



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**EFFECTO DE LA GLICINA EN LA EXPRESIÓN
DE LA LIPASA SENSIBLE A HORMONAS Y
LIPASA LIPOPROTEICA EN EL ADIPOCITO DE
RATA MACHO CON SÍNDROME METABÓLICO**

Licenciatura en Nutrición

P R E S E N T A

P.L.N. Yazmín Reyes López
No. cuenta: 222620

Bajo la Dirección de:
Dr. Israel Pérez Torres
Investigador en Ciencias Médicas C
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"



Pachuca de Soto, Hgo., Octubre 2014

A Dios, tú que eres amor y peleas mis batallas, gracias Señor porque en mi vida has sido abundante en las bendiciones, por poner siempre en mi camino a las personas correctas (o incorrectas) que tanto han dado a mi vida, alegrías, experiencias, conocimiento y madurez. Porque no has mirado mis errores que me han llevado a caer, más bien, de cada uno de ellos me has levantado en Jesucristo, siempre más fuerte. Gracias Padre por las puertas que abriste y las que cerraste para que pudiese lograr este trabajo, porque en mis fuerzas no hubiese sido posible, sin embargo, todo lo puedo en Cristo que me fortalece.

AGRADECIMIENTOS

A mis **papás**, gracias por su apoyo incondicional. A mi mamá; Gracias por tu fortaleza y tu amor que siempre nos transmites, Dios ve la bondad de tu corazón. A mi papá; por todo tu esfuerzo y trabajo, porque yo sé que no ha sido fácil, pero siempre has perseverado, y un día veras que no ha sido en balde, gracias. A mi hermano, Clemente, gracias porque aunque tus palabras son pocas, en hechos siempre estás conmigo.

Dr. Israel, muchas gracias por todo, por darme la oportunidad de trabajar y aprender de usted, porque no solo me enseñó en el área de investigación, sino sus enseñanzas más importantes son las que tome para mi vida y sobre todo, por fortalecer mi fe y amor a Dios. Cuenta con mi aprecio y mi respeto profundo, gracias. Que Dios lo siga bendiciendo mucho.

A **Liliana**, mi amiga y hermana, gracias Lili por todo y tanto, porque siempre estas. Tú siempre has confiado en mí, me motivas a más y me ayudas a crecer en fe. El hombre que tiene amigos ha de mostrarse amigo; Y amigo hay más unido que un hermano. Prov.18:24

Ivan, mi querido Doctor, muchas gracias por presentarme a la lipólisis y lipogénesis. Has sido de mucha bendición en mi vida, me enseñaste a enamorarme de la bioquímica y me fortaleces tanto en nuestro Señor, sabes que no tengo manera de agradecer tu amistad, tus regaños, tus enseñanzas. Dios te bendice tanto. El corazón del entendido adquiere sabiduría; Y el oído de los sabios busca la ciencia. Prov.18:15.

Anel, fue un gusto conocerte, vivir y trabajar contigo, gracias por ser mi única compañía en esta ciudad tan ajetreada y por esas cenas, vuelve pronto. Éxito siempre.

Ale, Marco, Claudia; muchas gracias por su amistad y por hacer de mi estancia en Cardiología un muy buen tiempo, la pase muy bien con ustedes.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT.....	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 SÍNDROME METABÓLICO	3
3.2 OBESIDAD	4
3.2.1 ETIOLOGÍA.....	5
3.3 COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO	5
3.3.1 FISIOLÓGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO BLANCO	7
3.3.1.1 LIPASA SENSIBLE A HORMONAS.....	8
3.3.1.2 LIPASA LIPOPROTEICA	9
3.3.1.3 LIPASA SENSIBLE A HORMONAS Y LIPASA LIPOPROTEICA EN LA OBESIDAD Y RESISTENCIA A LA INSULINA.....	10
3.3.2 HIPERTROFIA E HIPERPLASIA.....	11
3.4 ÁCIDOS GRASOS LIBRES.....	11
3.5 GLICINA.....	12
3.5.1 RECEPTOR DE GLICINA.....	13
3.6 ANTECEDENTES EXPERIMENTALES DEL MODELO CON SÍNDROME METABÓLICO	14
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	17
5. JUSTIFICACIÓN.....	18
6. HIPÓTESIS	19

7. OBJETIVO GENERAL.....	20
7.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	20
8. MATERIAL Y MÉTODOS	21
8.1 MEDICIÓN DE PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA	21
8.2 SACRIFICIO.....	21
8.3 HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO	21
8.4 EXTRACCIÓN DE ADIPOCITOS	22
8.5 MEDICIONES EN SUERO	23
8.6 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSL, LPL Y GlyRβ POR INMUNOBLOTTING	23
8.7 EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLÍPIDOS, TOTALES Y LIBRES.....	24
8.7.1 ÁCIDOS GRASOS TOTALES	24
8.7.2 ÁCIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLÍPIDOS.....	25
8.7.3 ÁCIDOS GRASOS LIBRES.....	25
8.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
9. RESULTADOS.....	27
10. DISCUSIÓN	36
11. CONCLUSIÓN	43
12. PERSPECTIVAS.....	43
13. REFERENCIAS.....	44

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

FIGURA 1: COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO	5
FIGURA 2: ACCIÓN DE LA HSL EN LA LIPÓLISIS	9
FIGURA 3: CAPTACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POR LA LPL.....	10
FIGURA 4: FUNCIÓN DE LA GLICINA POR UNIÓN AL GLYR.....	13
FIGURA 5: EXPRESIÓN DE LPL.....	34
FIGURA 6: EXPRESIÓN DE HSL	34
FIGURA 7: FOTOMICROGRAFÍA DE TEJIDO ADIPOSO BLANCO VISCERAL	35
TABLA 1: CARACTERISTICAS GENERALES Y PARÁMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES	29
TABLA 2: PORCENTAJE DE LOS ÁCIDOS GRASOS TOTALES EN EL HOMOGENEIZADO DE ADIPOCITO.....	30
TABLA 3: PORCENTAJE DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLÍPIDOS EN EL HOMOGENEIZADO DE ADIPOCITO	31
TABLA 4: PORCENTAJE DE LOS ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS EN EL HOMOGENEIZADO DE ADIPOCITO	32

TABLA DE ABREVIACIONES

Palabra	Abreviación
Ácidos grasos	AG
Ácidos grasos monoinsaturados	AGM
Ácidos grasos libres	AGL
Ácidos grasos poliinsaturados	AGP
Ácidos grasos saturados	AGS
Control	C
Colesterol de alta densidad	HDL
Diacilglicérido	DG
Estricnina	E
Encuesta nacional de salud y nutrición	ENSANUT
Factor de necrosis tumoral	TNF
Glicina	G
Lipasa de monoacilgliceridos	MGL
Lipasa de triacilgliceridos del adipocito	ATGL
Lipasa lipoproteica	LPL
Lipasa sensible a hormonas	HSL
Lipoproteinas de baja densidad	LDL
Lipoproteinas de muy baja densidad	VLDL
Monoacilglicérido	MG
Norma oficial mexicana	NOM
Organización mundial de la salud	OMS
Panel de tratamiento para adultos III	ATP-III
Presión arterial sistólica	PAS
Receptor de glicina	GLYR
Síndrome metabólico	SM
Triglicéridos	TG

1. RESUMEN

Introducción. El síndrome metabólico (SM) es la asociación de varias alteraciones patológicas como hipertensión arterial, resistencia a la insulina, dislipidemias y obesidad abdominal; esta última se caracteriza por un exceso de tejido adiposo. Se ha descrito que el aminoácido glicina (G) disminuye la hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hipertensión. Objetivo. Evaluar el efecto de la glicina sobre las enzimas involucradas en la lipólisis (Lipasa Sensible a Hormonas HSL) y lipogénesis (Lipasa Lipoproteica LPL), así como la hipertrofia del adipocito en un modelo en rata con SM. Material y métodos. 40 ratas Wistar macho fueron divididas en 4 grupos, grupo control (C), grupo SM, SM + G y SM + G y estricnina (E). El SM se indujo administrando 30% de sacarosa al agua de beber, al grupo SM + G se le administró la solución de sacarosa más 1% de glicina, al grupo SM + GE se le administró el mismo tratamiento que al grupo SM + G más 10 μ M de E, hasta completar 16 semanas. Al finalizar el tratamiento los animales se sacrificaron y el tejido adiposo se disecó, se aislaron los adipocitos, donde se determinó la expresión de HSL, LPL y GlyR. Se cuantificaron los ácidos grasos (AG) de los fosfolípidos, totales y libres. Mediante histología se determinó la hipertrofia. Resultados. El tratamiento con glicina en el SM disminuyó: El peso corporal, tejido adiposo intra-abdominal, presión arterial, triglicéridos, insulina, índice HOMA y leptina. Además el perfil de los AG totales, libres y de los fosfolípidos se modificó y disminuyó la hipertrofia del adipocito, sin modificar la expresión de la LPL y HSL. No se identificó el GlyR. Conclusión. El tratamiento con glicina actúa sobre el metabolismo lipídico en el adipocito de manera indirecta, revirtiendo las variables alteradas por la dieta alta en sacarosa.

Palabras clave: Síndrome metabólico, glicina, adipocito, LPL, HSL.

2. ABSTRACT

Introduction. The metabolic syndrome (MS) is the association of several pathological disorders such as hypertension, insulin resistance, dyslipidemia and abdominal obesity; the latter is characterized by an excess of adipose tissue. It has been reported that the amino acid glycine (G) lowers hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and hypertension. **Objective.** To evaluate the effect of glycine on the enzymes involved in lipolysis (hormone-sensitive lipase HSL) and lipogenesis (lipoprotein lipase LPL) and adipocyte hypertrophy in a rat model with sm. **Material and methods.** 40 male wistar rats were divided into 4 groups: control group (C), MS group, MS + G and MS + G and strychnine (E). The MS was induced by administering 30% sucrose in the drinking water, the MS + G group was given the sucrose solution plus 1% glycine, MS + GE group was given the same treatment as the group MS + G more 10 mM E to complete 16 weeks. After treatment the animals were sacrificed and adipose tissue was dissected, adipocytes were isolated, where the expression of HSL, and LPL GlyR was determined. Fatty acids (FA) of phospholipids, total and free quantified. Hypertrophy by histology was determined. **Results.** Therapy decreased glycine MS: the body weight, intra-abdominal adipose tissue, blood pressure, triglycerides, insulin, HOMA-IR index and leptin. Also the profile of total, free and modified phospholipids FA and adipocyte hypertrophy decreased without changing the expression of LPL and HSL. The GlyR were identified. **Conclusion.** Treatment with glycine acts on lipid metabolism in adipocytes indirectly, reversing the variables affected by high sucrose diet.

Keywords: Metabolic syndrome, glycine, adipocytes, LPL, HSL

3. MARCO TEÓRICO

3.1 SÍNDROME METABÓLICO

La importancia del síndrome metabólico (SM) radica en su elevada y creciente prevalencia en los países desarrollados, convirtiéndose en uno de los problemas de salud pública del siglo XXI. El SM es influenciado en gran parte por factores ambientales (como una dieta inadecuada rica en hidratos de carbono y/o grasas saturadas, además de inactividad física), que asociados a la predisposición genética ocasionan trastornos a corto y a largo plazo en órganos y sistemas lo que producirá una disminución de la sobrevivencia de los pacientes (Locatelli F. y cols., 2006).

El SM de acuerdo al III Panel de Tratamiento para Adultos del Programa Nacional de Educación en Colesterol (ATP-III por sus siglas en inglés) se asocia a diferentes patologías, tales como obesidad (circunferencia de cintura ≥ 102 cm en hombres y ≥ 88 cm en mujeres), hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dL), niveles bajos de colesterol HDL (< 40 /mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres), presión arterial elevada (presión arterial sistólica ≥ 130 mmHg y/o presión arterial diastólica ≥ 85 mmHg y/o tratamiento farmacológico), y diabetes o glucosa en ayuno elevada (> 100 mg/dL y/o tratamiento farmacológico), las cuales pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo (Anderson S. y cols., 1986; Baños G. y cols., 2005). De acuerdo a este criterio se requieren tres o más de estas patologías para diagnosticar al SM (Lorenzo C. y cols., 2007; García-García E. y cols., 2008).

En México, la incidencia de factores de riesgo para desarrollar el SM va en aumento, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de 2012, el sobrepeso y la obesidad son problemas que afectan a cerca del 73% de los hombres y 69.4% para mujeres de entre 30 y 60 años. Por otro lado, la prevalencia de hipertensión arterial en la población de 20 años o más es de 33.3%, mientras que la prevalencia de hipercolesterolemia en adultos es de 8.5%. La encuesta muestra que el sobrepeso y la obesidad han seguido aumentando en

todas las edades, regiones y grupos socioeconómicos respecto a los resultados en años anteriores (ENSANUT 2012; Rojas R. y cols., 2010), con lo que se colocan entre los problemas de salud pública más importantes.

En las distintas definiciones del síndrome metabólico dadas por el ATP-III, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Federación Internacional de Diabetes (IDF), el parámetro más constante presente en el SM como criterio diagnóstico es la obesidad (García-García E. y cols., 2008).

3.2 OBESIDAD

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-008-SSA3-2010, para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad), la obesidad se define como una enfermedad caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo, la cual se determina en personas adultas cuando existe un IMC igual o mayor a 30 kg/m², mientras que el sobrepeso es el estado caracterizado por la existencia de un IMC igual o mayor a 25 kg/m² y menor a 29.9 kg/m² (NOM), asimismo la OMS define al sobrepeso y la obesidad como acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud.

