

LICENCIATURA EN NUTRICIÓN

“Caracterización farmacotoxicológica del compuesto N-(2,2-Di (1H-pyrrol-2-yl) ethyl) adamantane- 1 -carboxamide en roedores para probar su potencial uso como coadyuvante del tratamiento del Síndrome Metabólico”

T E S I S

QUE, PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADA EN NUTRICIÓN

PRESENTA:

PLN ANA GUADALUPE FUENTES RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ALFONSO EFRAÍN CAMPOS SEPÚLVEDA

ASESORA:

M. en C. MARÍA ELENA MARTÍNEZ ENRÍQUEZ

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primero que nada a Dios, sé que esta tesis ha sido un largo camino de muchas pruebas, de cosas nuevas que aprender y de innumerables retos y por supuesto que sin mi fe no hubiera llegado hasta el final.

Dios siempre estuvo conmigo en los momentos en que quería tirar la toalla porque se juntaban demasiadas cosas por hacer.

A mi director, Dr. Efraín:

Muchas gracias por todas las cosas que me enseñó no solo de mi tesis sino de cualquier tema que se pusiera frente a nosotros, admiro toda la sabiduría concentrada en usted, gracias por toda la paciencia, el tiempo y la confianza depositada en mí sin conocerme. Sé que no cualquiera tiene las oportunidades que yo obtuve de usted y espero poder hacerlo sentir un poco orgulloso de su paisana.

Mary:

Fuiste durante varios meses mucho más que sólo mi co-asesora, también me llenaste de consejos, cuidados y más de un café. Me enseñaste desde diseccionar una ratita hasta estadística con mucha paciencia. Gracias por todas las cosas que me enseñaste en el laboratorio y fuera de él, sin ti esto no hubiera sido posible.

Raúl:

Gracias por ayudarnos siempre con el trabajo rudo que nadie quiere hacer y por alegrarnos con tu música.

Alyn:

Gracias por hacer siempre el ambiente del laboratorio más lindo, por todas las pláticas y los ride.

A los colaboradores:

Dr. Luis:

Gracias por aceptar a una nutrióloga durante más de un año en su equipo de QFBs, aunque intentó llevarme al lado oscuro no me dejó y seguí siendo nutri y por todas las oportunidades que me ofreció. Gracias porque de usted aprendí de Química, música, fotografía y vinos.

Chava:

Gracias por que me convertiste en una chicharita experta en columnas, plaquitas y síntesis de nuestro compuesto. Pero además me brindaste tu amistad, tus consejos y mil cosas más. Sabes que te quiero y que estoy muy orgullosa de tus triunfos.

Dra. Ruth:

Gracias por sus aportaciones a este proyecto y por realizar pruebas alternas con el compuesto NDHPEAC.

A Mari Carmen:

Gracias por todos sus consejos y por ser la iniciadora de este proyecto. En usted encontré mucho más que una maestra, una confidente, consejera y alguien en quien puedo confiar sin importar de lo que se trate. ¡La quiero mucho!

A mis padres:

Papá:

Mientras escribo esto recibí una llamada tuya para preguntarme cómo estoy y hacerme sentir tranquila. Eso es justo lo que siempre haces, calmarme, hacerme sentir mejor, gracias por creer siempre en mí, por levantarme, por llenarme de consejos. Te quiero, pa.

Mamá:

Gracias por ser la mamá más dulce del mundo, por llenarnos de detalles, por siempre cuidarnos y por siempre creer en nosotras. Gracias por que al verte me he dado cuenta que uno siempre puede superarse y ser mejor cada día, tú me enseñaste a nunca estar quieta y a luchar por lo que quiero.

A mi hermana:

Pau:

Gracias por siempre ser mi porrista, mi mejor amiga y mi cómplice, agradezco a Dios por mandarme a esa bebé prieta y ojona a mi vida, te quiero mucho, chaparrita.

A mis tíos y mi abuela:

Tía Ana y Tío Jano:

Gracias por siempre quererme como unos padres, de manera incondicional, gracias por todo su amor, por sus detalles, por siempre estar al pendiente de mí y por tenerme presente en sus oraciones. Los quiero como mis segundos padres y siempre estaré en deuda con ustedes.

Abue:

Gracias por siempre tener el corazón en la mano para mí, por tus abrazos, por tu comida, por darme tu corazón enterito, eres una mujer de las que ya no hay, aunque nunca lo digo, te quiero abuelita.

A mi novio:

Wal:

Gracias por ser siempre el que me levanta cuando ya no puedo más, el que me regaña cuando bajo el ritmo, el que me apoya para luchar, el que me llena de sonrisas cuando lloro, el que me enseña que nada en esta vida es gratis y que rendirse es para los débiles, pero sobre todo gracias por amarme incondicionalmente, te amo flaco.

A mi mejor amiga:

Anji:

Chaparrita gracias por ser mi hermana, mi consejera, mi porrista y mi compañera de aventuras. Tengo un millón de cosas que agradecerte y nunca acabaría. Te quiero muchísimo.

A mi sobrina:

Edith:

¡Gracias por tu paciencia con la imagen! Eres increíble.

## **Dedicatoria**

*A mis padres,  
mi mayor ejemplo de dedicación,  
amor y perseverancia*

El jurado designado por la comisión académica de la Licenciatura en Nutrición de la Universidad Vasco de Quiroga aprobó la tesis titulada: “Caracterización farmacotoxicológica del compuesto N-(2,2-Di (1H-pyrrol-2-yl) ethyl) adamantane-1 -carboxamide en roedores para probar su potencial uso como coadyuvante del tratamiento del Síndrome Metabólico”, que presentó:

PLN Ana Guadalupe Fuentes Rodríguez

Morelia, Michoacán a Fecha

---

**PRESIDENTE**

Dr. Alfonso Efraín Campos Sepúlveda  
Departamento de Farmacología  
Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México  
[drefraincampos@hotmail.com](mailto:drefraincampos@hotmail.com)

---

**SECRETARIO**

MC María del Carmen Ramírez Medel  
Escuela de Nutrición  
Universidad Vasco de Quiroga  
[melamedel@yahoo.com.mx](mailto:melamedel@yahoo.com.mx)

---

**VOCAL**

MC Miriam Álvarez Ramírez  
Escuela de Nutrición  
Universidad Vasco de Quiroga  
[mrm1987@hotmail.com](mailto:mrm1987@hotmail.com)

El programa de Licenciatura en Nutrición de la Universidad Vasco de Quiroga está afiliado a la Comisión Interinstitucional para la Formación de Recursos Humanos para la Salud.

## INDICE

Índice de tablas .....	IV
Índice de figuras.....	V
Lista de abreviaturas.....	VIII
Glosario.....	X
Diagrama de flujo .....	XIII
I. INTRODUCCIÓN.....	XIV
II. MARCO TEÓRICO .....	16
2.1. Síndrome metabólico (SM) .....	16
2.1.1. Diagnostico .....	16
2.2. Componentes.....	17
2.2.1. Obesidad.....	17
2.2.2. Diagnóstico .....	18
2.2.3. Fisiopatología.....	19
2.2.4. Tratamiento.....	20
2.3. Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2 .....	20
2.3.1. Fisiopatología.....	21
2.3.2. Diagnostico .....	22
2.3.3. Tratamiento.....	22
2.3.4. Dislipidemias .....	24
2.3.5. Clasificación .....	24
2.4. Fisiopatología.....	24
2.5. Diagnostico .....	25
2.6. Tratamiento.....	26
2.7. Hormonas esteroideas .....	26
2.8. Glucocorticoides .....	26
2.8.1. Cortisona/ Cortisol.....	27
2.9. Enzima 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide Deshidrogenasa Tipo 1 (11 $\beta$ -HSD1) .....	29

2.10.	Estrógenos y progestágenos .....	31
2.11.	Inhibidores de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 .....	32
2.12.	Usos farmacológicos de grupos adamantanos.....	33
2.12.1.	Inhibidores de 11 $\beta$ -HSD1 con un grupo adamantano .....	34
2.12.2.	N-(2,2-Di(1H-pyrrol-2-yl)ethyl) adamantine -1-carboxamide (NDHPEAC) .....	34
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	36
3.1.	Pregunta de investigación.....	38
3.2.	Justificación .....	39
IV.	HIPÓTESIS .....	42
4.1.	Hipótesis nula (Ho) .....	42
4.2.	Hipótesis alterna (H1) .....	42
V.	OBJETIVOS.....	43
5.1.	Objetivo general.....	43
5.2.	Objetivos específicos .....	43
VI.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	44
6.1.	Tipo de estudio .....	44
6.2.	Variables.....	44
6.2.1.	Variables independientes.....	44
6.2.2.	Variables dependientes.....	44
6.3.	Población y muestra .....	45
6.3.1.	Estudios <i>in vivo</i> .....	45
6.3.1.1.	Estudio agudo .....	45
6.3.1.1.1.	Curva de tolerancia a la glucosa.....	45
6.3.1.2.	Estudio subcrónico.....	46
6.3.2.	Estudios <i>in vitro</i> .....	47
6.3.2.1.	Animales .....	47
6.3.2.1.1.	Frotis vaginal .....	47
6.3.2.1.2.	Técnica de Obtención y estudio del órgano aislado .....	48
6.3.2.1.3.	Eutanasia, extracción de tejido y respuesta contráctil .....	48
6.3.3.	Determinación de la influencia del NDHPEAC sobre fases del ciclo estral .....	51

6.4. Análisis estadístico .....	51
6.4.1. Resultados y discusión .....	51
6.4.1.1. Estudio agudo .....	51
6.4.1.2. Estudio subcrónico.....	54
6.4.1.3. Órgano aislado.....	62
6.4.1.3.1. Útero.....	62
6.4.1.3.2. Íleon.....	63
6.4.1.4. Influencia de la administración del NDHPEAC sobre las fases del ciclo estral de la rata .....	64
VII. LIMITACIONES, FORTALEZAS Y PERSPECTIVAS.....	67
VIII. CONCLUSIONES.....	68
RECURSOS HUMANOS.....	69
RECURSOS MATERIALES .....	69
RECURSOS FINANCIEROS .....	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

## Índice de tablas

Tabla 1. Relación de enfermedades y sus alteraciones para diagnóstico de SM (Potenza & Mechanick, 2009).....	17
Tabla 2. Clasificación del IMC y su diagnóstico de acuerdo a la OMS.....	18
Tabla 3. Niveles normales, medios y elevados de lípidos sanguíneos para el diagnóstico de dislipidemias. ....	25
Tabla 4. Condiciones experimentales de administración de compuestos para cada grupo de estudio agudo en ratones sanos:.....	46
Tabla 5. Condiciones fisiológicas para el estudio de órgano aislado de íleon y útero de roedores .....	49

## Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de la esteroidogénesis humana. ....	27
Figura 2. Conversión metabólica de Cortisona a Cortisol. Adaptada de: (Nathan G. , 2015). ....	30
Figura 3. A la izquierda, se observa a un ratón con obesidad inducida por administración neonatal de GMS. Y en la imagen derecha, observamos la comparación de tamaños entre grupos con obesidad inducida por administración de GMS (izquierda) y sin obesidad (derecha). ....	47
Figura 4. Representación citológica de las diferentes etapas del ciclo estral de la rata .....	48
Figura 5. Derecha: Trasductor FTO3 conectado a un polígrafo Grass 79D registrando actividad motora. Izquierda: Cámaras para órgano aislado. ....	50
Figura 6. Modelos experimentales para el estudio de los efectos de los fármacos in vitro. Sacrificio, extracción de tejido, montaje en cámaras para órgano aislado y registro poligráfico. ....	50
Figura 7. Curva de evolución temporal de las concentraciones de glucosa, durante 240 minutos, de los 4 grupos de ratones sometidos a diferentes condiciones experimentales. Los resultados se muestran como el promedio $\pm$ error estándar. Número de sujetos por grupo= 5. * $p < 0.05$ respecto a los grupos que no recibieron glucosa.....	53
Figura 8. Curva de evolución temporal de la temperatura corporal, durante 240 minutos, de los 4 grupos de ratones sometidos a diferentes condiciones experimentales. Los resultados se muestran como el promedio $\pm$ error estándar. Número de sujetos por grupo= 5. ....	54
Figura 9. Curva de evolución temporal del peso corporal, durante 19 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio $\pm$ error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. + $p < 0.05$ del inicio al final del estudio en cada grupo. ....	56

- Figura 10. Curva de evolución temporal del peso corporal, durante 4 semanas, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \*p<0.05. .... 56
- Figura 11. Curva de evolución temporal del consumo de alimento, durante 24 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \*p<0.05. .... 58
- Figura 12. Curva de evolución temporal del consumo de agua, durante 21 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \*p<0.05. .... 59
- Figura 13. Curva de evolución temporal de la temperatura corporal, durante 17 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \*p<0.05. .... 60
- Figura 14. Curva de evolución temporal de las glucemias capilares, durante 5 semanas, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal). Los resultados se muestran como consumo promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \*p<0.05 grupo control vs grupo con obesidad. + p<0.05 inicio vs final del estudio..... 61
- Figura 15 Curva concentración (dosis) respuesta gradual de la actividad uterina expresada como área bajo la curva, de los 2 grupos (control y NDHPEAC) de órgano aislado sometidos a la administración de NDHPEAC a las concentraciones que se indican en la figura. Los resultados se muestran como promedio  $\pm$  error estándar en cm<sup>2</sup>. Número de sujetos grupo experimental= 10, grupo control= 6. \*p<0.05. .... 63
- Figura 16 Curva dosis respuesta al compuesto NDHPEAC en presencia de las concentraciones: 6.5, 12.93, 19.39 y 25.85 mM en íleon aislado de rata y sus controles, expresado en área bajo la curva (cm<sup>2</sup>). ..... 64

Figura 17 Frecuencias de fases del ciclo estral en grupos vehículo y experimental (40 mg/kg del NDHPEAC por 10 días) vía intraperitoneal. ....66

## Lista de abreviaturas

11 $\beta$ -HSD1	Enzima 11 $\beta$ hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 1
11 $\beta$ -HSD2	Enzima 11 $\beta$ hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2
AGL	Ácidos grasos libres
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AMPc	Adenosín Monofosfato Cíclico
CIOMS	Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas
DASH	Enfoques dietéticos para detener la hipertensión
DIO	Obesidad inducida con dieta
dL	Decilitros
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
EVC	Evento Vascular Cerebral
g	Gramos
GLP-1	Péptido similar al Glucagón 1.
GMS	Glutamato monosódico
HACT	Hormona Adenocorticotrófica
HAS	Hipertensión arterial sistémica
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IMC	Índice de Masa Corporal
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
Kcal	Kilocalorías
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
mg	Miligramos
mmHg	Milímetros de mercurio
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero

Na	Sodio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NCEP ATPIV	Panel de Tratamiento para Adultos IV del Programa Nacional para la Educación sobre el Colesterol
NDHPEAC	N-(2,2-Di(1H-pyrrol-2-yl)ethyl)adamantane-1-carboxamide
OMS	Organización Mundial de la Salud
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa
PKA	Proteína Quinasa A
RI	Resistencia a la insulina
SM	Síndrome Metabólico
SNC	Sistema Nervioso Central
Tg	Triglicéridos
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

## Glosario

- **Ciclo estral**

Conjunto de etapas sexuales de las hembras de distintas especies de mamíferos, con modificaciones conductuales, hormonales y fisiológicas. Consta de 4 etapas: proestro, estro, metaestro y diestro.

Siendo la etapa de estro, la de receptividad sexual, en donde generalmente se consuma el apareamiento, en la que existe la ovulación y la mayor capacidad contráctil del útero.

- **Cortisol**

Hormona humana de origen esteroideo; es sintetizada en la corteza suprarrenal, a partir del colesterol y su producción está profundamente influenciada por los ciclos circadianos. Se encarga de regular el metabolismo de la glucosa y de energía en general, entre otras cosas.

- **Cortisona:**

Hormona esteroidea, producida en las glándulas suprarrenales con una gran influencia en el equilibrio de los electrolitos y los fluidos corporales, así como en el metabolismo de los macronutrientes.

En la industria farmacéutica es utilizada como inmunosupresora, sirviendo como analgésico y antiinflamatorio.

- **Curva de tolerancia a la glucosa**

Prueba de laboratorio para conocer la forma en la que el cuerpo metaboliza los hidratos de carbono, específicamente la glucosa y descubrir posibles alteraciones. Su principal característica es la toma constante de la glucemia capilar cada 30 o 60 minutos después de un bolo de glucosa basal.

- **Estudio de Docking molecular**

También llamado de anclaje molecular es un procedimiento de cálculo que es útil para predecir la unión entre un receptor y un ligando. Con el objetivo de predecir la afinidad de unión entre estos y los tipos de uniones.

- **Estrógenos**

Hormonas sexuales provenientes del colesterol, que se producen principalmente en ovarios y placenta en el embarazo. Su principal función es la regulación del ciclo menstrual, así como el desarrollo de características sexuales secundarias en la mujer.

- **Progestágenos**

Al igual que los estrógenos, son hormonas sexuales con origen esteroideo, además de ser parte del ciclo menstrual, su principal función es la del mantenimiento del embarazo. Por lo que una de sus principales funciones de manera clínica es la de anticoncepción.

- **Glutamato monosódico**

El glutamato monosódico es un potencializador de sabor ampliamente utilizado en la industria alimentaria, principalmente en alimentos de comida de bajo valor nutrimental.

Se ha asociado su consumo en exceso con el desarrollo de obesidad y por lo tanto se utiliza en el desarrollo de modelos animales de obesidad.

- **Músculo liso**

Es el tipo de músculo conocido como no voluntario y está formado por células largas. Se encuentra formando parte del aparato reproductor, excretor, vasos sanguíneos y los órganos internos.

Los músculos lisos unitarios son aquellos de contracción rápida ya que no requieren de estimulación nerviosa y están en útero y tracto gastrointestinal principalmente.

- **Órgano aislado**

En este tipo de estudios se lleva a cabo con un pequeño fragmento del tejido a analizar. Son una herramienta muy útil para evaluar la actividad farmacológica de una molécula en los receptores y canales de un tejido.

Además de su especificidad, es útil debido a que es poco costosa (se requieren menos sujetos y menor cantidad de compuesto) y más rápida.

