

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA CON ORIENTACIÓN EN FISIOLOGÍA Y  
COMPORTAMIENTO ANIMAL**

**EL EFECTO DE LA DIETA PANAMEÑA SOBRE LA OBESIDAD Y EL SISTEMA  
DE SACIEDAD BASADO EN LEPTINA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADO  
EN BIOLOGÍA CON ORIENTACIÓN EN FISIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO  
ANIMAL**

**ELABORADO POR:  
ALVIS NÚÑEZ BATISTA**

**PROFESORES ASESORES:  
MGTR. GLORIA DE TRUJILLO  
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
MGTR. EMILIO EDUARDO ROMERO R.  
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
MGTR. MAYRA DE LÓPEZ  
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ**

**ASESOR EXTERNO:  
DRA. MARÍA BEATRIZ CARREIRA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y SERVICIOS DE ALTA  
TECNOLOGÍA**

**PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**ABRIL DE 2023**

## **Dedicatoria**

A mis padres, quienes, con mucho cariño y esfuerzo, contribuyeron en mi formación profesional y, quienes desde el día uno, decidieron que la educación sería la única herencia inmaterial que podrían darme. A mi madre quien, hasta el último respiro en este mundo, me daba ánimos para seguir, entre regaños y frases de amor, y con besos en la mejilla se despedía todas madrugadas antes de ir a trabajar. Te recordaré, mamá, hasta mi último suspiro en este mundo; un día llegaré no importa la distancia, paso a paso, para estar contigo nuevamente. A mi papá, hombre trabajador, me enseñaste el valor que tiene el trabajar honradamente y que todo con esfuerzo se puede alcanzar; eres mi único apoyo y que aun después de la pérdida de tu esposa, me seguiste apoyando para sacar adelante a tu hijo, el cual te estará eternamente agradecido.

## **Agradecimientos**

Hay innumerables personas a las cuales debo agradecer por la realización de este trabajo de tesis, pero primero al Señor, creador de cielos y tierra y a su Santísima Madre, por la gracia y la sabiduría que recibí para poder llevar a término este trabajo.

A todos mis maestros y profesores que durante años compartieron sus conocimientos para que mi formación fuese completa, en especial, a las profesoras Ada Rodríguez, María de Staf y Nayda Flores, de Botánica; a los profesores Lesbia de Gracia, Mayra López, Gloria de Montenegro y Emilio Romero, de Fisiología y, por último, al profesor Alonso Santos Murga, de Zoología, a todos ellos, gracias.

En el INDICASAT, fue donde aprendí a realizar investigación científica y esto solo lo puede hacer gracias a la Dra. María Beatriz Carreira y a la Dra. Rosa De Jesús y a todo su equipo, quienes me apoyaron durante toda mi estancia en el instituto mientras realizaba esta investigación, gracias.

A la Fundación Benéfica Louis y Marthe Deveaux, por financiamiento de mi trabajo de tesis y por contribuir, de igual manera, a mi formación como biólogo.

Y, por último, a todas las personas que con su ánimo y manos me apoyaron durante este tiempo, gracias. No es muy ortodoxo agradecerse a uno mismo, pero lo hago, porque sin mi dedicación, esfuerzo y constancia no hubiese terminado mi tesis de licenciatura.

## Índice general

<b>Resumen</b> .....	<b>6</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>8</b>
<b>Revisión bibliográfica</b> .....	<b>13</b>
<b>Sistema digestivo y sistema de ingesta y su regulación</b> .....	<b>21</b>
<i>Regulación anabólica a corto plazo de la ingesta (orexigénico)</i> .....	28
<i>Regulación catabólica a corto plazo de la ingesta (anorexigénicos)</i> .....	30
<i>Regulación de la ingesta a medio plazo</i> .....	31
<i>Regulación de la ingesta a largo plazo</i> .....	31
<i>Sistema anabólico de regulación a largo plazo (orexigénico)</i> .....	32
<i>Sistema anabólico de regulación a largo plazo (anorexígenos)</i> .....	33
<b>Mecanismo de acción de la leptina y disfunciones</b> .....	<b>36</b>
<i>Desubrimiento de la leptina</i> .....	38
<i>Fisiología de la leptina</i> .....	39
<i>Función neuroendocrina de la leptina</i> .....	43
<i>El papel de la leptina en la homeostasis energética</i> .....	44
<i>Obesidad y leptina</i> .....	45
<i>Resistencia a la leptina por alimentación en la obesidad común</i> .....	46
<b>Métodos y materiales</b> .....	<b>51</b>
<b>Animales</b> .....	<b>51</b>
<b>1. Dieta típica panameña</b> .....	<b>51</b>
<b>2. Toma de muestra de sangre por vía retro-orbital:</b> .....	<b>53</b>
2.1 Preparación y posicionamiento del animal .....	54
2.2 Extracción de sangre .....	54
2.3 Muestras para evaluación de leptina .....	55
2.4 Evaluación de niveles de glucosa y prueba de tolerancia a la glucosa (GTT) .....	55
<b>3. Sacrificio de los animales y colecta de tejido adiposo blanco</b> .....	<b>56</b>
3.1 Sacrificio de los animales .....	56
3.2 Colecta de tejido adiposo blanco .....	56
<b>4. Congelación de tejido adiposo blanco fresco en OCT utilizando isopentano</b> 56	
<b>5. Almacenamiento y centrifugación de muestras de sangre para evaluación     de leptina</b> .....	<b>58</b>
<b>6. Preparación de la gelatina e impregnación de los portaobjetos con la     gelatina</b> .....	<b>58</b>
6.1 Preparación de la gelatina.....	58
6.2 Lavado de los portaobjetos e impregnación con la gelatina.....	59
<b>7. Tejido adiposo seccionado en parafina</b> .....	<b>59</b>
7.1 Preparación de las laminillas .....	59
7.2 Procedimiento de sustitución .....	63

7.3	Protocolo .....	63
8.	Immunoabsorbancia colorimétrica (ELISA) para leptina .....	67
8.1	Preparación y reconstitución de reactivos.....	67
8.2	Determinación de soluciones de trabajo.....	69
8.3	Preparación del plato.....	69
9.	Procedimiento de ensayo .....	70
<b>Resultados.....</b>		<b>72</b>
1.	Peso de los animales .....	72
2.	Prueba de la tolerancia a la glucosa (GTT) .....	73
3.	Leptina punto final .....	74
4.	Leptina en diferentes puntos.....	74
5.	Glucemia .....	76
6.	Tejido adiposo subabdominal .....	77
7.	Tejido perigenital.....	78.
8.	Consumo total de la dieta alta en grasa .....	79
9.	Hipertrofia .....	80.
10.	Hiperfasia.....	81.
<b>Discusión .....</b>		<b>82.</b>
<b>Conclusión.....</b>		<b>94</b>
<b>Referencias.....</b>		<b>96</b>

## Resumen

La obesidad y el sobrepeso son considerados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como una de las grandes pandemias que afectan a la humanidad en este siglo. Se calcula que, en 2016, el 39% de las personas mayores de 18 presentaban sobrepeso y el 13% eran obesas. En Panamá, según la Encuesta Nacional de Salud de 2019, un 35.3% de los panameños mayores de 18 años padecen de obesidad y un 36.4% padece de sobrepeso, haciendo un total de 71.9% de panameños que sufren de exceso de peso. Esto conlleva, además, un aumento de las enfermedades relacionadas a la obesidad, como lo son las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, entre otras. La obesidad está directamente relacionada con la ingesta de comida chatarra, alimentos fritos, bebidas y jugos azucarados, dulces biscochos, entre otros.

Por tal razón, este estudio se enfocó en evaluar el efecto de la dieta panameña sobre la obesidad y el sistema de saciedad basado en leptina. Para ello, se aplicó una “dieta panameña” a ratones macho y hembras de la cepa C57BL/6. Esta dieta de cafetería (CAF) consistía en presentar alimentos altamente palatables, altos en azúcares y en grasas, de acuerdo con el consumo reportado en Panamá de estos, y en adición a la dieta estándar. Al grupo control se alimentó con la dieta estándar (CHOW). Esta dieta se presentó por 10 semanas, durante las cuales se midió el peso corporal, glucosa, leptina, y medidas de punto final fisiológicas. En la semana 10 de la fase de experimentación, se les realizó la prueba de tolerancia de la glucosa (GTT), seguido de colectas de muestras de sangre para inmunoabsorbancia

colorimétrica (ELISA) para la leptina y tejidos adiposos subabdominal y perigenital para evaluaciones ex vivo. Encontramos que los ratones macho, poseían mayores depósitos de masa grasa, y mostraron niveles elevados de leptina a las 10 semanas. Las hembras CAF aumentaron de peso en comparación con las hembras control, significativamente, pero al comparar con los machos CAF, la diferencia en los pesos es mucho mayor, especulamos que este efecto se debe a la protección que genera el estrógeno. Nuestros resultados son consistentes con otros estudios que han evaluado dietas y resaltan la importancia de modificar los hábitos de la dieta de cafetería panameña. Es importante también destacar que, aunque en nuestro estudio las hembras no desarrollaron cambios fisiológicos significativos, futuros estudios pudiesen elucidar el efecto de estas dietas por períodos prolongados o bien evaluar la contribución del ciclo estral en este efecto. En conclusión, el consumo de la dieta CAF provoca obesidad y cambios metabólicos.

## Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) 2018, define obesidad y sobrepeso como una acumulación excesiva o anormal de grasa que puede ser poco beneficiosa para la salud. Una de las causas fundamentales de la obesidad y del sobrepeso es el desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas, que puede deberse a factores como un aumento en el consumo de alimentos con alto contenido calórico, una disminución de la actividad física, estilos de vida cada vez más sedentarios, entre otros (OMS, 2018).

La obesidad aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad, ya que se asocia a enfermedades cardiovasculares (hipertensión arterial, ateromas, eventos cerebrovasculares), diabetes mellitus tipo 2, algunos tipos de cáncer, apnea del sueño, osteoartritis, dislipidemias, colelitiasis, enfermedad del hígado y de la vesícula, entre otros (Flores, 2013).

Entre de los factores que producen el sobrepeso y la obesidad están la ingesta de nutrientes con alto contenido en grasa; el sedentarismo, que conlleva a una disminución del gasto energético favoreciendo, asimismo, a la obesidad. La inestabilidad emocional, factor que se asocia al desarrollo de la obesidad, ya que conlleva una falta de autoestima lo que comporta: aislamiento, sedentarismo e incremento de la ingesta (Aragón et al., 2010). Muchos alimentos con alto contenido calórico, como carbohidratos refinados (harina blanca, arroz, dulces, algunos lácteos, bebidas azucaradas, entre otros), grasas saturadas (comida chatarra, carne de pollo, cerdo y vaca, chocolate, entre otros), ácidos grasos trans, entre otros, pueden producir sobrepeso y obesidad (Argallo *et al.*, 2012).

La obesidad está relacionada a los adipocitos; las funciones del tejido adiposo se van modificando a medida que los adipocitos incrementan su tamaño, dependiendo del grado de obesidad que presente el sujeto (Bays *et al.*, 2008). Hay dos tipos de tejido adiposo, blanco y pardo; el tejido adiposo blanco es responsable de la secreción de varios tipos de moléculas llamadas adipocinas, que son de importancia en el equilibrio de diversos procesos fisiológicos (Almanza-Pérez *et al.*, 2008). La hormona leptina es una de las adipocinas que son sintetizadas y secretadas casi exclusivamente por el tejido adiposo blanco y la producción de esta es directamente proporcional con la cantidad de tejido adiposo. La leptina es también producida por algunas células inmunocompetentes y endoteliales, las cuales también segregan esta hormona, pero en menor cantidad (Carlo *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007).

La función primordial de la leptina es actuar a nivel de los receptores específicos, sobre todo en el hipotálamo, provocando una inhibición de la ingesta por pérdida del apetito (Banks *et al.*, 2002). Desde un punto de vista anatómico, los receptores de leptina se localizan en los núcleos arcuato, paraventricular, y en las áreas hipotalámicas ventromedial, lateral y dorsomedial (Gonzalez *et al.*, 2010). La obesidad se caracteriza por los niveles elevados de leptina, o hiperleptinemia. La descripción de este fenómeno en una investigación temprana con leptina, en personas obesas, mostró una sobre expresión del gen *ob* en el tejido adiposo (Farr *et al.*, 2015).

En personas con esta condición, los niveles de leptina aumentan, esto se debe a que el transportador de la leptina está cada vez más saturado y bloquea el acceso

de esta hormona (Li & Li, 2016). Adicional a la regulación de los niveles de leptina por los adipocitos y la obesidad, varían según el estado de alimentación. En períodos de ayuno, ocurre una reducción en los niveles séricos de leptina, provocando respuesta compensatoria en el balance energético (Palou, *et al.*, 2001). La secreción de leptina varía de acuerdo con el ritmo circadiano.

La proteína es secretada en forma de pulsos, con una frecuencia aproximada de 45 minutos cada una. Este ritmo depende de factores como la alimentación, de tal forma que los niveles séricos de leptina aumentan en las primeras horas después de ingesta y continúan su ascenso en el caso de sobrealimentación (Licinio *et al.*, 1997).

En conjunto, estos antecedentes nos llevan a proponer que una dieta panameña, caracterizada por consumo altamente calórico, alto en grasa y azúcares refinadas, contribuirá a obesidad en ratones C57Bl/6 e incrementará los niveles de leptina séricos.

Este estudio se realizó debido a que en Panamá existe un problema creciente por la obesidad, cuya prevalencia en las sociedades occidentales es elevada y ha aumentado en los últimos años. (Cortada & Coca, 2006). Según la Organización Mundial de la Salud 2018, desde 1975 la obesidad se ha triplicado en todo el mundo; para el 2016, más de 1900 millones de personas mayores de 18 años, tenían sobrepeso, de los cuales, más de 650 millones eran obesos. La obesidad se asocia con una serie de desajustes metabólicos como son hipertrigliceridemia, dislipidemia, hipertensión, resistencia a la insulina, estado inflamatorio. En conjunto, este grupo de alteraciones se denomina Síndrome Metabólico (SM) (Contreras *et al.*, 2011).

El diagnóstico de este síndrome puede hacerse por la aparición de 3 o más de los siguientes factores de riesgo: obesidad abdominal, triglicéridos altos, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL) bajo, hipertensión e hiperglucemia en ayunas (Amaya et al., 2007). En 2016, el 39% de las personas adultas de 18 o más presentaban sobrepeso, y el 13% eran obesas (OMS, 2018). En Panamá, según la encuesta con representatividad nacional más reciente (ERV, 2008), el 56.4% de los adultos panameños presenta sobrepeso y el 21%, obesidad. Al comparar entre sexos, se reporta que el sobrepeso alcanza al 59.4% y la obesidad 23.8% en las mujeres; el sobrepeso y la obesidad en los hombres representa, 54.0% y 16.9% respectivamente (ERV, 2008).

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) de la Contraloría General de la República, las enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con la nutrición ocupan las primeras causas de muerte en el país entre 2012 y 2014; enfermedades isquémicas del corazón, cerebrovasculares, diabetes mellitus y las enfermedades hipertensivas.

El Plan Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional de Panamá 2017-2021, muestra que los habitantes, entre 2007 y 2011, han incrementado el consumo de alimentos que conllevan a sobrepeso y obesidad; por ejemplo, el consumo de azúcar de caña aumento 4%, la carne de res 15%, la carne de cerdo 9%, la carne de gallina 16%, el arroz 1%; en cambio, alimentos que son beneficiosos para la salud disminuyeron, como por ejemplo: frutas como la naranja, importante por su valor vitamínico, disminuyó un 14%, la banana 35%, el plátano 21%; alimentos como el pescado fresco 65% y el pescado y mariscos 23%, estos últimos son importantes

por el omega-3, el cual favorece al sistema cardiovascular, al cerebro y brinda protección a la vista.

Por estas razones, fue necesario la realización de este estudio para comprender los mecanismos de control de la ingesta. Con este proyecto se busca la descripción del efecto de una dieta local en parámetros de salud de los animales de la colonia de INDICASAT AIP y se definió su contribución a la señalización de saciedad mediante la neurohormona leptina de manera sistémica. Este estudio contribuyó a entender la obesidad desde sus mecanismos celulares.

## **Revisión bibliográfica**

La evolución humana y la evidencia de los primeros homínidos, o sea, animales con una capacidad mental suficientemente especializada, que se puede decir que son ancestros de los humanos modernos y no de otros primates, proviene de África (*Bernard Wood Summary*, n.d.). Los estudios fósiles han permitido reestructurar con precisión los antepasados de los humanos modernos; hace 4.5 millones de años aparecieron los primeros bípedos, los *Australopithecus*; entre 1.6 y dos millones de años aparecieron los primeros miembros del género *Homo* (*Homo habilis* y *Homo erectus*), posteriormente hace 400 000 años apareció el primer *Homo sapiens arcaico*; sucedido por el *Homo sapiens neanderthalensis* que apareció hace 80 000 años y, por último, el *Homo sapiens sapiens*, primer hombre realmente moderno, apareció hace solo 40 000 años (Arroyo, 2008).

El conocimiento del surgir de cada antepasado de los seres humanos modernos nos puede dar evidencias del tipo de alimentación de cada uno de estos grupos y esto,

a su vez, nos ayuda a comprender por qué el humano moderno, cambió su manera de alimentarse después de la industrialización. La evidencia fósil ha permitido la reconstrucción de la dieta consumida y de cómo cambió a lo largo de la evolución de los homínidos (Arsuaga, 2002). Los cambios en el clima provocaron que las selvas fueran menos densas y esto, a su vez, obligó a los homínidos a cubrir mayor territorio para buscar alimento, como la recolección de semillas y frutas (Leakey & Walker, 1997).

La postura bípeda, en la cual se comenzaron a desplazar los homínidos, contribuyó que se redujera el área de exposición directa al sol y esto facilitaba que se disipara mejor el calor debido a una mayor superficie; esto permitió resistir mejor el calor durante el medio día y permitió a los homínidos ampliar su alimentación por la ingestión de carroña, cuando la mayoría de los predadores se resguardaban del calor (Teaford & Ungar, 2000). Con la aparición de *Homo habilis*, se dio la fabricación de herramientas de piedra; y con la especie siguiente, *Homo erectus*, la cual se caracterizó por incorporar a su dieta cantidades significativamente mayores de carne, según los esqueletos, conchas y espinas encontradas cerca de sus cuevas (Eaton & Konner, 1985).

Con la aparición de los humanos anatómicamente modernos, la cacería de animales grandes aumentó gracias a la realización de nuevas técnicas y herramientas; se especula que en estas épocas la carne proporcionaba el 50% de la dieta (Eaton & Konner, 1985). Según Eaton y Konner, teniendo como base el registro fósil, propusieron el término dieta paleolítica, la cual estaba basada en la ingesta de carbohidratos, grasas y proteínas. Otra investigación, de estos mismos autores, siguiere los porcentajes; 37% de la energía derivada de proteínas, 41% de

carbohidratos y 22% de grasas, con una relación de grasas poliinsaturadas/saturadas favorable (1.4) y un contenido de colesterol bajo, esto basado en los estudios con cazadores-recolectores existentes, los cuales tenían una dieta paleolítica.

Esta discordancia en la dieta se refiere a los cambios en la alimentación en la especie humana a partir del surgimiento de la agricultura, la ganadería y sobre todo en los últimos 150 años, por la revolución industrial; además esta aborda situaciones fundamentales de enfermedades, como la aterosclerosis, la cual es el fundamento de la mayoría de las muertes por enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares; estas afecciones eran muy raras en nuestro homólogos cazadores-recolectores, ya poseían niveles muy bajos de colesterol (Eaton et al., 1988).

Los estudios de sus dietas muestran que consumían niveles bajos de grasas totales y grasas saturadas e incluso estos niveles son más bajos que los estándares; además de los altos consumo de fibras que probablemente protegieron a sus colonos de los adenomas y esto a su vez pudo provocar los bajos niveles de colesterol (Eaton & Konner, 1985). Este mismo autor afirma que la ingesta promedio de sal de menos de un gramo por día, pudo protegerlos de la hipertensión y sin obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 era poco común.

Con el establecimiento de la agricultura y de la ganadería, la alimentación humana y sobre todo el estilo de vida, ha experimentado cambios grandes, especialmente en los últimos 150 años por el efecto de la revolución industrial (Arroyo, 2008). Estos cambios se pueden describir por el aumento de la ingestión de energía y

disminución del gasto calórico; aumento del consumo de grasas, ácidos grasos omega-6 y ácidos grasos trans, y una disminución de la ingestión de ácidos grasos omega-3; y por la disminución del consumo de carbohidratos y fibras (Simopoulos, 2010).

Estos cambios en la dieta han llevado al ser humano a una discordancia evolutiva de la dieta, lo que quiere decir que, en términos genéticos, los seres humanos viven en un ambiente de nutrición que discrepa de aquel para el que nuestra constitución genética fue seleccionada (Simopoulos, 2010).

La mayoría de estos cambios han sido impulsados por la emergencia de la agricultura y de la ganadería, y la revolución industrial, lo que nos ha llevado a discordancia evolutiva, o sea se produce sobrepeso u obesidad (Cordain et al., 2005). El centro para el control y la prevención de enfermedades (CDC), en una investigación realizada propone que el sobrepeso y obesidad puede producir las siguientes enfermedades: enfermedad coronaria, diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia, accidente cerebrovascular, entre otras.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) 2018, define obesidad y sobrepeso como una acumulación excesiva o anormal de grasa que puede ser poco beneficiosa para la salud. Una de las causas fundamentales de la obesidad y del sobrepeso es el desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas, que puede deberse a factores como un aumento en el consumo de alimentos con alto contenido calórico, una disminución de la actividad física, estilos de vida cada vez más sedentarios (OMS, 2018); además de en este momento se puede atribuir como

causas de la obesidad a la disponibilidad de comida rápida económica, la cual se define como a aquellos alimentos de bajo valor nutritivo, que poseen altos contenidos de azúcares, harinas o grasas, tales como botanas, refrescos, pastelillos, dulces o cereales refinados (Chávez, 2013); disposición genética y a mecanismos metabólicos (Buchwald,2018).

La obesidad aumenta el riesgo de morbilidad, la cual se asocia con un aumento del costo de la atención de salud, programas preventivos y disminución de la calidad de vida (Pública, 2001) y la mortalidad, se vincula con la aparición de enfermedades cardiovasculares (hipertensión arterial, ateromas, eventos cerebrovasculares), diabetes mellitus tipo 2, algunos tipos de cáncer, apnea del sueño, osteoartritis, dislipidemias, colelitiasis, enfermedad del hígado y de la vesícula, entre otros (Flores-Lázaro et al., 2011). Entre los factores que producen el sobrepeso y la obesidad figuran la ingesta de nutrientes con alto contenido en grasa; el sedentarismo, conlleva una disminución del gasto energético favoreciendo a sí mismo la obesidad.

La inestabilidad emocional, factor que se asocia al desarrollo de la obesidad, ya que conlleva una falta de autoestima lo que comporta: aislamiento, sedentarismo e incremento de la ingesta (Ángel Aragonés Gallego, 2010). Muchos alimentos con alto contenido calórico, como carbohidratos refinados (harina blanca, arroz, dulces, algunos lácteos, bebidas azucaradas, entre otros), grasas saturadas (comida chatarra, carne de pollo, cerdo y vaca, chocolate, entre otros), ácidos grasos trans entre otros, contribuyen a producir sobrepeso y obesidad (Argallo *et al.*, 2012).

Los seres humanos somos unos de los mamíferos más gordos, la grasa en proporción a la masa corporal total fluctúa aproximadamente el 10% en los muy

delgados el 35% en los obesos (Behav & Schoenemann, 2004). Después de la industrialización, el cambio de dieta es una de las principales causas de la relación entre modernización y obesidad. Esto implica que, con la occidentalización de las dietas, el consumo de fibras disminuyó y aumento el consumo de grasas y azúcar, afectando de esta manera a las dietas tradicionales (BROWN & KONNER, 1987).

Según la RAE, la occidentalización se conoce como: dotar de características que se consideran propias de la cultura o de la forma de vida occidentales. No solo el cambio en la dieta puede causar obesidad, sino la predisposición genética; los genes, en el estilo de vida, implican en la etiología de la obesidad, aunque los factores que interactúan entre sí, no se conocen a fondo (Stunkard, AJ, 2009).