Desde 1980, la obesidad se ha incrementado en el mundo, en el 2008, 1400 millones de adultos (de 20 y más años) tenían sobrepeso, dentro de este grupo, más de 200 millones de hombres y cerca de 300 millones de mujeres tenían obesidad.

En México, estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del sobrepeso y la obesidad, han aumentado de manera progresiva durante los últimos 60 años y de modo alarmante en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de 10 a 20% en la infancia, 30 a 40% en la adolescencia y 60 a 70% en los adultos (NOM).

3.2.1 ETIOLOGÍA

No existe razón única que explique la pandemia de la obesidad, esta es compleja y está influenciada por la dieta, etapa de desarrollo, edad, actividad física, carga genética, ambiente, entre otras (Xie B. y cols., 2012). Sin embargo, la causa más común de la obesidad es el desequilibrio crónico positivo entre la ingesta y el gasto energético.

3.3 COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO

Existen dos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo pardo o marrón (Moreno MJ. y cols., 2002). El tejido adiposo blanco está constituido por adipocitos maduros y la fracción estroma vascular (Figura 1) (Moreno M. J. y cols., 2002; Hocking S. L. y cols., 2010; Mirza M. S. y cols., 2011; Suganami T. y cols., 2012).

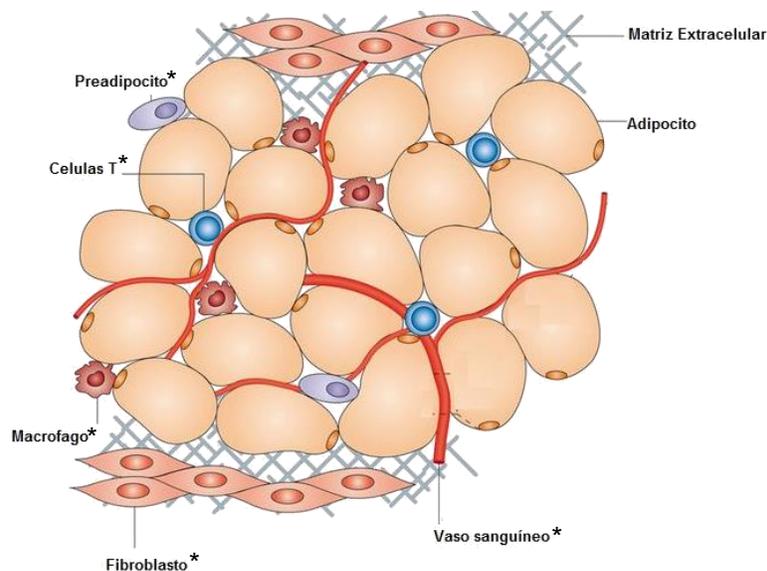


Figura 1. Composición del tejido adiposo, *= Componente de la fracción estroma vascular. Editado de Noriyuki O. y cols., 2011

Los adipocitos están adaptados para almacenar y liberar triglicéridos (TG), reunidos en una gota citoplasmática única. El núcleo queda ubicado a la periferia y el tamaño varía entre 10 a 100 μm de acuerdo con el estado nutricional, pues modifican su diámetro y consecuentemente el volumen, según almacenen más o menos TG. Estos cambios son posibles debido a la elasticidad de la membrana plasmática, que les permite aumentar notablemente su volumen antes de alcanzar el "tamaño crítico", a partir del cual se pone en marcha el mecanismo de división adipocitaria. Cada adipocito subcutáneo almacena hasta 1.2 μg de TG, aunque en los individuos de peso normal su contenido es de 0.4 a 0.6 μg por célula. Considerando que el número promedio de adipocitos es de 30 a 60 $\times 10^9$ (Moreno M. J. y cols., 2002) y que cada uno contiene 0.5 μg de TG, el depósito graso total puede estimarse de la siguiente manera: $(30-60 \times 10^9)(0.5)=15 \text{ kg}$, que equivalen a 135,000 kcal. Cada kilogramo de grasa provee aproximadamente 9,000 kcal, mientras que cada kg de tejido adiposo aproximadamente 7,500 kcal. En los sujetos delgados, el tejido adiposo contiene 18% de agua, 80% de TG y 2% de proteínas, mientras que en los obesos el contenido graso aumenta y disminuye proporcionalmente el contenido acuoso (Leibel R. y cols., 1990).

La fracción estroma vascular es uno de los componentes del tejido adiposo blanco potencialmente adipogénico (Brent E. W., 2004) y está integrada por pre-adipocitos, células sanguíneas, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos, que pueden contribuir a la función del tejido adiposo. Los pre-adipocitos son células cuya función es diferenciarse en adipocitos, esta diferenciación no sucede de manera espontánea, sino bajo estímulos adipogénicos exógenos, siendo el receptor activado por proliferador de peroxisomas- γ (PPAR- γ), el principal regulador adipogénico (Christodoulides C. y cols., 2009). En condiciones de exceso o inflamación, los macrófagos se infiltran en el tejido adiposo, donde tienden a agregarse, formando células gigantes, características de trastornos inflamatorios crónicos, lo que sugiere que el tejido adiposo es sitio activo de inflamación (Brent E. W., 2004).

3.3.1 FISIOLÓGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO BLANCO

El tejido adiposo blanco realiza tres funciones principales: estructural (como aislante térmico y protector de órganos), metabólica (lipogénesis y lipólisis) y endocrina (responde a hormonas y secreta hormonas, además de otras sustancias) (Pérez M. 2007; Marcano Y. y cols., 2006).

Las funciones metabólicas del tejido adiposo blanco son dos: lipogénesis definida como la síntesis de ácidos grasos (AG) con la subsecuente síntesis de TG y lipólisis definida como la hidrólisis de TG (Zechner R. y cols., 2012). La lipogénesis se lleva a cabo en situaciones en que la ingesta supera al gasto energético y dicho exceso es almacenado en el adipocito en forma de TG. Durante los momentos de privación de energía la lipólisis aumenta, generando mayor liberación de AG y glicerol. Los AG liberados a la circulación pueden ser utilizados por otros órganos como sustrato energético (Duncan R. E. y cols., 2007). Las enzimas clave en los procesos de lipogénesis y lipólisis en el adipocito son; la lipasa lipoproteica (LPL) y la lipasa sensible a hormonas (HSL), respectivamente (Kersten S.,2001).

Además, los adipocitos secretan una variedad de moléculas biológicamente activas, denominadas adipocinas. Por mencionar algunas esta la adiponectina, la leptina, la resistina, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6) (Singla P. y cols., 2012; Recasens M. y cols., 2004; Rocha V. Z. y cols., 2011; Stradecki H. M. y Jaworski D. M., 2011; Tang J. y cols., 2012).

La leptina es una hormona mediadora del balance de energía, que transmite al cerebro información sobre el agotamiento o la acumulación de depósitos de grasa y desempeña un papel importante en el control de la homeostasis de la energía, sin embargo, no queda claro si interviene en el proceso inflamatorio causado por la obesidad abdominal. Se ha descrito que las concentraciones séricas de leptina aumentan en proporción a la adiposidad corporal, por lo tanto, los individuos con obesidad con SM generalmente tienen mayores concentraciones circulantes de

leptina, sin embargo, son resistentes a los efectos hipotalámicos de esta hormona, por lo que, las vías catabólicas diseñadas para reducir el apetito y aumentar el gasto energético no se activan y se mantiene el exceso de masa grasa (Brent E. W., 2004).

El TNF- α y la IL-6 son citocinas pro-inflamatorias; El TNF- α antagoniza la señalización de la insulina y se activa como respuesta inflamatoria en la obesidad mientras que la IL-6 regula la homeostasis energética y la inflamación. Estudios de expresión génica en células aisladas a partir de tejido adiposo revelaron que los macrófagos producen casi todo el TNF- α , mientras que los adipocitos maduros secretan la mayor parte de IL-6, lo que sugiere que la invasión de macrófagos en la grasa y la inflamación relacionada precede al desarrollo de resistencia a la insulina (Brent E. W., 2004; Weisberg S. P. y cols., 2013).

3.3.1.1 LIPASA SENSIBLE A HORMONAS

De manera fisiológica la lipólisis (Figura 2) es llevada a cabo por la hidrólisis inicial de los TG por la unión de la lipasa de triglicéridos del adipocito (ATGL) con la proteína desnutrina, liberando un ácido graso y una molécula de diacilglicérido, la cual por acción de la HSL es hidrolizada en monoacilglicérido mediante la liberación de un ácido graso, y finalmente la lipasa de monoacilglicéridos (MG) realiza la última hidrólisis, dando como resultado un ácido graso y una molécula de glicerol, todo esto es liberado a la circulación para ser utilizado como sustrato energético. La enzima más importante en el proceso de lipólisis es la HSL, ya que en estudios en animales genéticamente modificados con ausencia de las otras lipasas, muestran que la lipólisis puede llevarse a cabo.

La HSL se encuentra regulada por diferentes hormonas, como adrenalina, norepinefrina y glucagón, cuya señalización es a través de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) que activa a la proteína cinasa A (PKA) (Duncan R. E. y cols., 2007), que fosforila a la perilipina, proteína encargada de evitar la hidrólisis de TG

en el depósito graso del adipocito (John T. y cols., 2004), permitiendo la translocación de la HSL del citosol al depósito de TG para iniciar la hidrólisis (Duncan R. E. y cols., 2007; John T. y cols., 2004).

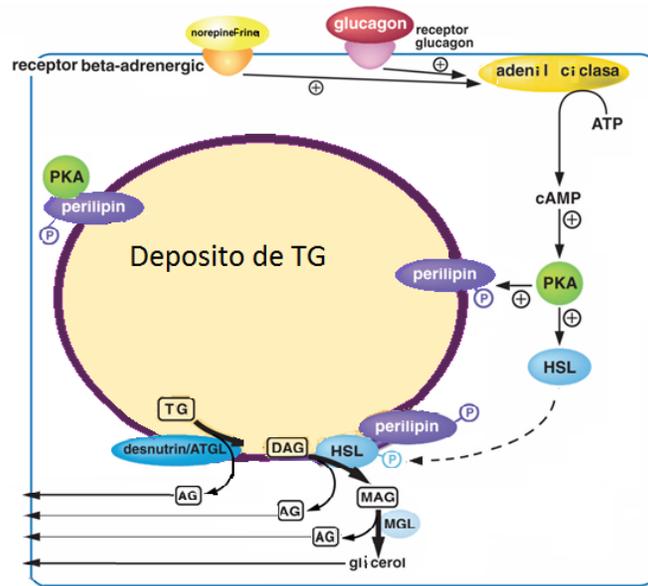


Figura 2. Acción de la HSL en la lipólisis. Editado de Duncan R. E. y cols., 2007

3.3.1.2 LIPASA LIPOPROTEICA

La LPL es una enzima presente en el adipocito y en otros tejidos como músculo e hígado, que hidroliza los TG de los quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Wai Y. A. y cols., 2009; Hong W. y cols., 2009) presentes en la circulación, generando AG libres y glicerol, que son re-esterificados y almacenados en el adipocito (Figura 3).

La LPL tiene un papel central en el metabolismo de las lipoproteínas en general, la interacción sucesiva de VLDL con la LPL genera lipoproteínas de baja densidad (LDL), implicadas en el transporte de colesterol y desempeña un papel importante en la maduración de los precursores de lipoproteína de alta densidad (HDL), implicados en el transporte reverso del colesterol.

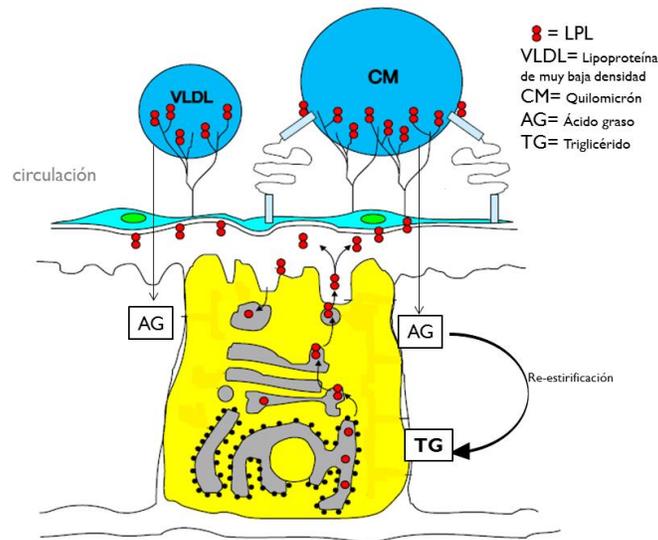


Figura 3. Captación de ácidos grasos por LPL. Editado de Hong Wang y Robert H. Eckel, 2009

3.3.1.3 HSL Y LPL EN LA OBESIDAD Y RESISTENCIA A LA INSULINA

Las alteraciones en la expresión y/o actividad de la LPL dan lugar a consecuencias metabólicas importantes, como hipertrigliceridemia y obesidad (Wai Y. A. y cols., 2009), ambos presentes en el SM. Durante el desarrollo de la obesidad, el balance energético positivo favorece el almacenamiento de lípidos, sin embargo, al alcanzar el umbral de almacenamiento, la hipertrofia ocasiona disfunción del adipocito, el cual pierde su capacidad de almacenamiento, que se asocia con hipertrigliceridemia, almacenamiento ectópico de TG y resistencia a la insulina (Ranganathan G. y cols., 2006; Bulló M. y cols., 2002; Ramis J. M. y cols., 2005; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014).

