



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Diferencias dependientes del sexo en el efecto del ejercicio  
en ratas obesas sobre la actividad del eje hipotálamo-  
pituitaria-tiroides y el metabolismo**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**JONATHAN LUIS RAZO LÓPEZ**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. ELIZABETH LORRAINE JAIMES HOY  
CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Datos del jurado y sustentante**

*Alumno (Sustentante)*

Jonathan Luis Razo López  
Biología, Facultad de Ciencias, UNAM

*Tutor (Secretario)*

Dra. Elizabeth Lorraine Jaimes Hoy  
Instituto de Biotecnología, UNAM

*Sinodal 1 (Presidente)*

Dra. Mariana Gutiérrez Mariscal  
Instituto de Biotecnología, UNAM

*Sinodal 2 (Vocal)*

M. en C. Christian Alan Cabello Hernández  
Facultad de Ciencias, UNAM

*Sinodal 3 (Suplente 1)*

Biól. Martín Alejandro Fuentes Cano  
Facultad de Ciencias, UNAM

*Sinodal 4 (Suplente 2)*

Biól. Dulce Jocelyn Bustamante Valdez

Datos del trabajo escrito:

Razo López J. L. (2021). Diferencias dependientes del sexo en el efecto del ejercicio en ratas obesas sobre la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-tiroides y el metabolismo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 64p.

*Para mi madre, Olivia*

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo se realizó gracias al Programa UNAM-PAPIIT IA201519 en el Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular del Instituto de Biotecnología de la UNAM, bajo la dirección de la Dra. Elizabeth Lorraine Jaimes Hoy.

Agradezco infinitamente a mi asesora, Elizabeth Lorraine Jaimes Hoy, por su confianza, paciencia, tiempo y orientación. Por sus atenciones y por hacer de esta etapa académica un lugar agradable para trabajar. Sin su apoyo, esta tesis no habría sido posible.

A todos los miembros del grupo de la Dra. Patricia Ileana Joseph y del grupo del Dr. Jean Louis Charli, por recibirme en el laboratorio. Por su ayuda, consejos, y comentarios, siempre para mejorar como científico y como persona.

A los integrantes de mi comité sinodal: Dra. Mariana Gutiérrez Mariscal, M. en C. Christian Alan Cabello Hernández, Biól. Martín Alejandro Fuentes Cano, Biól. Dulce Jocelyn Bustamante Valdez, por aceptar ser parte de mi jurado y por su disposición para leer mi trabajo y por sus consejos, comentarios y correcciones.

A la Química Fidelia Romero Arteaga por el apoyo técnico en la extracción de RNA y qPCR en el núcleo paraventricular del hipotálamo.

Al Químico Miguel Cisneros Ramírez por el apoyo técnico en los ensayos de radioinmunoensayo para la cuantificación de la concentración sérica de corticosterona y TSH.

Al Dr. José Luis Puente, por abrirme las puertas al taller “La biología a partir de las biomoléculas; Nuevos paradigmas y aplicaciones”. Gracias por esta oportunidad.

A mi alma mater. A la Universidad Nacional Autónoma de México, (UNAM). A la Facultad de Ciencias de la UNAM. Al Instituto de Biotecnología de la UNAM. Por los espacios, las herramientas, las oportunidades, los aprendizajes, las personas y todo lo que ha contribuido en mi formación como persona.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

Agradezco a mi papá, Domingo Razo, y a mis hermanos, Emmanuel e Ivette, por su apoyo incondicional durante toda mi vida. A mi tía Guadalupe López Gaspar y mi tío Alberto Pérez, por siempre preocuparse por mi bienestar.

A mis amigos y amigas de la prepa, Alex, Benja, Joab, Julián, Pau, Ray y Víctor; y de la facultad, Adrián, Dani, Lalo, Luz y Tona. Conocerlos es de lo mejor que me ha brindado la UNAM.

A mis amigos y colegas del instituto, Ana, Karen, Kenya, Coni, Pablo, César, Lau, Miguel, Armando, a todo Guajolocombo, a los tallerines y a los del laboratorio. Gracias por todos los consejos, las tardes, las comidas, las risas y cada momento que hizo más amena mi estancia en el instituto.

A mis amigos y amigas de antaño, Aramis, Carlos, Sol, Jorge y Fani. Por siempre darme ánimos para seguir adelante y por creer en mí.

A Ilse Mariana. Gracias por todo el amor y la confianza, por el apoyo que me has brindado y por cada instante a tu lado durante esta parte de mi vida.

A quienes probablemente esté olvidando mencionar.

A quien esté leyendo este trabajo.

# CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	11
1.1	Obesidad .....	11
1.2	Eje Hipotálamo-Pituitario-Tiroideo.....	11
1.3	Tejido adiposo .....	14
1.4	Actividad física.....	16
2.	ANTECEDENTES .....	17
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
4.	JUSTIFICACIÓN.....	19
5.	HIPÓTESIS .....	19
6.	OBJETIVOS.....	20
7.	METODOLOGÍA.....	21
7.1	Manejo de animales y grupos experimentales .....	21
7.1.1	Primer experimento: Efecto y diferencias dependientes del sexo de una dieta hipercalórica .....	21
7.1.2	Segundo experimento: Efecto y diferencias dependientes del sexo del ejercicio crónico voluntario en ratas con obesidad inducida por una dieta hipercalórica.....	21
7.2	Índice de Masa Corporal.....	22
7.3	Prueba de tolerancia a la glucosa.....	22
7.4	Disección de tejidos.....	22
7.5	Determinación de parámetros bioquímicos en sangre.....	23
7.6	Evaluación de la expresión a nivel de mensajero de TRH en el PVN.....	24
7.7	Análisis estadísticos.....	25
8.	RESULTADOS .....	26
8.1	Experimento 1: Efecto y diferencias dependientes del sexo de una dieta hipercalórica .....	26
8.1.1	Efecto de la dieta hipercalórica sobre el peso corporal y el consumo de alimento .....	26
8.1.2	Efecto de la dieta hipercalórica sobre el índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo.....	29
8.1.3	Efecto de una dieta hipercalórica sobre la prueba de tolerancia a la glucosa.....	31
8.1.4	Efecto de una dieta hipercalórica sobre la concentración de corticosterona, leptina y triglicéridos.....	33

8.1.5 Efecto de una dieta hipercalórica sobre la actividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo .....	34
8.2 Experimento 2: Efecto y diferencias dependientes del sexo del ejercicio crónico voluntario en ratas con obesidad inducida por una dieta hipercalórica.....	35
8.2.1 Ejercicio crónico voluntario .....	35
8.2.2 Efecto de la dieta hipercalórica sobre el peso corporal y el consumo de alimento en respuesta al ejercicio.....	35
8.2.3 Índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo en ratas obesas en respuesta al ejercicio .....	38
8.2.4 Prueba de tolerancia a la glucosa en ratas obesas en respuesta al ejercicio .....	40
8.2.5 Concentración de corticosterona, leptina y triglicéridos en ratas obesas en respuesta al ejercicio.....	42
8.2.6 Actividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo en ratas obesas en respuesta al ejercicio .....	44
9. DISCUSIÓN.....	46
9.1 Efectos de una dieta alta en grasas .....	46
9.2 Segundo experimento .....	48
10. CONCLUSIONES.....	51
11. PERSPECTIVAS .....	51
REFERENCIAS .....	52
ANEXO 1. Ciclo estral.....	60
ANEXO 2: Parámetros metabólicos y del eje HPT del primer experimento. ....	61
ANEXO 3. Distancia recorrida por las ratas ejercitadas en cada dieta, en metros.....	62
ANEXO 4. Parámetros metabólicos del segundo experimento.....	63
ANEXO 5. Parámetros del eje HPT del segundo experimento.....	64



## Lista de abreviaturas

- ABC: Área bajo la curva
- BAT: Tejido adiposo pardo
- BWg: Body Weight Gain
- cDNA: DNA complementario
- DM2: Diabetes mellitus tipo 2
- EEM: Error estándar de la media
- ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
- Ev: Condición de Ejercicio voluntario
- gWAT: Tejido adiposo blanco gonadal
- HFD: Dieta alta en grasas
- HPT: Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo
- IMC: Índice de masa corporal
- iWAT: Tejido adiposo blanco inguinal e interescapular
- NE: Norepinefrina
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- OR: Resistentes a la obesidad
- PTG: Prueba de tolerancia a la glucosa
- PVN: Núcleo paraventricular
- qPCR: PCR en tiempo real o cuantitativa
- RT: Retrotranscripción
- rWAT: Tejido adiposo blanco retroperitoneal
- scWAT: Tejido adiposo blanco subcutáneo
- Sed: Condición Sedentaria
- SNS: Sistema Nervioso Simpático
- T<sub>3</sub>: Triyodotironina
- T<sub>4</sub>: Tiroxina
- THR: Receptores de hormonas tiroideas

T<sub>M</sub>: Temperatura de fusión

TRH: Hormona liberadora de tirotrópina

TSH: Hormona estimuladora de la tiroides

tWAT: Tejido adiposo blanco total.

UCP1: proteína desacopladora de la mitocondria

vWAT: Tejido adiposo blanco visceral (gWAT + rWAT)

WAT: Tejido Adiposo Blanco

## RESUMEN

La prevalencia de la obesidad en el mundo es una situación preocupante, ya que este trastorno reduce la esperanza de vida. Esta condición se define como una acumulación excesiva de grasa a causa de un desequilibrio entre el consumo y el gasto energético (OMS, 2018). El consumo crónico de dietas hipercalóricas y el sedentarismo son factores que contribuyen al desarrollo y el mantenimiento de la obesidad. La producción y liberación de las hormonas tiroideas son controladas por el eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo (HPT), las cuales juegan un papel importante sobre la regulación del balance energético y la tasa metabólica y ejercen sus acciones en múltiples tejidos incluyendo el adiposo. La obesidad puede conducir al incorrecto funcionamiento del eje y del tejido adiposo, desequilibrando la homeostasis energética y aumentando el riesgo de padecer enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad. La actividad física es una de las estrategias más eficientes para reducir el peso y atenuar las alteraciones inducidas por la obesidad.

Esta tesis tiene el propósito de dilucidar las inconsistencias que se han observado en algunos estudios acerca de las diferencias dependientes del sexo en la actividad del eje HPT y el metabolismo energético, bajo un contexto de obesidad y ejercicio, así como de aportar información acerca de lo que sucede en ratas hembras, ya que los datos existentes son muy limitados. Para ello, se realizaron dos experimentos con ratas adultas de la cepa Wistar. En el primero, se emplearon tanto hembras (n=11) como machos (n=13), de los cuales 5 hembras y 6 machos fueron alimentadas con una dieta alta en azúcares y grasas saturadas (HFD; 36% saturadas, 47% grasas monoinsaturadas, 17% poliinsaturadas, 4.6 Kcal/gr) mientras que los animales restantes con una dieta estándar (Chow; 84% grasas saturadas, 16% monoinsaturadas, 3.1 Kcal/gr) durante 10 semanas en condición sedentaria. En el segundo experimento, se emplearon 27 ratas hembras y 27 machos, que fueron alimentadas con una dieta HFD (n=14) o Chow (n=13), y, tras 6 semanas en condición sedentaria, 6 animales elegidos aleatoriamente de cada grupo (Chow o HFD) fueron sometidos a un procedimiento de ejercicio crónico voluntario con rueda giratoria por un periodo de 4 semanas, mientras que los animales restantes permanecieron en condición sedentaria con el alimento pareado al consumido por los animales ejercitados.

Los principales resultados de este estudio mostraron que en las hembras predomina la acumulación de grasa subcutánea y en los machos la grasa visceral bajo un régimen de dieta alta en grasas. En hembras, pero no en machos, el ejercicio redujo la ganancia de peso corporal inducida por HFD y disminuyó el índice de masa corporal, los depósitos de grasa visceral y la concentración de leptina en suero tanto con la dieta estándar como con la dieta alta en grasas. Además, el consumo *ad libitum* de la dieta HFD, comparado con la dieta Chow, redujo la expresión de *Trh* y la concentración de T<sub>4</sub> en machos; redujo la concentración de TSH en hembras y aumentó los niveles de T<sub>3</sub> en machos, pero los redujo en hembras. Por otro lado, el ejercicio crónico voluntario aumentó la expresión de *Trh* en machos con dieta Chow, pero la disminuyó con dieta HFD; aumentó la concentración de TSH en las hembras con dieta Chow y en los machos con dieta HFD; no se observaron cambios en la concentración de T<sub>4</sub>, mientras que T<sub>3</sub> disminuyó en las hembras con dieta Chow. En conclusión, nuestros resultados sugieren que el consumo *ad libitum* de la dieta HFD tiende a

inhibir el funcionamiento del eje HPT de diferente manera dependiendo del sexo, y que el ejercicio crónico voluntario atenúa algunos parámetros asociados a la obesidad en mayor medida en hembras que en machos y modifica la actividad el eje tiroideo de diferente manera dependiendo del sexo y de la dieta.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Obesidad

Desde el descubrimiento del fuego y con ello la posibilidad de cocinar alimentos, favoreciendo la digestión y transformando las sustancias que pudieran ser tóxicas en inocuas, o con la invención de la agricultura y la ganadería, que aumentó el sedentarismo al permitir el establecimiento de pequeños pueblos, los hábitos alimenticios y la actividad física han ido cambiando en la historia de la humanidad<sup>1</sup>. En la actualidad, el fácil acceso a la comida con alto contenido energético y un estilo de vida con bajos niveles de actividad física, han conducido a un aumento en el índice de masa corporal (IMC; una medida del peso relativa a la estatura) superior al normal en todo el mundo<sup>2</sup>. De hecho, la Organización Mundial de la Salud (OMS), estimó que, durante el 2016, el 39% de la población mundial adulta tenía sobrepeso ( $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) y cerca de un 13% padecía obesidad ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ), mientras que, en México, el porcentaje de la población adulta que padecía sobrepeso u obesidad rebasaba el 60%. Estas condiciones se definen como una acumulación excesiva de grasa a causa de un desequilibrio entre el consumo y el gasto energético (OMS, 2018).

Entre los factores que contribuyen al desarrollo y el mantenimiento de la obesidad, se encuentran el consumo crónico de dietas altas en grasas y azúcares (hipercalóricas), poca actividad física, o una alta eficiencia metabólica, la cual promueve una mayor retención de grasas en el tejido adiposo<sup>3,4</sup>. La prevalencia de la obesidad en el mundo y en México es una situación preocupante, ya que además de la discriminación, prejuicios y actitudes negativas que sufren las personas con obesidad<sup>5</sup>, este trastorno incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) o algunos tipos de cáncer, además de reducir la esperanza de vida<sup>6</sup>.

## 1.2 Eje Hipotálamo-Pituitario-Tiroideo

En mamíferos, las hormonas tiroideas participan en múltiples funciones que van desde el desarrollo y el crecimiento, a la conservación de las funciones fisiológicas normales en múltiples tejidos. Estas hormonas tienen una gran influencia sobre el páncreas, el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo en los niveles de glucosa, la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de lípidos y carbohidratos<sup>7</sup>.

La producción y liberación de las hormonas tiroideas son reguladas por el eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo (HPT). Este eje está controlado por la hormona liberadora de tirotropina (TRH, del inglés *Thyrotropin Releasing Hormone*), que es sintetizada por las neuronas del núcleo paraventricular (PVN, del inglés *Paraventricular Nucleus*) del hipotálamo que proyectan hacia la eminencia media, de donde es liberada a la circulación portal<sup>8</sup>. Estas neuronas también son conocidas como neuronas TRHérgicas, de las cuales se ha demostrado que se confinan en el área medio y caudal del PVN en ratas<sup>9</sup>. La TRH llega a la glándula pituitaria anterior, donde estimula la síntesis y liberación de tirotropina, también conocida como la hormona estimuladora de la tiroides (TSH, del inglés *Thyroid Stimulating Hormone*). La glándula tiroidea es estimulada por la TSH, desencadenando una serie de reacciones químicas que forman las hormonas tiroideas tiroxina (T<sub>4</sub>) y triyodotironina (T<sub>3</sub>), que finalmente son liberadas al torrente sanguíneo. A su vez, los niveles circulantes de hormonas

tiroideas regulan negativamente la producción de TRH en el hipotálamo y de TSH en la pituitaria; este proceso es mediado a través del receptor a hormonas tiroideas beta 2 (THRβ2) (Figura 1)<sup>7,10</sup>.

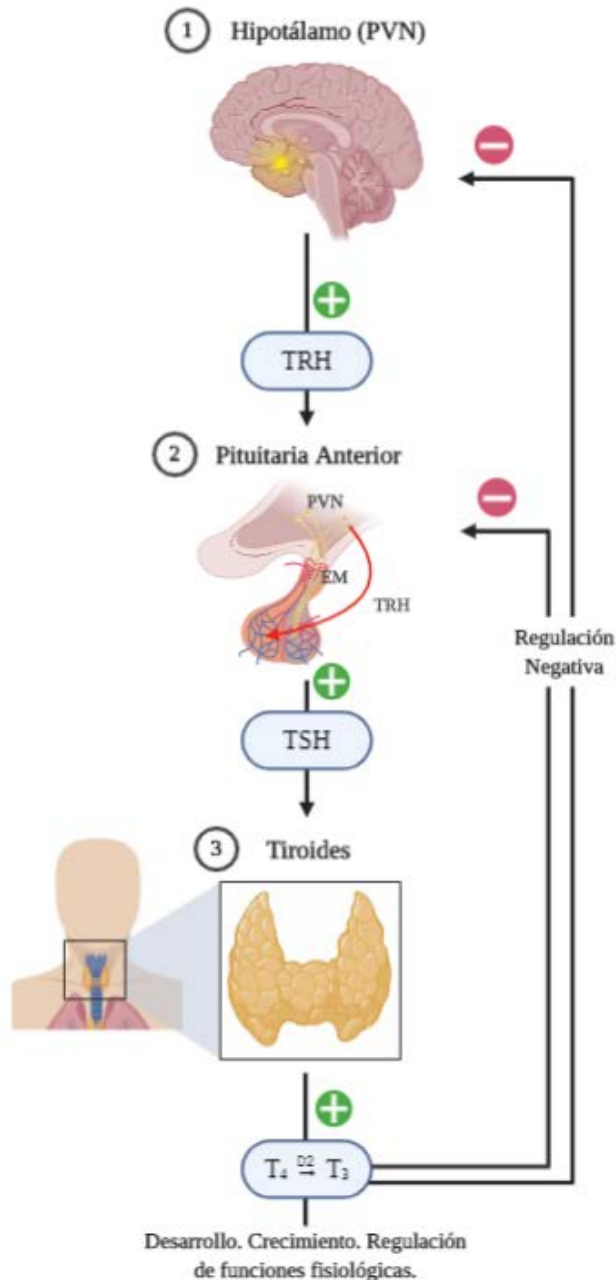


Fig. 1 Eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo en mamíferos. EM, Eminencia Media. Creado en BioRender.

La mayoría de las hormonas tiroideas que viajan por el sistema circulatorio lo hacen unidas a las proteínas séricas prealbúmina, albúmina y globulina fijadora de tiroxina en diferentes proporciones dependiendo de la especie<sup>7</sup>, dejando una disponibilidad muy baja de hormonas libres capaces de entrar a las células de tejidos diana, donde ejercerán sus funciones<sup>11</sup>. Las

hormonas tiroideas tienen acciones directas e indirectas sobre el metabolismo energético, principalmente mediante su interacción con receptores nucleares de hormonas tiroideas  $\alpha$  y  $\beta$  (THR $\alpha$  y THR $\beta$ ), u otros receptores nucleares como el receptor X farnesoide, receptor X retinoide, receptor X del hígado, receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR) y el coactivador PPAR $\gamma$  (PGC1- $\alpha$ )<sup>12</sup> y por la presencia de transportadores de hormonas tiroideas en la membrana plasmática.

En humanos, más del 70% de las hormonas tiroideas son liberadas en forma de T<sub>4</sub> y el resto en T<sub>3</sub><sup>10</sup>, mientras que en roedores, la proporción de ambas hormonas es similar<sup>11</sup>. T<sub>4</sub> experimenta una conversión a T<sub>3</sub>, aumentando de este modo la afinidad por unirse a los receptores de la hormona tiroidea; este proceso es mediado por las desyodasas a nivel celular. Las desyodasas son enzimas que se expresan diferencialmente entre varios tipos celulares y tejidos, que regulan la concentración y disponibilidad de las hormonas tiroideas. La conversión de T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub> es llevada a cabo por la desyodasa D2 y en menor proporción por D1, a través de la remoción de un átomo de yodo del anillo externo de T<sub>4</sub>. Por otro lado, la desyodasa D3 es la encargada de convertir a T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> a hormonas biológicamente menos activas: rT<sub>3</sub> y T<sub>2</sub> respectivamente<sup>11,13</sup>.

