



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS**



---

---

FACULTAD DE FARMACIA

**“Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de  
*Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e  
hipertensión”**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TITULO DE  
MAESTRO EN FARMACIA

***PRESENTA***

Karla Catalina Cruz Torres

Co-directores de Tesis

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

Dr. Julio César Almanza Pérez

16 de Mayo del 2019

## **Agradecimientos**

A la Facultad de Farmacia (UAEM), por proporcionarme los espacios necesarios para desarrollar este proyecto.

A CONACYT a través del proyecto SEP-CONACyT Ciencia Básica (No. 167044), así como por la beca de maestría número 826372.

Al Dr. Samuel Enoch Estrada Soto por la dirección de este proyecto, por transmitirnos sus conocimientos día a día, su apoyo y su paciencia.

A mí jurado evaluador integrado por la Dra. Sara Natividad Concepción García Jiménez, el Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez, la Dr. Rafael Villalobos Molina, Dr. Cairo David Toledano Jaimes, Dra. Rachel Mata Essayag y al Dr. Samuel Enoch Estrada Soto.

A la Dra. Irene Perea Arango del Centro de Investigaciones en Biotecnología (CEIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) por la recolección del material vegetal.

Al Dr. Samuel por compartir su conocimiento y apoyarme en todo momento.

## Dedicatorias

A mi abuela Martha † por todas sus enseñanzas y apoyo durante toda mi vida.

A mi madre Catalina por todo su amor, apoyo, compañía, esfuerzo, consejos y amistad. Gracias sobre todo por ser una mujer fuerte y seguir aquí con nosotros. Todo lo que soy es gracias a ti y a mi abuela Martha.

A mi tía Lyly por su apoyo incondicional, amor y consejos. Gracias por siempre estar ahí.

A mis hermanos Daniela y Carlos por el amor, compañía y apoyo que siempre me han dado.

A mi padre Juan Carlos por su apoyo.

A mi tío Ignacio †, a mis tías Lidia y Martha por su apoyo constante, por preocuparse por mí todo el tiempo y a toda mi familia, gracias por todo.

A Laura por apoyarme y estar a mi lado en esta importante etapa de mi vida. Te quiero...

A mis amigos que durante todo este tiempo me han apoyado y han estado conmigo en todo momento: Laura, Yosh, Wendy, Luis, Montse, Litzi y Fabi.

# Índice

Abreviaturas .....	IV
Índice de figuras .....	VIII
Índice de tablas .....	X
1.- Resumen .....	1
2.- Introducción .....	3
3.- Antecedentes .....	4
3.1.- Síndrome metabólico .....	4
3.1.1.- Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico .....	4
3.2.- Obesidad .....	5
3.2.1.- Criterio diagnóstico para la obesidad .....	6
3.2.2.- Tipos de tejido adiposo .....	7
3.2.3.- Distribución de los depósitos grasos .....	9
3.2.4.- Tratamiento farmacológico para la obesidad .....	10
3.3.- Dislipidemias .....	12
3.3.1.- Criterios de diagnóstico para las dislipidemias .....	13
3.3.2.- Tratamiento farmacológico para las dislipidemias .....	13
3.4.- Insulina .....	15
3.4.1.- Resistencia a la insulina .....	18
3.4.2.- Criterios de diagnóstico para la resistencia a la insulina .....	18
3.5.- Diabetes .....	18
3.5.1.- Tipos de diabetes .....	19
3.5.2.- Diabetes tipo 2 (DT2) .....	19
3.5.3.- Criterios de diagnóstico para la diabetes .....	20
3.5.4.- Tratamiento farmacológico para diabetes tipo 2 .....	20
3.6.- Hipertensión .....	22
3.6.1.- Tipos de hipertensión .....	22
3.6.2.- Clasificación de la presión arterial .....	22
3.6.3.- Criterios de diagnóstico para la hipertensión arterial .....	23
3.6.4.- Tratamiento farmacológico .....	23
3.7.- Obesidad como origen del síndrome metabólico y las enfermedades que lo conforman .....	25