Mientras que alteraciones en la HSL se asocian con obesidad y resistencia a la insulina (Duncan R. E. y cols., 2007; Mandeep P. G. y cols., 2010; Zechner R. y cols., 2012), puesto que la insulina tiene efecto antilipolítico, durante la resistencia la insulina este efecto se atenúa, generando aumento en la liberación de ácidos

grasos (Duncan R. E. y cols., 2007; Mandeep P. G. y cols., 2010; Zechner R. y cols., 2012).

3.3.2 HIPERTROFIA E HIPERPLASIA

El tejido adiposo puede responder con rapidez y de forma dinámica al exceso de nutrimentos a través de la hipertrofia e hiperplasia del adipocito. La hipertrofia del adipocito, se define como el incremento de lípidos intracelulares, que llevan al aumento en el tamaño de adipocito, característica principal de la obesidad hipertrófica, donde la cantidad de TG está aumentada en los adipocitos sin aumento en el número de células (Emanuela F. y cols., 2012; De Ferranti S. y Mozaffarian D., 2008). Mientras que la hiperplasia es el incremento en la cantidad de adipocitos (Emanuela F. y cols., 2012). La obesidad hiperplásica corresponde a una forma clínica de larga duración en la que el número de adipocitos es mayor, así como la cantidad de grasa que contienen. El número de adipocitos aumenta principalmente durante la infancia mayor y la pubertad, pero pueden incrementar, tanto en número como en tamaño, de acuerdo al balance energético a lo largo de la vida. El tamaño de los adipocitos puede ser reducido después de una restricción calórica, pero no hay evidencias de que puedan existir pérdidas completas de adipocitos formados (Marcano Y. y cols., 2006).

3.4 ÁCIDOS GRASOS LIBRES

Cuando la ingesta calórica sobrepasa la capacidad de almacenamiento de los adipocitos, conduce a aumento de VLDL y ácidos grasos libres con subsecuente deposición ectópica de lípidos en prácticamente todos los tejidos como el músculo, el hígado y los islotes pancreáticos, este almacenamiento ectópico está implicado en la patogénesis de la diabetes, mientras que la deposición de lípidos en las células subendoteliales contribuye a la hipertensión. La acumulación de lípidos en los hepatocitos genera esteatosis y es agente causal en la progresión de la enfermedad hepática no alcohólica, mientras que en el músculo esquelético,

la deposición ectópica de lípidos se asocia con la resistencia a la insulina (O'Rourke R., 2009; Tripathi Y. B. y Pandey V., 2012).

3.5 GLICINA

Por otra parte, el aminoácido no esencial glicina, es necesario por algunas vías metabólicas, entre ellas la síntesis de proteínas estructurales como la colágena y la elastina (Dong Z. y cols., 2001). El consumo de una dieta rica en glicina ha mostrado efecto inhibitorio en la glicosilación no enzimática de la hemoglobina (El Hafidi M. y cols., 2004; Nimal R. y cols., 1997). Se ha descrito que la gelatina, que contiene doce veces más glicina que la caseína, tiene efecto protector contra la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en ratas sometidas a dieta rica en grasa. Asimismo, se ha descrito que en túbulos proximales aislados de riñón de rata, la glicina reduce el daño por hipoxia (Tijsen S. y cols., 1997). En el riñón aislado de rata con deterioro de la función renal, el tratamiento con glicina disminuye esta alteración (Yin M. y cols., 2002).

La glicina además, puede inhibir la activación de fosfolipasa A₂ causada por hipoxia en las células túbulo renales, lo que disminuye la concentración de ácido araquidónico y protege contra el daño celular por inflamación. Esto sugiere que la glicina puede evitar el daño tubular, minimizando los efectos crónicos y agudos de isquemia/reperfusión en el riñón (Zhong Z. y cols., 2007).

Añadido a lo anterior, El Hafidi y cols. (2004), mostraron que el tratamiento al 1 % de glicina en el agua de bebida en ratas con SM por un mes, favorece la disminución significativa de la hipertrofia del adipocito 48%.

Por otra parte, investigaciones recientes han mostrado el efecto antiinflamatorio de la glicina en diversos modelos experimentales, pero el mecanismo por el cual la glicina tiene este efecto no está bien esclarecido; se ha propuesto que la glicina puede suprimir la cascada del Ca⁺² como segundo mensajero, inhibir la activación

de las células inflamatorias y disminuir los radicales libres, mediante la unión a su receptor denominado GlyR (Pan. C. y cols., 2005), mientras que Pérez-Torres I. y cols. (2011), describieron que, en el riñón aislado de rata con SM, el tratamiento con glicina disminuyó la prostaglandina E2 y tromboxano A2, metabolitos de las ciclooxigenasa-2 y tromboxano sintasa respectivamente, lo que sugiere que la glicina puede modular la actividad de estas enzimas, presentado efecto antiinflamatorio.

3.5.1 RECEPTOR DE GLICINA

El GlyR es un canal pentamérico que consta de tres subunidades α y dos β (Pan. C. y cols., 2005), se ha descrito que la activación del GlyR por la glicina bloquea los canales de Ca^{+2} , por la inhibición del tiempo de apertura, y activa el canal de Cl^- ocasionando afluencia de dicho anión por el citosol de la célula originando hiperpolarización de la membrana celular, (Qu. W. y cols., 2002) (Figura 4).

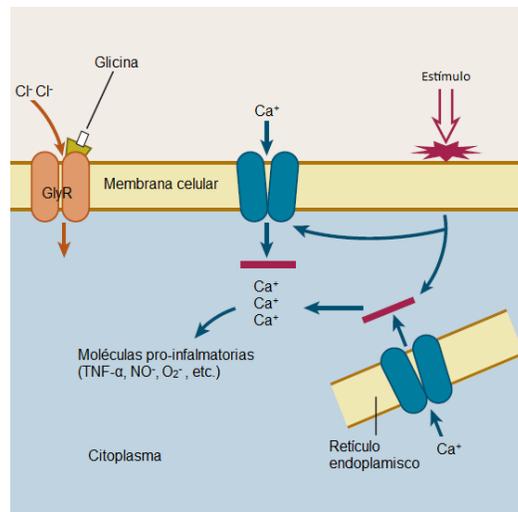


Figura 4. Función de la glicina por unión al GlyR. Editado de Yngvar G. y cols. 2004

El GlyR se localiza principalmente en la membrana postsináptica neuronal de la médula espinal, pero también está presente en una amplia variedad de células,

como células renales proximales tubulares, pancreáticas, hepáticas, etc. (Daysz W. y cols., 1998; Eynden J. V. y cols., 2009). El GlyR puede ser inhibido por unión de alcaloides, como la estricnina (E), dicha inhibición es dosis-dependiente (Timothy I. W. y Joseph W .L., 2007).

3.6 ANTECEDENTES EXPERIMENTALES DEL MODELO CON SÍNDROME METABÓLICO

Al igual que en los seres humanos, los animales van de un estado de salud a un estado de enfermedad como resultado de la interacción entre su genética y el entorno. La investigación en ciencias nutricionales durante el siglo XX, ha demostrado que la dieta es una poderosa herramienta medioambiental capaz de cambiar el fenotipo de un animal. Los modelos de enfermedad inducida por la dieta incluyen obesidad, diabetes, dislipidemia, hepatoesteatosis, aterosclerosis e hipertensión, entre otros (Matthew R. R. y cols., 2005).

En el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” se ha desarrollado un modelo en rata con SM, una variante del modelo descrito por Reaven (Reaven G. y cols., 1991), en el cual las dietas con concentraciones altas de sacarosa inducen hipertensión, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina acumulación de tejido graso intra-abdominal. Este cuadro patológico se observa frecuentemente en la clínica.

En el modelo desarrollado, las anormalidades metabólicas y funcionales se han inducido en ratas Wistar por la administración de azúcar comercial al 30% en el agua de bebida por 24 semanas, los hallazgos más relevantes son los siguientes:

1.- La adición de azúcar refinada comercial al agua de bebida (30%) en ratas Wistar produjo hipertrigliceridemia e hipertensión comparables a las encontradas por otros autores que administraron los carbohidratos (60%) con el alimento sólido. En el modelo únicamente se prolongó el tiempo de tratamiento a 20-24

semanas para obtener diferencias significativas con respecto a los testigos (Reaven G. y cols., 1991).

2.- La reactividad vascular de las ratas con SM reveló dos tipos de anormalidades: A) Alteración en el tejido vascular (aórtico y mesentérico) manifestado por hipercontractilidad a vasoconstrictores e hiporelajación a vasodilatadores dependientes de óxido nítrico endotelial, lo que sugiere daño al endotelio. Estos efectos disminuyeron en presencia de indometacina. B) Un componente plasmático circulante, posiblemente los lípidos alterados, que al ser adicionado a preparaciones de vasos *in vitro* indujo hipercontractilidad y redujo la respuesta de relajación dependiente de acetilcolina y de óxido nítrico (Baños G. y cols., 1997).

3.- Se encontraron diferencias en la composición lipídica asociadas al género, Baños G. y cols. (2007), demostraron que la composición de los ácidos grasos del plasma de la rata hembra es diferente a la de la rata macho. Cuando se induce el estrés oxidante por medio de inyección de hierro *in vivo*, el índice de lipoperoxidación es menor en la hembra que en el macho, eso se debe probablemente al efecto protector de los estrógenos en la hembra, debido al anillo fenólico que estos poseen (Carvajal K. y cols., 2002; Pérez-Torres I. y cols., 2011; Pérez-Torres I. y cols., 2010).

4.- La infusión de suero produce alteraciones en la función cardíaca en preparaciones de corazón aislado según el método de Langendorff, incrementando las presiones de perfusión y ventricular. El suero normal induce mayor respuesta en el corazón de las ratas con SM que en los testigos y el suero de las ratas con SM provoca aumentos significativamente mayores que el suero testigo en las presiones de ambos corazones, pero la respuesta del corazón de las ratas con SM es también de mayor magnitud (Carvajal K. y cols., 2002).

5.- El modelo SM presenta daño renal caracterizado por proteinuria, disminución en la depuración de creatinina e incremento de la presión de perfusión renal *in*

vitro (Rodbell M., 1964), además el consumo crónico de sacarosa en la rata ocasiona proliferación mesangial, daño a los procesos podocíticos y engrosamiento de la membrana basal (Pérez-Torres I. y cols., 2010).

6.- La proporción del ácido araquidónico en plasma y en homogeneizado de riñón de las ratas con SM está disminuida en comparación con el control, lo que sugiere un aumento en la síntesis de prostaglandinas vasoconstrictoras que participan en el síndrome (Pérez-Torres I. y cols., 2010; Pérez-Torres I. y cols., 1999).

7.- El consumo de sacarosa al 30% en la rata ocasiona obesidad, caracterizada por incremento de grasa intra-abdominal e hipertrofia del adipocito en comparación con las ratas control (El Hafidi M. y cols., 2004).

8.- El tratamiento con glicina disminuyó la prostaglandina E2 y tromboxano A2, metabolitos de la ciclooxigenasa-2 y tromboxano sintasa respectivamente, lo que sugiere que la glicina puede modular la actividad de las isoformas de ciclooxigenasas (Pérez-Torres I. y cols., 2011), presentado efecto antiinflamatorio.

9.- El tratamiento con glicina al 1% en el agua de beber por 4 semanas en las ratas con SM disminuyó 48% la hipertrofia del adipocito (El Hafidi M. y cols., 2004).

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En México, estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del sobrepeso y la obesidad han aumentado de manera progresiva durante los últimos 60 años y de modo alarmante en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de 73% en hombres y 69.4% en mujeres de entre 30 y 60 años (ENSANUT 2012). Puesto que, la obesidad en el SM contribuye a la disminución en la esperanza de vida de quienes la padecen, además el impacto social y económico en la población es elevado. Comprender con claridad la acción de las principales enzimas involucradas en el metabolismo lipídico (lipogénesis y lipólisis), así como su alteración en el SM y el posible efecto de la glicina sobre estas enzimas es de gran interés.

5. JUSTIFICACIÓN

Dado que la obesidad es el parámetro más constante presente en el SM como criterio diagnóstico y su impacto tanto en la salud de los pacientes como en el aspecto social y económico es elevado, es necesario la búsqueda de agentes que disminuyan dicho problema de salud pública, y que cuenten con pocos o sin daños colaterales y además puedan ser aplicados tanto en el tratamiento como en la prevención. Por lo que comprender con claridad el metabolismo de las principales enzimas encargadas de la lipólisis y lipogénesis (HSL y LPL respectivamente), rutas involucradas en el la hidrolisis y re-esterificación de TG en el adipocito, cuya alteración da lugar a consecuencias metabólicas importantes asociadas al desarrollo de obesidad y SM.

Por otra parte, diversas investigaciones han mostrado que la glicina, aminoácido simple no esencial, tiene efectos benéficos en las patologías ya mencionadas con escaso efecto colateral, tal es el caso de la obesidad, donde el tratamiento con glicina en las ratas con SM disminuyó 48% la hipertrofia del adipocito (El Hafidi M. y cols., 2004). Sin embargo, hasta el momento no se ha descrito el posible efecto, en el metabolismo del adipocito, de la administración de glicina en esta patología. Por tanto, es importante conocer si este aminoácido tiene efecto sobre la expresión de HSL y LPL.

6. HIPÓTESIS

En el SM, las enzimas LPL y HSL podrían estar alteradas, y el tratamiento con glicina podría revertir esta condición, disminuyendo la obesidad, la hipertrofia del adipocito y la resistencia a la insulina.

7. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la glicina sobre la expresión de enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis, así como la hipertrofia del adipocito en un modelo en rata macho con SM.