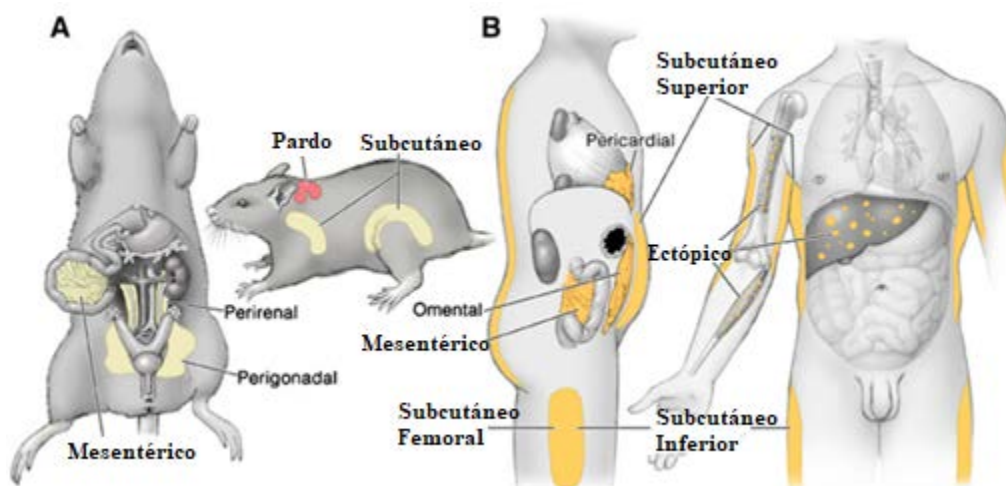
En el páncreas, las hormonas tiroideas regulan la producción de insulina mediante THR $\alpha$ 1 y THR $\beta$ 1<sup>12</sup>. Se ha asociado la inactivación del gen de D2 con resistencia a la insulina y obesidad inducida por dieta en ratones<sup>14</sup>. En el hígado, las hormonas tiroideas tienen un fuerte impacto sobre la homeostasis de lípidos; esto se logra regulando la sensibilidad a la insulina en el hígado o la gluconeogénesis<sup>12</sup>. El músculo esquelético es otro blanco importante de las hormonas tiroideas, que participa en el gasto energético y la homeostasis de glucosa y de lípidos<sup>15</sup>. En este tejido, las hormonas tiroideas estimulan la función contráctil, aumentan la biogénesis mitocondrial, promueven una respuesta apropiada a la insulina y el metabolismo y eliminación de la glucosa<sup>16</sup>. En el tejido adiposo, las hormonas tiroideas juegan un papel importante sobre la regulación del balance energético y la tasa metabólica mediante la síntesis, degradación y movilización de lípidos o estimulando la termogénesis adaptativa<sup>7,12</sup>.

Las neuronas TRHérgicas del PVN pueden ser estimuladas o inhibidas por impulsos neuronales de diferentes partes del cerebro que reciben información del estado nutricional, el ritmo circadiano del individuo, o el descenso de temperatura del exterior<sup>10</sup>. Además, el eje HPT está regulado multifactorialmente en varios pasos de la síntesis de hormonas tiroideas, como por la expresión de las desyodasas que convierten T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub><sup>11</sup> o la expresión y actividad de la enzima degradadora de TRH (Piroglutamil Peptidasa II; PPII)<sup>17</sup>. Se ha documentado que el eje es inhibido por la deficiencia energética como en el ayuno<sup>18</sup>, por la falta de yodo<sup>19</sup>, por el aumento en los niveles circulantes de corticosterona<sup>20</sup> o por enfermedades como el síndrome de enfermedad no tiroidea<sup>21</sup>. Por otra parte, se ha observado en roedores un incremento en la actividad del eje HPT en situaciones de demanda de energía como el ejercicio voluntario<sup>22</sup>, o el frío<sup>23</sup>, y en condiciones de exceso energético, como en animales alimentados con dieta hipercalórica<sup>24,25</sup>. El incorrecto funcionamiento del eje puede conducir a un desequilibrio en la homeostasis energética, por lo que su estudio es relevante para atender los problemas de la obesidad.

### 1.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo es un blanco importante de las hormonas tiroideas, que participa en múltiples funciones vitales para los mamíferos, como la lactancia, el control de la presión sanguínea, la respuesta inmune, la regulación del estado tiroideo y reproductivo y la regulación del balance energético. Esto es posible gracias a la secreción de neuropéptidos, hormonas y citocinas, y su estrecha comunicación con el sistema nervioso y con otros órganos<sup>13,26,27</sup>.

Este tejido no tiene un lugar o una forma anatómica específica (Figura 2); se contiene en varios depósitos en dos compartimentos del cuerpo: debajo de la piel o depósitos subcutáneos, y rodeando los órganos o depósitos viscerales<sup>27</sup>. Se han identificado tres tipos de tejido adiposo, cada uno con morfología y función fisiológica diferente, y marcadores genéticos específicos.



**Fig. 2 Comparación de los mayores depósitos de tejido adiposo entre roedores y humanos.** Aunque la disposición anatómica difiere un poco, el impacto metabólico es similar. Tomado y modificado de Tchkonja et al., 2014.

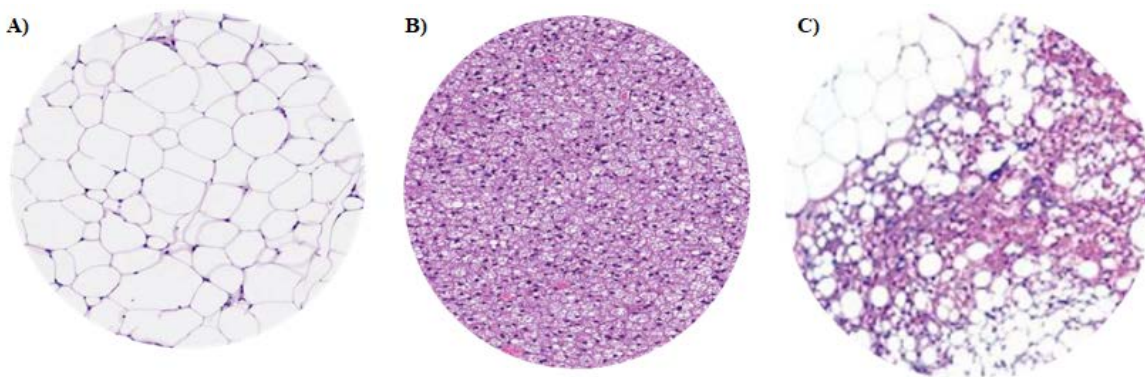
En primer lugar, el tejido adiposo blanco (WAT, del inglés *White Adipose Tissue*), el mayor reservorio de energía (Figura 3A). Además de participar en la respuesta inmune y en la lactancia, cumple un papel esencial para la supervivencia, ya que almacena la energía en forma de lípidos que pueden ser sintetizados y liberados en tiempos prolongados de ayuno o durante la enfermedad. También influye en el metabolismo de la glucosa, ácidos grasos y triglicéridos, y funciona como soporte para otros tejidos<sup>27,29</sup>. Aunque se conforma por fibroblastos, células endoteliales vasculares y células inmunes, sus principales componentes son los precursores de adipocitos y los adipocitos blancos<sup>26</sup>. Los adipocitos blancos se caracterizan por tener una gran vesícula lipídica; como consecuencia, el núcleo es desplazado a la periferia al igual que las mitocondrias, que también son reducidas en número y tienen una menor expresión de la proteína desacopladora de la mitocondria (UCP1, del inglés *Uncoupling Protein 1*)<sup>27</sup>, proteína de la cual se habla con más detalle en el siguiente párrafo. Además, los adipocitos secretan leptina, una hormona involucrada en la regulación de la alimentación y el balance energético. La concentración de leptina en el plasma correlaciona positivamente con el volumen de los depósitos de tejido adiposo<sup>30</sup>.



En segundo lugar, el tejido adiposo pardo (BAT, del inglés *Brown Adipose Tissue*), que ayuda a mantener la homeostasis energética mediante la termogénesis adaptativa (Figura 3B). Hasta hace poco más de una década, se comenzó a reconocer la actividad del BAT en humanos adultos, pues se pensaba que este tejido desaparecía tras los primeros meses del nacimiento o se reducía a un tamaño que lo volvía funcionalmente inviable<sup>31-33</sup>. La termogénesis de BAT no sólo es activada por el frío, sino que también se ha visto en ratas que puede ser inducida por una dieta hipercalórica<sup>34</sup>, jugando así un papel importante en la regulación del balance energético. Es un tejido altamente vascularizado y enervado, compuesto por células mesenquimales perivasculares, preadipocitos y adipocitos pardos<sup>35</sup>. Los adipocitos pardos tienen muchas vesículas lipídicas pequeñas y son ricos en mitocondrias esparcidas en el citosol. Se caracterizan por tener una alta expresión y actividad de UCP1, a diferencia de los adipocitos blancos. Esta proteína se localiza en la membrana interna de la mitocondria, donde desacopla el gradiente de protones de la fosforilación oxidativa, impidiendo así la síntesis de ATP y, en su lugar, liberando la energía en forma de calor<sup>13,27</sup>.

Las hormonas tiroideas trabajan en conjunto con el sistema nervioso simpático (SNS), facilitando la termogénesis adaptativa<sup>36</sup>, ya que la expresión de UCP1 está regulada sinérgicamente por norepinefrina (NE) y T<sub>3</sub><sup>37</sup>. Las catecolaminas epinefrina y NE aumentan la conversión de T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub>, al estimular la activación de una desubiquitinasa que actúa sobre la D2, aumentando la actividad de D2 y los niveles de T<sub>3</sub> en el núcleo<sup>38</sup>. Adicionalmente, las hormonas tiroideas a través de sus receptores THR $\beta$  regulan la expresión de UCP1 en el BAT y THR $\alpha$  regula la sensibilidad de la estimulación adrenérgica<sup>39</sup>. Los nervios simpáticos estimulan adrenérgicamente a los adipocitos pardos, permitiendo que capturen glucosa y ácidos grasos para generar calor a través de la acción de UCP1, a la vez que disminuyen la disponibilidad del sustrato evitando que se almacene en el WAT<sup>3,40,41</sup>.

Finalmente, el tejido adiposo beige (Figura 3C). Son pequeñas islas celulares que surgen dentro de WAT con un fenotipo similar al de los adipocitos de BAT, pero con la expresión de marcadores genéticos distintos a los adipocitos blancos o pardos. Se denominan adipocitos beige o brite (del inglés *brown in white*) y se distinguen de los adipocitos blancos porque tienen algunas vesículas lipídicas, pero no tantas como los adipocitos pardos, son metabólicamente más activos que los adipocitos blancos y poseen una mayor expresión de UCP1 a nivel mRNA. El proceso que hace posible la aparición de estos adipocitos recibe el nombre de pardeamiento (*browning*), y es favorecido por condiciones particulares como el frío, la estimulación  $\beta$ -adrenérgica o el ejercicio<sup>42-44</sup>. Aún se desconoce si este evento se debe a la conversión de los adipocitos blancos o a la diferenciación de las células progenitoras residentes del WAT, sin embargo, se ha observado que las hormonas tiroideas tienen una gran influencia regulando la transcripción de varios genes asociados a este proceso, como *PRDM16* y *CIDEA*<sup>45,46</sup>. El surgimiento de los adipocitos beige dentro del WAT visceral (vWAT) ha sido asociado a un incremento en la sensibilidad a la insulina y resistencia a la obesidad, por lo que su aprovechamiento es una alternativa de mucho interés para enfrentar la obesidad<sup>45,47</sup>.



**Fig. 3. Cortes histológicos de tejido adiposo.** A) Tejido Adiposo Blanco; B) Tejido Adiposo Pardo; C) Tejido Adiposo Beige. Imágenes tomadas y modificadas de <https://www.shutterstock.com>

La obesidad da lugar a la expansión del WAT, que es consecuencia de un aumento en el tamaño de los adipocitos y la cantidad de preadipocitos<sup>48</sup>. Este crecimiento anormal altera la distribución y la función del tejido adiposo, situación que ha sido asociada a las enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad, como la resistencia a la insulina, DM2 o afecciones del síndrome metabólico como la esteatosis hepática<sup>3</sup>.

#### ***1.4 Actividad física***

La pérdida de peso en individuos con obesidad está relacionada a mejoras importantes sobre la salud, por lo que se han hecho esfuerzos clínicos para inducir la reducción de masa corporal. Las estrategias más eficientes son los tratamientos con fármacos, la cirugía bariátrica, o las modificaciones en el estilo de vida que incluyen cambios en la dieta y en la actividad física<sup>49</sup>. La actividad física es el movimiento corporal producido por la contracción del músculo esquelético que aumenta el gasto energético<sup>50</sup>. Se ha observado que la actividad física tiene múltiples beneficios sobre el estado de la salud mental y físico, que van desde disminuir la depresión y el estrés psicológico o promover mejoras cognitivas, a atenuaciones del síndrome metabólico o el aumento de la esperanza de vida<sup>51,52</sup>. Estos efectos son posibles gracias a, entre otros, a la secreción de proteínas que regulan la comunicación entre el músculo y otros tejidos, como el adiposo. Algunos ejemplos de estas proteínas, conocidas como miocinas, son las interleucinas IL-6, -8, y -15, el factor de crecimiento del fibroblasto 21 (FGF21) o fibronectina tipo III con 5 dominios (FNDC5)<sup>53</sup>.

La actividad física es un elemento fundamental en la vida diaria de los animales. Se produce de manera obligada, como en la búsqueda de comida o la huida de depredadores; o de manera facultativa cuando no es requerida directamente para la supervivencia o el mantenimiento de la homeostasis<sup>54</sup>. La actividad física facultativa puede variar en su intensidad y duración. Dentro de esta categoría se encuentra el ejercicio voluntario, que abarca movimientos corporales repetitivos con el fin de mejorar o mantener la aptitud física; y el entrenamiento de resistencia, diseñado para aumentar la fuerza y la resistencia muscular<sup>50</sup>. Comparado con el ejercicio voluntario, el entrenamiento de resistencia aumenta la producción de hormonas relacionadas al estrés<sup>22,55,56</sup>, lo que puede generar un sesgo si se desea evaluar el efecto del ejercicio en roedores sobre el eje HPT, ya que altos niveles de glucocorticoides pueden inhibir la actividad del eje<sup>57,58</sup>.

## 2. ANTECEDENTES

Numerosos estudios sugieren que los estrógenos contribuyen fuertemente en la función y distribución sexo-específica del tejido adiposo en humanos<sup>59-62</sup>. Estos grupos de investigación reportaron que los hombres tienden a acumular más vWAT en la cavidad abdominal, mientras que en las mujeres predomina la acumulación de WAT subcutáneo (scWAT) en las regiones femoral y glútea; pero tras la menopausia, las mujeres adquieren una distribución de grasa semejante a la del hombre. Esto es importante ya que los mecanismos que subyacen al crecimiento de vWAT tienen una estrecha relación con complicaciones cardiovasculares, mientras que el aumento de la masa de scWAT puede conferir protección contra desórdenes metabólicos<sup>63,64</sup>. Sobre el BAT, se ha reportado que la distribución es similar entre hombres y mujeres, sin embargo, las mujeres almacenan más grasa parda y como consecuencia poseen una tasa metabólica más alta de este tejido<sup>65</sup>. En roedores también se han documentado patrones de distribución sexo-específicos de tejido adiposo blanco, especialmente la tendencia a conservar o aumentar el scWAT en hembras<sup>66-70</sup>. Del mismo modo, la distribución de BAT es similar entre roedores de ambos sexos, y al igual que en humanos, también se ha observado mayor acumulación de grasa parda en las hembras que en los machos respecto al peso corporal<sup>71</sup>, además de una mayor capacidad termogénica y oxidativa<sup>72</sup>.

Más evidencia sustenta que los estrógenos brindan protección contra factores de riesgo de la DM2, del síndrome metabólico y de enfermedades cardiovasculares; como la hiperinsulinemia, hiperglucemia, dislipidemia, o la ganancia de peso total y de WAT abdominal en mujeres<sup>73,74</sup>. Asimismo, se ha reportado que en ratas<sup>56,75</sup> y ratones hembras<sup>76,77</sup> bajo un régimen de dieta alta en grasas, las hormonas sexuales también tienen una notable influencia sobre estos desórdenes metabólicos.

Han sido ampliamente documentadas las diferencias relacionadas al sexo de la actividad del eje HPT en ratas. Por ejemplo, en múltiples estudios, se ha registrado que los machos poseen mayores concentraciones de TSH y T<sub>4</sub> en suero, pero niveles inferiores de T<sub>3</sub> comparados con las hembras<sup>78-83</sup>. Sin embargo, otros estudios<sup>84-87</sup> han generado resultados discordantes. A nivel hipotalámico, no se han encontrado diferencias del contenido de TRH<sup>84,86</sup> ni de mRNA de TRH<sup>88</sup> entre animales de ambos sexos. A nivel pituitario, se han reportado mayores niveles de TSH<sup>80,85</sup> y de mRNA de TSH $\beta$ <sup>88</sup> en ratas machos jóvenes comparados con hembras de la misma edad, pero también se ha reportado lo contrario<sup>83</sup> o no se han encontrado diferencias<sup>86</sup>.

La actividad del eje tiroideo también ha sido estudiada bajo un contexto de obesidad. Algunos estudios muestran que en ratas macho con esta condición aumenta la expresión del mRNA de *Trh* hipotalámico<sup>24,25</sup> mientras que otro estudio observó que la expresión disminuye<sup>89</sup>. Se ha encontrado un aumento en los niveles séricos de TSH<sup>24,90</sup>, pero también se ha reportado una reducción<sup>89,91</sup>. Aunque Araujo *et al.* (2010) y Jaimes-Hoy *et al.* (2019) reportan que no hay cambios en los niveles séricos de T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub>, Perello *et al.* (2010) observaron un aumento en la concentración de estas hormonas y Shao *et al.* (2014) una disminución de T<sub>4</sub>. En hembras se ha observado que aumentan los niveles de T<sub>4</sub>, pero no hay cambios en la

concentración sérica de T<sub>3</sub> ni de TSH, ni en la expresión del mRNA de TRH hipotalámico<sup>89</sup>. Una comparación entre ratas obesas Zucker machos y hembras, alimentadas con diferentes dietas altas en grasas, no reportó diferencias en los niveles séricos de T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub><sup>92</sup>

Se ha reportado que el ejercicio crónico voluntario por 14 días en ratas macho con dieta estándar, disminuyen los niveles del mRNA de *Trh* en PVN y de TSH en suero<sup>22</sup>, mientras que los animales sedentarios con alimento pareado al grupo de ejercicio disminuyeron los niveles de T<sub>3</sub> y aumentaron los de corticosterona. Otro estudio reportó que el ejercicio crónico voluntario por 14 días aumentó la expresión de *Trh* en el PVN y no afectó los niveles de TSH en ratas macho<sup>20</sup>. Ambos estudios coinciden en que el ejercicio no alteró los niveles de T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> en suero y Uribe *et al.* (2014) que la expresión de *Trh* en PVN disminuye. En hembras, se ha reportado que el ejercicio crónico voluntario induce un aumento en la concentración de TSH y T<sub>4</sub> en suero<sup>20</sup>.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Aunque se han documentado diferencias por la dieta en la actividad del eje HPT en ratas en ambos sexos, o bajo un contexto de ejercicio, la comparación entre los resultados de los diferentes estudios con el mismo paradigma se vuelve inconsistente. Además, los artículos reportados con estos tratamientos son limitados y la mayoría han sido llevados a cabo con ratas macho como sujetos experimentales. Derivado de la falta de información se plantea la siguiente pregunta: ¿Cuáles son los efectos del ejercicio crónico en individuos obesos de ambos sexos sobre la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-tiroideo y el metabolismo energético?

### **4. JUSTIFICACIÓN**

La obesidad representa un problema de salud mundial. Esta condición puede conducir al incorrecto funcionamiento del eje tiroideo y del tejido adiposo, desequilibrando la homeostasis energética y aumentando el riesgo de padecer enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad y reduciendo la esperanza de vida. Por otro lado, la actividad física es una de las estrategias más eficientes para reducir el peso y atenuar las alteraciones inducidas por la obesidad. En esta tesis se pretende contribuir al incremento del conocimiento sobre la respuesta metabólica y del eje HPT ante un protocolo de ejercicio crónico voluntario en condiciones de obesidad inducida por una dieta alta en grasas en ratas de ambos sexos, ya que machos y hembras son dos sistemas biológicos muy diferentes, por lo que necesitan ser estudiados por separado. El estudio del eje tiroideo bajo un contexto de obesidad y ejercicio en ambos sexos es relevante ya que puede llevar al refinamiento de las técnicas y estrategias empleadas en el tratamiento de la obesidad.

### **5. HIPÓTESIS**

La dieta alta en grasas inducirá obesidad y modificará la función basal del eje tiroideo en ambos sexos. Sin embargo, los machos tendrán mayor volumen de grasa visceral, mientras que las hembras acumularán más grasa subcutánea y tejido adiposo pardo. La disfunción del eje tiroideo, en conjunto con el aumento de grasa visceral en machos, los hará más susceptibles a desarrollar marcadores del síndrome metabólico, como la hiperinsulinemia e hiperglucemia basal, dislipidemia o la ganancia de peso total, mientras que el aumento de la grasa subcutánea y parda conferirá protección en las hembras. El ejercicio activará el eje tiroideo y podría mejorar el metabolismo energético y atenuar las alteraciones inducidas por la obesidad, en mayor medida en las hembras que en los machos.

## 6. OBJETIVOS

### Objetivo General

Estudiar los efectos de una dieta alta en grasas y del ejercicio voluntario sobre la actividad del eje HPT y algunos parámetros del metabolismo en ratas adultas machos y hembras.

### Objetivos Particulares

- Evaluar los efectos de una dieta alta en grasas y del ejercicio sobre el consumo calórico y la ganancia de peso total, así como de diferentes depósitos de grasa y la morfometría.
- Evaluar los efectos de una dieta alta en grasas y del ejercicio sobre algunos marcadores metabólicos asociados a la obesidad en suero (leptina, triglicéridos, glucosa e insulina).
- Evaluar los efectos de una dieta alta en grasas y del ejercicio sobre algunos marcadores de la actividad del eje HPT, a nivel mRNA (TRH en el PVN medio posterior) y en suero sanguíneo (TSH, T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub>).
- Analizar si existen diferencias dependientes del sexo.