<b>3.8.- Importancia de las plantas medicinales.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.1.- Agastache mexicana.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.2.- Antecedentes etnomédicos .....</b>	<b>28</b>
<b>3.8.3.- Antecedentes fitoquímicos de <i>Agastache mexicana</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>3.8.4.- Antecedentes farmacológicos de <i>Agastache mexicana</i> .....</b>	<b>30</b>
<b>4.- Justificación.....</b>	<b>32</b>
<b>5.- Hipótesis .....</b>	<b>33</b>
<b>6.- Objetivo general.....</b>	<b>34</b>
<b>7.- Objetivos particulares .....</b>	<b>35</b>
<b>8.- Metodología .....</b>	<b>36</b>
<b>8.1.- Recolección y preparación del material vegetal.....</b>	<b>36</b>
<b>8.2.- Obtención del precipitado del extracto hidroalcohólico de <i>Agastache mexicana</i>.....</b>	<b>36</b>
<b>8.3.- Uso y manejo de animales.....</b>	<b>37</b>
<b>8.4.- Dieta de cafetería.....</b>	<b>37</b>
<b>8.4.1.- Curva de tolerancia a la glucosa .....</b>	<b>38</b>
<b>8.4.2.- Determinación de presión arterial .....</b>	<b>38</b>
<b>8.4.3.- Determinación del perfil bioquímico (glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL).....</b>	<b>39</b>
<b>8.5.- Curva de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos .....</b>	<b>39</b>
<b>8.6.- Modelo no insulino-dependiente.....</b>	<b>40</b>
<b>8.6.1.- Antidiabético ensayo agudo .....</b>	<b>40</b>
<b>8.7.- Determinación del efecto vasorrelajante <i>ex vivo</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>8.7.1.- Mecanismo de acción dependiente de endotelio .....</b>	<b>43</b>
<b>8.7.2.- Determinación vasorrelajante del PP EHA<i>Am</i> sobre el efecto contráctil de CaCl<sub>2</sub> en anillos de aorta de rata sin endotelio .....</b>	<b>44</b>
<b>8.8.- Modelo antihipertensivo agudo.....</b>	<b>45</b>
<b>9.- Resultados y discusión .....</b>	<b>46</b>
<b>9.1.- Rendimiento .....</b>	<b>46</b>
<b>9.2.- Dieta de cafetería. ....</b>	<b>47</b>
<b>9.3.- Curva de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos .....</b>	<b>51</b>
<b>9.4.- Antidiabético ensayo agudo .....</b>	<b>52</b>
<b>9.5.- Determinación del efecto vasorrelajante <i>ex vivo</i> .....</b>	<b>53</b>
<b>9.6.- Mecanismo de acción dependiente de endotelio .....</b>	<b>55</b>

<b>9.7.- Determinación vasorrelajante del PP EHA<i>Am</i> sobre el efecto contráctil de CaCl<sub>2</sub> en anillos de aorta de rata sin endotelio .....</b>	<b>56</b>
<b>9.8.- Modelo antihipertensivo agudo.....</b>	<b>57</b>
<b>10.- Conclusión .....</b>	<b>58</b>
<b>11.- Perspectivas .....</b>	<b>59</b>
<b>12.- Bibliografía.....</b>	<b>60</b>

## Abreviaturas

PP EHA $Am$	Precipitado del extracto hidroalcohólico de <i>Agastache mexicana</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
IDF	Federación Internacional de Diabetes
SHR	Ratas Espontáneamente Hipertensas
Ca <sup>2+</sup>	Ion Calcio
ATP	Trifosfato de adenosina
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de Calcio
CEIB	Centro de Investigaciones en Biotecnología
CTG	Curva de tolerancia a glucosa
dL	Decilitros
DT2	Diabetes tipo 2
DT1	Diabetes tipo 1
DG	Diabetes gestacional
E-	Ausencia de Endotelio
E+	Presencia de Endotelio
E	Endotelio
GLUT-2	Transportador de glucosa tipo 2
GLUT-4	Transportador de glucosa tipo 4
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa
TA	Tejido adiposo
TAP	Tejido adiposo pardo
TAB	Tejido adiposo blanco
TAV	Tejido adiposo visceral
TAS	Tejido adiposo subcutáneo
IMC	Índice de masa corporal
Apo B	Apolipoproteína B