7.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Conocer el efecto de la glicina sobre la expresión de las enzimas lipasa lipoproteica y la lipasa sensible a hormonas en el adipocito.

2.- Examinar el efecto de la glicina sobre la hipertrofia del adipocito.

3.- Demostrar la participación de la glicina sobre los ácidos grasos totales, los ácidos grasos de los fosfolípidos y ácidos grasos libres no esterificados en el adipocito.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 40 ratas Wistar macho de 150 gramos, se dividieron en dos grupos. Grupo 1: 30 ratas que consumieron sacarosa al 30% en el agua de bebida (SM). Grupo 2: 10 ratas controles (C) con agua. Todos los animales recibieron alimento comercial para roedores. Al final de 12 semanas de tratamiento el grupo de las ratas SM se subdividió en tres grupos: Grupo SM, SM + G, y SM +GE. El grupo SM continuó con el mismo tratamiento, a las ratas del grupo SM + G se les adicionó 1% de glicina en el agua de bebida y al grupo SM + GE se le adicionó glicina al 1% más estriknina (antagonista de la glicina) al 10 μ M por 4 semanas.

8.1 MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA

Al final del tratamiento se les midió la presión arterial sistólica (PAS) con un pletismógrafo que consiste en un sistema que utiliza un sensor que se coloca en la cola del animal, conectado a un transductor de presión, que envía las señales a una computadora equipada con un programa para la captura y procesamiento de datos con el programa SIEVART 1.1 (Pérez-Torres I. y cols., 2009).

8.2 SACRIFICIO

Antes de sacrificar a los animales, se pesaron luego de mantenerse en ayuno de 12 hrs. El sacrificio de las ratas fue previa dislocación y posterior decapitación; después se realizó un corte longitudinal en la zona abdominal de las ratas (Pérez-Torres I. y cols., 2009), se localizó, disecó y peso el total del tejido adiposo intra-abdominal.

8.3 HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO

Este procedimiento se realizó en el departamento de Patología y Microscopía electrónica del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, por un

histotecnólogo capacitado. 500 µg de grasa intra-abdominal se lavaron en cloruro de sodio 0.9% (NaCl) por 30 segundos, se decantó la solución y se agregó amortiguador de fosfatos con formalina al 10% por 24 horas, después el tejido se procesó de acuerdo a la técnica histológica convencional y se realizaron cortes histológicos y se tiñeron mediante la técnica de dicrómica de Masson, los cortes histológicos fueron analizados mediante un microscopio de luz marca Olympus BX51 equipado con una cámara digital CoolSNAP-Pro.

8.4 EXTRACCIÓN DE ADIPOCITOS

La extracción de adipocitos se realizó en base al método descrito por Rodbell con algunas modificaciones (Rodbell M. y cols., 1964). A 10 g de muestra de tejido adiposo, se agregaron 10 mg de colágenasa tipo II disuelta en 10 mL de amortiguador de Krebs que contenía albúmina al 2% (ABS), 118 mM de cloruro de sodio (NaCl), 24 mM de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), 1.2 mM de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄), 1.2 mM de sulfato de magnesio (MgSO₄), 4.7 mM de cloruro de calcio (Ca₂Cl) y 4.5 mM de D-glucosa a pH 7.35, posteriormente se procedió a cortar la grasa mecánicamente con tijeras y colocarla en termo-agitación suave a 37 °C durante 90 minutos, después se filtró y centrifugó durante 1 minuto a 1500 RPM, en una centrifuga marca Beckman Allegra 64R. Se recuperó la capa densa superficial y se lavó con 10 mL de buffer de Krebs sin albúmina y se centrifugó durante 1 minuto a 1500 RPM y este proceso se realizó 2 veces más y posteriormente, se agregó 900µL de amortiguador de sacarosa que contenía Etilendinitrilo tetraacetato disódico (EDTA) 1mM, 2-amino-2-hidroximetilpropano-1,3-diol (TRIS) 10mM y sacarosa 250 mM y 100 µL de inhibidor de proteasa (1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), 2 mM pepstatina A, 2 mM leupeptina y 0.1% aprotinina), se agitó vigorosamente, se politronó y se centrifugó 5 minutos a 3500 RPM, se recuperó el sobrenadante y se congeló a -30 °C hasta su uso.

La concentración de proteína en el homogeneizado de adipocitos se determinó por el método descrito por Bradford (Bradford M. M., 1976).

8.5 MEDICIONES EN SUERO

La sangre se recuperó y centrifugó a 3000 RPM por 20 minutos a 4 °C, en una centrifuga marca Beckman Allegra 64R, se colectó el suero, y en este se midieron el colesterol, TG, glucosa, insulina, colesterol y Leptina. Estas mediciones se realizaron en el suero de todos los grupos al final del período experimental, en el INCMNSZ (Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán) mediante kits comerciales por personal del departamento de Biología de la reproducción, siguiendo el método de rutina recomendado por el fabricante. El índice HOMA-IR se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{[\text{Insulina } \mu\text{U/mL}] * [\text{Glucosa mM}]}{22.5}$$

8.6 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSL, LPL Y G1yrβ POR INMUNOBLOTTING

100 µg de proteína de homogeneizado de adipocitos se mezclaron con amortiguador de carga (glicerol 59% vol/vol; 2-Amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (Tris-HCl), pH 6.5; Dodedicil sulfato de sodio (SDS) 1% peso/volumen, azul de bromofenol 0.1 % peso/vol; 2-mercaptoetanol). La mezcla se calentó a 100 °C por 1-2 minutos y las proteínas se separaron en gel de SDS/PAGE al 12% bajo condiciones reductoras. Al término de la electroforesis el gel se transfirió a una membrana de nitrocelulosa Hybond-C marca Millipore. La membrana se bloqueó durante 2 horas con amortiguador de TBS-GC (Tris 0.5 M, NaCl 0.15 M, 10% de leche descremada, 15% glicina y 0.05% Tween-20) pH 7.4.

Después la membrana se incubó con una dilución 1/1000 de anticuerpos primarios según el caso, policlonales de conejo contra LPL y GlyR β y monoclonal de ratón contra HSL marca Santa Cruz Biotechnology, toda la noche a 4 °C con agitación constante. La membrana se enjuagó tres veces con TBS y se incubó con una dilución 1/1000 de anticuerpos secundarios policlonales de cabra anti inmunoglobulina G (IgG) de conejo por tres horas a temperatura ambiente, se reveló con 3'3'diaminobenzidina y se analizó por densitofotometría mediante el programa Image Kodak versión 3.5.

8.7 EXTRACCIÓN Y DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS TOTALES, DE LOS FOSFOLÍPIDOS Y LIBRES

8.7.1 ÁCIDOS GRASOS TOTALES

La extracción de los lípidos totales se realizó de acuerdo al método de Folch (Folch L. y cols., 1957) y posteriormente se derivatizaron. A 100 μ g de proteína de homogeneizado de adipocitos, se le agregó 50 μ g de ácido margárico como estándar interno, 1 mL de metanol (MetOH) con butil-hidroxi-tolueno (BHT) al 0.002%, 1 mL de solución salina fisiológica (NaCl) al 0.09% y 2 ml de cloroformo con BHT al 0.002%. La muestra se agitó 30 segundos y se centrifugó a 2500 RPM por 5 minutos. La fase de cloroformo se recuperó (se repitió la última parte 1 vez más). A los 4 mL de cloroformo obtenidos se les agregó 200 μ L de MetOH y sulfato de sodio (NaSO₄) anhidro y se filtró; el cloroformo obtenido se evaporó con una corriente suave de nitrógeno (N₂) para obtener un residuo lipídico.

Para la derivatización, al residuo lipídico obtenido en la fase anterior se le agregaron 1960 μ L de MetOH con BHT al 0.002%, 40 μ L de ácido sulfúrico (H₂SO₄) y se incubó a 90 °C por 2 horas, después se agregó 1 mL de cloruro de potasio (KCl) al 5%, 2 mL de hexano, se agitó 30 segundos y se centrifugó a 2500 RPM por 5 minutos y la fase del hexano se separó de la acuosa (se repitió la

última parte una vez). Los 4 ml de hexano obtenidos se evaporaron con una corriente suave de N₂.

8.7.2 ÁCIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLÍPIDOS

La extracción de los ácidos grasos de los fosfolípidos se realizó de la siguiente manera, a 100 µg de homogeneizado de adipocitos, se le agregaron 100 µg de ácido nonadecanoico y 1 mL de acetona, se agitó por 30 segundos y se centrifugó a 2500 RPM por 5 minutos, el sobrenadante se eliminó y el residuo se procesó de acuerdo a la extracción descrita por el método de Folch, y posterior derivatización previamente descrita.

8.7.3 ÁCIDOS GRASOS LIBRES

La extracción de los ácidos grasos libres no esterificados se realizó de acuerdo al método descrito por Folch y la derivatización se realizó de la siguiente manera, al residuo obtenido se le agregaron 100 µL MetOH con BHT al 0.002%, 100 µL 2,2-dimetoxipropano y 10 µL de H₂SO₄ y se incubó a temperatura ambiente por 15 minutos. Se agitó cada 5 minutos, después se le agregó 1 mL de NaCl al 5%, 2 mL de hexano y se agitó 30 segundos y se centrifugó a 376 RPM por 5 minutos. La fase del hexano se separó de la acuosa (se repitió la última parte una vez). Los 4 mL de hexano obtenidos se evaporaron con una corriente suave de N₂.

La separación, identificación y cuantificación de los ácidos grasos de los fosfolípidos, totales y libres se identificaron y separaron por cromatografía de gases, en un cromatógrafo Carlo Erba, acoplado con un detector de ionización de flama y con una columna capilar de 30 m x 0.25 mm de diámetro a 210°C y a un flujo constante de helio 1.5 mL/min.

8.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico y las figuras se realizaron con el programa Sigma Plot (SigmaPlot versión 11, Jandel Corporation, 1986-2010). Los datos se presentan como la media \pm error estándar. La significancia estadística se determinó por la prueba t de Student. Una $p \leq 0.05$ se consideró como significativa.

9. RESULTADOS

El diagnóstico de SM se realizó a partir de la comparación de las ratas a las cuales se les administró sacarosa con las ratas control, de este modo se establece que el modelo presenta obesidad abdominal, hipertensión arterial, hipertrigliceridemia y resistencia a la insulina.

Peso corporal

El peso corporal en el grupo C (446.6 ± 6.3 g) fue significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación con el grupo SM (504.0 ± 21.1 g), sin embargo, el tratamiento con glicina lo disminuyó significativamente (468.7 ± 6.08 g, $p < 0.01$) en comparación con el grupo SM. El grupo SM + GE (468.5 ± 15.5 g) no presentó diferencia significativa comparado con el grupo SM + G, (Tabla 1).

Grasa intra-abdominal

La grasa intra-abdominal (Tabla 1) fue significativamente menor ($p < 0.01$) en el grupo C (3.8 ± 0.3 g) en comparación con el grupo SM (12.0 ± 1.5 g). En el grupo SM + G (7.5 ± 0.9 g) se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) comparada con el grupo SM, sin alcanzar diferencia significativa con el grupo SM + GE (10.5 ± 1.4 g).

Presión arterial sistólica

La presión arterial sistólica (PAS) en el grupo C (113.2 ± 1.8 mmHg) fue menor ($p < 0.01$) comparada con el grupo SM (144.9 ± 0.7 mmHg). Mientras que el tratamiento con glicina (SM + G, 124.1 ± 0.9 mmHg) disminuyó significativamente la presión arterial ($p < 0.01$) al compararse con el grupo SM y SM + GE (142.2 ± 0.7 mmHg), (Tabla 1).

Triglicéridos

Los TG séricos se encontraron significativamente elevados ($p < 0.01$) en el grupo SM (172.2 ± 27.8 mg/dL) en comparación con el grupo C (51.6 ± 1.8 mg/dL), sin

embargo en el grupo SM + G (106.3 ± 6.7 mg/dL) fue significativamente menor ($p < 0.05$) que en el grupo SM, sin tener diferencia significativa con el grupo SM + GE (126.6 ± 14.1 mg/dL), (Tabla 1).

Colesterol y glucosa

Ninguno de los grupos presentó diferencia significativa en los niveles de colesterol y glucosa sérica, (Tabla 1).

Insulina

La insulina en el grupo C (2.4 ± 0.2 μ U/mL) fue significativamente menor ($p < 0.01$) en comparación con el grupo SM (6.7 ± 1.3 μ U/mL). El tratamiento con glicina (2.5 ± 0.3 μ U/mL) disminuyó significativamente ($p < 0.01$) la insulina sérica en los grupos SM + G y SM +GE (3.7 ± 0.4 μ U/mL), (Tabla 1).

Índice HOMA-IR

El índice HOMA-IR, del grupo C (0.7 ± 0.1) fue significativamente menor ($p < 0.01$) que en el grupo SM (2.4 ± 0.5). En el grupo SM + G (0.7 ± 0.1) se encontró significativamente ($p < 0.01$) disminuido en comparación con el grupo SM, sin alcanzar diferencia con el grupo SM + GE (1.0 ± 0.1), (Tabla 1).

Leptina

La leptina en el grupo C (2.3 ± 0.2 ng/mL) fue significativamente menor ($p < 0.01$) en comparación con el grupo SM (6.2 ± 1.2 ng/mL), el tratamiento con glicina en el grupo SM la normalizó (3.3 ± 0.4 ng/mL), sin presentar diferencia significativa en el grupo SM + GE (5.6 ± 0.5 ng/mL), (Tabla 1).

Tabla 1. Características generales y parámetros bioquímicos séricos de los grupos experimentales.