## 7. METODOLOGÍA

### ***7.1 Manejo de animales y grupos experimentales***

Ratas hembras y machos adultas (2-3 meses de edad y 260-330 gr) de la cepa Wistar obtenidas del bioterio del Instituto de Biotecnología fueron alojadas en pares, en cuartos distintos de acuerdo a su sexo, en condiciones controladas de temperatura de  $22 \pm 1$  °C y un ciclo de luz/oscuridad de 12h (7:00 AM – 7:00 PM). Tuvieron libre acceso a alimento y agua durante todo el proyecto, excepto cuando se indica lo contrario. Todos los animales fueron cuidados de acuerdo a las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y los protocolos de la guía de *National Institute of Health* para uso y cuidado de animales de laboratorio, y el protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto (Proyecto No. 318). Al término de los experimentos, los animales fueron sacrificados por decapitación en una guillotina con una navaja afilada por una persona experimentada, ya que es un procedimiento rápido y con el menor sufrimiento para provocar la muerte en animales pequeños sin contaminar tejidos con químicos como gases o anestésicos<sup>93</sup>.

#### ***7.1.1 Primer experimento: Efecto y diferencias dependientes del sexo de una dieta hipercalórica***

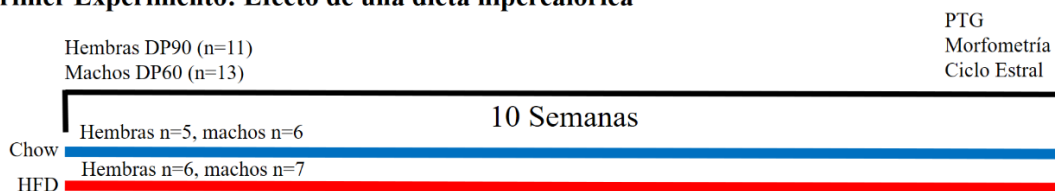
El primer experimento se realizó con ratas hembras (n=11) y machos (n=13). Aleatoriamente, 6 hembras y 7 machos fueron alimentados con una dieta alta en grasas (HFD; 45% de grasa del total de las calorías, de las cuales, 36% son saturadas, 47% grasas monoinsaturadas y 17% poliinsaturadas, 4.6 Kcal/gr; Envigo TD.06415), mientras que las 5 hembras y los 6 machos restantes fueron alimentados con una dieta estándar (Chow; 84% grasas saturadas, 16% monoinsaturadas, 3.1 Kcal/gr; Envigo 2018SX). Todos los animales de este experimento se mantuvieron en condición sedentaria y la duración total fue de 10 semanas (Figura 4, diagrama superior). El peso de las ratas fue registrado cada semana y el consumo de alimento cada dos días. Dado que los animales se encontraban en parejas, el consumo individual de cada rata fue promediado a partir del consumo total de ambos animales.

#### ***7.1.2 Segundo experimento: Efecto y diferencias dependientes del sexo del ejercicio crónico voluntario en ratas con obesidad inducida por una dieta hipercalórica***

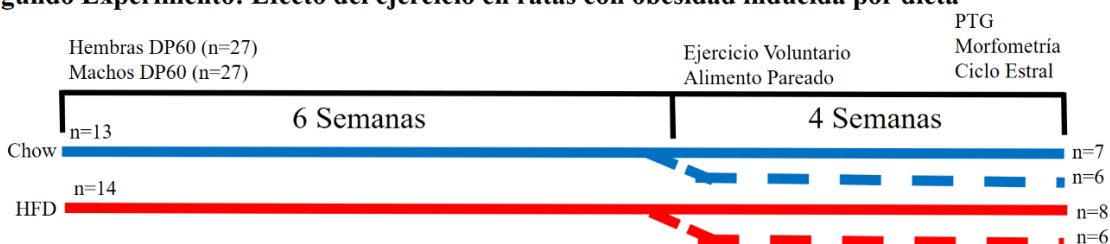
El segundo experimento se realizó con ratas hembras (n=27) y machos (n=27). Elegidos al azar, 14 animales de cada sexo fueron alimentados con una HFD, mientras que los otros 13 con la dieta Chow. Tras seis semanas en condición sedentaria (Sed), 6 animales de cada dieta, elegidos al azar, fueron sometidos a un protocolo de ejercicio crónico voluntario (Ev), mientras que el resto permaneció en condición sedentaria (Figura 4, diagrama inferior). En esta primera fase del experimento, el peso de las ratas fue registrado cada semana y el consumo de alimento cada dos días. Durante las siguientes cuatro semanas en las cuales se llevó a cabo el protocolo de ejercicio, cada noche los animales fueron introducidos individualmente en cajas de acrílico con una rueda giratoria de 25 cm de diámetro y un contador magnético (AccuScan Instruments Inc) el cual marca el número de vueltas que corre cada rata, o individualmente en cajas de acrílico sin rueda giratoria (grupos sedentarios). El número de vueltas se multiplicó por la circunferencia de la rueda para obtener la distancia recorrida en metros. Durante el día, las ratas se mantuvieron alojadas con sus respectivas compañeras de caja sin ningún estrés adicional. Se ha reportado que el ejercicio voluntario

induce una disminución del consumo de alimento de aproximadamente el 20%<sup>22</sup>, por lo tanto, para evaluar los efectos del ejercicio, se pareó el alimento ofrecido al grupo sedentario de acuerdo a la cantidad de alimento consumido por el grupo de ejercicio. En esta fase del experimento se registró diariamente el alimento consumido y las revoluciones de la rueda por cada rata.

### Primer Experimento: Efecto de una dieta hipercalórica



### Segundo Experimento: Efecto del ejercicio en ratas con obesidad inducida por dieta



**Fig. 4. Diseño de los dos experimentos y línea del tiempo.** DP: Día Postnatal. PTG: Prueba de tolerancia a la glucosa. La línea continua indica condición sedentaria y la punteada condición de ejercicio voluntario.

### 7.2 Índice de Masa Corporal

Tres días antes del sacrificio se pesaron las ratas y se midió la longitud corporal (medido desde la nariz hasta la base de la cola) para calcular el índice de masa corporal (IMC) de los animales, (Ecuación 1):

$$\text{IMC} = [\text{Peso (g)} / \text{Longitud (cm)}^2]$$

Ecuación 1

### 7.3 Prueba de tolerancia a la glucosa

Tres días antes del sacrificio, se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa (PTG), los animales se sometieron a un ayuno previo de 16h. La glucosa se administró vía intraperitoneal (2 g/kg de peso) y se tomaron muestras de sangre de la punta de la cola de las ratas al tiempo cero, 30, 60 y 120 min, de las cuales se cuantificó la concentración de glucosa utilizando tiras reactivas (Roche) y la concentración de insulina por técnicas inmunométricas, como se explica más adelante.

### 7.4 Disección de tejidos

El sacrificio se llevó a cabo en un horario de 9:00 AM a 12:00 PM. Se colectó la sangre troncal y posteriormente fue centrifugada a 825 x g por 25 minutos para obtener el suero, el



cual se guardó en alícuotas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para el posterior análisis de hormonas. En las ratas hembra se realizaron frotis vaginales para determinar el ciclo estral por colpocitología (**Anexo 1**). Los cerebros fueron removidos inmediatamente y colocados cuidadosamente sobre hielo seco; una vez congelados se almacenaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  para la purificación de mRNA y el análisis de la expresión de *Trh* en el PVN. Se pesaron en fresco los depósitos de WAT y BAT: el vWAT de la región perigonadal (gWAT) y retroperitoneal (rWAT), y el scWAT de la zonainterescapular (iWAT), así como el BAT del área interescapular, y fueron almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$ . El WAT total (tWAT) es la suma de los depósitos de vWAT y scWAT.

### ***7.5 Determinación de parámetros bioquímicos en sangre***

Un radioinmunoensayo es una técnica inmunométrica en la que un antígeno sin marcar y el mismo antígeno marcado radioactivamente compiten por unirse a una cantidad limitada de un anticuerpo específico. Se puede cuantificar el antígeno de interés gracias a su desplazamiento por el antígeno marcado radioactivamente en la unión al anticuerpo; es decir, la concentración del antígeno de interés está inversamente relacionada a la concentración del antígeno marcado radioactivamente<sup>94</sup>.

Con ayuda del Q. Miguel Cisneros, se realizaron radioinmunoensayos para cuantificar la concentración sérica de corticosterona y TSH utilizando los reactivos y protocolos del *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases* (rango de sensibilidad 2.5-80 ng/ml) y corticosterona usando los reactivos de Merck-Millipore, PerkinElmer, y Sigma (rango de sensibilidad 20-2000 ng/ml).

En un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*), un antígeno de interés reacciona con un anticuerpo (que recubre a las cavidades de los pocillos) y con conjugado enzimático de cantidad constante. Los anticuerpos no unidos son eliminados mediante un lavado y se agrega el sustrato de la enzima para su reacción, permitiendo la cuantificación del antígeno de interés gracias a una señal detectable, comúnmente un cambio de color<sup>94</sup>. La intensidad del color es proporcional a la cantidad presente de la enzima conjugada y se relaciona inversamente a la cantidad del antígeno de interés en la muestra.

Las concentraciones séricas de  $\text{T}_4$  total (rango de sensibilidad 1-30  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) y  $\text{T}_3$  total (rango de sensibilidad 0.75-10 ng/ml), fueron cuantificados utilizando un kit de ELISA (Diagnóstica Internacional, Zapopan, JAL., México) siguiendo las instrucciones del fabricante, excepto por una modificación: se adicionaron 25  $\mu\text{L}$  de suero de rata hipotiroidea a los calibradores de la curva estándar de acuerdo a como se recomienda en la literatura<sup>95</sup>. Brevemente, esto se hizo porque muchos kits comerciales son desarrollados para suero humano, por lo que la afinidad y capacidad de las proteínas de unión son inferiores en estudios con suero de roedor; esto se corrige adicionando suero de rata hipotiroidea a los calibradores de la curva estándar<sup>95</sup>. La concentración sérica de leptina (rango del ensayo 0.2-12.8 ng/ml) e insulina (rango de sensibilidad 0.1-12.8 ng/ml) se midió usando kits de ELISA de Crystal Chem Inc. (Downers Grove, IL) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las absorbancias se leyeron con un lector de micropozos Multiskan FC (ThermoFisher Scientific) a 450 nm durante los primeros 15 minutos que las reacciones se detuvieron.

La cuantificación de triglicéridos se realizó empleando un método enzimático colorimétrico. Este método se basa en la hidrólisis enzimática de los triglicéridos del suero para producir glicerol y ácidos grasos libres mediante la acción de la lipoproteína lipasa. El glicerol liberado es medido por un sistema de reacción enzimático acoplado. La última reacción del procedimiento da un color púrpura/rojo cuya absorbancia es medida a 530-550 nm.

Los experimentos 1 y 2 fueron analizados independientemente, y para cada uno, las muestras de machos y hembras fueron medidas por duplicado dentro de un solo ensayo.

### **7.6 Evaluación de la expresión a nivel de mensajero de TRH en el PVN**

A partir de los cerebros congelados, se realizaron tres cortes coronales de 100  $\mu\text{m}$  en un criostato (Bregma -1.44 a -1.8 mm)<sup>96</sup> para obtener el PVN medio-posterior. Tras los cortes, la zona del PVN medio-posterior se obtuvo utilizando un sacabocado con un diámetro de 1 mm (Fine Science Tools, Foster City, CA). Los cortes del sacabocado fueron depositados en microtubos de 1.5 mL y congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la extracción del RNA. El RNA total del PVN medio posterior se obtuvo por el método de tiocianato de guanidina<sup>97</sup> y con ayuda de la Q. Fidelia Romero. Luego, se cuantificó el RNA y verificó su pureza utilizando un espectrofotómetro Nanodrop (Thermo Scientific); las preparaciones mostraron una relación de absorbancia de 260/230 y 260/280 nm superiores a 1.5. Posteriormente se verificó la integridad del RNA corriendo alícuotas sobre un gel de agarosa al 1%. Se llevó a cabo una retrotranscripción (RT) para obtener el DNA complementario (cDNA) a partir de 300 ng de RNA extraído como se ha descrito previamente<sup>98,99</sup>. Brevemente, se resuspendió 1  $\mu\text{g}$  de RNA en 12  $\mu\text{L}$  de agua tratada con DEPC; las muestras se desnaturalizaron por 5 minutos a  $65^{\circ}\text{C}$  y se agregó la mezcla de reacción: 8.9  $\mu\text{L}$  de agua tratada con DEPC, 6  $\mu\text{L}$  de amortiguador para RT 5x, 3  $\mu\text{L}$  de DTT, 0.6  $\mu\text{L}$  de dNTPs 10mM, 1  $\mu\text{L}$  de oligo dT 0.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 0.5  $\mu\text{L}$  de enzima M-MLV. Posteriormente se dejó incubar a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas. Al término de la incubación se amplificó el cDNA mediante PCR en tiempo real o cuantitativa (qPCR) en el termociclador Rotor-Gene Q (Qiagen). La mezcla de reacción que se añadió a cada muestra se preparó con 6  $\mu\text{L}$  de master mix KAPA SYBR FAST Universal, 1.2  $\mu\text{L}$  de oligonucleótido sentido (500 nM), 1.2  $\mu\text{L}$  de oligonucleótido antisentido (500 nM), 1.2  $\mu\text{L}$  de agua estéril y 2.4  $\mu\text{L}$  de cDNA para tener un volumen final de 12  $\mu\text{L}$  de reacción por tubo.

Las condiciones de amplificación para el cDNA de *Trh* en PVN (5'-GCTAGTGAAGGGAACAGGATAG-3' y 5'-AGAGGGAGAGGGTGTCTTAAT-3') fueron las siguientes: Temperatura de fusión ( $T_M$ ) =  $60^{\circ}\text{C}$ . El nivel de expresión del mRNA de *Trh* fue normalizado contra el gen constitutivo *Rplp0* (5'-CTTTGTCTGTGGAGACTGACTAC-3' y 5'-GAAGAGACCGAATCCCATGTC-3';  $T_M$ = $60^{\circ}\text{C}$ ). Los oligonucleótidos utilizados fueron diseñados por la Dra. Lorraine Jaimes-Hoy y sintetizados en Integrated DNA Technologies (IDT). Los experimentos 1 y 2 fueron analizados independientemente y separados por sexo; para cada uno, la curva estándar se hizo con una dilución 1:3 de cDNA y amortiguador para RT 5x respectivamente por triplicado, y las muestras por duplicado dentro de un solo ensayo.

### ***7.7 Análisis estadísticos***

Los datos están presentados como la media  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). Se usó el programa estadístico GraphPad Prism 8.0.2 y los datos fueron analizados por ANOVA de dos vías en el experimento 1 para evaluar los efectos de la dieta y el sexo, o de tres vías en el experimento 2 para evaluar los efectos de la dieta, el sexo y el ejercicio. Se usó la prueba post-hoc de Tukey, el nivel de significancia fue de  $p < 0.05$ . Adicionalmente, en algunos casos se evaluaron cambios significativos entre dos grupos utilizándose la prueba de *t* de Student de dos colas no pareada y con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

## 8. RESULTADOS

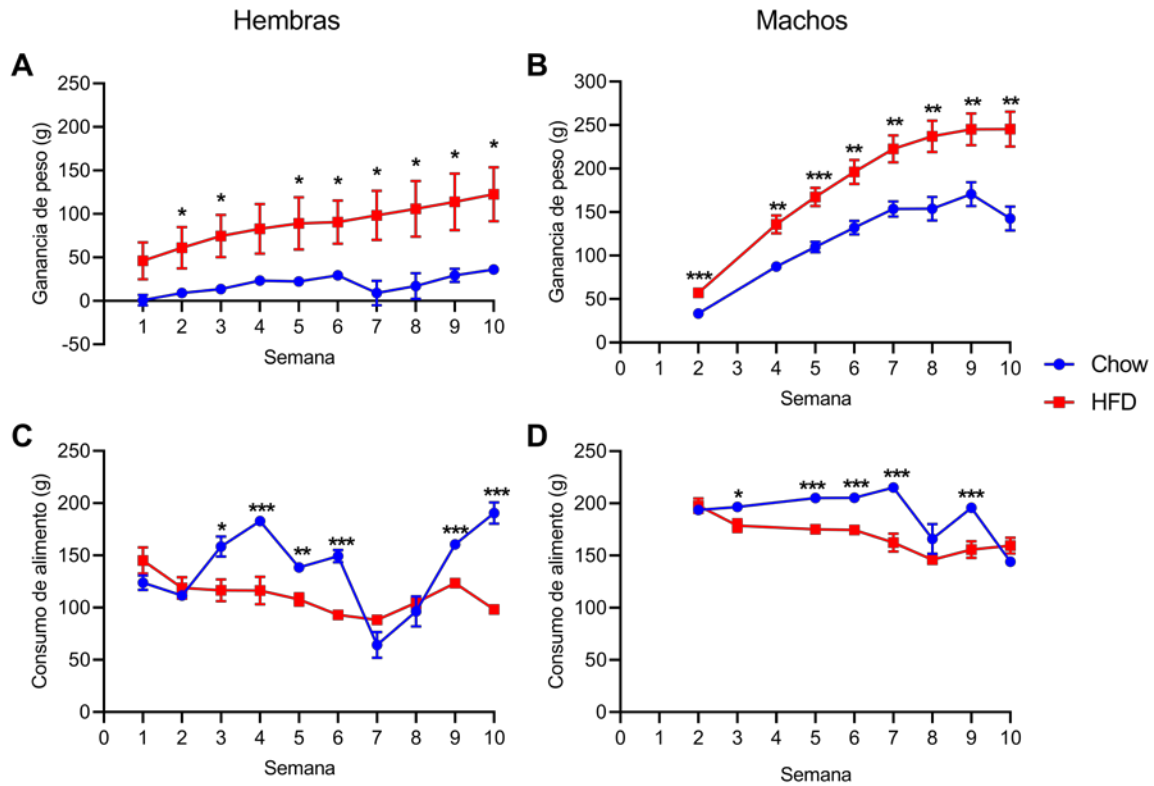
A pesar de que el consumo crónico de una dieta alta en grasas es un protocolo bien establecido para inducir la obesidad en ratas, se ha reportado que en la cepa Wistar, cerca del 25% de los animales<sup>100,101</sup>, y en la cepa Sprague-Dawley, cerca de la mitad<sup>102,103</sup>, son animales resistentes a la obesidad (OR), ya que ingieren cantidades equivalentes de alimento que los animales propensos a la obesidad, pero, comparados con ellos, los animales OR tienen una menor ganancia de peso corporal (similar a ratas alimentadas con una dieta estándar), tienen una menor eficiencia metabólica y no aumentan la termogénesis inducida por dieta<sup>100,102,103</sup>. De hecho, este fenómeno ha sido estudiado con distintos enfoques por varios autores, desde las diferencias fisiológicas y metabólicas, hasta del transcriptoma<sup>104,105</sup>. Se designaron como ratas OR a aquellas que se encontraron por debajo del cuartil inferior en la ganancia de peso, es decir, las que ganaron menos peso corporal con la dieta alta en grasas al término de los experimentos, de acuerdo a como se ha descrito en la literatura<sup>101</sup>. Además, para reducir la arbitrariedad, únicamente se descartaron los datos de estos animales si el promedio de éstos se encontraba al menos a tres errores estándar respecto a la media de los animales restantes. En el primer experimento hubo 4 ratas OR ante el consumo de una dieta hipercalórica; en el segundo experimento también fueron 4 ratas OR (en ambos experimentos, fueron dos machos y dos hembras). Por lo tanto, estos animales no se incluyeron en los análisis de resultados.

### *8.1 Experimento 1: Efecto y diferencias dependientes del sexo de una dieta hipercalórica*

Tras retirar los animales OR, los datos del primer experimento se realizaron con ratas Wistar hembras n=9 y machos n=11. En el **anexo 2** se muestra el resumen de los datos y análisis estadísticos del primer experimento.