La técnica más utilizada para medir la obesidad es el índice de masa corporal (IMC), la OMS lo define como un índice simple de peso para la estatura que se usa comúnmente para clasificar el bajo peso, el sobrepeso y la obesidad en adulto. La OMS define estas categorías utilizando los puntos de corte: una persona con un IMC entre 25,0 y 30,0 se considera que tiene "sobrepeso"; un IMC superior a 30,0 se define como "obeso". Se utiliza la siguiente fórmula para calcular el IMC:

IMC	Estado
Por debajo de 18.5	Bajo peso
18,5–24,9	Peso normal
25.0–29.9	Preobesidad o Sobrepeso
30.0–34.9	Obesidad clase I
35,0–39,9	Obesidad clase II
Por encima de 40	Obesidad clase III

$\text{Peso/estatura}^2 = \text{IMC}$ . Tabla de la OMS para la clasificación peso normal, sobrepeso y obesidad, según el IMC:

Según el portal web, Our World in data, la obesidad representa el 8% de las muertes anuales en 2017; las proporciones varían significativamente en todo el mundo. Países de ingresos medios, en Europa del Este, Asia Central, África del Norte y América Latina, el porcentaje de muertes es de 15% en 2017 y con tendencia al aumento. En la mayoría de los países con ingresos altos, los porcentajes de muertes son inferiores y oscilan entre el 8% y el 10%. Valores atípicos sobre el porcentaje de obesidad en los países de altos ingresos son Japón y Corea del Sur, donde solo alrededor del 5% de las muertes son por obesidad; pero en los países de África subsahariana tenemos el mismo porcentaje de muertes, estas diferencias se deben al tipo de alimentación y a la escasez.

En Panamá, según la encuesta con representatividad nacional más reciente (ERV, 2008), el 56.4% de los adultos panameños presenta sobrepeso y el 21% obesidad. Al comparar entre sexos, se reporta que el sobrepeso alcanza al 59.4% y la obesidad 23.8% en las mujeres; el sobrepeso y la obesidad en los hombres representa, 54.0% y 16.9% respectivamente (ERV, 2008). Estos porcentajes de obesidad y sobrepeso en la sociedad panameña, se debe a tres hábitos alimenticios muy arraigados en la población; según el estudio PREFREC del Instituto Conmemorativo Gorgas para Estudios de la Salud, los panameños consumen de manera diaria, frituras, alimentos y bebidas azucaradas y comida rápida. La investigación arroja, con respecto a las frituras, de las 1158 personas, 32.3%, consumen este tipo de alimento dos y más veces al día; en cuanto a los alimentos y bebidas azucaradas, la mayoría de los encuestados afirma que consume este tipo

de alimento 2 veces o más al día y un 8.6% afirma que lo consume de manera frecuente; en cuanto a la comida rápida, de los 845 individuos, un 23.5%, consumen, por lo menos, una vez a la semana.

Es por ello que Panamá puede considerarse un país en plena transición epidemiológica, pues presenta altas prevalencias de sobrepeso y obesidad aun en los sectores de pobreza y pobreza extrema, asociados a patrones inadecuados de consumo y a una baja talla (Alimentaria, 2009).

Un estudio del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) de la Contraloría General de la República revela que las enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con la nutrición ocupan las primeras causas de muerte en el país entre 2012 y 2014; enfermedades isquémicas del corazón, cerebrovasculares, diabetes mellitus y las enfermedades hipertensivas.

El Plan Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional de Panamá 2017-2021, muestra que los habitantes, entre 2007 y 2011, han incrementado el consumo de alimentos que conllevan a sobrepeso y obesidad; por ejemplo, el consumo de azúcar de caña aumento 4%, la carne de res 15%, la carne de cerdo 9%, la carne de gallina 16%, el arroz 1%; en cambio, alimentos que son beneficiosos para la salud disminuyeron, como por ejemplo: frutas como la naranja, importante por su valor vitamínico, disminuyó un 14%, la banana 35%, el plátano 21%; alimentos como el pescado fresco 65% y el pescado y mariscos 23%, estos últimos son importantes por el omega-3, el cual favorece al sistema cardiovascular, al cerebro y brinda protección a la vista.

Según otro estudio del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, en país, la obesidad ha aumentado en ambos sexos, observando este aumento con mayor magnitud entre las mujeres, y también en las zonas urbanas, rurales e indígenas. En 1982, la prevalencia de obesidad, con un índice de masa corporal (IMC) = 30 kg/m<sup>2</sup>, en los varones fue de 3.8% y en las mujeres el 7.6%. En 2003, en los hombres, la prevalencia aumentó a 14.4% y en las mujeres de 21.8%. En 2008, la prevalencia de obesidad en los hombres fue de 16.9% y en las mujeres fue de 23.8%. Sin embargo, en 2007, la percepción nacional de la obesidad era solo del 4% en varones y 6.7% en mujeres. Esta disparidad plantea la preocupación de que, si bien más de la mitad de la población adulta del país tiene sobrepeso o es obeso, la percepción sobre la obesidad en la población general puede ser diferente.

Entre todos estos números alarmantes, Panamá ha dado avances para combatir la epidemia de obesidad como la aprobación de la Ley 75 de 2017, la resolución 49 del MINSA y la reciente Ley 570 aprobada en tercer debate en la Asamblea Nacional que establece un impuesto selectivo al consumo de bebidas azucaradas. En vista de esta problemática, el Ministerio de Salud crea la campaña del Día Nacional de Prevención y Combate a la Obesidad, la cual cuenta con el apoyo de la Asociación Panameña de Nutricionistas Dietistas y hace un llamado a la población para frenar el avance de esta epidemia.

La principal herramienta para esta campaña es la educación y la misma debe comenzar en casa, haciendo pequeños cambios en nuestra alimentación diaria; cada semana elija una tarea y conviértala en la “Meta Familiar de la Semana o de la Quincena o del Mes”. Son preocupantes los altos niveles de obesidad y

sobrepeso en los panameños frente a la presencia del nuevo coronavirus en Panamá, ya que este es un factor de riesgo, afirma la Caja de Seguro Social.

### **Sistema digestivo y sistema de ingesta y su regulación**

El sistema digestivo consiste en un grupo de órganos que degradan los alimentos ingeridos hasta tamaño de moléculas más pequeñas que pueden ser usadas por las células del cuerpo; este aparato está compuesto por dos grupos de órganos: el tubo y los órganos digestivos accesorios (Tortora & Derrickson, 2018).

El aparato digestivo está conformado por boca, la mayor parte de la faringe, el esófago, el estómago, el intestino delgado y grueso y por los órganos accesorios como: los dientes, la lengua, las glándulas salivales, el hígado, la vesícula biliar y el páncreas (Digestología, 2018).

El sistema digestivo contiene los alimentos desde el momento en que son ingeridos hasta que son digeridos, absorbidos o eliminados. Las contracciones musculares en la pared del tubo digestivo degradan físicamente los alimentos por batido o agitación y los impulsan a lo largo del tubo, desde el esófago hasta el ano (Tortora & Derrickson, 2018).

El aparato digestivo realiza seis procesos básicos:

1. **Ingestión:** Este proceso implica introducir alimentos y líquidos en la boca (comer).
2. **Secreción:** cada día, las células de la pared del tubo digestivo y de sus órganos accesorios secretan un total de 7 litros de agua, ácido, amortiguadores y enzimas que entran en la luz del tubo.

3. Motilidad: contracciones y relajaciones alternadas del músculo liso en la pared del tubo digestivo mezclan los alimentos y las secreciones, y los desplazan en dirección al ano.
4. Digestión: es el proceso de degradación de los alimentos en moléculas más pequeñas, esta puede ser de dos tipos, química y mecánica.
5. Absorción: movimiento de los productos de la digestión en la luz del tubo digestivo para pasar a la sangre o linfa;
6. Defecación: eliminación del material no digerible (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2018).

Todas las funciones digestivas globales necesitan un funcionamiento coordinado e integrado de varios subsistemas del tubo digestivo como, por ejemplo: el epitelio mucoso, la musculatura y las vasculaturas sanguínea y linfática y las glándulas anexas y con la ayuda del sistema nervioso, tanto entérico, periférico y central (Palma & Sanhueza, 2001). La compleja red neural está integrada por la pared del tubo digestivo (inervación intrínseca) y esta a su vez se comunica con el sistema nervioso central (inervación extrínseca); ambos son los responsables de mantener la actividad de todos los subcomponentes del tubo digestivo integrada (Goyal & Hirano, 1996).

La red neural intrínseca está conformado por el sistema nervioso entérico (SNE), se le considera la parte más compleja del sistema nervioso periférico, este está constituido por células gliales y neuronas, alrededor de 80 a 100 millones de neuronas, una cantidad mucho mayor que las presentes en la médula espinal, pero menor que las situadas en el encéfalo; esta red compleja de neuronas y células de sostén son capaces de generar información, integrarla y producir una respuesta

(Oswaldo Romero-Trujillo et al., 2012). El SNE proviene de las células de la cresta neural y dan origen a dos plexos nerviosos: submucoso de Meissner y mientérico de Auerbach (Mazzone & Farrugia, 2007).

El plexo submucoso (Meissner), se localiza anatómicamente entre la capa interna de la capa muscular circular y la submucosa y en el intestino delgado y el colon está más desarrollado. Su principal función es la regulación de las funciones de digestión y absorción en la mucosa y de los vasos sanguíneos, dependiendo de la estimulación producida por los nutrientes (Navarro, 2002). El plexo mientérico (Auerbach) se localiza entre las capas musculares, circular y longitudinal, a lo largo del tubo digestivo; su principal función es la coordinación de la actividad de las capas musculares. (Palma & Sanhueza, 2001).

El sistema nervioso entérico está innervado por 4 tipos de neuronas (Fleming et al., 2020):

1. Neuronas aferentes intrínsecas primarias (NAIP): son responsables de responder a estímulos mecánicos y químicos y regulan las funciones fisiológicas del tubo digestivo, comunicando información a otras neuronas. Se localizan en ambos plexos nerviosos y son neuronas colinérgicas.
2. Neuronas motoras: innervan las capas musculares del tubo digestivo, vasos sanguíneos y las glándulas; según su función pueden ser excitatorias o inhibitorias. En la función excitatoria, los neurotransmisores principales son la acetilcolina y la taquicininas y en la inhibitorias están el óxido nítrico, GABA, ATP, monóxido de carbono entre otros.

3. Interneuronas: se encargan de integrar la información producida por las NAIP y de enviar esta información a las neuronas motoras; pueden ser de dos tipos ascendente o descendente según el tipo de información que transporten.
4. Intestinofugas: son responsables de conducir señales eferentes y funcionan como mecanorreceptores que detectan cambios en el volumen intestinal.

En el aparato digestivo tiene una doble inervación extrínseca por medio del sistema parasimpático y simpático. Ambos sistemas poseen fibras aferentes, sensoriales que comunican información al sistema nervioso central y fibras motoras eferentes que inervan los órganos efectores (Phillips & Powley, 2007)

Las neuronas del SNE pueden funcionar de manera independientemente, pero están sometidas a regulaciones provenientes del sistema nervioso autónomo. El nervio vago (X) provee de fibras parasimpáticas a la mayoría del tracto digestivo, exceptuando la última mitad del intestino grueso, la cual es inervada por fibras parasimpáticas de la médula espinal sacra (Tortora & Derrickson, 2018).

Las neuronas parasimpáticas preganglionares del nervio vago o nervios esplácnicos pélvicos forman sinapsis con neuronas parasimpáticas posganglionares situadas en los plexos mientérico y submucoso. A su vez otras neuronas parasimpáticas posganglionares forman sinapsis con neuronas del SNE y otras inervan al músculo liso y a las glándulas localizadas en la pared del tubo digestivo (Toro, 2005).

El estímulo de la parte de los nervios parasimpáticos que inervan el tubo digestivo incrementa la secreción y la motilidad al elevar la actividad de las neuronas del SNE; los nervios simpáticos que inervan el tubo digestivo vienen de las regiones torácica y lumbar superior de la médula espinal, estas neuronas simpáticas forman

conexiones neuronales con el SNE (Roa & Meruane, 2012). Los nervios simpáticos que inervan el aparato digestivo producen una disminución de la secreción y la motilidad gastrointestinal porque inhiben las neuronas del SNE (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2018).

En todo el mecanismo de fibras preganglionares simpáticas y parasimpáticas el principal neurotransmisor es la acetilcolina. La inervación posganglionar simpáticas tiene como neurotransmisor a la noradrenalina y las parasimpáticas a acetilcolina. Estas fibras de las terminaciones ganglionares y posganglionares de los mediadores mencionados coexisten con otros péptidos como: VIP, SP, dinorfina, CGRP, los cuales actúan como moduladores de la neurotransmisión (Palma & Sanhueza, 2001).

Todos estos mecanismos neuronales son activados por el simple gesto de tener el pensamiento de comer, por lo cual el proceso de la alimentación es transversal en la vida del ser humano, el cual está medido por componentes fisiológicos y ambientales (Forero & Gómez, 2021). La acción de comer es un conjunto de formas complejas y diferentes de conducta; por lo tanto, la regulación del apetito y de la ingesta se ve afectada por numerosas señales hormonales y neuronales, incluyendo el ambiente y cambios en la dieta y el ejercicio (Carranza, 2016).

En la fisiología del apetito y de la ingesta una de las regiones importantes para entender este proceso es el hipotálamo, ya que este posee conexiones recíprocas entre los centros corticales superiores, como las vías límbicas emparentadas con la recompensa, y el tronco cerebral; la regulación del hipotálamo se basa en dos componentes: la homeostasis y el control hedonista (Suzuki et al., 2014)

Hace sentido definir antes de continuar, ¿Qué es hambre, apetito y saciedad?

La necesidad fisiológica de consumir alimentos se le conoce como hambre, en cambio apetito es el deseo psicológico de comer ya que esté ligado a experiencias sensoriales y a la parada de la alimentación cuando se produce el alto del aparato digestivo se considera saciedad (Blundell et al., 2015).

Según (Vásquez-Machado & Ulate-Montero, 2010), la ingesta de los alimentos es el comienzo de un complejo proceso de señales cerebrales en respuesta a estímulos externos; el proceso de ingestión o alimentación tiene como comienzo un incentivo de alcanzar la meta alimentaria, por medio de las siguientes fases:

1. Fase de inicio: comienza con cambios en la corteza cerebral, que permite la selección de un programa motor óptico, toda ingestión de alimentos comienza con la visualización de estos.
2. Fase de consumo: se comienza con la secreción de saliva, ácido clorhídrico, insulina, otras respuestas reguladoras.
3. Fase de término: acción de las señales de llenado gástrico y saciedad.

Como se mencionó anteriormente, la ingesta de los alimentos es regulada por un complejo mecanismo en el que participa el hipotálamo, el cual regula las señales de hambre y saciedad. Estas señalizaciones permiten alcanzar la homeostasis de la energía, a través del núcleo lateral (produce la sensación del hambre) y el núcleo ventromedial (control y manejo de la sensación de saciedad durante el consumo de los alimentos). En cambio, los núcleos paraventriculares, dorsomediales y arqueados aportan a la regulación de la ingesta de alimentos y contribuyen con la producción de hormonas tiroideas, suprarrenales, insulina y glucagón, como también grelina y leptina. Con lo explicado anteriormente se da la regulación de la

ingesta y el balance energético a corto, mediano y largo plazo (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

Los ensayos experimentales donde se dañan los núcleos hipotalámicos ventromedial y paraventricular, se ha producido hiperfagia y obesidad, en cambio si el daño se efectúa hipotálamo lateral produce anorexia severa y pérdida de peso corporal. Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que el núcleo ventromedial es el centro de la saciedad y que hipotálamo lateral es considerado el centro del hambre (Schwartz et al., 2000).

Para comprender con mayor brevedad la ingesta y la saciedad, hay considerar dos términos: orexigénico y anorexigénico; el primero se entiende por un fármaco, hormona o compuesto que aumenta el apetito (ingesta), entre las hormonas se encuentran la grelina, orexina o el neuropéptido Y, proteína Agouti (AgRP) entre otros; la grelina actúa en la regulación anabólica a corto y largo plazo de la ingesta (Diepvens et al., 2008). Los compuestos anorexigénicos (saciedad) son fármacos u hormonas que disminuyen la ingesta de alimento, por ejemplo: pro-opiomelanocortina (POMC),  $\alpha$ -hormona estimulante de los melanocitos ( $\alpha$ -MSH) y el péptido relacionado a la cocaína y anfetamina (CART); la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) y la leptina (Lor et al., 2005). La regulación que llevan estas dos clases de hormonas se da a corto, mediano y largo plazo.

### ***Regulación anabólica a corto plazo de la ingesta (orexigénico)***

La regulación a corto plazo es simplemente dar inicio y fin a una comida. El inicio puede estar ligado a la observación de los alimentos, si son agradables a la vista, se activará el sensor de gusto, mientras si sucede lo contrario no se dará el deseo de comerlos. Esta regulación está medida por factores sensoriales, factores gastrointestinales, factores metabólicos, señales moleculares periféricas y señales moleculares centrales.

El instante previo a cada alimento, 10 a 15 minutos antes, participan múltiples factores que incentivan a la ingesta de alimentos, por ejemplo: **A.** factores neurosensoriales: la ingesta de alimento implica la existencia de circuitos neuronales que se comunican entre sí, el hipotálamo, el tálamo, la amígdala, el hipocampo y varias áreas de la corteza cerebral, donde proyectan aferencias sobre neuronas productoras de señales moleculares centrales que integran la conducta alimentaria (Blundell et al., 2015). **a.** Receptores externos: son sensitivos que comunican con el medio externo, son determinantes en la selección de los alimentos. Participan en la estimulación e inhibición de la ingesta de alimentos (Leibowitz, 1992). **b.** Visión: a consumir un alimento hay dos factores concluyentes a la hora de comer, el aspecto y color de los alimentos lo que induce a consumirlos o no. **c.** Olfato: para el comportamiento alimentario es el esencial este sentido, funciona para localizar la comida, palatabilidad, la conservación, toxinas y elementos extraños. **d.** Gusto: influye con mayor relevancia en la conducta alimentaria, en su mayoría se prefieren los alimentos dulces, salados y agrios, en vez de amargos, el cual se asocia con sustancias tóxicas (Leibowitz, 1992).

**B.** Factores gastrointestinales: generan la sensación de hambre por medio la contracción rítmica gástrica (Oswaldo Romero-Trujillo et al., 2012).

**C. Factores metabólicos:** **a. Nivel de glucemia:** un descenso de glucemia del 12% (10-15 mg/dL) antes de la sensación de hambre es ocasionado, al parecer, por el incremento de la insulina plasmática, ayudada por el nervio vago, generando una respuesta a una señal central proveniente de las células glucosensibles del hipotálamo lateral y del núcleo ventromedial, que al detectar el nivel de glucemia bajos comienzan a descargar con mayor frecuencia (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

#### **D. Señales moleculares periféricas**

Dentro de estas señales están las compuestas por la hormona grelina, la cual es producida predominantemente en el estómago y estimula el apetito a corto y largo plazo; los efectos de esta hormona se presentan en la regulación a largo plazo mayormente; esta abre el apetito para la posterior ingesta (Tataranni et al., 1996). Las hormonas tiroideas también participan en la estimulación del metabolismo basal produciendo un balance energético negativo, el cual se asocia con la pérdida de grasa corporal y la disminución de los niveles de leptina e insulina. Los glucocorticoides por su parte incrementan el consumo de alimento y tienen un papel antagonista frente a la insulina y leptina sobre los péptidos anorexígenos hipotalámicos; esta hormona tiene una acción anabólica en el SNC y catabólica en órganos y tejidos periféricos (Tataranni et al., 1996).

#### **E. Señales moleculares centrales**

Estas señales están mediadas por neurotransmisores, por ejemplo, la serotonina, que se produce en los núcleos caudales del tallo cerebral y posee efectos anorexígenos, especialmente, en los alimentos ricos en carbohidratos. Esta hormona participa en la fase terminal de alimentación actuando de manera sinérgica

con señales periféricas postprandiales con la consecuente elevación de los niveles de colecistocinina en el hipotálamo (Chambers et al., 2013). La noradrenalina (NA), es otra hormona que participa en la señalización moleculares centrales, se produce en el tallo cerebral en las neuronas del complejo dorsal del vago y del locus coeruleus. La NA actúa con acciones anabólicas sobre los receptores  $\alpha 2$  adrenérgicos situados en el núcleo paraventricular, estimulando el apetito con referencia hacia los carbohidratos (Holub, 2020).

### ***Regulación catabólica a corto plazo de la ingesta (anorexigénicos)***

La porción de los alimentos ingerida en cada comida y la fase de culminación de la alimentación están controladas a corto plazo por la señalización de llenado y saciedad y a largo plazo por la leptina. El sistema nervioso central recibe información sobre el aumento en las reservas de grasa, la señal de saciedad de colescistocinina se hace más efectiva para la producir el término de la alimentación y disminuir la ingesta de alimentos, y pasa todo lo contrario cuando el cerebro recibe señales de disminución de la adiposidad (Rolls, 2006).

### ***Regulación de la ingesta a medio plazo***

El apetito es regulado a mediano plazo por la hormona conocida como péptido YY; es un péptido de 36 aminoácidos, perteneciente al mismo grupo del polipéptido pancreático y neuropéptido Y, esta se sintetiza en las células L del intestino(Simpson et al., 2012); se ha comprobado que el péptido YY tiene la

capacidad de disminuir un 36% el volumen de alimentos ingeridos de manera inmediata y un 33% el volumen total en 24 horas. Por lo antes mencionado se le considera un regulador a mediano plazo de la ingesta (Suzuki et al., 2014)

### ***Regulación de la ingesta a largo plazo***

En cuanto a la regulación a largo plazo, lo primordial es mantener el peso corporal del individuo, con mayor atención en las reservas de tejido adiposo (Residente et al., 2014). Esta regulación tiene lugar a expensas de señales periféricas de adiposidad y neurotransmisores centrales (Moss et al., 2012). Estas señales periféricas de adiposidad se integran por dos moléculas de origen hormonal, la leptina y la insulina. La secreción de ambas se regula en función del volumen graso orgánico total. Estas actúan inhibiendo los procesos anabólicos y estimulando los catabólicos (Jéquier, 2002).

### ***Sistema anabólico de regulación a largo plazo (orexigénico)***

La ingesta está regulada, junto con otros compuestos, por el neuropéptido Y (NPY), el cual está conformado por 36 aminoácidos y se sintetiza en el núcleo arqueado del hipotálamo (Schwartz et al., 2000). Las inervaciones se proyectan a distintas áreas del hipotálamo involucradas en el control de la ingesta. Las restricciones a la ingesta activa mecanismo que incluyen el aumento del NPY y de la inmunorreactividad en el núcleo NPV y aumento en la expresión de su ARNm en el núcleo arcuato (Sahu et al., 1988). Además de estimular la ingesta de comida, NPY participa en el almacenamiento de grasa y aumento de peso y actúa como un factor opresor del deseo sexual, la locomoción y el gasto de energía en el cuerpo; los

niveles del NPY a lo largo del tiempo y su relación con los períodos de alimentación y ayuno, ha contribuido a la formación de una estrecha conexión entre el NPY, el hipotálamo y el consumo de alimentos, lo cual manifiesta un papel fundamental para el NPY en el control del apetito a largo plazo (Minor et al., 2009).

La proteína Agouti (AgRP) es una molécula con un gran potencial orexigénico, conformada por 132 aminoácidos y se produce principalmente en el núcleo arcuato, esta proteína tiene efectos orexigénicos en particular para las dietas ricas en grasas y sacarosa; además disminuye la termogénesis en el tejido graso pardo y condiciona un aumento de peso. La Agouti aumenta en períodos de ayuno, cuando las concentraciones de leptina son bajas, lo cual inhibe la acción de la leptina y en cambio aumenta el consumo de alimentos (Sohn, 2015).

La regulación de la ingesta también es llevada por las orexinas A y la B; estas se han identificado en el hipotálamo, como también en el estómago, intestino delgado y el páncreas. La función de este compuesto es modular la secreción de insulina y poseen acciones integradoras del eje cerebro-intestinal, que regula el apetito. Ambas son moduladas por la leptina (Residente et al., 2014). Otra hormona importante en la regulación anabólica de la ingesta es la grelina, de la cual se habló anteriormente.