- **Síndrome Metabólico**

Conjunto de desórdenes metabólicos en los que la obesidad central, la alteración en el control de la glucosa y el alto nivel de lípidos sanguíneos se desarrollan al inicio para dar paso a otras alteraciones ortopédicas, óseas, digestivas, entre otras.

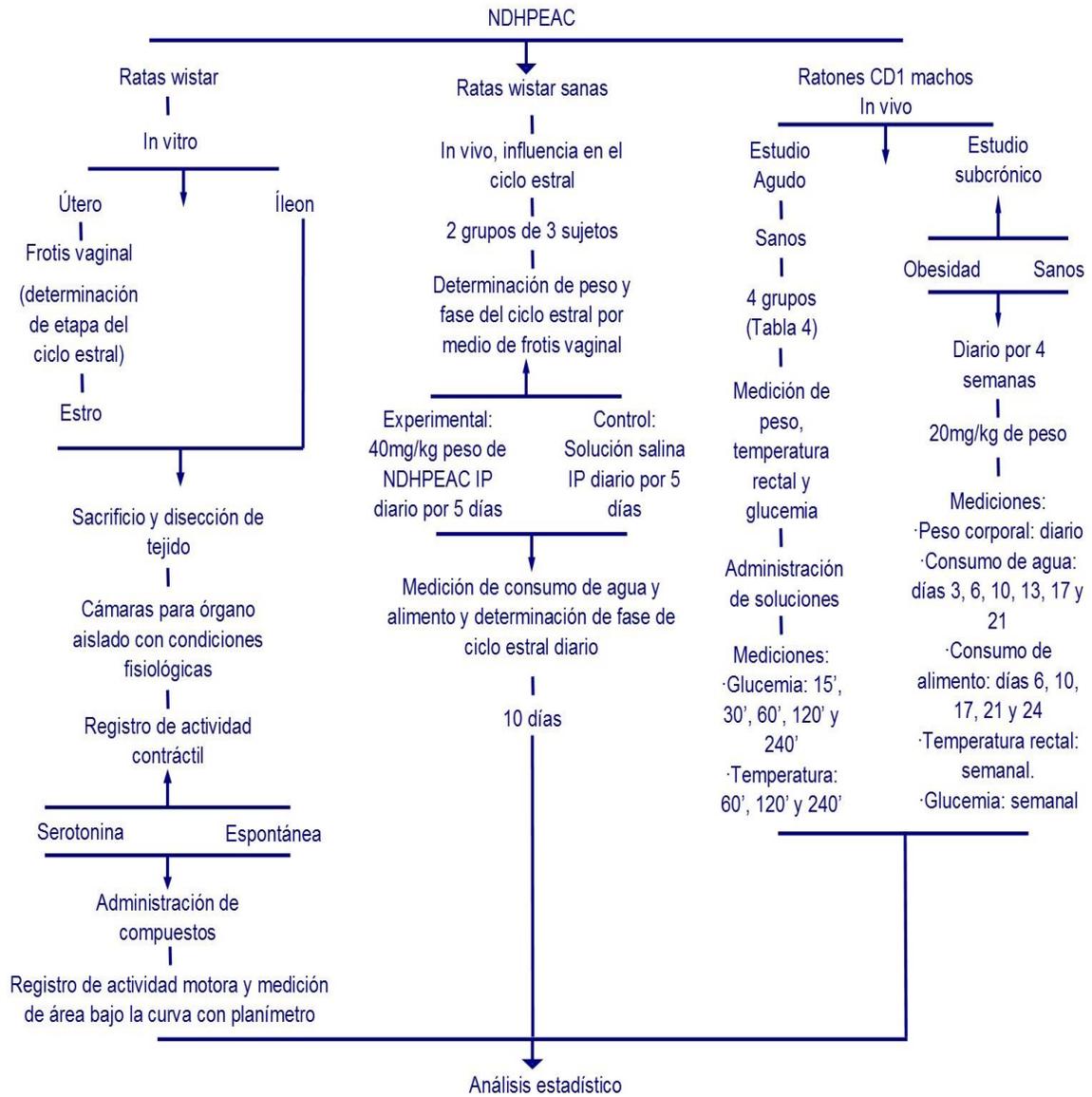
Sus componentes son las principales causas de muerte en el mundo.

- **Trasductor**

Dispositivo con la capacidad de transformar una señal de energía en otra diferente mientras pasa por el equipo.

Por ejemplo la respuesta contráctil del músculo transformada en registros gráficos en papel.

## Diagrama de flujo



## I. INTRODUCCIÓN

Los cambios en el estilo de vida de las personas en el siglo XXI con una alimentación alta en ácidos grasos, sodio e hidratos de carbono simples, característicos de la dieta occidental y el sedentarismo han traído como consecuencia el aumento en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas.

Dentro de ellas, la obesidad y por lo tanto dislipidemias, Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), Hipertensión y el Síndrome metabólico en general los cuales se han convertido en un grave problema de salud pública, no solo en nuestro país, sino en el mundo.

Por lo anterior se requiere la búsqueda de tratamientos alternos que causen menor daño al organismo y que además muestren igual o mayor eficacia que los fármacos disponibles.

En estudios realizados en distintos modelos animales y líneas celulares humanas, se ha planteado la inhibición selectiva de la 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 en el tratamiento del Síndrome Metabólico, por su importante papel en el control inflamatorio del organismo sobre todo en periodos de enfermedades crónicas como lo son las que componen el Síndrome Metabólico (Boyle & Kowalski, 2009).

Esta enzima es tiene un importante papel en el metabolismo de la regulación de los glucocorticoides a través de la conversión de la cortisona al cortisol, la forma activa de ésta hormona. Al tener este papel, la alteración de la función de la 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 implica cambios metabólicos muy interesantes (Boyle & Kowalski, 2009).

En los últimos años, se han probado gran cantidad de compuestos inhibidores selectivos de la 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 con excelentes resultados sobre el Síndrome Metabólico y sin presentar manifestaciones de hepatotoxicidad (Boyle & Kowalski, 2009).

Por lo descrito anteriormente, se considera que es una buena alternativa de tratamiento en humanos que presentan estas disfunciones metabólicas (Anderson & Walker, 2013).

En el presente trabajo se estudia un compuesto novedoso, el N-(2,2-Di(1H-pyrrol-2-yl)ethyl)adamantane-1-carboxamide (NDHPEAC) un compuesto con posible actividad inhibitoria de la enzima 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1, sintetizado *di novo* por investigadores del Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Se pretende realizar al compuesto la caracterización farmacotológica en modelos animales en estudios tanto *In vivo* como *In vitro* para así explorar su potencial uso como un fármaco innovador en el futuro (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014)

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Síndrome metabólico (SM)**

El SM es un conjunto de desórdenes endocrinos relacionados principalmente con el tejido adiposo. La acumulación de reservas energéticas, se presenta en individuos susceptibles con inactividad física y exceso de consumo de alimentos con alta densidad energética (Potenza & Mechanick, 2009).

La acumulación de grasa visceral, actúa como un órgano funcional, en el cual se producen sustancias como Adiponectina, Leptina, Resistina, Proteína C Reactiva, Estrógenos, Glucocorticoides, entre otros; los cuales están involucrados en el metabolismo de la glucosa y ácidos grasos, la regulación del apetito, mediadores de la inflamación, el desarrollo sexual femenino, entre muchas otras funciones (Manzur, Alvear, & Alayón, 2010).

Adicionalmente, existen algunas otras condiciones alteradas que se pueden considerar parámetros para complementar el diagnóstico del Síndrome Metabólico. Entre ellos la distribución anormal de grasa corporal, partículas pequeñas de LDL, estado protrombótico con la medición de factores fibrinolíticos como el PAI-1 y sobre todo los factores que toman en cuenta el estado de inflamación crónica al que se ven sometidos los pacientes con este diagnóstico; entre ellos, niveles elevados de Proteína C Reactiva, Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , Interleucina-6, entre otros.

#### **2.1.1. Diagnóstico**

El diagnóstico de SM se realiza tomando en cuenta la alteración en los niveles de referencia de distintas enfermedades relacionadas con la resistencia a la insulina y que generalmente llevan unas a otras comorbilidades.

Los siguientes criterios son los más aceptados a nivel internacional para el diagnóstico, (ver Tabla 1) han sido establecidos por NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III, por sus siglas en inglés) (Potenza & Mechanick, 2009) tomando como base los establecidos previamente por la OMS (ver Tabla 1).

Tabla 1. Relación de enfermedades y sus alteraciones para diagnóstico de SM (Potenza & Mechanick, 2009)

Factor de riesgo	NCEP ATP III
<b>Diagnóstico de SM</b>	3 factores de riesgo
<b>Tg Sanguíneos (mg/dL)</b>	>150
<b>Lipoproteínas de alta densidad (HDL por sus siglas en inglés)</b>	<40 en Hombres y <50 en Mujeres
<b>Hipertensión Arterial (mmHg)</b>	>130/85
<b>Glucosa postprandial (mg/dl)</b>	>100
<b>Microalbuminuria</b>	No usado

## 2.2. Componentes

Dentro de los componentes del SM se encuentran las siguientes patologías:

- Obesidad
- Resistencia a la insulina
- Diabetes *Mellitus* tipo 2
- Hipertensión Arterial Sistémica
- Dislipidemias
- Hiperuricemia

### 2.2.1. Obesidad

A la obesidad se le define como el exceso de grasa corporal. No solo el exceso en general de la acumulación de tejido adiposo, sino también del tamaño de los adipocitos, ya que al aumentar estos de tamaño, también disminuye su capacidad de producir adiponectinas (Antista, 2013).

La adiponectina es una hormona producida por el tejido adiposo con capacidad insulinosensibilizante, antiinflamatoria y antiaterogénica. Además de funciones cardio y hepatoprotectoras. Forma parte de la familia de la leptina y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ , por sus siglas en inglés).

En las enfermedades del SM (obesidad y DM2 (Diabetes *Mellitus* tipo 2)) las adiponectinas se encuentran disminuidas, por lo que su medición permite evaluar posibles riesgos de desarrollo de complicaciones además de ser un posible objetivo en el tratamiento del SM (Antista, 2013).

### 2.2.2. Diagnóstico

La obesidad es el estado en el cual una persona presenta exceso de grasa corporal, el cual representa un riesgo para la salud o para la expectativa de vida, quizá no sea evidente desde primeras instancias, pero la obesidad representa un factor de riesgo para el desarrollo de otras patologías como lo son Diabetes *Mellitus* tipo 2, hipertensión arterial, litiasis vesicular, dislipidemias, complicaciones músculo esqueléticas, apnea del sueño, entre otras (Allison, y otros, 2008).

No existe una medida certera para evaluar el exceso de grasa corporal, por lo que se tiene como alternativa el uso del IMC (Tabla 2), que es acertado para el diagnóstico de Obesidad en 95% de los casos, tomando como punto de referencia la relación entre cantidad de tejido adiposo y peso corporal.

Tiene alta especificidad pero baja sensibilidad para determinar el porcentaje de grasa corporal (Okorodudu, y otros, 2010).

Tabla 2. Clasificación del IMC y su diagnóstico de acuerdo a la OMS

IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Diagnóstico
<18.5	Bajo peso
18.5-24.9	Normal
25-29.9	Sobrepeso
30-34.9	Obesidad I
35-39.9	Obesidad II
>40	Obesidad III

### **2.2.3. Fisiopatología**

La obesidad es el resultado de un desbalance entre la ingesta calórica y el gasto energético. Sin embargo, la regulación de este sistema es muy compleja y tiene muchos componentes, entre ellos se encuentran el Sistema Nervioso, el Sistema Gastrointestinal y los adipocitos.

Estos últimos, son células con dos funciones específicas, almacenamiento y liberación de energía, así como regulación endócrina. Cada adipocito es capaz de almacenar 1.2µg de Tg dentro de un proceso llamado esterificación, en el cual actúan las enzimas lipoproteinlipasa y proteína estimulante de la lipólisis ambas estimuladas por la presencia de insulina y quilomicrones (González, 2013).

La activación de la leptina, implica la disminución de la ingesta de alimento y aumenta el gasto de energía. A través de la leptina, el hipotálamo controla la energía del cuerpo al disminuir la ingesta alimenticia con un efecto anorexigénico lo que provoca la movilización del tejido adiposo y producción de energía por medio de la lipólisis. Estos mecanismos influyen de manera directa en el peso corporal y la acumulación de tejido adiposo (González, 2013).

En la regulación de la saciedad se ven involucradas la serotonina y la hormona estimulante de los melanocitos, que actúan como anorexigénicos; además del neuropéptido Y, la colecistocinina y el péptido liberador de gastrina con los efectos contrarios. La insulina y el glucagón, son dos hormonas con un papel fundamental en la regulación del metabolismo y absorción de energía obtenida de los alimentos (González, 2013).

Con el consumo excesivo de kilocalorías (kcal), aumentan también los Tg sanguíneos, ácidos grasos libres (AGL), liberación de citosinas pro-inflamatorias, niveles de LDL (lipoproteína de baja densidad, por sus siglas en inglés) y colesterol, aunado a esto, las condiciones como edad, género, etnia y factores genéticos propician la acumulación de tejido adiposo y por lo tanto desarrollo de obesidad (Tchernof & Després, 2013).

#### **2.2.4. Tratamiento**

El tratamiento de la obesidad es un proceso complejo que debe ser abordado siempre desde diferentes perspectivas orientadas al logro del mismo objetivo.

El tratamiento quirúrgico para la obesidad es siempre la última instancia a considerar en este tipo de pacientes. Dentro de las cirugías que se realizan, se encuentran: restricción gástrica, bypass gástrico y derivación bileo-pancreática. En las tres opciones, se ve reducida la capacidad y/o la absorción del tracto gastrointestinal.

Finalmente, los cambios en el estilo de vida se consideran la mejor alternativa para el tratamiento de la obesidad, en ellos se considera la reducción de la ingesta calórica de 500 a 1000 kcal diarias, aumento en el consumo de granos enteros y alimentos con alto contenido de fibra, aumentar el consumo de carne blanca (pollo y pescado) y disminuir el consumo de carne roja, aumentar el consumo de oleaginosas como principal fuente de grasas en la dieta y el aumento en la cantidad de actividad física, específicamente ejercicio mínimo 30 minutos, 3 días a la semana (Kopelman, 2005; Esposito, et al., 2008)

#### **2.3. Diabetes *Mellitus* tipo 2**

La diabetes es un conjunto de enfermedades metabólicas caracterizadas por la hiperglucemia, como consecuencia de una disminución en la secreción de insulina por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans, por defectos de la hormona, por resistencia de la misma o por la formación de anticuerpos antireceptor (American Diabetes Association, 2014).

En la diabetes se presenta hiperglucemia crónica, lo que a la larga genera aún más daños disfuncionales: retinopatía diabética, neuropatía diabética, nefropatía diabética, cardiopatía diabética y angiopatía diabética, pie diabético, mayor susceptibilidad a infecciones, entre otros (American Diabetes Association, 2014).

### 2.3.1. Fisiopatología

En las personas se presenta resistencia a la insulina (RI), generalmente por problemas en la sensibilidad y/o en la liberación de ésta, por lo que existe afectación tanto de los tejidos diana como en las células  $\beta$  pancreáticas. La regulación de la liberación de insulina dependiente de glucosa, se ve muy afectada en los pacientes que desarrollan DM2 (Scheen, 2003).

Un factor determinante para el desarrollo de RI es la localización de las reservas energéticas, ya que se presenta con mayor frecuencia cuando la acumulación lipídica es en el tejido visceral. El tejido adiposo es de gran importancia ya que actúa como un órgano secretor de hormonas y otras sustancias como leptina, adiponectina,  $\text{NFT}\alpha$  y resistina (Scheen, 2003).

La resistencia a la insulina y su desencadenamiento en DM2, no solo depende de la localización de la reserva energética corporal, sino que, también de factores como edad, raza, género, actividad física y factores genéticos, en los cuales se destaca la expresión de los genes de la obesidad (Scheen, 2003).

En comparación con la grasa subcutánea, la grasa intraabdominal está asociada con aumentos de ácidos grasos no esteroideos (triglicéridos) lo que se relaciona con disminución de la sensibilidad a la insulina tanto en tejido hepático como músculo esquelético (Scheen, 2003).

En el hígado se produce el efecto Randle, que consiste en un aumento de liberación y oxidación de glucosa, de producción de VLDL (Very low density lipoprotein por sus siglas en inglés) y de producción de glucógeno hepático (Scheen, 2003).

Los niveles plasmáticos de glucagón están aumentados generalmente en personas con DM2, lo que contribuye aún más al aumento de la gluconeogénesis y por lo tanto a la producción *di novo* de glucosa a partir de fuentes proteicas o lipídicas, todo lo anterior contribuye a aumentar la glucosa sanguínea y por lo tanto los riesgos que esto implica (Scheen, 2003)

A pesar de todas las teorías antes mencionadas sobre el origen de la RI y su consecuencia directa, la Diabetes *Mellitus*, ninguna está completamente comprobada, sin embargo, es un tema de profunda preocupación actual que se sigue investigando, dada la alta prevalencia de la enfermedad que constituye un problema de salud pública.

### **2.3.2. Diagnostico**

El diagnóstico de la DM2 se realiza a partir de una de las siguientes pruebas y resultados:

- Hemoglobina glucosilada:  $\geq 6.5\%$
- Glucosa plasmática en ayunas  $\geq 126\text{mg/dL}$  con un ayuno mínimo de 8 horas.
- Glucosa plasmática posprandial después de 2 horas  $\geq 200\text{mg/dL}$
- En un paciente con síntomas clásicos (poliuria/nicturia, polifagia, polidipsia y pérdida de peso) de hiperglucemia, glucosa (sin tomar en cuenta ayuno)  $\geq 200\text{mg/dl}$  (American Diabetes Association, 2014).