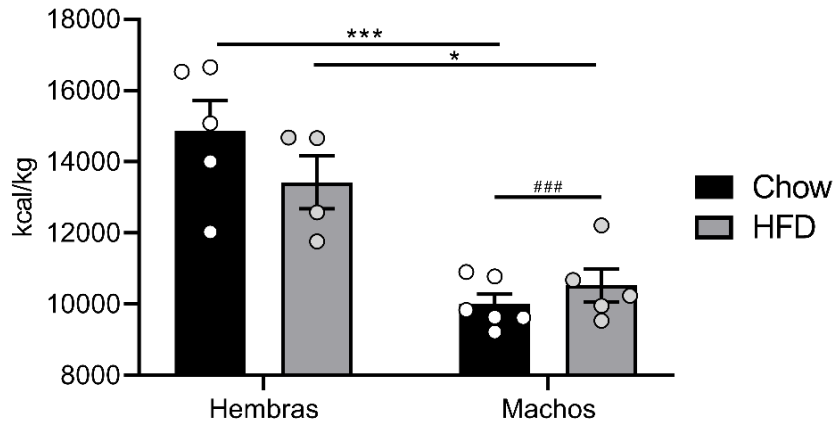
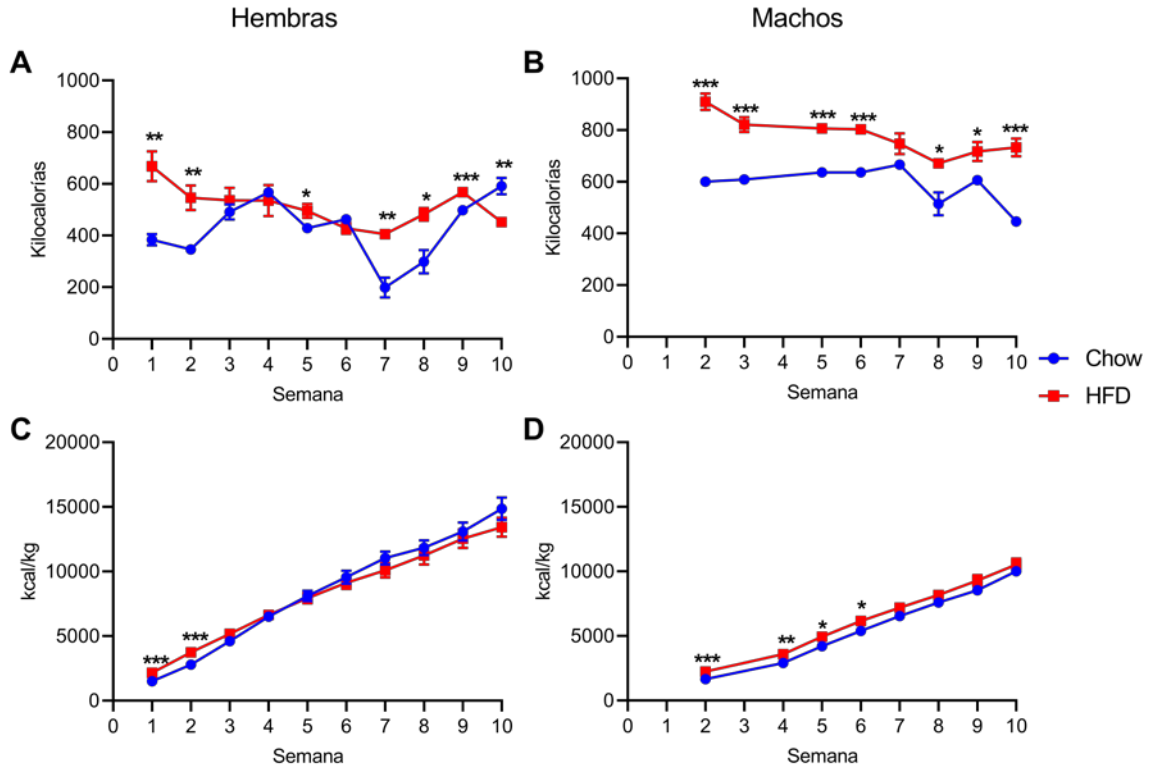
#### *8.1.1 Efecto de la dieta hipercalórica sobre el peso corporal y el consumo de alimento*

Los grupos de ratas macho mostraron un mayor incremento de peso que las hembras independientemente del tipo de dieta consumido. En ambos sexos, la dieta hipercalórica tuvo un efecto sobre la ganancia de peso, ya que los animales alimentados con esta dieta ganaron más peso que los del grupo control (**Figuras 5A y 5B**). En ambos sexos, los grupos con HFD tendieron a ingerir menos alimento que sus controles (**Figuras 5C y 5D**), sin embargo, el consumo calórico fue mayor (**Figuras 6A y 6B**). Al normalizar la ingesta de Kcal por Kg de peso corporal, se observa que, en las hembras, solamente las dos primeras semanas fue mayor las Kcal/Kg de peso en el grupo HFD vs Chow (**Figura 6C**), mientras que en los machos se observó una mayor ingesta de Kcal/Kg de peso las primeras 6 semanas (**Figura 6D**).



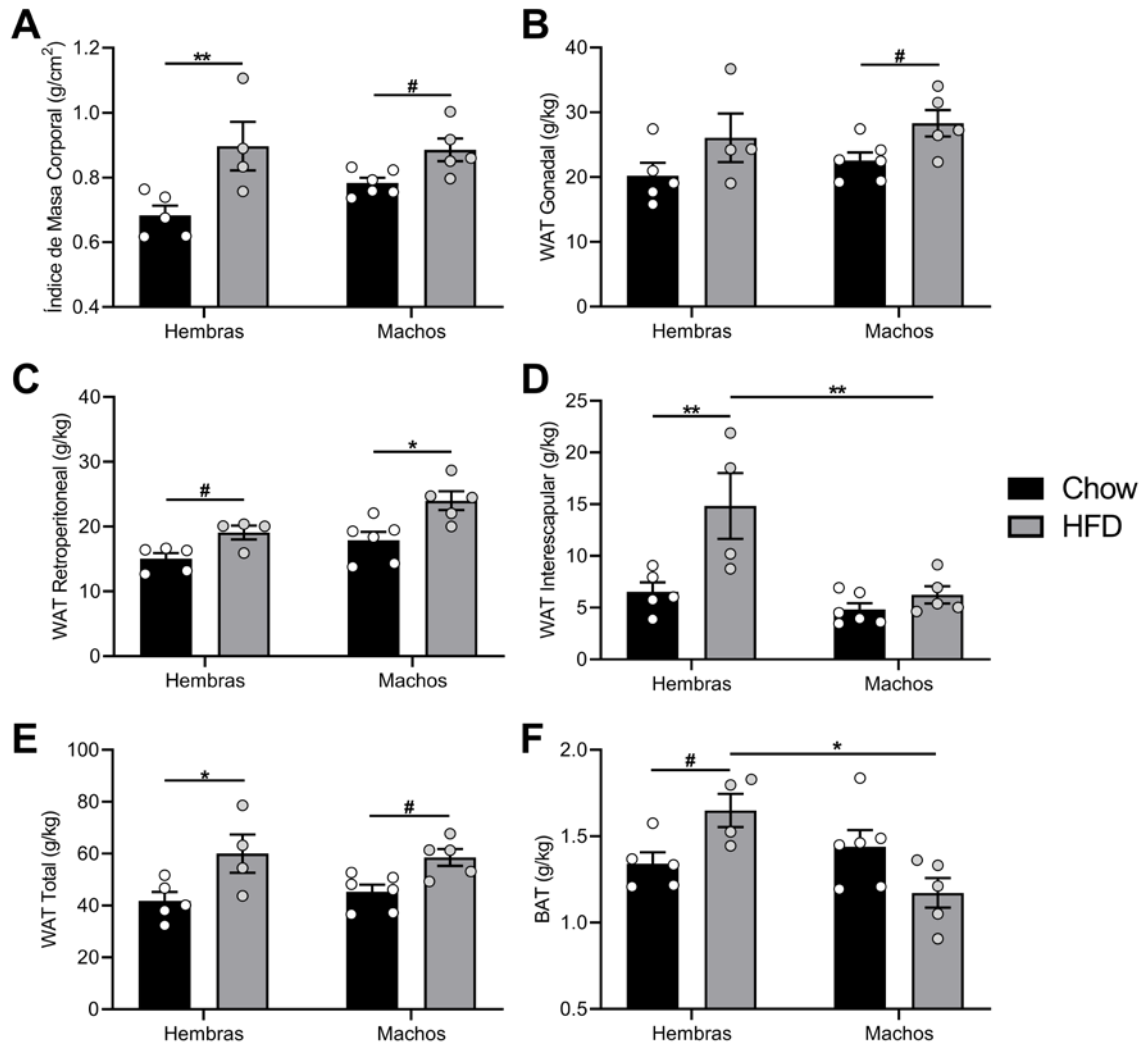
**Fig. 5. Ganancia de peso y consumo de alimento.** Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados con pruebas de *t* de Student para comparar las dietas en cada semana. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

El consumo total de Kcal por Kg de peso fue mayor en las hembras que en los machos en ambas dietas. Los machos que se alimentaron con la dieta hipercalórica consumieron más Kcal/Kg que aquellos alimentados con dieta Chow [Sexo  $F_{(1, 16)} = 42.09$ ,  $p < .001$ ; Dieta  $F_{(1, 16)} = 0.5842$ ,  $p = .456$ ] (**Figura 7**).



### ***8.1.2 Efecto de la dieta hipercalórica sobre el índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo***

El consumo de una dieta hipercalórica aumentó el IMC [Sexo  $F_{(1, 16)}=1.307$ ,  $p=.270$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=16.58$ ,  $p<.001$ ; **Figura 8A**], el peso de rWAT [Sexo  $F_{(1, 16)}=9.528$ ,  $p=.007$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=16.46$ ,  $p<.001$ ; **Figura 8C**] y tWAT [Sexo  $F_{(1, 16)}=.06030$ ,  $p=.809$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=14.61$ ,  $p=.001$ ; **Figura 8E**]. En machos, el consumo de la dieta HFD aumentó el peso de gWAT [Sexo  $F_{(1, 16)}=1.097$ ,  $p=.311$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=6.984$ ,  $p=.018$ ; **Figura 8B**], mientras que en hembras tanto iWAT como BAT aumentaron [iWAT: Sexo  $F_{(1, 16)}=12.79$ ,  $p=.003$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=11.31$ ,  $p=.004$ ; Interacción  $F_{(1, 16)}=5.698$ ,  $p=.030$ ; **Figura 8D**. BAT: Sexo  $F_{(1, 16)}=4.481$ ,  $p=.050$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=0.05240$ ,  $p=.822$ ; Interacción  $F_{(1, 16)}=10.42$ ,  $p=.005$  (**Figura 8F**)].



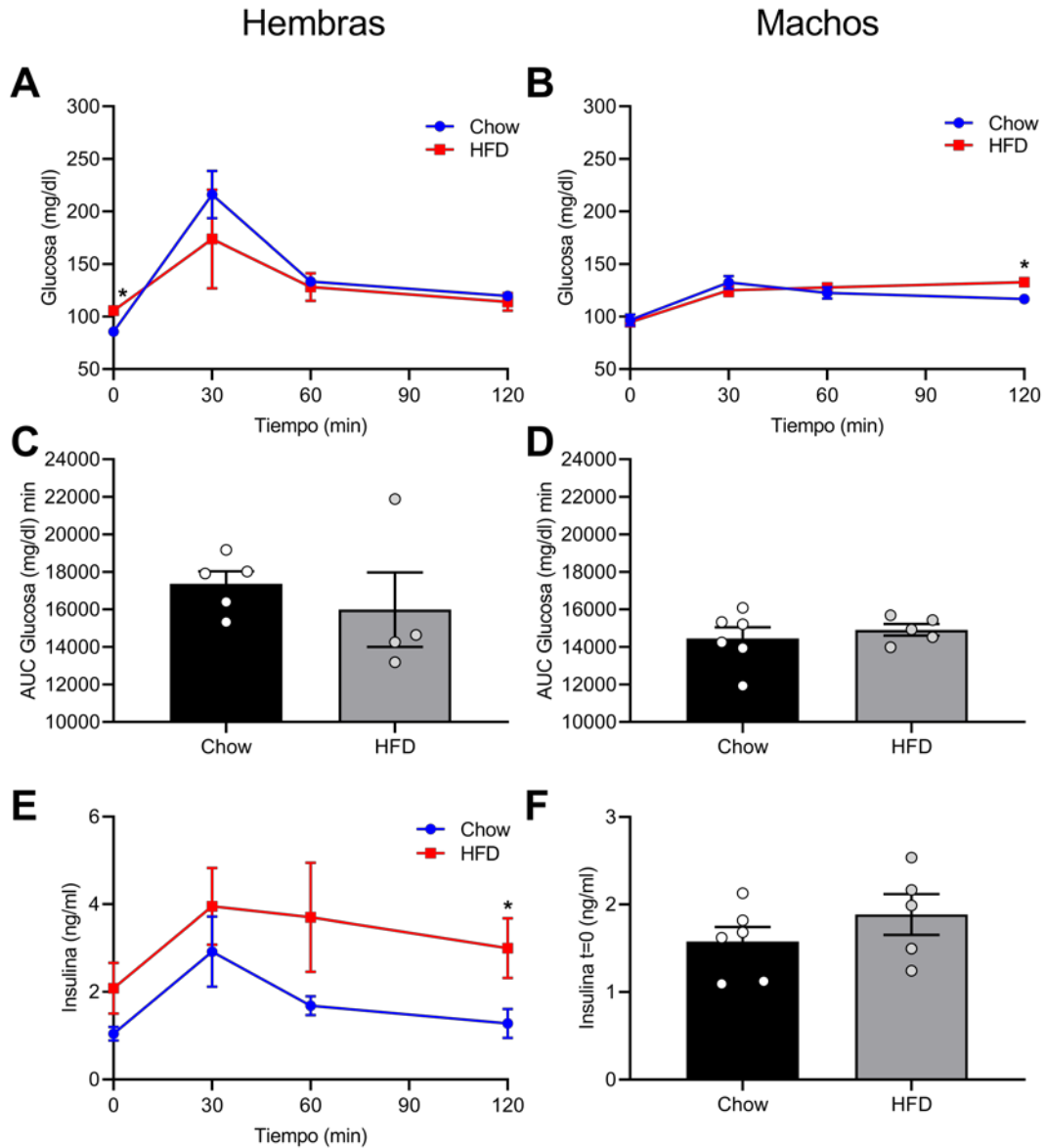
**Fig. 8 Índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo.** Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ . # $p < 0.05$  (*t*-test).



### ***8.1.3 Efecto de una dieta hipercalórica sobre la prueba de tolerancia a la glucosa***

La concentración de glucosa basal fue mayor en las hembras alimentadas con una dieta HFD comparado al grupo Chow, mientras que en los machos la concentración de glucosa fue mayor a los 120 minutos en las ratas con dieta HFD vs Chow (**Figuras 9A y 9B**). No se encontraron cambios significativos en el área bajo la curva (ABC) de la glucosa en ningún sexo [Sexo  $F_{(1, 16)}=4.516$ ,  $p=.050$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=0.2381$ ,  $p=.632$ ] (**Figuras 9C y 9D**).

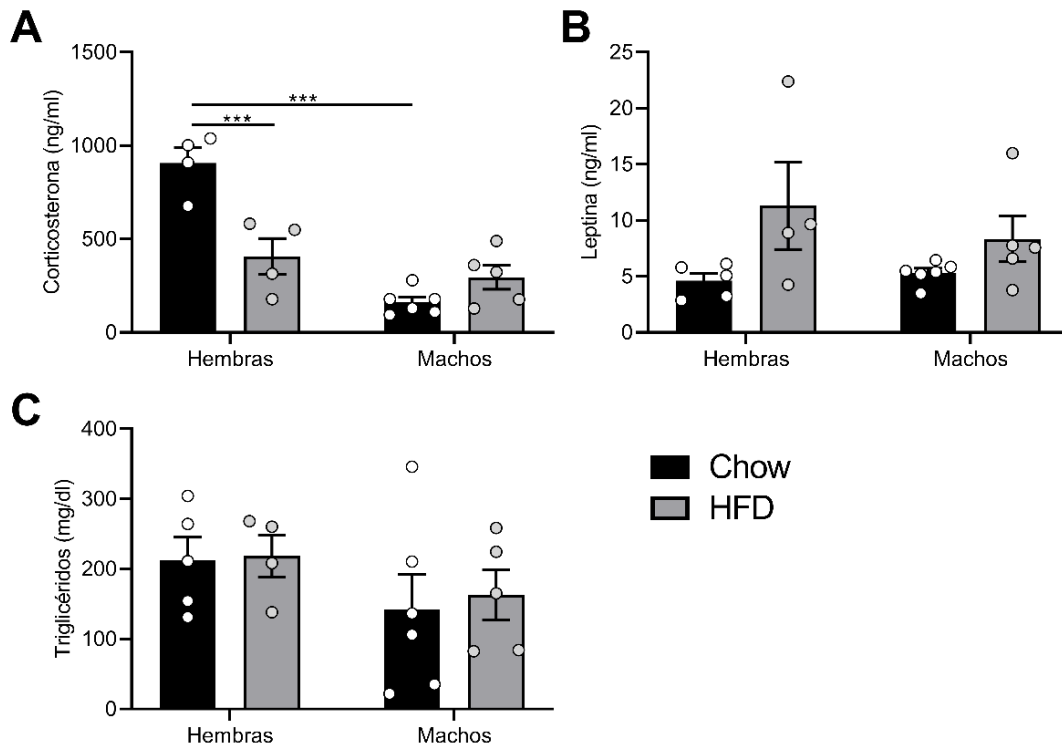
En hembras con una dieta HFD se observó una tendencia a aumentar la concentración sérica de insulina con respecto al grupo Chow durante la prueba de tolerancia a la glucosa, siendo significativo a los 120 min [Sexo  $F_{(1, 16)}=0.3565$ ,  $p=.559$ ; Dieta  $F_{(1, 16)}=5.553$ ,  $p=.032$ ] (**Figura 9E**). En machos no se encontraron cambios significativos en la concentración basal de insulina entre las ratas HFD y Chow, desafortunadamente, se perdieron las muestras de suero de los machos del tiempo 30, 60 y 120 a causa de un sismo (**Figura 9F**).



**Fig. 9. Prueba de tolerancia a la glucosa y cuantificación de insulina.** En machos, se perdieron las muestras de suero del tiempo 30, 60 y 120. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados con pruebas de *t* de Student para comparar las dietas en cada tiempo, y mediante un ANOVA de dos vías para evaluar efectos de la dieta y el sexo. \* $p < 0.05$ .

### 8.1.4 Efecto de una dieta hipercalórica sobre la concentración de corticosterona, leptina y triglicéridos

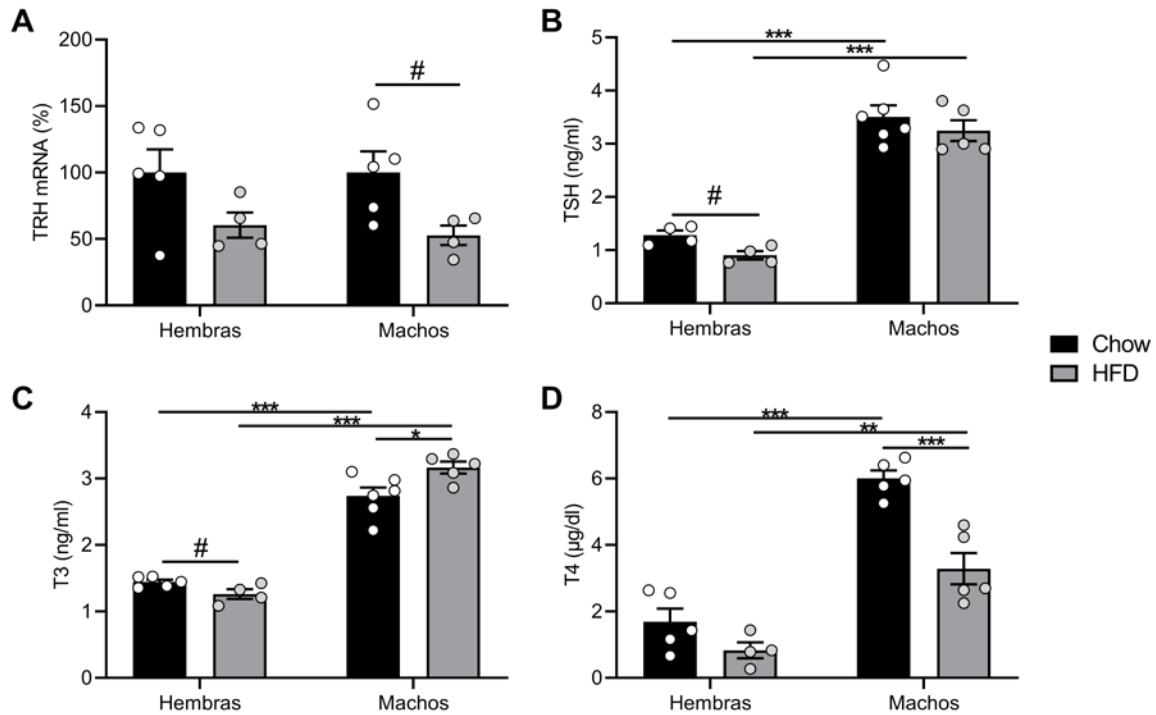
La concentración de corticosterona en suero fue mayor en las hembras que en los machos de los grupos con dieta Chow, como se ha reportado. La dieta hipercalórica redujo la concentración de corticosterona únicamente en hembras [Sexo  $F_{(1,15)}=42.31$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1,15)}=7.752$   $p=.014$ ; Interacción  $F_{(1,15)}=23.31$ ,  $p<.001$ ] (**Figura 10A**). Se observó una tendencia a aumentar la concentración sérica de leptina en las ratas HFD de ambos sexos [Sexo  $F_{(1,16)}=0.3607$ ,  $p=.557$ ; Dieta  $F_{(1,16)}=6.649$   $p=.020$ ] (**Figura 10B**). No se observaron cambios en la concentración de triglicéridos [Sexo  $F_{(1,16)}=2.363$ ,  $p=.144$ ; Dieta  $F_{(1,16)}=0.1018$ ,  $p=.754$ ] (**Figura 10C**).



**Fig. 10** Concentración sérica de corticosterona, leptina y triglicéridos. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. \*\*\* $p<0.001$ .

### 8.1.5 Efecto de una dieta hipercalórica sobre la actividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo

En machos, el consumo de una dieta alta en grasas indujo una disminución en la expresión de *Trh* en el PVN medio (**Figura 11A**) y de la concentración de T4 en suero (**Figura 11D**) [*Trh*: Dieta  $F_{(1, 14)} = 9.105$ ,  $p = .009$ . T4: Sexo  $F_{(1, 15)} = 86.42$ ,  $p < .001$ ; Dieta  $F_{(1, 15)} = 24.12$ ,  $p < .001$ ; Interacción  $F_{(1, 15)} = 6.488$ ,  $p = .022$ ]; la concentración de T3 aumentó comparado al grupo Chow (**Figura 11C**) [Sexo  $F_{(1, 16)} = 268.1$ ,  $p < .001$ ; Dieta  $F_{(1, 16)} = 1.588$ ,  $p = .226$ ; Interacción  $F_{(1, 16)} = 9.841$ ,  $p = .006$ ]. En cambio, en hembras alimentadas con la dieta HFD se observó una disminución en la concentración de TSH (**Figura 11B**) y T3 en suero (**Figura 11C**).