### ***Sistema anabólico de regulación a largo plazo (anorexígenos)***

La principal hormona en la regulación catabólica de la ingesta es la leptina sintetizada principalmente por el tejido adiposo, aunque también puede ser producida por la hipófisis, el hipotálamo, músculo esquelético, placenta, mucosa gástrica y el epitelio mamario; la circulación varía en proporción al volumen de grasa

almacenado del individuo, esto quiere decir que la cantidad de leptina es proporcional al volumen de ácidos grasos acumulados (Robertson et al., 2008). Por medio de esta hormona el hipotálamo controla el estado nutricional del organismo, modulando la ingesta y contrarrestando un potencial balance energético positivo. La leptina provoca la activación de sistema efectores catabólicos, esto provoca la una reducción de la adiposidad por medio de la inhibición del apetito, lo cual estimula el gasto energético e inactiva los sistemas efectores anabólicos, como consecuencia de esto se favorece el proceso de lipólisis del tejido adiposo (Robertson et al., 2008).

Además de la leptina, la insulina ayuda a la formación de tejido adiposo e incrementa la producción de leptina, tiene efectos anorexígenos que disminuyen la expresión de NPY en el NAr. La insulina activa la termogénesis al activar la actividad del sistema nervioso simpático; de igual forma, estimula la actividad de señales de saciedad con efectos catabólicos, como son la CCK y la CRH, esto constituye una conexión entre la regulación del apetito y del metabolismo energético a largo plazo (Pinheiro et al., 2008). Con relación al péptido YY, este participa en la regulación de la ingesta, contiene 36 aminoácidos y se produce principalmente en las células L del intestino, este aumenta tras comer y disminuye en períodos de ayuno. Después de la digestión se liberan dos formas del péptido: PYY1-36 y PYY3-36, se ha comprobado que el PYY3-36 reduce la ingesta en humanos y roedores (Penín, 2008).

El apetito también es regulado por el sistema de las melanocortinas, el cual está conformado proopiomelanocortina (POMC), esta se transforma postraduccionalmente produciendo otros péptidos biológicamente activos, por ejemplo: ACTH,  $\beta$ -endorfinas y MSH  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Estos ejercen efectos a través de los

receptores para la melanocortina (MCR); además antagonizan los efectos de la AGRP (Cone, 2005). De los 5 receptores del sistema de las melanocortinas (MC1R-MC5R), los MC3R y MC4R se expresan en regiones del sistema nervioso central directamente relacionadas con el control del apetito (Santos, 2009). El péptido relacionado a la cocaína y anfetamina (CART), también se relaciona con la inhibición de la ingesta de alimentos; la expresión del ARNm de CART se han hallado en varias regiones del hipotálamo relacionadas con la ingesta de alimentos como: NPV, HL, HDM, ARC, también han encontrado en la eminencia media, la hipófisis y la médula adrenal (Cabrera- et al., 2005). En experimentos con ratones deficientes de leptina, se ha observado que CART media algunas de las acciones de la leptina, donde se observa que hay disminución en la expresión de CART, pero se incrementa cuando se suministra un tratamiento con leptina (Aja et al., 2019).

Este sistema de regulación, tanto anabólico como catabólico, se puede ver afectado en su mayoría por los trastornos de la conducta alimentaria (TCA); constituyen un grupo de afecciones biopsicológicas graves, multifactoriales, con alto riesgo de muerte (Valle & Covarrubias-esquer, 2019). Entre los TCA están: Según Real Academia Española define a la anorexia: como el síndrome de rechazo de la alimentación por un estado mental de miedo a engordar, que puede tener graves consecuencias patológicas; de igual forma define bulimia como: síndrome de deseo compulsivo de comer, con provocación de vómitos y consecuencias patológicas y por último está el trastorno evasivo/restrictivo de alimentación (ARFID): se define como la pérdida significativa de peso o deficiencia nutricional, con dependencia de algún suplemento dietético (Bulik, 2015).

En estudios sobre obesidad, se han descrito alteraciones cortico-límbicas que conllevan al consumo excesivo de calorías, como también modificaciones en la sensación de saciedad y falta de control de impulsos. En el caso de los TCA se comportan de forma inversa. En otros estudios, se ha observado que las variaciones en los niveles de serotonina modifican la regulación del apetito, conductas ansiosas y comportamientos obsesivos (Volkow et al., 2011). En pacientes con anorexia, el ayuno disminuye de manera significativa los niveles de serotonina, lo cual reduce la sensación de ansiedad y esto incrementa a medida que aumente la desnutrición (Valle & Covarrubias-esquer, 2019).

En la anorexia nerviosa aún no se han determinado las bases de los mecanismos específicos que originan esta enfermedad, pero se conoce que esta causa una restricción calórica severa, se producen procesos de neuroinflamación promovida por las células gliales, lo cual con lleva un impacto en el hipotálamo, además de producir déficits cognitivos en regiones del hipocampo y la corteza prefrontal determinados por medio de estudios de resonancia magnética (Reyes, 2018).

La bulimia comúnmente se asocia con una disminución en el tono de la neurotransmisión serotoninérgica en el sistema nervioso central. Estas alteraciones involucran tanto la liberación de serotonina, lo cual conlleva una modificación en la función de los receptores, en especial del receptor 5-HT1A y de sus transportadores. Comúnmente la hipofunción serotoninérgica es más marcada en pacientes con bulimia; sin embargo, en comparación de otras afecciones neurobiológicas en la bulimia la hipofunción persiste pesar de la recuperación sintomática, lo cual sugiere

que hay una modificación en el equilibrio entre la neurotransmisión excitatoria e inhibitoria en los circuitos córticos-límbicos y córticos-estriatales (Kaye et al., 2005).

### **Mecanismo de acción de la leptina y disfunciones**

La obesidad y el sobrepeso es una problemática mundial, donde su prevalencia aumentado nivel global y ha triplicado entre 1975 y 2016; es reconocida como enfermedad por la Asociación Médica estadounidense y por la Organización mundial de la Salud, tomando como base sus características metabólicas y hormonales, como la desregulación del apetito, el balance energético anormal, difusión endocrina entre otras (Aguilera et al., 2019). La base de la obesidad es un desequilibrio energético positivo, donde la ingesta energética supera al gasto energético. El sistema nervioso es el encargado de mantener el equilibrio entre la ingesta y el gasto de energía, este recibe información neural y química sobre el estado energético del cuerpo, lo integra y genera una respuesta adecuada para mantener la homeostasis (Bauer et al., 2016).

Algunas de las señales producidas por el sistema nervioso consisten en adipocitoquinas, las cuales son producidas por el tejido adiposo, además de servir de reservorio energético también es un órgano endocrino activo que regula muchos procesos metabólicos (Basain Valdés et al., 2016). El tejido adiposo actúa, en términos de sus capacidades metabólicas, de forma heterogénea y se ha observado que existen variaciones en su actividad, lo cual depende del sitio de depósito de la grasa, por ejemplo: subcutáneo (80%) o visceral (20%). Los depósitos viscerales tienen adipocitos de menos tamaño y están mayormente vascularizados, con mayor

inervación simpática y gran número de receptores  $\beta$  adrenérgicos, lo que le confiere mayor actividad y relación con la obesidad (Bertha & Robledo, 2010).

Las células del tejido adiposo se les conoce como adipocitos, los cuales se especializan en la acumulación de lípidos, como se ha mencionado anteriormente. Existen dos tipos de células adiposas, las cuales se diferencian en células adiposas blancas y células adiposas marrones o pardas; los adipocitos blancos poseen una sola vacuola de grasa que ocupa todo el citoplasma, en cambio, los adipocitos marrones se caracterizan por la presencia de múltiples vacuolas de grasa, así como una gran cantidad de mitocondrias en su citoplasma (Esteve Ràfols, 2014).

En el ser humano ambos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco (WAT) y el tejido adiposo marrón o pardo (BAT), presentan diferencias a nivel de su funcionalidad, su morfología y su distribución. El WAT es el principal reservorio de energía, es un órgano secretor de una gran cantidad de hormonas y citoquinas que actúan en el metabolismo del organismo; por otro lado, el tejido adiposo marrón o pardo se especializa en el gasto energético por medio de la termogénesis. (Basain Valdés et al., 2016).

El tejido adiposo blanco en exceso genera obesidad, una respuesta inflamatoria crónica de bajo grado, esto es debido a que este tejido aumenta la secreción de moléculas inflamatorias, como la leptina, el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 6 y la resistina y disminuye la secreción de la adiponectina, citocina con acción antiinflamatoria (Franchini et al., 2010).

La leptina es una de las hormonas producidas por este tejido y sus niveles están relacionados con el estado nutricional y el almacenamiento de energía (Heinonen et al., 2020). Además de la leptina el tejido adiposo blanco produce las siguientes

adipocinas: neuropéptido Y, adiponectina, resistina, visfatina, omentina, vaspira, apelina, adipsina, lipoproteína lipasa entre otras (Esteve Ràfols, 2014).

### ***Descubrimiento de la leptina***

Antes de la descripción de la leptina se sospechó que los adipocitos contribuían activamente en el control de la homeostasis energética, utilizando una señal hipotetizada de un adipostato para indicar la cantidad de energía almacenada en las reservas tisulares. (Argente & Chowen, 2014). En el año 1994 con el descubrimiento de gen mutante encargado de la obesidad en el ratón *ob/ob* por Zang *et al* (Zhang et al., 1994). La descripción de la nueva hormona, llamada leptina, del griego leptos (delgado), ha sido desde su descubrimiento objeto de investigación desde entonces; el gen de la hormona se localiza en el cromosoma 7, esta se produce en su mayoría en tejido adiposo, pero la leptina también se puede secretar o producir, en niveles bajos, en otros tejidos (Green et al., 1995). En 1995 se identificó que el producto del gen *ob* tenía efectos que disminuían el peso y se postuló como una señal periférica importante para el control central del metabolismo y se demostró que la proteína recombinante reducía el consumo de alimentos y el peso corporal en ratones *ob/ob*, así como en los ratones en ayunas (Rentsch et al., 1995).

Con los experimentos realizados se demostró que la leptina, una vez producida por el tejido adiposo, circulaba en el suero y que su expresión aumentaba en animales obesos y disminuía en períodos de ayuno y se incrementaban en la ingesta de alimentos. Cuando se realizaron los estudios en seres humanos se encontró que el

gen se incrementaba en el tejido adiposo y que los niveles séricos de leptina por ende estaban elevados en sujetos obesos (Ogawa et al., 1995).

### ***Fisiología de la leptina***

El gen *ob* en humanos, igual que en los ratones, se encuentra en el brazo largo de cromosoma 7, este codifica una proteína de 167 aminoácidos con un peso molecular de 16kD denominada leptina; se describió originalmente a través de la clonación posicional de ratones *ob/ob*. Esta hormona es de origen peptídico, secretada en la sangre y es producida principalmente por el tejido adiposo blanco, en menor medida por la placenta, el estómago y las células estelares del hígado y los niveles están correlacionados positivamente con la cantidad de grasa corporal del individuo (Considine, 1996) (González Jiménez Emilio et al., 2010).

En 1995 el receptor de la leptina fue descrito por primera vez por Tartaglia *et al*, por medio de la utilización de leptina marcada e identificando su existencia en los plexos coroideos de ratón. Existe una gran variedad de isoformas del receptor en humanos, isoformas cortas y largas. El receptor de la isoforma corta se compone de una región receptora compuesta de 816 aminoácidos y de un dominio de transmembrana de 34 aminoácidos (Morales Clavijo & Carvajal Garcés, 2010). La isoforma larga está compuesta por un dominio efector constituido por 303 aminoácidos y se encarga de la activación de señales intracelulares. Hoy día se conoce que la isoforma larga predomina en el hipotálamo y su función principal es mediar el efecto de la leptina a nivel del SNC. (Farooqi et al., 2007).

En estudios en humanos y roedores se demostró que el receptor de la leptina se expresa en casi todos los tejidos, pero la mayoría de estos corresponden a

isoformas intracelulares pequeñas del receptor; en cambio, los niveles elevados de la isoforma larga se expresan en el hipotálamo, tanto en roedores como en humanos (Funahashi et al., 2003). Además de las áreas hipotalámicas se ha observado la expresión de la isoforma larga en el hipocampo, tálamo, tronco cerebral, cerebelo, tracto olfatorio, sustancia nigra y córtex piriforme; esta distribución nos sugiere que la leptina tiene numerosos efectos sobre el sistema nervioso central (Cottrell & Mercer, 2012). En las áreas hipotalámicas, la isoforma larga del receptor se encuentra en los núcleos arcuato, ventromedial, paraventricular y dorsomedial, áreas que están estrechamente vinculadas con el control del apetito y del metabolismo (Burguera et al., 2000).

La leptina tiene su efecto en la regulación de la ingesta de alimentos al unirse a receptores específicos (ObR o LepR) expresados en el cerebro y los tejidos periféricos; este receptor tiene varias isoformas, por ejemplo, se cree que las isoformas Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd y Ob-Re (formas cortas del receptor de la leptina) desempeñan un papel importante en el transporte de leptina por medio de la barrera hematoencefálica, además de la regulación del sistema inmune (Bjørnbæk et al., 1998).

En cambio, la isoforma Ob-Rb (forma larga del receptor de la leptina) actúa en la transducción de señales y se expresa con gran magnitud en el hipotálamo, el cual se sabe que regula la homeostasis energética y la función neuroendocrina. La unión de la leptina a esta isoforma activa varias vías de transducción de señales, donde se incluye Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription-3 (JAK-STAT3), este es de suma importancia para la regulación de la homeostasis energética, Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K), el cual regula la ingesta de

alimentos como de la homeostasis de la glucosa (Niswender et al., 2001). La isoforma soluble, Ob-Re, se conoce que puede regular la concentración de leptina en el suero y sirve como proteína transportadora que lleva la hormona a los receptores de la membrana y es capaz de traducir la señal a la célula (Popko et al., 2010).

La leptina es producida principalmente por el tejido adiposo blanco y sus niveles son proporcionales a la cantidad de energía total almacenada como grasa en cuerpo. Los niveles de esta hormona están regulados, secundariamente, por varios factores, particularmente sensibles a cambios agudos, que involucran la ingesta de alimentos, períodos de ayuno y la cantidad de tejido adiposo. La leptina tiene su mayor efecto en el cerebro y secundariamente en la periferia (Perakakis et al., 2021). Las regiones adiposas donde la producción de leptina es mayor son: el tejido adiposo subcutáneo, retroperitoneal, omental y en tejidos grasos adyacentes de las vías linfáticas (Frühbeck, 2004).

Al igual que otras hormonas, la leptina presenta un ritmo de secreción pulsátil, aunque condicionado a variaciones diurnas, donde la mayor secreción es durante las primeras horas de la mañana, para ir disminuyendo poco a poco hacia el medio día; su patrón de secreción a pesar, de lo antes mencionado, es similar a otras hormonas, como la prolactina, la tirotrópina, la melatonina o los ácidos grasos libres (Flier, 1998); lo contrario pasa con el cortisol o la hormona adrenocorticotropa. En el caso de las mujeres, niveles pulsátiles de la leptina son similares a los de la hormona luteinizante y el estradiol.

Al hacer una comparación entre sexos, observaremos que los niveles leptina son diferentes en mujeres y hombres, esto debido a las reservas de tejido adiposo y las

concentraciones circulantes de leptina. Normalmente las concentraciones de leptina son mayores en el sexo femenino que en el masculino con independencia de su correlación con los valores en el índice de masa corporal, el porcentaje de grasa corporal y el grosor de los pliegues de la piel o la edad (Shi et al., 2020a). Esta diferencia entre sexos se justifica en varios aspectos, entre los que destacan una producción de leptina por unidad de masa grasa mayor en mujeres (75%) que en los hombres. Los niveles elevados de esta hormona, en mujeres, está relacionado con la acumulación de grasa a nivel subcutáneo, teniendo en cuenta que el tejido adiposo subcutáneo es principal productor de leptina; se puede concluir que la mayor producción de esta hormona en mujeres se debe a su mayor composición de grasa subcutánea (Crocker & Yanovski, 2009).

Esta hormona se transporta por medio de la barrera hematoencefálica (BBB) y actúa en algunas áreas del hipotálamo que están protegidas por la BBB al unirse y activar el receptor largo de la leptina (ObRb). En estudios que se han realizado se ha demostrado que la leptina tiene acción principalmente en el núcleo arqueado del hipotálamo para activar las neuronas que incluyen a la pro-opiomelanocortina (POMC), la cual produce moléculas anorexigénicas como  $\alpha$ MSH (hormona estimulante de melanocitos  $\alpha$ ), y para desactivar el neuropéptido Y orexigénico (Faouzi et al., 2007).

Frente a niveles bajos de reservas energéticas los niveles de leptina disminuyen, lo que conlleva a una menor actividad de las neuronas POMC y una mayor actividad de las neuronas NPY y AgRP y como consecuencias aumenta el apetito y posteriormente la ingesta de alimentos; lo contrario ocurre cuando las reservas energéticas son abundantes, en sujetos sin obesidad los niveles de leptina están

elevados, lo cual resulta en una disminución de la ingesta energética al actuar a nivel del hipotálamo, pero en sujetos obesos se produce una condición llamada hiperleptemia (Broberger et al., 1998).

Fuera de las áreas hipotalámicas la leptina interactúa con el sistema de dopamina mesolímbico, que involucra la motivación y la recompensa de la alimentación, y el núcleo del tracto solitario del tronco encefálico para ayudar con la saciedad (Björbæk et al., 1998).

### ***Función neuroendocrina de la leptina***

En el tejido adiposo y en el plasma los niveles de leptina se reducen rápidamente durante el ayuno. En estudios con sujetos obesos los niveles de leptina circulante caen solo después de que se logra un balance energético negativo con el ejercicio y la restricción calórica (Park & Ahima, 2015). Los bajos niveles de leptina durante el ayuno desencadenan respuestas metabólicas y hormonales en ratones y humanos, antes y fuera de proporción con cualquier cambio en la masa grasa, lo cual desencadena la respuesta neuroendocrina a la privación aguda de energía; en ratones y humanos, esta respuesta incluye la disminución de hormonas reproductivas, disminución de los niveles de hormonas tiroideas que causa una ralentización de la tasa metabólica, además aumenta los niveles de la hormona del crecimiento que pueden movilizar las reservas de energía y la disminución del factor de crecimiento similar a la insulina (Chan et al., 2008).

### ***El papel de la leptina en la homeostasis energética***

La hormona leptina mantiene la homeostasis energética, comúnmente en el estado de deficiencia energética, ajustando el apetito y el consumo de alimentos y el gasto de energía. La leptina se relaciona con varias vías neuronales dentro y fuera del hipotálamo y con esto regula la ingesta de energía a través de neuropéptidos orexigénicos y anorexigénicos (Dardeno et al., 2010). En el núcleo arcuato del hipotálamo es el sitio de acción crítico de la leptina y se encuentra adyacente al tercer ventrículo e inmediatamente por encima de la eminencia media, en una zona donde la barrera hematoencefálica está modificada para permitir el paso de los péptidos periféricos (leptina e insulina) a los receptores (Arora & Anubhuti, 2006). La leptina tiene su efecto sobre las poblaciones de neuronas del núcleo arcuato; por medio del receptor ObRb y estimula directamente a las neuronas para que produzcan POMC, una proteína precursora que se escinde en la hormona estimulante de melanocitos  $\alpha$  (MSH- $\alpha$ ); esta hormona es un neuropéptido anorexigénico que reduce la ingesta de alimentos por medio de la activación de los receptores melanocortina-4 (MC4R) y melanocortina-3 (MC3R) (Kelesidis et al., 2010). En períodos de ayuno los niveles de leptina circulante decrecen rápidamente; esta caída estimula la expresión de AgRP y NPY y por ende disminuyen los niveles de POMC Y CART, lo que conlleva a un aumento en la ingesta de alimentos y una disminución del gasto energético. Fuera del hipotálamo la leptina interactúa con el sistema de dopamina mesolímbico, el cual está involucrado con la motivación y la recompensa de la alimentación y con el núcleo del tracto solitario del tronco encefálico para cooperar con la saciedad (Shi et al., 2020).

Además de los efectos inmediatos a corto plazo, la administración de la leptina a largo plazo se ha demostrado que puede reconectar las conexiones entre las

neuronas hipotalámicas, esto quiere decir que promueve la plasticidad sináptica. Según los estudios realizados en ratones con deficientes de leptina, cuando se administra esta hormona, se ha demostrado que la leptina aumenta el número de sinapsis en las células nerviosas que secretan el neuropéptido anorexigénico y disminuye en aquellas que secretan neuropeptidos orexigenicos (Kelesidis et al., 2010).

## ***Obesidad y leptina***

### Deficiencia y resistencia de leptina en la obesidad

En individuos con deficiencia congénita completa de leptina, la cual se debe a mutaciones del gen de la leptina homocigota, estos desarrollan obesidad extrema a muy temprana edad, para contrarrestar esta situación estos son sometidos a un tratamiento con leptina humana recombinante, esto conlleva que el apetito disminuya y el consumo de alimentos, lo que lleva a una pérdida de grasa corporal dramática (Farooqi et al., 2007). Estos pacientes además tienen distintas anomalías neuroendocrinas, lo cual incluye el hipogonadismo hipogonadotrópico sin llegar a la pubertad, esta condición se ha notado que mejora con el remplazo de leptina. Raramente estas mutaciones se presentan, pero hay que tener un contacto muy estrecho con jóvenes con obesidad e hiperfagia graves de aparición temprana, ya que esta condición de deficiencia de leptina congénita es fácil de tratar (Ozata et al., 2000).

La resistencia a la leptina es el resultado de los efectos de la obesidad sobre la función de esta y de esta forma contribuyendo de forma más grave a esta condición; y esto a su vez se debe a la incapacidad de la leptina para llegar a su célula blanco,

la reducción de la expresión de LEP-R o la alteración de la señalización de LEP-R. (Obradovic et al., 2021). Un estudio científico ha demostrado que los niveles de leptina fueron significativamente más altos en el grupo de personas obesas (2,53 ng/ml) en comparación con el grupo control (1,23 ng/ml) (Ekmen et al., 2016).

### ***Resistencia a la leptina por alimentación en la obesidad común***

Varios tipos de células altamente especializadas forman la barrera hematoencefálica, la cual protege al cerebro de sustancias tóxicas y regulan el paso de macromoléculas y el flujo bidireccional de nutrientes y hormonas entre la sangre y el cerebro. El consumo de alimentos y el metabolismo se regulan por diferentes hormonas, como la leptina, cuyos niveles circulantes deben ser regulados con precisión y comúnmente están alterados en sujetos obesos (Izquierdo et al., 2019). Las hormonas que tienen como órgano diana al sistema nervioso central deben atravesar la BBB a través de un transportador específico para cada una de ellas; la mayoría de los transportadores se ven afectados por mecanismo de saturación, ocasionados por los niveles de circulantes de estas hormonas, los cuales afectan su actividad y regulación. En situaciones de obesidad estas afectaciones pueden generar cambios patológicos en la integridad celular de la BBB, lo que pueden ocasionar patologías en SNC (Banks, 2015).

En la obesidad, el consumo crónico de una dieta alta en grasas (HFD) produce cambios considerables a nivel de la BBB, como en otras regiones del cerebro, en especial en las regiones neuronales con altas tasas metabólicas, como el hipocampo (D. W. Kim et al., 2016). Las investigaciones realizadas en roedores

demonstró que la alimentación con un HFD produce pérdida neuronal en núcleo arqueado y el hipotálamo, regiones donde la leptina tiene su efecto, además de provocar disminución en la integridad de la BBB por disminución de los tanicitos y transportadores a nivel de la BBB (D. W. Kim et al., 2016).

La adipocina llamada leptina, refleja a nivel del cerebro, la cantidad de tejido adiposo de un sujeto, al ejercer su efecto debe atravesar la BBB por medio de su transportador específico y saturable. Desde los primeros estudios realizados en el año 1994, se demostró que a medida que la adiposidad aumenta, los niveles de leptina en el suero también lo hacen, lo que podría provocar desarrollo de resistencia a nivel del transportador de la BBB (Banks, 2015). Lo que conlleva que la cantidad de leptina que llega al cerebro sea menor y como consecuencias una menor activación de la vía de señalización para regulación del peso corporal (Heek et al., 1997).

Numerosos estudios en ratones obesos han demostrado que estos son sensibles a la administración intracerebroventricular (ICV) de leptina, pero sucedía lo contrario si se administraba a nivel subcutáneo o intraperitoneal, lo que podría indicar que la falta de actividad de esta hormona se debe a la disminución del 35% en la permeabilidad de la BBB; en humanos obesos la proporción de leptina sérica/líquido cefalorraquídeo es de 4 a 5 veces menor (Schwartz et al., 1996). Con lo mencionado anteriormente se puede comprender que el acceso reducido al cerebro es la base de la resistencia de la leptina en individuos con obesidad y como consecuencia un aumento del peso corporal (Faouzi et al., 2007).

