejido hepático

En un tubo se agregó ~100 mg de hígado de las ratas. Los lípidos totales fueron extraídos por el método de Folch, homogeneizando el tejido con cloroformo:metanol (2:1) y separando las tres fases por centrifugación: la fase líquida superior (acuosa) e inferior (orgánica) y la fase sólida intermedia. La fase superior se eliminó mediante decantación y se extrajo una vez más. La fase inferior se recuperó y se secó con nitrógeno. Los lípidos se disolvieron en 200 μ L de NP-40 al 5%. El colesterol y los triglicéridos se midieron con kits colorimétricos enzimáticos (ab65359 y ab65336).

8.9 Análisis estadístico

Los datos se mostraron como media \pm error estándar (EEM). El análisis de los mismos se realizó mediante un ANOVA de dos vías, seguido de la prueba de Tukey como prueba *pos hoc*. El nivel de significación (α) de la prueba se fijó a un valor de 0.05. Para esto se empleó el software estadístico Prism 7.0 (GraphPad Prism Software, San Diego, USA). La diferencia entre los grupos se indicó mediante letras.

IX. Resultados

9.1 Curva de crecimiento e ingesta de alimento

Para determinar si el consumo de manteca de cerdo o aceite de coco producían un efecto sobre el peso corporal, se calculó la ganancia de peso, obteniendo así la curva de crecimiento de los animales. Se encontró que el grupo alimentado con manteca de cerdo ganó significativamente más peso con respecto al grupo control (25%; $p=0.0201$) (**FIGURA 16A**), mientras que el grupo de ratas que consumió aceite de coco sólo ganó 2.6% (8 g) con respecto al grupo control. Las ratas mostraron un aumento del peso corporal como resultado del consumo de sacarosa o manteca de cerdo más sacarosa (**FIGURA 16A**), mientras que el grupo que consumió la DAG con aceite de coco más sacarosa ganó 15.19 % (46.75 g) similar al grupo control, sin diferencias estadísticamente significativas (**FIGURA 16B**). Para identificar si las diferencias en el peso corporal se debían a la ingesta de alimento, se calculó la ingesta calórica consumida por grupo con los datos de alimento consumido. Se encontró que la ingesta calórica fue similar entre los grupos experimentales (~113.57 kcal/día), y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con las diferentes grasas ni aquellos que tuvieron la combinación de grasa más sacarosa (**FIGURA 16C**).

9.2 Composición corporal

Para evaluar si el consumo de grasas saturadas influía en el porcentaje de masa magra y masa grasa, se determinó la composición corporal. El grupo que consumió la DAG con manteca de cerdo produjo un incremento de masa grasa (40.78%, $p<0.0001$) con respecto al grupo control (**FIGURA 17A**). De manera interesante el grupo que consumió la DAG con aceite de coco tuvo una ganancia de masa grasa similar al del grupo control (~23%), efecto similar a lo observado en el peso corporal (**FIGURA 17A**).

El grupo que consumió solo sacarosa aumento el 31.5% en masa grasa, pero el aceite de coco y manteca de cerdo con sacarosa fueron las que produjeron mayor aumento de masa grasa (61.3% y 94%) con respecto al grupo control (**FIGURA 17A**). Este cambio fue inversamente proporcional en la ganancia de masa magra (masa muscular), siendo los grupos control y aceite de coco los que produjeron mayor masa magra (~70%) y el grupo que consumió manteca de cerdo más sacarosa produjo una pérdida del 42.4% de masa magra con respecto al grupo control (**FIGURA 17B**).

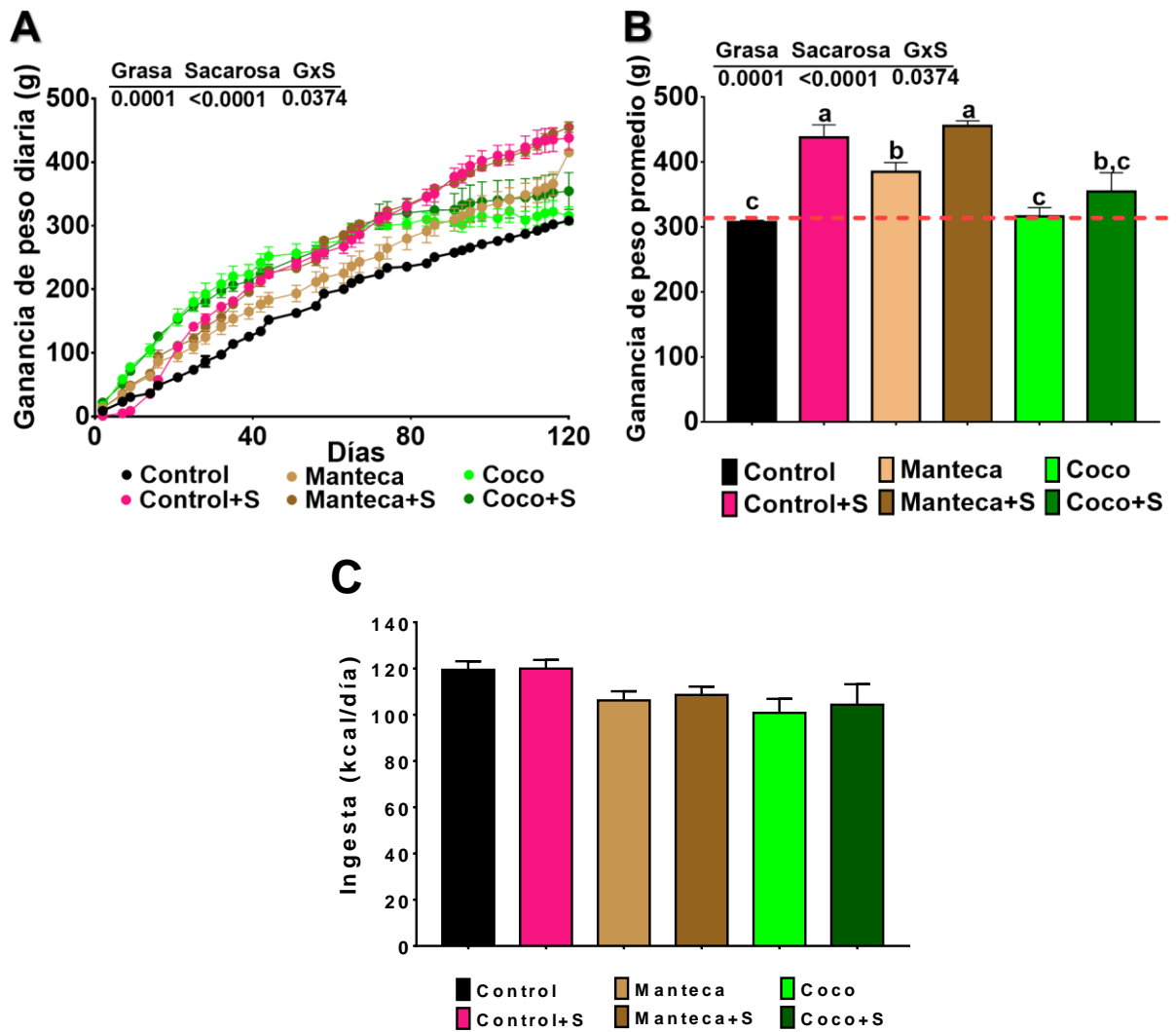


Figura 16. Curva de crecimiento de peso corporal y consumo de alimento. A) Ganancia de peso corporal diaria de ratas Wistar alimentadas con la dieta control (AIN-93M) y dietas altas en grasas con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin adición de sacarosa. B) Ganancia de peso promedio de los grupos experimentales al final del estudio (4 meses). C) Ingesta calórica promedio diaria de energía en kilocalorías por día. Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b > c$ $p < 0.05$); $n = 6$.

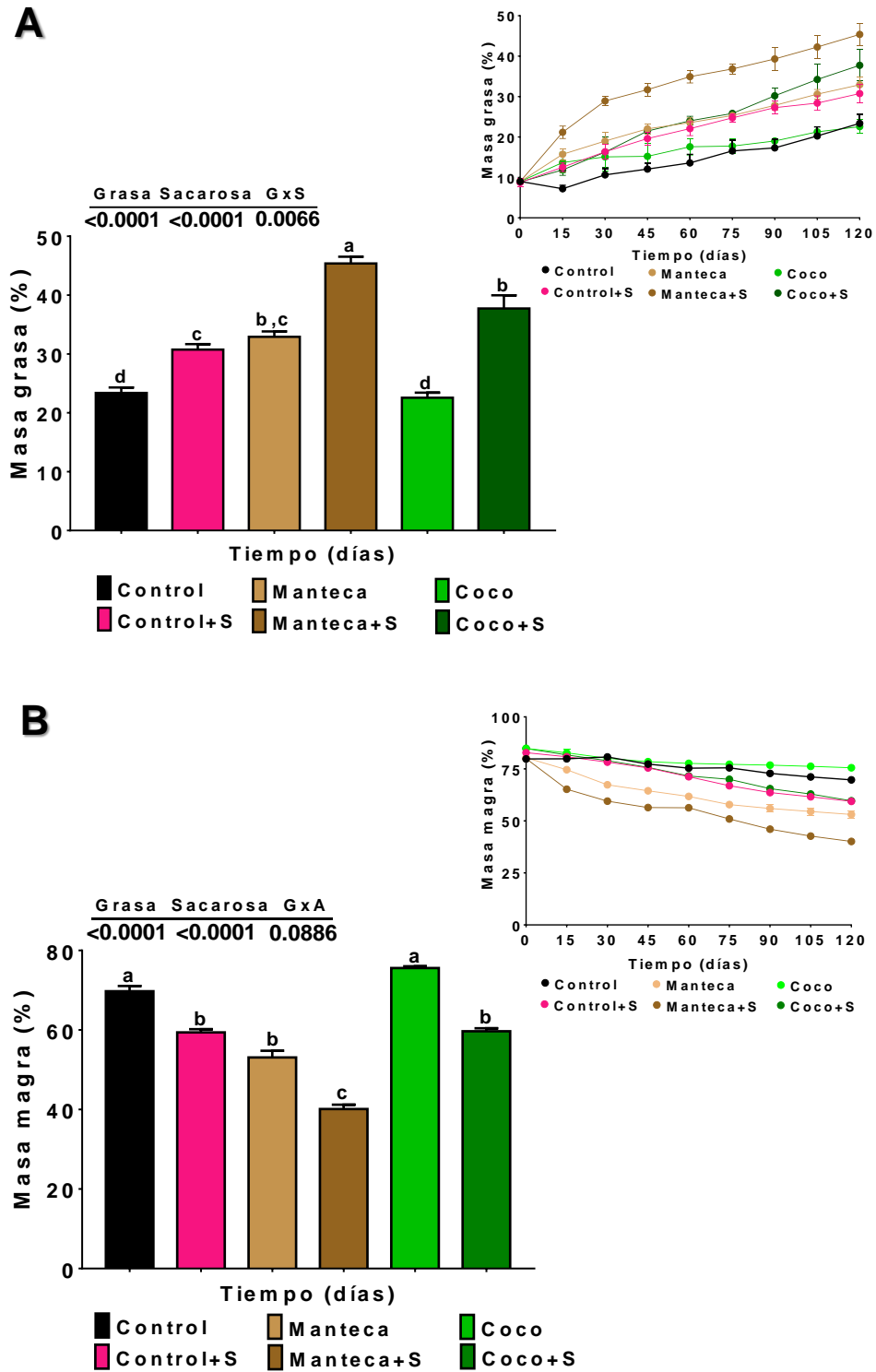


Figura 17. Composición corporal. Determinaciones del porcentaje de masa grasa (A) y magra (B) de ratas Wistar alimentadas con dieta control (AIN-93M) y dietas altas en grasa con manteca o aceite de coco con y sin sacarosa. Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a>b>c$; $p<0.05$); $n=6$.

9.3 Curva de tolerancia a la glucosa

Para conocer el efecto de las grasas saturadas o la sacarosa sobre la tolerancia a la glucosa, se realizó el test de tolerancia oral a la glucosa en los diferentes grupos de estudio. Se encontró que el grupo alimentado con aceite de coco logró disminuir gradualmente, y de forma similar al control, los niveles de glucosa plasmática hasta llegar cerca de sus niveles basales al transcurrir los 120 minutos de la prueba (**FIGURA 18A**). El grupo alimentado con manteca de cerdo no alcanzó a disminuir las concentraciones de glucosa plasmática a los niveles basales, sugiriendo una intolerancia a la glucosa (**FIGURA 18A**). En los grupos que ingirieron sacarosa y manteca de cerdo más sacarosa, también se observó intolerancia a la glucosa, sin embargo, de manera interesante se observó que el grupo que ingirió aceite de coco más sacarosa tuvo un comportamiento similar al grupo control (**FIGURA 18A**). Se determinó el ABC del test de tolerancia a la glucosa, y, se encontró que el grupo que consumió manteca de cerdo tuvo un incremento del 47.8% en el ABC con respecto al grupo control, mientras que los grupos que consumieron sacarosa o manteca de cerdo más sacarosa son los que tuvieron los valores mayores de ABC, con un incremento del 112.3% y 152.8% respectivamente con respecto al grupo control (**FIGURA 18B**). De manera interesante el grupo que consumió aceite de coco tuvo una mejor tolerancia a la glucosa, incluso con una reducción del 36.7% en el ABC con respecto al grupo control, mientras que la combinación con sacarosa produjo un ABC similar al grupo control (**FIGURA 18B**).

8.4 Parámetros bioquímicos séricos en ayuno

Para determinar el efecto del consumo de las grasas saturadas, solas y en combinación con sacarosa, se cuantificaron los niveles séricos de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, insulina y leptina al final del estudio. Los resultados obtenidos mostraron que el grupo que consumió manteca de cerdo produjo niveles de glucosa similares al grupo control, mientras que el grupo que consumió aceite de coco produjo un incremento de la concentración de glucosa sérica del 104.3% con respecto al grupo control (**TABLA 2**). El grupo de ratas que ingirió sacarosa indujo un incremento en las concentraciones de glucosa sérica de un 107% con respecto al control, mientras que el grupo que consumió aceite de coco más sacarosa

produjo un incremento de 104.8%, sin embargo, en el grupo que consumió manteca de cerdo más sacarosa se observó el mayor incremento de los niveles de glucosa con respecto al control, el cual fue de 152.2% (TABLA 2).