LPL	Lipoproteína Lipasa
PaI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno
TNF- $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral $\alpha$
IL-6	Interleucina 6
IL-1B	Interleucina 1B
IL-10	Interleucina 10
IL-2	Interleucina 2
IL-8	Interleucina 8
Células NK	Células natural killer
RER	Retículo endoplasmático rugoso
IR	Receptor de insulina
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-Trifosfato
IRS1	Sustrato del receptor de insulina
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PDK	Cinasa dependiente de fosfatidilinositol
PKB	Cinasa B
RI	Resistencia a la insulina
ADA	Asociación Americana de Diabetes
A1c	Hemoglobina glicosilada
GP	Glucosa Postprandial
FPG	Glucosa plasmática en ayunas
K <sup>+</sup>	Ion potasio
AMPK	Monofosfatocinasa activada
SGLT2	Co-transportadores sodio glucosa tipo 2
PPAR- $\gamma$	Receptor activado por el proliferador de peroxisomas gamma
HTA	Hipertensión arterial
STZ	Streptozotocina
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
NF-kB	Factor nuclear kappa beta
ER	Retículo endoplásmico
NO	Óxido nítrico

G <sub>0</sub>	Glucosa basal
FFA	Ácidos grasos libres
CCR	Receptores de quimiocinas
i.p.	Intraperitoneal
NA	Noradrenalina
mm Hg	Milímetro de mercurio
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ICAM-1	Moléculas de adhesión intercelulares
VCAM-1	Moléculas de adhesión vasculares
JNK	Cinasa de c-jun aminoterminal
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
KCl	Cloruro de potasio
kg	Kilogramo
μL	Microlitros
mg	Miligramos
mL	Mililitro
MgSO <sub>4</sub>	Sulfato de Magnesio
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de Potasio Monobásico
g	Gramos
FC	Frecuencia cardíaca
Glu <sub>x</sub>	Promedio de glucemia a los diferentes tiempos evaluados
GLUT	Transportador de glucosa
ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
L-NAME	L-NG-Nitroargininametilester
DFC	Dieta de cafetería
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
eNOS	Enzima óxido nítrico sintasa
mM	Milimolar
N	Normal
NA	Nicotinamida

NaCl

Cloruro de sodio

NaHCO<sub>3</sub>

Bicarbonato de sodio

pH

Potencial de hidrógeno

## Índice de figuras

<b>Figura 1.-</b> Esquema general para la liberación de insulina.....	16
<b>Figura 2.-</b> Estructura del receptor de insulina.....	17
<b>Figura 3.-</b> Agastache mexicana .....	36
<b>Figura 4.-</b> Disección y obtención de anillos de aorta .....	41
<b>Figura 5.-</b> Cámara de incubación .....	41
<b>Figura 6.-</b> Transductor de fuerza isométrico modelo Grass FT03 .....	42
<b>Figura 7.-</b> Proceso de sensibilización de los anillos de aorta .....	43
<b>Figura 8.-</b> Determinación del mecanismo de acción del PP EHA <i>Am</i> , preincubados con L-NAME e Indometacina en anillos de aorta de rata.....	44
<b>Figura 9.-</b> Influencia de la actividad vasorrelajante de las muestras de prueba sobre el efecto contráctil de CaCl <sub>2</sub> .....	45
<b>Figura 10.-</b> Determinación del efecto antihipertensivo agudo del EHA <i>Am</i> en un modelo in vivo en ratas SHR. ....	45
<b>Figura 11.-</b> Consumo de calorías de cada mes, comparando el grupo normal y el grupo dieta de cafetería.....	48
<b>Figura 12.-</b> Consumo de agua durante 6 meses, comparando el grupo normal y el grupo dieta de cafetería.....	48
<b>Figura 13.-</b> Relación del porcentaje de variación del peso durante 6 meses del modelo.....	49
<b>Figura 14.-</b> Monitoreo de glucosa durante 6 meses. ....	49
<b>Figura 15.-</b> Curva de tolerancia a glucosa del sexto mes.....	50
<b>Figura 16.-</b> Comparación del efecto antihiperглиcémico del EHA <i>Am</i> y el PP EHA <i>Am</i> con el control positivo y el vehículo.....	52
<b>Figura 17.-</b> Comparación del efecto antidiabético del EHA <i>Am</i> su PP EHA <i>Am</i> con el control positivo y el vehículo.. ....	53

<b>Figura 18.-</b> Comparación del efecto vasorrelajante del PP EHA <i>Am</i> en anillos de aorta aislada de rata en presencia y ausencia de endotelio.. .....	54
<b>Figura 19.-</b> Efecto vasorrelajante del PP EHA <i>Am</i> en presencia de Indometacina y L-NAME en anillos de aorta aislada de rata en presencia de endotelio.....	55
<b>Figura 20.-</b> Curva concentración respuesta a la contracción inducida con CaCl <sub>2</sub> en ausencia de endotelio. ....	56
<b>Figura 21.-</b> Ensayo agudo antihipertensivo con ratas SHR del PP EHA <i>Am</i> .....	57