	C	SM	SM + G	SM + GE
Peso corporal (g)	446.6 ± 6.3	504.0 ± 21.1*	468.7 ± 6.1**	468.5 ± 15.5
Grasa intra-abdominal (g)	3.8 ± 0.3	12.0 ± 1.6**	7.5 ± 0.9 *	10.5 ± 1.4
Presión arterial sistólica (mmHg)	113.2 ± 1.8	144.9 ± 0.7**	124.1 ± 0.9**	142.2 ± 0.7**
Triglicéridos (mg/dL)	51.6 ± 1.8	172.1 ± 27.8**	106.3 ± 6.7 *	126.6 ± 14.1
Colesterol (mg/dL)	54.0 ± 2.5	54.1 ± 1.8	54.4 ± 1.5	59.8 ± 2.8
Glucosa (mg/dL)	109.4 ± 2.0	110.4 ± 5.7	111.8 ± 3.4	108.1 ± 4.5
Insulina (μU/mL)	2.4 ± 0.2	6.7 ± 1.3**	2.5 ± 0.3**	3.7 ± 0.4**
Índice HOMA-IR	0.7 ± 0.1	2.4 ± 0.5**	0.7 ± 0.1**	1.0 ± 0.1
Leptina (ng/mL)	2.3 ± 0.2	6.2 ± 1.2**	3.3 ± 0.4**	5.6 ± 0.5**

Los datos muestran la media ± ES, n=8 en cada grupo. Abreviaturas: C=control, SM=síndrome metabólico, SM + G=síndrome metabólico más glicina, SM + GE=síndrome metabólico más glicina y estricnina. *p<0.05, **p≤0.01 C vs. SM, SM vs. SM + G y SM + G vs. SM + GE. Indice

Tabla 2. Porcentaje de los ácidos grasos totales en el homogeneizado de adipocito

	C	SM	SM + G	SM + GE
Porcentaje de ácidos grasos totales saturados				
Mirístico	0.5 ± 0.03	0.5 ± 0.03	0.5 ± 0.03	0.5 ± 0.03
Palmítico	23.1 ± 0.45	32.1 ± 2.02**	31.0 ± 0.44	30.2 ± 0.22
Estearico	7.5 ± 0.36	4.6 ± 0.87**	4.0 ± 0.53	4.8 ± 0.52
AGS	31.1 ± 0.40	37.2 ± 2.67*	35.4 ± 0.61	35.5 ± 0.65
Porcentaje de ácidos grasos totales monoinsaturados				
Palmitoleico	2.8 ± 0.12	12.6 ± 0.44**	10.1 ± 0.98**	10.9 ± 0.49
Oleico	32.8 ± 1.11	42.7 ± 1.05**	35.2 ± 1.93**	42.2 ± 0.83**
AGM	35.6 ± 1.19	55.3 ± 0.87**	45.3 ± 1.94**	53.1 ± 0.82**
Porcentaje de ácidos grasos totales poliinsaturados				
Linolenico	27.9 ± 0.76	13.1 ± 1.16**	11.9 ± 0.52	13.5 ± 0.54*
γ-Linolenico	1.7 ± 0.21	0.5 ± 0.05**	0.7 ± 0.07*	0.5 ± 0.01**
α-Linolenico	0.5 ± 0.14	0.1 ± 0.01**	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.01
Dihomo-γ-Linolenico	0.4 ± 0.11	0.1 ± 0.01*	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.02
Araquidónico	2.0 ± 0.52	0.2 ± 0.04**	0.8 ± 0.23**	0.6 ± 0.22
AGP	31.9 ± 1.15	13.9 ± 1.19*	13.4 ± 0.61	14.7 ± 0.66

Los datos muestran la media ± ES, n=8 en cada grupo. Abreviaturas: C=control, SM=síndrome metabólico, SM + G=síndrome metabólico más glicina, SM + GE=síndrome metabólico más glicina y estricnina. *p<0.05, **p≤0.01 C vs. SM, SM vs. SM + G y SM + G vs. SM + GE.

Ácidos grasos totales

El porcentaje de los ácidos grasos palmitoleico y oleico aumentaron (p<0.01) y el del esteárico, linolenico, gamma, alfa, dihomo-gamma y araquidónico disminuyeron (p<0.01) en el grupo SM en comparación con el grupo C. El tratamiento con glicina disminuyó en el SM, el AG oleico (p<0.01) y aumento el ácido araquidónico y el γ-Linolenico (p<0.01 y p<0.05 respectivamente) sin diferencia significativa con el grupo SM + GE.

Los ácidos grasos saturados (AGS) se encontraron incrementados de manera significativa ($p < 0.05$) en el grupo SM (37.2 ± 2.67) en comparación con el grupo C (31.1 ± 0.40), sin diferencia significativa al compararse con en el grupo SM + G y SM + GE (35.4 ± 0.61 y 35.5 ± 0.65 respectivamente). El porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) se encontró significativamente incrementado ($p < 0.01$) en el grupo SM (55.3 ± 0.87) comparado con el grupo C (35.6 ± 1.19) y con el grupo SM + G (45.3 ± 1.94). El grupo SM + GE (53.1 ± 0.82) presentó la misma tendencia que el grupo SM. Los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) del grupo C (31.9 ± 1.15) fueron significativamente ($p < 0.05$) elevados en comparación con el grupo SM (13.9 ± 1.19), el resto de los grupos no presentaron diferencias significativas.

Ácidos grasos de los fosfolípidos

El porcentaje del palmitoleico se incrementó ($p < 0.05$). El del mirístico ($p < 0.01$), esteárico ($p < 0.05$) y linolenico ($p < 0.01$) disminuyó en el grupo SM en comparación con el grupo C. El tratamiento con glicina aumentó los AG disminuidos en el SM, mirístico, esteárico y linoleico ($p < 0.01$).

Los AGS de los fosfolípidos se encontraron significativamente altos ($p < 0.05$) en el grupo C (67.8 ± 2.81) comparado con el grupo SM (53.4 ± 4.37), mientras que en el grupo SM fueron significativamente ($p < 0.01$) bajos que en el grupo SM + G (71.4 ± 2.92). El grupo SM + GE (58.5 ± 2.62) comparado con el grupo SM + G estuvieron significativamente reducidos ($p < 0.01$). Los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) mostraron tendencia similar a los AGS, presentando diferencia significativa ($p < 0.01$) en el grupo C (15.1 ± 2.06) en comparación con el grupo SM (5.9 ± 0.36). El tratamiento con glicina (SM + G) los aumento (7.9 ± 0.46) de manera significativa ($p < 0.01$), sin mostrar diferencia con el grupo SM + GE (6.9 ± 0.62). Los AGM no mostraron diferencia significativa entre ningún grupo, (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de los ácidos grasos de los fosfolípidos en el homogeneizado de adipocito

	C	SM	SM + G	SM + GE
Porcentaje de ácidos grasos saturados				
Mirístico	1.1 ± 0.11	0.6 ± 0.12**	1.0 ± 0.12**	0.9 ± 0.08 *
Palmítico	38.2 ± 1.30	36.7 ± 1.59	41.2 ± 1.19 *	38.3 ± 0.67
Estearico	28.5 ± 3.02	16.1 ± 4.19*	29.2 ± 2.19**	19.4 ± 2.53 **
AGS	67.8 ± 2.81	53.4 ± 4.37*	71.4 ± 2.92**	58.5 ± 2.62 **
Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados				
Palmitoleico	4.0 ± 0.60	6.9 ± 0.76 *	7.6 ± 0.54	6.2 ± 0.40
Oleico	22.3 ± 2.07	23.7 ± 1.57	24.2 ± 0.68	24.6 ± 1.30
AGM	26.2 ± 2.30	30.6 ± 1.60	31.8 ± 0.50	30.9 ± 1.20
Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados				
Linolenico	15.1 ± 2.06	5.9 ± 0.36**	7.9 ± 0.46**	6.9 ± 0.62
AGP	15.1 ± 2.06	5.9 ± 0.36**	7.9 ± 0.46**	6.9 ± 0.62

Los datos muestran la media ± ES, n=8 en cada grupo. Abreviaturas: C=control, SM=síndrome metabólico, SM + G=síndrome metabólico más glicina, SM + GE=síndrome metabólico más glicina y estricnina. *p<0.05, **p≤0.01 C vs. SM, SM vs. SM + G y SM + G vs. SM + GE.

Ácidos grasos no esterificados

El total de ácidos grasos no esterificados (AGL) estuvo significativamente elevado (p<0.01) en el grupo SM (103.6 ± 1.60) en comparación con el grupo C (91.8 ± 3.29). El tratamiento con glicina revirtió significativamente (p<0.01) dicho aumento (SM + G, 89.6 ± 2.60), mientras que en el grupo SM + GE (105.6 ± 2.20) el total de ácidos grasos libres no esterificados fue similar que en el grupo SM, (Tabla 4).

Expresión de LPL

La expresión de LPL no mostró diferencia significativa entre ningún grupo (Figura 5).

Tabla 4. Porcentaje de los ácidos grasos no esterificados en el homogeneizado de adipocito

	C	SM	SM + G	SM + GE
Mirístico	1.7 ± 0.23	2.8 ± 0.26**	1.8 ± 0.16**	3.19 ± 0.12**
Palmítico	33.3 ± 1.37	37.3 ± 0.36*	35.2 ± 1.94	39.6 ± 0.72
Palmitoleico	3.6 ± 0.25	13.1 ± 1.13**	9.4 ± 0.49**	11.2 ± 0.56*
Estearico	14.5 ± 0.81	12.2 ± 1.10	13.9 ± 1.44	12.0 ± 0.97
Oleico	24.4 ± 1.73	31.1 ± 0.23**	25.0 ± 0.97**	30.8 ± 0.68**
Linolenico	16.1 ± 2.04	8.5 ± 0.66**	6.0 ± 0.71*	10.3 ± 0.66**
Total	91.8 ± 3.29	103.6 ± 1.60**	89.6 ± 2.60**	105.6 ± 2.20**

Los datos muestran la media ± ES, n=8 en cada grupo. Abreviaturas: C=control, SM=síndrome metabólico, SM + G=síndrome metabólico más glicina, SM + GE=síndrome metabólico más glicina y estircina. *p<0.05, **p≤0.01 C vs. SM, SM vs. SM + G y SM + G vs. SM + GE.

Expresión de HSL

La expresión de HSL no mostró diferencia significativa entre ningún grupo (Figura 6). Sin embargo, el grupo SM mostró tendencia a aumentar en comparación con el grupo C y el grupo SM + G, sin alcanzar diferencia significativa.

Expresión de GlyR

No se identificó la presencia del GlyR en el adipocito de ningún grupo.

Histología del tejido adiposo

La fotomicrografía del tejido adiposo visceral del grupo C (Figura 7A) mostró adipocitos cuyo citoplasma está vacío y limitado por la membrana, y el núcleo es pequeño y periférico. Hay una variación en el tamaño celular, con 75 células por campo en promedio. En el grupo SM (Figura 7B) los adipocitos son de mayor tamaño y por lo tanto menos numerosos, 40 adipocitos en promedio por campo. La fotomicrografía del grupo SM + G (Figura 7C) muestra también variaciones en el tamaño celular y 71 adipocitos en promedio por campo, similar al grupo C, mientras que en el grupo SM + GE (Figura 7D) los adipocitos son grandes y el

promedio de conteo celular es igual al grupo SM, 40 adipocitos por campo. Todas las fotomicrografías fueron tomadas en tinción dicrómica de Masson, con un aumento 10x.

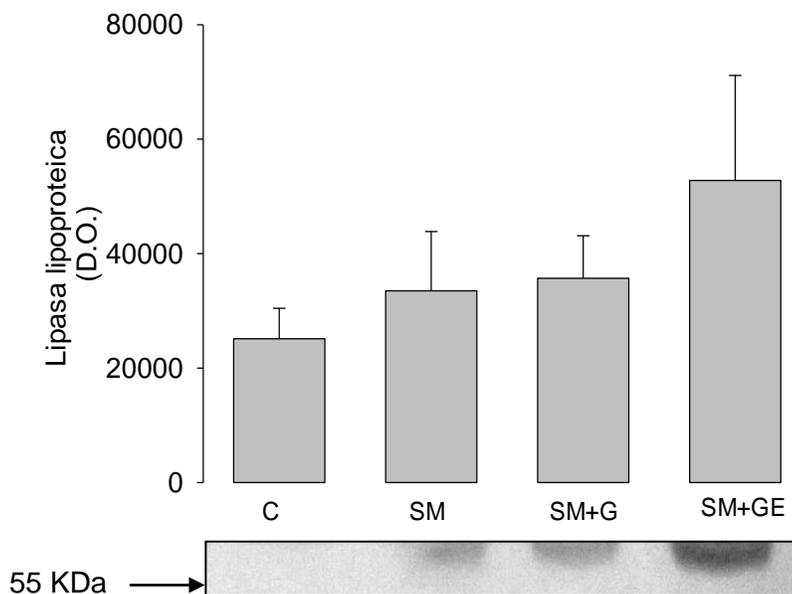


Figura 5. Expresión de la lipasa lipoproteica en el adipocito. Anticuerpo policlonal IgG de conejo contra LPL (H-53), Santa Cruz Biotechnology.