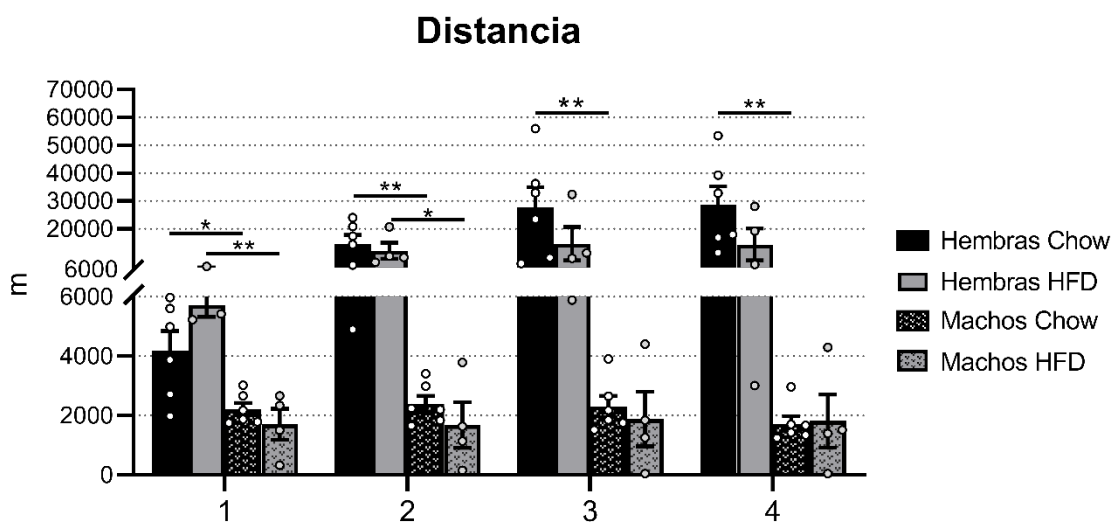
**Fig. 11** Parámetros del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo en respuesta a la dieta hipercalórica. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . # $p < 0.05$  (*t*-test).

## 8.2 Experimento 2: Efecto y diferencias dependientes del sexo del ejercicio crónico voluntario en ratas con obesidad inducida por una dieta hipercalórica

Tras retirar los animales OR, los datos del segundo experimento se realizaron con ratas Wistar hembras n=23 y machos n=23. En los **anexos 3, 4 y 5** se muestra el resumen de los datos y análisis estadísticos del segundo experimento.

### 8.2.1 Ejercicio crónico voluntario

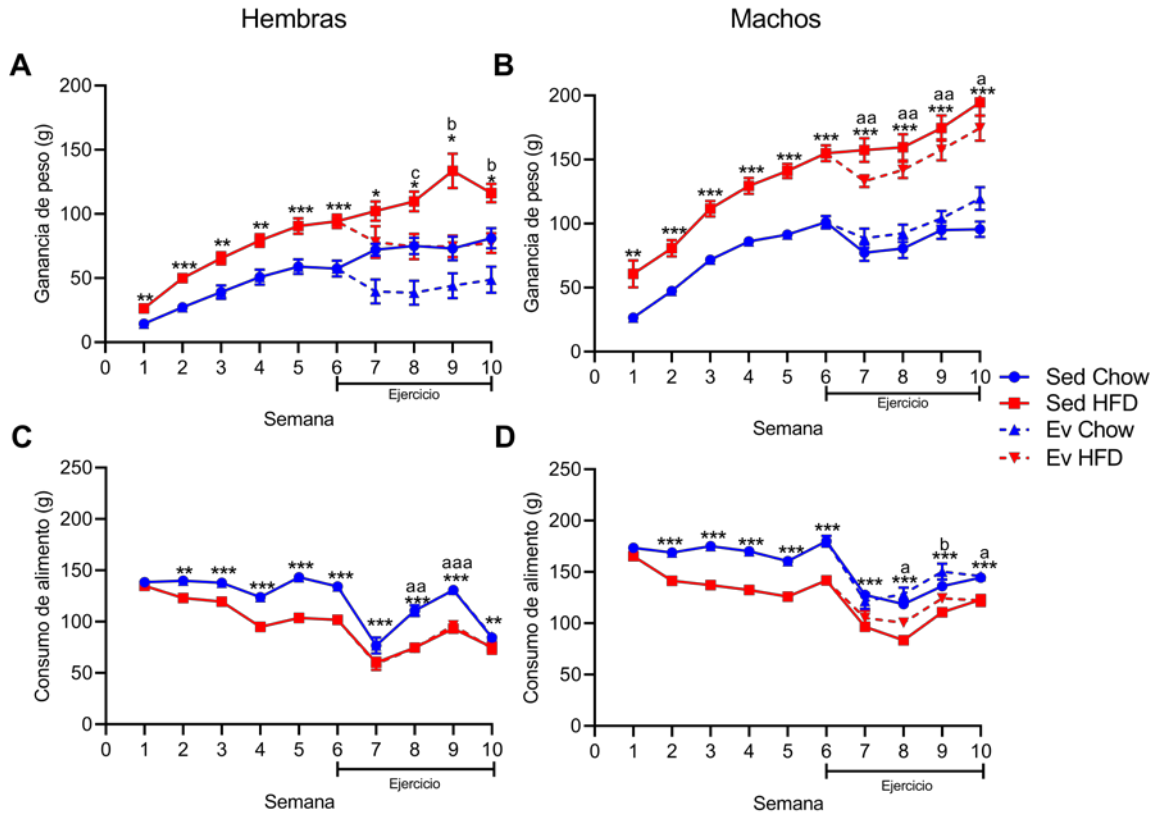
Como se ha reportado<sup>20</sup> las hembras recorren una mayor distancia que los machos. La dieta hipercalórica, no influyó en la distancia recorrida en ningún sexo. (**Figura 12**).



**Fig. 82 Distancia recorrida.** Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

### 8.2.2 Efecto de la dieta hipercalórica sobre el peso corporal y el consumo de alimento en respuesta al ejercicio

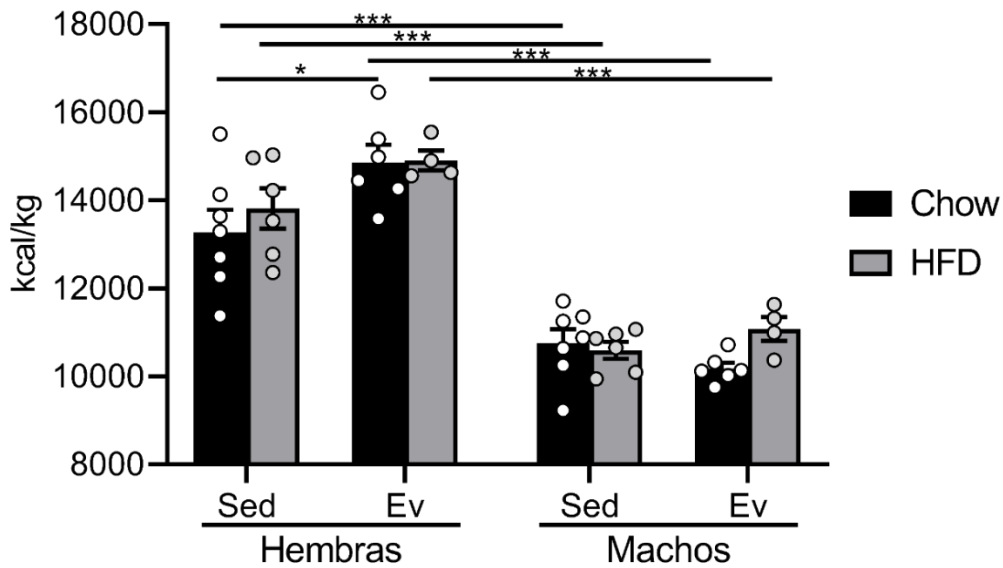
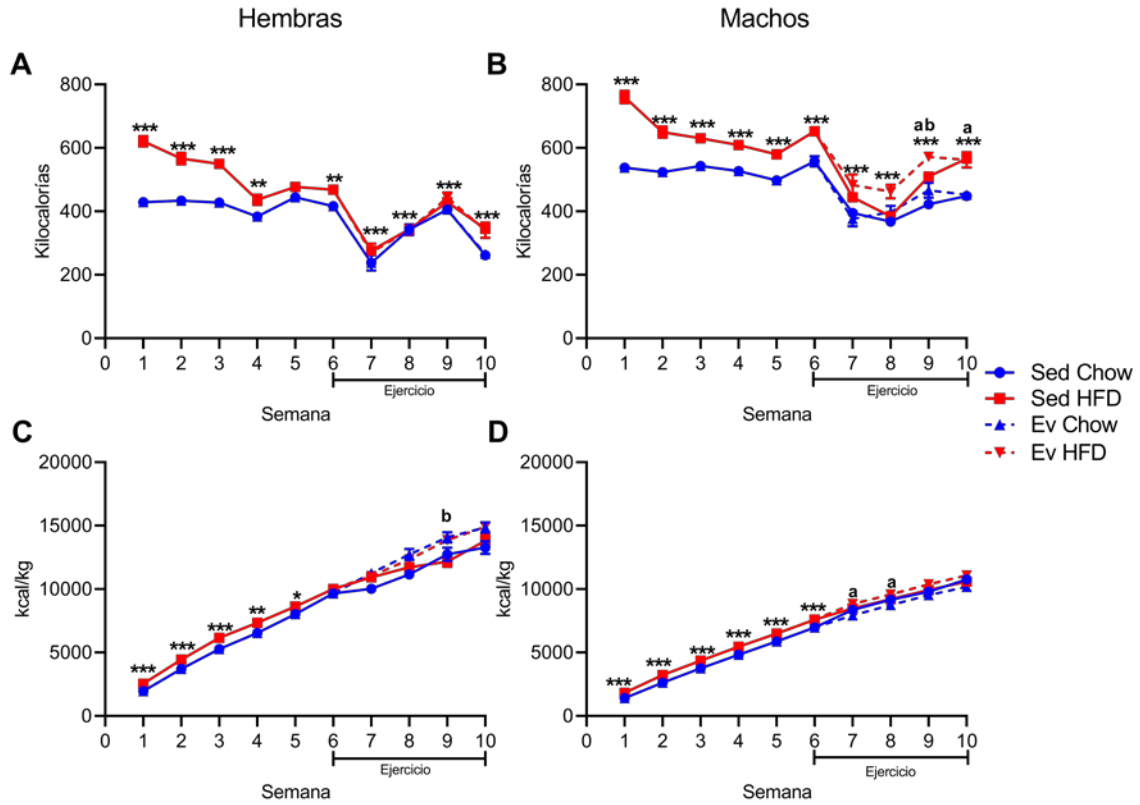
Las ratas alimentadas con la dieta hipercalórica ganaron más peso que los grupos con dieta Chow en ambos sexos, sin embargo, este efecto fue mitigado por el ejercicio sólo en hembras (**Figuras 13A y 13B**). El consumo de alimento fue mayor en las ratas alimentadas con la dieta Chow en ambos sexos durante todo el experimento (**Figuras 13C y 13D**).



**Fig. 13** Ganancia de peso y consumo de alimento en respuesta al ejercicio. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados con pruebas de *t* de Student para comparar las dietas en cada semana durante la fase de inducción a la obesidad, y ANOVA de dos vías en cada semana durante la fase de ejercicio. \**p*<0.05, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001. \*Sed Chow vs. Sed HFD, <sup>a</sup>Ev Chow vs. Ev HFD, <sup>b</sup>Sed HFD vs. Ev HFD, <sup>c</sup>Sed Chow vs. Ev Chow.

Se observó que en las ratas alimentadas con HFD hubo un mayor consumo calórico que las alimentadas con la dieta Chow en ambos sexos a lo largo de todo el experimento (**Figuras 14A y 14B**). El consumo de Kcal/Kg de peso fue mayor en los grupos HFD de ambos sexos en las primeras 6 semanas, este efecto se atenuó en las cuatro semanas siguientes que los animales fueron sometidos al protocolo de ejercicio (**Figuras 14C y 14D**).

El consumo total de Kcal por Kg de peso fue mayor en las hembras que en los machos en todas las condiciones experimentales [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=5.938$  *p*=.020; Sexo  $F_{(1, 38)}=181.3$  *p*<.001; Dieta  $F_{(1, 38)}=1.591$ , *p*=.215; Ejercicio x Sexo  $F_{(1, 38)}=6.864$ , *p*=.013] (**Figura 15**).



### **8.2.3 Índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo en ratas obesas en respuesta al ejercicio**

Los animales que consumieron la dieta hipercalórica presentaron un mayor IMC comparado a los grupos con dieta Chow, independientemente del sexo; sin embargo, el ejercicio sólo redujo el IMC en hembras con ambas dietas [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=12.99$ ,  $p<.001$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=25.37$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=26.30$ ,  $p<.001$ ] (**Figura 16A**).

El peso del gWAT fue mayor en las hembras sedentarias con ambas dietas que en los machos en las mismas condiciones. El ejercicio sólo redujo el peso de gWAT en hembras con ambas dietas [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=12.65$ ,  $p=.001$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=15.96$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=43.91$ ,  $p<.001$ ; Ejercicio x Sexo  $F_{(1, 38)}=21.27$ ,  $p<.001$ ] (**Figura 16B**).

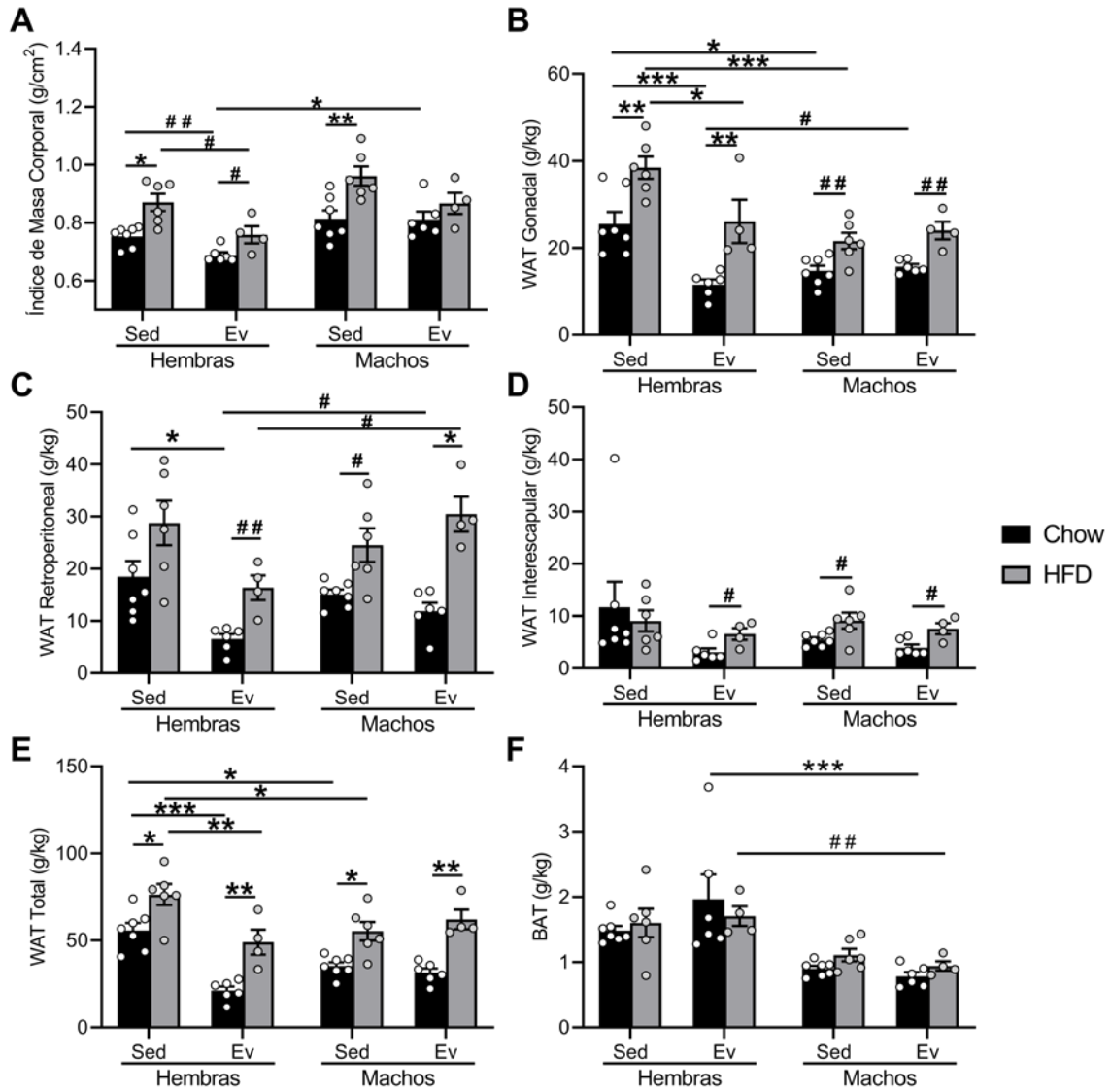
La dieta hipercalórica aumentó el peso de rWAT en machos, pero no en hembras. Por otro lado, las hembras alimentadas con dieta estándar fueron más propensas a reducir este depósito con el ejercicio [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=7.773$ ,  $p=.008$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=2.300$ ,  $p=.138$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=38.36$ ,  $p<.001$ ; Ejercicio x Sexo  $F_{(1, 38)}=12.10$ ,  $p=.001$ ] (**Figura 16C**).

La dieta hipercalórica aumentó el peso de iWAT solamente en los machos. El ejercicio no cambió el peso de este depósito en ningún sexo y con ninguna dieta [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=4.249$ ,  $p=.046$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=0.3843$ ,  $p=.539$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=1.406$ ,  $p=.246$ ] (**Figura 16D**).

Se observó que la dieta hipercalórica aumentó el peso de la grasa total en ambos sexos. Sin embargo, el ejercicio sólo redujo el peso de la grasa total en hembras con ambas dietas [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=21.17$ ,  $p<.001$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=2.028$ ,  $p=.163$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=60.03$ ,  $p<.001$ ; Ejercicio x Sexo  $F_{(1, 38)}=25.76$ ,  $p<.001$ ] (**Figura 16E**).

El peso del tejido adiposo pardo fue mayor en las hembras ejercitadas comparadas con los machos ejercitados, independientemente de la dieta [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=0.3450$ ,  $p=.560$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=35.14$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=0.1965$ ,  $p=.660$ ] (**Figura 16F**).





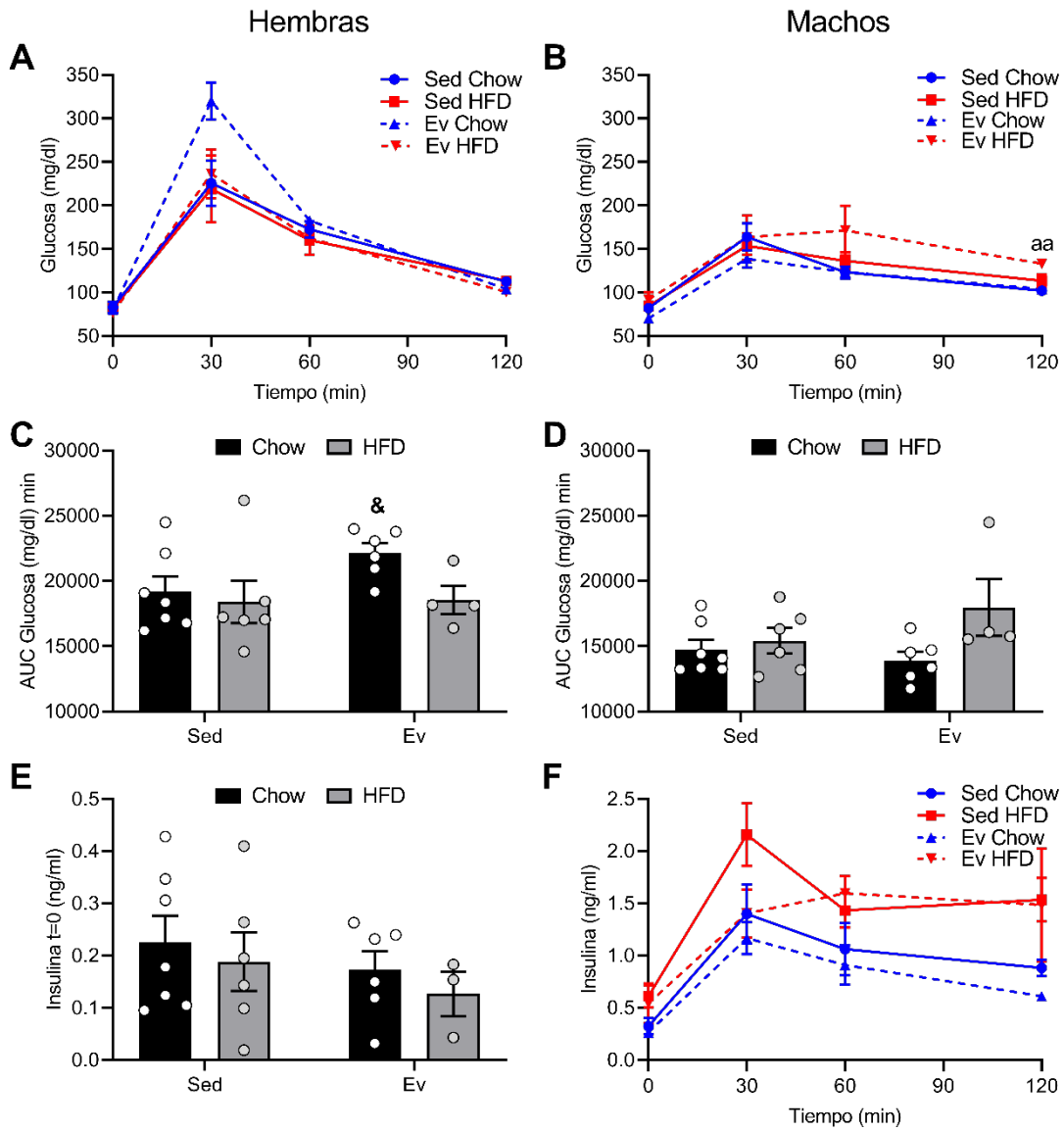
**Fig. 16 Índice de masa corporal y pesos del tejido adiposo en ratas obesas en respuesta al ejercicio.** Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados por ANOVA de tres vías. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  (*t*-test).