En el cerebro, la entrada de la leptina es parcialmente saturable, esto nos indica la implicación de un transportador de proteínas; la pérdida de isoformas OBR implica

una reducción de la cantidad de leptina en el cerebro de los ratones obesos, lo que puede provocar una resistencia a esta, no se tiene claro aún los mecanismos implicados en este efecto (Hileman et al., 2002).

Sabemos que la leptina es transportada por medio de la BBB por el receptor específico para esta, por lo tanto, los altos niveles de leptina circulante activan los mecanismos de desensibilización y regulación a la baja, lo cual provoca una degradación de estos receptores; esto conllevaría a la resistencia a la leptina en la obesidad, debido a la saturación de los receptores por exceso de leptina (Banks et al., 2004).

Las concentraciones fisiológicas de leptina circulantes, según los estudios realizados, el transportador trabaja a 50% de la saturación, lo que nos indica que la leptina tiene un papel de suma importancia como reguladora del peso corporal dentro de rangos de concentración muy definidos y estrechos y se incluye la obesidad progresiva se observa un fenómeno de resistencia de doble nivel en la BBB y en receptor de la leptina en el núcleo arcuato, donde esta surge su efecto (Niswender et al., 2001).

Conocemos que el efecto que ejerce leptina sobre el SNC se ve reducido por las altas concentraciones de esta y la saturación de su receptor, esto genera a su vez una resistencia que implica que los procesos que resultan de un estado de obesidad, lo cual contribuye a la alteración de los efectos de la leptina, lo que contribuye en sí mismo a la formación de la obesidad y la obstrucción de la eficacia de una terapia con leptina exógena (Myers et al., 2012). Esta resistencia se produce por la incapacidad de la leptina para llegar a sitio de acción, la reducción de la expresión de LEP-R o la alteración de la señalización del LEP-R; la razón exacta

se desconoce pero es probable que exista una serie de mecanismos moleculares y genéticos que pueden llevar a la resistencia a la leptina, estas alteraciones son relativamente raras, aunque se han identificado mutaciones de pérdida de función de genes que codifican la leptina y sus receptores (Friedman, 2014).

Comúnmente las concentraciones de leptina dependen directamente de Ob-transcripción de genes, los cuales se relacionan directamente con el tamaño de los adipocitos y el contenido de lípidos; en los estudios realizados aun no queda claro cómo se relacionan mecánicamente estos factores o cómo se alteran estas vías para provocar la resistencia a la leptina; sin embargo, factores externos adicionales, incluidos los comportamientos alimentarios y el ritmo circadiano, modulan la expresión de leptina y pueden desempeñar el papel (Mainardi et al., 2013). Otros estudios demuestran que la disminución del transporte de leptina por medio de la BBB puede inducir resistencia a la leptina; al parecer los niveles excesivos de esta hormona en plasma pueden provocar una reducción de la permeabilidad de la BBB(Kenneth A. Philbrick et al., 2017).

Para lograr una explicación más detallada sobre la resistencia a la leptina se han propuesto dos posibles mecanismos patológicos; el primero de ellos, son los defectos en las vías diferenciales de señalización molecular de leptina que contribuyen a la acción de esta y, en segundo lugar, el mal funcionamiento de los procesos que regulan las acciones de la leptina sitios específicos del cerebro (Mark, 2013).

Todas las investigaciones realizadas tanto en seres humanos como en ratones, el pensamiento central que se tiene o se tenía sobre la resistencia a la leptina, tal como se observa en la obesidad, giraban principalmente a la pérdida de la capacidad de

la leptina para atravesar la BBB por medio del transportador específico y la saturación de su receptor, pero las investigaciones más recientes sugieren que podría haber otros factores implicados (Izquierdo et al., 2019).

## **Métodos y materiales**

- **Animales**

Se utilizaron ratones de ambos sexos de la cepa C57Bl/6 de la colonia de INDICASAT AIP mantenidos bajo condiciones estándar de luz de 12 horas diarias, temperatura de ~22°C y acceso a agua y comida ad libitum.

Después del destete (día 21 de vida, aproximadamente 3 semanas), los animales se mantuvieron en dieta convencional (DC) o DC con acceso a comidas típicas panameñas diariamente por 10 semanas, diseño modificado de Sampey *et al.*, 2011. En breve, los animales DC con dieta panameña se le presentó comida en un plato puesto en la caja diariamente (ver descripción de dieta a continuación). Los grupos se dividieron en 4 grupos, 2 por sexo: un grupo

control y un grupo experimental. Se tomó el peso de los ratones dos veces por semana (lunes y jueves) para evaluación del crecimiento y peso.

## **1. Dieta típica panameña**

Dieta típica panameña: De acuerdo con el estudio Prevalencia de factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular (PREFREC) del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, 2011, se evaluó la ingesta habitual de alimentos predisponentes al desarrollo de enfermedades cardiovasculares; estos alimentos se dividieron en grupos de riesgo 1,2 y 3, respectivamente. Los grupos de riesgo 1 y 2 reportan un consumo de 1 a 2 veces por día, el grupo de riesgo 3 fue eliminado debido a que el consumo de estos alimentos es menos frecuente.

Los grupos están conformados de la siguiente forma: Grupo de riesgo 1: El consumo de frituras como tortilla, hojaldre, empanada, papas fritas, patacón, yuca frita, salchicha frita, nuggets fritos, pollo frito, carne frita, pescado frito, puerco frito, chuleta de cerdo frita, chicharrón; Kaprichitos, Doritos, Taquitos u otros; así como el uso de leche de coco o aceite de coco para cocinar, formaron parte del grupo de riesgo 1 a la salud cardiovascular. Grupo de riesgo 2: Para este grupo de riesgo se incluyó el consumo de sodas, refrescos artificiales (tipo Tang, Cool Aid, entre otros), la ingesta de caramelos o pastillas en cantidades de 6 o más al día y el chocolate en barra, considerándose como riesgo a la salud cardiovascular el consumo superior a una frecuencia de 2 veces al día o más (consumo elevado). De los grupos de riesgos, se tomaron algunos alimentos representativos. Otros fueron reemplazados por un equivalente, esto por lo

complejo de acceder a estos; por ejemplo, alimentos fritos. Se optó en su lugar por alimentos empaquetados. Los alimentos escogidos para formar la dieta típica panameña se enumeran por grupo en la siguiente tabla:

Grupo de riesgo 1		Grupo de riesgo 2	
1. Tortilla de paquete (nachos)	5. Kachitos	12. Maniterrón	
2. Platanitos	6. Doritos	13. Chocolate en barra	
3. Yucas fritas de paquete	7. Meneitos	14. Galleta Pascual (sándwich)	
4. Chicharrón	8. Golpe	15. Galleta Emperador	
	9. Lays	16. Magdalenas	
	10. Kaprichito	17. Orejas	
	11. Mafá		

Durante las semanas experimentales, se le proporcionó la dieta panameña con tres bocadillos variados diariamente, además, con comida estándar para ratones ad libitum; estos bocadillos se proveyeron en exceso (~1g de cada bocadillo por animal) durante 24 horas en platos de acero inoxidable esterilizados antes de su uso, iniciando en el ciclo nocturno (de más actividad) por las 10 semanas de duración del experimento (modificado de Sampey, *et al.* 2011). El alimento se pesó antes y después del consumo. Se consideró el peso de la ratarina y bocadillos restantes en el plato (Sampey, *et al.* 2011). Los grupos de bocadillos diarios fueron obtenidos aleatoriamente de forma manual, hasta completar la presentación de todos los bocadillos. Una vez se utilizaron todos los ítems se procedió a sortear nuevamente para obtener la combinación diaria.

## **2. Toma de muestra de sangre por vía retro-orbital:**

Para la medición de leptina y glucosa se tomaron muestras mediante la vía retro-orbital utilizando un anestésico inhalatorio, isoflurano. Con el isoflurano es más fácil controlar la profundidad de la anestesia (Journal of Visualized Experiments (JoVE), 2020). El procedimiento es el siguiente: Se colocó isoflurano al 100%, impregnado en un algodón (sin tocar al ratón mediante el uso de una rendija), en la cámara de anestesia, después se introdujo el ratón hasta que este haya perdido el movimiento, se retira de la cámara y se procede a la extracción de sangre por la vía retro-orbital (R. de Jesús, comunicación personal, 27 de febrero de 2020). Se colectó sangre por vía retro-orbital, una vez por semana (JoVE, 2020). Para esto, se colectó entre 124 - 158  $\mu$ L (IDEXX, 2020). El procedimiento fue copiado directamente de JoVE, 2020 y se describe a continuación:

### **2.1 Preparación y posicionamiento del animal**

1. El animal fue anestesiado con isoflurano, en una cámara de anestesia.
2. Una vez que el animal estaba completamente anestesiado, se retira y se colocó en decúbito lateral.
3. El ojo sobresale colocando un dedo en la parte superior de la cabeza y a lo largo de la línea de la mandíbula, y tirando de la piel hacia atrás y hacia abajo.
4. Se evito aplicar presión a la tráquea, ya que puede colapsar u ocluir las vías respiratorias y causar la muerte por asfixia.

### **2.2 Extracción de sangre**

El microhematocrito o capilar se colocó en el canto medial del ojo y se dirigió caudalmente en un ángulo de 30-45 ° desde el plano de la nariz. Se aplicó

presión mientras se giraba suavemente el tubo de hematocrito. Esto cortó las membranas conjuntivales y romper el plexo ocular. La sangre fluyó hacia el tubo de hematocrito por acción capilar, se evitó empujar tan profundamente, para evitar golpear el hueso en la parte posterior de la cavidad ocular; una vez que la sangre comenzó a fluir, y se mantuvo la presión para mantener el ojo sobresalido. Para recolectar múltiples tubos de sangre, no es necesario colocar el siguiente tubo en el plexo ocular, ya que la sangre continuará fluyendo y puede recolectarse a medida que proviene del canto medial.

Por último, para detener el sangrado, se soltó la piel y se permitió que el ojo regrese a la posición normal. Apliqué presión a la órbita para garantizar la hemostasia. El animal después de la extracción se devuelve a la caja, para su recuperación.

### **2.3. Muestras para evaluación de leptina**

Se tomaron muestras para evaluar los niveles de leptina en las semanas 3, 6 y 10 por lo que la frecuencia de colecta es de cada 3 a 4 semanas. Se evaluó a partir de la misma muestra de sangre retro-orbital obtenida para la glucosa. De acuerdo con la información del fabricante, se requiere ~6-10 microlitros de suero para la evaluación de glucosa y leptina. Las muestras fueron evaluadas mediante inmunoabsorbancia colorimétrica (ELISA); se colectó entre 124 - 158  $\mu$ L de sangre en total (IDEXX, 2020). Para la evaluación de leptina se utilizó 5  $\mu$ l de suero (Lin, *et al.* 2005).

### **2.4 Evaluación de niveles de glucosa y Prueba de tolerancia a la glucosa (GTT)**

Los niveles de glucosa circulante de los ratones se midieron semanalmente en horas de la tarde antes de introducir la dieta panameña del día. En la semana 9 se realizó una prueba de tolerancia la glucosa (GTT). La carga de glucosa (2 g / kg de peso corporal) se inyectó como un bolo intraperitoneal, y los niveles de glucosa en sangre se determinaron en sangre caudal muestreada a los 0, 30, 60 y 120 minutos después de la infusión de glucosa. La concentración de glucosa se determinó usando el medidor Accu-Chek® Active. Este protocolo fue extraído y modificado de Higa *et al.* 2014.

### **3. Sacrificio de los animales y colecta de tejido adiposo blanco**

#### **3.1 Sacrificio de los animales**

En la semana 10 se llevó a cabo el sacrificio de animales mediante la administración de un cóctel de xilacina y ketamina vía intraperitoneal (IP) (100 mg / kg de Ketamina, 10 mg / kg de xilacina); para la obtención de muestra de sangre, por punción cardiaca, para medir los niveles séricos de leptina y glucosa y colección de tejido adiposo blanco (eWAT) y cerebro.

#### **3.2. Colecta de tejido adiposo blanco**

Se identificó y se colectó el tejido adiposo blanco (grasa) de las siguientes regiones: grasa abdominal subcutánea, grasa alrededor de los órganos reproductores (grasa perigonadal), la grasa que rodea el riñón y las glándulas suprarrenales (grasa perirrenal) (Bagchi *et al.* 2019); estas muestras se pesaron y congelaron en OCT utilizando isopentano: posteriormente el tejido se sometió a técnicas histológicas usando la tinción hematoxilina – eosina, como lo indica el manual de técnicas histológicas (Montalvo *et al.*, 2010). Se

evaluó y cuantificó la infiltración por macrófagos como la aparición de inclusiones morfológicas con estructura de coronas utilizando microscopia de luz en 20 y 40x magnificación.

#### **4. Congelación de tejido adiposo blanco fresco en OCT utilizando isopentano**

Se preparó una suspensión de hielo seco de isopentano para congelar los tejidos. Lentamente (para minimizar la ebullición violenta) se agregó hielo seco al isopentano. Se agregó suficiente hielo seco, para que la mezcla alcanzará aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$ ; llegada esta temperatura se pudo agregar más trozos de hielo seco, lo cual no iba inducir un burbujeo fuerte (la temperatura se puede controlar con un termómetro).

Se colocó el tejido en criomoldes, debidamente identificados, se le agregó OCT y utilizando un par de pinzas, se colocó este en la suspensión de hielo seco de isopentano, manteniéndolo nivelado durante el movimiento para evitar la pérdida de OCT y el movimiento de la muestra. Una vez colocado el criomolde en la solución, se dejaba reposar, siempre manteniendo sujeto con las pinzas, para que el isopentano no inundara la parte superior del OCT fresco durante la congelación, ya que esto podía promover la presencia de burbujas en el bloque.

Una vez completamente congelado, se levantó el criomolde de la suspensión de hielo seco de isopentano y colocó en papel toalla, para permitir que el exceso de isopentano se drene y se evapore. La muestra se mantuvo en hielo seco mientras se procesaban otras.

Cada muestra se envolvió, congelada en criomoldes individuales, en papel de aluminio. Esto mantenía las muestras limpias y separadas, y minimiza la deshidratación en el congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Se minimizó el tiempo que cada muestra pasa lejos del hielo seco mientras se envuelve para minimizar los cambios de temperatura. Se etiquetó cuidadosamente el exterior del papel de aluminio antes de envolver cada muestra. Se transfirieron las muestras a una caja criogénica preenfriada y almacenéla a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Basado en: Roberts & Tuck, 2019.

## **5. Almacenamiento y centrifugación de muestras de sangre para evaluación de leptina**

Después de recolectar sangre completa, como lo indica el numeral 3.3, se permitió que la sangre se coagulara dejándola sin molestias a temperatura ambiente, generalmente de 15 a 30 minutos. Los coágulos se retiraron centrifugando a 4000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga refrigerada. El sobrenadante resultante fue el suero que se usó para inmunoabsorbancia colorimétrica (ELISA); posteriormente se transfirió inmediatamente el suero a un tubo de polipropileno limpio con una pipeta Pasteur; identificándolo de la siguiente forma: Caja AH1 (H= sexo del animal y el número por la marca de la cola del animal). Se transportó y almacenó las alícuotas de suero a  $-20^{\circ}\text{C}$  o menos.

## **6. Preparación de la gelatina e impregnación de los portaobjetos con la gelatina.**

### **6.1 Preparación de la gelatina**

Se pesaron 2.5 g gelatina, 25 mg  $\text{CrK}(\text{SO}_4)_2$  y se midió 50 ml ddH<sub>2</sub>O (agua destilada) con una probeta. Posteriormente, se procedió a agregar la gelatina en solo 30 ml de los 50 ml de ddH<sub>2</sub>O, esta solución se calentó, a 60°C, para que la gelatina se disolviera y la temperatura fuera controlada con un termómetro. Una vez fresca se agregó  $\text{CrK}(\text{SO}_4)_2$  y, por último, se le adicionó los 20 ml faltantes de ddH<sub>2</sub>O y, de esta forma, obtuvimos la solución de gelatina.

## **6.2 Lavado de los portaobjetos e impregnación con la gelatina**

Se preparó una solución de Alconox, donde fueron sumergidos los portaobjetos que se utilizaron; posteriormente, se enjuagaron con ddH<sub>2</sub>O varias veces. Nuevamente se enjuagaron, pero esta vez con EtOH al 70 % y secaron cada portaobjetos con un kimwipes. Ya secos se sumergieron los portaobjetos limpios en la solución de gelatina, se dejaron secar en kimwipes durante toda la noche.

En algunas ocasiones, los portaobjetos se colocaron en un horno a 60 °C durante una hora para que se secaran. Después de secados se transfirieron a una caja de portaobjetos.

## **7. Tejido adiposo seccionado en parafina**

### **7.1 Preparación de las laminillas**

Antes de empezar se prepararon soluciones de etanol al 70% y 75%, de la siguiente manera:

- Se mezcló 750 mL de etanol absoluto con 250 mL de agua destilada (75%). Y de último se mezcló 500 mL de etanol al 75% con 35 mL de agua destilada (70%).
- Después se preparó 1 L de tampón fosfato salino (PBS) 1X, añadiendo 800 mL de agua destilada a un frasco aforado de 1 L. Después se mezcló 8 g de NaCl, 200 mg de KCl, 1.44 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 240 mg de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Se ajustó el pH a aproximadamente 7.4 utilizando 1N NaOH. Y, por último, se añadió agua destilada hasta llevar a un volumen total de 1 L.
- Se preparó 1L de solución de agua corriente de Scott (1% sulfato de magnesio, 0.07% bicarbonato de sodio), añadiendo 100 g de sulfato de magnesio a un matraz aforado de 1L, después se añadió 700 mg de bicarbonato de sodio al mismo matraz aforado; lo siguiente fue añadir agua destilada como solvente hasta debajo de la línea de aforado; se ajustó el pH de la solución, utilizando NaOH 1N hasta alcanzar un pH de 8.0 y se llevó a la marca de aforado de 1L con agua destilada.
- Se preparó una solución acidificada de etanol (0.125% HCl en 96.25% etanol); A 96.25 mL de etanol absoluto se le añadió 338 µL de ácido clorhídrico al 37%. Añada 3.41 mL de agua destilada. Para mayor seguridad se realizó este procedimiento en una cámara de extracción de gases.

- Para la preparación de 1 L de solución de formalina al 4%, se realizaron los pasos a continuación y se realizaron dentro en una cámara de extracción de gases:
  - a) Se añadieron 800 mL de PBS 1X a un vaso químico y se llevó a aproximadamente 60°C revolviendo moderadamente con la ayuda de una barra agitadora. Se evitó que la solución hirviera.
  - b) Una vez alcanzada la temperatura indicada, se añadió 40 g de paraformaldehído a la solución.
  - c) Se siguió revolviendo la solución usando la barra agitadora y se fue añadiendo lentamente NaOH 1N utilizando una pipeta de transferencia de vidrio. Se añadió solo la cantidad suficiente para disolver completamente el paraformaldehído.
  - d) Una vez disuelto todo el paraformaldehído, se retiró el vaso químico del plato caliente y se dejó que la solución llegue a temperatura ambiente.
  - e) Se ajustó el pH de la solución de formalina utilizando soluciones de HCl 1N y NaOH 1N como sea necesario para alcanzar un pH de 7.4. Se midió el pH utilizando tiras indicadoras.
  - f) Se procedió con la filtración de la solución y llevándola a un volumen final de 1 L añadiendo PBS 1X.

- g) Manteniendo a 4°C y se utilizó la solución lo más pronto posible. De ser necesario, preparó alícuotas de menor volumen y se almacenaron a -20°C por un período de hasta un año.
- Prelavado de los portaobjetos:
    - a) Se colocaron los portaobjetos que se utilizaron en un recipiente con una solución de Alconox al 0.2% a una temperatura de 80°C. y se lavó cada portaobjetos utilizando una esponja.
    - b) Se enjuagó bien con agua caliente y se colocaron los portaobjetos en un escurridor de portaobjetos y el mismo procedimiento se realizó, pero con agua destilada a temperatura ambiente.
    - c) Se eliminó el exceso de agua utilizando papel toalla. Después se colocaron los portaobjetos en una solución de alcohol ácido que se preparó de la siguiente forma:
      - a. Se añadieron 70 mL de etanol absoluto en un matraz volumétrico de 100 mL, después se añadieron 5 mL de HCL 37%; todo este procedimiento se hizo dentro de la campana de extracción de gases. Y, por último, se llevó la solución a la marca de 100 mL utilizando agua destilada.

- d) Después se golpeó delicadamente cada portaobjetos contra un pedazo de papel toalla para retirar el exceso de líquido.
- e) Se colocó cada portaobjetos en un recipiente con acetona pura y se golpeó delicadamente cada portaobjetos contra un pedazo de papel toalla para retirar el exceso de líquido y se permitió que cada portaobjetos se secase en un área libre de polvo.

## **7.2 Procedimiento de sustitución**

Se añadió 125 mL de agua destilada a un vaso químico y se llevó a 65°C y se tuvo mucho cuidado de no exceder esta temperatura. Una vez se alcanzó una temperatura estable de entre 60°C y 65°C y se añadió 750 mg de gelatina y se permitió que esta se disolviera por completo utilizando un agitador magnético. Luego de haber logrado una disolución completa, se retiró del calor y se permitió que la solución se enfriara hasta llegar a temperatura ambiente. Al alcanzar temperatura ambiente se añadió 75 mg de sulfato de cromo potásico (alumbre de cromo,  $\text{KCr}(\text{SO}_4)_2$ ), manteniendo la agitación. Se calentó la solución de gelatina a una temperatura de 40°C. Se sumergieron los portaobjetos lavados en la solución de gelatina por 1 minuto. Se retiró cada portaobjeto con cuidado, evitando crear burbujas. Se secó el exceso de líquido utilizando papel toalla y se colocaron un ambiente seco y sin polvo.

### **7.3 Protocolo**

- a) Se diseccionó el tejido adiposo y se incubaron las muestras en formalina al 4% por 24 h.
- b) Las muestras se lavaron 3 veces con PBS estéril y después se colocaron estas en casetes de inclusión e incubó a estos en etanol al 70% hasta que se procedió al uso de los tejidos.

#### **Procesamiento del tejido**

El procesamiento se realizó manualmente o utilizando una máquina de procesamiento de muestras histológicas.

- c) Los casetes se incubaron en etanol al 75% por 3 min, después se hizo el mismo procedimiento, pero en etanol al 95% por 75 min. Se repitió este paso una segunda vez utilizando etanol al 95% fresco.
- d) Se realizó la incubación de los casetes en etanol al 100% por 60 min. Se repitió este paso una segunda y tercera vez utilizando etanol al 100% fresco cada vez.
- e) Los casetes se volvieron a incubar, pero en xileno por 60 min. Se repitió este paso por segunda vez con xileno fresco.
- f) Después los casetes se incubaron en parafina derretida por 60 min a 60°C hasta el siguiente día.
- g) Los casetes se transfirieron a parafina derretida fresca y se incubaron a 60°C por 60 min.

- h) Se retiraron los casetes de la parafina y se colocaron en un plato caliente precalentado a 60°C y se colocó el molde de metal de inclusión en el plato caliente a 60°C.
- i) Se rellenaron hasta  $\frac{3}{4}$  el molde de metal de inclusión con parafina derretida fresca.
- j) Las muestras se retiraron de los casetes y se colocaron dentro del molde de metal de inclusión con la parafina derretida, teniendo la seguridad de que el tejido permanezca en la orientación deseada.
- k) Se colocó el molde de metal de inclusión en una superficie y esta estaba a 0°C por algunos segundos.
- l) Se colocó el molde de metal de inclusión en una superficie que se encontraba 0°C por algunos segundos, hasta que la parafina se solidificó lo suficiente para mantener el tejido en la orientación escogida. Se colocó el molde de inclusión de vuelta en el plato caliente a 60°C y se posicionó el casete de inclusión dentro del molde.
- m) Después rápidamente se vertió parafina derretida en el molde que contiene el casete de inclusión hasta llenar el molde. Lo siguiente fue transferir inmediatamente el molde con el casete a un plato congelado y se dejó hasta que la parafina se haya endurecido completamente. Alternativamente, se colocó el molde a -20°C hasta que la parafina se haya terminado de solidificar. El paso siguiente

fue remover cuidadosamente el bloque de parafina del molde.