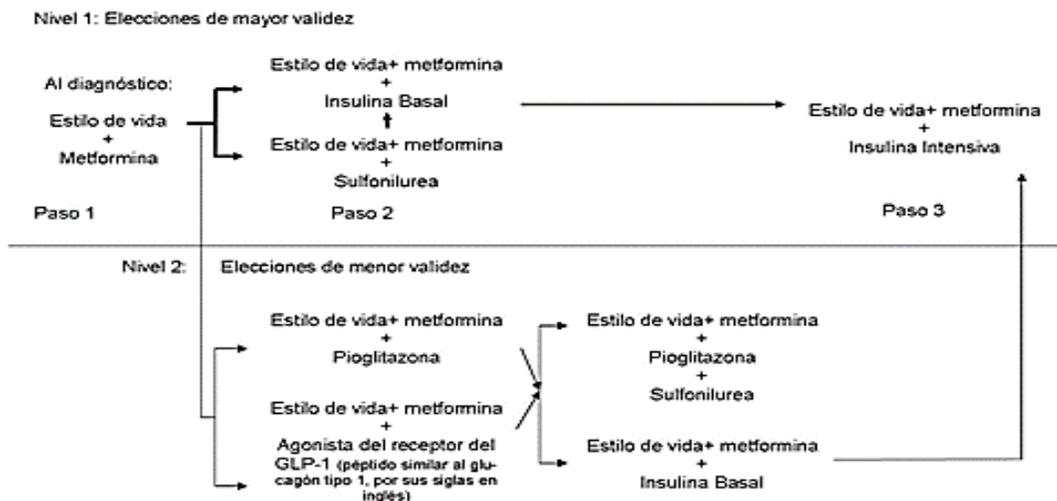
### **2.3.3. Tratamiento**

El tratamiento de la Diabetes *Mellitus* tiene diversas estrategias:

- Reducción del consumo de energía de los alimentos manteniendo las leyes de la alimentación que promueven la pérdida de peso, lo que tiene como consecuencia la mejora de la glucemia, presión arterial y lípidos sanguíneos.
- Aumento en la cantidad de actividad física moderada e intensa que alcance 70% de su capacidad vital, midiendo la frecuencia cardiaca.  
Capacidad vital =  $220 - \text{edad}$

- Educación nutricional y sobre la técnica de aplicación de insulina, en caso de utilizar dosis de insulina para el control de la glucemia.
- Aporte de hidratos de carbono de 40 a 55% de la ingesta total, dar preferencia a alimentos que contengan fibra.
- Consumo de grasas saturadas a máximo 7% y 200 mg de colesterol.
- Aporte de 15 a 20% de energía total proveniente de proteínas.
- Limitar el consumo de alcohol a una bebida en mujeres y dos en hombres al día.
- Los productos endulzados con sustitutos del azúcar no calóricos son una buena alternativa ya que no afectan las calorías que ya se tienen planeadas.
- Suplementación con antioxidantes como vitamina E, C y A no son recomendadas ya que sus beneficios no han sido demostrados (Franz, et al., 2002; American Diabetes Association, et al., 2008).

Dentro del tratamiento farmacológico, la Asociación Americana de Diabetes y la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes propone el siguiente algoritmo:



(Nathan, y otros, 2009)

#### **2.3.4. Dislipidemias**

Las dislipidemias son alteraciones en el metabolismo lipídico del organismo donde se elevan la cantidad de lípidos y lipoproteínas sanguíneas a niveles que pueden ser causantes de otras patologías, lo anterior se debe sobre todo a la ingesta dietética de lípidos, pero también a muchos otros factores como:

- Edad avanzada
- Sexo masculino o femenino después de la menopausia
- Antecedentes heredo familiares de enfermedad vascular cerebral o dislipidemias.
- Abuso en el consumo de cigarrillos
- Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2)
- Hipertensión Arterial (HAS)
- Obesidad predominantemente androide
- IMC >30

(Veterans Affairs Department of Defense, 2014).

#### **2.3.5. Clasificación**

Dentro de las dislipidemias, se encuentran las alteraciones de los niveles de triglicéridos (Tg), colesterol, HDL (Lipoproteínas de alta densidad por sus siglas en inglés) y LDL.

#### **2.4. Fisiopatología**

El desarrollo de las dislipidemias es un problema multifactorial, generalmente se presentan junto con otras alteraciones endocrinas que conforman el síndrome metabólico. La RI es un factor de riesgo para la aparición de dislipidemias debido a que la liberación de lípidos para sustrato energético aumenta, lo que provoca altas concentraciones de Tg, LDL y bajas de HDL.

El aumento en el flujo de AGL (Ácidos grasos libres) promueve la síntesis de Tg hepático, lo que a su vez provoca la síntesis de VLDL. Los triglicéridos transportados por la VLDL son cambiados hacia la HDL por medio de la proteína transportadora de ésteres de colesterol. De este cambio resultan aumentadas cantidades de partículas remanentes de VLDL y HDL rico en Tg. Los HDL ricos en Tg son hidrolizados por la lipoproteína lipasa para luego ser degradados y filtrados en el sistema renal (Chehade, Gladysz, & Mooradian, 2013).

Otro mecanismo por el cual las HDL se encuentran en niveles bajos, es por la reducida eficacia de la insulina que aumenta la producción de apo A-1 (Apolipoproteína A-1) y por lo tanto ésta no pueda contribuir a elevar los niveles de HDL (Chehade, Gladysz, & Mooradian, 2013).

Además, en la DM2 y Obesidad, el estado proinflamatorio se encuentra activado y por lo tanto, la producción de citocinas como el Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (FNT $\alpha$ ). Como consecuencia de éste estado, se ve aumentada la RI y disminuida la producción de apo A-1 y HDL, lo que a su vez genera aumento en la producción de Tg, aspectos que dan lugar a un círculo vicioso (Chehade, Gladysz, & Mooradian, 2013).

## 2.5. Diagnóstico

Para el diagnóstico de las dislipidemias, se utilizan las siguientes cifras de referencia (Tabla 3):

Tabla 3. Niveles normales, medios y elevados de lípidos sanguíneos para el diagnóstico de dislipidemias.

Medición	Recomendable (mg/dL)	Limítrofe (mg/dL)	Alto riesgo (mg/dL)	Muy alto riesgo
<b>Colesterol</b>	<200	200-239	240	-----
<b>LDL</b>	<130	130-159	160	190
<b>HDL</b>	≥ 35	-----	<35	-----
<b>Tg</b>	<150	150-200	>200	>1000

(NOM-037-SSA2-2002, 24 de septiembre de 2001)

## **2.6. Tratamiento**

El manejo de las dislipidemias es integral al igual que para las demás patologías del SM. Dentro de la terapia nutricional, se considera ideal una dieta hipocalórica con alto contenido de frutas y verduras (al menos 5 al día), cereales (al menos 6, de los cuales 2 sean integrales), pescado y carne magra. El consumo de grasas saturadas, trans y colesterol deben de ser limitados. Por otro lado, el consumo de fibra soluble ha de estar aumentado (al menos 30 gramos al día).

En el aspecto de actividad física, deben de realizarse al menos 30 minutos de actividad moderada-intensa que consuma de 4 a 7 kcal/min de 4 a 6 días a la semana para que el gasto energético sea de alrededor de 200 kcal diarias; además del cese de uso del tabaco cuyo hábito representa un riesgo aún mayor para el desarrollo de EVC (Evento Vascular Cerebral) (Jellinger, y otros, 2012).

## **2.7. Hormonas esteroideas**

El colesterol es el precursor de la síntesis de diversas hormonas esteroideas, entre los cuales se encuentran las hormonas sexuales masculinas (testosterona) y femeninas (progesterona y estradiol), mineralocorticoides (aldosterona) y los glucocorticoides (cortisol) (Hu, Zhang, Shen, & Azhar, 2010).

## **2.8. Glucocorticoides**

El primer paso de síntesis de las hormonas esteroideas es el precursor pregnenolona formado a partir de una cadena de 6 carbonos que proviene de la molécula de colesterol y es sintetizada a partir de la enzima citocromo P450<sub>scc</sub>/CYP11A1 (Hu, et al., 2010; Gómez-Chang, et al., 2012).

La síntesis de glucocorticoides (Figura 1) desde el colesterol y pasando por pregnenolona se realiza en la capa fasciculada de la corteza suprarrenal cuyo principal estímulo es la hormona adenocorticotrófica (HACT), liberada de la adenohipófisis, que se encuentra acoplada a un receptor metabotrópico y que estimula la formación del AMPc (Adenosín Monofosfato Clíclico) por medio de la

activación de PKA (Proteína Quinasa A por sus siglas en inglés), lo cual permite la entrada del colesterol a la mitocondria celular para el inicio de la síntesis, a nivel de la corteza suprarrenal.

Una vez sintetizada la pregnenolona, se realizan 4 procesos enzimáticos hasta llegar a la síntesis de cortisol por medio de 11-desoxicortisol por medio de la enzima CYP11B1 (P450c11) (Gómez-Chang, Larrea, & Martínez-Montes, 2012).

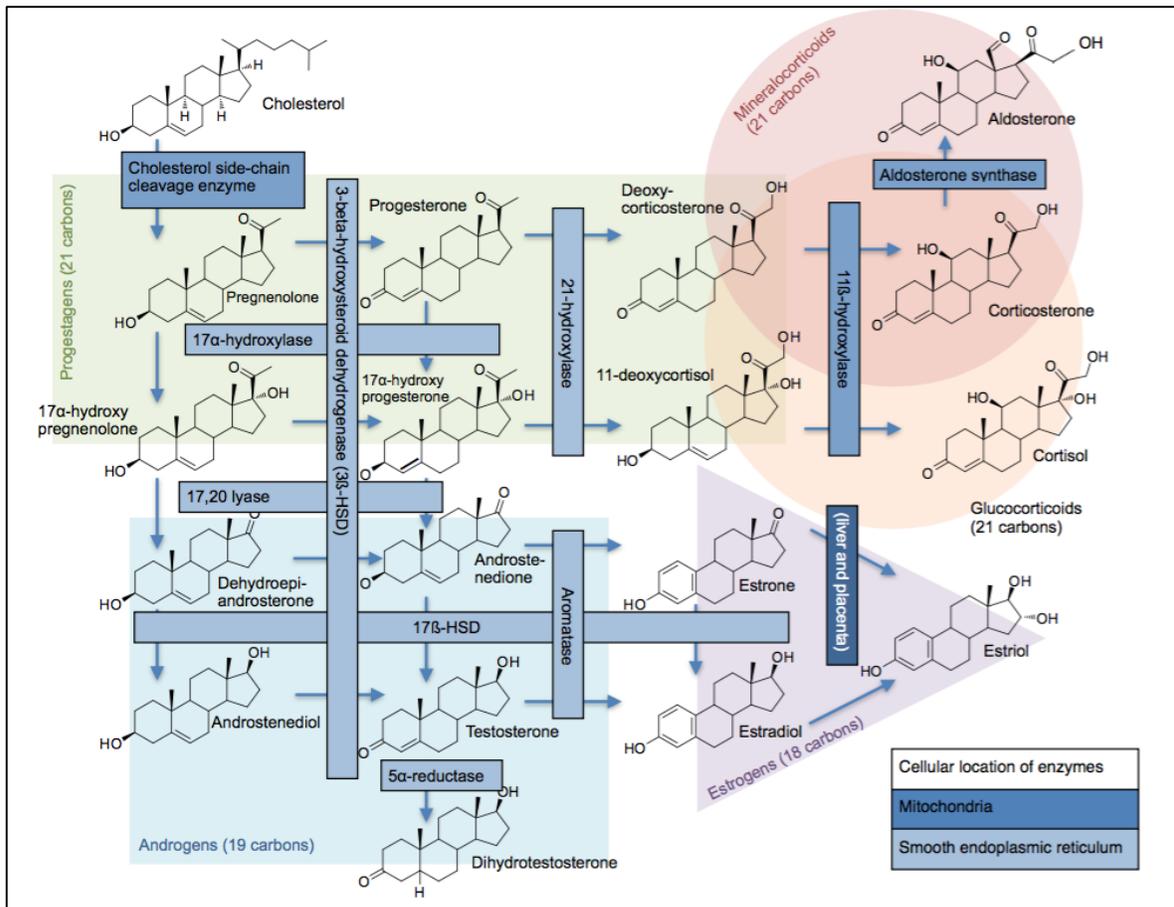


Figura 1. Diagrama de la esteroidogénesis humana.

### 2.8.1. Cortisona/ Cortisol

Dentro de la corteza suprarrenal se sintetizan esteroides de dos clases: de 21 átomos de carbono o corticosteroides y de 19 átomos o andrógenos. Dentro de los corticosteroides se encuentran glucocorticoides y mineralocorticoides (Brunton, Chabner, & Knolmann, 2012).

El cortisol es el principal glucocorticoide en humanos, dentro de sus funciones se encuentra la elevación de presión sanguínea a través de la entrada del sodio y por lo tanto la regulación del equilibrio hidroelectrolítico, mantenimiento de la función normal de órganos vitales como los riñones, adaptación al estrés a estímulos nocivos y cambios ambientales, metabolismo de macronutrientes y modulación de procesos antiinflamatorios (Hu, Zhang, Shen, & Azhar, 2010).

Se han encontrado correlaciones entre la grasa visceral y aumento en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y por lo tanto de producción de cortisol a través de la cortisona (Espíndola-Antunes & Kater, 2007)

La sobreproducción de cortisol se ve balanceada con aumento en la excreción urinaria de éste producto libre así como de sus metabolitos además de depuración en tejidos periféricos, generalmente teniendo como resultado niveles séricos normales de dicha hormona (Espíndola-Antunes & Kater, 2007).

El sistema endócrino es muy lábil a modificaciones cuando se administra un fármaco con potencialidad de influir en alguno de sus componentes y así modificar su homeostasis, existen diversas alteraciones por la modificación de los niveles de cortisol a la baja o a la alta.

La sobreexposición crónica a los glucocorticoides resulta en el desarrollo del Síndrome de Cushing, en el cual se presentan distintas morbilidades y aumento en la mortalidad (Lacroix, Feelders, Stratakis, & Nieman, 2015)

Dentro de las alteraciones que producen el Síndrome de Cushing, se han identificado lesiones adrenales primarias y secreción de la hormona adrenocorticotrópica por medio de tumores ectópicos (Lacroix, Feelders, Stratakis, & Nieman, 2015).

La sintomatología clásica de esta enfermedad incluye obesidad central, cara de luna llena, HTA, dolores de espalda y cabeza, acné, hirsutismo, disfunción eréctil, amenorrea, joroba de búfalo, debilidad muscular, hematomas, baja autoestima, depresión y ansiedad (Lacroix, Feelders, Stratakis, & Nieman, 2015)

Mientras que la insuficiencia corticosuprarrenal llamada Enfermedad de Addison, es un padecimiento relativamente raro, en el cual se presentan síntomas como vómito, anorexia, hipoglucemia y pérdida de peso sin ninguna explicación, entre otros (Ten, New, & Maclaren, 2013)

Dentro del cuadro clínico se incluyen astenia, hiperpigmentación cutánea, pérdida de peso, función gastrointestinal alterada, hipotensión arterial, pérdida de vello e hipertermia (Ten, New, & Maclaren, 2013)

El siglo pasado, la principal causa de enfermedad de Addison era secundaria a la tuberculosis, en la actualidad es predominantemente debido a cuestiones autoinmunes (Ten, New, & Maclaren, 2013).

## **2.9. Enzima 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide Deshidrogenasa Tipo 1 (11 $\beta$ -HSD1)**

Es de suma importancia la revisión de la reducción de cortisona a cortisol debido a que en diversos estudios se ha descrito que la inhibición de dicha conversión, catalizada por la enzima 11- $\beta$ HSD1, ha tenido como consecuencia mejorías en niveles de peso corporal, masa grasa (tanto visceral como subcutánea), tensión arterial y glucemia. (Kipari, y otros, 2013). Además se sabe que en modelos animales de roedores la sobreexpresión de 11- $\beta$ HSD1 está asociada con RI, aumento de glucocorticoides en tejido adiposo, obesidad central y DM (Devang, Nandini, Satish, & Adhikari, 2015).

El proceso de conversión de cortisona a su forma activa, cortisol (figura 2) se lleva a cabo por medio de la enzima 11- $\beta$ HSD1. Ésta enzima se encuentra expresada de manera general y específicamente en tejido hepático, adiposo, gonadal y sistema nervioso central. La enzima que realiza la función reversa (conversión de cortisol a cortisona) se denomina 11- $\beta$ HSD2 que se encuentra en riñón, colon y glándulas salivales (Torrecilla, et al., 2012; Cooper & Stewart, 2009; Devang, et al., 2015).



Figura 2. Conversión metabólica de Cortisona a Cortisol.  
Adaptada de: (Nathan G. , 2015).

En diversos estudios con modelos roedores se ha observado que la inhibición de 11- $\beta$ HSD1 ha mostrado un efecto cardioprotector aún con el uso de dietas altas en lípidos e inducción de hiperglucemia, de lo contrario, la sobreexpresión del gen de 11- $\beta$ HSD1 lleva a presencia de obesidad, RI, hipertensión e intolerancia a la glucosa. Cuenta además con un papel fundamental en la homeostasis del consumo de macronutrientes sobre todo en ratones con dieta hiperlipídicas (Torrecilla, et al., 2012; Espíndola-Antunes & Kater, 2007).

Sin embargo, en estudios en humanos se tienen discrepancias de niveles altos o bajos en pacientes con SM o sin SM cuando ambos presentan obesidad. Se pretende que los niveles bajos de actividad de 11- $\beta$ HSD1 sean debido a mecanismos compensatorios para preservar niveles de insulina y como medida preventiva ante desarrollo de DM2. Se han observado relaciones positivas con niveles de 11- $\beta$ HSD1 y obesidad central, IMC, masa grasa, resistencia a la insulina, TNF- $\alpha$ , Interleucina 6 y leptina (Espíndola-Antunes & Kater, 2007).

A pesar de lo anterior se concluye en los sujetos obesos tienen alteraciones de expresión en la enzima 11- $\beta$ HSD1, comparado con aquellos que presentan peso normal. La actividad de la enzima antes mencionada se ve drásticamente incrementada en sujetos obesos y modelos animales, lo cual sugiere que el consecuente aumento del cortisol en tejido adiposo sea un contribuyente al desarrollo del síndrome metabólico y específicamente obesidad (Veilleux, et al., 2009; Espíndola-Antunes & Kater, 2007).

Se ha encontrado sobreexpresión génica de 11- $\beta$ HSD1 en modelos de ratón obesos y en humanos se relacionó el aumento de 11- $\beta$ HSD1 con el incremento de circunferencia de cintura; además de que la contraparte, 11- $\beta$ HSD2 se encontraba reducida a la mitad en mujeres obesas, por lo que se ha sugerido que inhibidores de la 11- $\beta$ HSD1 sean potenciales fármacos coadyuvantes en la reducción de obesidad (Engeli, et al., 2004; Brunton, et al., 2012).