#### **8.2.4 Prueba de tolerancia a la glucosa en ratas obesas en respuesta al ejercicio**

Todos los grupos de animales tuvieron niveles basales de glucosa similares. Al igual que en el primer experimento, las hembras tuvieron un pico más alto en el minuto 30 que los machos [Sexo  $F_{(1, 38)} = 31.95$ ,  $p < .001$ ]. El grupo de machos obesos ejercitados tardó más en metabolizar la glucosa que el grupo ejercitado con dieta estándar, pues para el minuto 120 tenían una concentración mayor (**Figuras 17A y 17B**).

Similar al primer experimento, las hembras tendieron a tener un área bajo la curva de la glucosa superior a la de los machos [Sexo  $F_{(1, 38)} = 23.72$ ,  $p < .001$ ; Sexo x Dieta  $F_{(1, 38)} = 7.414$ ,  $p = .010$ ] (**Figuras 17C y 17D**).

Los machos alimentados con HFD tuvieron niveles basales de insulina mayores que las hembras alimentadas con HFD, tanto en condición sedentaria como de ejercicio [Sexo  $F_{(1, 37)} = 23.00$ ,  $p < .001$ ; Dieta  $F_{(1, 37)} = 4.134$ ,  $p = .049$ ; Sexo x Dieta  $F_{(1, 37)} = 9.467$ ,  $p = .004$ ]. Desafortunadamente, se perdieron las muestras de suero del tiempo 30, 60 y 120 de las hembras a causa de un sismo (**Figuras 17E y 17F**).



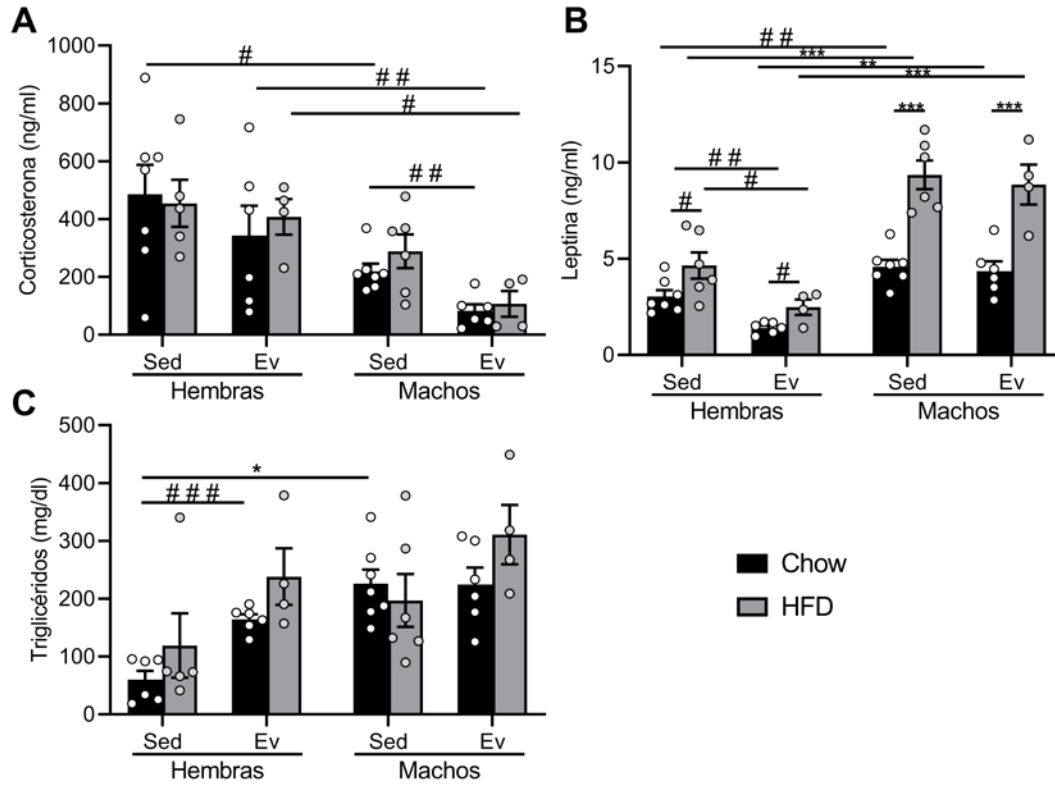
**Fig. 17 Prueba de tolerancia a la glucosa en ratas obesas en respuesta al ejercicio.** En hembras, se perdieron las muestras de suero del tiempo 30, 60 y 120. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados por ANOVA de dos y de tres vías. <sup>aa</sup> $p < 0.01$  Ev Chow vs. Ev HFD, <sup>&</sup> $p < 0.05$  Hembras vs. Machos

### ***8.2.5 Concentración de corticosterona, leptina y triglicéridos en ratas obesas en respuesta al ejercicio***

Similar al primer experimento, la concentración de corticosterona fue mayor con la dieta Chow o tendió a serlo con la dieta hipercalórica en los grupos de hembras comparados con los machos. La dieta hipercalórica no alteró los niveles de corticosterona en ningún sexo, comparada con la dieta Chow. El ejercicio redujo la concentración de corticosterona únicamente en machos con dieta Chow. [Ejercicio  $F_{(1,37)}=5.813$ ,  $p=.021$ ; Sexo  $F_{(1,37)}=22.25$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1,37)}=0.3626$ ,  $p=.551$ ] (**Figura 18A**).

Los animales alimentados con la dieta HFD presentaron una mayor concentración de leptina en suero *vs* las ratas Chow en ambos sexos. El ejercicio contribuyó a la disminución de la concentración de leptina solamente en las hembras, independientemente de la dieta consumida [Ejercicio  $F_{(1,38)}=8.488$ ,  $p=.006$ ; Sexo  $F_{(1,38)}=99.86$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1,38)}=58.97$ ,  $p<.001$ ; Sexo x Dieta  $F_{(1,38)}=17.93$ ,  $p<.001$ ] (**Figura 18B**).

Los niveles de triglicéridos fueron más altos en los machos con dieta estándar, comparado con las hembras. La dieta hipercalórica no cambió los niveles de triglicéridos en ningún sexo, comparada con la dieta Chow. En hembras ejercitadas con dieta Chow, se observó una mayor concentración de triglicéridos comparadas con las hembras sedentarias [Ejercicio  $F_{(1,36)}=11.04$ ,  $p=.002$ ; Sexo  $F_{(1,36)}=13.80$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1,36)}=3.514$ ,  $p=.069$ ] (**Figura 18C**).



**Fig. 18** Concentración de corticosterona, leptina y triglicéridos en ratas obesas en respuesta al ejercicio. Los datos están presentados como la media ± EEM y fueron analizados por ANOVA de tres vías. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$  (*t*-test).

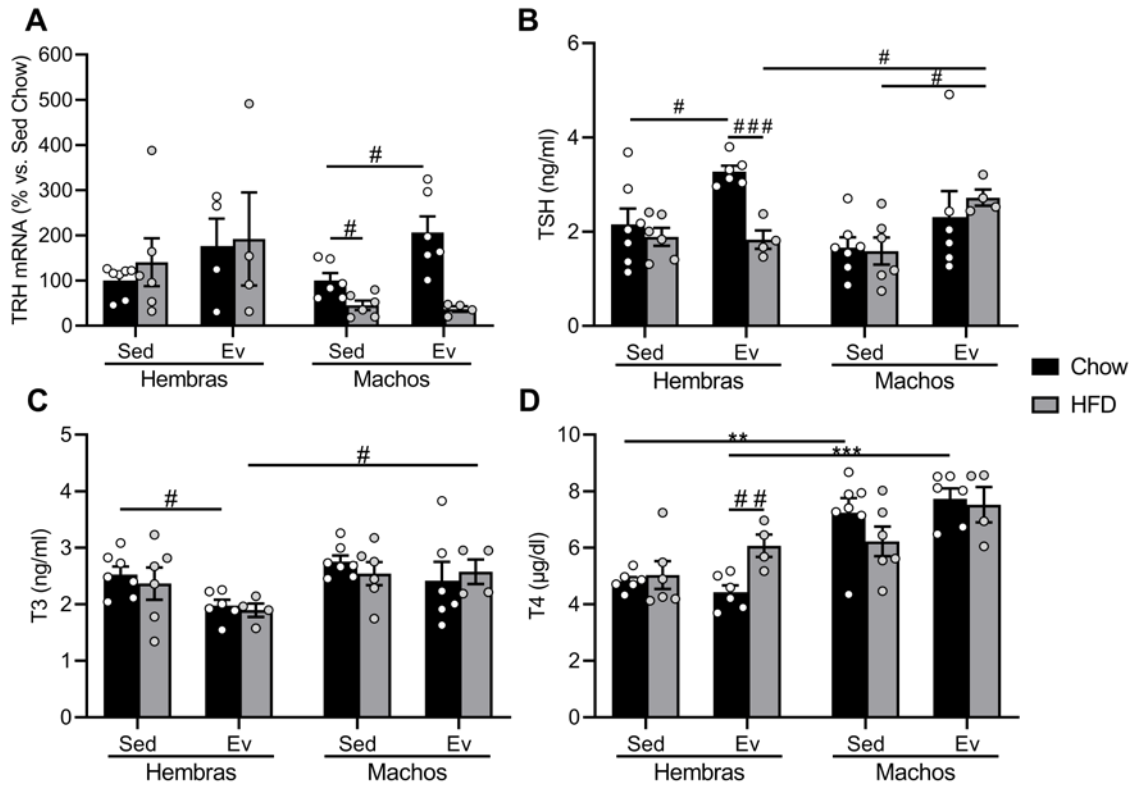
### **8.2.6 Actividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo en ratas obesas en respuesta al ejercicio**

Ni el ejercicio ni la dieta hipercalórica tuvieron efecto sobre la expresión relativa del mRNA de *Trh* en el PVN medio en ningún sexo [Ejercicio  $F_{(1, 35)}=3.690$ ,  $p=.0629$ ; Dieta  $F_{(1, 35)}=2.044$ ,  $p=.1617$ ]. Sin embargo, con pruebas de *t* dirigidas, se detectó que la dieta HFD redujo la expresión en machos comparada con la dieta Chow, y que el ejercicio aumentó la expresión sólo en machos con dieta estándar, comparados con los machos sedentarios (**Figura 19A**).

El ejercicio aumentó la concentración sérica de TSH en hembras con dieta Chow y en machos con HFD comparados con sus contrapartes sedentarias, pero la dieta hipercalórica no tuvo efecto en ningún sexo, comparada con la dieta Chow [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=10.34$ ,  $p=.003$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=0.9635$ ,  $p=.333$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=2.391$ ,  $p=.130$ ; Sexo x Dieta  $F_{(1, 38)}=5.335$ ,  $p=.026$ ] (**Figura 19B**).

El ejercicio, comparado con la condición sedentaria, redujo la concentración de  $T_3$  sólo en hembras con dieta estándar, pero no con dieta hipercalórica. La dieta HFD no tuvo efecto en ningún sexo. [Ejercicio  $F_{(1, 38)}=4.892$ ,  $p=.033$ ; Sexo  $F_{(1, 38)}=6.526$ ,  $p=.015$ ; Dieta  $F_{(1, 38)}=0.2355$ ,  $p=.630$ ] (**Figura 19C**).

Los niveles de  $T_4$  tendieron a ser mayores en machos comparados con las hembras, independientemente de la dieta. Ni el ejercicio ni la dieta HFD cambiaron la concentración sérica de  $T_4$  en ningún sexo. [Ejercicio  $F_{(1, 37)}=3.748$ ,  $p=.061$ ; Sexo  $F_{(1, 37)}=44.16$ ,  $p<.001$ ; Dieta  $F_{(1, 37)}=0.2512$ ,  $p=.619$ ; Sexo x Dieta  $F_{(1, 37)}=5.977$ ,  $p=.019$ ] (**Figura 19D**).



**Fig. 19** Actividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Tiroideo en ratas obesas en respuesta al ejercicio. Los datos están presentados como la media  $\pm$  EEM y fueron analizados por ANOVA de tres vías. \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$  (*t*-test).

## 9. DISCUSIÓN

### 9.1 Efectos de una dieta alta en grasas

El objetivo del primer experimento fue estudiar los efectos de una dieta alta en grasas sobre la actividad del eje HPT y algunos parámetros del metabolismo en ratas adultas machos y hembras. La obesidad resulta en la expansión del WAT por el aumento en tamaño y número de adipocitos<sup>48</sup>; los adipocitos secretan leptina, por lo que la expansión de WAT a su vez incrementa la concentración circulante de leptina<sup>30,77</sup>. Utilizando un protocolo para inducir obesidad mediante el consumo *ad libitum* de una dieta alta en grasas, encontramos que las hembras ingirieron más Kcal por Kg de peso comparadas con los machos; es posible que esto se deba a una estrategia evolutiva que favorezca la obtención de energía en las hembras, pues existe una asimetría en el metabolismo energético que va desde los componentes de los gametos femeninos, pasando por la gestación y la lactancia<sup>106</sup>, a la predisposición por retener energía en scWAT<sup>66,68,70</sup> y poseer un BAT metabólicamente más activo en hembras<sup>71,72</sup>. Además, los grupos que consumieron la dieta hipercalórica tuvieron una mayor ganancia de peso, mayor índice de masa corporal, de peso de la grasa total y una tendencia a aumentar los niveles de leptina en el suero. Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura<sup>30,77</sup>.

En múltiples estudios se ha sugerido que las hormonas sexuales tienen una estrecha relación en la función y distribución sexo-específica del tejido adiposo<sup>66-70</sup>. Nuestros datos apoyan las publicaciones que reportan una predominancia en la acumulación de grasa subcutánea en hembras bajo un régimen de dieta alta en grasas<sup>66,69</sup>, pues a diferencia de los machos, fueron las hembras las que aumentaron la grasa interescapular con la dieta hipercalórica. Del mismo modo, nuestros resultados respaldan los estudios que sugieren una acumulación más específica de vWAT en machos<sup>66,67</sup>, pues, aunque en ambos sexos aumentó la grasa retroperitoneal con la dieta hipercalórica, fueron los machos los que aumentaron la grasa gonadal y no las hembras.

Un estudio previo<sup>71</sup> reportó un peso mayor de BAT en las hembras que en los machos con una dieta estándar (23.5% proteínas, 48.9% carbohidratos, 5% lípidos, 12% agua, 4% fibra y 5.7% otros) y un aumento en el peso de BAT en ambos sexos cuando las ratas consumieron una dieta de “cafetería” (9% proteínas, 21% carbohidratos, 13.6% lípidos, 51.3% agua, 1% fibra y 4.1% otros) comparado con la dieta estándar. En el presente trabajo, la masa de BAT no fue diferente entre sexos de los grupos con dieta estándar, y únicamente las hembras del grupo HFD aumentaron el peso de BAT respecto a su control; Es posible que estas diferencias se deban a la diferencia en el contenido calórico y la composición nutrimental de las dietas y a la duración de los experimentos. Por otra parte, se ha observado que la termogénesis inducida por dieta y la termogénesis adaptativa tienen un origen metabólico en BAT, y que de hecho, situaciones en las que BAT falla al realizar la termogénesis por defectos genéticos, o cuando el tejido está ausente, pueden predisponer a la obesidad<sup>34</sup>, por lo que es posible que el aumento de BAT en hembras podría ayudar a compensar el exceso energético mediante la termogénesis.



La obesidad ha sido asociada a la hiperglicemia, la hiperinsulinemia y la dislipidemia, que son factores de riesgo de la DM2, del síndrome metabólico y de enfermedades cardiovasculares<sup>107</sup>. En un individuo con resistencia a la insulina, el organismo produce más insulina como compensación para intentar mantener la homeostasis<sup>108</sup>. Además, se ha visto en ratas resistentes a la insulina, hay un aumento en el contenido de triglicéridos en diferentes tejidos<sup>109</sup>. En este trabajo, la dieta hipercalórica no alteró los niveles de triglicéridos en el plasma, sin embargo, sí aumentó la insulina basal en ambos sexos, por lo que podemos sugerir que los animales estaban desarrollando resistencia a la insulina<sup>110</sup>. Aunque el área bajo la curva de la glucosa no fue diferente entre sexos ni entre dietas, la glucosa basal fue mayor en las hembras con HFD. Sin embargo, los machos del grupo HFD, comparados con las hembras, tardaron más en metabolizar la glucosa, pues la concentración de glucosa era superior que la del grupo control para el minuto 120 de la PTG, lo que sugiere que los machos estaban desarrollando una intolerancia a la glucosa. Esto también puede sugerir que en las hembras existe una protección ante la hiperglucemia, ya sea por efecto de las hormonas sexuales<sup>56,76,77</sup>, o por una regulación más eficiente de la homeostasis energética debido a un mayor volumen de tejido adiposo subcutáneo<sup>111</sup> y de BAT<sup>112</sup>.

Las hembras tuvieron mayores niveles de corticosterona que los machos con dieta estándar; esto coincide con lo extensamente reportado en la literatura, en la que se ha atribuido esta diferencia a la regulación por las hormonas sexuales<sup>113</sup>. Aunque se ha propuesto que en ratas macho el consumo crónico de una dieta HFD aumenta los niveles de corticosterona<sup>114,115</sup>, en otros estudios proponen que puede reducir la respuesta al estrés<sup>116,117</sup>, o reducir la ansiedad<sup>118</sup>. En este trabajo no hubo diferencias entre dietas respecto a los niveles de corticosterona en machos, y de hecho en hembras, la dieta HFD redujo su concentración, lo que refleja que la dieta por sí misma no causó un estrés adicional a los animales.

Con la dieta estándar, las hembras tuvieron niveles inferiores de TSH, T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> en suero comparado con los machos; estos resultados apoyan lo observado para TSH y T<sub>4</sub> en varios estudios<sup>78-83,87</sup>. Sin embargo, para T<sub>3</sub> otros estudios habían reportado niveles inferiores<sup>79,81-83</sup>, o sin diferencias<sup>85,86</sup>.

El consumo de la dieta alta en grasas (45% de grasa del total de las calorías, 4.6 Kcal/gr) redujo la expresión de *Trh* en el PVN de machos, contrario a los estudios en los que se observó que una dieta hipercalórica (20, 20 y 60% de calorías de carbohidratos, proteínas y grasas respectivamente; 5.24 Kcal/gr) por 8 y 12 semanas aumentó la expresión<sup>24,25</sup>. Estas diferencias encontradas en la expresión de *Trh* podrían deberse a la distinta proporción de grasas usadas en la dieta para inducir obesidad. En hembras, no se encontraron diferencias por la dieta hipercalórica en la expresión de *Trh*, lo que respalda lo observado en un estudio con un tratamiento de 60 días de una dieta alta en grasas y carbohidratos<sup>89</sup>. La dieta hipercalórica no alteró la concentración de TSH en machos; esto difiere del aumento<sup>24,90</sup> o la reducción<sup>89,91</sup> reportada en otros experimentos. Las diferencias pueden deberse al tipo y composición de las dietas y a la duración de los experimentos. Además, la dieta redujo la concentración de T<sub>4</sub> en machos, opuesto a lo publicado por Perello *et al.* (2010), pero apoyando lo reportado en Jaimes-Hoy *et al.* (2019). En hembras, la dieta redujo los niveles de TSH y de T<sub>3</sub>, pero no cambió la concentración de T<sub>4</sub>; anteriormente se encontraron niveles

similares de TSH y un aumento de  $T_4$ <sup>89</sup>. Mientras que la dieta aumentó los niveles de  $T_3$  en machos apoyando el estudio de Perello *et al.* (2010), los redujo en hembras; investigaciones previas no habían encontrado diferencias<sup>24,89</sup>; es posible que este aumento en los niveles de  $T_3$  se deba a una mayor actividad de la desyodasa D2, la cual se expresa en la glándula pituitaria y en el BAT, entre otros tejidos y que favorece la conversión de  $T_4$  a  $T_3$ . En contraste con un estudio<sup>92</sup> que comparó los niveles de  $T_4$  y  $T_3$  en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas (85% alimento estándar para roedor suplementado con 15% de manteca) por 30 semanas, en el que no se encontraron diferencias entre sexos, los resultados aquí presentados muestran que los machos obesos poseen mayores niveles de  $T_4$  y de  $T_3$  que las hembras obesas. En conjunto, estos resultados sugieren que el consumo de una dieta alta en grasas *ad libitum* tienden a inhibir la actividad del eje HPT, aunque de manera diferente dependiendo del sexo.

A continuación, se presenta una tabla (Tabla 1) en donde se aprecian las diferencias en los parámetros analizados del eje tiroideo, respecto a la dieta estándar de cada sexo del primer experimento.

**Tabla 1. Resumen de la actividad del eje tiroideo en el primer experimento**

	Machos HFD	Hembras HFD
<i>Trh</i>	↓	=
TSH	=	↓
$T_4$	↓	=
$T_3$	↑	↓

**Nota.** Las flechas hacia arriba indican un aumento significativo, el signo de igual indica que no hubo cambio y las flechas hacia abajo indican una disminución significativa respecto al grupo con dieta estándar de cada sexo respectivamente.

## 9.2 Segundo experimento

El ejercicio crónico voluntario es un modelo apropiado para reducir la ganancia de peso sin provocar un estrés adicional en las ratas, como ocurre con otros modelos como el nado o ejercicio forzado<sup>119</sup>. Teniendo en cuenta que el interés del segundo experimento es el efecto del ejercicio, el alimento del grupo sedentario fue pareado con respecto al grupo ejercitado para tener un mejor control sobre esta variable; esto puede explicar las posibles diferencias en el efecto de la dieta con el primer experimento.