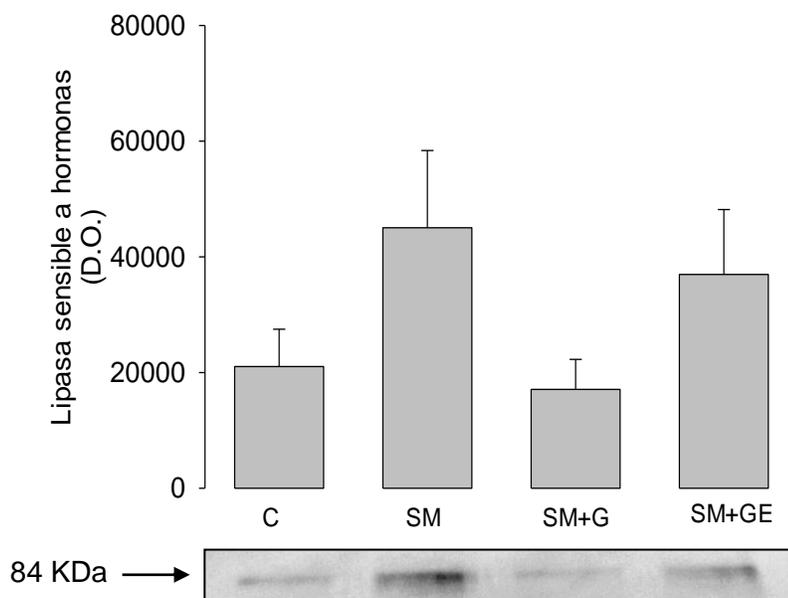


Figura 6. Expresión de la lipasa sensible a hormonas en el adipocito. Anticuerpo monoclonal IgG_{2B} de ratón contra HSL (G-7), Santa Cruz Biotechnology.

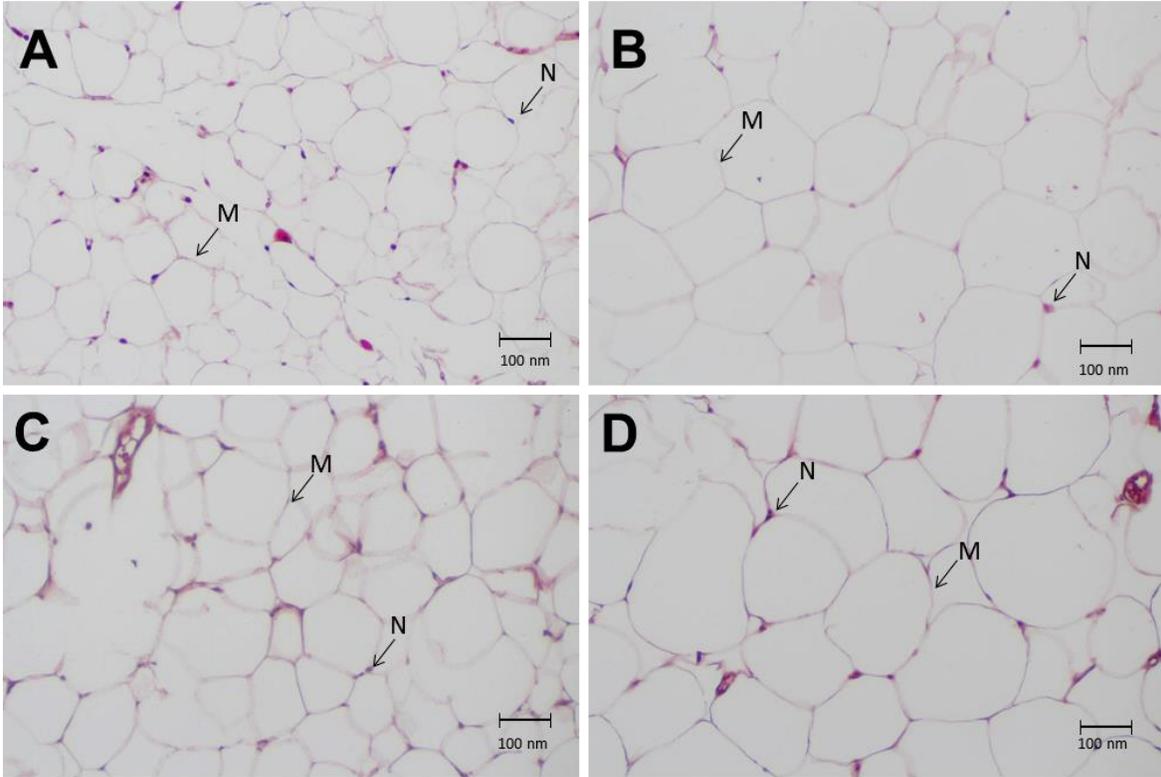


Figura 7: Fotomicrografía de tejido adiposo blanco visceral del grupo C (A), SM (B), SM + G (C) y SM + GE (D). Abreviaturas: N=núcleo, M=membrana celular. Tinción Dicrómica de Masson a 10x.

10. DISCUSIÓN

La obesidad, parámetro constante en el SM (García-García E. y cols., 2008), es una condición multifactorial, cuya causa principal es el balance energético positivo, que ha sido ampliamente asociado con aumento en la concentración de VLDL, TG y AGL, conduciendo al almacenamiento ectópico de lípidos, que resulta en múltiples alteraciones, entre ellas la resistencia a la insulina (O'Rourke R., 2009; Tripathi Y. B. y Pandey V., 2012; Christodoulides C. y cols., 2009), investigaciones básicas y clínicas, sugieren que dichas alteraciones son consecuencia de la hipertrofia del tejido adiposo, la cual ocasiona disfunción de los adipocitos, perjudicando las respuestas lipolíticas y lipogénicas (Brent E. W., 2004; Ja-Young K. y cols., 2007; Duncan R. E. y cols., 2007; Mandeep P. G. y cols., 2010; Junlan Zhou y cols., 2012; Christodoulides C. y cols., 2009; M. Lafontan, 2013).

Por otra parte, la glicina, aminoácido no esencial (Dong Z. y cols., 2001) ha mostrado tener efecto en la disminución de la hipertrigliceridemia, hipertensión arterial y resistencia a la insulina (Tijsen S. y cols., 1997; El Hafidi M. y cols., 2004; Pérez-Torres I. y cols., 2011; Yue T. Y. y cols., 2012), disminución en la hipertrofia del adipocito en ratas con SM (El Hafidi M. y cols., 2004), así como efecto antioxidante (Zhi Zhong y cols., 2007; Pan. C. y cols., 2005; Howard A. y cols., 2010; Saulius M. y cols., 2011; Rajagopal V. S. y cols., 2011), inhibitorio en la glicosilación no enzimática de la hemoglobina (Nimal R. y cols., 1997; El Hafidi M. y cols., 2004) y efecto antiinflamatorio en riñón aislado de rata con SM (Pérez-Torres I. y cols., 2011).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la glicina sobre expresión de enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis, así como la hipertrofia del adipocito en un modelo en rata macho con SM.

Los resultados muestran que el peso corporal y la grasa intra-abdominal en el grupo C fue menor en comparación con los grupos SM y SM + GE, mientras que en el grupo SM + G, fue significativamente menor en comparación con los dos últimos grupos. Estos resultados sugieren que el tratamiento con glicina al 1% revierte la ganancia de peso corporal, y a su vez disminuye la cantidad de grasa intra-abdominal, dichos resultados coinciden con los obtenidos por El Hafidi M. y cols., quienes luego de administrar 1 % de glicina en el agua de bebida en ratas con SM por un mes, observaron disminución en la grasa intra-abdominal, sin embargo estos autores no reportaron alteraciones en el peso corporal (El Hafidi M. y cols., 2004).

El grupo SM presentó TG, insulina e índice HOMA elevados en comparación con el grupo C, sin embargo, el tratamiento con glicina redujo considerablemente dichas alteraciones, estos resultados sugieren que la glicina puede actuar al mejorar la sensibilidad a la insulina, disminuyendo la secreción de esta hormona por el páncreas. Ja-Young K. y cols (2007)., describieron que posterior a la hipertrofia del adipocito, este alcanza su tamaño crítico y pierde su capacidad de almacenamiento y expansión, lo cual puede ser una razón subyacente para la resistencia a la insulina por el acumulamiento ectópico de lípidos (Lafontane M., 2014), otros trabajos muestran que la glicina puede revertir la hipertrofia del adipocito presente en el grupo SM (El Hafidi M. y cols., 2004), los resultados histológicos del tejido adiposo mostraron que la glicina disminuyó la hipertrofia, lo cual se asoció a la reducción de TG circulantes. En el hígado y músculo, la disminución de TG mejora la sensibilidad a la insulina (Ja-Young K. y cols., 2007; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014). Se desconoce el mecanismo preciso por el cual la glicina revierte la hipertrofia, sin embargo, se ha descrito que existe asociación directa entre el tamaño del adipocito y la cantidad de TG (Moreno M. J. y cols., 2002; De Ferranti S. y Mozaffarian D., 2008; Emanuela F. y cols., 2012), por lo tanto, la reducción de la hipertrofia podría deberse a que la glicina redujo el total de AG totales en el adipocito, los cuales son un indicador del total de TG almacenados en este. Por otra parte, Gannon M. C. y

cols. (2002), mencionan que la glicina probablemente compite con la glucosa para su absorción, luego de administrar glucosa y glicina más glucosa vía oral y observar reducción en la concentración plasmática de glucosa postprandial cuando se administró con glicina, nuestros resultados mostraron disminución de TG, lo que sugiere que su síntesis está disminuida, esto en parte podría deberse al decremento de la absorción de glucosa luego del tratamiento con glicina. Asimismo, Yue J. T. y cols. (2012), reportaron que el tratamiento con glicina normaliza la secreción hepática de VLDL en obesidad inducida por dieta alta en grasa, y se sabe que la LPL hidroliza los TG de estas lipoproteínas, y los incorpora para luego almacenarse en el adipocito (Hong Wang y cols., 2009; Wai Y. A. y cols., 2009). Los resultados muestran que el tratamiento con glicina redujo el tamaño del adipocito, lo cual podría deberse a que al estar disminuida la síntesis de VLDL y TG se reduce el almacenamiento de lípidos en el adipocito.

Por otra parte, el incremento de AG totales se ha asociado a la hipertrofia del adipocito, contribuyendo al desarrollo de hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia (De Ferranti S. y Mozaffarian D., 2008; Emanuela F. y cols., 2012). Nuestros resultados muestran que el grupo SM presentó el porcentaje de AG totales significativamente mayor que el grupo C, pero el tratamiento con glicina lo disminuyó en el grupo SM + G, favoreciendo el decremento de la hipertrigliceridemia, lo que contribuyó a la disminución de la hipertrofia del adipocito y el aumento de la sensibilidad a la insulina. Asimismo, el incremento en AGS, AGM y AGP puede reflejar cambios en la composición de la membrana celular, lo cual puede interferir con la accesibilidad de la insulina a su receptor, la modificación del transporte iónico transmembranal adipocito (Pérez-Torres I. y cols., 2013) y la actividad enzimática en el adipocito (Cambray Guerra R. y cols., 2014); Los resultados muestran que la composición de AG de los fosfolípidos del adipocito se modificó en el grupo SM + G, donde se observó aumento del contenido de AGP, estos resultados sugieren que podría aumentar la permeabilidad de la membrana y subsecuentemente mejorar la sensibilidad del receptor a la insulina (Field C. J. y cols., 1990; Bengt V., 2000; Goto-Inoue N. y

cols., 2013). Asimismo el tratamiento con glicina disminuyó los niveles de insulina e índice HOMA-IR, al igual que el porcentaje de AGL, los cuales se ha descrito que pueden activar a la proteína cinasa C (PKC) y a la cinasa amino terminal Jun (JNK) que son capaces de fosforilar directamente residuos de serina del receptor de insulina-1 (IRS1), bloqueando la señal “rio abajo” de insulina (Simon-Szabo L. y cols., 2014). Estos resultados sugieren que el aumento de la sensibilidad a la insulina podría deberse, en parte, a la disminución del total de AGL.

Por otra parte, en la obesidad se presenta un estado lipolítico crónico (Wen-Jun S. y cols., 2011; Jingna D. y cols., 2012; Zechner R. y cols., 2012), mientras que el exceso de AGL provee sustrato para la síntesis hepática de TG, y su aumento en circulación está asociado con el daño endotelial y elevación de la presión arterial (El Hafidi M. y cols., 2006; Pérez-Torres I. y cols., 2013). Los resultados muestran que el porcentaje total de AGL en el adipocito del grupo C fue significativamente menor en comparación con el grupo SM, y el tratamiento con glicina lo redujo, lo cual podría contribuir a la disminución de AGL y TG circulantes y por ende disminuir el daño endotelial.

En el SM, los TG y AGL dañan el endotelio vascular y favorecen la disfunción endotelial y el aumento de la PAS (El Hafidi M. y cols., 2006), los resultados muestran que la administración de glicina revierte el aumento de la PAS presente en el SM, estos resultados pueden deberse a distintos mecanismos, entre ellos la disminución de TG. Asimismo, Ruiz-Ramírez A. y cols. (2014), demostraron que el tratamiento con glicina al 1% disminuye los AGL circulantes que dañan el endotelio. Otro posible mecanismo es que la glicina ha mostrado efecto antioxidante, ya que sirve como sustrato para la síntesis de glutatión (Pan C. y cols., 2005; Howard A. y cols., 2010; Saulius M. y cols., 2011; Rajagopal V. S. y cols., 2011), disminuyendo la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Zhong Z. y cols., 2007; Howard A. y cols., 2010; Díaz-Flores M. y cols., 2013) lo cual favorece la disponibilidad de óxido nítrico (ON) y por ende disminuye la vasoconstricción y estimula la vaso-relajación en animales alimentados con sacarosa

(El Hafidi M. y cols., 2006; Baños G. y cols., 2008; Ruiz-Ramírez A. y cols., 2014), de igual forma, se ha descrito que en el modelo SM, la glicina estimula a la sintasa del óxido nítrico endotelial (eNOS), lo que aumenta la síntesis de ON y disminuye la PAS (Ruiz-Ramírez A. y cols., 2014).