- n) Utilizando un micrótopo rotativo, se cortaron secciones de parafina de 4  $\mu\text{m}$  y con cuidado, se transfirió las secciones a un baño maría fijado a 37°C. Las secciones debieron haber formado un listón sin pliegues ni arrugas.
- o) Se transfirió cada sección de parafina a un portaobjetos, tratado con gelatina, sumergiendo el portaobjetos en el baño maría, colocando el portaobjetos justo debajo de la sección flotante. Se sacó el portaobjetos del agua, de modo que la sección se adhiera a este mientras es retirado del agua.
- p) Se incubaron las laminillas conteniendo el tejido adiposo a 40°C hasta el día siguiente para asegurarse de que se hubieran adherido adecuadamente al portaobjetos.
- q) Se incubaron las laminillas secas en xileno por 20 segundos para disolver la parafina. Y se repitió este paso tres veces más, utilizando xileno fresco cada vez.
- r) Se rehidrató el tejido seccionado mediante incubaciones secuenciales en etanol de la siguiente manera:
  - 1. Se incubaron las laminillas en etanol al 100% por 20 segundos. Y se repitió este paso una segunda vez utilizando etanol al 100% fresco. Nuevamente se hizo otra incubación de las laminillas en etanol al 95% por 15 segundos.

2. Después se realizó otra incubación de las laminillas en agua destilada por 15 segundos. Las laminillas se trataron con hematoxilina de Mayer por 15 segundos. Y se repitió este paso cuatro veces más utilizando hematoxilina fresca cada vez. Las laminillas en agua fueron sumergidas en agua destilada por 45 segundos.
3. Se incubaron las laminillas en la solución de etanol acidificado por 15 segundos y se sumergieron en agua destilada por 15 segundos.
4. Después se incubaron las laminillas en agua corriente de Scott por 15 segundos.
5. Las laminillas se sumergieron en agua destilada por 15 segundos, después se incubaron las laminillas en Eosina Alcohólica Y por 15 segundos. Estas se sumergieron esta vez en etanol al 95% por 15 segundos. Se repitió este paso una segunda y tercera vez con etanol al 95% fresco cada vez.
6. Se sumergieron las laminillas en etanol al 100% por 15 segundos. Después se incubaron las laminillas en xileno por 45 segundos. Se permitió que las laminillas se secaran y se colocaron en un cubreobjetos utilizando medio de montaje (DPX).

La visualización de las imágenes se realizó utilizando un microscopio vertical modular Olympus BX43. Las muestras fueron observadas a 10X y 40X y las imágenes fueron capturadas utilizando el software CellSens de Olympus utilizando las opciones “live” y “capture” del software. Las imágenes obtenidas fueron procesadas con el software ImageJ, el cual se utilizó para calcular en área y realizar el conteo de los adipocitos presentes en las imágenes.

## **8. Inmunoabsorbancia colorimétrica (ELISA) para leptina**

### **8.1 Preparación y reconstitución de reactivos**

Se mantuvieron los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

Se dejaron reposar todos los componentes durante un mínimo de 15 minutos con agitación suave después de la reconstitución inicial. Las diluciones de trabajo se prepararon y usaron inmediatamente. Reactivo diluyente concentrado 2 (10X).

Se necesitó 1% de BSA en PBS, se diluyó 1:10 en agua desionizada. Además, se requirió 0.1% BSA en TBS, se diluyó 1: 100 con tampón Tris + 0.05% Tween 20, pH 7.2-7.4.

Se mezclaron los reactivos de color A y B en volúmenes iguales dentro de los 15 minutos de uso. Se requirieron 100 µL de la mezcla resultante por pocillo. Se protegió de la luz.

Tampón de lavado 1X: si se formaban cristales en el concentrado, se calentó a temperatura ambiente y mezcló suavemente hasta que los cristales se hayan disuelto. Además, se añadió 20 ml de tampón de

lavado concentrado a 480 ml de agua desionizada o destilada para preparar 500 ml de tampón de lavado 1X.

Estreptavidina-HRP B: 2,0 mL de estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante. Se diluyó la concentración de trabajo especificada en la etiqueta del vial usando reactivo diluyente.

Se reconstituyó cada vial con 0,5 ml de PBS y se diluyó en PBS sin proteína transportadora hasta la concentración de trabajo indicada en la C de A. Se reconstituyó cada vial con 1.0 mL de diluyente de reactivo y se diluyó en diluyente de Reactivo a la concentración de trabajo indicada en la C de A.

Se reconstituyó cada vial con 0,5 ml de diluyente de reactivo. Por recomendación se hizo una curva estándar de siete puntos con diluciones en serie de 2 veces en diluyente de reactivos. Se preparó 1000  $\mu$ L de estándar alto por placa ensayada a la concentración indicada en la C de A.

## **8.2 Determinación de soluciones de trabajo**

Se calculó el número de pozos a usar, para determinar el volumen final de los reactivos a utilizar; captura, detección, estándar y estreptavidina. Se reconstituyó el contenido de cada uno de los viales de los reactivos mencionados, menos estreptavidina, con PBS para captura, y con reactivo diluyente para detección y estándar. Obtuvimos el volumen inicial de cada uno de los reactivos antes mencionados, menos estreptavidina, mediante el volumen final, la concentración inicial y final de los reactivos. Esta última fue la concentración del trabajo. También se determinó el

volumen de PBS y de reactivo de diluyente a usar para obtener la solución de trabajo.

### **8.3 Preparación del plato**

Se diluyó el anticuerpo de captura a la concentración de trabajo en PBS sin proteína transportadora. Además, se recubrió inmediatamente una microplaca de 96 pocillos con 100  $\mu\text{L}$  por pocillo del anticuerpo de captura diluido. Por último, se selló la placa y se incubó durante la noche a temperatura ambiente

R. Captura	Concentración de trabajo	Diluyente	Volumen total	Alícuota
240 $\mu\text{g/ml}$	2.00 $\mu\text{g/mL}$	PBS	3900 $\mu\text{L}$	32.5 $\mu\text{L}$ +3867.5 $\mu\text{L}$

A día siguiente se aspiró cada pocillo y se lavó con Wash Buffer, repitiendo el proceso dos veces para un total de tres lavados. Se procedió a lavar llenando cada pocillo con tampón de lavado (400  $\mu\text{L}$ ) utilizando una botella rociadora, un distribuidor de distribución o una lavadora automática. La eliminación completa del líquido en cada paso fue esencial para un buen desempeño. Después del último lavado, se retiró cualquier tampón de lavado restante aspirando o invirtiendo la placa y frotándola contra toallas de papel limpias. El bloqueo de las placas se hizo agregando 300  $\mu\text{L}$  de diluyente de reactivo a cada pocillo. Para después incubar a temperatura ambiente por un mínimo

de 1 hora. La aspiración/lavado se repitió como en el paso 2. Las placas estaban ahora listas para la adición de la muestra.

## 9. Procedimiento de ensayo

Se adicionó 100  $\mu\text{L}$  de muestra o estándares en diluyente de reactivo, o un diluyente apropiado, por pocillo. Se cubrió con una tira adhesiva para incubar 2 horas a temperatura ambiente. Se repitió la aspiración /lavado como en el paso 2 de preparación de la placa.

R. Detección	Concentración de trabajo	Diluyente	Volumen total	Alícuota
12000 ng/ml	200 ng/mL	PBS	3900 $\mu\text{L}$	65 $\mu\text{L}$ +3865 $\mu\text{L}$

Después se añadieron 100  $\mu\text{L}$  del anticuerpo de detección, diluido en diluyente de reactivo, a cada pocillo y nuevamente se cubrió con una nueva tira adhesiva, para incubar por 2 horas a temperatura ambiente.

Se repitió la aspiración / lavado como en el paso 2 de preparación de la placa y se añadió 100  $\mu\text{l}$  de la dilución de trabajo de estreptavidina-HRP a cada pocillo. Para cubrir la placa e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se evitó colocar la placa a la luz directa. Nuevamente se repitió la aspiración / lavado como en el paso 2; se Agregó 100  $\mu\text{L}$  de solución de sustrato a cada pocillo; para incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Reiteradamente se evitó exponer la placa a la luz directa.

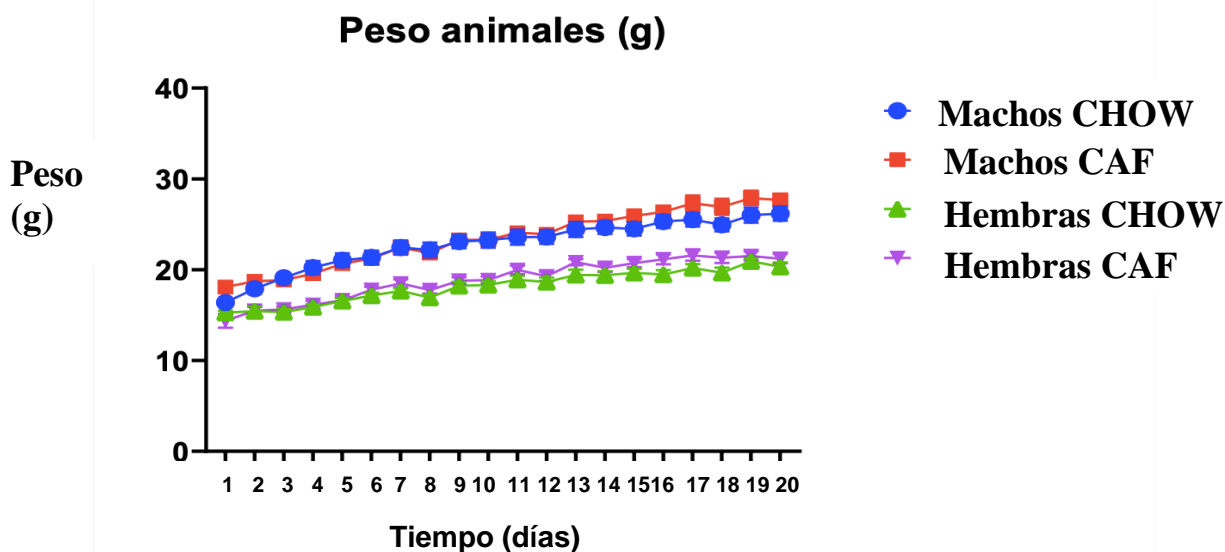
Por último, se añadió 50  $\mu\text{L}$  de solución de parada a cada pocillo. Se golpeó suavemente la placa para asegurar una mezcla completa.

Para saber el resultado se determinó la densidad óptica de cada pocillo inmediatamente, utilizando un lector de microplacas ajustado a 450 nm. Si la corrección de la longitud de onda está disponible, configúrela en 540 nm o 570 nm. Si la corrección de la longitud de onda no está disponible, reste las lecturas a 540 nm o 570 nm de las lecturas a 450 nm. Esta resta corrigió las imperfecciones ópticas de la placa. Las lecturas realizadas directamente a 450 nm sin corrección pueden ser más altas y menos precisas.

## Resultados

### 1. Peso de los animales

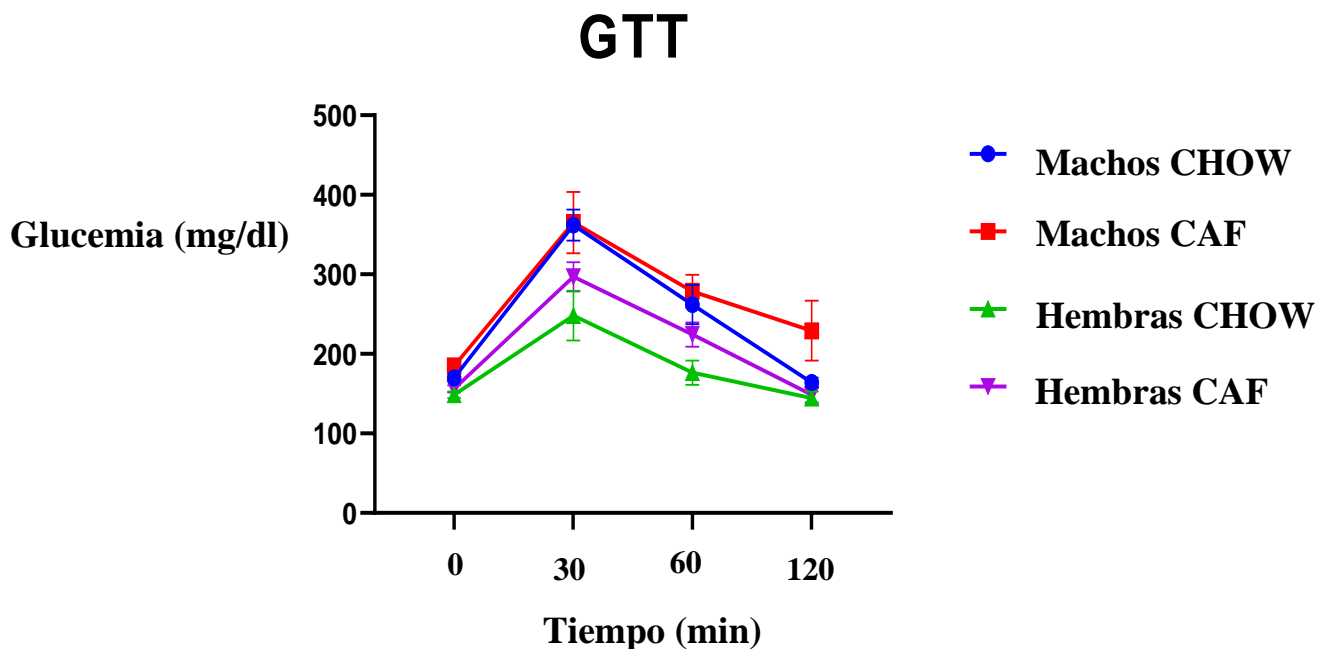
Evaluamos el peso promedio de las hembras y machos experimentales y controles con un ANOVA de medidas repetidas de 2 vías. Los pesos de los animales entre los dos grupos mostraron diferencias significativas,  $F(3, 24) = 32.99$ ,  $p = 0.0001$ ; a diferencia de los machos. El análisis post-hoc Tukey reveló diferencias significativas entre las hembras CAF y CHOW,  $p = 0.0442$ ; machos CAF y hembras CAF,  $p = 0.0001$ ; machos CHOW y hembras CHOW,  $p = 0.0001$ ; pero no se encontró significancia entre los machos CAF y CHOW,  $p = 0.3450$ . Encontramos que la respuesta en animales control es significativamente diferente entre hembras CHOW y CAF, machos CAF y hembras CHOW y entre machos y hembras CHOW; sin embargo, estas diferencias se pierden en condiciones entre los machos CAF y CHOW.



Gráfica #1: Peso total de los animales en el tiempo.

## 2. Prueba de la tolerancia a la glucosa (GTT)

Al analizar la respuesta a una dosis de glucosa I.P. por medio de un ANOVA de dos vías, se encontraron diferencias significativas en la interacción entre los grupos experimentales,  $F(3, 24) = 6.095$ ,  $p=0.0031$ . En cambio, al analizar la interacción entre el tiempo y los grupos experimentales, no se encontraron diferencias significativas,  $F(9, 72) = 1.546$ ,  $p = 0.1486$ . El análisis post-hoc de Tukey identificó diferencias significativas entre los machos CAF y las hembras controles,  $p= 0.0017$ ; las hembras controles y los machos controles,  $p= 0.0450$ ; entre los demás grupos no hubo diferencias significativas. Encontramos que la respuesta en animales controles es significativamente diferente entre machos y hembras; sin embargo, estas diferencias se pierden en condiciones CAF.

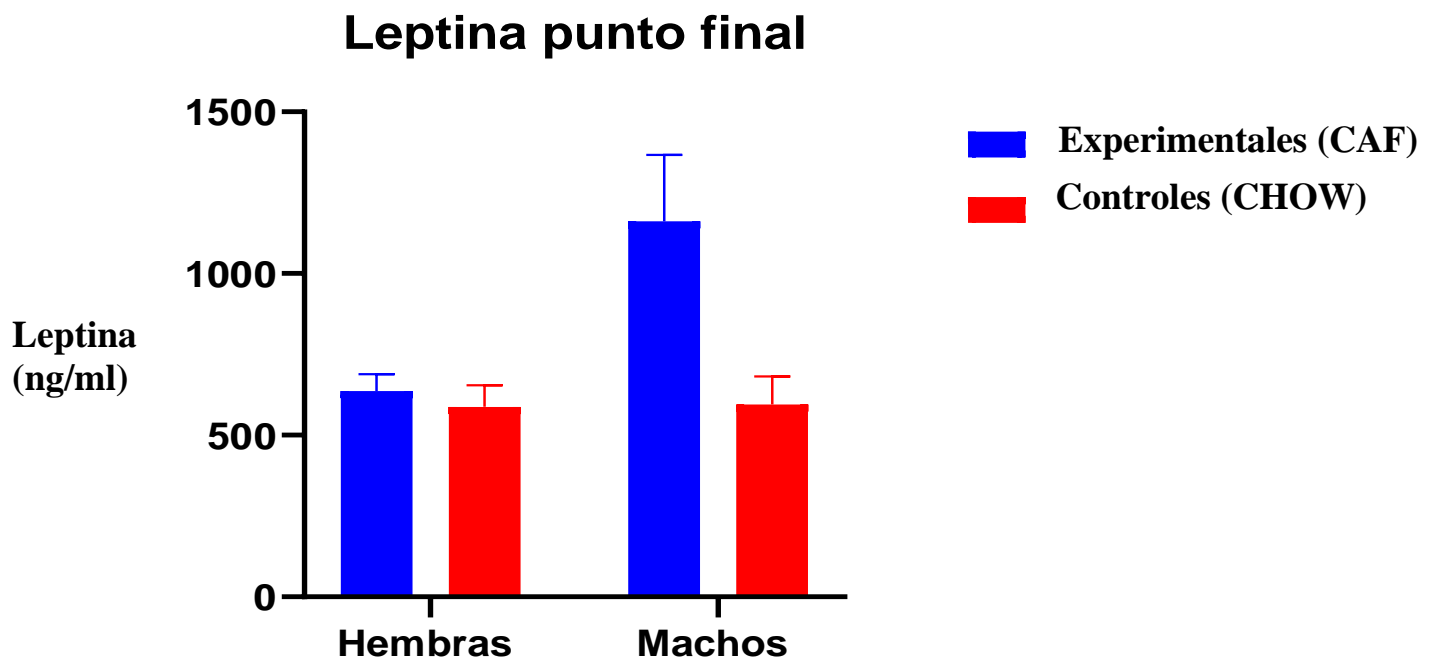


**Gráfica #2: Niveles de la prueba de tolerancia a la glucosa**

### 3. Leptina punto final

Después de 10 semanas de dieta CHOW o CAF, evaluamos el estado de la leptina circulante. El análisis de ANOVA de medidas repetidas de dos vías nos mostró que hay diferencias significativas entre los grupos,  $F(1,24) = 4.068$ ,  $p = 0.0550$ ; por medio de una prueba post-hoc de Tukey, se encontraron diferencias significativas entre los machos CAF y las hembras CAF,  $p=0.0273$ ; machos CAF y machos CHOW,  $p = 0.0275$ ; en el caso de las hembras CAF y CHOW no hay diferencias significativas.  $p= 0.9933$ .

Encontramos que la respuesta entre los machos y las hembras CAF, machos CAF y CHOW, hay significancia; sin embargo, estas diferencias se pierden en condiciones entre las hembras CAF y CHOW.

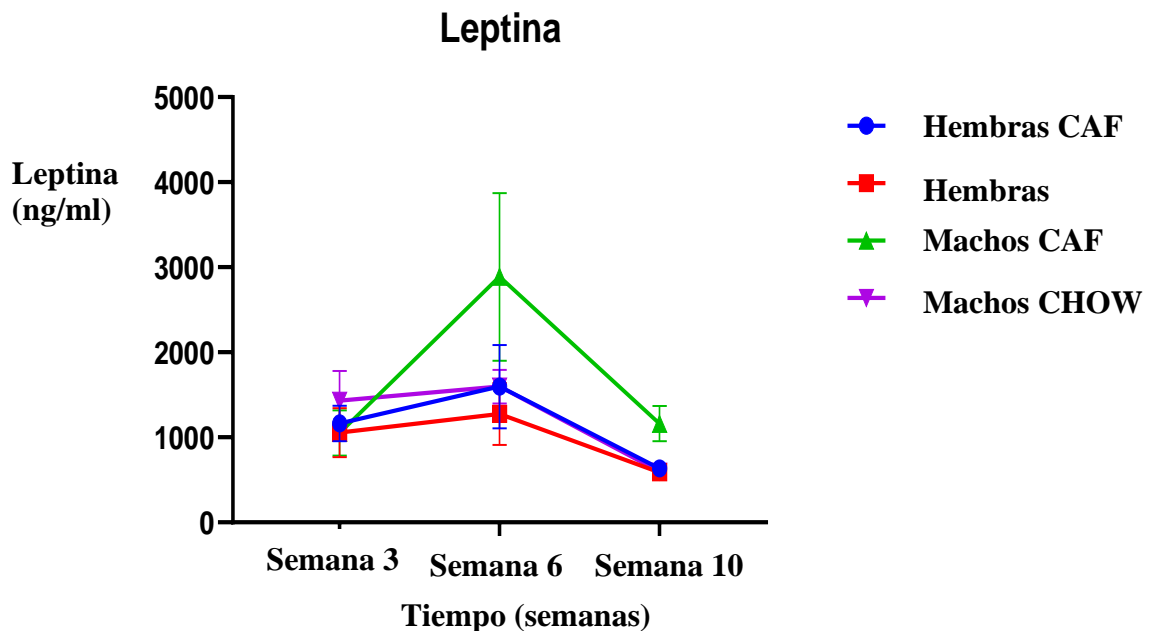


Gráfica #3: Niveles de leptina al punto final

#### 4. Leptina en diferentes puntos

Después de las 10 semanas de tratamiento, se evaluaron los niveles de leptina circulante en diferentes puntos, los datos fueron analizados por medio de un ANOVA de medidas repetidas de dos vías y este nos plantea que solo hay diferencias significativas al comprar entre los diferentes puntos (1, 2 y 3) en los cuales se tomaron las muestras de leptina,  $F(1.193, 28.63) = 7.862$ ,  $p = 0.0064$ . En cambios no hay significancia entre los experimentales,  $F(3,24) = 1.475$ ,  $p = 0.2669$ . Por medio de un análisis post-hoc, prueba Tukey, se encontraron diferencias significativas entre el punto 2 y 3, o sea, entre las semanas 6 y 10, en los machos controles,  $p = 0.0140$ .

En la semana 3, los niveles leptina eran similares en ambos grupos; en la semana 6, los niveles eran elevados para los machos CAF y parecidos entre hembras CAF y machos CHOW y bajos para las hembras CHOW, en la semana 10, los niveles para los machos CAF eran mayores que el resto de los grupos, pero menores en comparación con la medición anterior y a comparar con los demás, estos últimos tenían niveles parecidos.

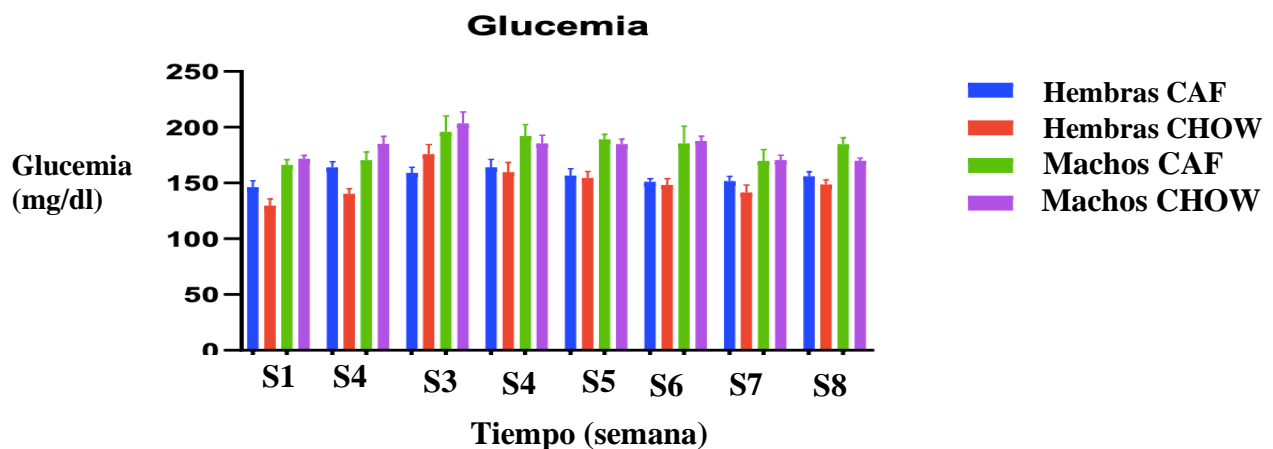


Gráfica #4: Niveles de leptina en los diferentes puntos

## 5. Glucemia

Los niveles de glucemia se analizaron por medio del ANOVA de dos vías, se encontraron diferencias significativas entre: los diferentes tiempos,  $F(3, 24) = 7.393$ ,  $p = 0.0001$ ; y los grupos,  $F(3, 24) = 18.38$ ,  $p = 0.0001$ . El análisis post-hoc de Tukey arrojó diferencias significativas entre las hembras CAF y los machos CAF,  $p = 0.0001$ ; las hembras CAF y los machos CHOW,  $p = 0.0001$ ; las hembras CHOW y los machos CAF,  $p = 0.0001$ . Entre los machos controles y CAF y entre las hembras CHOW y las hembras CAF, no hubo diferencias significativas.