Del mismo modo que en el primer experimento, las hembras ingirieron más Kcal por Kg de peso tanto en condición sedentaria como ejercitada, y en ambas dietas (estándar y HFD), comparadas con los machos. También, en ambos sexos, los grupos alimentados con HFD aumentaron la ganancia de peso, su IMC, el peso total de las grasas y los niveles de leptina en suero. En contraste, la acumulación de la grasa subcutánea no aumentó significativamente en las hembras con dieta hipercalórica, pero sí en los machos. Los resultados sobre la grasa visceral fueron consistentes en los dos experimentos, ya que la acumulación de estos depósitos también fue mayor en machos.

Las hembras obesas que se ejercitaron redujeron la ganancia de peso corporal, su IMC, el peso de la grasa total y los niveles de leptina comparadas con las hembras obesas sedentarias;

en los machos, por el contrario, los animales ejercitados no cambiaron estos parámetros comparados con los sedentarios. En ambas dietas, las hembras que se ejercitaron redujeron la grasa visceral, mientras que en los machos se observó una retención de estos depósitos de grasa a pesar de hacer ejercicio; estos datos robustecen la información reportada acerca de la predisposición a la acumulación de grasa visceral en machos<sup>66,67</sup>. Como en el primer experimento, el peso de BAT tampoco varió entre los grupos control, pero tampoco la dieta ni el ejercicio tuvieron efecto sobre el peso de BAT en ningún sexo. Sin embargo, las hembras ejercitadas, comparadas con los machos ejercitados, tuvieron mayor peso de BAT en ambas dietas; esto podría conferir en las hembras ejercitadas una mayor capacidad termogénica que en los machos, independientemente de la dieta, pues, como se mencionó antes, la termogénesis inducida por dieta y la termogénesis adaptativa tienen un origen metabólico en BAT<sup>34</sup>.

Los niveles de triglicéridos fueron más altos en los machos con dieta estándar comparado con las hembras con la misma dieta. La dieta hipercalórica no alteró los niveles de triglicéridos en ningún sexo. En hembras ejercitadas con dieta Chow, se observó una mayor concentración de triglicéridos comparadas con las hembras sedentarias. Ni la dieta hipercalórica ni el ejercicio cambiaron los niveles basales de glucosa en ningún sexo. Las hembras ejercitadas con dieta estándar tuvieron una mayor AUC de la glucosa que los machos ejercitados con la misma dieta; el resto de los grupos se mantuvieron similares. Los machos obesos tuvieron notablemente niveles basales de insulina mayores que las hembras obesas; esto puede sugerir que las hembras son menos propensas a desarrollar hiperinsulinemia, apoyando un estudio anterior<sup>56</sup>.

Al igual que el primer experimento, las hembras tuvieron mayores niveles de corticosterona que los machos con dieta estándar, pero, a diferencia del primer experimento, el tratamiento con la dieta alta en grasas no redujo la concentración de corticosterona; esta diferencia puede deberse a la restricción de alimento en el grupo sedentario. Al igual que en el primer experimento, el que no se presentaran cambios en los niveles de corticosterona entre dietas, sugiere que la dieta no causó un estrés adicional en los animales. El ejercicio, por otro lado, redujo los niveles de corticosterona en machos con dieta estándar y en el grupo HFD tendió a reducirlos ( $p=0.055$ , t-test). Esto nos confirma que el ejercicio voluntario no causó estrés adicional en los animales<sup>22</sup>, y que incluso en machos tuvo un efecto positivo ante el estrés<sup>51,52</sup>.

Se ha documentado que situaciones demandantes de energía, como el ejercicio, activan el eje tiroideo, fomentando el aumento en la síntesis y liberación de TRH en el PVN, de TSH en la glándula pituitaria y las hormonas tiroideas en la tiroides<sup>10</sup>. La distancia corrida por las hembras fue 10 veces mayor que la de los machos. Esto coincide con lo reportado previamente<sup>20</sup>. El ejercicio voluntario aumentó la expresión de *Trh* en el PVN de machos con dieta estándar, pero este efecto se inhibió con el consumo de una dieta alta en grasas, y de hecho, en los machos sedentarios con HFD disminuyó la expresión de *Trh*. Por otro lado, no se observaron cambios en la expresión de *Trh* en hembras ante ningún tratamiento. La dieta HFD no cambió la concentración sérica de TSH en hembras, igual que lo reportado en Jaimes-Hoy *et al.* (2019), ni en machos, sin embargo, el ejercicio sí aumentó la concentración

de TSH en las hembras con dieta estándar, similar a lo reportado por Parra *et al.* (2019) y en los machos con dieta alta en grasas. Ni la dieta ni el ejercicio alteraron los niveles de T<sub>4</sub> en ningún sexo. Esto coincide con lo publicado por Uribe *et al.* (2014) y por Parra *et al.* (2019) con machos ejercitados, pero difiere con el aumento reportado en Parra *et al.* (2019) en hembras ejercitadas contra su control sedentario<sup>20</sup>. Es posible que esta diferencia se deba a la duración del protocolo de ejercicio, pues en Parra *et al.* (2019), el ejercicio crónico voluntario tuvo una duración de 14 días. A diferencia del primer experimento, no hubo diferencias en la concentración de T<sub>3</sub> entre sexos con dieta estándar, similar a lo reportado por Boado *et al.* (1983) y Christianson *et al.* (1981). La dieta hipercalórica tampoco alteró los niveles en machos, similar a lo publicado en Araujo *et al.* (2010) y en Jaimes-Hoy *et al.* (2019), ni en hembras, similar a Jaimes-Hoy *et al.* (2019). El ejercicio redujo la concentración de T<sub>3</sub> en hembras con dieta estándar, pero no en machos. Esto coincide con lo publicado en Uribe *et al.* (2014) y por Parra *et al.* (2019) con machos ejercitados con dieta estándar. En conjunto, estos resultados sugieren que el ejercicio modifica la actividad del eje tiroideo de manera diferente dependiendo del sexo, pero estos efectos pueden verse alterados por el consumo de una dieta alta en grasas.

En las siguientes tablas se aprecian las diferencias dentro de cada sexo sobre los parámetros analizados del eje tiroideo respecto al grupo sedentario con dieta estándar en machos (tabla 2) y en hembras (tabla 3) del segundo experimento.

**Tabla 2. Resumen de la actividad del eje tiroideo en machos del segundo experimento**

	Ev Chow ♂	Ev HFD ♂	Sed HFD ♂
<i>Trh</i>	↑	=	↓
TSH	=	↑	=
T <sub>4</sub>	=	=	=
T <sub>3</sub>	=	=	=

**Nota.** Las flechas hacia arriba indican un aumento significativo, el signo de igual indica que no hubo cambio y las flechas hacia abajo indican una disminución significativa respecto al grupo en condición sedentaria y con dieta estándar en machos.

**Tabla 3. Resumen de la actividad del eje tiroideo en hembras del segundo experimento**

	Ev Chow ♀	Ev HFD ♀	Sed HFD ♀
<i>Trh</i>	=	=	=
TSH	↑	=	=
T <sub>4</sub>	=	=	=
T <sub>3</sub>	↓	=	=

**Nota.** Las flechas hacia arriba indican un aumento significativo, el signo de igual indica que no hubo cambio y las flechas hacia abajo indican una disminución significativa respecto al grupo en condición sedentaria y con dieta estándar en hembras.

## 10. CONCLUSIONES

En este trabajo se encontró que cuando las ratas Wistar consumen una dieta alta en grasas *ad libitum*, hay una mayor acumulación de scWAT y BAT en hembras, mientras que en machos es más marcada la acumulación de vWAT. Además, se observó que el ejercicio redujo la ganancia de peso corporal inducida por HFD, y disminuyó el índice de masa corporal, los depósitos de grasa visceral y la concentración de leptina en suero en ambas dietas en hembras, pero no en machos. El consumo *ad libitum* de la dieta HFD tiende a inhibir la actividad del eje HPT de diferente manera dependiendo del sexo. El ejercicio crónico voluntario atenúa algunos parámetros asociados a la obesidad en mayor medida en hembras que en machos y modifica la actividad del eje tiroideo de diferente manera dependiendo del sexo y de la dieta.

## 11. PERSPECTIVAS

En vista de que las hembras recorrieron mayor distancia con la rueda giratoria, sería interesante comparar los efectos del ejercicio crónico voluntario, cuando hacen la misma cantidad de actividad física que los machos. Esto podría lograrse sometiendo a los animales a la misma intensidad, velocidad y tiempo en una caminadora.

Analizar otros parámetros asociados a la regulación de las hormonas tiroideas, como la actividad de la desyodasa D2 en BAT y en la pituitaria; Analizar la expresión de genes asociados a la actividad mitocondrial como PGC1 $\alpha$  o marcadores de la termogénesis como UCP1 para tener una mayor comprensión de los efectos del ejercicio y la dieta sobre el metabolismo energético.

## REFERENCIAS

1. Zucoloto, F. S. Evolution of the human feeding behavior. *Psychol. Neurosci.* **4**, 131–141 (2011).
2. Swinburn, B. A. *et al.* The global obesity pandemic: Shaped by global drivers and local environments. *Lancet* **378**, 804–814 (2011).
3. Rocha-Rodrigues, S. *et al.* Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sci.* **165**, 100–108 (2016).
4. Feldmann, H. M., Golozoubova, V., Cannon, B. & Nedergaard, J. UCP1 Ablation Induces Obesity and Abolishes Diet-Induced Thermogenesis in Mice Exempt from Thermal Stress by Living at Thermoneutrality. *Cell Metab.* **9**, 203–209 (2009).
5. Tomiyama, J. Stress and obesity. *Annu. Rev. Psychol.* **70**, 703–18 (2019).
6. Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W. & Goodyear, L. J. Exercise effects on white adipose tissue: Beiging and metabolic adaptations. *Diabetes* **64**, 2361–2368 (2015).
7. Zoeller, R. T., Tan, S. W. & Tyl, R. W. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. *Crit. Rev. Toxicol.* **37**, 11–53 (2007).
8. Ortiga-Carvalho, T. M., Chiamolera, M. I., Pazos-Moura, C. C. & Wondisford, F. E. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Compr. Physiol.* **6**, 1387–1428 (2016).
9. Fekete, C. & Lechan, R. M. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. *Endocr. Rev.* **35**, 159–194 (2014).
10. Joseph-Bravo, P., Jaimes-Hoy, L., Uribe, R. M. & Charli, J. L. TRH, the first hypophysiotropic releasing hormone isolated: Control of the pituitary-thyroid axis. *J. Endocrinol.* **226**, T85–T100 (2015).
11. van der Spek, A. H., Fliers, E. & Boelen, A. The classic pathways of thyroid hormone metabolism. *Mol. Cell. Endocrinol.* **458**, 29–38 (2017).
12. Mullur, R., Liu, Y. Y. & Brent, G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol. Rev.* **94**, 355–382 (2014).
13. Rosen, E. D. & Spiegelman, B. M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* **444**, 847–853 (2006).
14. Marsili, A. *et al.* Mice with a targeted deletion of the type 2 deiodinase are insulin resistant and susceptible to diet induced obesity. *PLoS One* **6**, (2011).
15. Salvatore, D., Simonides, W. S., Dentice, M., Zavacki, A. M. & Larsen, P. R. Thyroid hormones and skeletal muscle - New insights and potential implications. *Nat. Rev. Endocrinol.* **10**, 206–214 (2014).
16. Bloise, F. F., Cordeiro, A. & Ortiga-Carvalho, T. M. Role of thyroid hormone in skeletal muscle physiology. *J. Endocrinol.* **236**, R57–R68 (2018).

17. Joseph-Bravo, P. *et al.* Multifactorial modulation of TRH metabolism. *Cell. Mol. Neurobiol.* **18**, 231–247 (1998).
18. Harris, A. *et al.* Effect of starvation on biochemical indices of renal function in the rat. *Br. J. Exp. Pathol.* **68**, 767–775 (1987).
19. Zimmermann, M. B. & Boelaert, K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **3**, 286–295 (2015).
20. Parra-Montes De Oca, M. A. *et al.* Voluntary exercise-induced activation of thyroid axis and reduction of white fat depots is attenuated by chronic stress in a sex dimorphic pattern in adult rats. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* **10**, 1–13 (2019).
21. Adler, S. M. & Wartofsky, L. The Nonthyroidal Illness Syndrome. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* **36**, 657–672 (2007).
22. Uribe, R. M. *et al.* Voluntary exercise adapts the hypothalamus- Pituitary-Thyroid axis in male rats. *Endocrinology* **155**, 2020–2030 (2014).
23. Uribe, M., Redondo, L., Charli, J.-L. & Joseph-Bravo, P. Suckling and Cold Stress Rapidly and Transiently Increase TRH mRNA in the Paraventricular Nucleus. *Neuroendocrinology* **58(1)**, 140–145 (1993).
24. Araujo, R. L. *et al.* High-fat diet increases thyrotropin and oxygen consumption without altering circulating 3,5,3'-triiodothyronine (T3) and thyroxine in rats: The role of iodothyronine deiodinases, reverse T3 production, and whole-body fat oxidation. *Endocrinology* **151**, 3460–3469 (2010).
25. Perello, M. *et al.* Maintenance of the thyroid axis during diet-induced obesity in rodents is controlled at the central level. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **299**, (2010).
26. Kershaw, E. E. & Flier, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2548–2556 (2004).
27. Cinti, S. The adipose organ at a glance. *DMM Dis. Model. Mech.* **5**, 588–594 (2012).
28. Tchkonina, T. *et al.* Mechanisms and Metabolic Implications of Regional Differences among Fat Depots. **17**, 644–656 (2014).
29. Obregon, M. J. Adipose tissues and thyroid hormones. *Front. Physiol.* **5**, 1–12 (2014).
30. Ahima, R. S. & Flier, J. S. Leptin. *Annu. Rev. Physiol* **62**, 413–437 (2000).
31. Saito, M. *et al.* High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: Effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes* **58**, 1526–1531 (2009).
32. Van Marken Lichtenbelt, W. D. *et al.* Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N. Engl. J. Med.* **360**, 1500–1508 (2009).
33. Nedergaard, J., Bengtsson, T. & Cannon, B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **293**, 444–452 (2007).

34. Rothwell, N. J. & Stock, M. J. A Role for Brown Adipose Tissue in Diet-Induced Obesity. *Obes. Res.* **5**, 1–7 (1997).
35. Lee, P., Swarbrick, M. M. & Ho, K. K. Y. Brown adipose tissue in adult humans: A metabolic renaissance. *Endocr. Rev.* **34**, 413–438 (2013).
36. Silva, J. E. & Bianco, S. D. C. Thyroid-adrenergic interactions: Physiological and clinical implications. *Thyroid* **18**, 157–165 (2008).
37. Bianco, A. C., Sheng, X. & Silva, J. E. Triiodothyronine amplifies norepinephrine stimulation of uncoupling protein gene transcription by a mechanism not requiring protein synthesis. *J. Biol. Chem.* **263**, 18168–18175 (1988).
38. Mullur, R., Liu, Y. Y. & Brent, G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol. Rev.* **94**, 355–382 (2014).
39. Ribeiro, M. O. *et al.* Thyroid hormone-sympathetic interaction and adaptive thermogenesis are thyroid hormone receptor isoform-specific. *J. Clin. Invest.* **108**, 97–105 (2001).
40. Wu, M. V., Bikopoulos, G., Hung, S. & Cедdia, R. B. Thermogenic capacity is antagonistically regulated in classical brown and white subcutaneous fat depots by high fat diet and endurance training in rats: Impact on whole-body energy expenditure. *J. Biol. Chem.* **289**, 34129–34140 (2014).
41. Smorlesi, A., Frontini, A., Giordano, A. & Cinti, S. The adipose organ: White-brown adipocyte plasticity and metabolic inflammation. *Obes. Rev.* **13**, 83–96 (2012).
42. Nedergaard, J. & Cannon, B. The browning of white adipose tissue: Some burning issues. *Cell Metab.* **20**, 396–407 (2014).
43. Stanford, K. I. & Goodyear, L. J. Exercise regulation of adipose tissue. *Adipocyte* **5**, 153–162 (2016).
44. Dewal, R. S. & Stanford, K. I. Effects of exercise on brown and beige adipocytes. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **1864**, 71–78 (2019).
45. Martínez-Sánchez, N. *et al.* Thyroid hormones induce browning of white fat. *J. Endocrinol.* **232**, 351–362 (2017).
46. Weiner, J. *et al.* Thyroid hormone status defines brown adipose tissue activity and browning of white adipose tissues in mice. *Sci. Rep.* **6**, 1–10 (2016).
47. De Matteis, R. *et al.* Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **23**, 582–590 (2013).
48. Aldiss, P. *et al.* Exercise-induced ‘browning’ of adipose tissues. *Metabolism.* **81**, 63–70 (2018).
49. Fabricatore, A. N. & Wadden, T. A. Introduction: the Obesity Epidemic. *Annu. Rev. Clin. Psychol* **2**, 357–377 (2006).
50. Howley, E. T. Type of activity: Resistance, aerobic and leisure versus occupational



- physical activity. *Med. Sci. Sports Exerc.* **33**, (2001).
51. K. Dishman *et al.* Neurobiology of Exercise. *Obesity* **14**, 345–356 (2006).
  52. Penedo, F. & Dahn, J. Exercise and well-being: a review of mental and physical health benefits associated with physical activity. *Curr. Opin. Psychiatry* **18**, 189–193 (2005).
  53. Pedersen, B. K. & Febbraio, M. A. Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nat. Rev. Endocrinol.* **8**, 457–465 (2012).
  54. Garland, T. *et al.* The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: Human and rodent perspectives. *J. Exp. Biol.* **214**, 206–229 (2011).
  55. Droste, S. K., Chandramohan, Y., Hill, L. E., Linthorst, A. C. E. & Reul, J. M. H. M. Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. *Neuroendocrinology* **86**, 26–37 (2007).
  56. Gorres-Martens, B. K., Field, T. J., Schmidt, E. R. & Munger, K. A. Exercise prevents HFD- and OVX-induced type 2 diabetes risk factors by decreasing fat storage and improving fuel utilization. *Physiol. Rep.* **6**, 1–14 (2018).
  57. Bianco, A., Nunes, M., Hell, N. & Maciel, R. The role of glucocorticoids in the stress-induced reduction of extrathyroidal 3,5,3'-triiodothyronine generation in rats. *Endocrinology* **120**, 1033–1038 (1987).
  58. Kakucska, I., Qi, Y. & Lechan, R. Changes in adrenal status affect hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in parallel with corticotropin-releasing hormone. *Endocrinology* **136**, 2795–2802 (1995).
  59. Fuente-Martín, E., Argente-Arizón, P., Ros, P., Argente, J. & Chowen, J. A. Sex differences in adipose tissue. *Adipocyte* **2**, 128–134 (2013).
  60. Shen, W. *et al.* Sexual dimorphism of adipose tissue distribution across the lifespan: A cross-sectional whole-body magnetic resonance imaging study. *Nutr. Metab.* **6**, 1–9 (2009).
  61. Bloor, I. D. & Symonds, M. E. Sexual dimorphism in white and brown adipose tissue with obesity and inflammation. *Horm. Behav.* **66**, 95–103 (2014).
  62. Palmer, B. F. & Clegg, D. J. The sexual dimorphism of obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* **402**, 113–119 (2015).
  63. White, U. A. & Tchoukalova, Y. D. Sex dimorphism and depot differences in adipose tissue function. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **1842**, 377–392 (2014).
  64. Karastergiou, K., Smith, S. R., Greenberg, A. S. & Fried, S. K. Sex differences in human adipose tissues - The biology of pear shape. *Biol. Sex Differ.* **3**, 1–12 (2012).
  65. Cypess, A. M. *et al.* Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *Obstet. Gynecol. Surv.* **64**, 519–520 (2009).
  66. Grove, K. L., Fried, S. K., Greenberg, A. S., Xiao, X. Q. & Clegg, D. J. A microarray

- analysis of sexual dimorphism of adipose tissues in high-fat-diet-induced obese mice. *Int. J. Obes.* **34**, 989–1000 (2010).
67. Jeffery, E. *et al.* The Adipose Tissue Microenvironment Regulates Depot-Specific Adipogenesis in Obesity. *Cell Metab.* **24**, 142–150 (2016).
  68. Shi, H., Strader, A. D., Woods, S. C. & Seeley, R. J. Sexually dimorphic responses to fat loss after caloric restriction or surgical lipectomy. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **293**, 316–326 (2007).
  69. Priego, T., Sánchez, J., Palou, A. & Picó, C. Effect of high-fat diet feeding on leptin receptor expression in white adipose tissue in rats: Depot- and sex-related differential response. *Genes Nutr.* **4**, 151–156 (2009).
  70. Medrikova, D. *et al.* Sex differences during the course of diet-induced obesity in mice: Adipose tissue expandability and glycemic control. *Int. J. Obes.* **36**, 262–272 (2012).
  71. Rodríguez-Cuenca, S. *et al.* Sex-dependent thermogenesis, differences in mitochondrial morphology and function, and adrenergic response in brown adipose tissue. *J. Biol. Chem.* **277**, 42958–42963 (2002).
  72. Justo, R. *et al.* Gender-related differences in morphology and thermogenic capacity of brown adipose tissue mitochondrial subpopulations. *Life Sci.* **76**, 1147–1158 (2005).
  73. Carr, M. C. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 2404–2411 (2003).
  74. Lizcano, F. & Guzmán, G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *Biomed Res. Int.* **2014**, (2014).
  75. Weigt, C., Hertrampf, T., Zoth, N., Fritzemeier, K. H. & Diel, P. Impact of estradiol, ER subtype specific agonists and genistein on energy homeostasis in a rat model of nutrition induced obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* **351**, 227–238 (2012).
  76. Hong, J., Stubbins, R. E., Smith, R. R., Harvey, A. E. & Núñez, N. P. Differential susceptibility to obesity between male, female and ovariectomized female mice. *Nutr. J.* **8**, 1–5 (2009).
  77. Yakar, S. *et al.* Increased tumor growth in mice with diet-induced obesity: Impact of ovarian hormones. *Endocrinology* **147**, 5826–5834 (2006).
  78. Rapp, J. P. & Pyun, L. L. A Sex Difference in Plasma Thyroxine and Thyroid Stimulating Hormone in Rats (38239). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **146**, 1021–1023 (1974).
  79. Fukuda, H. *et al.* Nyctohemeral and sex-related variations in plasma thyrotropin, thyroxine, and triiodothyronine. *Endocrinology* **97**, 1424–1431 (1975).
  80. Chen, H. J. Age and sex difference in serum and pituitary thyrotropin concentrations in the rat: Influence by pituitary adenoma. *Exp. Gerontol.* **19**, 1–6 (1984).
  81. Greeley, G. H., Lipton, M. A. & Kizer, J. S. Serum thyroxine, triiodothyronine, and TSH levels and TSH release after TRH in aging Male and female rats. *Endocr. Res.* **9**,