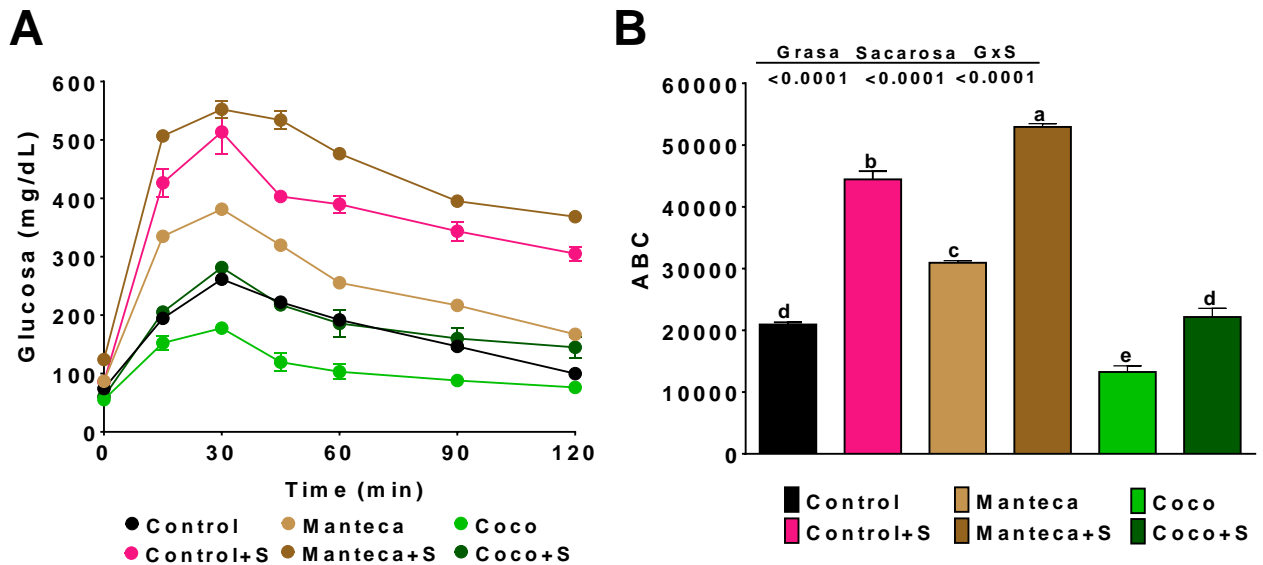


Figura 18. Tolerancia oral a la glucosa. Curva de tolerancia a la glucosa en ratas Wistar alimentadas con la dieta control (AIN-93M) y dietas altas en grasa con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa (A). Área bajo la curva de la curva de tolerancia a la glucosa (B). Los valores del ABC representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a>b>c>d>e$ $p<0.05$); $n=6$.

Con respecto a la concentración de triglicéridos en suero, se encontró que los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco presentaron niveles similares en la concentración de triglicéridos con respecto al grupo control sin diferencias estadísticamente significativas (TABLA 2). Interesantemente, los grupos que consumieron sacarosa o manteca de cerdo más sacarosa produjeron los mayores incrementos de triglicéridos (141.2% y 167.6% respectivamente).

Al determinar la concentración de colesterol total en suero en los grupos experimentales, se observó que los grupos que consumieron sacarosa o manteca de cerdo más sacarosa produjeron los mayores incrementos de colesterol total con respecto al grupo control (90.0% y 71.1% respectivamente) (TABLA 2). Para evaluar si las grasas saturadas influían en algún proceso aterogénico, se determinó la

concentración de colesterol LDL, se encontró que los grupos que consumieron aceite de coco o aceite de coco más sacarosa fueron los que produjeron los mayores incrementos (145.2% y 130.9% respectivamente) con respecto al grupo control (TABLA 2).

En lo que respecta a las concentraciones de insulina, el grupo que consumió manteca de cerdo presentó una concentración 12 veces mayor de insulina a la del grupo control. Los grupos que ingirieron sacarosa o manteca de cerdo más sacarosa produjeron hiperinsulinemia con un incremento de 25 y 30 veces más de insulina que el grupo control. Mientras que los grupos que consumieron aceite de coco o aceite de coco más sacarosa produjeron niveles de insulina similar al grupo control (TABLA 2).

Con respecto a la concentración de leptina, los grupos alimentados con manteca de cerdo o aceite de coco produjeron un aumento 4 veces mayor que el grupo control (~17 ng/mL), mientras que en el grupo que consumió sacarosa se duplicó la concentración de leptina plasmática con respecto al grupo control, y, en los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco más sacarosa las concentraciones de leptina aumentaron con respecto al grupo control en 9 y 7 veces, respectivamente (TABLA 2).

Tabla 2. Parámetros bioquímicos. Cuantificación de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, insulina y leptina en suero de ratas Wistar que consumieron una dieta control (C) o alta en grasa con manteca de cerdo (M) o aceite de coco (CC) con y sin la combinación de sacarosa (S) en el agua de beber.

| Tratamiento | C | C+S | M | M+S | CC | CC+S | P valor | | |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|----------|---------|
| | | | | | | | Grasa | Sacarosa | G x S |
| Glucosa (mg/dL) | 69.2±1.4 ^c | 143.4±3.5 ^b | 93.5±3.6 ^c | 174.7±7.1 ^a | 141.5±10.0 ^b | 141.9±5.1 ^b | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Triglicéridos (mg/dL) | 65±1.23 ^c | 156.8±4.9 ^b | 66.5±8.4 ^c | 239±11.8 ^a | 84.1±15.4 ^c | 63.0±8.3 ^c | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Colesterol total (mg/dL) | 53.1±0.8 ^b | 101.4±4.88 ^a | 50.4±7.55 ^b | 90.9±2.3 ^a | 45.8±1.5 ^b | 46.9±3.0 ^b | <0.0001 | <0.0001 | 0.0003 |
| Colesterol LDL (mg/dL) | 4.2±0.08 ^c | 6.9±0.5 ^b | 4.15±0.7 ^c | 9.6±0.4 ^b | 14.5±1 ^a | 13.9±1.1 ^a | <0.0001 | 0.0003 | 0.0016 |
| Insulina (ng/mL) | 0.2±0.01 ^e | 5±0.2 ^b | 2.4±0.1 ^c | 6.7±0.2 ^a | 1.3±0.2 ^d | 1±0.1 ^{d,e} | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Leptina (ng/mL) | 3.92±0.08 ^e | 9.47±0.42 ^d | 17.57±0.24 ^c | 35.62±1.11 ^a | 16.67±1.06 ^c | 25.95±1.73 ^b | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

Los resultados se expresan como media ± EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (a>b>c>d>e p<0.05); n=6.

9.5 Evaluación del gasto calórico y coeficiente respiratorio

9.5.1 Coeficiente de intercambio respiratorio (RER)

Para evaluar el proceso de oxidación de los nutrientes e identificar el sustrato que se metaboliza si se ingiere una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco, sola o en combinación con sacarosa, se calculó el RER con los datos de volumen de oxígeno y dióxido de carbono. En la **FIGURA 19A** el área sombreada representa el RER durante la noche, período en el que los animales ingirieron alimento, mientras que en la **FIGURA 19B** se presentan los promedios de RER por grupo durante el periodo del día (ayuno) y en la noche (postpandrio). Durante el período de ayuno se observó que todos los grupos tuvieron un RER de ~ 0.73 y no hubo diferencias ($p=0.604$) entre ellos, por lo que al estar sin ingesta de alimentos, el sustrato a utilizar para su metabolismo energético basal eran los lípidos. Mientras que en el período de postpandrio se encontró que el grupo control aumentó su RER a 0.98, pero los grupos que ingirieron manteca de cerdo o aceite de coco aumentaron a un RER similar (0.78 y 0.80 respectivamente), lo que podría sugerir una inflexibilidad metabólica al no poder cambiar de sustrato, siendo los carbohidratos la primera fuente de energía en presencia de alimento. Al analizar el grupo que ingirió sacarosa se encontró una ligera reducción del RER a 0.92, de manera interesante los grupos que consumieron aceite de coco más sacarosa tuvo un RER de 0.80, mientras que los que consumieron manteca de cerdo más sacarosa tuvieron el menor valor de RER de 0.72 (**FIGURA 19B**).

6.5.2 Volumen de oxígeno

Además del RER también se determinó el volumen de oxígeno por kilogramo de peso corporal en los animales, ya que esto daría una medida de la tasa de oxígeno consumido para la oxidación de sustratos después de ingerir los diferentes tipos de grasa asociadas o no a sacarosa. En la **FIGURA 19**, en los paneles **C Y D** se muestran los datos divididos por períodos de ayuno y nocturno (área sombreada). Al analizar los datos por períodos, se encontró que durante el ayuno sólo el grupo que consumió manteca de cerdo más sacarosa tuvo el nivel más bajo de oxígeno consumido (760.52 mL/kg/h), mientras que entre los otros grupos experimentales no hubo diferencias estadísticamente significativas, teniendo un consumo de VO_2 similar (~ 1060 mL/kg/h).

En lo que respecta al período postprandial se encontró que el grupo que consumió manteca de cerdo más sacarosa fue el que tuvo el menor consumo de oxígeno (967.35 mL/kg/h). Este resultado se relaciona con que también este grupo no sufrió un cambio en su RER, lo que sugirió que los animales que consumieron manteca de cerdo más sacarosa tienen la capacidad de oxidar sustratos de manera ineficiente, y presentan inflexibilidad metabólica. Por otro lado, los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco o aceite de coco más sacarosa o sacarosa tuvieron una reducción del ~50% del consumo del VO_2 (~1300 mL/kg/h) con respecto al grupo control (2300 mL/kg/h).

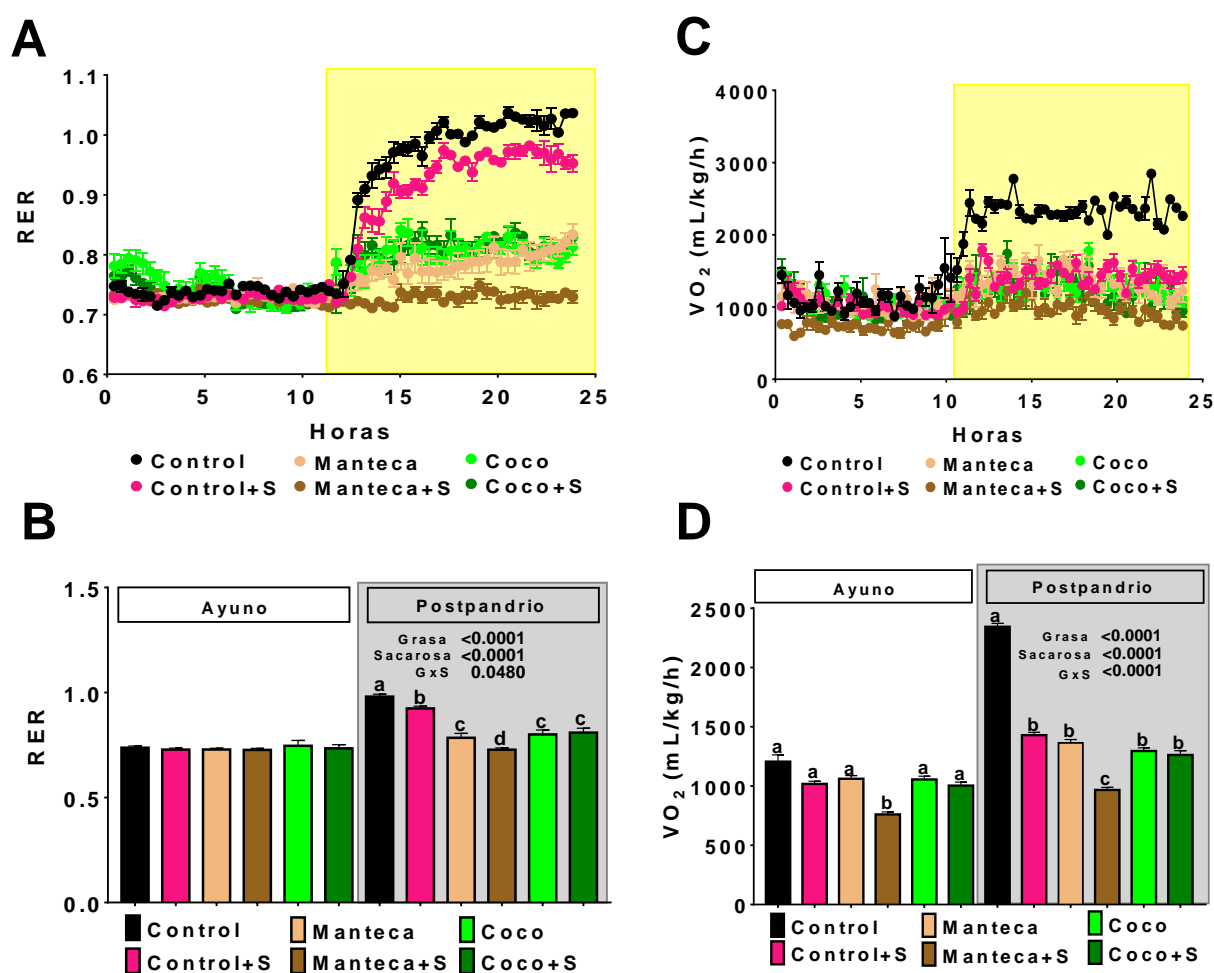


Figura 19. Coeficiente de intercambio respiratorio y tasa de oxígeno consumido mediante calorimetría indirecta. Coeficiente de intercambio respiratorio (RER) y promedio del RER en ratas Wistar alimentadas con dieta control (AIN-93M) y dietas altas en grasa con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa (A y B). Consumo del volumen de

oxígeno (VO₂) y promedio del VO₂ de los diferentes grupos experimentales (C y D). Los valores representan la media ± EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (a>b>c p<0.05); n=6.

9.6 Endotoxemia metabólica

Para evaluar si la ingesta de grasas saturadas, solas o en combinación con sacarosa inducían endotoxemia metabólica, se determinó la concentración de LPS en circulación. Los grupos alimentados con manteca de cerdo o aceite de coco presentaron un incremento similar en la concentración de LPS en circulación (83.3 y 113.4 veces más, respectivamente) con respecto al grupo control. Sin embargo, de manera interesante el grupo que consumió sacarosa presentó 330.7 veces más LPS séricos que en el grupo control, y la combinación de ambas grasas saturadas con sacarosa fueron las que produjeron los aumentos mayores de LPS (760.6 y 840.6 respectivamente) (FIGURA 20).

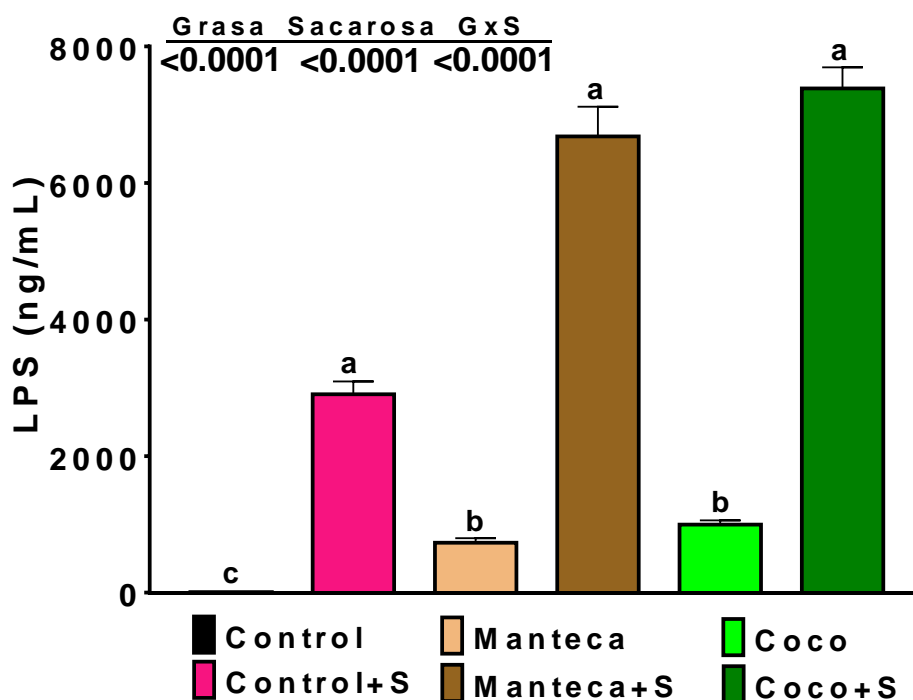


Figura 20. Concentración de LPS en circulación. Concentración de lipopolisacárido en suero de ratas Wistar alimentadas con la dieta control o una dieta alta en grasa con manteca o aceite de coco con y sin sacarosa. Los datos se muestran como media ± EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (a>b>c p <0.05); n=6.