Por otra parte, en la obesidad se genera aumento en la secreción de adipocinas entre ellas la leptina, la cual a pesar de ser fisiológicamente una hormona anorexigénica, durante la obesidad se desarrolla resistencia a la leptina, caracterizada por niveles elevados de esta hormona sin que se presente la supresión del apetito (Friedman J. M., 2000; Bulló M. y cols., 2002; Ramis J. M. y cols., 2005; Ja-Young K. y cols., 2007; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014), los resultados obtenidos muestran hiperleptinemia en el grupo SM en comparación con el grupo C, mientras que la administración de glicina disminuye esta condición, esto podría deberse a la disminución del tejido adiposo intra-abdominal. Diversos estudios han descrito que existe una asociación negativa entre la cantidad de tejido adiposo o el tamaño del adipocito y la resistencia a la leptina (Ja-Young K. y cols., 2007; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014).

Otra adipocina elevada en la obesidad es el $\text{TNF}\alpha$ (Brent E. W. y cols., 2004; Bulló M. y cols., 2002; Ramis J. M. y cols., 2005; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014), estudios previos han descrito que el $\text{TNF}\alpha$ estimula el aumento en la lipólisis e inhibe la actividad de la LPL, resultando en incremento de AGL (Jingna D. y cols., 2012). Además Blancas-Flores G. y cols. (2012), reportaron que el tratamiento con 10 mM glicina en cultivos de adipocitos primarios suprime la activación de $\text{TNF}\alpha$ mediante la activación del factor nuclear- κB (NF- κB). Asimismo, la insulina tiene efecto regulador sobre la LPL, por ende la resistencia a la insulina puede modificar su actividad (Ranganathan G. y cols., 2006; Bulló M. y cols., 2002; Ramis J. M. y cols., 2005; Flores-Lázaro J. R. y cols., 2011; Lafontane M., 2014). Nuestros resultados no mostraron diferencia en la expresión de la LPL en ningún grupo, sin embargo, diversos autores han descrito

que durante la resistencia a la insulina la actividad de la LPL disminuye (Preiss-Landl K. y cols., 2002; Tsutsumi K, 2003; Wai Y. A. y cols., 2009), mientras que otras investigaciones han mostrado que en la obesidad aumenta (Ranganathan G. y cols., 2006; Hong W. y cols., 2009; Benkalfat N. B. y cols., 2011). Nuestros resultados muestran que el tratamiento con glicina disminuyó la hiperinsulinemia, mejora la resistencia a la insulina, la hipertrofia del adipocito en el SM, lo que sugiere que la glicina probablemente podría actuar sobre la actividad de la LPL.

Se sabe que la resistencia a la insulina inhibe la respuesta antilipolítica de dicha hormona en el tejido adiposo (Duncan R. E. y cols., 2007; Mandeep P. G. y cols., 2010; Zechner R. y cols., 2012), mientras que el estrés del retículo endoplásmico, presente en la obesidad, estimula la respuesta lipolítica crónica ocasionando un aumento en la liberación de TG a la circulación (Wen-Jun S. y cols., 2011; Jingna D. y cols., 2012; Zechner R. y cols., 2012), asociado a esto, se ha descrito que en adipocitos de ratas hembras ovariectomizadas con SM, hay incremento de estrés oxidante asociado al aumento de grasa intra-abdominal, TG y AGL circulantes (Cambray Guerra R. y cols., 2014). Jingna D. y cols. (2012), demostraron que durante la resistencia a insulina la expresión de HSL no se ve modificada, únicamente aumenta su actividad. Los resultados muestran que las ratas con SM presentaron tendencia al aumento de la expresión de HSL, sin embargo este aumento no fue estadísticamente significativo. Anteriormente se ha reportado en diversos estudios en animales con obesidad inducida por dieta (Mandeep P. G. y cols., 2010; Díaz-Villaseñor A. y cols., 2013) y cultivos celulares (Jingna D. y cols., 2012; Díaz-Villaseñor A. y cols., 2013) que la expresión de esta enzima no se altera. Sin embargo, la actividad aumenta en la obesidad. Se desconocen los efectos de la glicina en la actividad de esta enzima. Sin embargo, nuestros resultados muestran tendencia a disminuir su expresión, y la disminución de AGL en el adipocito y circulantes (Ruiz-Ramírez A. y cols., 2014), previamente descrita, sugiere que la actividad lipolítica esta modificada luego del tratamiento con glicina al 1%, lo cual no ocurre en el grupo SM + GE, ya que la estricnina inhibe la acción de la glicina, coincidiendo con trabajos anteriores (El Hafidi y cols., 2004).

Uno de los mecanismos por los cuales se ha propuesto que la glicina ejerce efectos benéficos es por la unión a su receptor, denominado GlyR (Tijssen S. y cols., 1997; Zhong Z. y cols., 2007; El Hafidi M. y cols., 2004; Pan. C. y cols., 2005; Howard A. y cols., 2010; Pérez-Torres I. y cols., 2011; Saulius M. y cols., 2011; Rajagopal V. S. y cols., 2011; Yue T. Y. y cols., 2012), el cual es un canal pentámero de apertura rápida para el transporte de Cl^- , que hiperpolariza a la membrana celular y de esa manera impide la entrada de Ca^+ , que sirve como segundo mensajero ante ciertos estímulos que ocasionan reacciones inflamatorias (Qu. W. y cols., 2002). Estudios previos han demostrado la presencia del GlyR en el hígado, riñón, sistema nervioso, etc., y asocian los efectos de la glicina a dicho receptor (Eynden J. V. y cols., 2009), sin embargo, en este estudio no se identificó la presencia del GlyR en el adipocito, lo que sugiere que la glicina puede ejercer efectos en la función del adipocito de manera indirecta. Previamente se ha descrito que la glicina minimiza la síntesis hepática de triglicéridos (Yue J. T. y cols., 2012) e inhibe la absorción de la glucosa (Gannon M. C. y cols., 2002), y disminuye los AGL, lo cual puede mejorar el metabolismo lipídico ante una dieta alta en sacarosa y por ende la funcionalidad del adipocito y la sensibilidad del receptor a la insulina.

Por otra parte, se sabe que la estriquina, administrada de manera aguda, compite con la glicina por la unión al GlyR (Wojciech D. y cols., 1998; Eynden J. V. y cols., 2009), lo cual minimiza o inhibe su acción. En este trabajo la estriquina fue administrada junto con la glicina a un grupo esperando no observar los efectos de la glicina, lo cual ocurrió con ciertos parámetros, sin embargo en algunos datos no se observó dicha inhibición, esto podría deberse a que la estriquina puede tener efecto aditivo con la glicina durante su administración crónica (Larson A. A. y Beitz A. J., 1988; Eynden J. V. y cols., 2009).

11. CONCLUSIONES

El tratamiento con glicina al 1% disminuyó; El tejido adiposo intra-abdominal, los niveles de presión arterial, triglicéridos, insulina, índice HOMA y leptina en el SM.

El tratamiento con glicina al 1% modifica el perfil de los AG totales, libres y de los fosfolípidos del adipocito y disminuye la hipertrofia del adipocito.

La glicina no modifica la expresión de la LPL y HSL en el adipocito. Sin embargo, la HSL muestra tendencia a disminuir, lo que puede alterar la liberación de AGL a la circulación y como consecuencia menor síntesis hepática de TG.

12. PERSPECTIVAS

- Determinar la actividad de la LPL y HSL en el modelo de SM y los efectos de la glicina en dicha actividad.
- Analizar el efecto de la glicina sobre la expresión de adipocinas en el modelo con SM.
- Analizar el efecto de la glicina sobre la actividad del receptor a la insulina en el adipocito.

13. REFERENCIAS

- Anderson S., Rennke G., Brenner M. Antihypertensive therapy must control glomerular hypertension to limit glomerular injury. *J Hypertens* 1986; 4:S242-S244.
- Baños G., Carvajal K., Cardoso G. Vascular reactivity and effect of serum in a rat model of hypertriglyceridemia and hypertension. *Am J Hypertens* 1997; 10:379-388.
- Baños G., El Hafidi M. Models of experimental hypertension In: Benhagen, E.,F. (Ed.). *NRC Research*, New York 2005; 1-46.
- Baños G., Pérez-Torres I., El Hafidi M. Medical Agents in the Metabolic Syndrome. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008; 6:237-252.
- Bengt V. Dietary fat and insulin action in humans. *Br J Nutri* 2000; 83:S91-S96.
- Benkalfat N. B., Merzouk H., Bouanane S., Merzouk S., Bellenger J., Gresti J., Tessier C., Narce M. Altered adipose tissue metabolism in offspring of dietary obese rat dams. *Clin Sci* 2011; 121:19-28.
- Blancas-Flores G., Alarcón-Aguilar F. J., García-Macedo R., Almanza-Pérez J. C., Flores-Sáenz J. L., Román-Ramos R., ventura-Gallegos J. L., Kumate J., Zentella-Dehesa A., Cruz M. Glycine suppresses TNF-alpha induced activation of NF-KB in differentiated 3T3-L1 adipocytes. *Eur J Pharmacol* 2012; 689:270-277.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 7:248-54.
- Brent E. W. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2792-2800.
- Bulló M., García-Lorda P., Peinado-Onsurbe J., Hernández H., Del Castillo D., Arqilér J. M., Salas-Salvadó J. TNFalpha expression of subcutaneous adipose tissue in obese and morbid obese females: relationship to

adipocyte LPL activity and leptin synthesis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26:652-658.

- Cambray G. R., Zuñiga-Muños A., Guarner Lans V., Díaz-Díaz E., Tena Betancourt C. A., Pérez-Torres I. Modulation of activities of catalase, cu-zn, mn superoxide dismutase, and glutathione peroxidase in adipocyte from ovariectomised female rats with metabolic syndrome. *Int J Endocrinol* 2014; 1-10.
- Carvajal K., Baños G. Myocardial function and effect of serum in isolated heart from hypertriglyceridemic and hypertensive rats. *Clin Exper Hypertens* 2002; 24:235-248.
- Christodoulides C., Lagathu C., Sethi J. K., Vidal-Puig A. Adipogenesis and WNT signalling. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20:16-24.
- Danysz W., Parsons, C.G. Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev* 1998; 50:597-664.
- De Ferranti S., Mozaffarian D. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem* 2008; 54:945-955.
- Díaz-Flores M., Cruz M., Duran-Reyes G., Munguia-Miranda C., Loza-Rodriguez H., Pulido-Casas E., Torres-Ramírez N., Gaja-Rodriguez O., Kumate J., Baiza-Gutman L. A., Hernández-Saavedra D. Oral supplementation with glycine reduces oxidative stress in patients with metabolic síndrome, improving their systolic blood pressure. *Can K Physiol Pharmacol* 2013; 91:855-860.
- Díaz-Villaseñor A., Granados O., González-Palacios B., Tovar-Palacio C., Torre-Villalvazo I., Olivares-García V., Torres N., Tovar AR. Differential modulation of the functionality of white adipose tissue of obese Zucker (fa/fa) rats by the type of protein and the amount and type of fat. *J Nutr Biochem* 2013; 24:1798-1809.
- Dong Z., Venkatachalam M. A., Weinberg J. M., Saikumar P., Patel Y. Protection of ATP-Depleted Cells by Impermeant Strychnine Derivatives. *Am T Patholl* 2001; 158:1021-1028.

- Duncan R. E., Ahmadian M., Jaworski K., Sarkadi-Nagy E., Sook Sul H. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu Rev Nutr* 2007; 27:79-101.
- El Hafidi M., Pérez I., Baños G. Is glycine effective against elevated blood pressure?. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9:26-31.
- El Hafidi M., Pérez-Torres I., Zamora J., Soto V., Carvajal-Sandoval G., Baños G. Glycine intake decreases plasma free fatty acids, adipose cell size, and blood pressure in sucrose-fed rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287:R1387-R1393.
- Emanuela F., Grazia M., Marco R., Maria Paola L., Giorgio F., Marco B. Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. *J Nutr Metab* 2012; 1-7.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México, D.F. Instituto Nacional de Salud Pública; 2012 (Consulta el 10 de Agosto de 2013). Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>
- Field C. J., Ryan E. A., Thomson A. B., Clandinin M. T. Diet fat composition alters membrane phospholipid composition, insulin binding, and glucose metabolism in adipocytes from control and diabetic animals. *J Biol Chem* 1990; 5:11143-11150.
- Flores-Lázaro J. R., Rodríguez-Martínez E., Rivas-Arancibia S. Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. *Rev Med Hosp Gen Méx* 2011; 74:157-165.
- Folch L., Lees M., Sloane-Stanley C. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226:497-509.
- Friedman J. M. Obesity in the new millennium. *Nature* 2000; 404:632-634.
- Gannon M. C., Nuttall J. A., Nuttall F. Q. The metabolic response to ingested glycine. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:1302-1307.
- García-García E., De la Llata-Romero M., Kaufer-Horwitz M., Tusié-Luna M. T., Calzada-León R., Vázquez-Velázquez V., Barquera-Cervera S., Caballero-Romo A. J., Orozco L., Velásquez-Fernández D., Rosas-Peralta M., Barriguet-Meléndez A., Zacarías-Castillo R., Sotelo-Morales J. Grupo

académico para el estudio, la prevención y el tratamiento de la obesidad y el síndrome metabólico de la Comisión Coordinadora de los Institutos Nacionales de Salud, Hospitales Federales de Referencia y Hospitales de Alta Especialidad. Obesity and the metabolic syndrome as a public health problem: a reflection. *Salud Pública Mex* 2008; 50:530-47.