Encontramos que la respuesta entre los diferentes tiempos es significativa. Hay datos significativos entre machos y hembras CAF, las hembras CAF y machos CHOW, las hembras CHOW y los machos CAF. Sin embargo, entre las hembras CAF y CHOW y los machos CAF y CHOW no hubo relevancia.

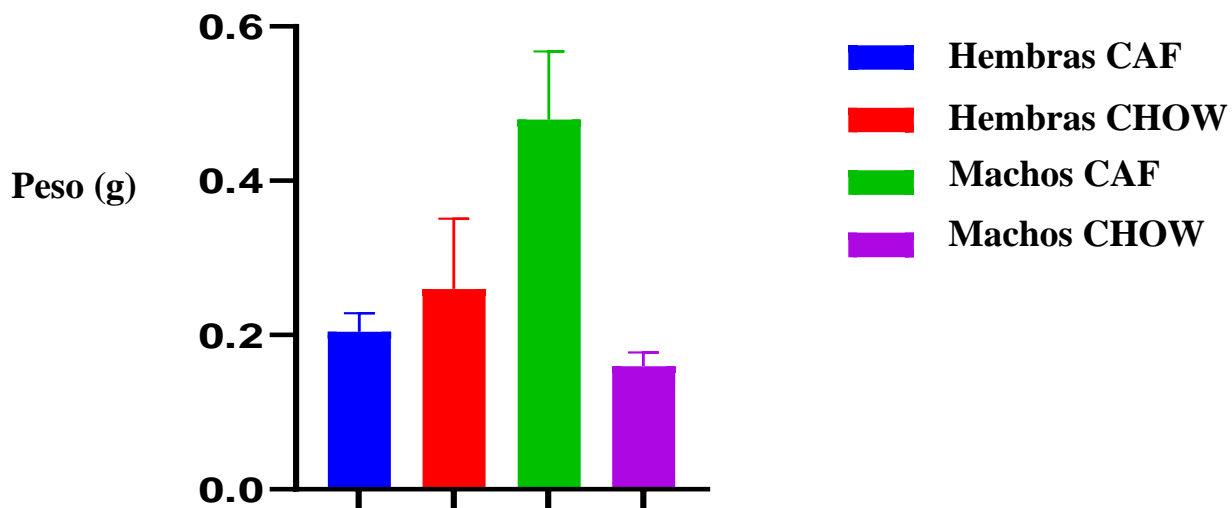


Gráfica #5: Niveles de glucemia entre los diferentes grupos.

## 6. Tejido adiposo subabdominal

El peso de tejido adiposo subabdominal fue analizado por medio de un ANOVA de una sola vía, donde se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos,  $F(3, 24) = 4.970$ ,  $p = 0.0080$ . Posteriormente, se realizó una prueba Tukey y se encontraron diferencias significativas entre las hembras CAF y machos CHOW,  $p = 0.0207$ ; y entre los machos CAF y CHOW,  $p = 0.0118$ ; en cambio, entre las hembras de los mismos grupos no se encontraron diferencias significativas,  $p = 0.9346$ . Se encontraron diferencias significativas entre las hembras CAF y los machos CHOW y entre los Machos CAF y CHOW; sin embargo, entre las hembras CAF y CHOW estas diferencias se pierden.

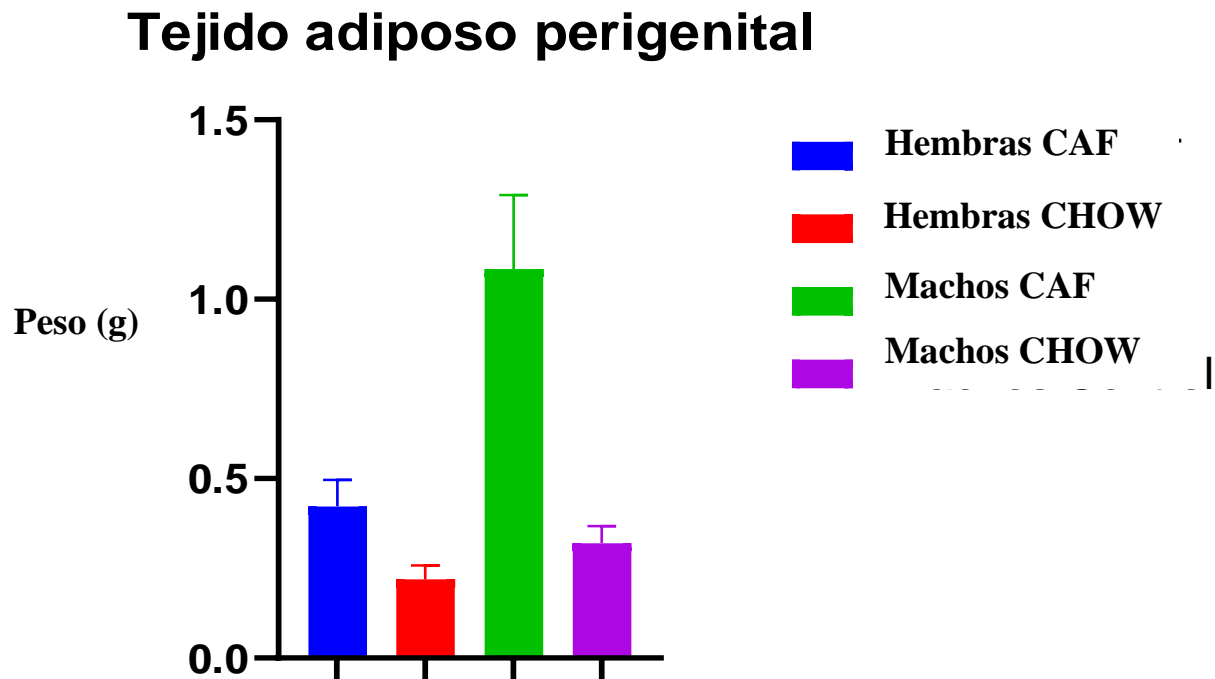
### Tejido adiposo subabdominal



Gráfica #6: Tejido subabdominal en los diferentes grupos.

## 7. Tejido adiposo perigenital

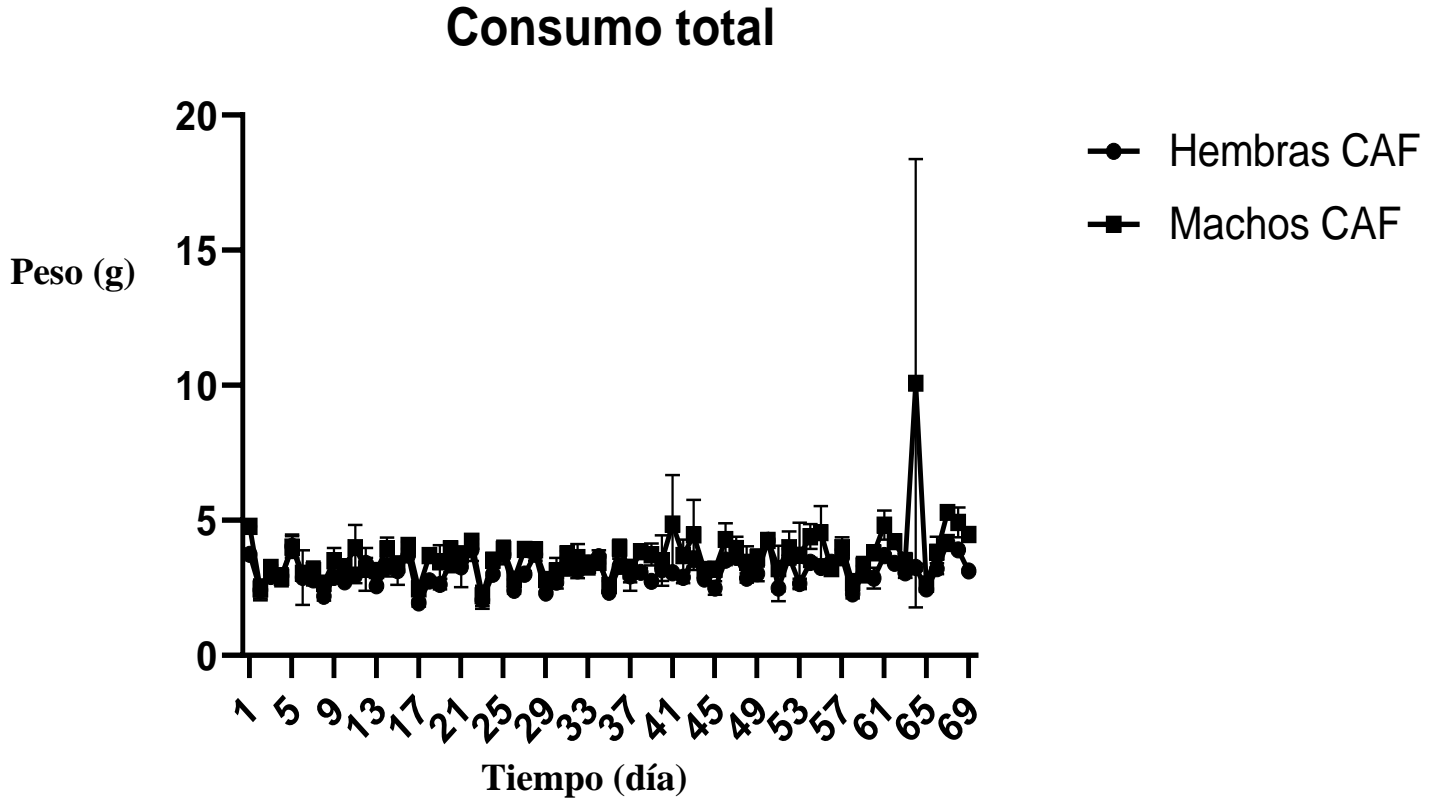
El peso de tejido perigenital se analizó por medio de un ANOVA de una sola vía y nos muestra que hay diferencias significativas entre los diferentes grupos,  $F(3, 23) = 9.493$ ,  $p = 0.0003$ . En un análisis post-hoc de Tukey, observamos diferencias significativas entre las hembras CAF y Machos CAF,  $p = 0.0058$ ; los machos, CAF y CHOW,  $p = 0.0022$ ; entre los otros grupos no hubo relevancia. Se encontraron diferencias significativas entre las hembras CAF y los machos CAF y entre los machos CAF y CHOW; sin embargo, entre las hembras CAF y CHOW estas diferencias se pierden.



Gráfica #7: Tejido perigenital en los diferentes grupos.

## 8. Consumo total de la dieta alta en grasa

El consumo total de alimentos en ambos grupos, se analizaron por medio de un ANOVA de medidas repetidas de dos vías, se encontraron diferencias significativas, entre el tiempo y los grupos,  $F(68, 136) = 1.759$ ,  $p = 0.0028$ ; pero no entre los grupos,  $F(1, 2) = 12.74$ ,  $p = 0.0703$ . Por medio de un análisis post-hoc, Šidák, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. RESUMIR DATOS

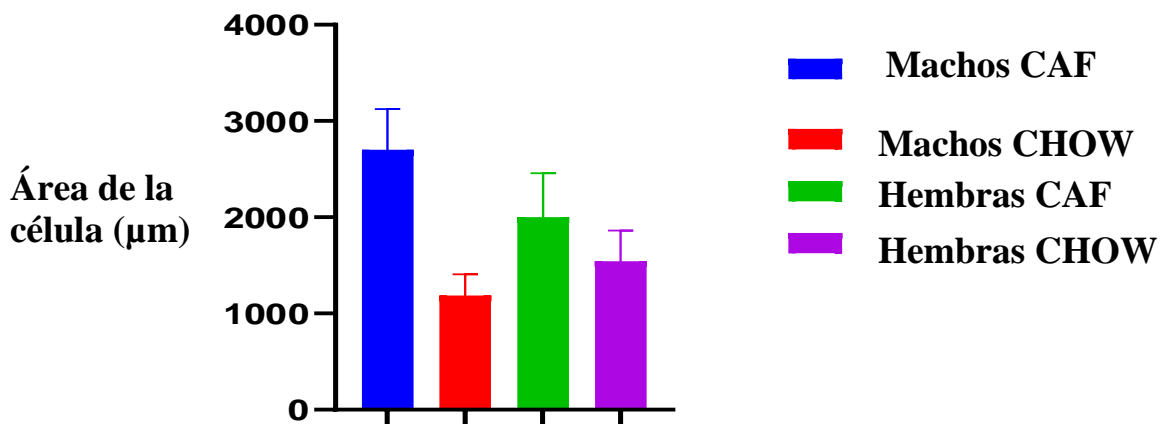


Gráfica #8: consumo total de la dieta CAF los animales de ambos sexos

## 9. Tamaño de las células adiposas

El tamaño de las células adiposas se analizó por medio de un ANOVA de una vía se midió el tamaño de las células adiposas, se encontraron diferencias significativas entre los grupos,  $F(3, 21) = 3.486$ ,  $p = 0.0339$ . por medio de una prueba t, solo se encontró datos significativos entre los machos CAF y CHOW,  $p = 0.0400$ ; entre los demás grupos no encontraron diferencias significativas. Los datos muestran que entre los grupos el tamaño de la célula es significativo, pero esta solo estaba entre los machos CAF y CHOW.

### Tamaño de las células adiposas

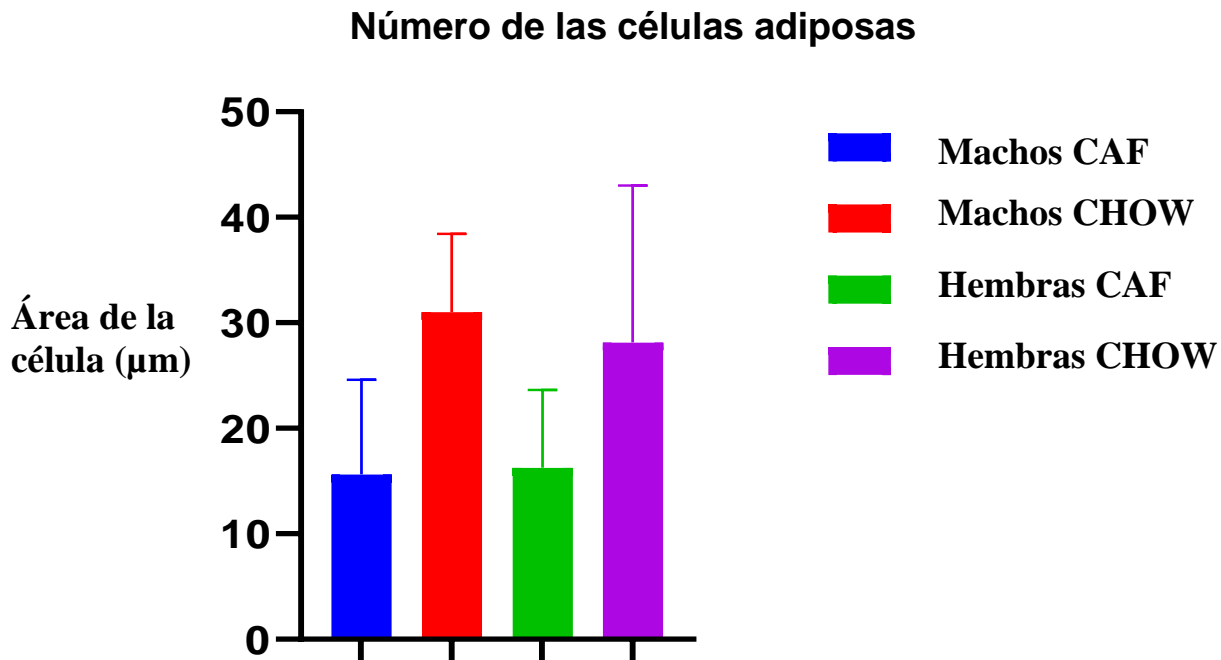


Gráfica #9: tamaño de las células adiposas en los diferentes grupos

## 10. Número de células adiposas

El número de células adiposas se analizó por medio de una prueba t y se demostró que hay diferencias significativas entre los machos CAF y CHOW,  $p= 0.0145$ ; en cambio las hembras de los mismos grupos, no se encontraron diferencias significativas,  $p= 0.4211$ . Al comparar todos los grupos de las diferentes dietas, por medio de un ANOVA de una vía, no hubo relevancia, solo en los machos de ambos tipos de dieta.

Los datos significativos solo están entre el grupo de los machos, porque entre el grupo de las hembras esta se pierde.



**Gráfica #10: Número de células adiposas en los diferentes grupos**

## Discusión

En este estudio, buscamos evaluar el efecto de la dieta panameña sobre la obesidad y el sistema de saciedad basado en leptina. Para ello, ofrecimos diariamente a ratones C57Bl/6 comida estándar o comida estándar más comida típica panameña, aquella de alto consumo diario de acuerdo con reportes locales del estudio Prevalencia de factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular (PREFREC) del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, 2011.

Al comparar el peso corporal de los animales, de ambos sexos, de la cepa C57BL/6 de la colonia de INDICASAT, se encontró que había diferencias significativas entre las hembras CAF y CHOW, pero no entre los machos CAF y CHOW. Esta observación no se esperaba de acuerdo con la literatura. Por otro lado, observamos diferencias significativas entre los machos y hembras CAF. Este efecto de sexo se asemeja a lo antes reportado. Según lo sustentado por (Della Vedova et al., 2016), los C57Bl/6 son muy utilizados para estudios de nutrición, porque son propensos a desarrollar, sobre todo lo machos, obesidad, hiperinsulinemia, hiperglucemia e hipertensión. En el caso de las hembras, estas son más resistentes a los efectos obesogénicos (Casimiro et al., 2021).

En resultados de estudios similares, se encontró que los machos alimentados con una dieta CAF, mostraron un aumento importante en peso corporal y masa grasa y, en cambio, las hembras, a pesar de que obtuvieron un pequeño aumento en el peso corporal, pero no en la masa grasa (Oraha et al., 2022). En nuestro estudio, observamos que, aunque no hay diferencias en peso entre machos CAF y CHOW sí hay diferencia en la masa grasa. Es posible que, con una exposición de más

tiempo, o bien de una dieta un poco distinta, logremos observar el cambio significativo de peso entre los grupos. Cuando se aplica una dieta CAF, se espera que los ratones aumenten de peso en comparación con los controles, sobre todo en los machos, pero en el caso de nuestro estudio no hubo diferencia significativa entre estos dos grupos, podría deberse a lo expuesto por (Higa et al., 2014), donde el peso corporal entre los ratones alimentados con CAF y HF y los controles, no era diferente. Este autor explica que, en el caso de la dieta CAF, esta no incrementó el peso corporal posiblemente a un aumento en el gasto energético en reposo y esto es típico en ratones que están bajo un régimen de dieta hipercalórica. Otro factor relevante que podría influir en el peso corporal es la constitución de las dietas y los antecedentes de los animales ( Kim et al., 2011). En nuestro estudio, presentamos de manera aleatoria tres ítems diarios que representan a los alimentos que consume la población panameña, según el estudio PREFREC, del Instituto Conmemorativo Gorgas, pero estos alimentos se les variaba por día, entre dulces y salados.

A manera cualitativa, observamos que los animales mostraban preferencias por algunos alimentos. En ese sentido, tenían más preferencias hacia los alimentos dulces, como galletas, chocolates, orejas, magdalenas y, a salados, como: Doritos, Lays, Kachitos, pero, en cambio, tenían muy poca preferencia a alimentos como: Golpe (tipo de snack), tortillas, platanitos, maniturrón, mafá, chicharrón, entre otros.

La resistencia de las hembras a la obesidad se ha atribuido a los niveles de estrógeno circulantes y sus efectos en la homeostasis de la insulina, la glucosa, la distribución de la grasa corporal, los marcadores proinflamatorios y a la lipogénesis hepática (Lena et al., 2020). En algunos estudios se realizó una ovariectomía y

como consecuencia se elimina la protección contra los efectos obesogénicos; las reducciones de los niveles de estrógeno puedan provocar un eventual desarrollo de la obesidad, donde se exponen a las hembras a dietas altas en grasas (Hong et al., 2009). Es posible que en las hembras expuestas a la dieta CAF panameña observáramos aumentos significativos en condiciones en donde se práctica una ovariectomía. Se podría también argumentar que el menor peso en las hembras se debe, a que consumen menos que los machos, pero en este estudio consumen lo mismo. Las hembras, en general, se mantienen por debajo del peso de los machos, y esto es consistente con la literatura (Oraha et al., 2022).

Otro estudio demostró que, en los machos alimentados con dietas altas en grasas o CAF, se da un aumento de peso, debido a que no tienen la protección que genera el estrógeno en las hembras. Aunque lo producen, no es suficiente; los ratones macho son más susceptibles que las hembras a desarrollar hiperleptinemia, cáncer de hígado y resistencia a la insulina entre otros (Naugler et al., 2007).

El aumento de peso está correlacionado con mayor cantidad de masa grasa o tejido adiposo. En este estudio se extrajeron de los ratones dos tipos de grasas: la subabdominal y la perigenital. En el peso de la grasa subabdominal y la perigenital se encontraron diferencias significativas entre los machos CHOW y CAF. La diferencia radica en que la dieta CAF contiene una mayor cantidad de sodio, ácidos grasos saturados, ácidos grasos trans, azúcar y menos fibras y micronutrientes, todo esto junto con un alto contenido de grasas, lo cual provoca la desregulación de la homeostasis (Buyukdere et al., 2018), ya que este tipo de dieta tiene una variedad de alimentos densos en energía altamente palatables que se consumen ampliamente en las sociedades occidentales (Ferreira et al., 2018). Este continuo

consumo e ingesta de energía provoca una acumulación excesiva de grasa y aun teniendo en cuenta la respuesta homeostática a un menor consumo de alimentos y mayor termogénesis (Rothwell et al., 1982). Este aumento de grasa corporal, mayormente en el tejido adiposo blanco (WAT), aunque este se puede encontrar en otros órganos. Esta acumulación de WAT tiene una mayor prevalencia en el sexo masculino (Romero et al., 2014) y conlleva a la obesidad y el sobrepeso, ya que este se deposita en una serie de localizaciones, como el área subcutánea, perigonadal o perigenital, retroperitoneal y mesentérico (Romero et al., 2014). El tejido adiposo blanco tiene entre sus funciones, el centro de la homeostasis energética. Estos adipocitos son los responsables del reservorio para el almacenamiento de grasas y la utilización de energía. También detectan las demandas de energía y producen factores paracrinos, los cuales regulan otros tejidos metabólicos (Sun et al., 2011).

En la obesidad este tejido puede perder sus funciones y no expandirse adecuadamente al momento de almacenar el exceso de energía; lo cual provoca una acumulación de grasa ectópica en otros tejidos, a este fenómeno se le conoce comúnmente como lipotoxicidad (Reilly & Saltiel, 2017). Los efectos de esta disfunción del tejido adiposo son múltiples, como: inflamación, fibrosis, hipoxia, secreción alterada de adipocinas, como por ejemplo la leptina, y disfunción mitocondrial (Kusminski et al., 2016).

En nuestro estudio se observó que los ratones macho con dieta CAF, tenían los niveles de leptina más elevados, aumento significativo del número y tamaño de los adipocitos blancos y por ende un mayor peso corporal, en comparación con las hembras CAF y los controles de ambos sexos; en posteriores estudios se podría

probar con otros tipos de alimentos panameños y exponer a los animales a mucho más tiempo con la dieta para ver si desarrollan otras disfunciones.