9.7.1 Evaluación del transportador de glucosa (GLUT4), adiponectina y leptina en tejido adiposo

Para identificar si las dietas con manteca de cerdo o aceite de coco, solas o en combinación con sacarosa influían en el transporte de glucosa y en la liberación de citocinas en el TA, se evaluó la expresión relativa del RNAm de GLUT4, adiponectina y leptina en TA. En los grupos que consumieron aceite de coco o aceite de coco más sacarosa aumentó la expresión de GLUT-4 y el grupo que consumió sacarosa también estimuló la expresión de este transportador, aumentando su expresión 2 veces más con respecto al grupo control (**FIGURA 21**). En el caso de la expresión de leptina, se encontró que en los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco se duplicó la expresión de leptina con respecto al grupo control. Sin embargo, la combinación de las grasas con la sacarosa incrementó 2 veces más la expresión de leptina con respecto al grupo control, de manera interesante estos dos grupos también fueron los que sufrieron una mayor ganancia de masa grasa (**FIGURA 21**). En lo que respecta a la expresión de adiponectina se encontró que en los grupos que consumieron sacarosa o la DAG con manteca de cerdo se redujo la expresión de adiponectina, pero de manera relevante fue el grupo que consumió la combinación de manteca de cerdo más sacarosa el que produjo la menor reducción en la expresión de esta citocina proinflamatoria (**FIGURA 21**).

9.7.2 Abundancia de proteínas involucradas en la señalización de la insulina en tejido adiposo

Para determinar si la ingesta de la manteca de cerdo o aceite de coco inducían cambios en la señalización de la insulina, se evaluó la abundancia de las proteínas relacionadas con la vía de señalización de la insulina (IRS-1 y AKT). Para ello se obtuvo extracto total de proteínas de TA retroperitoneal y se transfirieron a membranas de difluoruro de polivinilo para realizar las inmunodetecciones empleando los anticuerpos anti-IRS-1, anti-IRS-1 fosforilada en el residuo de tirosina 896 (pT896^{IRS1}), anti-AKT y anti-AKT fosforilada en el residuo de serina 473 (pS473^{AKT}). En estos ensayos se inmunodetectaron bandas que corresponden a las proteínas analizadas en los pesos moleculares, correspondientes a 180 kDa para la proteína IRS y de 56 kDa para la proteína AKT.

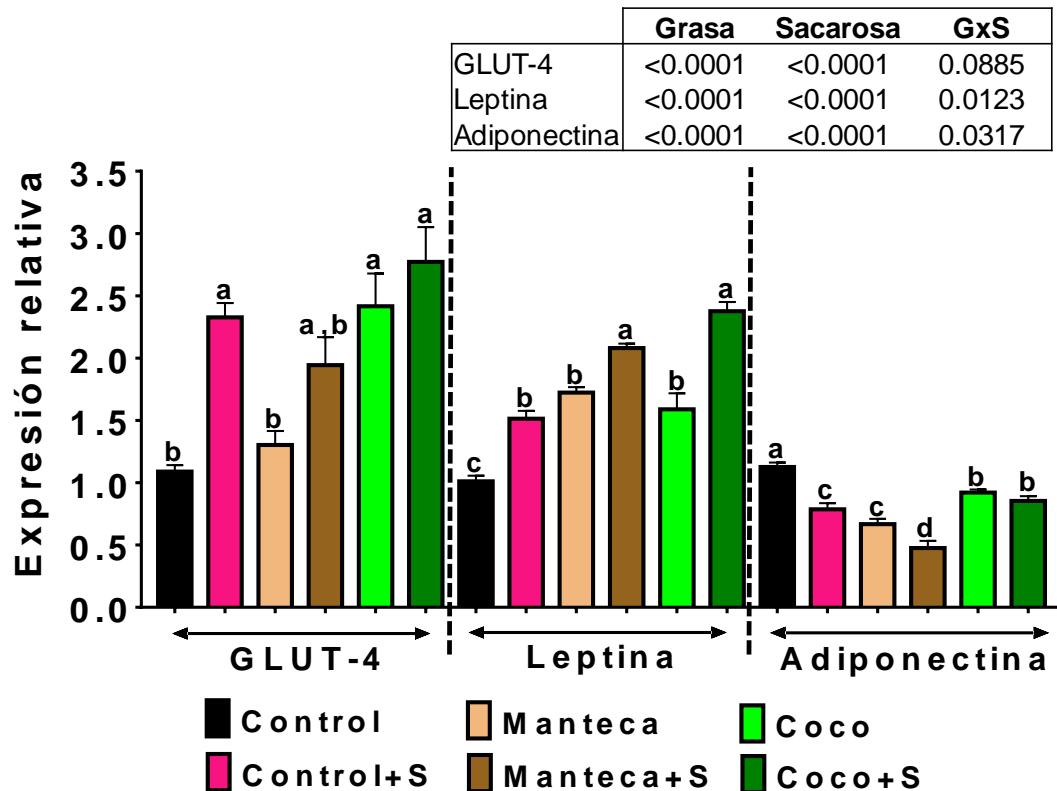


Figura 21. Cuantificación relativa de la expresión del transportador de glucosa (GLUT4), adiponectina y leptina en tejido adiposo retroperitoneal de ratas Wistar. [RNA: 3000 ng/ μ L]; los datos se normalizaron con la expresión relativa de 36B4 y GAPDH. Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (a>b>c p <0.05); n=6.

En el caso del grupo de ratas que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco presentaron una disminución en la intensidad de las bandas detectadas para las formas fosforiladas de la proteína IRS-1 (fosforilación en el residuo de tirosina en la posición 896, pT896^{IRS1}), las cuales corresponden a su forma activada (FIGURA 22 A). Lo mismo sucedió después del consumo de sacarosa, sola y en combinación con ambas grasas saturadas (FIGURA 22B). Al analizar el cociente del área de las bandas inmunodetectadas correspondientes a la forma activa de IRS-1 (pT896^{IRS1}) entre el área de la proteína IRS-1 total, se encontró que el grupo que consumió manteca de cerdo disminuyó 2 veces la abundancia de pT896^{IRS1} con respecto al grupo control, mientras disminuyó 4 veces en el grupo que consumió aceite de coco (FIGURA 22C). Se encontró que las ratas que ingirieron sacarosa o manteca de cerdo con sacarosa tuvieron un comportamiento similar disminuyendo la abundancia de pT896^{IRS1} (2

veces) con respecto al control, sin embargo, la dieta con aceite de coco más sacarosa fue 8 veces menor a la del grupo control (**FIGURA 22C**).

Se observó para el caso de la proteína AKT fosforilada (fosforilación en el residuo de serina en la posición 473, pS473^{AKT}), que representa la forma activa, la presencia de dos bandas en todos los grupos de experimentación correspondientes a las isoformas fosforiladas en los pesos moleculares 56 y 62 kDa (**FIGURA 22 A Y B**). En lo que respecta a la activación de AKT (pS473^{AKT}) se evaluó el área de las bandas inmunodetectadas y se calculó el cociente entre el área de la señal de la forma activada de la proteína AKT (pS473^{AKT}) y la proteína total, encontrado que el grupo que consumió manteca de cerdo presentaron una ligera disminución en la abundancia de pS473^{AKT}, mientras que en el grupo que consumió aceite de coco fue 2 veces menor con respecto al control (**FIGURA 22D**). Sin embargo, fueron los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco con sacarosa los que presentaron una mayor disminución (3 y 6 veces menos con respecto al control) (**FIGURA 22D**).

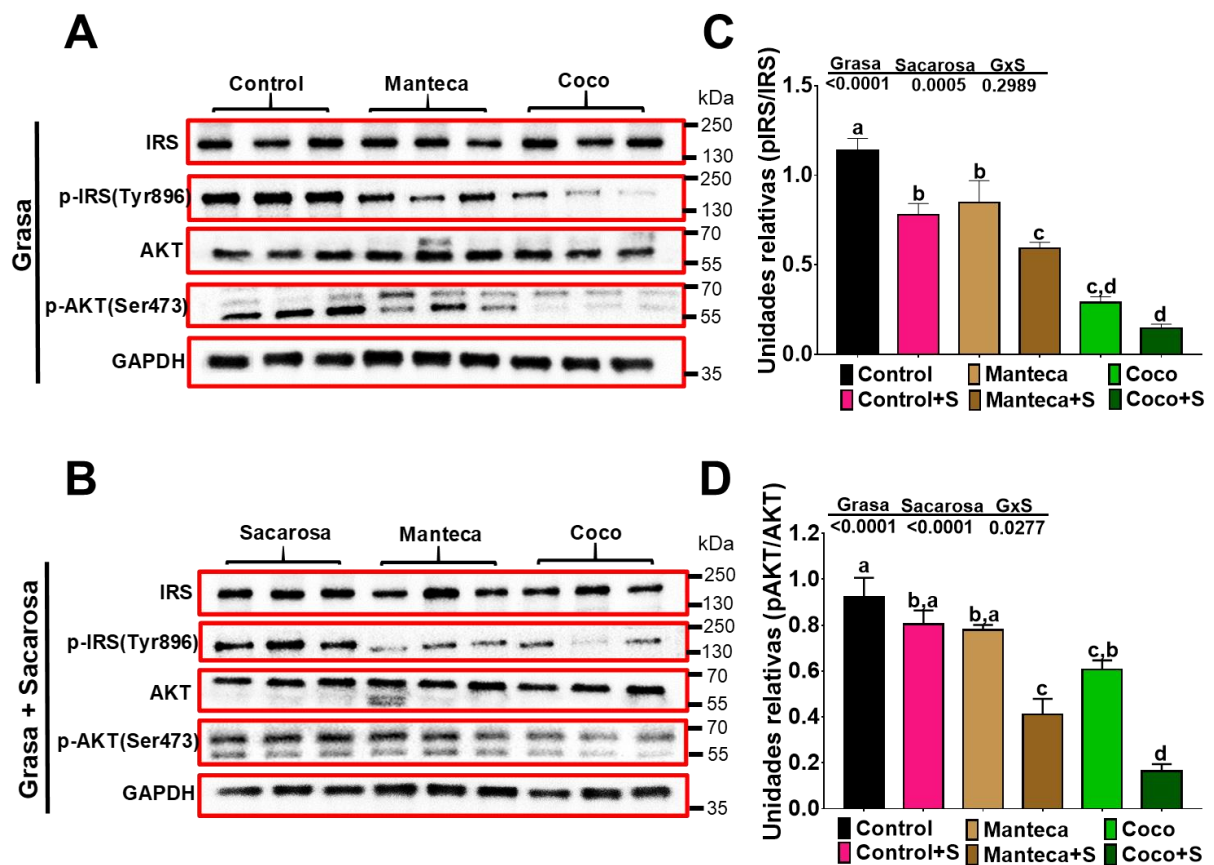


Figura 22. Abundancia relativa de proteínas involucradas en la vía de señalización de insulina en el tejido adiposo retroperitoneal. Blots correspondientes a los pesos moleculares de las proteínas IRS, IRS fosforilada en el residuo de tirosina en la posición 896, AKT, AKT fosforilada en el residuo de serina en la posición 473 en ratas alimentadas con la DAG con manteca de cerdo o aceite de coco (A) y en combinación con sacarosa (B); Análisis de densitometría se utilizó para calcular el cociente entre la proteína fosforilada de IRS e IRS total (C) y la proteína fosforilada de AKT y AKT total (D). Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a>b>c>d$ $p < 0.05$); $n=6$.

9.8 Marcadores de inflamación en el tejido adiposo

Debido a que se observaron cambios en la concentración de LPS en suero entre los grupos experimentales, se evaluó la expresión mediante RT-qPCR y la abundancia de proteína mediante Western Blot de marcadores de inflamación: TLR4, NF κ B, JNK y TNF α . Estas proteínas están involucradas en la activación de una respuesta inflamatoria mediada por LPS, además, están involucradas en disminuir la forma activa de IRS (pT896^{IRS1}), inactivando la vía de señalización de la insulina.

Al evaluar la expresión mediante RT-qPCR del receptor TLR4, se encontró que los grupos que consumieron sacarosa, manteca de cerdo o aceite de coco presentaron 2 veces más expresión de TLR4 que el grupo control, mientras que la combinación de manteca de cerdo o aceite de coco con sacarosa produjo un aumento en la expresión de TLR4 (~6 veces) más con respecto al grupo control (**FIGURA 23**). Al analizar la expresión de TNF α se encontró un comportamiento similar a la expresión de TLR4, siendo los grupos que ingirieron la combinación de las grasas saturadas más sacarosa las que incrementaron ~5 veces más la expresión de TNF α que el grupo control (**FIGURA 23**).

Posteriormente, se evaluó la abundancia de proteínas involucradas en la respuesta inflamatoria en TA mediante Western blot, para ello se emplearon los anticuerpos anti-TLR4, anti-JNK, anti-JNK fosforilado en el residuo de tirosina en la posición 185 (pTyr185), anti-NF κ B y anti-NF κ B fosforilada en el residuo de serina en la posición 536 (pS536). El receptor TLR4 se inmunodetectó en una banda que corresponde al peso molecular de 95 KDa, la cual disminuyó en los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco (**FIGURA 24A**), y esta disminución se observó más evidente en los blots de los grupos que consumieron la combinación de las grasas saturadas con la sacarosa (**FIGURA 24B**).

| | Grasa | Sacarosa | GxS |
|--------------|---------|----------|---------|
| TLR4 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| TNF α | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

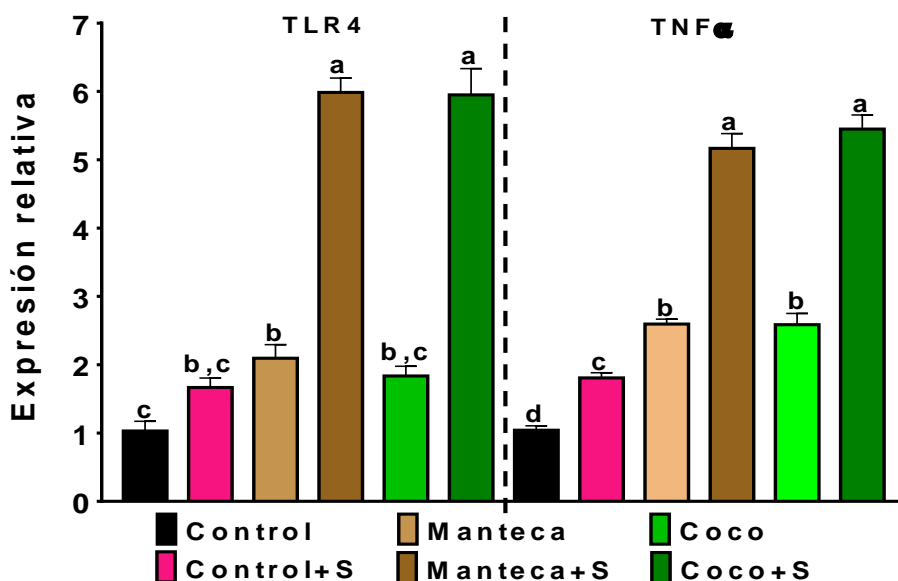


Figura 23. Cuantificación relativa de la expresión del receptor tipo toll tipo 4 (TLR4) y el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF α) en tejido adiposo retroperitoneal. [RNA: 3000 ng/ μ L]; los datos se normalizaron con la expresión relativa de 36B4 y GAPDH. Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a>b>c$ $p < 0.05$); $n=6$.