Un factor adicional que puede explicar los niveles elevados de 11- $\beta$ HSD1 en sujetos obesos son los factores de estrés celular como lo son citocinas proinflamatorias, interleucinas, TNF $\alpha$  y algunas toxinas; todos aumentando la actividad de transcripción de 11- $\beta$ HSD1 (Torrecilla, y otros, 2012).

Entre los factores de regulación positiva de síntesis de 11- $\beta$ HSD1 se encuentran: presencia de glucocorticoides, agonistas de PPAR $\gamma$ , TNF $\alpha$  y leptina; así como el consumo de alimentos, mientras que los negativos son la Hormona del crecimiento y tiazolidinedionas (Espíndola-Antunes & Kater, 2007).

## **2.10. Estrógenos y progestágenos**

Dentro de las hormonas que también son de naturaleza esteroidea de igual manera que el cortisol, se encuentran los estrógenos y progestágenos, siendo el estradiol y la progesterona los principales representantes de cada grupo, respectivamente.

Tanto estrógenos como progestágenos tienen muy amplias acciones en el organismo, siendo algunas de ellas la ovulación, la preparación de los órganos reproductores femeninos para la fecundación y la implantación el óvulo fecundado; debido a esto se consideran actores fundamentales en el control del ciclo menstrual y la reproducción; debido a esto, el principal uso de los estrógenos es como componente de anticonceptivos y en terapia durante la menopausia, mientras que de los progestágenos es el tratamiento hormonal sustitutivo y anticonceptivos.

Los estrógenos se originan desde el colesterol y pasan a través de diversas rutas metabólicas hasta llegar a la testosterona, la cual es su principal precursor. Ésta síntesis se lleva a cabo en ovario, testículos, placenta, regiones del encéfalo, así

como tejido óseo y adiposo, entre otras. Mientras que los progestágenos se originan directamente del Colesterol y se secreta del ovario y la placenta (Brunton, Chabner, & Knolmann, 2012).

### **2.11. Inhibidores de la enzima 11 $\beta$ -HSD1**

Se han desarrollado una serie de inhibidores de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 probados en animales, generalmente en roedores y algunos se encuentran ya, en fase experimental, tanto en líneas celulares como en humanos, en los que se ven reducción de indicadores del SM (Kipari, y otros, 2013). Existe la posibilidad de inhibir específicamente la 11 $\beta$ -HSD1 o de su cofactor enzimático directo (Cooper & Stewart, 2009).

Es además de suma importancia el disponer de un inhibidor selectivo de 11 $\beta$ -HSD1, ya que si se inhibe también su contraparte, la enzima 11 $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2 (11 $\beta$ -HSD2), se pueden presentar efectos no deseados, entre los cuales están la retención de sodio, hipocalcemia e hipertensión (Vernier, y otros, 2013).

Diversos estudios han demostrado los efectos benéficos de la deficiencia de la enzima 11 $\beta$ -HSD1, entre los cuales se encuentra la reducción de aterosclerosis con disminución de la lesión inflamatoria, independientemente de los riesgos metabólicos previos (Kipari, y otros, 2013).

Se ha demostrado que la inhibición de 11 $\beta$ -HSD1 tiene un efecto directo en la inflamación, al suprimir la respuesta genética en el ácido ribonucleico mensajero (mRNA, por sus siglas en inglés), lo cual se ve reflejado en la cantidad de macrófagos presentes en arterias, en ratones modificados genéticamente para presentar aterosclerosis (Luo, y otros, 2013).

Otros inhibidores, como la emodina han presentado también efectos en la reducción de resistencia a la insulina, glucosa sanguínea, fosfoenol piruvato carboxiquinasa (PEPCK, por sus siglas en inglés) y el mRNA de glucosa 6 fosfatasa (Feng, y otros, 2010).

BVT.2733, un inhibidor selectivo de  $11\beta$ -HSD1 probado en ratones con obesidad inducida con dieta (DIO, por sus siglas en inglés) por dos semanas mostró reducción de ganancia de peso, tolerancia a la glucosa y disminuyó los niveles de las adiponectinas, e incrementó la expresión del mRNA de la carnitina palmitoil transferasa y del peroxisoma proliferador activado del receptor (Liu, y otros, 2011).

Se han encontrado además efectos como disminución de peso, Insulina y glucosa sanguínea en ayunas secundarios a la inhibición selectiva de  $11\beta$ -HSD1 en ratones DIO (Alberts, y otros, 2002).

## **2.12. Usos farmacológicos de grupos adamantanos**

El grupo adamantano ha sido utilizado clínicamente desde 1964, se inició como antiviral contra la influenza A y el virus de la Rubéola y desde entonces se ha utilizado ampliamente en toda la industria farmacéutica gracias a su capacidad liposoluble, lo que aumenta las posibilidades de éxito de un potencial fármaco, además se ha probado su uso contra el virus de Herpes, procesos inflamatorios hepáticos y Paludismo (Wanka, Iqbal, & Schreiner, 2013).

Recientemente se ha evaluado un compuesto con grupo adamantano como posible agente contra el virus del dengue y mediante estudios Docking, en el cual se muestran posibles interacciones con el blanco farmacológico, las cuales son suficientes para realizar pruebas con el compuesto como antiviral (Luzhkov, Decroly, Canard, Selisko, & Aqvist, 2013).

Otro uso importante de los adamantanos es cuando se incorporan péptidos neurotrópicos, es decir, con especial afinidad por células del sistema nervioso central para la promoción de neurogénesis, neuronutrición y plasticidad sináptica en ratones, por lo que son potencialmente de gran utilidad para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson (Li, y otros, 2010).

Por último, se han probado compuestos con grupos adamantano en el tratamiento de tumores malignos y leucemia. Se ha utilizado y comprobado su uso en líneas

celulares cancerosas de ovario, páncreas y glioblastoma resistentes a otro tipo de fármacos, tiene una alta especificidad para células tumorales y no ha mostrado hepatotoxicidad (Dilda, y otros, 2012).

### **2.12.1. Inhibidores de 11 $\beta$ -HSD1 con un grupo adamantano**

Se han utilizado diversos compuestos con grupos adamantil como inhibidores selectivos de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 dentro de los cuales se encuentran:

- 2-Amino-N-(adamant-2-yl) Acetamide
- (3-(1-adamantyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepine
- N-Methyl-N-((3-methylthiophen-2-yl)methyl)adamantane-1-carboxamide
- N-((3-Aminothiophen-2-yl)methyl) Nmethyladamantane-1-carboxamide
- N-Methyl-N-((4-methylthiophen-2-yl)-methyl)adamantane-1-carboxamide
- 1-(4-Chlorophenyl)-N-methyl-N-(thio-phen-2-ylmethyl) cyclopropanecarbox-amide
- Entre otros

(Rohde, et al., 2007; Hermanowski-Vosatka, et al., 2005; Su, et al., 2012).

Todos han probado ser potentes inhibidores selectivos de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 humana y se ha demostrado la prevención de la progresión y estabilización del SM y aterosclerosis en estudios realizados en ratones DIO con suplementación en la dieta de los compuestos (Rohde, et al., 2007; Hermanowski-Vosatka, et al., 2005; Su, et al., 2012).

### **2.12.2. N-(2,2-Di(1H-pyrrol-2-yl)ethyl) adamantine -1-carboxamide (NDHPEAC)**

Este compuesto, NDHPEAC, fue sintetizado *di novo* en El Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de

la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014).

Se realizó un estudio de Docking o de anclaje molecular que es un procedimiento de cálculo en el cual se pueden predecir uniones no covalentes entre un receptor y un ligando.

Mediante esta novedosa estrategia para el desarrollo de fármacos, se pueden predecir con alto grado de certidumbre, la conformación del ligando y su afinidad con el receptor, tomando en cuenta uniones tipo puentes de Hidrógeno, interacciones de Van der Waals, dipolo-dipolo,  $\pi$ - $\pi$  y  $\delta$ - $\pi$ . Como blanco farmacológico, se utilizó la enzima 11 $\beta$ -HSD1 (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014).

Los estudios de docking son cada vez más confiables y precisos en sus predicciones conformacionales, lo cual es de gran utilidad en el campo de la Química y la biología, así como en la industria de síntesis de fármacos, debido a que al tener resultados de las conformaciones predilectas entre un compuesto y un ligando, se ahorra gran cantidad de tiempo y recursos en la obtención de nuevos fármacos (Ritchie, 2008).

Gracias a los estudios docking realizados al compuesto NDHPEAC, es que podemos realizar pruebas orientadas a la inhibición de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 y así determinar de manera más eficaz su potencial utilidad para la sociedad (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014).

En los resultados de energía se pudo observar que el compuesto NDHPEAC es teóricamente capaz de inhibir a la enzima 11 $\beta$ -HSD1, ya que sus enlaces de unión son estabilizantes (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014).

Además se le han realizado pruebas de resonancia magnética nuclear y cristalografía de rayos X para determinar los componentes estructurales a nivel molecular (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El desarrollo de la Diabetes *Mellitus* tipo 2, se inicia con la intolerancia a la glucosa, siendo la diabetes un componente central del Síndrome Metabólico, lo cual representa actualmente uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. (Hernández-Ávila, Gutiérrez, & Reynoso-Noverón, 2013)

Desde hace más de 70 años, la diabetes ya se encontraba dentro de las primeras 20 causas de mortalidad en México, y desde el año 2000 es la primera causa de muerte en la población mexicana. (Hernández-Ávila, Gutiérrez, & Reynoso-Noverón, 2013)

Debido a lo anterior, se han planteado diversos tratamientos alternos para el Síndrome Metabólico, teniéndose un gran interés en el papel que desempeña la enzima  $11\beta$ -HSD1 y los resultados de la inhibición de ésta enzima. (Liu, y otros, 2011) (Veilleux, Rhèaume, Daris, Luu-The, & Tchernof, 2009)

En distintos estudios a nivel mundial se han probado compuestos con actividad inhibitoria sobre la  $11\beta$ -HSD1, los cuales han mostrado efectos benéficos sobre la reducción del peso corporal, la glucosa sanguínea, la hiperlipidemia, la tensión arterial, el contenido de grasa subcutánea, entre otros.

Lo anterior plantea una nueva alternativa para el tratamiento del SM. El objetivo de éste estudio es la caracterización farmacotocológica del nuevo compuesto NDHPEAC, al cual se le realizaron pruebas de anclaje molecular (Docking), las cuales muestran desde el punto de vista teórico, que el compuesto es un inhibidor potencial de la  $11\beta$ -HSD1.

De esta manera nos interesamos en la caracterización del NDHPEAC mediante distintas pruebas para observar su probable influencia en los componentes del SM.

Además, debido a la estrecha relación entre el cortisol (producto sintetizado a partir de la cortisona a través de la enzima  $11\beta$ -HSD1) con las hormonas sexuales femeninas, consideramos importante realizar pruebas en útero y ciclo estral.

Asimismo, es relevante la realización de pruebas en íleon para determinar la actividad biológica que pueda presentar en distintos órganos.

### **3.1. Pregunta de investigación**

¿Es el NDHPEAC un inhibidor selectivo de la enzima  $11\beta$ -HSD1 en roedores cuya acción influya en el peso corporal, las concentraciones de la glucosa sanguínea, la temperatura corporal; la actividad del músculo liso (uterino e íleon) y sobre el ciclo estral, bajo condiciones de administración aguda y subcrónica?

### 3.2. Justificación

Desde 1988, la Organización Mundial de la Salud (OMS) introdujo el diagnóstico de Síndrome metabólico (SM), el cual constituye una serie de las enfermedades que causan mayores problemas de salud a nivel mundial (35.4% de prevalencia a nivel mundial) (Alberti, y otros, 2009)

El síndrome metabólico tiene como eje central la resistencia a la insulina y otros de sus componentes son: obesidad, dislipidemias, hipertensión arterial, Diabetes *Mellitus* tipo 2 y gota (Rivellese & Giacco, 2011)

En el SM se han relacionado niveles altos de cortisona, precursora del cortisol que en exceso se ha asociado al aumento de la presión sanguínea, resistencia a la insulina y cambios en el metabolismo lipídico; En personas con obesidad, la cantidad de cortisol secretado se relaciona con su peso y por lo tanto con su IMC (Rivellese & Giacco, 2011).

Las personas diagnosticadas con SM requieren la administración concomitante de varios fármacos, lo cual indica que las interacciones medicamentosas tienen altas probabilidades de ocurrir, por lo que una alternativa al tratamiento con efectos benéficos en múltiples aspectos del SM sería un excelente alternativa en el tratamiento (Rivellese & Giacco, 2011)

Por otra parte, debido al gran aumento de la prevalencia en el mundo del Síndrome metabólico, se ha aumentado el interés por desarrollar nuevas estrategias para el desarrollo de tratamientos alternativos del SM, siendo la inhibición de la enzima 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 $\beta$ -HSD1) una posible respuesta; dentro de sus beneficios se han observado mejoras significativas en los parámetros de control y evaluación del SM, además de baja interacción con otros fármacos y nula toxicidad hepática (Hermanowski-Vosatka, y otros, 2005).

La enzima 11 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 $\beta$ -HSD1, por sus siglas en inglés) convierte glucocorticoides inactivos a cortisol y corticosterona; 11 $\beta$ -HSD2 lleva a cabo la reacción inversa. La 11 $\beta$ -HSD1 se expresa sobre todo en tejido

hepático, adiposo, óseo y del Sistema Nervioso Central (SNC) (Cooper & Stewart, 2009).

En las últimas décadas, diversas investigaciones se han centrado en indagar el metabolismo de 11 $\beta$ -HSD1 y las implicaciones de su inhibición selectiva en el organismo y sus enfermedades. Se ha demostrado que al inhibir la enzima, los niveles de glucosa, leptina, colesterol, triglicéridos (Tg) hepáticos y la resistencia a la insulina mejoran de manera significativa (Hermanowski-Vosatka, y otros, 2005).

Gracias a la conclusión de estas investigaciones, se han desarrollado una gran cantidad de inhibidores selectivos de la 11 $\beta$ -HSD1, moléculas de naturaleza muy variada, desde extractos vegetales hasta moléculas sintéticas (Hermanowski-Vosatka, y otros, 2005)

Existe un selecto grupo de inhibidores de la enzima 11 $\beta$ -HSD1 con un grupo adamantil en su estructura, este grupo le confiere mayor liposolubilidad a los compuestos, además de tener muy baja toxicidad y bajas posibilidades de interacción con otros fármacos, lo cual es de suma importancia en pacientes con Síndrome metabólico (Hermanowski-Vosatka, y otros, 2005)

El sistema endócrino, en el cual influye la 11 $\beta$ -HSD1, es uno de los más susceptibles a modificaciones, una gran cantidad de hormonas tienen estructuras de tipo esteroideo, provenientes del ciclopentano perhidrofenantreno (colesterol) (Brunton, Chabner, & Knolmann, 2012), dentro de las cuales, se encuentran las hormonas sexuales femeninas (progesterona y estradiol), responsables de la regulación del ciclo menstrual y la motilidad uterina; los andrógenos (testosterona), responsables del desarrollo sexual masculino; y los mineralocorticoides, responsables del control de la tensión arterial (entre otras funciones) por medio de la regulación de electrolitos, los cuales tienen una estrecha relación con el cortisol por su ya mencionado origen común en el colesterol (Brunton, Chabner, & Knolmann, 2012).

Actualmente en la sociedad mexicana existe una aumentada preocupación por el nuevo uso de anticonceptivos y métodos de planificación familiar, debido al

creciente número de embarazos en mujeres adolescentes, siendo éste otro potencial uso del compuesto NDHPEAC por su potencialidad de inhibición de la enzima  $11\beta$ -HSD1 y la estrecha relación de ésta con las hormonas sexuales femeninas (Chavez-Courtois & Casanueva, 2005).

Con fundamento en los antecedentes escritos, es que nuestro estudio es de gran relevancia para la sociedad, ya que la realización de diversas pruebas en distintos modelos animales del NDHPEAC, será parte de la caracterización farmacotoxicológica del compuesto mencionado. Siendo éste un fármaco novedoso sintetizado con ayuda de técnicas de anclaje molecular (Docking), las cuales predicen que es un potencial inhibidor de la enzima  $11\beta$ -HSD1 (Gallardo-Alfonzo, Ocampo-Néstor, Contreras-Celedón, & Chacón-García, 2014)

Ésta técnica nos permite ahorrar tiempo y recursos en la obtención y prueba de potenciales fármacos, ya que por medio de métodos computacionales se predice la conformación preferida de una molécula con un potencial blanco farmacológico (receptor, enzima, canal o transportador).

La importancia de éste estudio radica en la evaluación de un posible inhibidor de  $11\beta$ -HSD1, el primero generado en México y por lo tanto de gran utilidad potencial para la sociedad.

## **IV. HIPÓTESIS**

El NDHPEAC al ser un inhibidor selectivo de la enzima  $11\beta$ -HSD1 en roedores, influye en variables como el peso corporal, la concentración de glucosa sanguínea, la temperatura corporal y la actividad motora del músculo liso uterino e intestinal y sobre el ciclo estral.

### **4.1. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)**

El NDHPEAC no produce cambios sobre peso corporal, la concentración de glucosa sanguínea, la temperatura corporal y la actividad motora del músculo liso uterino e intestinal y sobre el ciclo estral en roedores.

### **4.2. Hipótesis alterna (H<sub>1</sub>)**

El NDHPEAC modifica el peso corporal, la concentración de la glucosa sanguínea, el consumo de agua y el consumo de alimento o la temperatura corporal o las contracciones del músculo liso (uterino e intestinal) y el ciclo estral en roedores

## V. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Conocer el perfil farmacotológico del compuesto NDHPEAC en roedores en estudios en modelos experimentales tanto *in vivo* como *in vitro*.