Durante la obesidad se dan condiciones extensas de balance energético positivo, lo cual significa que un exceso de energía y en contraposición a la poca que se gasta, en consecuencias los adipocitos aumentan su tamaño y su número. Al incremento de tamaño se le denomina hipertrofia, mientras que un aumento en el número de células se le denomina hiperplasia. Ambos ocurren para compensar el mayor almacenamiento de lípidos (Longo et al., 2019). En los ratones del estudio se observó una marcada hipertrofia en los ratones macho alimentados con la dieta CAF, en comparación con los controles; entre las hembras no hubo diferencias. De manera similar, la hiperplasia fue significativamente diferente para los ratones macho CAF y CHOW. Estos datos son de esperar considerando que no observamos cambios en el peso ni en los acumulados de grasa en el grupo de hembras, pero sí en los machos. El tejido adiposo fisiológicamente se encarga de manejar dinámicamente las variaciones en el exceso de calorías a través de dos mecanismos: la hipertrofia y la hiperplasia de los adipocitos (McLaughlin et al., 2016).

En condiciones de obesidad, la hipertrofia comienza antes de la hiperplasia para poder acomodar la necesidad de capacidad de almacenamiento de grasa adicional, debido a la progresión de la obesidad (Jo et al., 2009). La hipertrofia es una respuesta adaptativa de los adipocitos en respuesta al exceso de nutrientes y mantienen la capacidad de amortiguación de los nutrientes del tejido adiposo y esto conlleva una protección de la lipotoxicidad. Estos adipocitos hipertróficos producen

factores paracrinos, los cuales permiten el reclutamiento de preadipocitos y promueven la diferenciación a adipocitos maduros (Pellegrinelli et al., 2016). Esta hipertrofia del tejido adiposo pierde su capacidad de homeostasis cuando se encuentran en un estado crónico de balance energético positivo y el tamaño de las células adiposas llega a su umbral crítico y este pierde su capacidad de responder dinámicamente a las alteraciones metabólicas generadas por la obesidad. En modelos murinos a los que se aplicó una dieta CAF, se encontraron diferencias significativas entre los grupos controles y los experimentales, de igual forma en estudios con humanos (Choe et al., 2016).

Durante la hipertrofia, el tejido puede presentar señales intrínsecas que incluyen la partida de adipocitos parecido a la necrosis e incrementada en modelos de ratones con obesidad inducida por la dieta (Cinti et al., 2005). En otros estudios, han sugerido que el aumento de adipocitos muertos en la obesidad provoca que las funciones de homeostasis del WAT sean anormales y esto, a su vez, provocará inflamación.

Otra consecuencia es que los adipocitos hipertróficos tienen una mayor expresión y secreción de citocinas proinflamatorias, por ejemplo, el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), interleucina (IL)-6, IL-8 y proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1) (Giordano et al., 2013). Al elevarse las citoquinas proinflamatorias, esto conduce a la fosforilación de serina del sustrato receptor de insulina-1 a través del factor nuclear  $\kappa$ B y la señalización de la quinasa N-terminal de Jun, lo cual conlleva a una eventual resistencia de la insulina. Al provocarse la inflamación del tejido adiposo por parte de las citocinas proinflamatorias, por medio del reclutamiento de

macrófagos y células T, debido a la necrosis (Huh et al., 2014). En este estudio no se encontró infiltración de macrófagos o células inmunitarias, podría ser debido al tipo de tinción, la cual fue H&E, aunque esta puede arrojar resultados como se muestra en (Kusakabe et al., 2018), pero no es la más recomendada. Estudios futuros pudieran utilizar tinciones directas de los macrófagos para evaluar la presencia en tejido graso, como se detalla en la literatura (Frafjord et al., 2020; Chen et al., 2022; De Halleux et al., 1973).

La hipertrofia, durante en la obesidad, genera la hipoxia del tejido adiposo local en consecuencia a la deficiencia relativa de la vascularización; cuando ocurre la hipoxia en el tejido adiposo, aumentan los niveles de expresión de factores de angiogénicos y genes asociados con la respuesta inflamatoria (Ye et al., 2007). El factor inducible por hipoxia (HIF)  $1\alpha$ , se activa, este factor de transcripción clave a media de las respuestas hipóxicas, lo cual acelera la fibrosis del tejido adiposo, lo cual activa la inflamación del tejido; otra consecuencia de la hipertrofia es la liberación de ácidos grasos libre, que son absorbidos por otros tejidos, como hígado y músculo; o que conduce acumulación ectópica de lípidos y lipotoxicidad entre otras afectaciones metabólicas, como la resistencia a la insulina (Rutkowski et al., 2015). He de mencionar que en este estudio no se evaluó la resistencia a la insulina, pero está previsto en futuros estudios incluir otras variables de estudio y, de esta forma, observar el efecto de la dieta panameña en otras afectaciones metabólicas.

En cambio, la hiperplasia de este tejido es un mecanismo de recuperación ante la sobrealimentación y cuando los adipocitos alcanzan su tamaño crítico y

sobrecargan de lípidos, la hiperplasia del tejido intenta reparar las alteraciones metabólicas. Estudios han demostrado que cuando se presenta hiperplasia en la obesidad, esta podría tener un papel protector contra las afectaciones metabólicas que provoca la obesidad ( Jang, et al., 2016). En este estudio, los ratones macho CAF, en comparación con los controles, mostraron hipertrofia e hiperfasia en tejido adiposo blanco.

Los estudios sobre obesidad han demostrado que las principales causas de esta y su relación con la diabetes tipo 2, se manifiesta médicamente por medio de la hiperglucemia. Esta alteración de los niveles normales de la glucosa es provocada por alteración de una transducción de señal defectuosa por medio de proteínas de señalización (Martyn et al., 2008).

Esta señal deficiente da lugar a una captación menor de la glucosa en el músculo, una lipogénesis alterada y un aumento de producción de glucosa por parte del hígado; lo cual provoca la destrucción de las células beta pancreáticas y la poca producción o deficiencia de la insulina (Mouri & Badireddy, 2022). En este estudio, se encontró que solo había diferencias significativas en los grupos experimentales, pero solo entre las hembras y machos CAF, las hembras controles y los machos CAF; pero entre los machos CAF y los machos controles no hubo diferencias significativas. Los niveles de glucemia en la cepa de ratones utilizado son, de 159 mg/dl para las hembras y para los machos de 158 mg/dl (Colonies, 2008). Esto significa que ambos sexos tienen casi los mismos niveles de glucosa con peso normal. Pero se ha demostrado que estos niveles pueden cambiar, al ser los ratones sometidos a una dieta de cafetería (CAF).

Este tipo de alimentación hedónica está estrechamente relacionada con la hiperfagia voluntaria, rápido aumento de peso, aumento en la masa grasa, la hiperglucemia y la intolerancia a la insulina (Lang et al., 2019). Mas aún, los hombres son más susceptibles al metabolismo alterado de la glucosa y a la diabetes tipo 2 que las mujeres (Gao et al., 2021). En ratones macho se ha reportado que existe una menor sensibilidad a la insulina que en las hembras y, por ende, son más susceptibles a la obesidad y al síndrome metabólico por medio de dietas HFD y CAF (Menke et al., 2015).

En este estudio, se observó que las hembras, en comparación con los machos, presentan una glucemia menor. Las diferencias del metabolismo de la glucosa dependiente del sexo, demostradas en otros estudios, sugiere que tanto en hombres como en ratones machos son más susceptibles al desarrollo de hiperglucemia, movidos por cambios en los mecanismo fisiológicos subyacentes que mueven este dimorfismo sexual y aún no están muy claros (Corsetti et al., 2000). Por último, esta protección fisiológica en las hembras, según varias investigaciones, se da por medio de la hormonas esteroideas sexuales pospuberales, las cuales contribuyen al dimorfismo sexual en la susceptibilidad observado en la diabetes (Tramunt et al., 2020).

Asimismo, en este estudio, se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa (GTT). Esta prueba sirve para medir los niveles de azúcar en la sangre antes y después de beber o ser inyectado un líquido que contiene glucosa (CDC, 2020). En el estudio, solo se encontraron diferencias significativas entre los machos CAF y las hembras controles y entre los machos controles y las hembras controles. Los machos CAF tenían la tendencia al aumento de peso en comparación con los otros grupos, solo

igualado muy de cerca por los machos controles. En el GTT, los machos CAF mostraban niveles elevados de glucosa a X horas/minutos de la administración de glucosa. Este efecto no se observó en hembras CAF. En el contexto de la literatura, podemos proponer que las hembras acumulan más grasa subabdominal que los machos, pero estos a su vez acumulan más masa grasa de tipo visceral. Aunque a los ratones se les aplicó una prueba de tolerancia a la glucosa (GTT), lo cual nos da indirectamente si tienen hiperglucemia, también sería de importancia para tener un dato más directo, una prueba de tolerancia a la insulina.

La leptina es una hormona peptídica que es producida por el tejido adiposo blanco y que es codificada por el gen *ob*, tanto en humanos como en ratones. Clásicamente se habla de ella, como la reguladora del apetito, pero también tiene una función endocrina y en la homeostasis energética, lo cual tiene una gran influencia en varios procesos fisiológicos (Dornbush & Aeddula, 2022).

Al analizar los resultados, se encontró que los ratones macho alimentados con una dieta CAF, tenían niveles significativos de esta hormona, en comparación con los controles y con el sexo opuesto; pero entre las hembras de ambos grupos, los niveles de leptina se mantuvieron similares; se esperaba que los niveles de leptina en los animales de la dieta CAF estuvieran más elevados en comparación con sus pares controles. La leptina es producida en su mayoría por el tejido adiposo blanco, en pequeñas cantidades en el tejido adiposo pardo y en algunos órganos periféricos, Cuando existe un balance energético positivo, típico de la obesidad y debido al aumento de la masa corporal, los niveles de esta hormona aumentan y generan hiperleptinemia y resistencia a la leptina; lo cual nos indica una fuerte asociación entre los niveles de leptina en plasma y el porcentaje de masa corporal (Obradovic

et al., 2021). En este estudio, los ratones macho alimentados con la dieta CAF, presentaron un aumento significativo de peso, mayor consumo de la dieta y un aumento de la grasa de tipo perigenital y subabdominal. En estudios anteriores se observó que los ratones obesos desarrollan una resistencia a la leptina que se presenta como hiperleptinemia (Münzberg et al., 2004).

En otros estudios, se ha observado que los ratones alimentados con una dieta CAF, muestran niveles elevados de leptina en plasma y, además, aumentan con la edad y están correlacionados con el peso corporal. En cambio, los ratones con dieta estándar mantienen niveles de leptina en plasma y no correlacionan con los cambios de pesos posteriores (Ahrén, 1999). Entre los machos, no hubo diferencias significativas, pero sí una tendencia; los CAF obtuvieron niveles de leptina por encima de los 1000 ng/ml, mientras los controles por debajo de 600 ng/ml. Pero no hay discrepancias debido que no hubo diferencias en el peso corporal y debe haber para poder que se presenten niveles significativos y diferenciales entre ambos grupos. Higa et al., 2014, explica que en la dieta CAF no incrementa el peso corporal posiblemente por un aumento en el gasto energético en reposo y esto es típico en ratones que están bajo un régimen de una dieta hipercalórica. En las hembras, los niveles de leptina no aumentaron, y esto es consistente con la resistencia que tienen estas a la obesidad; especulamos que ambas observaciones sean atribuibles a los estrógenos y otros factores. Es fundamental un aumento de masa grasa significativo para que se presente la hiperleptinemia y al poseer las hembras poca, esta no se podrá presentar.

Estudios futuros deben considerar exponer a los animales a un tiempo más prolongado con la dieta, porque a pesar de que la literatura consultada para realizar

este estudio sugiere un tiempo de 10 semanas para ver resultados. En otras literaturas, sugieren un tiempo más prolongado para ver resultados (Zeeni et al., 2015; Lewis et al., 2019). Además, es de suma importancia medir las calorías y cada alimento dado a los ratones y, de esa forma, podríamos obtener las calorías que consumen, esto lo podría hacer como trabajo adicional o complementario de este estudio.

Este tipo de estudio, que trató de uno de los mayores problemas de la sociedad panameña, la obesidad, se deben continuar y profundizar de tal forma que estos generen datos más profundos, para poder realizar políticas de salud pública, para mejorar el estado de las personas que sufren de obesidad en el país y así también combatir otras enfermedades que tienen como raíz el sobrepeso y la obesidad. De igual forma, agregar el estudio de las vías señalización de la leptina y de los receptores de esta en el hipotálamo y sus afectaciones durante la obesidad, para obtener de forma más precisa cómo funciona esta hormona en el cerebro y otras áreas del cuerpo.

Aunque la aplicación de una dieta CAF a los roedores para producir obesidad y sus afectaciones metabólicas, es muy usado en todo el mundo, en Panamá no hay estudios similares sobre las afectaciones de una dieta panameña en mecanismo de saciedad de la leptina. Por ende, solo tenemos estudios sobre los alimentos más consumidos por la población del país y sus posibles efectos en otras afectaciones metabólicas, por ejemplo: enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 entre otras, pero no sobre la leptina en la obesidad.

## Conclusión

En la variedad de dietas que existen en el mercado para provocar obesidad en los roedores, la dieta de cafetería (CAF) es una de las que produce con bastante similitud las enfermedades metabólicas humanas que provoca la obesidad. Este tipo de dieta, usada en este estudio, es muy fácil de aplicar y es muy bien aceptada por los ratones, debido a sus alimentos altamente palables, altos en azúcares y en grasas.

Al documentar la curva de crecimiento de los animales con dieta estándar (CHOW), se obtuvo que estos no aumentaron de peso como era de esperarse, debido a que este tipo de dieta no produce obesidad; pero en cambio, los ratones con dieta CAF, se observó un aumento del peso corporal, en su mayoría por el aumento de la masa grasa, sobre todo, del tipo perigenital y subabdominal. En las hembras, este aumento de peso no se produjo debido a que estas tienen resistencia fisiológica a la obesidad, producida por la hormona estrógeno, se ha documentado que practicar una ovariectomía provoca obesidad en ellas.

Al evaluar los parámetros fisiológicos de ambos grupos de animales, se observó con los ratones macho alimentados con la dieta CAF presentaron altos niveles de glucosa, de leptina en punto final y un aumento en la adiposidad, tejido subabdominal y perigenital; en comparación con los controles, aunque estos últimos en muchos de los parámetros mencionados anteriormente tenían datos parecidos, debido a que la dieta CAF puede no incrementar el peso corporal posiblemente a un aumento en el gasto energético en reposo, a la constitución de la dieta y a los

antecedentes de los animales. En cambio, no se encontró infiltración de macrófagos en el tejido adiposo blanco, investigaciones sugieren que la leptina puede iniciar el reclutamiento de macrófagos, pero en este caso la posible razón es que los niveles de leptina, aunque altos en los ratones CAF, no eran los suficientes para provocar este reclutamiento.

Las investigaciones consultadas y los resultados de este estudio demuestran que la dieta de cafetería es un mecanismo fiable, para provocar obesidad en los roedores y, de esta forma, imitar las enfermedades metabólicas producidas por esta condición.

## Referencias

- Aguilera, C., Labbé, T., Busquets, J., Venegas, P., Neira, C., & Valenzuela, Á. (2019). Obesidad: ¿Factor de riesgo o enfermedad? *Revista Médica de Chile*, 147(4), 470–474. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872019000400470>
- Aja, S., Schwartz, G. J., Kuhar, M. J., Moran, T. H., Schwartz, G. J., Kuhar, M. J., Moran, T. H., & Cart, I. (2019). Intracerebroventricular

CART peptide reduces rat ingestive behavior and alters licking microstructure. 21205, 1613–1619.

- Alimentaria, P. N. de seguridad. (2009). FAO.org : Plan Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutrición 2009-2015. <https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC158349/>
- Ángel Aragonés Gallego, et al. (2010). Ángel Aragonés Gallego.
- Argente, J., & Chowen, J. (2014). Nuevas funciones neuroendocrinas de la leptina. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 5, 43–52.
- Arora, S., & Anubhuti. (2006). Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity - A review. *Neuropeptides*, 40(6), 375–401. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2006.07.001>
- Arroyo, P. (2008). La alimentación en la evolución del hombre: su relación con el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 65(6), 431–440. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-11462008000600004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462008000600004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Ahrén, B. (1999). Plasma leptin and insulin in C57Bl/6J mice on a high-fat diet: relation to subsequent changes in body weight. *Acta Physiologica Scandinavica*, 165(2), 233–240. <https://doi.org/10.1046/J.1365-201X.1999.00518.X>
- Arsuaga, J. L. (2002). Los aborígenes: la alimentación en la evolución humana. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=196262>

- Banks, W. A. (2015). Peptides and the blood-brain barrier. *Peptides*, 72, 16–19. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.03.010>
- Banks, W. A., Coon, A. B., Robinson, S. M., Moinuddin, A., Shultz, J. M., Nakaoka, R., & Morley, J. E. (2004). Triglycerides Induce Leptin Resistance at the Blood-Brain Barrier. *Diabetes*, 53(5), 1253–1260. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.5.1253>
- Basain Valdés, J., /Dra María del Carmen Valdés Alonso, I., Dra Margarita Pérez Martínez, I., Dra María de los Ángeles Jorge Díaz, I., Dra Hortensia Linares Valdés III Policlínico Universitario, I. I., Manuel Portuondo Lambert, C., Habana, L., Hospital Pediátrico Docente, C. I., & Manuel Márquez, J. (2016). Papel de la leptina como señal aferente en la regulación de la homeostasis energética Role of leptin as afferent signal of energy homeostasis regulation. *Revista Cubana de Pediatría*, 88(1), 74–80. <http://scielo.sld.cu>
- Bauer, P. V., Hamr, S. C., & Duca, F. A. (2016). Regulation of energy balance by a gut-brain axis and involvement of the gut microbiota. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(4), 737–755. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2083-z>
- Behav, B., & Schoenemann, P. T. (2004). Original Paper Brain Size Scaling and Body Composition in Mammals. *Evol*, 63, 47–60. <https://doi.org/10.1159/000073759>
- Bernard Wood Summary. (n.d.).

- Bertha, G., & Robledo, V. (2010). El adipocito y la respuesta inmune. *Rev Fac Med UNAM*, 53(1). [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)
- Bjørnbæk, C., Elmquist, J. K., Michl, P., Ahima, R. S., Van Bueren, A., Mccall, A. L., & Flier, J. S. (1998). Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology*, 139(8), 3485–3491. <https://doi.org/10.1210/en.139.8.3485>
- Blundell, J. E., Finlayson, G., Gibbons, C., Caudwell, P., & Hopkins, M. (2015). The biology of appetite control: Do resting metabolic rate and fat-free mass drive energy intake? *Physiology and Behavior*, 152, 473–478. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.05.031>
- Broberger, C., Johansen, J., Johansson, C., Schalling, M., & Hökfelt, T. (1998). The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and monosodium glutamate-treated mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), 15043–15048. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.25.15043>
- BROWN, P. J., & KONNER, M. (1987). An Anthropological Perspective on Obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 499(1), 29–46. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb36195.x>
- Bulik. (2015). Prevalence, Heritability, and Prospective Risk Factors for Anorexia Nervosa. 63.
- Burguera, B., Couce, M. E., Long, J., Lamsam, J., Laakso, K., Jensen, M. D., Parisi, J. E., & Lloyd, R. V. (2000). The long form of the leptin

receptor (OB-Rh) is widely expressed in the human brain. *Neuroendocrinology*, 71(3), 187–195. <https://doi.org/10.1159/000054536>

- Buyukdere, Y., Gulec, A., & Mutlu, A. A. (2018). Effect of cafeteria diet and high fat diet on body composition and biochemical parameters in rats. *Clinical Nutrition*, 37(2018), S269–S270. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.1947>
- Cabrera-, A., Alonso, V., Guzmán, C., & Camacho, I. (2005). Péptidos anorexigénicos y su participación en la conducta alimentaria. 13.
- Carranza, L. E. (2016). Fisiología del apetito y el hambre. *Enfermería Investiga.*, 1(3), 117–124. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6194254.pdf>
- Casimiro, I., Stull, N. D., Tersey, S. A., & Mirmira, R. G. (2021). Phenotypic sexual dimorphism in response to dietary fat manipulation in C57BL/6J mice. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 35(2), 107795. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107795>
- Chambers, A. P., Sandoval, D. A., & Seeley, R. J. (2013). “Central nervous system integration of satiety signals.” *Current Biology: CB*, 23(9), R379. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2013.03.020>
- Chan, J. L., Williams, C. J., Raciti, P., Blakeman, J., Kelesidis, T., Kelesidis, I., Johnson, M. L., Thorner, M. O., & Mantzoros, C. S. (2008). Leptin does not mediate short-term fasting-induced changes in growth hormone pulsatility but increases IGF-I in leptin deficiency

states. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(7), 2819–2827. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0056>

- Chávez. (2013). *Fast Food Intake The Power of Good Food*. 4.
- Chen, B., Li, R., Kubota, A., Alex, L., & Frangogiannis, N. G. (2022). Identification of macrophages in normal and injured mouse tissues using reporter lines and antibodies. *Scientific Reports* 2022 12:1, 12(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08278-x>
- Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I., & Kim, J. B. (2016). Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in Endocrinology*, 7(APR), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00030>
- Cinti, S., Mitchell, G., Barbatelli, G., Murano, I., Ceresi, E., Faloia, E., Wang, S., Fortier, M., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2005). Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of Lipid Research*, 46(11), 2347–2355. <https://doi.org/10.1194/JLR.M500294-JLR200>
- Colonies, A. (2008). C57BL/6 Mouse Hematology C57BL/6NCrI WBC NEUT LYMPH MONO EOS BASO NEUT LYMPH MONO EOS (K/μL) (K/μL) (K/μL) (K/μL) (K/μL) (%)(%) (%)(%).
- Cone, R. D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. 8(5), 571–578. <https://doi.org/10.1038/nn1455>

- Considine, R. (1996). Serum Immunoreactive-Leptin Concentrations in Normal-Weight and Obese Humans. *The Endocrinologist*, 6(4), 349. <https://doi.org/10.1097/00019616-199607000-00020>
- Cordain, L., Eaton, S. B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B. A., O'Keefe, J. H., & Brand-Miller, J. (2005). Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(2), 341–354. <https://doi.org/10.1093/AJCN.81.2.341>
- Corsetti, J. P., Sparks, J. D., Peterson, R. G., Smith, R. L., & Sparks, C. E. (2000). Effect of dietary fat on the development of non-insulin dependent diabetes mellitus in obese Zucker diabetic fatty male and female rats. *Atherosclerosis*, 148(2), 231–241. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(99\)00265-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(99)00265-8)
- Cottrell, E. C., & Mercer, J. G. (2012). Leptin receptors. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 209, 3–21. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3_1)
- Crocker, M. K., & Yanovski, J. A. (2009). Pediatric Obesity: Etiology and Treatment. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 38(3), 525–548. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2009.06.007>
- Dardeno, T. A., Chou, S. H., Moon, H. S., Chamberland, J. P., Fiorenza, C. G., & Mantzoros, C. S. (2010). Leptin in human physiology and therapeutics. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(3), 377–393. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2010.06.002>

- De Halleux, F., Taper, H. S., & Deckers, C. (1973). A Simple Procedure for Identification of Macrophages in Peritoneal Exudates. *British Journal of Experimental Pathology*, 54(4), 352.
- Della Vedova, M. C., Muñoz, M. D., Santillan, L. D., Plateo-Pignatari, M. G., Germanó, M. J., Rinaldi Tosi, M. E., Garcia, S., Gomez, N. N., Fornes, M. W., Gomez Mejiba, S. E., & Ramirez, D. C. (2016). A Mouse Model of Diet-Induced Obesity Resembling Most Features of Human Metabolic Syndrome. <https://doi.org/10.4137/NMi.s32907>
- Detección | Basics | Spanish | Diabetes | CDC. (n.d.). Retrieved March 7, 2023, from <https://www.cdc.gov/diabetes/spanish/basics/getting-tested.html>
- Diepvens, K., Häberer, D., & Westerterp-Plantenga, M. (2008). Different proteins and biopeptides differently affect satiety and anorexigenic/orexigenic hormones in healthy humans. *International Journal of Obesity*, 32(3), 510–518. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803758>
- Digestología, S. catalana de. (2018). ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO DIGESTIVO.
- Dornbush, S., & Aeddula, N. R. (2022). Physiology, Leptin. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537038/>
- Eaton, S. B., & Konner, M. (1985). Paleolithic Nutrition: A Consideration of Its Nature and Current Implications. *New England*