Se realizó un análisis de densitometría de las bandas inmunodetectadas y con los datos obtenidos se calculó la abundancia del receptor TLR4 normalizado con la abundancia de GAPDH, mostrando que las ratas que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco produjeron un aumento de ~ 4 veces de TLR4 con respecto al grupo control (**FIGURA 24C**). Sin embargo, los grupos que consumieron sacarosa o las combinaciones de manteca de cerdo o aceite de coco más sacarosa produjeron un aumento de ~ 8 veces más con respecto al grupo control (**FIGURA 24C**). Cuando se analizó las bandas inmunodetectadas de NF κ B, que correspondían a una proteína de peso molecular de 60 kDa, no se observó diferencia en la abundancia de las bandas inmunodetectadas (**FIGURA 24 A Y B**). Sin embargo, al observar la fosforilación de NF κ B (fosforilación en el residuo de serina 536), que es la forma activa, se ve un aumento en la intensidad de las bandas de las ratas que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco (**FIGURA 24A**) y siendo más abundante en los grupos que

consumieron la combinación de las grasas saturadas y sacarosa (FIGURA 24B). Este aumento en la intensidad de las bandas se corroboró al hacer el cálculo del cociente de la forma fosforilada de $\text{NF}\kappa\beta$ y la proteína total (FIGURA 24D). Finalmente, el grupo que consumió manteca de cerdo o manteca de cerdo con sacarosa produjo un aumento mayor y significativo en la abundancia de la proteína JNK fosforilada en el residuo de tirosina en la posición 185, que corresponde a su forma activa (FIGURA 24D), ya que la banda que corresponde a la proteína se observó enriquecida en un peso de 54 kDa.

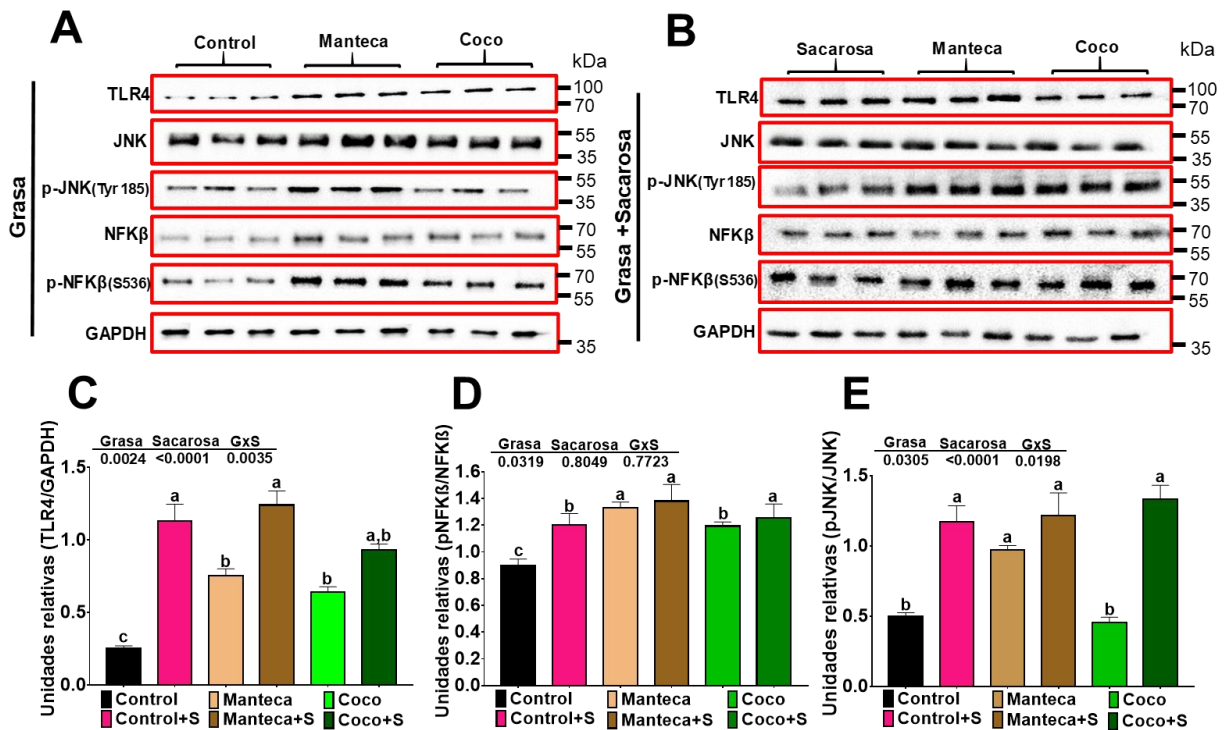


Figura 24. Abundancia relativa de proteínas y expresión génica de marcadores de inflamación en tejido adiposo blanco. Evaluación de TLR4, $\text{NF}\kappa\beta$ (pS536), JNK, JNK (pTyr185) en ratas Wistar alimentadas con una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco (A) y en combinación con sacarosa (B); análisis densitométrico de las bandas para obtener la abundancia relativa de TLR4 (C); relación $\text{NF}\kappa\beta$ fosforilado/ $\text{NF}\kappa\beta$ total (D); relación JNK fosforilado/JNK total (E). Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b > c$ $p < 0.05$); $n=6$.

8.9 Tamaño de los adipocitos

Para evaluar si el consumo de las grasas saturadas, solas o en combinación con sacarosa inducían cambios en la morfología y en el tamaño de los adipocitos, se evaluó mediante la tinción de Hematoxilina-Eosina la morfología de los adipocitos y para analizar su tamaño se determinó el diámetro de los mismos. Se observó en las histologías mediante microscopía, que el grupo que consumió manteca de cerdo tenían adipocitos de mayor dimensión con respecto al grupo control (**FIGURA 25A**), pero los grupos que consumieron sacarosa sola, y en combinación con la manteca de cerdo tuvieron adipocitos más grandes (**FIGURA 25 A Y B**). El grupo control presentó en promedio un tamaño del adipocito de aproximadamente $4142.06 \mu\text{m}^2$, mientras que el grupo que consumió manteca de cerdo produjo un aumento de 2 veces más el tamaño de los adipocitos (**FIGURA 25B**). Los grupos que consumieron aceite de coco con y sin sacarosa no produjeron un cambio significativo en el tamaño de los adipocitos con respecto al control. Por otro lado, los grupos que consumieron sacarosa y con manteca de cerdo con sacarosa mostraron los mayores tamaños de adipocitos, de aproximadamente 2.5 y 3 veces más en comparación con el grupo control (**FIGURA 25B**).

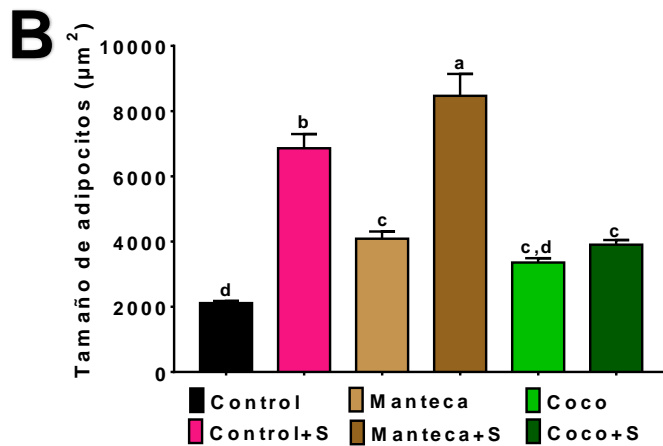
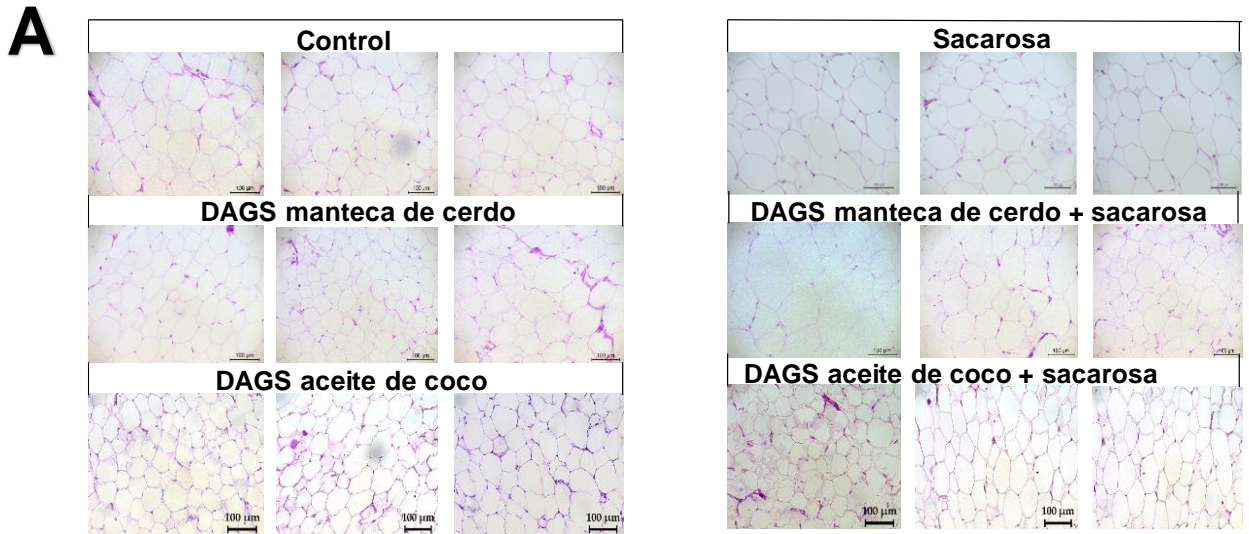


Figura 25. Morfología y tamaño de los adipocitos del tejido adiposo retroperitoneal. Tinción con hematoxilina-eosina (HE) de tejido adiposo blanco de ratas alimentadas con una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa (A); Promedio del diámetro de los adipocitos dados por el análisis en el software Adiposoft por cada grupo experimental (B). Los valores del diámetro de los adipocitos representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b > c$ $p < 0.05$); $n=6$

8.10 Señalización de insulina en músculo

De los resultados obtenidos en TA sobre la señalización de insulina y la disminución en la activación de IRS y AKT por efecto del consumo de aceite de coco, decidimos ver si este efecto también estaba presente en músculo, debido a que hay evidencias que señalan que una DAG con AGCL induce resistencia a la insulina en músculo (Turner *et al.*, 2009). Al hacer el ensayo de western blot para evaluar la abundancia de las proteínas IRS-1 y AKT totales y en sus formas fosforiladas (IRS en el residuo de tirosina 896 y AKT en el residuo de serina 473), que representan su forma activa, se observó que una reducción en la intensidad de las bandas que correspondían a la proteína activa de IRS-1 (pT896^{IRS1}) con un peso molecular de 180 kDa de los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco (**FIGURA 26A**). Esta reducción en la intensidad se intensificó en los grupos que consumieron la combinación de las grasas saturadas con la sacarosa (**FIGURA 26A**). Al hacer el cálculo del cociente entre la abundancia de la proteína IRS-1 fosforilada en el residuo de tirosina 896 e IRS-1 total se encontró una reducción estadísticamente significativa en los grupos que consumieron manteca de cerdo o aceite de coco en combinación con sacarosa (**FIGURA 26B**). Lo mismo se observó al calcular el cociente entre la abundancia de la proteína AKT fosforilada en el residuo de serina 473 y AKT total, al haber una reducción en la intensidad de las bandas inmunodetectadas correspondientes a la proteína AKT en un peso molecular de 56 kDa (**FIGURA 26C**).

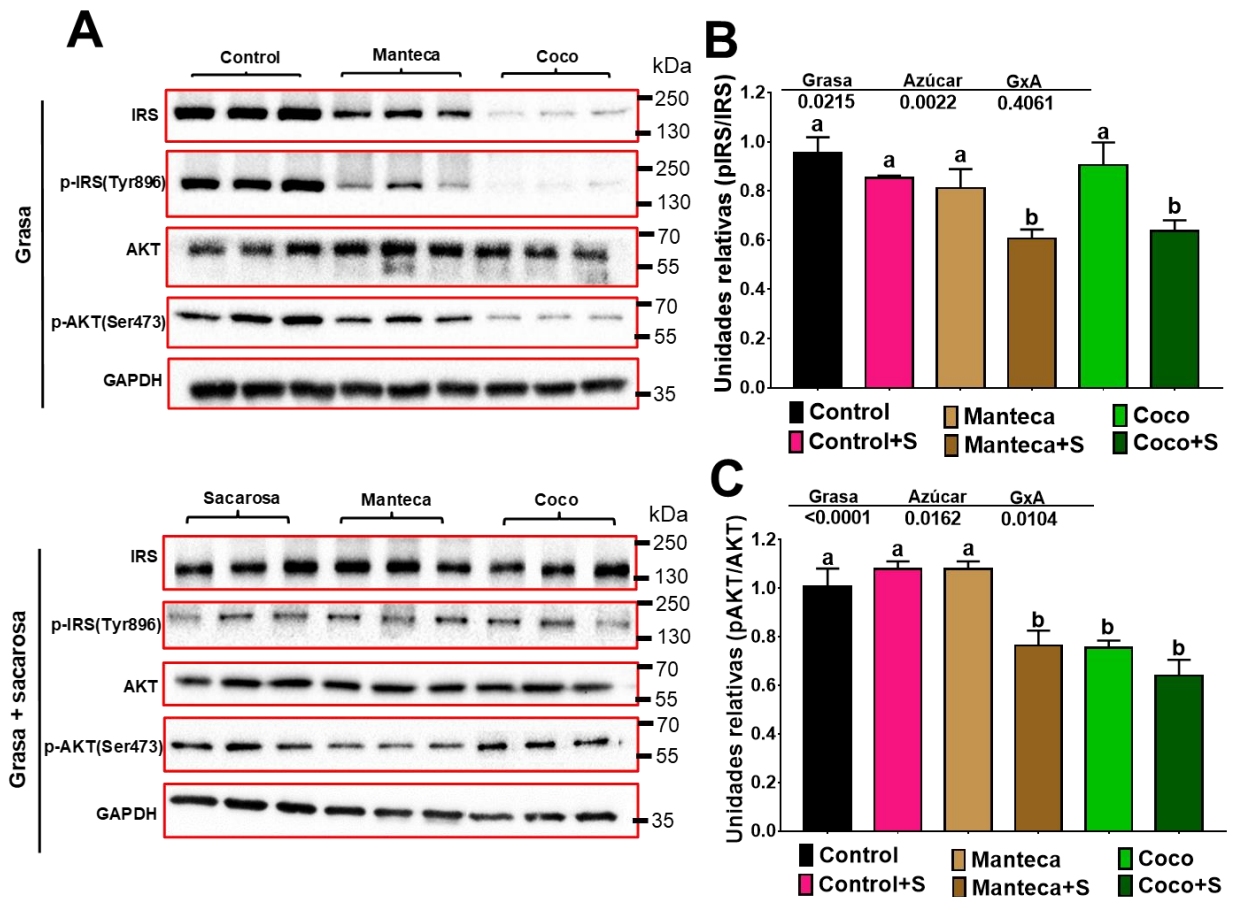


Figura 26. Abundancia relativa de proteínas involucradas en la vía de señalización de insulina en músculo esquelético. Análisis de las proteínas IRS, IRS (pTyr263), AKT, AKT (pSer473) en ratas alimentadas con una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa (A); análisis de densitometría permitió calcular la relación AKT fosforilado/AKT total (B); relación IRS fosforilado/IRS total (C). Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b$ $p < 0.05$); $n = 6$

Debido a que observamos en el análisis de Western blot una variación en la abundancia de la proteína IRS-1 total, al observar cambios en la intensidad de las bandas por los grupos de experimentación, que correspondía al peso molecular de 180 kDa, quisimos analizar si esta variación podría deberse a cambios a nivel transcripcional del gen *irs-1*, para ello se cuantificó la expresión relativa del RNAm de *irs-1* en músculo. De manera interesante, al analizar la expresión relativa mediante RT-RT-qPCR, se encontró que la cuantificación de la expresión relativa del mRNA del gen

irs-1 en el grupo que consumió aceite de coco fue 3 veces menor a la del grupo control (FIGURA 27).