### 5.2. Objetivos específicos

1. Realizar una curva de tolerancia a la glucosa en ratones obesos y no obesos posterior a la administración del NDHPEAC.
2. Indagar en un estudio agudo el efecto del NDHPEAC sobre la temperatura corporal en ratones obesos y no obesos.
3. Conocer en un estudio subcrónico el efecto del NDHPEAC sobre la glucosa, la temperatura corporal, el peso corporal y el consumo de agua y alimento en ratones obesos y no obesos.
4. Indagar en un estudio agudo el efecto del NDHPEAC sobre la curva de tolerancia a la glucosa y la temperatura corporal en ratones obesos y no obesos.
5. Determinar la influencia del NDHPEAC sobre la actividad biológica contráctil del músculo liso uterino de la rata.
6. Determinar la influencia del NDHPEAC sobre la actividad biológica contráctil del músculo liso de íleon de la rata.
7. Estudiar el efecto del NDHPEAC sobre el ciclo estral de la rata.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1. Tipo de estudio**

Experimental, prospectivo

### **6.2. Variables**

#### **6.2.1. Variables independientes**

- Especie animal (Ratón, Rata)
- Dieta balanceada
- Administración de N-(2,2-Di(1H-pyrrol-2-yl)ethyl)adamantane-1-carboxamide
- Concentración de NDHPEAC y Serotonina

#### **6.2.2. Variables dependientes**

- Temperatura
- Glucosa sanguínea
- Actividad contráctil del músculo liso uterino e intestinal
- Peso corporal
- Fases de ciclo estral
- Consumo de agua
- Consumo de alimento

### **6.3. Población y muestra**

Se utilizaron ratas Wistar obtenidas del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM y ratones con obesidad inducida por administración neonatal de GMS y sin obesidad (controles).

#### **6.3.1. Estudios *in vivo***

Ratones machos y hembras de la cepa CD-1 con un peso de 25-30 g obtenidos del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM; y ratones obesos (tratados neonatalmente con GMS) con un peso de 55-70 g (González-Chávez, Martínez-Enríquez, & Campos-Sepúlveda, 2006).

Los animales fueron mantenidos con alimento y agua *ad libitum*, ciclos luz/oscuridad 12x12 hrs, con una temperatura de 20-23°C. Todos los estudios que se describen, se realizaron de acuerdo a los lineamientos internacionales de la CIOMS (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, por sus siglas en inglés) y a lo que señala artículo 8ª de la ley general de Salud, así como a las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-Z00-1999) en materia de Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

##### **6.3.1.1. Estudio agudo**

###### **6.3.1.1.1. Curva de tolerancia a la glucosa**

Un lote de 20 ratones macho se distribuyó aleatoriamente en 4 grupos de 5 animales cada uno, a los cuales se les marcó y pesó en una balanza digital (Sartorius) y se tomó la temperatura rectal basal mediante un teletermómetro (ISI Teletermometer) y la glucemia basal por micrométodo validado (20 µl de muestra sanguínea) (Accu-Chek, Roche). Se realizó la administración de soluciones *po* de la siguiente manera (Tabla 4).

Tabla 4. Condiciones experimentales de administración de compuestos para cada grupo de estudio agudo en ratones sanos:

<b>Grupo I</b>	<b>Vehículo de NDHPEAC</b>	<b>Vehículo de Glucosa</b>
<b>Grupo II</b>	10 y 40 mg/kg de NDHPEAC	Glucosa 3 g/kg
<b>Grupo III</b>	10 y 40 mg/kg de NDHPEAC	Vehículo de Glucosa
<b>Grupo IV</b>	Vehículo de NDHPEAC	Glucosa 3 g/kg

Se realizó la administración de NDHPEAC a los grupos II y III a las dosis de 10 y 40 mg/kg respectivamente y a los grupos I y IV se les administró solución salina fisiológica como vehículo a los 0 min. A continuación, se realizó la administración de glucosa (3 g/kg) a los grupos II y IV, y agua como vehículo a los grupos I y III a los 15'.

Se hicieron determinaciones de glucemia capilar a los 15, 30, 60, 120 y 240 min y de temperatura rectal a los 60, 120 y 240 min posteriores a la administración de glucosa o el vehículo.

#### **6.3.1.2. Estudio subcrónico**

Un grupo (Grupo I) de 8 ratones, macho, con obesidad inducida por la administración neonatal de glutamato monosódico (GMS) y otro grupo (Grupo II) de 8 ratones normales que solo recibieron solución salina fisiológica al 0.9% en el periodo neonatal (Figura 3). Ambos grupos recibieron diariamente, durante 4 semanas 20 mg/kg de peso, vía oral, del compuesto NDHPEAC.



**Figura 3.** A la izquierda, se observa a un ratón con obesidad inducida por administración neonatal de GMS. Y en la imagen derecha, observamos la comparación de tamaños entre grupos con obesidad inducida por administración de GMS (izquierda) y sin obesidad (derecha).

Tanto al Grupo I como al II, se les hicieron las siguientes mediciones:

- Peso corporal: diariamente.
- Consumo de agua los días 3, 6, 10, 13,17 y 21.
- Consumo de alimento los días 6, 10, 17, 21 y 24.
- Temperatura rectal: semanalmente.
- Glucemia capilar: semanalmente.

### **6.3.2. Estudios *in vitro***

#### **6.3.2.1. Animales**

Se empleó un grupo de 11 ratas obtenidas del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM.

##### **6.3.2.1.1. Frotis vaginal**

Se realizó un frotis vaginal para la determinación del ciclo estral de la siguiente manera:

Con una pipeta Pasteur, punta roma, se tomaron 30 $\mu$ l de solución fisiológica salina al 0.9%, se introdujo en la cavidad vaginal de las ratas, para tomar la muestra la

cual se colocó en un portaobjetos y se observó al microscopio a 40x (MOTIC B). De acuerdo a la predominancia de células observadas en la muestra se determinó la fase del ciclo estral: estro, metaestro, diestro y proestro (Goldman, Murr, & Cooper, 2007).



Figura 4. Representación citológica de las diferentes etapas del ciclo estral de la rata

#### **6.3.2.1.2. Técnica de Obtención y estudio del órgano aislado**

#### **6.3.2.1.3. Eutanasia, extracción de tejido y respuesta contráctil**

En el caso del estudio en útero se seleccionaron únicamente a las ratas en fase de estro. Los animales se sacrificaron por dislocación cervical de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-Z00-1999).

Se diseccionó el tejido (útero o íleon) y se colocó en una caja Petri con solución correspondiente: Ringer de Jalón para útero (con la siguiente composición mM: NaCl 153, KCl 5.6, glucosa 2.7, NaHCO<sub>3</sub> 5.9, CaCl<sub>2</sub> 100) y Krebs para íleon (con la siguiente concentración mM: NaCl 118, KCl 4.7, glucosa 11, NaHCO<sub>3</sub> 25, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2 y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.3) (Tabla 5).

Se eliminó el tejido adiposo y conectivo y se dividieron en segmentos de 1-1.5 cm para útero y de 1.5-2cm para íleon, se colocaron en cámaras para órgano aislado con capacidad de 30 ml de solución correspondiente, burbujeada con carbógeno (CO<sub>2</sub>:5% y O<sub>2</sub>:95%) con las condiciones fisiológicas descritas en la Tabla 5, se perfundieron con solución nutriente antes de la exposición al compuesto por 15 minutos (Figura 6).

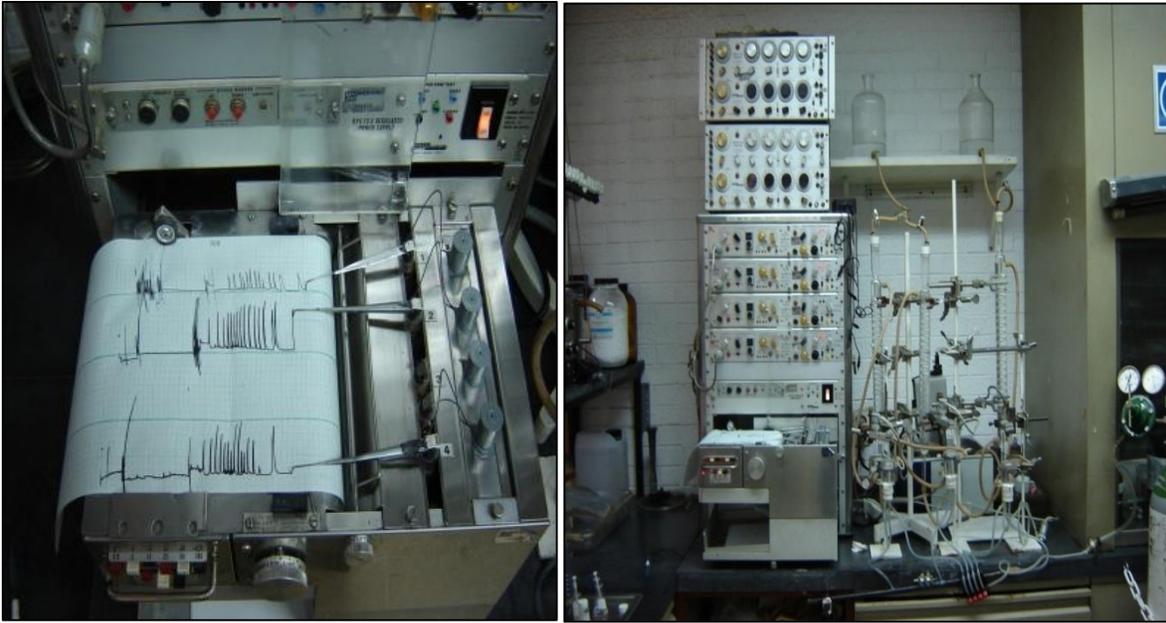
Se registró la actividad contráctil espontánea (basal) de los tejidos y la inducida por la administración del NDHPEAC por medio de un transductor FTO3 conectado a un polígrafo Grass 79D (Figura 5).

En el caso del útero, se incubó en presencia de una solución de Serotonina (concentración de 1x10<sup>-5</sup> M) antes y después de la administración de NDHPAC de la cual, se utilizaron las siguientes concentraciones: 1x10<sup>-7</sup> a 1x10<sup>-2</sup>M administradas a intervalos de 10 minutos con lavados entre cada cambio de concentración con solución nutriente por 5 minutos y se registró la actividad motora del músculo y se midió con planímetro, expresándose como el área bajo la curva (ABC) en cm<sup>2</sup>.

En el caso de íleon se administró únicamente el compuesto en las siguientes concentraciones: 6.5, 12.93, 19.39 y 25.85 mM administradas en tiempos de 10 minutos con lavados entre cada cambio de concentración con solución nutriente por 5 minutos y se cuantificó la actividad de contracción espontánea del músculo como el área bajo la curva (ABC) expresada en cm<sup>2</sup>.

Tabla 5. Condiciones fisiológicas para el estudio de órgano aislado de íleon y útero de roedores

Condición	Parámetro	
	Íleon	Útero
<b>Solución nutriente</b>	Krebs	Ringer de Jalón
<b>Segmento (cm)</b>	1.5-2 cm	1-1.5 cm
<b>Temperatura (°C)</b>	37°C	32°C
<b>Tensión inicial (g)</b>	2 g	1 g



**Figura 5.** Derecha: Trasductor FTO3 conectado a un polígrafo Grass 79D registrando actividad motora. Izquierda: Cámaras para órgano aislado.



**Figura 6.** Modelos experimentales para el estudio de los efectos de los fármacos in vitro. Sacrificio, extracción de tejido, montaje en cámaras para órgano aislado y registro poligráfico.

### **6.3.3. Determinación de la influencia del NDHPEAC sobre fases del ciclo estral**

Un lote de 6 ratas hembra se dividió en dos grupos de 3 sujetos cada uno, se marcaron y se pesaron. Se realizó un frotis vaginal para la determinación de las fases del ciclo estral. Al grupo experimental se les administró de 40mg/kg de NDHPEAC vía intraperitoneal diariamente por 5 días, al grupo control se le administró solución salina por la misma vía. Se determinó la fase del ciclo estral y se midió el consumo de agua y alimento hasta completar 10 días.

## **6.4. Análisis estadístico**

Los resultados se sometieron a un análisis estadístico descriptivo e inferencial de varianzas (ANOVA) y la prueba t Pareada de Student y  $X^2$  y se calculó el promedio y el error estándar (E.E.), dependiendo de la variable estudiada y su escala de medición. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de  $p \leq 0.05$ .

### **6.4.1. Resultados y discusión**

#### **6.4.1.1. Estudio agudo**

En la figura 3 se muestran los promedios de mediciones de glucosa a los distintos grupos.

El primer grupo, el cual recibió únicamente los vehículos tanto del compuesto NDHPEAC (solución salina) y Glucosa (agua), no muestra aumento en los niveles de glucosa, seguido de un significativo descenso en la glucemia capilar, lo cual era de esperarse debido a las sustancias que recibieron y la ausencia de nutrientes energéticos en ellas.

El segundo grupo que recibió ambas condiciones experimentales (NDHPEAC y Glucosa) muestra un esperado aumento en la glucemia capilar llegando a las máximas concentraciones de glucosa (aproximadamente 300 mg/dL) a los 30 minutos, después de la administración de glucosa, a pesar de la administración de

NDHPEAC y de ahí continúa el descenso hasta llegar a niveles cercanos a los 50 mg/dL a los 240 minutos.

En el tercer grupo el cual recibió el compuesto NDHPEAC (10 mg/kg) y el vehículo de la glucosa (agua), se puede observar que tiene un comportamiento similar al primer grupo, durante todo el tiempo del estudio ( $p > 0.05$ ); lo que es comprensible ya que tampoco recibió solución glucosada (3 mg/kg) y no se esperaba aumento en niveles de glucemia.

Lo cual nos indica que, si bien el NDHPEAC no es un potencial hipoglucemiante en presencia de administración de glucosa en nuestro estudio, tampoco representa un perjuicio su administración en ausencia de glucosa, dicha cuestión puede representar un beneficio potencial en caso de que el compuesto NDHPEAC sea utilizado con distintos fines terapéuticos.

Finalmente, en el grupo número IV, que recibió el vehículo del NDHPEAC (solución salina) y glucosa (3 g/kg), observamos un aumento en la glucemia capilar después de la administración de la solución glucosada (3 g/kg) resultados que no son sorprendentes. En las siguientes mediciones se observó un descenso en la glucosa capilar seguido de un ligero aumento y por último una disminución final llegando a valores similares a los grupos control.

En la medición de glucosa basal (0 min) no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) entre los 4 grupos, lo cual nos indica que los grupos son homogéneos para la realización del experimento.

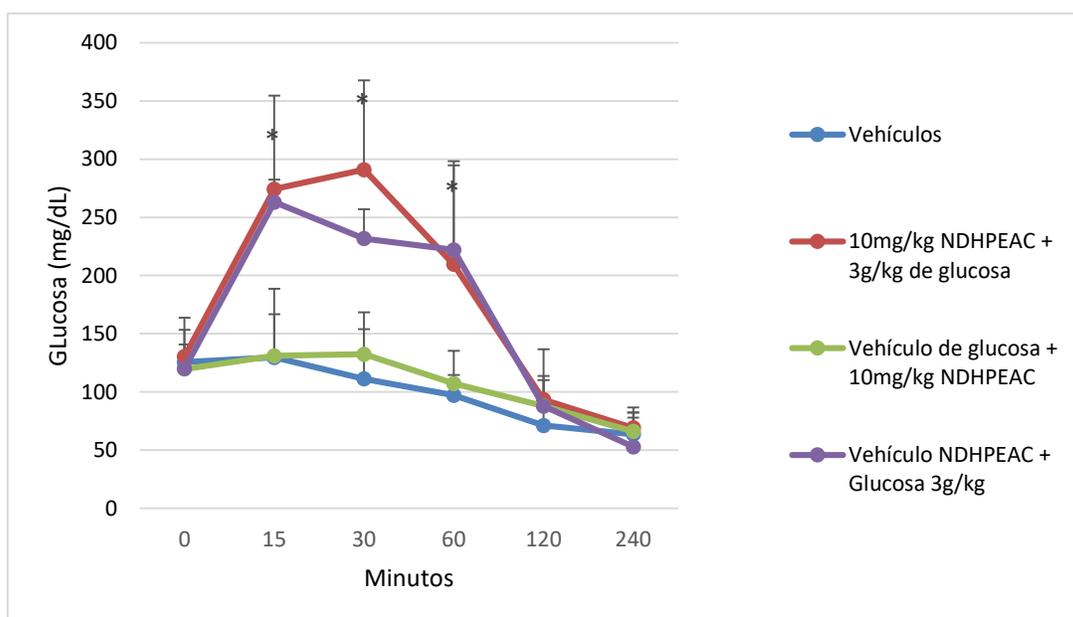
De igual manera, no se encuentra diferencia estadísticamente significativa en los tiempos de 120 y 240 minutos, lo cual puede ser debido a mecanismos internos de regulación del metabolismo de la glucosa.

Durante los tiempos de 15, 30 y 60 min existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre grupos, sin embargo, no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre el grupo II (Glucosa + NDHPEAC) y el grupo IV (Glucosa + Solución

salina), los cuales muestran un comportamiento similar debido a la administración de la solución glucosada a los animales de ambos grupos.

Lo mencionado anteriormente nos indica que, en nuestro estudio, el NDHPEAC administrado previamente a la glucosa, no modifica la curva de tolerancia a la glucosa, aspecto que no descarta que tenga efecto hipoglucemiante.

Por lo que hace necesarios más estudios en los cuales se puedan modificar algunas variables como un mayor número de sujetos, momento de administración (después de la glucosa) vía de administración, vehículos que den mayor solubilidad al compuesto y estudios en modelos animal de DM2, entre otros.