- Goto-Inoue N., Yamanda K., Inagaki A., Furuchi Y., Ogino S., Manabe Y., Setou M., Fujii N. L. Lipidomics analysis revealed the phospholipid compositional changes in muscle by chronic exercise and high-fat diet. *Sci Rep* 2013; 3:1-9.
- Hangsongy L., In Seok L., Ryowon C. Obesity, inflammation and diet. *PGHN* 2013; 16;143-152.
- Haught D., Koepke M., Goldberg-Heavilin L., Griffin A., Cunha T. The essentials of custom diets for laboratory animals. *TestDiet* 2003; 1-8.
- Hocking S. L., Wu L. E., Guilhaus M., Chisholm D. J., James D. E. Intrinsic Depot-Specific Differences in the Secretome of Adipose Tissue, Preadipocytes, and Adipose Tissue-Derived Microvascular Endothelial Cells. *Diabetes* 2010; 59:3008-3016.
- Hong W., Eckel H. R. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297:E271-E288.
- Hong W., Robert H. E. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297:E271-E288.
- Howard A., Tahir I., Javed S., Waring S. M., Ford D., Hirst B. H. Glycine transporter GLYT1 is essential for glycine-mediated protection of human intestinal epithelial cells against oxidative damage. *J Physiol* 2010; 15:995-1009.
- Ja-Young K., Van Der Wall E., Laplante M., Azzara A., Trujillo M. E., Hofmann S. M., Schraw T., Durand J. L., Li H., Li G., Jelicks L. A., Mehler M. F., Hui D. Y., Deshaies Y., Shulman G. I., Schwartz G. J. Scherer P. E. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J Clin Invest* 2007; 117:2621-2637.

- Eynden J. V., Sheen S. A., Nikki H., Sofie C., Bert B., Niels H., Paul S., Robert J. H., Jean-Michele R. Glycine and glycine receptor signaling in non-neuronal cells. *Frontiers in molecular neuroscience* 2009; 2:891-912.
- Jingna D., Shangxin L., Liangqiang Z., Chong X., Geng B., Guoheng X. Lipolysis response to endoplasmic reticulum stress in adipose cells. *J Biol Chem* 2012; 287:6240-6249.
- John T. T., Carole S., Erica M. H., Alan R. K., Constantine L. The central role of perilipin A in lipid metabolism and adipocyte lipolysis. *IUMBM Life* 2004; 56:379-385.
- Junlan Z., Gangjian Q. Adipocyte dysfunction and hypertension. *Am J Cardiovasc Dis* 2012; 2:143-149.
- Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Rep* 2001; 2:282-286.
- Lafontan M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. *Diabetes & Metabolism* 2014; 40:16-28.
- Large V., Reynisdottir S., Langin D., Fredby K., Klannemark M., Holm C., Arner P. Decreased expression and function of adipocyte hormone-sensitive lipase in subcutaneous fat cells of obese subjects. *Journal of Lipid Research* 1999; 40:2059-2065.
- Larson A. A., Beitz A. J. Glycine potentiates strychnine-induced convulsions: role of NMDA receptors. *J Neurosci* 1988; 8:3822-3826.
- Leibel R., Rosenbaum M., Edens N., Hirsch J. In vitro vs in vivo measures of lipolysis and reesterification in human adipose tissue. *Progress in obesity research* 1990; 237-242.
- Locatelli F., Pozzoni P., Del Vecchio L. Renal manifestations in the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:S81-S85.
- Lorenzo C., Williams K., Hunt K., Haffner S. M. The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, International Diabetes federation, and World Health Organization Definitions of the metabolic syndrome as Predictors of incident cardiovascular disease and diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30:8-13.

- Mandeep P. G., Nicole M. A., Prital P., Hawke T. J., Ceddia R. B. dysregulation of lipolysis and lipid metabolism in visceral and subcutaneous adipocytes by high-fat diet: role of ATGL, HSL and AMPL. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010; 298:C961-C971.
- Marcano Y., Torcat J., Ayala L., Verdi B., Lairret C., Maldonado M., De Vegas J. Funciones endocrinas del tejido adiposo. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2006; 4:15-21.
- Matthew R. R., Edward A. U. Laboratory animal diets: a critical part of your in vivo research. *ResearchDiets* 2005; 1-6.
- Mirza M. S. Obesity, Visceral Fat, and NAFLD: Querying the Role of Adipokines in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *ISRN Gastroenterol* 2011; 1-11.
- Moreno M. J., Martínez J. A. El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor. *Anales Sis San Navarra* 2002; 25:29S-39S.
- Nimal R., Ratnayake W. M., Sarwar G., Laffey P. Influence of dietary protein and fat on serum lipids and metabolism of essential fatty acids in rats. *Br J Nutr* 1997; 78:459-467.
- Noriyuki O., Parker J. L., Lugus J. J., Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11:85-97.
- NORMA Oficial Mexicana (NOM-008-SSA3-2010) para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.
- O'Rourke R. Inflammation in obesity-related disease. *Surgery* 2009; 145:255–259.
- Pan C., Bai X., Fan L., Ji Y., Li X., Chen Q. Cytoprotection by glycine against ATP-depletion-induced injury is mediated by glycine receptor in renal cells. *Biochem. J.* 2005; 390:447-453.
- Pérez M. El adipocito como órgano endocrino, implicaciones fisiopatológicas y terapéuticas. *Rev Med* 2007; 15:225-242.
- Pérez-Torres I., El Hafidi M., Pavón N., Infante O., Avila M. C., Baños G. Effect of gonadectomy on the metabolism of arachidonic acid in isolated kidney of a rat model of metabolic syndrome. *Metabolism* 2010; 59:414-423.

- Pérez-Torres I., El Hafidi M., Sánchez C., Baños G. Effect of sugar-induced hypertension in rats on the pattern of serum arachidonic, dihomo-gamma-linoleic and linoleic acids. *Med Sci Res* 1999; 27:847-848.
- Pérez-Torres I., El Hafidi M., Zamora-González J., Infante O., Chavira R., Baños G. Modulation of aortic vascular reactivity by sex hormones in a male rat model of metabolic syndrome. *Life Sci* 2007; 80:2170-2180.
- Pérez-Torres I., Ibarra B., Soria-Castro E., Torrico-Lavayen R., Pavón N., Diaz-Diaz E., Flores C. P., Infante O., Baños G. Effect of glycine on the cyclooxygenase pathway of the kidney arachidonic acid metabolism in a rat model of metabolic syndrome. *CJPP* 2011; 89:899-910.
- Pérez-Torres I., Roque P., El Hafidi M., Diaz-Diaz E., Baños G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free Radic Res* 2009; 43:761-771.
- Pérez-Torres I., Zuñiga Muñoz A., Beltrán-Rodríguez U., Díaz-Díaz E., Martínez-Memije R., Guarnier Lans V. Modification of the liver fatty acids by *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus (Malvaceae) infusion, its, possible effect on vascular reactivity in a metabolic syndrome model. *Clin Exp Hypertens* 2013; 1-9.
- Preiss-Landl K., Zimmermann R., Günter H., Zechner R. Lipoprotein lipase: the regulation of tissue specific expression and its role in lipid and energy metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:471-481.
- Qu, W., Ikejima, K., Zhong, Z., Waalkes, M. P., Thurman, R. G. Glycine blocks the increase in intracellular free Ca²⁺ due to vasoactive mediators in hepatic parenchymal cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G1249-G1256.
- Rajagopal V. S., Siripoom V. McK., Sanjeet G. P., Anuradha P. G., Vasumathi T. R., Ashok B., Farook J. Glutathione synthesis is diminished in patients with uncontrolled diabetes and restored by dietary supplementation with cysteine and glycine. *Diabetes Care* 2011; 34:162-167.
- Ramis J. M., Bibiloni B., Moreira J., García- Sanz J. M., Salinas R., Proenza A. M., Lladó I. Tissue leptin and plasma insulin are associated with

lipoprotein lipase activity in severely obese patients. *J Nutr Biochem* 2005; 16:279-285.

- Ranganathan G., Unal R., Pokrovskaya I., Yao-Borengasser A., Phanavanh B., Lecka-Czernik B., Rasouli N., Kern P. A. The lipogenic enzymes DGAT1, FAS, and LPL in adipose tissue. Effects of obesity, insulin resistance, and TZD treatment. *J Lipid R* 2006; 47:2444-2450.
- Reaven G., Ho H. Sugar-induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am J Hypertens* 1991; 4:610-614.
- Recasens M., Ricart W., Fernández-Real J. M. Obesity and inflammation. *Rev Med Univ Navarra* 2004;48:49-54.
- Rocha V. Z., Folco E. J. Inflammatory concepts of obesity. *Journal of obesity*. 2011; 1-14.
- Rodbell M. Metabolism of Isolated Fat Cells. *J Biol Chem* 1964; 239:375-380.
- Rojas R., Aguilar-Salinas C. A., Jimenez-Corona A., Shamah-Levy T., Rauda J., Avila-Burgos L., Villalpando S., Lazcano Ponce E. Metabolic syndrome in Mexican adults. Results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex* 2010; 52:S11-S18.
- Ruíz-Ramírez A., Ortíz-Balderas E., Cardozo-Saldaña G., Díaz-Díaz E., El Hafidi M. Glycine restores glutathione and protects against oxidative stress in vascular tissue from sucrose-fed rats. *Clin Sci (Lond)* 2014, 126:19-29.
- Saulius Mikalauskas, Mikalauskiene L., Bruns H., Nickkholgh A., Hoffmann K., Longerich T., Strupas K., Büchler M. K., Schemmer P. Dietary glycine protects from chemotherapy-induced hepatotoxicity. *Amino acids* 2011; 40:1139-1150.
- Simon-Szabó L., Kokas M., Mandl J., Kéri G., Csala M. Metformin attenuates palmitate-induced endoplasmic reticulum stress, serine phosphorylation of IRS-1 and apoptosis in rat insulinoma cells. *PLoS One* 2014; 9:1-7.
- Singla P., Bardoloi A., Parkash A. A. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes* 2010; 1:76-88.

- Stradecki H. M., Jaworski D. M. Hyperphagia and leptin resistance in tissue inhibitor of metalloproteinase-2 deficient mice. *J Neuroendocrinol* 2011; 23:269-281.
- Suganami T., Tanaka M., Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocr J* 2012; 59:849-857.
- Tang J., Yan H., Zhuang S. Inflammation and oxidative stress in obesity-related glomerulopathy. *Int J Nephrol* 2012; 1-11.
- Tijssen S., Peters M., Bindels R., Van O. C., Wetzels J. Glycine protection against hypoxic injury in isolated rat proximal tubules: the role of proteases. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:2549–2556.
- Timothy I. W., Joseph W. L. Molecular pharmacology of the glycine receptor chloride channel. *Current Pharmaceutical Design* 2007; 13:2350-2367.
- Tomonari K., Liang J., Wang X., Ichikawa T., Shiomi M., Liu G., Sun H., Kitajima S., Morimoto M., Watanabe T., Yamada N., Fan J. Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic watanabe heritable hyperlipidemic rabbits improves hyperlipidemia and obesity. *J Biol Chem* 2004; 279:7521-7529.
- Tripathi Y. B., Pandey V. Obesity and endoplasmic reticulum (ER) stresses. *Frontiers in immunology* 2012; 3:1-9.
- Tsutsumi K., Lipoprotein lipase and atherosclerosis. *C Vascular Pharmacology* 2003; 1:11-17.
- Wai Y. A., Yoke Y. C., Shih Y. L., So Ha T., Khalid A. K., Sharifah N. A., Syed H. Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally-administered glycyrrhizic acid-treated rats. *Lipids Health Dis* 2009; 8:1-10.
- Weisberg S. P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R. L., Ferrante A. W. Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest* 2013; 112:1796-1808.
- Wen-Jun S., Zaixin Y., Shailja P., Dyron J., Li-Fen L., Kraemer F. B. Hormone-Sensitive Lipase modulates adipose metabolism through PPAR γ . *Biochem Biophys Acta* 2011; 1811:9-16.

- Wojciech D., Parsons C. G. Glycine and N-Methyl-D-Aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev* 1998; 50:598-663.
- World Health Organization 2012 (WHO).
- Xie B., Waters M. J., Schirra H. J. Investigating Potential Mechanisms of Obesity by Metabolomics. *J Biomed Biotechnol* 2012; 1-10.
- Yin M., Zhong Z., Connor H., Bunzendahl H., Finn W., Rusyn I., li X., Raleigh J., Mason R., Thurman R. Protective effect of glycine on renal injury induced by ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282:F417–F423.
- Yngvae G., Per V., Anne D., Frode F. Glysin. *Medisin OG Vitenskap* 2004; 6:773-775.
- Yue J. T., Mighiu P. I., Naples M., Adeli K., Lam T. K. Glycine normalizes hepatic triglyceride-rich VLDL secretion by triggering the CNS in high-fat fed rats. *Circ Res* 2012; 110:1345-1354.
- Zechner R., Zimmermann R., Eichmann T. O., Kohlwein S. D., Haemmerle G., Lass A., Madeo F. Fat signals lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling. *Cell Metab* 2012; 15:279-291.
- Zhong. Z., Wheeler M. D., Li X., Froh M., Schemmer P., Yin M., Bunzendahl H., Bradford B., Lemasters J. L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:550-562.