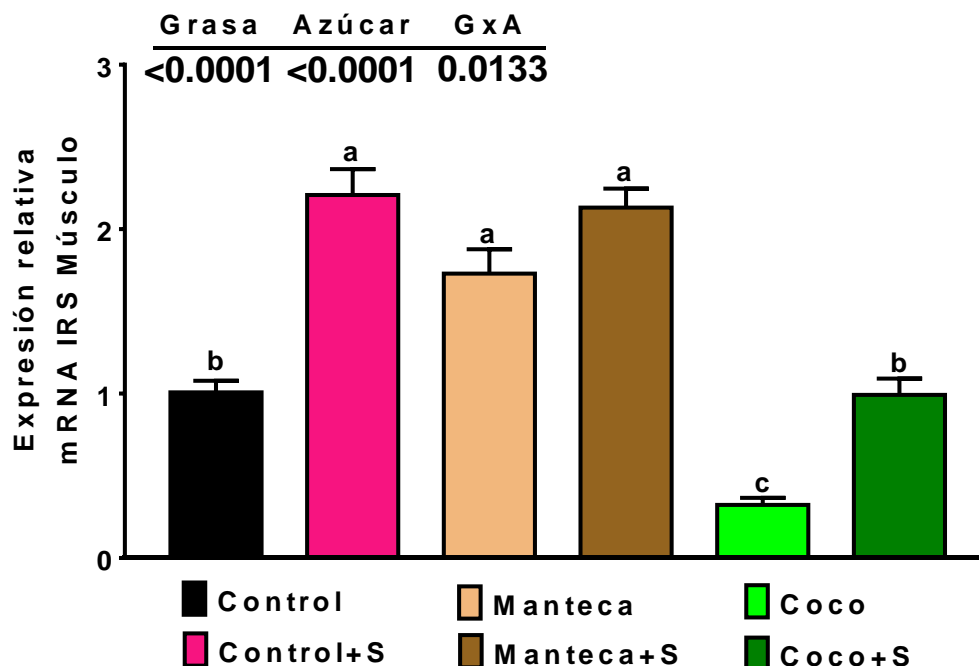


Figura 27. Cuantificación de la expresión relativa del gen que codifica para el receptor del sustrato de insulina (IRS) en músculo de ratas Wistar. [RNA: 3000 ng/ μ L]; los datos se normalizaron con la expresión relativa de actina y GAPDH. Los valores representan la media \pm EEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b > c$; $p < 0.05$); $n = 6$

8.11 Síntesis de triglicéridos en tejido adiposo e hígado

Debido a que observamos que las dietas con aceite de coco con y sin sacarosa producían el mayor aumento en las concentraciones de colesterol LDL, quisimos determinar si había un aumento en la concentración de triglicéridos y colesterol almacenados en el hígado y como se comportaba la síntesis de TAG en tejido adiposo e hígado, para ello se cuantificó la abundancia de una de las enzimas que participan en la vía fosfato de glicerol, la enzima 1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa (AGPAT), debido a que un incremento en la expresión de esta enzima se ha relacionado con complicaciones metabólicas asociadas a resistencia a la insulina, alteración en la tolerancia oral a la glucosa, diabetes, hipertrigliceridemia y esteatosis hepática en etapas tempranas (Cortés *et al.*, 2009). Al evaluar la concentración de triglicéridos en hígado se encontró que fueron las ratas que consumieron aceite de coco sin y con

sacarosa las que produjeron un aumento de aproximadamente 2.5 y 3 veces más con respecto al grupo control (FIGURA 28A). En lo que respecta a la concentración de colesterol los grupos que consumieron sacarosa, aceite de coco con y sin sacarosa fueron los que produjeron los mayores niveles con respecto al grupo control (FIGURA 28B).

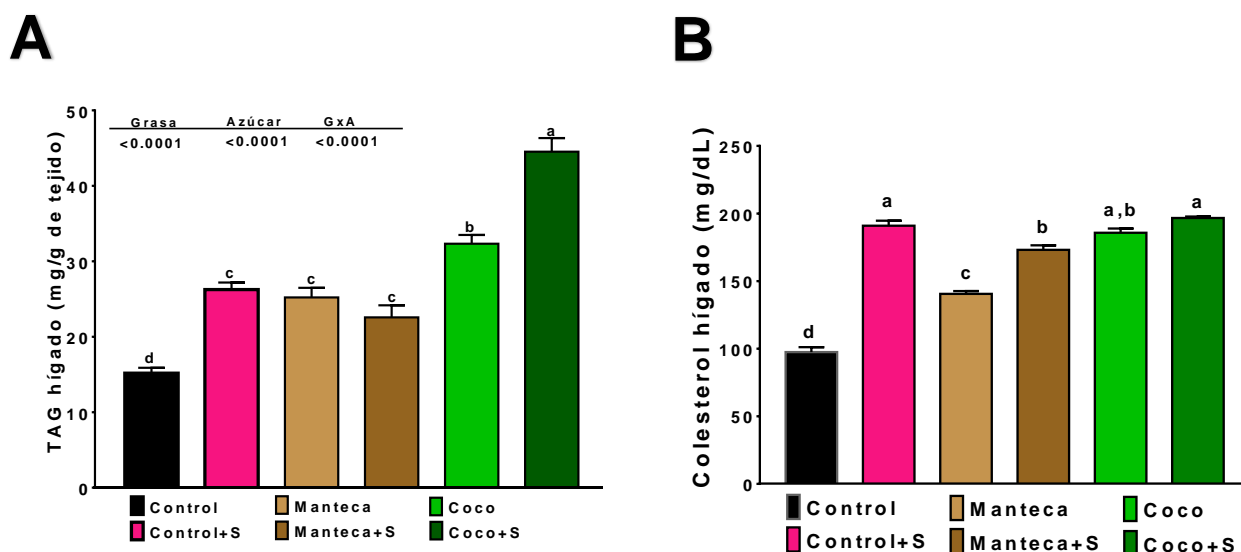


Figura 28. Cuantificación de triglicérido y colesterol hepáticos de ratas Wistar. Concentración de triglicéridos en hígado de ratas Wistar alimentadas con una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa (A); cuantificación de colesterol en hígado (B). Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (a>b>c; p <0.05); n=6

Al analizar la abundancia de la proteína AGPAT en TA e hígado, mediante western blot, se observó mayor intensidad en las bandas que correspondían a la proteína AGPAT con un peso molecular de 44 kDa del grupo que consumió la DAG con manteca de cerdo en el TA (FIGURA 29A), y esto se corroboró al hacer el análisis de densitometría normalizado la abundancia de GAPDH (FIGURA 29B), mientras que el grupo que ingirió la DAG con aceite de coco produjo mayor abundancia de AGPAT en el hígado dada la intensidad de la señal obtenida (FIGURA 29C) y el aumento fue significativo al combinar el aceite de coco con sacarosa (FIGURA 29D). Los resultados de la presente investigación indican que el aceite de coco podría tener efecto negativo sobre el hígado, provocando un almacenamiento de triglicéridos, colesterol y aumentando la síntesis de lípidos lo que conduce a esteatosis hepática.

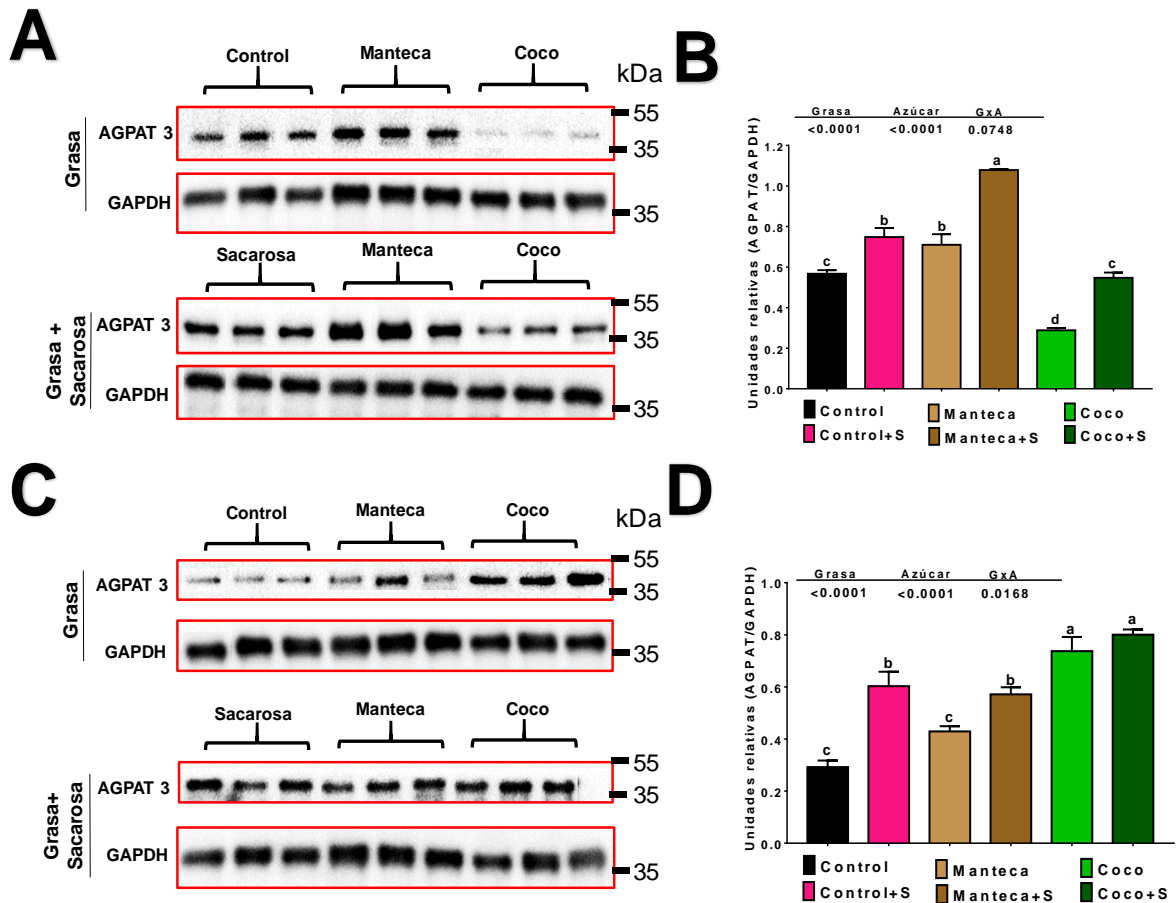


Figura 29. Abundancia relativa de la proteína AGPAT en tejido adiposo e hígado de ratas Wistar. Evaluación de AGPAT en tejido adiposo (A y B) e hígado (C y D) en ratas alimentadas con una DAG con manteca de cerdo o aceite de coco con y sin sacarosa. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($a > b > c$; $p < 0.05$); $n=6$

X. Discusión

Se ha descrito que la dieta, principalmente el consumo de grasa, representa uno de los factores ambientales más importantes que pueden influir en la obesidad (Matias *et al.*, 2018). Se ha afirmado, que el aceite de coco se comporta como un aceite rico en triglicéridos de cadena media (TCM), por lo que tiene un efecto atípico en comparación con otras grasas saturadas, y puede ser consumido como protector de enfermedades metabólicas (Eyres *et al.*, 2016). Pero, ¿cómo un aceite que contiene 90% de ácidos grasos saturados, puede ser benéfico para la salud? Hasta ahora, aún no se comprende del todo cual es el efecto del aceite de coco sobre el organismo, ya que las afirmaciones que se han establecido para su consumo suelen ser contradictorias. En este estudio se evaluó el efecto del consumo de aceite de coco con respecto al consumo de manteca de cerdo, en concentraciones tres veces mayores a los requerimientos (21%; normal: 7-10%), debido a que es lo que más podría parecerse al contexto actual, un consumo excesivo de calorías, provenientes del consumo de lípidos.

En nuestro estudio, encontramos que el consumo de aceite de coco provoca una ganancia de peso, masa grasa y tolerancia a la glucosa similar al grupo control, mientras que el consumo de sacarosa o manteca de cerdo genera un incremento en el peso corporal, porcentaje de masa grasa e intolerancia a la glucosa significativamente mayor a la del grupo control, y el efecto se potencia al combinar la ingesta de la manteca con sacarosa (**FIGURA 16, 17 Y 18**). Estos hallazgos están de acuerdo con la literatura, en la cual se evidencia que durante el período de alimentación ocurre un aumento gradual de peso corporal en ratones alimentados con un exceso de grasa (Rosas-Villegas *et al.*, 2017; Sánchez-Tapia *et al.*, 2017; Matias *et al.*, 2018). Al evaluar el grupo que consumió aceite de coco con sacarosa, de manera interesante, encontramos que generó un incremento de la masa grasa, por lo que el efecto del consumo de sacarosa impacta en la composición corporal (**FIGURA 17**). También se encontró que el consumo de manteca de cerdo o aceite de coco produjeron una inflexibilidad metabólica (**FIGURA 19**), es decir se perdió la capacidad de cambio de sustrato de un estado de ayuno (sin disponibilidad de carbohidratos) a ingesta de alimentos (disponibilidad de carbohidratos), esto concuerda con algunos estudios realizados con manteca de cerdo en modelos animal (Avila-Nava *et al.*, 2016;

Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). Además, se encontró que la combinación de manteca de cerdo y sacarosa disminuye más el RER (**FIGURA 19**). Sin embargo, los animales que consumieron aceite de coco con sacarosa tuvieron un comportamiento similar a solo consumir la grasa. Identificar esta condición es de gran importancia ya que la selección de sustrato para la obtención de energía es realizada por la mitocondria, y cuando se pierde esta característica existe una oxidación persistente de lípidos sin importar el estado fisiológico (Smith *et al.*, 2018).