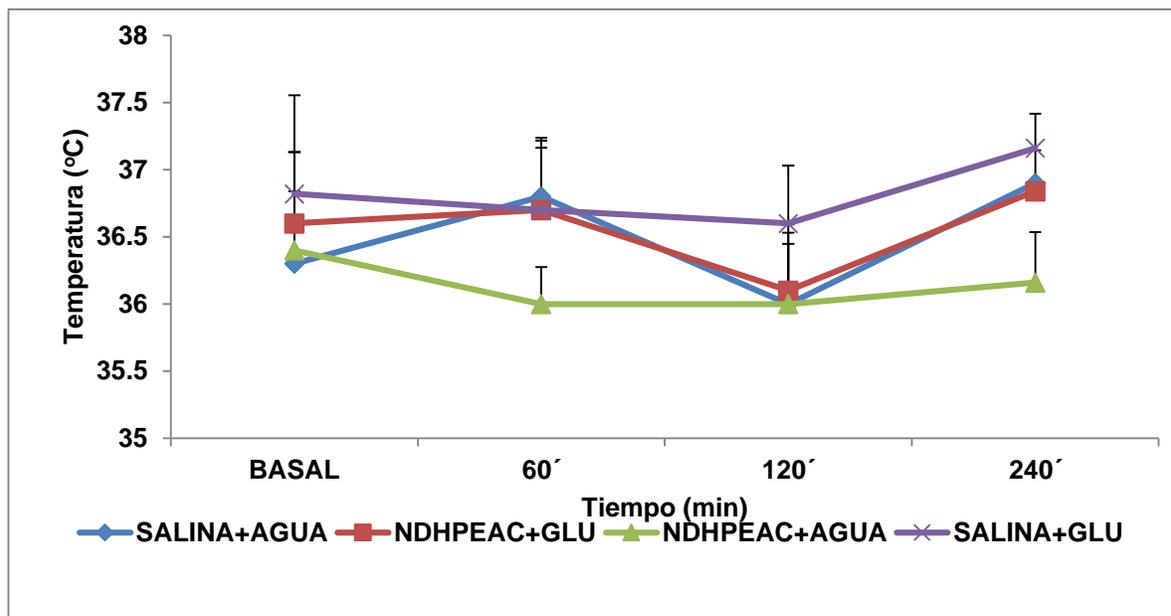


**Figura 7.** Curva de evolución temporal de las concentraciones de glucosa, durante 240 minutos, de los 4 grupos de ratones sometidos a diferentes condiciones experimentales. Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 5. \* $p < 0.05$  respecto a los grupos que no recibieron glucosa.

Además de la medición de glucemia capilar, se realizó la medición de temperatura rectal a los ratones en los tiempos basal, 60, 120 y 240 min. Consideramos importante la medición de la temperatura, ya que siendo ésta un signo vital, su

descenso o aumento drástico, es incompatible con la vida (Villegas-González, Villegas-Arenas, & Villegas- González, 2012).

En la gráfica anterior podemos observar que en ninguno de los tiempos medidos se encuentra diferencia significativa ( $p>0.05$ ), lo cual nos indica que el NDHPEAC no es un compuesto que modifique esta variable fisiológica (temperatura rectal), resultados favorables desde el punto de vista toxicológico que le confiere seguridad al producto.



**Figura 8.** Curva de evolución temporal de la temperatura corporal, durante 240 minutos, de los 4 grupos de ratones sometidos a diferentes condiciones experimentales. Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 5.

#### 6.4.1.2. Estudio subcrónico

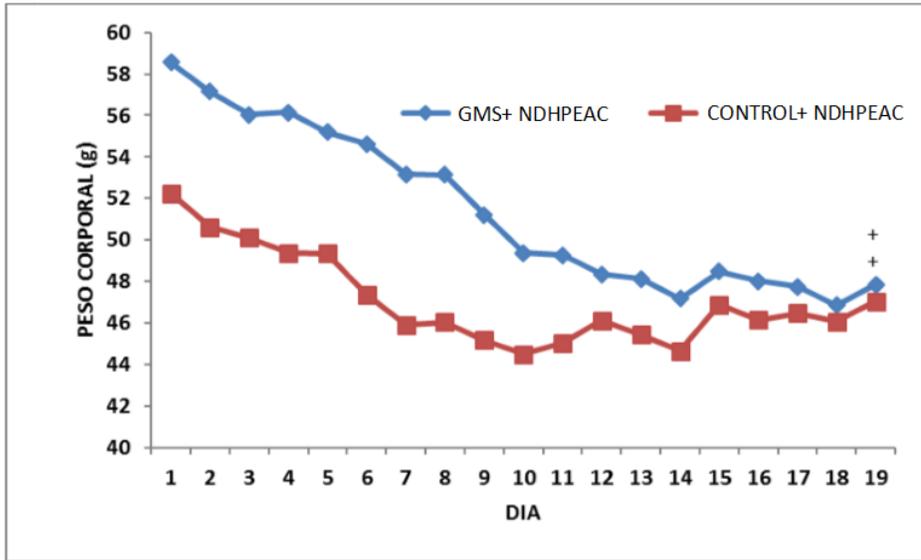
En las figuras 5 y 6 podemos observar el efecto de pérdida de peso tanto en ratones obesos neurointoxicados con GMS como en los animales control (no obesos) desde el inicio hasta el final de la cuarta semana ( $p<0.05$ ). Ambos grupos mostraron un comportamiento similar en la reducción de peso, siendo ésta más pronunciada en el grupo de animales obesos, los cuales mostraron diferencias significativas ( $p<0.05$ ).

Para la tercera semana de tratamiento, el grupo de animales obesos con la administración de GMS ya reportaba pesos menores a los iniciales del grupo control, lo que indica que el NDHPEAC tiene un gran potencial para reducir el peso corporal en periodos relativamente cortos de tiempo, y después teniendo un ligero repunte de peso no significativo, lo que se puede considerar como estabilización de peso, por lo que se puede indagar que no existe una reducción de peso mayor que ponga en riesgo la salud de los sujetos, aspecto que también le confiere seguridad al NDHPEAC.

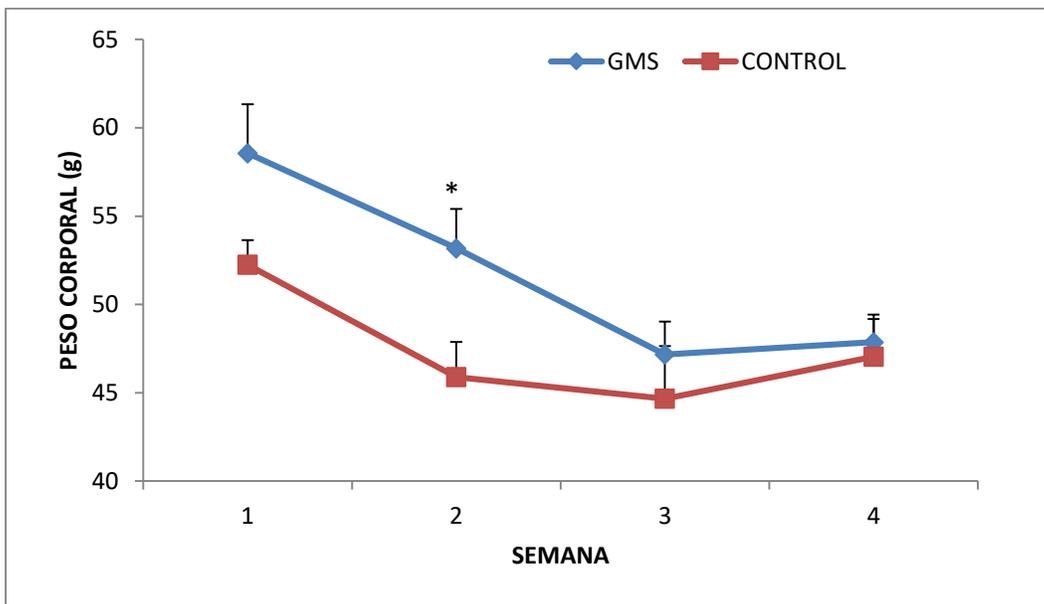
En diversos estudios se ha observado que, en estado de obesidad, la enzima  $11\beta$ -HSD1 se encuentra sobreexpresada (Brunton, et al., 2012; Engeli, et al., 2004), por lo que se ha planteado que la inhibición de  $11\beta$ -HSD1 sea un posible coadyuvante en el tratamiento de la obesidad.

Al obtener los resultados anteriores en el que la administración del compuesto NDHPEAC mostró mejorías en el peso de los ratones obesos y no obesos, lo que sugiere que el compuesto mencionado pueda servir como un inhibidor de la enzima  $11\beta$ -HSD1 y por lo tanto contribuir a la disminución de peso corporal.

Son necesarias pruebas con un grupo control obeso con las mismas condiciones experimentales excepto administración del compuesto NDHPEAC para observar si se encuentran niveles superiores de la enzima  $11\beta$ -HSD1 y su probable reducción al administrar el compuesto. Además, son deseables experimentos en otros modelos animales para considerar viable su potencial uso en sujetos humanos en el control de la obesidad.



**Figura 9.** Curva de evolución temporal del peso corporal, durante 19 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. + $p < 0.05$  del inicio al final del estudio en cada grupo.



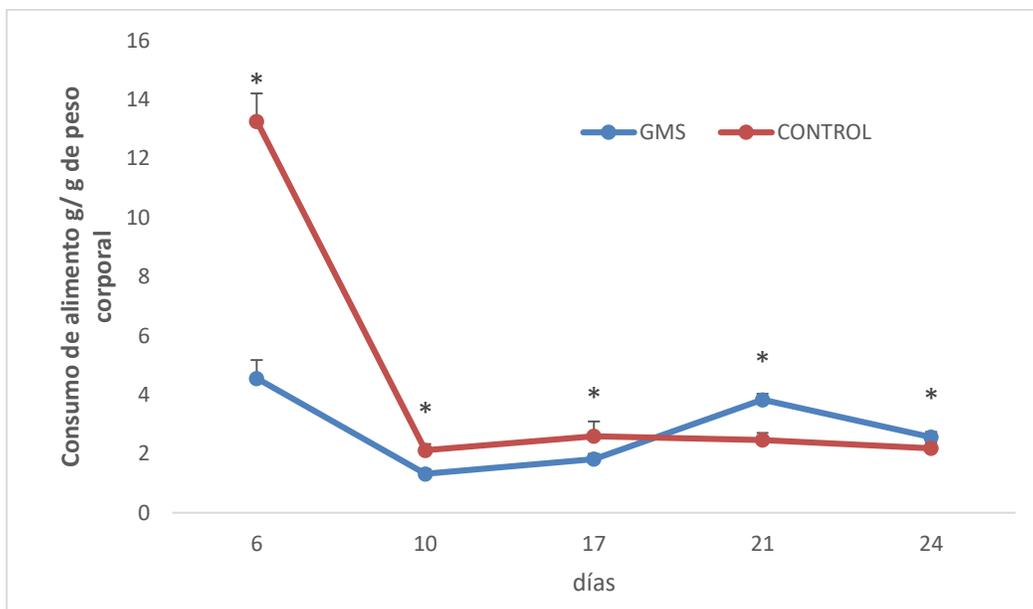
**Figura 10.** Curva de evolución temporal del peso corporal, durante 4 semanas, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \* $p < 0.05$ .

En la figura 7 podemos observar la marcada disminución en el consumo de alimento en ambos grupos ( $p < 0.05$ ), la cual fue mayor en el grupo de ratones obesos ( $p < 0.05$ ) lo cual puede explicar la disminución de peso que experimentaron los sujetos experimentales y controles secundario a la administración de NDHPEAC.

En la primera semana existe un menor consumo de alimento en el grupo GMS, lo cual se ve relacionado con la mayor pérdida de peso de éste grupo en relación con el grupo no obeso.

Después de la disminución de peso del grupo control del día 6 al día 10, se mantuvo el consumo de alimento del grupo. Durante la tercera semana existe un aumento en el consumo de alimento en el grupo GMS, lo cual tiene como consecuencia un ligero aumento de peso para la semana 4.

Durante los 24 días que se midió el consumo de alimento de los grupos, existió disminución de éste, lo cual probablemente esté relacionado a la administración del compuesto NDHPEAC, para demostrar lo anterior son necesarios experimentos posteriores con un grupo control al cual no se le administre el compuesto NDHPEAC y se mantengan las condiciones experimentales similares. Se ha observado que la producción de 11- $\beta$ HSD1 está directamente relacionada con el consumo de alimentos, lo cual observamos durante las semanas que mantuvimos el experimento (Sierra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

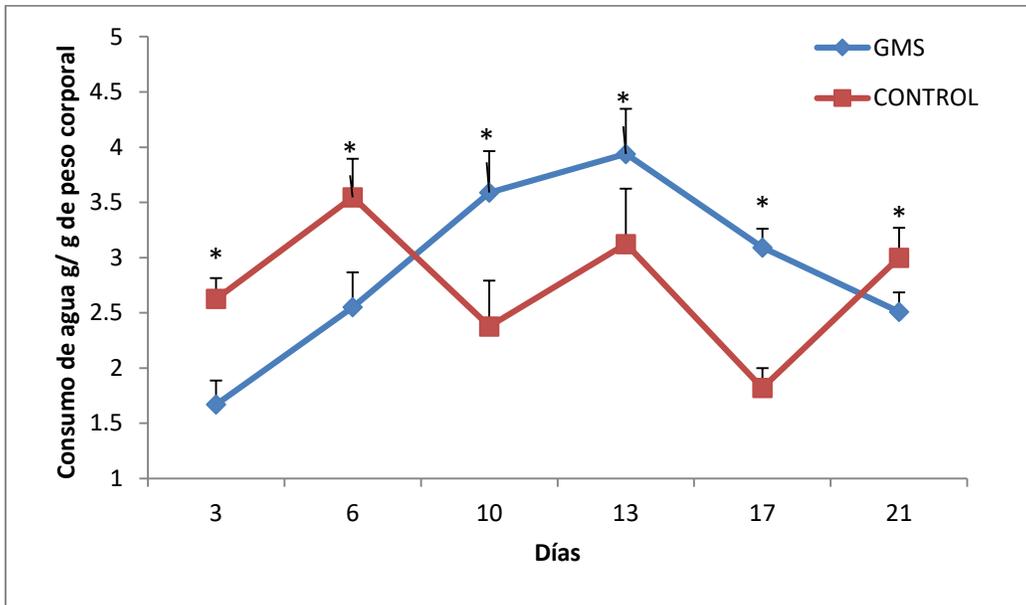


**Figura 11.** Curva de evolución temporal del consumo de alimento, durante 24 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \* $p < 0.05$ .

Debido a la naturaleza del alimento proporcionado a los ratones que es seco, es necesario medir el consumo de agua que se les da de manera libre, en la gráfica anterior, podemos observar que el consumo de agua entre grupos es variable.

El grupo GMS tiene una curva de comportamiento contraria al consumo de alimento en la cual aumentó el consumo de agua hasta el día 13, con tendencia a disminuir en los siguientes días.

Ambos grupos tuvieron aumento en el consumo de agua desde el momento inicial de la medición hasta el final del experimento en el día 21 ( $p < 0.05$ ). En cada una de las mediciones (días 3, 6, 10, 13, 17 y 21) existen diferencias en los grupos, por lo cual es necesario continuar pruebas con modelos de ratones a los cuales no se les administre el compuesto NDHPEAC para observar su comportamiento respecto a los presentes grupos.



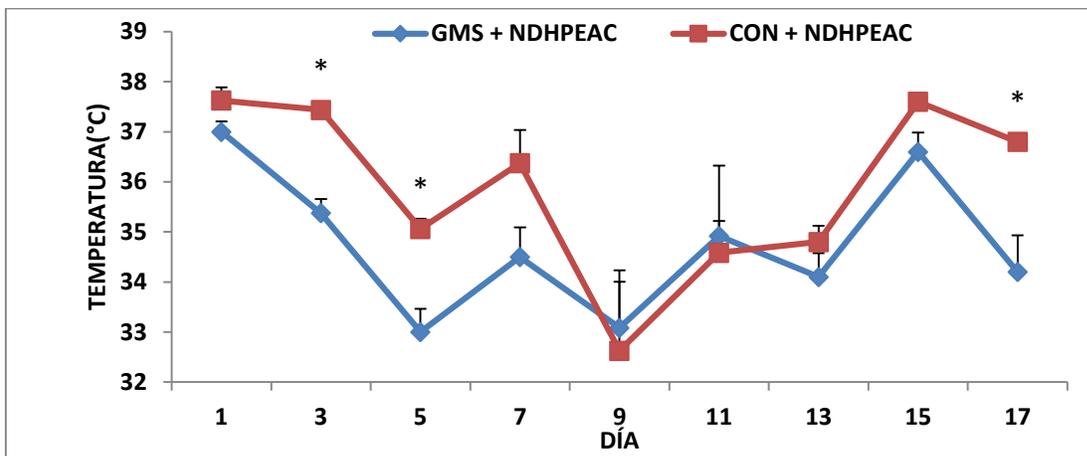
**Figura 12.** Curva de evolución temporal del consumo de agua, durante 21 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal, po). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \* $p < 0.05$ .

Podemos observar en la figura 9 la variación de la temperatura corporal durante los días 1 a 17, teniendo de manera general un comportamiento similar al grupo control en la cual existe un descenso pronunciado en el día 9 y a partir de ahí recuperación gradual hasta en el día 15 llegar a niveles similares a los previos a la administración del NDHPEAC, por lo cual podemos concluir que la administración de manera subcrónica del compuesto NDHPEAC no afecta la temperatura corporal del ratón respecto a los valores iniciales.

Una de las funciones de la grasa en el organismo es el mantenimiento de la temperatura corporal al servir como aislante ante el frío por lo que la pérdida de peso causa un desbalance en la homeostasis de la temperatura corporal, por lo anterior es congruente decir que el descenso en la temperatura corporal de los ratones coincide con la pérdida de peso de los mismos y al detenerse la pérdida de peso corporal se recuperan también los valores de temperatura regresando así a un estado de homeostasis.

Es importante mencionar que el descenso en la temperatura que se presentó en los días 5 en el grupo GMS y 9 en ambos grupos no se relacionó con mortalidad en ninguno de los dos grupos.

Debido a que la temperatura corporal está profundamente influenciada por las condiciones ambientales, es necesario continuar con experimentos en los que se incluya un grupo control al cual no se le administre compuesto NDHPEAC para observar el comportamiento de éste grupo respecto a los grupos experimentales y así descartar efectos adversos.



**Figura 13.** Curva de evolución temporal de la temperatura corporal, durante 17 días, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal). Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \* $p < 0.05$ .