- 169–177 (1982).
82. Donda, A., Reymond, M. J., Zürich, M. G. & Lemarchand-Béraud, T. Influence of sex and age on T3 receptors and T3 concentration in the pituitary gland of the rat: Consequences on TSH secretion. *Mol. Cell. Endocrinol.* **54**, 29–34 (1987).
  83. Bagchi, N. & Brown, T. R. Adaptation of male and female rats to iodine deficiency. *Horm. Metab. Res.* **18**, 811–813 (1986).
  84. Watanobe, H. & Takebe, K. Role of postnatal gonadal function in the determination of thyrotropin (tsh) releasing hormone-induced tsh response in adult male and female rats. *Endocrinology* **120**, 1711–1718 (1987).
  85. Boado, R., Ulloa, E. & Zaninovich, A. Effects of oestradiol benzoate on the pituitary-thyroid axis of male and female rats. *Acta Endocrinol. (Copenh)*. **102**, 386–391 (1983).
  86. Christianson, D., Roti, E., Vagenakis, A. G. & Braverman, L. E. The sex-related difference in serum thyrotropin concentration is androgen mediated. *Endocrinology* **108**, 529–535 (1981).
  87. Kieffer, J. D., Mover, H., Federico, P. & Maloof, F. Pituitary-Thyroid Axis in Neonatal and Adult Rats: Comparison of the Sexes. *Endocrinology* **98**, 295–304 (1976).
  88. Cizza, G. *et al.* Age and gender influence basal and stress-modulated hypothalamic-pituitary-thyroid function in Fischer 344/n rats. *J. Investig. Med.* **44**, 440–448 (1996).
  89. Jaimes-Hoy, L., Romero, F., Charli, J.-L. & Joseph-Bravo, P. Sex Dimorphic Responses of the Hypothalamus–Pituitary–Thyroid Axis to Maternal Separation and Palatable Diet. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **10**, 1–16 (2019).
  90. Shao, S. S. *et al.* Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats. *Acta Pharmacol. Sin.* **35**, 1411–1420 (2014).
  91. Panveloski-Costa, A. C. *et al.* Beneficial effects of thyroid hormone on adipose inflammation and insulin sensitivity of obese Wistar rats. *Physiol. Rep.* **6**, 1–11 (2018).
  92. Corsetti, J. P., Sparks, J. D., Peterson, R. G., Smith, R. L. & Sparks, C. E. Effect of dietary fat on the development of non-insulin dependent diabetes mellitus in obese Zucker diabetic fatty male and female rats. *Atherosclerosis* **148**, 231–241 (2000).
  93. van Rijn, C. M., Krijnen, H., Menting-Hermeling, S. & Coenen, A. M. L. Decapitation in rats: Latency to unconsciousness and the ‘wave of death’. *PLoS One* **6**, 1–6 (2011).
  94. Wild, D., John, R., Sheehan, C., Binder, S. & He, J. *David Wild Eds. The Immunoassay Handbook. Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques 2013 (3) - Copy.*
  95. Bianco, A. C. *et al.* American thyroid association guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models. *Thyroid* **24**, 88–168 (2014).
  96. Paxinos, G. & Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. *Acad. Press* 209

(2005). doi:10.1016/0143-4179(83)90049-5

97. Chomczynski, P. & Sacchi, N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: Twenty-something years on. *Nat. Protoc.* **1**, 581–585 (2006).
98. Aguilar-Valles, A. *et al.* The expression of TRH, its receptors and degrading enzyme is differentially modulated in the rat limbic system during training in the Morris water maze. *Neurochem. Int.* **50**, 404–417 (2007).
99. Gutiérrez-Mariscal, M. *et al.* Acute response of hypophysiotropic thyrotropin releasing hormone neurons and thyrotropin release to behavioral paradigms producing varying intensities of stress and physical activity. *Regul. Pept.* **179**, 61–70 (2012).
100. Hill, J., Fried, S. & DiGirolamo, M. Effects of a high-fat diet on energy intake and expenditure in rats. *Life Sci.* **33**, 141–149 (1983).
101. Chang, S. *et al.* Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **259**, (1990).
102. Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A., Balkan, B. & Keeseey, R. E. Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague- Dawley rats. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **273**, (1997).
103. Levin, B. E. & Keeseey, R. E. Defense of differfing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **274**, 412–419 (1998).
104. Li, H. *et al.* Transcriptomic and metabonomic profiling of obesity-prone and obesity-resistant rats under high fat diet. *J. Proteome Res.* **7**, 4775–4783 (2008).
105. Jang, I. S. *et al.* Physiological difference between dietary obesity-susceptible and obesity-resistant sprague dawley rats in response to moderate high fat diet. *Exp. Anim.* **52**, 99–107 (2003).
106. Mauvais-Jarvis, F. Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity. *Biol. Sex Differ.* **6**, 1–9 (2015).
107. Ikemoto, S. *et al.* High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: Differential effects of dietary oils. *Metabolism.* **45**, 1539–1546 (1996).
108. Shanik, M. H. *et al.* Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care* **31 Suppl 2**, (2008).
109. Koyama, K., Chen, G., Lee, Y. & Unger, R. H. Tissue triglycerides, insulin resistance, and insulin production: Implications for hyperinsulinemia of obesity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **273**, 708–713 (1997).
110. Kim, J. Y. *et al.* High-fat diet-induced muscle insulin resistance: Relationship to visceral fat mass. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **279**, 2057–2065 (2000).
111. Snijder, A. M. B., Rekeneire, D. & Study, H. A. B. C. Low subcutaneous thigh fat is

a risk factor for unfavourable glucose and lipid levels , independently of high abdominal fat . The Health ABC Study. 301–308 (2005). doi:10.1007/s00125-004-1637-7

112. Maliszewska, K. & Kretowski, A. Brown adipose tissue and its role in insulin and glucose homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 1–19 (2021).
113. Heck, A. L. & Handa, R. J. Sex differences in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis’ response to stress: an important role for gonadal hormones. *Neuropsychopharmacology* **44**, 45–58 (2019).
114. Tannenbaum, B. M. *et al.* High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic- pituitary-adrenal activity in the rat. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **273**, 1168–1177 (1997).
115. Kamara, K., Eskay, R. & Castonguay, T. High-fat diets and stress responsivity. *Physiol. Behav.* **64**, 1–6 (1998).
116. Pecoraro, N., Reyes, F., Gomez, F., Bhargava, A. & Dallman, M. F. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: Feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology* **145**, 3754–3762 (2004).
117. Strack, A. M., Akana, S. F., Horsley, C. J. & Dallman, M. F. A hypercaloric load induces thermogenesis but inhibits stress responses in the SNS and HPA system. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* **272**, (1997).
118. Prasad, A. & Prasad, C. Short-term consumption of a diet rich in fat decreases anxiety response in adult male rats. *Physiol. Behav.* **60**, 1039–1042 (1996).
119. Contarteze, R. V. L., Manchado, F. D. B., Gobatto, C. A. & De Mello, M. A. R. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* **151**, 415–422 (2008).

## ANEXO 1. Ciclo estral

### Ciclo estral: Primer Experimento

Condición	Rata	Fase
Sed Chow	6	Diestro-Estro
	8	Diestro
	13	Diestro-Estro
	15	Estro
	16	Estro
Sed HFD	7	Diestro
	9	Estro
	10	Proestro
	11	Ilegible
	14	Estro
	17	Estro

### Ciclo estral: Segundo Experimento

Condición	Rata	Fase
Ev Chow	1	Estro-Proestro
	2	Diestro
	3	Estro-Proestro
	4	Estro
	5	Estro
	6	Estro-Proestro
Ev HFD	7	Estro
	8	Proestro
	9	Estro
	10	Estro-Proestro
	11	Diestro
	12	Diestro
Sed Chow	16	Diestro
	17	Proestro
	18	Estro-Proestro
	19	Estro
	20	Estro-Proestro
	23	Estro-Proestro
Sed HFD	24	Diestro
	13	Diestro
	14	Estro
	15	Estro
	21	Diestro
	22	Diestro
	25	Estro
	26	Estro
27	Estro	

## ANEXO 2: Parámetros metabólicos y del eje HPT del primer experimento.

Parámetro	Machos		Hembras		ANOVA
	Chow	HFD	Chow	HFD	
BWg (g)	142.7 ± 13.7	245.4 ± 19.9 *	36 ± 5.8 <sup>a</sup>	122.5 ± 31.8 <sup>a</sup>	S, D
kcal/kg BW	10001.2 ± 278.48	10525.2 ± 460.58 #	14858.6 ± 860 <sup>a</sup>	13421.2 ± 741.99 <sup>a</sup>	S
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.78 ± 0.02	0.88 ± 0.03 #	0.68 ± 0.03	0.9 ± 0.07 *	D
gWAT (g/kg)	22.56 ± 1.26	28.32 ± 2.04 #	20.2 ± 2	26.07 ± 3.75	D
rWAT (g/kg)	17.88 ± 1.31	24 ± 1.46 *	15.05 ± 0.87	19.10 ± 1.07 #	S, D
iWAT (g/kg)	4.82 ± 0.61	6.23 ± 0.83	6.54 ± 0.90	14.84 ± 3.18 * <sup>a</sup>	S, D, SxD
tWAT (g/kg)	45.27 ± 2.80	58.55 ± 3.26 #	41.79 ± 3.38	60.01 ± 7.37 *	D
BAT (g/kg)	1.44 ± 0.1	1.17 ± 0.09	1.34 ± 0.07	1.65 ± 0.1 # <sup>a</sup>	SxD
AUC Glucosa (mg/dl)min	14453 ± 597.1	14910 ± 308.3	17364 ± 673.0	15990 ± 1989	S
Insulina t0 (ng/ml)	1.578 ± 0.16	1.886 ± 0.23	1.04 ± 0.16	2.08 ± 0.58	D
Corticoesterona (ng/ml)	161.4 ± 27.55	295.8 ± 65.10	906.4 ± 81.31 <sup>a</sup>	405.9 ± 96.74 *	S, D, SxD
Leptina (ng/ml)	5.31 ± 0.41	8.34 ± 2.04	4.61 ± 0.66	11.30 ± 3.88	D
Triglicéridos (mg/dl)	142.6 ± 49.48	163.0 ± 35.75	212.8 ± 32.47	218.5 ± 29.95	---
TriH (%)	100 ± 15.89	52.82 ± 7.34 #	100 ± 17.41	60.47 ± 9.52	D
TSH (ng/ml)	3.51 ± 0.22	3.25 ± 0.19	1.28 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.08 # <sup>a</sup>	S
T4 (µg/dl)	6.001 ± 0.2414	3.286 ± 0.4719 *	1.690 ± 0.3907 <sup>a</sup>	0.8291 ± 0.2389 <sup>a</sup>	S, D, SxD
T3 (ng/ml)	2.737 ± 0.1287	3.166 ± 0.08946 *	1.446 ± 0.03443 <sup>a</sup>	1.262 ± 0.07375 # <sup>a</sup>	S, SxD

\*HFD vs. Chow; <sup>a</sup> Hembras vs. Machos; S efecto del sexo; D efecto de la dieta; SxD interacción del sexo y la dieta (ANOVA,  $p < 0.05$ ) # HFD vs. Chow (t-test,  $p < 0.05$ ).

### ANEXO 3. Distancia recorrida por las ratas ejercitadas en cada dieta, en metros.

Semana	Machos		Hembras		ANOVA
	Chow	HFD	Chow	HFD	
1	2215 ± 214	1707 ± 521	4191 ± 658 <sup>&amp;</sup>	5727 ± 403 <sup>&amp;</sup>	<i>S</i>
2	2390 ± 276	1682 ± 766	14747 ± 3091 <sup>&amp;</sup>	12160 ± 2887 <sup>&amp;</sup>	<i>S</i>
3	2308 ± 357	1891 ± 919	27632 ± 7414 <sup>&amp;</sup>	14733 ± 5983	<i>S</i>
4	1729 ± 258	1817 ± 892	28633 ± 6567 <sup>&amp;</sup>	14403 ± 5716	<i>S</i>

<sup>&</sup>Hembras vs. Machos; *S* efecto del sexo; (ANOVA,  $p < 0.05$ ).



## ANEXO 4. Parámetros metabólicos del segundo experimento.

Parámetro	Machos				ANOVA
	Chow		HFD		
	Sed	Ev	Sed	Ev	
BWg (g)	95.61 ± 5.95	119.57 ± 8.91	194.65 ± 10.44*	174.65 ± 9.92 <sup>a</sup>	S, D, E, SxE, SxD
kcal/kg BW	10759 ± 313	10178 ± 133	10596 ± 192	11080 ± 270	S, E, SxE
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.814 ± 0.028	0.812 ± 0.027	0.961 ± 0.033*	0.867 ± 0.036	S, D, E
gWAT (g/kg)	14.69 ± 1.21	15.67 ± 0.6	21.58 ± 1.88 <sup>\$</sup>	23.989 ± 2.03 <sup>\$</sup>	S, D, E, SxE
rWAT (g/kg)	15.08 ± 0.91	11.835 ± 1.64	24.51 ± 3.23 <sup>\$</sup>	30.44 ± 3.35 <sup>a</sup>	D, E, SxE
iWAT (g/kg)	5.46 ± 0.46	3.95 ± 0.62	9.12 ± 1.53 <sup>\$</sup>	7.57 ± 1.07 <sup>\$</sup>	E
rWAT (g/kg)	35.23 ± 2.17	31.46 ± 2.42	55.21 ± 5.32*	62.01 ± 5.61 <sup>a</sup>	D, E, SxE
BAT (g/kg)	0.9 ± 0.04	0.78 ± 0.07	1.11 ± 0.1	0.94 ± 0.07	S
AUC Glucosa (mg/dl)min	14762 ± 742	13910 ± 672	15425 ± 971	17970 ± 2178	S, SxD
Insulina t0 (ng/ml)	0.32 ± 0.08	0.26 ± 0.03	0.61 ± 0.11	0.54 ± 0.19	S, D, SxD
Corticoesterona (ng/ml)	219.22 ± 26.72	82.87 ± 22.43 <sup>#</sup>	288.34 ± 58.2	106.6 ± 44.83	SxE
Leptina (ng/ml)	4.58 ± 0.36	4.35 ± 0.51	9.35 ± 0.74*	8.85 ± 1.03 <sup>a</sup>	S, D, E, SxD
Triglicéridos (mg/dl)	225.68 ± 24.68	224.64 ± 29.02	196.74 ± 45.61	310.84 ± 51.19	S, E

Parámetro	Hembras				ANOVA
	Chow		HFD		
	Sed	Ev	Sed	Ev	
BWg (g)	81.14 ± 7.83	48.67 ± 10.22 <sup>&amp;</sup>	116.17 ± 7.21 <sup>&amp;</sup>	77.25 ± 7.68 <sup>&amp;</sup>	S, D, E, SxE, SxD
kcal/kg BW	13274 ± 606 <sup>&amp;</sup>	14855 ± 408 <sup>&amp;c</sup>	13815 ± 457 <sup>&amp;</sup>	14908 ± 226 <sup>&amp;</sup>	S, E, SxE
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	0.753 ± 0.013	0.689 ± 0.01 <sup>&amp;#</sup>	0.87 ± 0.03*	0.758 ± 0.03 <sup>\$</sup> #	S, D, E
gWAT (g/kg)	25.51 ± 2.76 <sup>&amp;</sup>	11.58 ± 1.16 <sup>c%</sup>	38.44 ± 2.57 <sup>&amp;#</sup>	26.09 ± 4.98 <sup>ab</sup>	S, D, E, SxE
rWAT (g/kg)	18.46 ± 2.98	6.535 ± 0.96 <sup>c%</sup>	28.76 ± 4.27	16.33 ± 2.37 <sup>\$%</sup>	D, E, SxE
iWAT (g/kg)	11.69 ± 4.84	3.06 ± 0.74	9.07 ± 2.01	6.56 ± 1.14 <sup>\$</sup>	E
rWAT (g/kg)	55.67 ± 4.32 <sup>&amp;</sup>	21.18 ± 2.34 <sup>c</sup>	76.27 ± 6.04 <sup>&amp;#</sup>	48.98 ± 7.22 <sup>ab</sup>	D, E, SxE
BAT (g/kg)	1.48 ± 0.07	1.96 ± 0.38 <sup>&amp;</sup>	1.6 ± 0.22	1.7 ± 0.15 <sup>%</sup>	S
AUC Glucosa (mg/dl)min	19170 ± 1159	22135 ± 759 <sup>&amp;</sup>	18412 ± 1634	18555 ± 1080	S, SxD
Insulina t0 (ng/ml)	0.23 ± 0.05	0.17 ± 0.04	0.19 ± 0.06 <sup>&amp;</sup>	0.09 ± 0.04 <sup>&amp;</sup>	S, D, SxD
Corticoesterona (ng/ml)	485.45 ± 102 <sup>%</sup>	342.77 ± 103.04 <sup>%</sup>	454.56 ± 81.46	407.62 ± 61.47 <sup>%</sup>	SxE
Leptina (ng/ml)	3.04 ± 0.33 <sup>%</sup>	1.41 ± 0.12 <sup>&amp;#</sup>	4.65 ± 0.68 <sup>&amp;\$</sup>	2.48 ± 0.4 <sup>&amp;\$#</sup>	S, D, E, SxD
Triglicéridos (mg/dl)	59.98 ± 15.33 <sup>&amp;</sup>	164.42 ± 8.71 <sup>#</sup>	119.01 ± 55.67	238.06 ± 48.96	S, E

\*Sed Chow vs. Sed HFD; <sup>a</sup>Ev Chow vs. Ev HFD; <sup>b</sup>Sed HFD vs. Ev HFD; <sup>c</sup>Sed Chow vs. Ev Chow; <sup>&</sup>Hembras vs. Machos; <sup>S</sup> efecto del sexo; <sup>D</sup> efecto de la dieta; <sup>E</sup> efecto del ejercicio; <sup>SxD</sup> interacción del sexo y la dieta; <sup>SxE</sup> interacción del sexo y el ejercicio; <sup>DxE</sup> interacción de la dieta y el ejercicio; <sup>SxDxE</sup> interacción del sexo, la dieta y el ejercicio (ANOVA, p<0.05). <sup>#</sup> Sed vs. Ev; <sup>\$</sup>Chow vs HFD; <sup>%</sup>Hembras vs Machos (t-test, p<0.05).

## ANEXO 5. Parámetros del eje HPT del segundo experimento.

Parámetro	Machos						ANOVA
	Chow			HFD			
	Sed	Ev		Sed	Ev		
<i>Trh</i> (%)	100 ± 16.74	206.62 ± 35.38		45.22 ± 10.28	36.87 ± 6.17		<i>SxD</i>
TSH (ng/ml)	1.66 ± 0.22	2.31 ± 0.55		1.59 ± 0.29	2.72 ± 0.17 #		<i>E, SxD</i>
T4 (µg/dl)	7.24 ± 0.52	7.73 ± 0.37		6.22 ± 0.52	7.52 ± 0.62		<i>S, SxD</i>
T3 (ng/ml)	2.75 ± 0.11	2.42 ± 0.33		2.54 ± 0.2	2.57 ± 0.22		<i>S, E</i>
Parámetro	Hembras						ANOVA
	Chow			HFD			
	Sed	Ev		Sed	Ev		
<i>Trh</i> (%)	100 ± 12.85	176.56 ± 60.41		140.69 ± 52.93	192.04 ± 102.8		<i>SxD</i>
TSH (ng/ml)	2.15 ± 0.33	3.28 ± 0.12 #		1.89 ± 0.19	1.83 ± 0.19 \$		<i>E, SxD</i>
T4 (µg/dl)	4.82 ± 0.14 &	4.42 ± 0.24 &		5.03 ± 0.49	6.07 ± 0.4 \$		<i>S, SxD</i>
T3 (ng/ml)	2.52 ± 0.14	1.97 ± 0.11 #		2.37 ± 0.28	1.89 ± 0.12 %		<i>S, E</i>

\*Sed Chow vs. Sed HFD; <sup>a</sup>Ev Chow vs. Ev HFD; <sup>b</sup>Sed HFD vs. Ev HFD; <sup>c</sup>Sed Chow vs. Ev Chow; <sup>d</sup>Hembras vs. Machos; <sup>e</sup> efecto del sexo; *D* efecto de la dieta; *E* efecto del ejercicio; *SxD* interacción del sexo y la dieta; *SxE* interacción del sexo y el ejercicio; *DxE* interacción de la dieta y el ejercicio; *SxDxE* interacción del sexo, la dieta y el ejercicio (ANOVA,  $p < 0.05$ ). # Sed vs. Ev; \$ Chow vs HFD; % Hembras vs Machos (t-test,  $p < 0.05$ ).