Se observó que las ratas que consumieron sacarosa, o manteca de cerdo con y sin sacarosa tuvieron los niveles de insulina más altos, sin cambios en la concentración de glucosa (**TABLA 2**). A pesar de no haber encontrado intolerancia a la glucosa en las ratas alimentadas con una DAG con aceite de coco, estas tuvieron las concentraciones de glucosa más altas. Al encontrar este hallazgo, quisimos evaluar si se modificaba la expresión de GLUT-4 en TA. Uno de los mecanismos propuestos para el desarrollo de resistencia a la insulina es la alteración en la expresión de GLUT-4 y/o en la translocación a la superficie celular (Moraes-Vieira, Saghatelian and Kahn, 2016). En este estudio, encontramos que en ningún grupo disminuyó la expresión de GLUT-4 y observamos que la expresión de GLUT-4 fue inducida por el consumo de sacarosa y aceite de coco más sacarosa (**FIGURA 21**), lo que nos podría estar señalando que la célula al censar glucosa por la hidrólisis de la sacarosa induce la expresión de GLUT-4. Sin embargo, pese a que hay un aumento en la expresión de GLUT-4, el consumo de aceite de coco generó niveles elevados de glucosa y niveles normales de insulina, lo podría estar dado porque hay una obstrucción en la translocación de GLUT-4 a la membrana celular generada por una alteración en la señalización de la insulina (Poletto *et al.*, 2010).

Al evaluar la señalización de la insulina en TA, se encontró que ambas grasas saturadas generaban una reducción en la activación de IRS y AKT (fosforilación de pT896^{IRS1} y pS473^{AKT}) (**FIGURA 22**), sin embargo, esta disminución fue mayor con el aceite de coco. La sacarosa y la adición de sacarosa a ambas dietas también generaron una disminución en la activación de IRS y AKT (**FIGURA 22**). El efecto del aceite de coco sobre esta vía señala que, aunque fisiológicamente no se ven efectos

daños, el consumo de aceite de coco parecería estar induciendo una reducción en la sensibilidad a la insulina en TA.

En este estudio encontramos que la DAG con manteca de cerdo indujo inflamación en los adipocitos, incrementando la expresión y abundancia de TLR4, TNF α , y en la activación de JNK y NF κ B (**FIGURA 23**); efecto que se vio potenciado con la adición de sacarosa a la dieta. La vía de señalización por TLR4 es la principal desencadenante de una inflamación ligada a obesidad, por lo que el consumo de manteca de cerdo o de sacarosa con y sin grasa saturada generan esta respuesta que está ligada a alteración en la vía de señalización de la insulina (Sears and Kim, 2010). Estudios recientes, han demostrado la relación de una dieta alta en grasa con la endotoxemia metabólica (Cani *et al.*, 2007; Daira *et al.*, 2012). En nuestro estudio se encontró que la manteca de cerdo o aceite de coco generaron un incremento en los niveles de LPS en sangre de manera muy similar (**FIGURA 20**), este efecto también se ha visto en otras grasas saturadas como el aceite de palma considerada saturada por su contenido de AGSs (~50%), reportándose que también incrementa los niveles de LPS séricos (Daira *et al.*, 2012). Algo relevante que obtuvimos con este análisis es que el consumo de sacarosa indujo también un incremento en los niveles de LPS séricos y que al combinarla con ambas grasas el incremento fue mayor, lo cual señala que la obesidad ocasionada por una ingesta alta de sacarosa genera un estado de inflamación que podría ser mediado por LPS (Rosas-Villegas *et al.*, 2017). Sin embargo, aún se desconoce cuál el mecanismo molecular por el cual la sacarosa induce este efecto.

También observamos que el consumo de sacarosa y manteca de cerdo inducen un aumento en el diámetro de los adipocitos y se generan adipocitos más grandes cuando la manteca se combina con sacarosa (**FIGURA 25**). El consumo de aceite de coco con y sin sacarosa no incrementa el tamaño de los adipocitos. Esto se podría explicar porque los animales que consumen manteca de cerdo presentan hiperinsulinemia e intolerancia a la glucosa, ya que se ha descrito que hay una fuerte asociación entre adipocitos grandes y una disfunción metabólica (Lafontan, 2014; Longo *et al.*, 2019; Sánchez-Tapia *et al.*, 2019).

Se ha asociado el proceso de hipertrofia del TA con la alteración en la producción de adipocinas. En este estudio nos centramos en analizar la expresión de la leptina y

adiponectina, debido a que son mediadores críticos del eje de comunicación intercelular e interorgánico del adipocito como nexo central. Al evaluar el efecto de las grasas en los niveles en circulación y la expresión de leptina en TA, encontramos que la manteca de cerdo y la sacarosa generan un aumento en la expresión y en los niveles de circulación de leptina (**TABLA 2**), y la combinación de manteca de cerdo o aceite de coco con la sacarosa presentan el mayor aumento, reflejando que la sacarosa tiene un gran impacto en la secreción de leptina y que la manteca de cerdo genera hiperleptinemia, un desorden característico de la obesidad. De manera interesante, el consumo de aceite de coco no incremento los niveles en circulación y en la expresión de leptina, aunque nuestros datos no coinciden con lo reportado por Lin *et al.*, nuestros resultados podrían explicar por qué los animales que consumieron esta dieta no aumentaron de peso, ni tuvieron un incremento del porcentaje de masa grasa, ni el tamaño de los adipocitos. Otra de las adipocinas analizadas en este estudio fue la adiponectina, y se encontró que la sacarosa y la manteca de cerdo con y sin sacarosa produjeron una disminución en la expresión de la adiponectina en TA (**FIGURA 21**). Esto se relaciona con otros estudios (Avila-Nava *et al.*, 2016; Rosas-Villegas *et al.*, 2017; Matias *et al.*, 2018; Sánchez-Tapia *et al.*, 2019) dónde los niveles de adiponectina se correlacionan de manera inversa a los desórdenes metabólicos, es por ello que también, los animales que consumieron estas dietas generaron un incremento en el peso corporal, porcentaje de masa grasa e hipertrofia de los adipocitos.

Algunos estudios han señalado que el consumo de una DAG, dependiente de la longitud de la cadena que posean los AGSs puede inducir resistencia a la insulina en músculo, hígado y TA en ratas y ratones (Storlien *et al.*, 1991; Oakes *et al.*, 1997; Dobbins *et al.*, 2001). Debido a lo anterior, se analizó cual era el efecto de las grasas y en combinación con sacarosa sobre la señalización de la insulina en el músculo. Se encontró que el consumo de aceite de coco y la combinación con sacarosa redujeron la activación de IRS y AKT (**FIGURA 26**). En el estudio realizado por Montgomery, *et al.*, encontraron una ligera reducción en la acción de la insulina en ratones alimentados con una dieta con AGCM, sugiriendo que este efecto podría deberse a que los AGCM generan un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y marcadores de daño oxidativo en la mitocondria, sin embargo el mecanismo por el que sucede este efecto aún se desconoce (Montgomery *et al.*, 2019).

Interesantemente, se encontró que el consumo de sacarosa y de la manteca de cerdo con y sin sacarosa indujo un incremento en los niveles de triglicéridos y colesterol total en circulación (**TABLA 2**), lo cual concuerda con estudios previos realizados con dietas altas en grasas (Yang *et al.*, 2012; Avila-Nava *et al.*, 2016; Sánchez-Tapia *et al.*, 2017). De manera interesante, se observó que el aceite de coco no produjo un aumento de triglicéridos ni de colesterol. Un estudio realizado en ratas Wistar encontró este mismo efecto señalando que el consumo de aceite de coco podría tener un efecto cardioprotectivo (Figueiredo Santana *et al.*, 2016). Sin embargo, nosotros observamos que el consumo de aceite de coco generó un incremento en los niveles de colesterol-LDL. Cuando se incrementa el colesterol-LDL por encima de los niveles fisiológicos se promueve el proceso de aterosclerosis el cual conlleva a la enfermedad cardiovascular. Se ha descrito que un posible mecanismo por el cual el aceite de coco genera un aumento de colesterol LDL es por su alto contenido de AGCM, ya que estos al ser oxidados de manera más rápida que los AGCL generan la producción de acetil CoA y este puede ser utilizado para la síntesis de AGCL, esta síntesis *de novo* de ácidos grasos es la que podría llevar a un incremento al colesterol LDL (Tholstrup *et al.*, 2004; Neelakantan, Seah and van Dam, 2020).

Considerando que el ácido láurico representa ~50% de los ácidos grasos presentes en el aceite de coco, quisimos ver si tenía algún efecto en el hígado derivado de que el consumo de dietas altas en lípidos y carbohidratos está relacionado con la acumulación de lípidos en diversos tejidos, uno de los tejidos más susceptibles a que ocurra esto es el hígado. Debido a lo anterior, se evaluó la acumulación de lípidos hepáticos en los diferentes grupos experimentales. Se encontró que el consumo de aceite de coco con y sin sacarosa produjeron un incremento en la concentración de triglicéridos y colesterol en hígado (**FIGURA 28**). Este efecto podría estar ocurriendo debido al contenido de ácido láurico y su transporte directo al hígado vía vena porta. La β oxidación es una de las primeras rutas a través de la cual los lípidos son metabolizados, por los que los AGCM, como no requieren ser transportados por el sistema de la carnitina, provocan un aumento de la actividad de β oxidación. (Dayrit, 2014; Sankararaman and Sferra, 2018; Wallace, 2019). La acelerada β oxidación promueve la formación de acetyl CoA que puede ser sustrato de la lipogénesis *de novo*, y da lugar a la acumulación de triglicéridos y colesterol en el hígado por la

activación de factores de transcripción como la proteína 1 de unión a los elementos regulatorios de esteroides (SREBP-1) generando un incremento en la transcripción de las enzimas que regulan la síntesis de lípidos, como la ácido graso sintasa (FAT) y la carboxilasa de acetil CoA (ACC). Debido a lo anterior, se evaluó una proteína involucrada en la síntesis de triglicéridos. La AGPAT cataliza el segundo paso de la síntesis de triglicéridos convirtiendo al ácido lisofosfátidico que proviene de la acilación del glicerol 3 fosfato y acetil coA a ácido fosfátidico. Nosotros encontramos que en el TA el consumo de manteca de cerdo produjo un incremento en la abundancia de AGPAT (**FIGURA 29**), esto podría estar relacionado con que la manteca de cerdo genere resistencia a la insulina, hipertrofia e inflamación, mientras que, en el hígado, el consumo de aceite de coco produjo un aumento considerable de esta proteína (**FIGURA 29**), lo que se relaciona con la acumulación de lípidos en este órgano. Se ha señalado que la expresión de AGPAT puede estar relacionada con un proceso de lipodistrofia, resistencia a la insulina, diabetes y esteatosis hepática (Cortés *et al.*, 2009). Otro resultado interesante que obtuvimos, fue que la sacarosa produjo un aumento similar en ambos tejidos (TA e hígado) lo que podría sugerir que la sacarosa tiene un gran impacto sobre la resistencia a la insulina y la acumulación ectópica de lípidos.

En conjunto, nuestros resultados indican que el consumo de aceite de coco genera un incremento del colesterol LDL, alteración en la señalización de la insulina en el TA y músculo y que también ocasiona un efecto muy marcado en el hígado por una acumulación de lípidos, lo que podría conducir a una esteatosis hepática, mientras que el consumo de manteca de cerdo genera alteraciones fisiológicas y moleculares sobre el TA. Asimismo, en este estudio se encontró que el consumo de sacarosa tiene efectos similares a los que provoca consumir grasa saturada, teniendo un impacto negativo sobre la composición corporal, tolerancia a la glucosa, flexibilidad metabólica, endotoxemia metabólica, señalización de la insulina e inflamación en TA y acumulación de lípidos en hígado (**FIGURA 30**).

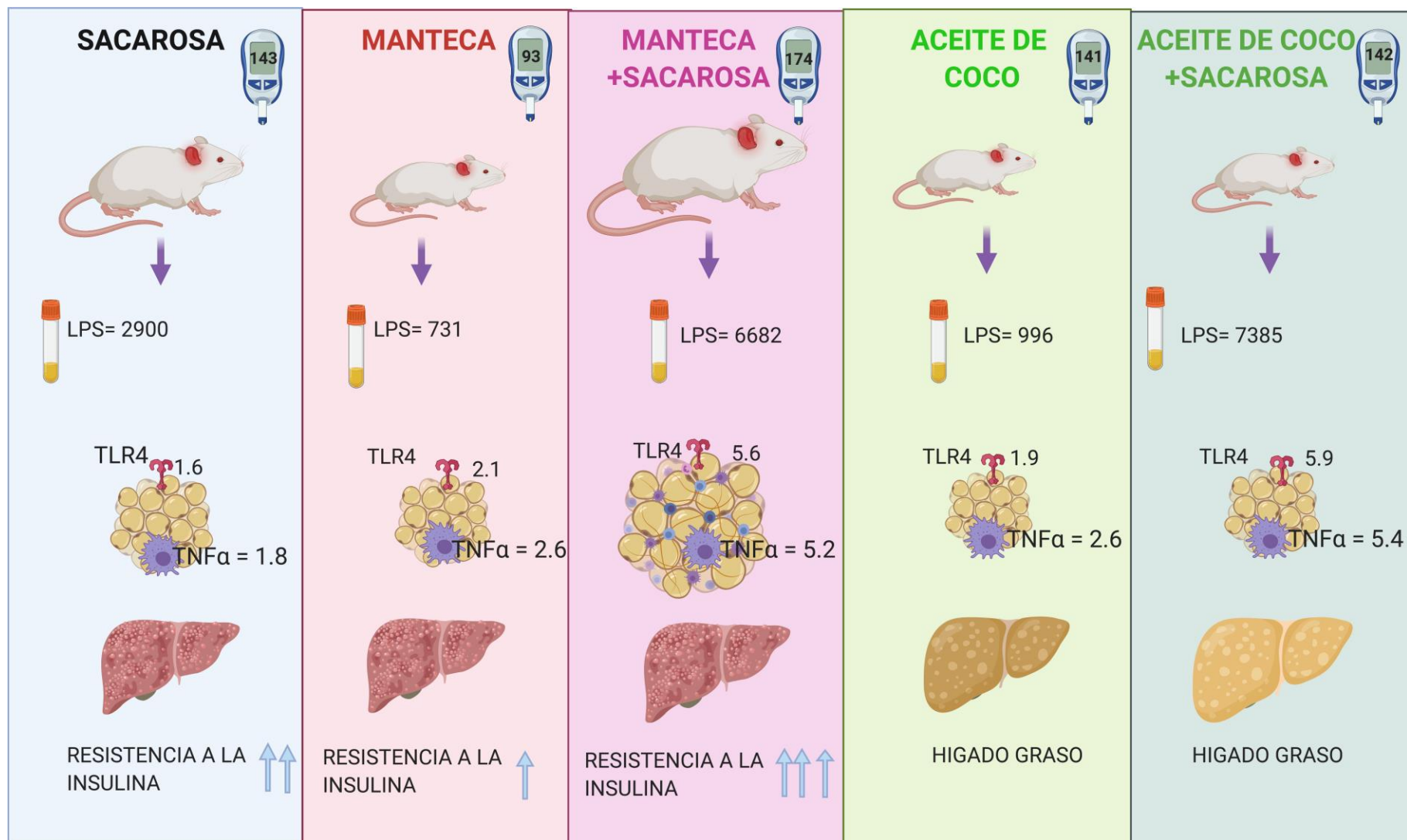


Figure 30. Alteraciones metabólicas producidas por el consumo de manteca de cerdo o aceite de coco. TLR4: receptor tipo toll tipo 4; TNFα: Factor de necrosis tumoral tipo alfa; LPS: lipopolisacárido.