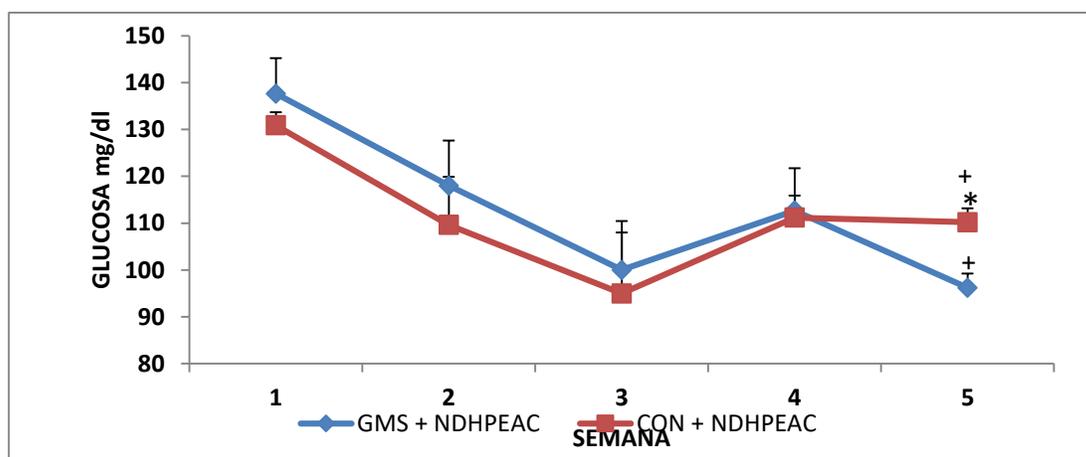
Se conoce que en sujetos con obesidad, el exceso de peso representa un riesgo para el desarrollo de intolerancia a la glucosa y por lo tanto aumento en los niveles de la misma, siendo que al reducir el peso, se mejoran significativamente también las glucemias, disminuyendo así el riesgo de desarrollo de DM2 (Schauer, y otros, 2012).

Debido a lo anterior, en la figura 10 podemos observar que existe una mayor disminución de glucosa capilar en el grupo con obesidad inducida por GMS, siendo ésta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) únicamente en la última semana en los cuales hubo una mayor disminución de la glucemia respecto a los controles.

Cabe aclarar que en ambos grupos existe una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de los niveles de glucosa desde el inicio del experimento hasta la quinta semana, y además en el grupo con obesidad en el periodo de la semana 2 a la semana 3, lo cual nos muestra que, en periodos relativamente cortos, el NDHPEAC es útil para la disminución de la glucosa capilar.

En el periodo comprendido entre la semana 1 y la semana 2 y de la semana 1 a la semana 3 no existe diferencia significativa en los grupos, esto probablemente debido a la alta dispersión que muestran los datos, pero se puede observar una marcada tendencia a la reducción de la glucemia, por lo cual es ideal el aumento del número de sujetos en ambos grupos.

Debido a los resultados favorables en la disminución de glucosa capilar en sujetos obesos y no obesos secundarios a la administración de NDHPEAC es conveniente la inclusión de un nuevo grupo control en futuros ensayos al cual no se le administre compuesto, así como pruebas en modelos de DM2 inducida para así probar el potencial beneficio en ésta enfermedad crónica y su uso en otro tipo de sujetos.



**Figura 14.** Curva de evolución temporal de las glucemias capilares, durante 5 semanas, de los 2 grupos de ratones sometidos a la administración diaria de NDHPEAC (20 mg/kg de peso corporal). Los resultados se muestran como consumo promedio  $\pm$  error estándar. Número de sujetos por grupo= 8. \* $p < 0.05$  grupo control vs grupo con obesidad. +  $p < 0.05$  inicio vs final del estudio.

### **6.4.1.3. Órgano aislado**

#### **6.4.1.3.1. Útero**

Podemos apreciar en la figura 11 un aumento en las contracciones uterinas como consecuencia de la administración de Serotonina  $1 \times 10^{-5}$  M al inicio del experimento, las cuales comienzan su decaimiento posterior a la administración del compuesto NDHPEAC en el músculo liso uterino. Se observa una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en la actividad contráctil uterina respecto al grupo control el cual únicamente recibió solución nutriente.

Existe una marcada disminución de las contracciones uterinas cuando se administra el compuesto NDHPEAC a la concentración  $1 \times 10^{-5}$  M, las cuales se ven recuperadas ligeramente en la concentración  $1 \times 10^{-4}$  M administrada a continuación. En ésta concentración es también donde se observa una mayor diferencia entre el grupo control y el intervenido con NDHPEAC ( $p < 0.05$ ).

Debido a los resultados obtenidos en la concentración  $1 \times 10^{-4}$  M, en los que se aprecia un ligero aumento de las contracciones uterinas, se decidió continuar el estudio con concentraciones mayores del compuesto NDHPEAC.

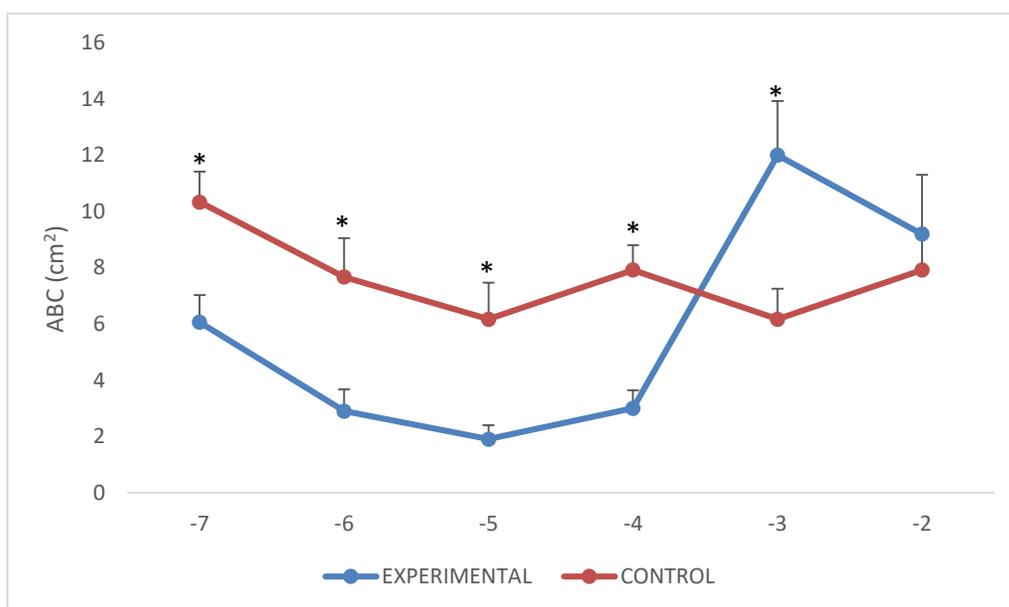
A continuación, en las concentraciones mayores ( $1 \times 10^{-3}$  M y  $1 \times 10^{-2}$  M) existe un aumento en las contracciones del músculo liso de ambos grupos, pero de manera más pronunciada en el grupo experimental seguido de una disminución en las mismas.

En la concentración  $1 \times 10^{-2}$  M no existen diferencias significativas entre grupos, lo cual puede ser debido a la alta dispersión de los datos que se presenta en estos.

Los diferentes efectos de las concentraciones en el músculo liso, da la posibilidad de modificar éstas según el contenido de fármaco que se indique, lo cual es un potencial beneficio en el uso de éste compuesto en posteriores ensayos.

Los resultados mostrados nos indican que el compuesto NDHPEAC modifica la actividad excitatoria inducida por Serotonina en el músculo liso uterino lo cual nos

da indicios de un posible uso alternativo para controlar éste tipo de contracciones y su potencialidad como fármaco en la industria anticonceptiva o de regulación del ciclo menstrual, lo cual nos dio la pauta para realizar el experimento de influencia del NDHPEAC en las fases del ciclo estral que se describe a continuación. Además de que para continuar con la caracterización farmacotóxica del compuesto NDHPEAC en éste ámbito son necesarios estudios en distintos modelos animales y líneas celulares humanas.



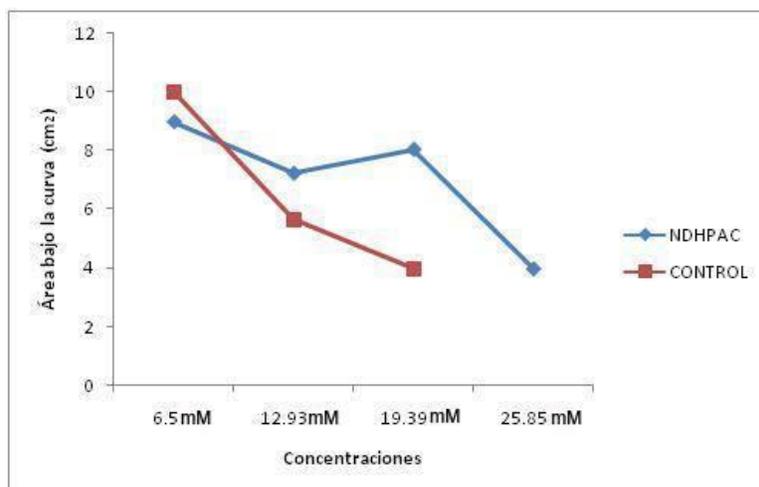
**Figura 15** Curva concentración (dosis) respuesta gradual de la actividad uterina expresada como área bajo la curva, de los 2 grupos (control y NDHPEAC) de órgano aislado sometidos a la administración de NDHPEAC a las concentraciones que se indican en la figura. Los resultados se muestran como promedio  $\pm$  error estándar en cm<sup>2</sup>. Número de sujetos grupo experimental= 10, grupo control= 6. \*p<0.05.

#### 6.4.1.3.2. Íleon

En la figura 12 se puede observar como el compuesto NDHPEAC modifica las contracciones espontáneas del músculo liso de íleon teniendo un pico máximo de actividad en la concentración 19.39 M y de ahí descendiendo hasta llegar al mismo

nivel de contracciones que el grupo control. Se observa disminución de manera significativa ( $p < 0.05$ ) en la actividad contráctil del íleon.

A pesar de que se pueden observar tendencias de alteración en la contracción intestinal, no existen diferencias significativas entre los grupos bajo ninguna concentración, esto puede ser debido al bajo número de muestra del grupo control ( $n=3$ ), por lo cual es recomendable hacer otros estudios con mayor número de sujetos para disminuir así la dispersión que presenta éste grupo.



**Figura 16** Curva dosis respuesta al compuesto NDHPEAC en presencia de las concentraciones: 6.5, 12.93, 19.39 y 25.85 mM en íleon aislado de rata y sus controles, expresado en área bajo la curva (cm<sup>2</sup>).

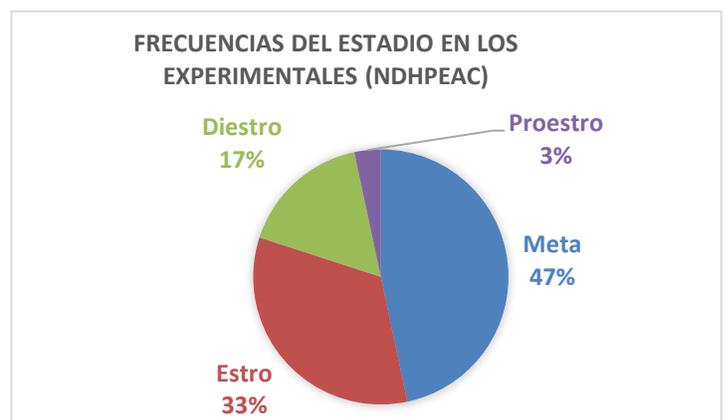
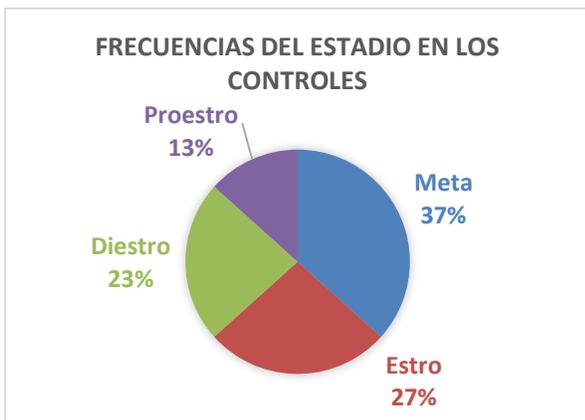
#### **6.4.1.4. Influencia de la administración del NDHPEAC sobre las fases del ciclo estral de la rata**

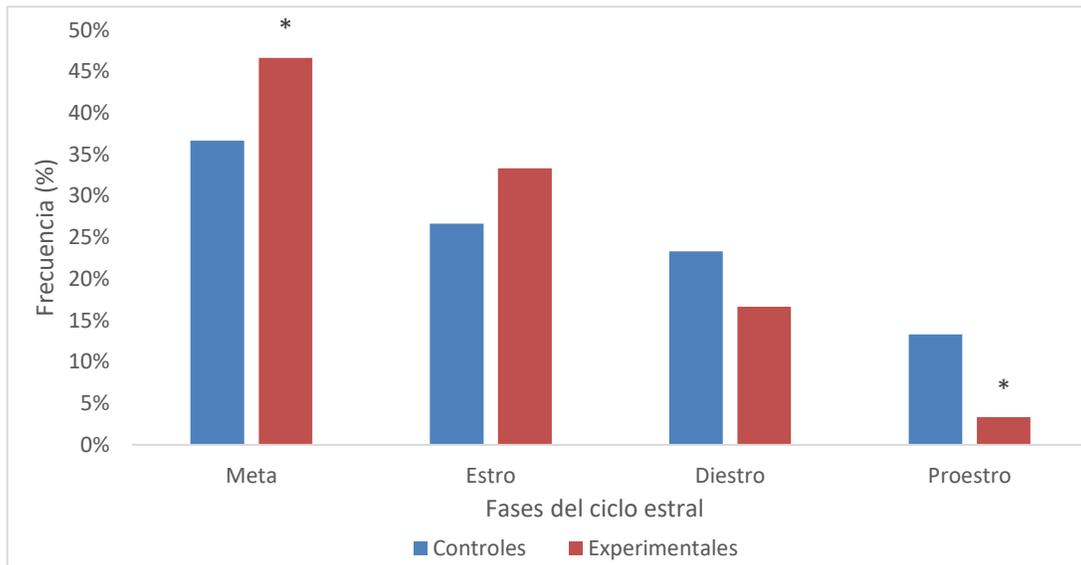
Con fundamento en los resultados que se obtuvieron en los estudios *in vitro* de músculo liso uterino aislado de la rata en estro, las cuales indican que el NDHPEAC es un potencial actor en la modificación de las contracciones uterinas dirigidas principalmente por progesterona se decidió hacer pruebas en modelos *in vivo* en ratas para determinar así si el NDHPEAC tiene también la potencialidad de modificar la secuencia y frecuencia de las fases del ciclo estral, el cual está determinado

principalmente por el estradiol, al cual debe su nombre (Brunton, Chabner, & Knolmann, 2012).

En las figuras 12 y 13 podemos observar la influencia de la administración diaria del NDHPEAC (40 mg/kg) sobre el ciclo estral de la rata. Se muestra como el compuesto altera las fases del ciclo estral en la frecuencia de presentación de cada fase aumentando la presencia de las fases de metaestro y estro y disminuyendo la presencia de proestro en ambos casos de manera significativa ( $p < 0.05$ ).

Lo anterior puede deberse, a la estrecha relación estructural entre el cortisol y las hormonas sexuales femeninas, estradiol y progesterona, ambos derivados del colesterol por lo cual comparten su naturaleza esteroidea. Siendo esto relevante debido a la gran participación de la progesterona sobre el ciclo estral. Por lo anterior se puede suponer que el NDHPEAC es un potencial modificador del ciclo estral en ratas. Es necesario continuar con experimentos en otros modelos experimentales de distintas especies para determinar su impacto sobre el ciclo estral y su posible uso terapéutico (Brunton, et al., 2012).





**Figura 17** Frecuencias de fases del ciclo estral en grupos vehículo y experimental (40 mg/kg del NDHPEAC por 10 días) vía intraperitoneal.

## VII. LIMITACIONES, FORTALEZAS Y PERSPECTIVAS

Una de las principales limitaciones en el presente trabajo es el tiempo y los recursos económicos que implica la síntesis del compuesto NDHPEAC; debido a la naturaleza de su proceso de síntesis, se requieren un gran número de reacciones y se obtienen únicamente unos cuantos miligramos (esto debido también a que se montaban reacciones de 100 a 300mg de materia prima para mejorar el rendimiento final), por lo que la obtención de 1g de compuesto para las pruebas en roedores implicaron varios meses de síntesis.

En el mismo orden de ideas, el tener una cantidad de compuesto limitada, nos obliga a seleccionar únicamente las pruebas que preferimos realizar.

Dentro de las fortalezas del estudio, se encuentra la inclusión de dos especies (ratas y ratones), lo que nos permite hacer pruebas distintas y observar las respuestas a la administración del compuesto NDHPEAC en dos organismos diferentes.

Se hicieron además una muy diversa gama de mediciones, desde temperatura, peso corporal, glucemia, consumo de agua y alimento, hasta fases de ciclo estral y contracciones de músculo liso de dos distintos órganos aislados.

Teniendo también grupos experimentales de sujetos sanos y con obesidad y distintas condiciones experimentales.

Todo lo anterior permite hacer un trabajo completo y con muchas líneas por las cuales se puede seguir la caracterización farmacotóxica del NDHPEAC.

Dentro de las posibles pruebas que podrían dar continuidad al proyecto son el uso de distintas especies de modelos animales, órganos aislados e incluso líneas celulares. Además del uso de distintas vías de administración o el uso de vehículos que den mayor solubilidad al compuesto sin presentar toxicidad.

Así mismo, la utilización de modelos con las demás patologías componentes del síndrome metabólico, influencia en lípidos sanguíneos y contenido de grasa corporal, entre otras pruebas. Así como la adición de grupos controles o experimentales con distintas condiciones en las pruebas ya realizadas.

## VIII. CONCLUSIONES

En el presente estudio se logró realizar parte de la caracterización del perfil farmacotológico del NDHPEAC con diversas pruebas y modelos experimentales animales. Particularmente porque se estudió un compuesto novedoso y original.

- Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa en ratones obesos y no obesos secundaria a la administración de NDHPEAC.
- Se indagó en un estudio agudo el efecto del NDHPEAC sobre la temperatura corporal en ratones obesos y no obesos.
- Se examinó en un estudio subcrónico el efecto del NDHPEAC sobre la glucosa, la temperatura corporal, el peso corporal y el consumo de agua y alimento en ratones obesos y no obesos.
- Se estudió en un estudio agudo el efecto del NDHPEAC sobre la curva de tolerancia a la glucosa y la temperatura corporal en ratones obesos y no obesos.
- Se determinó la influencia del NDHPEAC sobre la actividad biológica contráctil del músculo liso uterino y de íleon de la rata.
- Se estudió el efecto del NDHPEAC sobre el ciclo estral de la rata.