Journal of Medicine, 312(5), 283–289.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM198501313120505>

- Eaton, S. B., Konner, M., & Shostak, M. (1988). Stone agers in the fast lane: Chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *The American Journal of Medicine*, 84(4), 739–749.  
[https://doi.org/10.1016/0002-9343\(88\)90113-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(88)90113-1)
- Ekmen, N., Helvaci, A., Gunaldi, M., Sasani, H., & Yildirmak, S. T. (2016). Leptin as an important link between obesity and cardiovascular risk factors in men with acute myocardial infarction. *Indian Heart Journal*, 68(2), 132. <https://doi.org/10.1016/J.IHJ.2015.07.032>
- Esteve Ràfols, M. (2014). Tejido adiposo: Heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinología y Nutricion*, 61(2), 100–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.03.011>
- Faouzi, M., Leshan, R., Björnholm, M., Hennessey, T., Jones, J., & Münzberg, H. (2007). Differential accessibility of circulating leptin to individual hypothalamic sites. *Endocrinology*, 148(11), 5414–5423.  
<https://doi.org/10.1210/en.2007-0655>
- Farooqi, I. S., Wangensteen, T., Collins, S., Kimber, W., Matarese, G., Keogh, J. M., Lank, E., Bottomley, B., Lopez-Fernandez, J., Ferraz-Amaro, I., Dattani, M. T., Ercan, O., Myhre, A. G., Retterstol, L., Stanhope, R., Edge, J. A., McKenzie, S., Lessan, N., Ghodsi, M., ... O’Rahilly, S. (2007). Clinical and Molecular Genetic Spectrum of

Congenital Deficiency of the Leptin Receptor. *New England Journal of Medicine*, 356(3), 237–247. <https://doi.org/10.1056/nejmoa063988>

- Ferreira, A., Castro, J. P., Andrade, J. P., Dulce Madeira, M., & Cardoso, A. (2018). Cafeteria-diet effects on cognitive functions, anxiety, fear response and neurogenesis in the juvenile rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 155, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.07.014>
- Fleming, M. A., Ehsan, L., Moore, S. R., & Levin, D. E. (2020). The Enteric Nervous System and Its Emerging Role as a Therapeutic Target. *Gastroenterology Research and Practice*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8024171>
- Flier, J. S. (1998). Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(5), 1407–1413. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9589630](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9589630)
- Flores-Lázaro, J. R., Rodríguez-Martínez, E., & Rivas-Arancibia, S. (2011). Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. *Revista Médica Del Hospital General de México*, 74(3), 157–165.
- Forero, M. A., & Gómez, M. (2021). Determinantes fisiológicos y ambientales de la regulación del control de la ingesta de alimentos. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*, 4(1), 85–93. <https://doi.org/10.35454/rncm.v4n1.170>

- Frafjord, A., Skarshaug, R., Hammarström, C., Stankovic, B., Dorg, L. T., Aamodt, H., Woldbæk, P. R., Helland, Å., Brustugun, O. T., Øynebråten, I., & Corthay, A. (2020). Antibody combinations for optimized staining of macrophages in human lung tumours. *Scandinavian Journal of Immunology*, 92(1). <https://doi.org/10.1111/SJI.12889>
- Franchini, M., Monnais, E., Seboek, D., Radimerski, T., Zini, E., Kaufmann, K., Lutz, T., Reusch, C., Ackermann, M., Muller, B., & Linscheid, P. (2010). Insulin resistance and increased lipolysis in bone marrow derived adipocytes stimulated with agonists of toll-like receptors. *Hormone and Metabolic Research*, 42(10), 703–709. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1261872>
- Frias, J. P., Macaraeg, G. B., Ofrecio, J., Yu, J. G., Olefsky, J. M., & Kruszynska, Y. T. (2001). Decreased susceptibility to fatty acid-induced peripheral tissue insulin resistance in women. *Diabetes*, 50(6), 1344–1350. <https://doi.org/10.2337/DIABETES.50.6.1344>
- Friedman, J. (2014). Leptin at 20: An overview. *Journal of Endocrinology*, 223(1), T1–T8. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0405>
- Frühbeck, G. (2004). The adipose tissue as a source of vasoactive factors. *Current Medicinal Chemistry: Cardiovascular and Hematological Agents*, 2(3), 197–208. <https://doi.org/10.2174/1568016043356255>

- Funahashi, H., Yada, T., Suzuki, R., & Shioda, S. (2003). Distribution, function, and properties of leptin receptors in the brain. *International Review of Cytology*, 224, 1–27. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(05\)24001-9](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(05)24001-9)
- Gao, A., Su, J., Liu, R., Zhao, S., Li, W., Xu, X., Li, D., Shi, J., Gu, B., Zhang, J., Li, Q., Wang, X., Zhang, Y., Xu, Y., Lu, J., Ning, G., Hong, J., Bi, Y., Gu, W., ... Wang, W. (2021). Sexual dimorphism in glucose metabolism is shaped by androgen-driven gut microbiome. *Nature Communications* 2021 12:1, 12(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27187-7>
- Giordano, A., Murano, I., Mondini, E., Perugini, J., Smorlesi, A., Severi, I., Barazzoni, R., Scherer, P. E., & Cinti, S. (2013). Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *Journal of Lipid Research*, 54(9), 2423. <https://doi.org/10.1194/JLR.M038638>
- González Jiménez Emilio, E., Aguilar Cordero, M. J., García García, C. de J., García López, P. A., Álvarez Ferre, J., & Padilla López, C. A. (2010). Leptina: Un péptido con potencial terapéutico en sujetos obesos. *Endocrinología y Nutrición*, 57(7), 322–327. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2010.03.018>
- González-Jiménez, E., & Schmidt Río-Valle, J. (2012). Regulación de la ingesta alimentaria y del balance energético: factores y mecanismos

implicados. *Nutrición Hospitalaria*, 27(6), 1850–1859.  
<https://doi.org/10.3305/NH.2012.27.6.6099>

- Goyal, R. K., & Hirano, I. (1996). The Enteric Nervous System. *New England Journal of Medicine*, 334(17), 1106–1115.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM199604253341707>
- Green, E. D., Maffei, M., Braden, V. V., Proenca, R., DeSilva, U., Zhang, Y., Chua, S. C., Leibel, R. L., Weissenbach, J., & Friedman, J. M. (1995). The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Research*, 5(1), 5–12.  
<https://doi.org/10.1101/gr.5.1.5>
- Heek, M. Van, Compton, D. S., France, C. F., Tedesco, R. P., Fawzi, A. B., Graziano, M. P., Sybertz, E. J., Strader, C. D., & Davis, H. R. (1997). <J. Clin. Invest. 1997 Van Heek.pdf>. 385–390.
- Heinonen, S., Jokinen, R., Rissanen, A., & Pietiläinen, K. H. (2020). White adipose tissue mitochondrial metabolism in health and in obesity. *Obesity Reviews*, 21(2), 1–23.  
<https://doi.org/10.1111/obr.12958>
- Higa, T. S., Spinola, A. V, Fonseca-Alaniz, M. H., & Sant’anna Evangelista, F. (2014a). Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 6(1), 47–54.

- Higa, T. S., Spinola, A. V., Fonseca-Alaniz, M. H., & Sant'anna Evangelista, F. (2014b). Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 6(1), 47–54. [www.ijppp.org](http://www.ijppp.org)
- Hileman, S. M., Pierroz, D. D., Masuzaki, H., Bjørnk, C., El-Haschimi, K., Banks, W. A., & Flier, J. S. (2002). Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology*, 143(3), 775–783. <https://doi.org/10.1210/endo.143.3.8669>
- Holub, M. (2020). Neuroendocrine Regulations. *Immunology of Nude Mice*, VIII, 141–158. <https://doi.org/10.1201/9780429281792-10>
- Hong, J., Stubbins, R. E., Smith, R. R., Harvey, A. E., & Núñez, N. P. (2009). Differential susceptibility to obesity between male, female and ovariectomized female mice. *Nutrition Journal*, 8(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-8-11>
- Huh, J. Y., Park, Y. J., Ham, M., & Kim, J. B. (2014). Crosstalk between Adipocytes and Immune Cells in Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Dysregulation in Obesity. *Molecules and Cells*, 37(5), 365. <https://doi.org/10.14348/MOLCELLS.2014.0074>
- Izquierdo, A. G., Crujeiras, A. B., Casanueva, F. F., & Carreira, M. C. (2019). Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/NU11112704>

- Jéquier, E. (2002). Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 967, 379–388. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04293.x>
- Jo, J., Gavrilova, O., Pack, S., Jou, W., Mullen, S., Sumner, A. E., Cushman, S. W., & Perival, V. (2009). Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. *PLoS Computational Biology*, 5(3), 1000324. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1000324>
- Kaye, W. H., Frank, G. K., Bailer, U. F., & Henry, S. E. (2005). Neurobiology of anorexia nervosa: Clinical implications of alterations of the function of serotonin and other neuronal systems. *International Journal of Eating Disorders*, 37(SUPPL.), 15–19. <https://doi.org/10.1002/eat.20109>
- Kelesidis, T., Kelesidis, I., Chou, S., & Mantzoros, C. S. (2010). Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging Clinical Applications. *Annals of Internal Medicine*, 152(2), 93. <https://doi.org/10.1059/0003-4819-152-2-201001190-00008>
- Kenneth A. Philbrick, P., , Carmen P. Wong, P., PhD, A. J. B., 3, R. T., & Turner, PhD, c, and Urszula T. Iwaniec, P. (2017). , Carmen P. Wong, PhD (Issue January).
- Kim, D. W., Glendining, K. A., Grattan, D. R., & Jasoni, C. L. (2016). Maternal obesity in the mouse compromises the blood-brain barrier in

the arcuate nucleus of offspring. *Endocrinology*, 157(6), 2229–2242.  
<https://doi.org/10.1210/en.2016-1014>

- Kim, S., Jin, Y., Choi, Y., & Park, T. (2011). Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochemical Pharmacology*, 81(11), 1343–1351.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.03.012>
- Kusakabe, K., Inoue, A., Matsumoto, S., Kurata, M., Kitazawa, R., Watanabe, H., & Kunieda, T. (2018). Cerebral amyloid angiopathy-related inflammation with epilepsy mimicking a presentation of brain tumor: A case report and review of the literature. *International Journal of Surgery Case Reports*, 48, 95–100.  
<https://doi.org/10.1016/J.IJSCR.2018.05.016>
- Kusminski, C. M., Bickel, P. E., & Scherer, P. E. (2016). Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(9), 639–660.  
<https://doi.org/10.1038/nrd.2016.75>
- Lang, P., Hasselwander, S., Li, H., & Xia, N. (2019). Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55987-x>

- Leakey, M., & Walker, A. (1997). Early hominid fossils from Africa. *Scientific American*, 276(6), 74–79. <https://doi.org/10.1038/SCIENTIFICAMERICAN0697-74>
- Leibowitz, S. F. (1992). Neurochemical-neuroendocrine systems in the brain controlling macronutrient intake and metabolism. *Trends in Neurosciences*, 15(12), 491–497. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(92\)90101-D](https://doi.org/10.1016/0166-2236(92)90101-D)
- Lena, F. M., Jul, J. B., Vegger, J. B., Lodberg, A., Thomsen, J. S., Brüel, A., & Lebeck, J. (2020). Sex-Specific Effect of High-Fat Diet on Glycerol Metabolism in Murine Adipose Tissue and Liver. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 823. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2020.577650/BIBTEX>
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Molecular Sciences Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. <https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- Lor, L., Jaimes, L., Cabrera-Raine Jaimes, A., Cabrera-W W, A., Wrooman, W. W., Rومان, A. V, Vilches, A., Guzmán, C., Camacho, I., Ar, -----Ar, Arroyo, A. A., & Camacho-Arroyo, I. (2005). Abril-Junio. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 13(2), 67–74.
- Macotela, Y., Boucher, J., Tran, T. T., & Kahn, C. R. (2009). Sex and Depot Differences in Adipocyte Insulin Sensitivity and Glucose Metabolism. *Diabetes*, 58(4), 803. <https://doi.org/10.2337/DB08-1054>

- Mainardi, M., Pizzorusso, T., & Maffei, M. (2013). Environment, leptin sensitivity, and hypothalamic plasticity. *Neural Plasticity*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/438072>
- Mark, A. L. (2013). Selective leptin resistance revisited. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 305(6). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00180.2013>
- Martyn, J. A. J., Kaneki, M., & Yasuhara, S. (2008). Obesity-Induced Insulin Resistance and Hyperglycemia: Etiological Factors and Molecular Mechanisms. *Anesthesiology*, 109(1), 137. <https://doi.org/10.1097/ALN.0B013E3181799D45>
- Mazzone, A., & Farrugia, G. (2007). Evolving Concepts in the Cellular Control of Gastrointestinal Motility: Neurogastroenterology and Enteric Sciences. *Gastroenterology Clinics of North America*, 36(3), 499–513. <https://doi.org/10.1016/J.GTC.2007.07.003>
- McLaughlin, T., Craig, C., Liu, L. F., Perelman, D., Allister, C., Spielman, D., & Cushman, S. W. (2016). Adipose cell size and regional fat deposition as predictors of metabolic response to overfeeding in insulin-resistant and insulin-sensitive humans. *Diabetes*, 65(5), 1245–1254. <https://doi.org/10.2337/db15-1213>
- Menke, A., Casagrande, S., Geiss, L., & Cowie, C. C. (2015). Prevalence of and Trends in Diabetes Among Adults in the United States, 1988-2012. *JAMA*, 314(10), 1021–1029. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2015.10029>

- Minor, R. K., Chang, J. W., & Cabo, R. De. (2009). Molecular and Cellular Endocrinology Hungry for life : How the arcuate nucleus and neuropeptide Y may play a critical role in mediating the benefits of calorie restriction. *299*, 79–88.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.10.044>
- Morales Clavijo, M., & Carvajal Garcés, C. F. (2010). Gaceta Médica Boliviana. *Gaceta Médica Boliviana*, 33(1), 63–68.  
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1012-29662010000100013](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662010000100013)
- Moss, C., Dhillon, W. S., Frost, G., & Hickson, M. (2012). Gastrointestinal hormones: The regulation of appetite and the anorexia of ageing. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 25(1), 3–15.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2011.01211.x>
- Mouri, Mi., & Badireddy, M. (2022). Hyperglycemia. *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, 1314-1315.e1.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48253-0.00155-0>
- Münzberg, H., Flier, J. S., & Bjørbæk, C. (2004). Region-Specific Leptin Resistance within the Hypothalamus of Diet-Induced Obese Mice. *Endocrinology*, 145(11), 4880–4889.  
<https://doi.org/10.1210/EN.2004-0726>
- Myers, M. G., Heymsfield, S. B., Haft, C., Kahn, B. B., Laughlin, M., Leibel, R. L., Tschöp, M. H., & Yanovski, J. A. (2012). Challenges and

opportunities of defining clinical leptin resistance. *Cell Metabolism*, 15(2), 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.002>

- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2018). El aparato digestivo y su funcionamiento. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-digestivas/aparato-digestivo-funcionamiento>
- Naugler, W. E., Sakurai, T., Kim, S., Maeda, S., Kim, K. H., Elsharkawy, A. M., & Karin, M. (2007). Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science*, 317(5834), 121–124. <https://doi.org/10.1126/science.1140485>
- Navarro, X. (2002). Physiology of the autonomic nervous system. *Revista de Neurologia*, 35(6), 553–562. <https://doi.org/10.33588/rn.3506.2002013>
- Niswender, K. D., Morton, G. J., Stearns, W. H., Rhodes, C. J., Myers, M. G., & Schwartz, M. W. (2001). Intracellular signalling: Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*, 413(6858), 794–795. <https://doi.org/10.1038/35101657>
- Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.585887>

- Ogawa, Y., Masuzaki, H., Isse, N., Okazaki, T., Mori, K., Shigemoto, M., Satoh, N., Tamura, N., Hosoda, K., Yoshimasa, Y., Jingami, H., Kawada, T., & Nakao, K. (1995). Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rats. *Journal of Clinical Investigation*, 96(3), 1647–1652. <https://doi.org/10.1172/JCI118204>
- Orahá, J., Enriquez, R. F., Herzog, H., & Lee, N. J. (2022). ARTICLE Sex-specific changes in metabolism during the transition from chow to high-fat diet feeding are abolished in response to dieting in C57BL/6J mice. <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01174-4>
- Oswaldo Romero-Trujillo, J., Nadine Frank-Márquez, D., Cervantes-Bustamante, R., Francisco Cadena-León, J., Ericka Montijo-Barrios, D., Flora Zárate-Mondragón, D., Josefina Monserrat Cázares-Méndez, D., & Ramírez-Mayans, J. (2012). Acta Pediátrica de México Volumen 33, Núm. 4, julio-agosto. *Acta Pediatr Mex*, 33(4), 207–214.
- Ozata, M., Ozdemir, I. C., & Licinio, J. (2000). Erratum: Human leptin deficiency caused by a missense mutation: Multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of lept. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(1), 416.
- Palma, R., & Sanhueza, P. (2001). Sistema nervioso y sistema digestivo. *Rev. Méd. Clín. Condes*, 12(1), 40–48.

- Park, H. K., & Ahima, R. S. (2015). Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(1), 24. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2014.08.004>
- Pellegrinelli, V., Carobbio, S., & Vidal-Puig, A. (2016). Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia*, 59(6), 1075. <https://doi.org/10.1007/S00125-016-3933-4>
- Penín, M. (2008). RESPONSE AFTER A MIXED MEAL IN Respuesta secretora de PYY 1-36 y PYY 3-36 en sujetos normales tras la ingesta de una comida mixta. 55(8), 333–339. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(08\)72793-1](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(08)72793-1)
- Perakakis, N., Farr, O. M., & Mantzoros, C. S. (2021). Leptin in Leanness and Obesity: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(6), 745. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2020.11.069>
- Phillips, R. J., & Powley, T. L. (2007). Innervation of the gastrointestinal tract: Patterns of aging. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 136(1–2), 1–19. <https://doi.org/10.1016/J.AUTNEU.2007.04.005>
- Pinheiro, A. C., Aparecida, F., Rita, C. R., & Gonçalves, D. C. (2008). ENERGÉTICO INSULINEMIA , FOOD INTAKE AND ENERGY METABOLISM. 1, 1–16.

- Popko, K., Kucharska, A., & Wasik, M. (2010). Leptins Receptors. 15, 50–54.
- Pública, R. P. de S. (2001). La obesidad: causa importante de morbilidad. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 10(2), 116–117. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892001000800010>
- Reilly, S. M., & Saltiel, A. R. (2017). Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(11), 633–643. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.90>
- Rentsch, J., Levens, N., & Chiesi, M. (1995). Recombinant ob-gene product reduces food intake in fasted mice. In *Biochemical and Biophysical Research Communications* (Vol. 214, Issue 1, pp. 131–136). <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2266>
- Residente, E., Núñez-hernández, V. J., Vargas-cerero, E. A., Sánchez-madrigal, J., Jaramillo, E., Martínez-navarro, J., & Nava, A. (2014). Nociones sobre fisiología del apetito. *Apetito y hambre. El Residente*, 9(1), 15–19.
- Reyes. (2018). La anorexia provoca neuroinflamación, clave para entender este trastorno de la alimentación. [https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018\\_170.html](https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018_170.html)
- Roa, I., & Meruane, M. (2012). Desarrollo del Aparato Digestivo. *International Journal of Morphology*, 30(4), 1285–1294. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022012000400006>

- Robertson, S. A., Leininger, G. M., & Myers, M. G. (2008). Molecular and neural mediators of leptin action. *Physiology and Behavior*, 94(5), 637–642. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.04.005>
- Rolls, E. T. (2006). Brain mechanisms underlying flavour and appetite. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1471), 1123. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2006.1852>
- Romero, M. D. M., Roy, S., Pouillot, K., Feito, M., Esteve, M., Grasa, M. D. M., Fernández-López, J. A., Alemany, M., & Remesar, X. (2014). Treatment of Rats with a Self-Selected Hyperlipidic Diet, Increases the Lipid Content of the Main Adipose Tissue Sites in a Proportion Similar to That of the Lipids in the Rest of Organs and Tissues. *PLoS ONE*, 9(3), 90995. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0090995>
- Rothwell, N. J., Saville, M. E., & Stock, M. J. (1982). Effects of feeding a “cafeteria” diet on energy balance and diet induced thermogenesis in four strains of rat. *Journal of Nutrition*, 112(8), 1515–1524. <https://doi.org/10.1093/jn/112.8.1515>
- Rutkowski, J. M., Stern, J. H., & Scherer, P. E. (2015). Beyond the cell: The cell biology of fat expansion. *The Journal of Cell Biology*, 208(5), 501. <https://doi.org/10.1083/JCB.201409063>
- Sahu, A., Kalra, S. P., Crowley, W. R., & Kalra, P. S. (1988). Evidence that NPY-containing neurons in the brainstem project into selected hypothalamic nuclei: implication in feeding behavior. *Brain Research*, 457(2), 376–378. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90710-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90710-X)

- Santos, J. L. (2009). y el peso corporal. 1225–1234.
- Schwartz, M. W., Peskind, E., Raskind, M., Boyko, E. J., & Porte, D. (1996). Cerebrospinal fluid leptin levels: Relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nature Medicine*, 2(5), 589–593. <https://doi.org/10.1038/nm0596-589>
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661–671. <https://doi.org/10.1038/35007534>
- Shi, Z., Pelletier, N. E., Wong, J., Li, B., Sdrulla, A. D., Madden, C. J., Marks, D. L., & Brooks, V. L. (2020). Leptin increases sympathetic nerve activity via induction of its own receptor in the paraventricular nucleus. *ELife*, 9, 1–34. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.55357>
- Simopoulos, A. P. (2010). Nutrigenetics/nutrigenomics. *Annual Review of Public Health*, 31, 53–68. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.031809.130844>
- Simpson, K., Parker, J., Plumer, J., & Bloom, S. (2012). CCK, PYY and PP: The control of energy balance. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 209, 209–230. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3_9)
- Sohn, J. (2015). Network of hypothalamic neurons that control appetite. *48*(4), 229–233.
- Stunkard, AJ, S. (2009). 1986 Stunkard - An adoption study of human obesity.

- Sun, K., Kusminski, C. M., & Scherer, P. E. (2011). Adipose tissue remodeling and obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2094. <https://doi.org/10.1172/JCI45887>
- Suzuki, Y., Nakahara, K., Maruyama, K., Okame, R., Ensho, T., Inoue, Y., & Murakami, N. (2014). Changes in mRNA expression of arcuate nucleus appetite-regulating peptides during lactation in rats. *Journal of Molecular Endocrinology*, 52(2), 97. <https://doi.org/10.1530/JME-13-0015>
- Tataranni, P. A., Larson, D. E., Snitker, S., Young, J. B., Flatt, J. P., & Ravussin, E. (1996). Effects of glucocorticoids on energy metabolism and food intake in humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 271(2), 34-2. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1996.271.2.e317>
- Teaford, M. F., & Ungar, P. S. (2000). Diet and the evolution of the earliest human ancestors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13506–13511. <https://doi.org/10.1073/PNAS.260368897>
- Toro, J. (2005). Anatomía del sistema digestivo.
- Tramunt, B., Smati, S., Grandgeorge, N., Lenfant, F., Arnal, J. F., Montagner, A., & Gourdy, P. (2020). Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*, 63(3), 453–461. <https://doi.org/10.1007/S00125-019-05040-3/FIGURES/2>

- Valle, N. C. A., & Covarrubias-esquer, J. D. (2019). Trastornos de la conducta alimentaria. 86(2), 80–86.
- Vásquez-Machado, M., & Ulate-Montero, G. (2010). Revisión Regulación del peso corporal y del apetito (Body Weight and Appetite Regulation).
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Tomasi, D., & Baler, R. (2011). Food and Drug Reward: Overlapping Circuits in Human Obesity and Addiction Inhibitory control. <https://doi.org/10.1007/7854>
- Ye, J., Gao, Z., Yin, J., & He, Q. (2007). Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 293(4). <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00435.2007>
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. In *Nature* (Vol. 372, Issue 6505, pp. 425–432). <https://doi.org/10.1038/372425a0>
- Cafeteria diet-fed mice is a pertinent model of obesity-induced organ damage: a potential role of inflammation - PubMed. (2015, julio). PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25966976/>
- Cafeteria-diet induced obesity results in impaired cognitive functioning in a rodent model. (2019, marzo). PubMed Central (PMC). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6441847>

## **Nomenclaturas**

-