XI. Conclusiones

- 1- El consumo de manteca de cerdo provoca intolerancia a la glucosa, e hiperinsulinemia porque desregula la vía de señalización a la insulina al disminuir las formas activas de IRS-1 y AKT.
- 2- El consumo de manteca de cerdo provoca inflamación de bajo grado en el tejido adiposo, mediado por el aumento en las concentraciones séricas de LPS, provocando un incremento en la expresión del receptor TLR4 y de los marcadores de inflamación $\text{NF}\kappa\beta$, $\text{TNF}\alpha$ y JNK.
- 3- El consumo de manteca de cerdo provoca hiperleptinemia secundaria a un incremento del tamaño de los adipocitos.
- 4- El consumo de aceite de coco produce un aumento del colesterol LDL sérico, que está relacionado con un aumento en la concentración de triglicéridos y colesterol hepáticos, e influido por el aumento en la abundancia de AGPAT en hígado.,
- 5- El consumo de grasas saturadas combinadas con sacarosa induce aumento de peso corporal, masa grasa, inflexibilidad metabólica, endotoxemia metabólica, hiperleptinemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina e inflamación en TA, hipertrofia de los adipocitos y acumulación de lípidos en hígado, lo que podría indicar que el consumo de sacarosa puede producir anormalidades metabólicas y fisiológicas relacionadas con la funcionalidad del tejido adiposo.

XII. Perspectivas

La evidencia generada en este estudio soporta la importancia de estudiar los mecanismos moleculares y celulares inducidos por el consumo de diferentes grasas, debido a que su perfil de ácidos grasos influye en su efecto. Es por ello, que las perspectivas que le suceden a este trabajo es estudiar las repercusiones moleculares del ácido láurico y el ácido palmítico en el hígado, tejido adiposo y músculo asociados a una alteración en la función mitocondrial como un posible mecanismo. Se plantea, para continuar el estudio del efecto de los ácidos grasos saturados: ácido láurico y ácido palmítico abundantes en el aceite de coco y manteca de cerdo respectivamente en ensayos *in vitro* para precisar la dependencia de los resultados por el tipo de ácido graso. Adicionalmente, se realizarían ensayos de función mitocondrial midiendo la capacidad de respiración mitocondrial, función glucolítica y oxidación de los ácidos grasos, para conocer la funcionalidad de la mitocondria, ya que es uno de los mecanismos propuestos por los cuales se generan la acumulación de lípidos. Asimismo, también se buscaría en otro estudio *in vivo* realizar estudios de expresión de marcadores de esteatosis hepática y en hígado y cuantificación de lípidos a partir de tinciones específicas, como el rojo oleoso en hígado después del consumo de aceite de coco, de esta manera se reforzaría el efecto que se vio en este estudio del aceite de coco sobre el hígado.

XIII. Referencias

1. Assunção, M. L. *et al.* (2009) 'Effects of dietary coconut oil on the biochemical and anthropometric profiles of women presenting abdominal obesity', *Lipids*, 44(7), pp. 593–601. doi: 10.1007/s11745-009-3306-6.
2. Avila-Nava, A. *et al.* (2016) 'Food combination based on a prehispanic Mexican diet decreases metabolic and cognitive abnormalities and gut microbiota dysbiosis caused by a sucrose-enriched high fat diet in rats', *Molecular Nutrition & Food Research*, pp. 1–29. doi: 10.1002/mnfr.201501023.This.
3. Baum, S. J. *et al.* (2012) 'Fatty acids in cardiovascular health and disease: A comprehensive update', *Journal of Clinical Lipidology*. Mosby, Inc, 6(3), pp. 216–234. doi: 10.1016/j.jacl.2012.04.077.
4. Boateng, L. *et al.* (2016) 'Coconut oil and palm oil's role in nutrition, health and national development: A review', *Ghana medical journal*, 50(3), pp. 189–196. doi: 10.4314/gmj.v50i3.11.
5. Bordonada, R. (2007) *Nutrición en salud pública*.
6. Boroni Moreira, A. P. and de Cássia Gonçalves Alfenas, R. (2012) 'La influencia de la endotoxemia en los mecanismos moleculares de resistencia a la insulina', *Nutricion Hospitalaria*, 27(2), pp. 382–390. doi: 10.3305/nh.2012.27.2.5543.
7. Bosch, J. D. V. Den *et al.* (2011) 'High-fat diets rich in medium- versus long-chain fatty acids induce distinct patterns of tissue specific insulin resistance ☆', *The Journal of Nutritional Biochemistry*. Elsevier Inc., 22(4), pp. 366–371. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.03.004.
8. Buettner, R. *et al.* (2006) 'Defining high-fat-diet rat models: Metabolic and molecular effects of different fat types', *Journal of Molecular Endocrinology*, 36(3), pp. 485–501. doi: 10.1677/jme.1.01909.
9. Caesar, R. *et al.* (2015) 'Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling', *Cell Metabolism*, 22(4), pp. 658–668. doi: 10.1016/j.cmet.2015.07.026.
10. Cani, P. D. *et al.* (2007) 'Metabolic Endotoxemia initiates obesity and insulin resistance', *Diabetes*, 56, pp. 1761–1772. doi: 10.2337/db06-1491.P.D.C.
11. Clegg, M. E. (2017) 'They say coconut oil can aid weight loss, but can it really?', *European Journal of Clinical Nutrition*. Nature Publishing Group, 71(10), pp.

- 1139–1143. doi: 10.1038/ejcn.2017.86.
12. Cohen, P. and Spiegelman, B. M. (2016) 'Cell biology of fat storage', *Molecular Biology of the Cell*, 27(16), pp. 2523–2527. doi: 10.1091/mbc.e15-10-0749.
 13. Cortés, V. A. *et al.* (2009) 'Molecular Mechanisms of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in the AGPAT2-Deficient Mouse Model of Congenital Generalized Lipodystrophy', *Cell Metabolism*, 9(2), pp. 165–176. doi: 10.1016/j.cmet.2009.01.002.
 14. Cox, C. *et al.* (1995) 'Effects of coconut oil, butter, and safflower oil on lipids and lipoproteins in persons with moderately elevated cholesterol levels', *Journal of Lipid Research*, 36(8), pp. 1787–1795. doi: 10.1016/0021-9150(94)93598-x.
 15. Daira, P. *et al.* (2012) 'Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 302(3), pp. E374–E386. doi: 10.1152/ajpendo.00314.2011.
 16. Dasilva, C. *et al.* (2017) 'Extracción de aceite de Coco (Cocos nuciferas) como estrategias de aprovechamiento de los productos locales de Mitú', *Vaupés Innova*, (1), pp. 1–8. doi: 10.2307/j.ctt5vkfk6.31.
 17. Dauqan, E. *et al.* (2011) 'Effect of Different Vegetable Oils (Red Palm Olein, Palm Olein, Corn Oil and Coconut Oil) on Lipid Profile in Rat', *Food and Nutrition Sciences*, 02(04), pp. 253–258. doi: 10.4236/fns.2011.24036.
 18. Dayrit, F. M. (2014) 'Lauric acid is a medium-chain fatty acid, coconut oil is a medium-chain triglyceride', *Philippine Journal of Science*, 143(2), pp. 157–166.
 19. Denke, M. and Grundy, S. (1992) 'Comparison of effects of lauric acid and palmitic acid on plasma lipids and lipoproteins', *American Journal of Clinical Nutrition*, 56(5), pp. 895–898. doi: 10.1093/ajcn/56.5.895.
 20. DiNicolantonio, J., Lucan, S. and O'Keefe, J. (2016) 'The Evidence for Saturated Fat and for Sugar Related to Coronary Heart Disease', *Prog Cardiovasc Dis.*, 176(1), pp. 139–148. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040.
 21. Do, M. H. *et al.* (2018) 'High-glucose or-fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change', *Nutrients*, 10(6). doi: 10.3390/nu10060761.
 22. Dobbins, R. L. *et al.* (2001) 'Prolonged inhibition of muscle carnitine

- palmitoyltransferase-1 promotes intramyocellular lipid accumulation and insulin resistance in rats', *Diabetes*, 50(1), pp. 123–130. doi: 10.2337/diabetes.50.1.123.
23. ENSANUT-MC (2016) 'Informe final de resultados', *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Medio Camino*, 2016, pp. 1–154.
 24. Erridge, C. *et al.* (2007) 'A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation', *American Journal of Clinical Nutrition*, 86(5), pp. 1286–1292. doi: 10.1093/ajcn/86.5.1286.
 25. Eyres, L. *et al.* (2016) 'Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans', *Nutrition Reviews*, 74(4), pp. 267–280. doi: 10.1093/nutrit/nuw002.
 26. Fahy, E. *et al.* (2012) 'Lipid classification, structures and tools', *Biochim Biophys Acta*, 40(6), pp. 1301–1315. doi: 10.1007/s10439-011-0452-9.Engineering.
 27. FAO (2010) 'Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas', *Nutrición humana en el mundo en desarrollo*, 5(7), pp. 99–204. Available at: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/w0073s/W0073S01.pdf>.
 28. FAO (2017) *Daily fat supply measured in grams per person per day*, United Nations Food and Agricultural Organization.
 29. Figueiredo, P. S. *et al.* (2017) 'Fatty acids consumption: The role metabolic aspects involved in obesity and its associated disorders', *Nutrients*, 9(10), pp. 1–32. doi: 10.3390/nu9101158.
 30. Figueiredo Santana, L. *et al.* (2016) 'Coconut oil increases HDL-c and decreases triglycerides in wistar rats', *Acta Scientiarum. Health Sciences*, pp. 185–190. doi: 10.4025/actascihealthsci.v38i2.28775.
 31. Fuke, N. *et al.* (2019) 'Regulation of gut microbiota and metabolic endotoxemia with dietary factors', *Nutrients*, 11(10). doi: 10.3390/nu11102277.
 32. Fundación Española de Nutrición (2018) 'Manteca de Cerdo', pp. 137–138. Available at: <https://archive.org/details/ec.nte.0278.2012>.
 33. Fusaru, A. M. *et al.* (2012) 'Role of innate immune receptors TLR2 and TLR4 as mediators of the inflammatory reaction in human visceral adipose tissue', *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 53(3 SUPPL.), pp. 693–701.
 34. Ghanim, H. *et al.* (2009) 'Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in

- mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: Implications for insulin resistance', *Diabetes Care*, 32(12), pp. 2281–2287. doi: 10.2337/dc09-0979.
35. Goossens, G. H. and Blaak, E. E. (2015) 'Adipose tissue dysfunction and impaired metabolic health in human obesity: A matter of oxygen?', *Frontiers in Endocrinology*, 6(APR), pp. 1–5. doi: 10.3389/fendo.2015.00055.
 36. Guinane, C. M. and Cotter, P. D. (2013) 'Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: Understanding a hidden metabolic organ', *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(4), pp. 295–308. doi: 10.1177/1756283X13482996.
 37. Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A. and Olivares-Reyes, J. A. (2017) 'Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: Una actualización', *Gaceta Medica de Mexico*, 153(2), pp. 214–228.
 38. Hotamisligil, G. k. S. *et al.* (1996) 'IRS-1-Mediated Inhibition of Insulin Receptor Tyrosine Kinase Activity in TNF-alpha- and Obesity-Induced Insulin Resistance', *Science*, 271(5249), pp. 665–670. doi: 10.1126/science.271.5249.665.
 39. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. and Spiegelman, B. M. (1993) 'Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance', *Science*, 259(5091), pp. 87–91. doi: 10.1126/science.7678183.
 40. Index Mundi (2019) 'Coconut oil domestic consumption by country'. doi: 10.1155/2010/706872.
 41. ISEO (2016) *Food fats and oils*.
 42. Karimi, I. (2012) 'Animal Models as Tools for Translational Research: Focus on Atherosclerosis, Metabolic Syndrome and Type-II Diabetes Mellitus', *Lipoproteins - Role in Health and Diseases*. doi: 10.5772/47769.
 43. Karmen, A. (1960) 'The fatty acid composition of chylomicrons of chyle and serum following the ingestion of different oils', *Journal of Lipid Research*, 1(2), pp. 167–170.
 44. Kennedy, A. *et al.* (2009) 'Saturated Fatty Acid-Mediated Inflammation and Insulin Resistance in Adipose Tissue: Mechanisms of Action and Implications', *The Journal of Nutrition*, 139(1), pp. 1–4. doi: 10.3945/jn.108.098269.
 45. Keys, A. (1957) 'Diet and the epidemiology of coronary heart disease', *J Am*

- Med Assoc*, 164(1912–1919).
46. Kusminski, C. M., Bickel, P. E. and Scherer, P. E. (2016) 'Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes', *Nature Reviews Drug Discovery*. Nature Publishing Group, 15(9), pp. 639–660. doi: 10.1038/nrd.2016.75.
 47. Lafontan, M. (2014) 'Adipose tissue and adipocyte dysregulation', *Diabetes and Metabolism*. Elsevier Masson SAS, 40(1), pp. 16–28. doi: 10.1016/j.diabet.2013.08.002.
 48. Laugerette, F. *et al.* (2011) 'Emulsified lipids increase endotoxemia: Possible role in early postprandial low-grade inflammation', *Journal of Nutritional Biochemistry*. Elsevier Inc., 22(1), pp. 53–59. doi: 10.1016/j.jnutbio.2009.11.011.
 49. Lee, J. Y. *et al.* (2001) 'Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4', *Journal of Biological Chemistry*, 276(20), pp. 16683–16689. doi: 10.1074/jbc.M011695200.
 50. Lee, M.-W., Lee, M. and Oh, K.-J. (2019) *Adipose Tissue-Derived Signatures for Obesity and Type 2 Diabetes: Adipokines, Batokines and MicroRNAs*, *Journal of Clinical Medicine*. doi: 10.3390/jcm8060854.
 51. Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S. and Chemat, F. (2017) 'Vegetable oils as alternative solvents for green extraction of natural products', *molecules*, 22, pp. 205–222. doi: 10.1201/9781315152493.
 52. Longo, M. *et al.* (2019) 'Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9). doi: 10.3390/ijms20092358.
 53. López-Salazar, V. (2016) *Efecto de la cantidad y tipo de ácidos grasos sobre la oxidación de aminoácidos y ácidos y ácidos grasos en ratones knock-out del receptor PPAR-alfa*. Universidad Nacional Autónoma de México.
 54. Lumeng, C. N. *et al.* (2007) 'Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization Find the latest version: Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization', *J Clin Invest*, 117(1), pp. 175–184. doi: 10.1172/JCI29881.both.