Gracias al estudio realizado y a los resultados positivos se puede determinar que el NDHPEAC es un compuesto con potencial de inhibición de la enzima  $11\beta$ -HSD1, para lo cual son necesarios más estudios en los cuales se utilicen diversos modelos experimentales animales, vías y tiempos de administración, así como condiciones experimentales.

## **RECURSOS HUMANOS**

Estudiante de Licenciatura en Nutrición, Doctor en Ciencias Biológicas, Maestra en Ciencias Farmacéuticas, Doctor en Ciencias Químicas, Maestro en Ciencias Químicas, Doctora en Ciencias Biomédicas, Laboratorista, Estudiante de Servicio Social, Técnico Laboratorista Químico.

## **RECURSOS MATERIALES**

Reactivos químicos (Sigma, JT Baker), matraces (Pyrex), pipetas (Pyrex), probetas (Pyrex), propipetas (Pyrex), viales (Pyrex), agitadores magnéticos y perlas de agitación, ratas (Wistar), ratones (CD-1), alimento (Purina Chow), polígrafo (Grass 79D), trasductor (FTO3), planímetro (Burrell), microscopio (Motic), porta y cubreobjetos, jaulas, agua desionizada, balanza analítica (Mettler) y granataria (Ohaus), carbógeno(INFRA), termostato (Haake), cámaras para órgano aislado, papel para polígrafo (Contróles Gráficos), tinta para pluma fuente (Stafford), refrigerador (Mabe), espátula, termómetro (Brahan), vasos de precipitado (Pyrex), glucómetro (Roche), tiras reactivas (Roche), teletermómetro (Ysi), instrumentos de disección, cajas petri.

## **RECURSOS FINANCIEROS**

Se utilizaron los recursos otorgados por la Jefatura de Investigación al laboratorio de Toxicología del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberti, F., Eckel, H., Grudy, S., Zimmet, P., Cleeman, J., Donato, K., Fruchart, J-C., James, P., Loria, C., Smith, S. (2009). Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 120(1), 1640-1645.
- Alberts, P., Engblom, L., Edling, N., Forsgren, M., Klingström, G., Larsson, C., Rönquist-Nii, Y., Ohman, B., Abrahmsén, L. (2002). Selective inhibition of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 decreases blood glucose concentrations in hyperglycaemic mice. *Diabetología*, 45(1), 1528-1532.
- Allison, D., Downey, M., Atkinson, R., Billington, C., Bray, G., Eckel, R., Finkelstein, EA., Jensen, MD., Tremblay, A. (2008). Obesity as a Disease: A White Paper on Evidence and Arguments Commissioned by the Council of The Obesity Society. *Obesity*, 16(6), 1161-1177.
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S81-S90.
- American Diabetes Association, Bantle, J., Wylie-Rossett, J., Albright, A., Apovian, C., Clark, N., Franz, MJ., Hoogwerf, Lichtenstein, AH., Mayer-Davis, E., Mooradian, AD., Wheeler, M. (2008). Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Dia Care*, 31(Suppl 1), S61-78.
- Anderson, A., & Walker, B. (2013). 11B-HSD1 Inhibitors for the treatment of type 2 Diabetes and cardiovascular disease. *Drugs*, 73(13), 1385-1393.
- Antista, M. (04 de Noviembre de 2013). IACA laboratorios. Recuperado el 2004 de Noviembre de 2013, de <https://www.iaca.com.ar/images/docs/Adiponectina.pdf>
- Boyle, C., & Kowalski, T. (2009). 11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase type 1 inhibitors: a review of recent patents. *Expert Opin Ther Pat*, 19(6), 801-825.

- Brunton, L., Chabner, B., & Knolmann, B. (2012). Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. USA: McGraw-Hill.
- Chavez-Courtois, M., & Casanueva, E. (2005). Uso de Servicios Preventivos de Salud Materno-Infantil en un Grupo de Mujeres Mexicanas. *Rev Salud Pública*, 7(1), 16-25.
- Cehade, J., Gladysz, M., & Mooradian, A. (2013). Dyslipidemia in type 2 Diabetes: Prevalence, Pathophysiology, and Management. *Drugs*, 73(4), 327-339.
- Cooper, M., & Stewart, P. (2009). 11 B-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 and Its Role in the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis, Metabolic Syndrome, and Inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(12), 4645–4654.
- Devang, N., Nandini, M., Satish, R., & Adhikari, P. (2015). HSD11B1 gene polymorphisms in type 2 diabetes and metabolic syndrome—Do we have evidence for the association? *Int J Diabetes Dev Ctries*, 174(3), 1-8.
- Dilda, P., Joshi, S., Lu, D., Decollogne, S., Zhai, X., Pasqueler, E., Wild, B. (2012). Polyarsenic adamantane-type compounds: a new class of small drugs overcoming cancer drug-resistance mechanisms. *Organometallics*, 25(1), 1808-1816.
- Engeli, S., Böhnke, J., Feldpausch, M., Gorzelniak, K., Heintze, U., Janke, J., Luft, FC., Sharma, A. (2004). Regulation of 11beta-HSD genes in human adipose tissue: influence of central obesity and weight loss. *Obes Res*, 12(1), 9-17.
- Espíndola-Antunes, D., & Kater, C. (2007). Adipose Tissue Expression of 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 in Cushing's Syndrome and in Obesity. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 51(8), 1397-1403.
- Esposito, K., Ciotola, M., M, M. I., & Giugliano, D. (2008). Lifestyle Approach for Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome. *Curr Atheroscler Rep*, 10(6), 523-528.

- Feng, Y., Huang, S., Dou, W., Zhang, S., Chen, J., Shen, Y., Shen, JH., Leng, Y. (2010). Emodin, a natural product, selectively inhibits 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and ameliorates metabolic disorder in diet-induced obese mice. *Br J Pharmacol*, 161(1), 113–126.
- Franz, M., Bantle, J., Beebe, C., B, Chasson, J., Garg, A., Holzmeister, LA., Hoogwerf, B., Mayer-Davis, E., Mooradian, AD., Purnell, JQ., Wheeler, M., American Diabetes Association. (2002). Evidence based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes Care*, 25(1), 148-198.
- Fujioka, K., Seaton, T., Rowe, E., Jelinek, C., Raskin, P., Lebovitz, H., Weinstein, SP., Sibutramine/Diabetes Clinical Study Group. (2000). Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 175-187.
- Gallardo Alfonso, S. (2013). Síntesis de 1-Adamantil-(N-meso-dipirrolilmetilen)-Carboxamida. Morelia.
- Gallardo-Alfonzo, S., Ocampo-Néstor, A., Contreras-Celedón, C., & Chacón-García, L. (2014). Synthesis and Docking Studies of the Novel 1-Adamantyl-(N-meso-dipyrrolylmethylene)-carboxamide, a Potential 11 $\beta$ -HSD1 Inhibitor. *Journal of Chemistry*, 2014(5), 1-6.
- Goldman, J., Murr, A., & Cooper, R. (2007). The Rodent Estrous Cycle: Characterization of Vaginal Cytology and Its Utility in Toxicological Studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 80(2), 84-97.
- Gómez-Chang, E., Larrea, F., & Martínez-Montes, F. (2012). Vías de señalización asociadas a la esteroidogénesis. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(1), 24-36.
- González, E. (2013). Obesity: Etiologic and pathophysiological analysis. *Endocrinol Nutr*, 60(1), 17-24.

- González-Chávez, C., Martínez-Enríquez, M., & Campos-Sepúlveda, A. (2006). Effect of Chronic Administration of an Extract of *Thevetia Peruviana* Seed on a Model of Experimental Obesity. *Proc. West. Pharmacol.*, 58-59.
- Halpern, A., Mancini, M., Magalhaes, M., Fisberg, M., Radominski, R., Bertolami, M., de Melo, ME., Zanella, MT., Queiroz, MS., Nery, M. (2010). Metabolic syndrome, dyslipidemia, hypertension and type 2 diabetes in youth: from diagnosis to treatment. *Diabetol Metab Syndr*, 18(2), 1-20.
- Hermanowski-Vosatka, A., Balkovec, J., Cheng, K., Cheng, H., Hernandez, M., Koo, G., Le Grand, C., Li, Z., Metzger, J., Mundt, S., Noonan, H., Nunes, C., Olson, S., Pikounis, B., Ren, N., Robertson, N., Schaeffer, J., Shah, K., Springer, M., Strack, A., Strowski M., Wu, K., Wu, T., Xiao, J., Zhang, B., Wright, S., Thieringer, R. (2005). 11B-HSD1 inhibition ameliorates metabolic syndrome and prevents progression of syndrome and prevents progression of atherosclerosis in mice. *J Exp Med*, 202(4), 517-527.
- Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *Salud Publ Mex*, 55, suppl2: S129-S136.
- Hu, J., Zhang, Z., Shen, W., & Azhar, S. (2010). Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr Metab*, 47(7), 1-25.
- Jellinger, P., Smith, D., Mehta, A., Ganda, O., Hadelseman, Y., Rodbard, H., Seibel, JA., Shepherd, MD., Smith, DA., AACE Lipid Guidelines Committee. The American Association of Clinical Endocrinologist (2012). American Association of Clinical Endocrinologist guidelines for management of dyslipidemia and prevention of atherosclerosis. *Endocr Pract*, 18(Supplement 1), 1-78.
- Kipari, T., Hadoke, P., Iqbal, J., Man, T., Miller, E., Coutinho, A., Zhang, Z., Sullivan, K., Mitic, T., Livingstone, D., Schrecker, C., Samuel, K., White, C., Bouhlef,

- MA., Chinetti-Gbaguidi, G., Staels, B., Andrew, R., Walker, B., Savill, J., Chapman, K., Seckl, J. (2013). 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 deficiency in bone marrow-derived cells reduces atherosclerosis. *FASEB J*, 27(4), 1519-1531.
- Kopelman, P. (2005). Clinical treatment of obesity: are drugs and surgery the answer? *Proc Nutr Soc*, 64(1), 65-71.
- Lacroix, A., Feelders, R., Stratakis, C., & Nieman, L. (2015). Cushing's syndrome. *Lancet*, 386(9996), 913-927.
- Li, B., Wanka, L., Blanchard, J., Liu, F., Chohan, M., Iqbal, K., & Iqbal, I. (2010). Neurotrophic peptides incorporating adamantane improve learning and memory, promote neurogenesis and synaptic plasticity in mice. *FEBS Lett*, 15(4), 3359-3365.
- Liu, J., Wang, L., Zhang, A., Di, W., Zhang, X., Wu, L., Yu, J., Zha, J., Ly, S., Cheng, P., Hu, M., Li, Y., Qi, H., Ding, H., Zhong, Y. (2011). Adipose tissue-targeted 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor protects against diet-induced obesity. *Endocrine Journal*, 58(3), 199-209.
- Luehr, D., Woolley, T., Burke, R., Dohmen, F., Hayes, R., Johnson, M., Kerandi, H., Margolis, K., Marshall, M., O'Connor, P., Reddy, G., Schlichte, A., Schoenleber, M. (2012). Hypertension diagnosis and treatment. Institute for Clinical Systems Improvement, 1-68.
- Luo, M., Thieringer, R., Springer, M., Wright, S., Hermanowski-Vosatka, A., Plump, A., Balkovec, J., Cheng, K., Ding, G., Kawka, D., Koo, G., Le Grand, C., Luo, Q., Maletic, M., Malkowitz, L., Shah, K., Singer, I., Waddell, S., Wu, K., Yuan, J., Zhu, J., Stepaniants, S., Yang, X., Lum, P.Y., Wang, I. (2013). 11 $\beta$ -HSD1 inhibition reduces atherosclerosis in mice by altering proinflammatory gene expression in the vasculature. *Physiol Genomics*, 45(1), 47-57.
- Luzhkov, V., Decroly, E., Canard, B., Selisko, B., & Aqvist, J. (2013). Evaluation of Adamantane Derivatives as Inhibitors of Dengue Virus mRNA Cap

Methyltransferase by Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Mol Inf*, 32(2), 155-164.

Manzur, F., Alvear, C., & Alayón, A. (2010). Adipocitos, obesidad visceral, inflamación y enfermedad. *Rev Colomb Cardiol*, 17(5), 207-213.

Mathieu, P., Poirier, P., Pibarot, P., Lemieux, I., & Després, J.-P. (2009). Obesity: The Link Among Inflammation, Hypertension, and Cardiovascular Disease. *Hypertension*, 576-584.

Mikael, H. (10 de Diciembre de 2015). Wikiversity Journal of Medicine. Recuperado el 10 de Diciembre de 2015, de [https://en.wikiversity.org/wiki/Wikiversity\\_Journal\\_of\\_Medicine/Diagram\\_of\\_the\\_pathways\\_of\\_human\\_steroidogenesis](https://en.wikiversity.org/wiki/Wikiversity_Journal_of_Medicine/Diagram_of_the_pathways_of_human_steroidogenesis)

Nathan, D., Buse, J., Davidson, M., Ferrannini, E., Holman, R., Sherwin, R., & Zinman, B. (2009). Medical Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy. A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 32(1), 193-203.

Nathan, G. (10 de diciembre de 2015). Seasons. Recuperado el 10 de diciembre de 2015, de <http://www.seasonswellness.com/chicken-or-the-egg/>

NOM-037-SSA2-2002, N. O. (24 de septiembre de 2001). Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. *Diario Oficial de la Federación* .

Okorodudu, D., Jumean, M., Montori, V., Romero-Corral, A., Somers, V., Erwin, P., & Lopez-Jimenez, F. (2010). Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obe*, 35(4), 791-799.

Potenza, M., & Mechanick, J. (2009). The Metabolic Syndrome: Definition, Global impact and, Pathophysiology. *Nutr Clin Pract*, 24(5), 560-577.

- Ritchie, D. (2008). Recent progress and future directions in protein-protein docking. *Curr Protein Pept Sci*, 9(1), 1-15.
- Rivellese, A., & Giacco, R. (2011). Dietary Carbohydrates, Overweight and Metabolic Syndrome: The Role of Glycemic Index in a Healthy Diet. En M. Mancini, J. Ordovas, G. Riccardi, P. Rubba, & P. Strazzullo (Edits.), *Nutritional and Metabolic Bases of Cardiovascular Disease* (págs. 105-111). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Rohde, J., Pliushchev, M., Sorensen, B., Wodka, D., Shuai, Q., Wang, J., Fung, S., Monzon, KM., Chiou, WJ., Pan, L., Deng, X., Chovan, LE., Ramaiya, A., Mullally, M., Henry, RF., Stolarik, DF., Imade, HM., Marsh, KC., Beno, DW., Fey, TA., Droz, BA., Brune, ME., Camp, HS., Sham, HL., Frevert, EU., Jacobson, PB., Link, JT. (2007). Discovery and Metabolic Stabilization of Potent and Selective 2-Amino-N-(adamant-2-yl) Acetamide 11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Inhibitors. *J Med Chem*, 50(1), 149-164.
- Schauer, P., Sangeeta, R., Wolski, K., Brethauer, S., Kirwan, J., Pothier, C., Thomas, S., Abood, RN., Niessen, S., Bhatt, D. (2012). Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy in Obese Patients with Diabetes. *N Engl J Med*, 366(1), 1567-1576.
- Scheen, A. (2003). Pathophysiology of Type 2 Diabetes. *Acta Clin Bel*, 58(6), 335-341.
- Sierra, H., Roganovich, J., & Rizzo, L. (2012). Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *Medicina*, 72(2), 158-170.
- Su, X., Halem, H., Thomas, M., Moutrille, C., Culler, M., Vicker, N., & Potter, B. (2012). Adamantyl carboxamides and acetamides as potent human 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 20(21), 6394-6402.

- Tchernof, A., & Després, J. (2013). Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update. *Physiol Rev*, 93(1), 359-404.
- Ten, S., New, M., & Maclaren, N. (2013). Addison's Disease 2001. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(7), 2909-2922.
- Torrecilla, E., Fernández-Vázquez, G., Vincent, D., Sánchez-Franco, F., Barabash, A., Cabrerizo, L., Sánchez-Pernaute, A., Torres, A.J., Rubio, M. (2012). Liver Upregulation of Genes Involved in Cortisol Production and Action Is Associated with Metabolic Syndrome in Morbidly Patients. *Obes Surg*, 22(3), 478-486.
- U.S. Department of health and human services, National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute. (04 de 11 de 2013). [www.diabetes.ca](http://www.diabetes.ca). Obtenido de [http://www.diabetes.ca/documents/about-diabetes/DASH\\_diet\\_summary.pdf](http://www.diabetes.ca/documents/about-diabetes/DASH_diet_summary.pdf)
- Veilleux, A., Rhéaume, C., Daris, M., Luu-The, V., & Tchernof, A. (2009). Omental adipose tissue type 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase oxidoreductase activity, body fat distribution, and metabolic alterations in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(9), 3550-3557.
- Vernier, O., Pascal, C., Braun, A., Namane, C., Mougnot, P., Crespin, O., Pacquet, F., Mougnot, C., Monseau, C., Onofri, B., Dadji-Faihun, R., Leger, C., Ben-Hassine, M., Van-Pham, T., Ragot, J.L., Philippo, C., Farjot, G., Noah, L., Maniani, K., Boutarfa, A., Nicolai, E., Guillot, E., Pruniaux, M.P., Güssregen, S., Engel, C., Coutant, A.L., de Miguel, B., Castro, A. (2013). Discovery of SAR184841, a potent and long-lasting inhibitor of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, active in a physiopathological animal model of T2D. *Bioorg Med Chem Lett*, 23(8), 2414-2421.
- Veterans Affairs Department of Defense. (2014). *Clinical Practice for the Management of Dyslipidemia for Cardiovascular Risk Reduction*. Washington DC: Lewin Group.

Villegas-González, J., Villegas-Arenas, O., & Villegas- González, V. (2012). Semiología de los signos vitales: Una mirada novedosa a un problema vigente. *Archivos de Medicina*, 12(2), 221-240.

Wanka, L., Iqbal, K., & Schreiner, P. (2013). The Lipophilic Bullet Hits the Targets: Medicinal Chemistry of Adamantane Derivatives. *Chem Rev*, 113(5), 3516-3604.