55. Luo, L. and Liu, M. (2016) 'Adipose tissue in control of metabolism', *Journal of Endocrinology*, 231(3), pp. R77–R99. doi: 10.1530/JOE-16-0211.
56. Makki, K., Froguel, P. and Wolowczuk, I. (2013) 'Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance: Cells, Cytokines, and Chemokines', *ISRN Inflammation*, 2013, pp. 1–12. doi: 10.1155/2013/139239.
57. Mani, V., Hollis, J. H. and Gabler, N. K. (2013) 'Dietary oil composition differentially modulates intestinal endotoxin transport and postprandial endotoxemia', *Nutrition and Metabolism*, 10(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/1743-7075-10-6.
58. Marion-Letellier, R., Savoye, G. and Ghosh, S. (2015) 'Polyunsaturated fatty acids and inflammation', *IUBMB Life*, 67(9), pp. 659–667. doi: 10.1002/iub.1428.
59. Matias, A. M. *et al.* (2018) 'Differential effects of high sugar, high lard or a combination of both on nutritional, hormonal and cardiovascular metabolic profiles of rodents', *Nutrients*, 10(8). doi: 10.3390/nu10081071.
60. Mccarty, M. F. and Dinicolantonio, J. J. (2016) 'Lauric acid-rich medium-chain triglycerides can substitute for other oils in cooking applications and may have limited pathogenicity', *Open Heart*, pp. 1–5. doi: 10.1136/openhrt-2016-000467.
61. McDonald, G. B. *et al.* (1980) 'Portal venous transport of long-chain fatty acids absorbed from rat intestine', *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2(3). doi: 10.1152/ajpgi.1980.239.3.g141.
62. Medina-Vera, I. (2018) *Efecto del consumo de un portafolio dietario (soya, nopal, chía e inulina) en parámetros bioquímicos en pacientes con diabetes tipo 2.*
63. Montgomery, M. K. *et al.* (2019) 'Regulation of mitochondrial metabolism in murine skeletal muscle by the medium-chain fatty acid receptor Gpr84', *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(11), pp. 12264–12276. doi: 10.1096/fj.201900234R.
64. Moraes-Vieira, P. M., Saghatelian, A. and Kahn, B. B. (2016) 'GLUT4 expression in adipocytes regulates de novo lipogenesis and levels of a novel class of lipids with antidiabetic and anti-inflammatory effects', *Diabetes*, 65(7), pp. 1808–1815. doi: 10.2337/db16-0221.
65. Neelakantan, N., Seah, J. Y. H. and van Dam, R. M. (2020) 'The Effect of

- Coconut Oil Consumption on Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials', *Circulation*, 141(10), pp. 803–814. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043052.
66. Netto, T., Bressan, J. and Goncalves, R. (2018) 'Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet', *Nutricion Hospitalaria*.
67. Neves, A. L. *et al.* (2013) 'Metabolic endotoxemia: A molecular link between obesity and cardiovascular risk', *Journal of Molecular Endocrinology*, 51(2). doi: 10.1530/JME-13-0079.
68. Nishizawa, K. (2016) 'Low-grade endotoxemia, diet, and gut microbiota – an emphasis on the early events leading to dysfunction of the intestinal epithelial barrier', *Biomedical Research and Clinical Practice*, 1(2), pp. 46–57. doi: 10.15761/BRCP.1000110.
69. Oakes, N. D. *et al.* (1997) 'Mechanism of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high fat feeding', *Diabetes*, 46(November).
70. Oliveira-De-Lira, L. *et al.* (2018) 'Supplementation-dependent effects of vegetable oils with varying fatty acid compositions on anthropometric and biochemical parameters in obese women', *Nutrients*, 10(7). doi: 10.3390/nu10070932.
71. Orsavova, J. *et al.* (2015) 'Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids', *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp. 12871–12890. doi: 10.3390/ijms160612871.
72. Palomer, X. *et al.* (2017) 'Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus', *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Ltd, 29(3), pp. 178–190. doi: 10.1016/j.tem.2017.11.009.
73. Palomer, X. *et al.* (2018) 'Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus', *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Ltd, 29(3), pp. 178–190. doi: 10.1016/j.tem.2017.11.009.
74. Patrone, V. *et al.* (2018) 'Differential effects of coconut versus soy oil on gut microbiota composition and predicted metabolic function in adult mice', *BMC Genomics*. BMC Genomics, 19(1), pp. 1–17. doi: 10.1186/s12864-018-5202-z.
75. Perry, R. J. *et al.* (2014) 'The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance

- and type 2 diabetes', *Nature*, 510(7503), pp. 84–91. doi: 10.1038/nature13478.
76. Peters, C. (1990) 'Medium-chain fatty acids: evidence for incorporation into chylomicron triglycerides in humans¹³', (June), pp. 834–836.
77. Piya, M. K., McTernan, P. G. and Kumar, S. (2013) 'Adipokine inflammation and insulin resistance: The role of glucose, lipids and endotoxin', *Journal of Endocrinology*, 216(1). doi: 10.1530/JOE-12-0498.
78. Poletto, A. C. *et al.* (2010) 'Soybean and sunflower oil-induced insulin resistance correlates with impaired GLUT4 protein expression and translocation specifically in white adipose tissue', *Cell Biochemistry and Function*, 28(2), pp. 114–121. doi: 10.1002/cbf.1628.
79. Quealy, K. and Sanger-Katz, M. (2016) 'Where Americans and nutritionist disagree', *New York Times*, pp. 66–78. doi: 10.30547/mediaalmanah.2.2019.6678.
80. Rocha, D. M., Bressan, J. and Hermsdorff, H. H. (2017) 'The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: a critical review', *Sao Paulo Medical Journal*, 135(2), pp. 157–168. doi: 10.1590/1516-3180.2016.008607072016.
81. Rodríguez-Cruz, M. *et al.* (2005) 'Mecanismos moleculares de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios', *Rev Invest Clin.*, 57(3), pp. 457–472.
82. Rogero, M. M. and Calder, P. C. (2018) 'Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids', *Nutrients*, 10(4), pp. 1–19. doi: 10.3390/nu10040432.
83. Rosas-Villegas, A. *et al.* (2017) 'Differential Effect of Sucrose and Fructose in Combination with a High Fat Diet on Intestinal', *Nutrients*, 9(393), pp. 1–13. doi: 10.3390/nu9040393.
84. Rutkowski, J. M., Stern, J. H. and Scherer, P. E. (2015) 'The cell biology of fat expansion', *Journal of Cell Biology*, 208(5), pp. 501–512. doi: 10.1083/jcb.201409063.
85. Sampath, V. P. (2018) 'Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function and its role in immunity in vertebrates and invertebrates', *Agriculture and Natural Resources*. Elsevier Ltd, 52(2), pp. 115–120. doi: 10.1016/j.anres.2018.08.002.
86. Sánchez-Tapia, M. *et al.* (2017) 'protects from metabolic endotoxemia by

- modifying gut microbiota in obese rats fed high fat / sucrose diet', (15), pp. 1–16. doi: 10.1038/s41598-017-05096-4.
87. Sánchez-Tapia, M. *et al.* (2019) 'and TLR4-Mediated Inflammatory Pathways in Adipose Tissues of Rats', *Nutrients*, 2(11), pp. 1–15. doi: 10.3390/nu11040880.
88. Sanders, F. W. B. and Griffin, J. L. (2016) 'De novo lipogenesis in the liver in health and disease: More than just a shunting yard for glucose', *Biological Reviews*, 91(2), pp. 452–468. doi: 10.1111/brv.12178.
89. Sankararaman, S. and Sferra, T. J. (2018) 'Are We Going Nuts on Coconut Oil?', *Current Nutrition Reports*. *Current Nutrition Reports*, 7(3), pp. 107–115. doi: 10.1007/s13668-018-0230-5.
90. Schrover, I. M. *et al.* (2016) 'Adipose Tissue Dysfunction: Clinical Relevance and Diagnostic Possibilities', *Hormone and Metabolic Research*, 48(4), pp. 213–225. doi: 10.1055/s-0042-103243.
91. Sears, B. and Perry, M. (2015) 'The role of fatty acids in insulin resistance', *Lipids in Health and Disease*. *Lipids in Health and Disease*, 14(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/s12944-015-0123-1.
92. Sears, D. D. and Kim, J. J. (2010) 'TLR4 and insulin resistance', *Gastroenterology Research and Practice*, 2010. doi: 10.1155/2010/212563.
93. Shedden, R. *et al.* (2016) 'Effect of a Coconut Oil Supplement (2g/d) on Total Cholesterol to HDL Cholesterol Ratio in Healthy Adults', (May). Available at: https://repository.asu.edu/attachments/186456/content/Shedden_asu_0010N_16881.pdf.
94. Shengli, D. and Pauline, K. lund (2011) 'Role of intestinal inflammation as an early event in obesity and insulin resistance', *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 212(6), pp. 1049–1060. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.02.017.Cost-Effective.
95. Smith, R. L. *et al.* (2018) 'Metabolic flexibility as an adaptation to energy resources and requirements in health and disease', *Endocrine Reviews*, 39(4), pp. 489–517. doi: 10.1210/er.2017-00211.
96. Smith, U. and Kahn, B. B. (2016) 'Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, de novo lipogenesis and novel lipids', *Journal of Internal Medicine*, 280(5), pp. 465–475. doi: 10.1111/joim.12540.
97. Stanhope, K. (2016) 'Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The

- state of the controversy', *Crit Rev Clin Lab Sci*, 53(1), pp. 52–67. doi: 10.3109/10408363.2015.1084990.
98. Storlien, L. H. *et al.* (1991) 'Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and ω -3 fatty acids in muscle phospholipid', *Diabetes*, 40(2), pp. 280–289. doi: 10.2337/diabetes.40.2.280.
99. Szablewski, L. (2018) 'Introductory Chapter: Types of Adipose Tissue', *Adipose Tissue*, *IntechOpen*, pp. 3–6. doi: 10.5772/intechopen.77212.
100. Tholstrup, T. *et al.* (2004) 'Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities', *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), pp. 564–569. doi: 10.1093/ajcn/79.4.564.
101. Timmers, S. *et al.* (2011) 'Differential effects of saturated versus unsaturated dietary fatty acids on weight gain and myocellular lipid profiles in mice', *Nutrition and Diabetes*. Nature Publishing Group, 1(1), pp. e11-9. doi: 10.1038/nutd.2011.7.
102. Torres, N., Torre-Villalvazo, I. and R Tovar, A. (2006) 'Future directions in reducing hepatic lipotoxicity', *Future Lipidology*, 1(3), pp. 331–341. doi: 10.2217/17460875.1.3.331.
103. Torres, N., Vargas-Castillo, A. E. and Tovar, A. R. (2015) *Adipose Tissue: White Adipose Tissue Structure and Function*. 1st edn, *Encyclopedia of Food and Health*. 1st edn. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00006-4.
104. Turner, N. *et al.* (2009) 'Enhancement of muscle mitochondrial oxidative capacity and alterations in insulin action are lipid species dependent: Potent tissue-specific effects of medium-chain fatty acids', *Diabetes*, 58(11), pp. 2547–2554. doi: 10.2337/db09-0784.
105. USDA (2015) *Dietary guidelines for americans 2015-2020*.
106. USDA (2018a) *Basic Report 04002, Lard Report*.
107. USDA (2018b) *Basic Report 04047, Oil, coconut Report*.
108. Valenzuela, R. and Valenzuela, A. (2013) 'Overview About Lipid Structure', *Lipid Metabolism*, pp. 3–20. doi: 10.5772/52306.
109. Wallace, T. C. (2019) 'Health Effects of Coconut Oil—A Narrative Review

- of Current Evidence', *Journal of the American College of Nutrition*. Taylor & Francis, 38(2), pp. 97–107. doi: 10.1080/07315724.2018.1497562.
110. Weisberg, S. P. *et al.* (2003) 'Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue Find the latest version : Obesity is associated with', *J Clin Invest.*, 112(12), pp. 1796–1808. doi: 10.1172/JCI200319246.Introduction.
111. WHO (2018) 'Draft guidelines on saturated fatty acid and trans-fatty acid intake for adults and children', *Geneva: WHO*, pp. 1–103. Available at: [https://extranet.who.int/dataform/upload/surveys/666752/files/Draft WHO SFA-TFA guidelines_04052018 Public Consultation\(1\).pdf](https://extranet.who.int/dataform/upload/surveys/666752/files/Draft%20WHO%20SFA-TFA%20guidelines_04052018%20Public%20Consultation(1).pdf).
112. Wood, J. D. and Migicovsky, B. B. (1958) 'The effect of dietary oils and fatty acids on cholesterol metabolism in the rat', *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 36(4), pp. 433–438. doi: 10.1139/o58-049.
113. Yang, Z. H. *et al.* (2012) 'Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signalling and inflammation in mice', *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 4(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/1475-925X-13-S2-S1.
114. Zúñiga, J. *et al.* (2011) 'N-3 PUFA supplementation triggers PPAR- α activation and PPAR- α /NF- κ B interaction: Anti-inflammatory implications in liver ischemia-reperfusion injury', *PLoS ONE*, 6(12). doi: 10.1371/journal.pone.0028502.

ANEXO I.

Composición de las dietas utilizadas en el estudio de acuerdo a la AIN-93

| Ingredientes | Control (AIN-93M) | DAG Manteca | DAG Aceite de coco |
|-------------------------|------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| Energía (kcal) | 3809.968 | 4628.8 | 4628.8 |
| Carbohidratos (%) | 75.66 | 38.17 | 38.17 |
| Lípidos (%) | 9.45 | 40.83 | 40.83 |
| Proteínas (%) | 14.89 | 21.00 | 21.00 |
| Caseína (%) | 14 | 24 | 24 |
| L-cistina (%) | 0.18 | 0.3 | 0.3 |
| Almidón de Maíz (%) | 46.5692 | 23.903 | 23.903 |
| Maltodextrina (%) | 15.5 | 10.267 | 10.267 |
| Sacarosa (%) | 10 | 10 | 10 |
| Fuente de grasa (%) | | | |
| Aceite de soya | 4 | | - |
| Manteca | - | 21 | - |
| Aceite de coco | - | . | 21 |
| Celulosa (fibra) (%) | 5 | 5 | 5 |
| Mezcla de minerales (%) | 3.5 | 3.5 | 3.5 |
| Mezcla de vitaminas (%) | 1 | 1 | 1 |
| Citrato de colina (%) | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| TBQH (antioxidante) (%) | 0.0013 | 0.0013 | 0.0013 |
| Bebedero | | | |
| Energía (kcal) | | 400 | 400 |
| Sacarosa | 0 | 10 | 10 |