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.-</b> Criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Federación Internacional de Diabetes (IDF) y la Federación Mexicana de Diabetes (FMD).	4
<b>Tabla 2.-</b> Índice de Masa Corporal	6
<b>Tabla 3.-</b> Criterios bioquímicos de laboratorio que se evalúan para el diagnóstico de la Diabetes tipo 2	20
<b>Tabla 4.-</b> Tratamiento farmacológico para la Diabetes tipo 2	21
<b>Tabla 5.-</b> Clasificación de la Hipertensión Arterial	23
<b>Tabla 6.-</b> Fármacos de primera elección para el tratamiento de la Hipertensión Arterial	24
<b>Tabla 7.-</b> Compuestos aislados de <i>Agastache mexicana</i>	29
<b>Tabla 8.-</b> Ubicación de los compuestos con actividad biológica en la planta <i>Agastache mexicana</i> .	31
<b>Tabla 9.-</b> Rendimiento del PP EHA $A_m$	47
<b>Tabla 10.-</b> Comparación de la eficacia y potencia del PP EHA $A_m$ en presencia y ausencia de endotelio y sus respectivos controles obtenidos en el ensayo ex vivo	54

## 1.- Resumen

La obesidad es una de las principales enfermedades a nivel mundial y un serio problema de salud pública en nuestro país. En el año 2014 según la OMS, más de 1,900 millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso, de los cuales, más de 600 millones eran obesos.

La obesidad es un padecimiento crónico de bajo grado que se presenta cuando existe un desequilibrio entre la energía ingerida y la energía gastada, lo que lleva a la acumulación de grasa en forma de triglicéridos en los adipocitos, provocando un estado de hipertrofia e hiperplasia. Esta enfermedad involucra un proceso inflamatorio y se asocia con el riesgo de padecer resistencia a la insulina, diabetes, hipertensión, dislipidemias, accidentes cerebrovasculares y cardiovasculares, entre otros.

Por lo que resulta de suma importancia trabajar en la búsqueda de alternativas terapéutica que traten de manera integral la obesidad y las enfermedades asociadas a esta. Una de las alternativas de vanguardia es enfocar dicha búsqueda a los productos naturales, como la especie *Agastache mexicana*, cuyos antecedentes etnomédicos señalan la presencia de moléculas bioactivas con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas, por lo que el presente estudio explora el efecto antihipertensivo, antidiabético y antihiperlipidémico del precipitado hidroalcohólico de *Agastache mexicana* (PP EHA $Am$ ) en un modelo murino de obesidad basado en la dieta de cafetería y en modelos murinos de diabetes e hipertensión.

Inicialmente se realizó la obtención del PP EHA $Am$  a partir del cual se realizaron todos los ensayos. La curva de tolerancia a la glucosa se realizaron en un modelo de dieta de cafetería con ratones macho de la cepa CD1 mientras que el ensayo antidiabético agudo se realizó en un modelo no insulino dependiente en ratones CD1 macho. El efecto vasorelajante fue determinado *ex vivo* en anillos de aorta de ratas Wistar macho, en presencia y ausencia de endotelio. Para los ensayos antihipertensivos se utilizaron ratas

macho de la cepa SHR. Finalmente, se determinó el efecto del PP EHA*Am* sobre la presión sistólica *in vivo* en ratas SHR macho.

El PP EHA*Am* mostró efecto antidiabético, antihipertensivo y vasorrelajante significativos, este último efecto es dependiente de la concentración y su mecanismo de acción es parcialmente dependiente de endotelio. Se demostró que este extracto también actúa como bloqueador de canales de Ca<sup>2+</sup> en músculo liso.

## 2.- Introducción

En la actualidad 7 de cada 10 adultos mayores de 20 años presentan obesidad, esta cifra representa un incremento del 1.3% en comparación con el año 2012 (ENSANUT, 2016). La obesidad se define como la acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo. Esta enfermedad es un estado de inflamación crónica de bajo grado, de origen multifactorial cuyas principales causas son la genética y el medio ambiente. Los pacientes que padecen obesidad presentan una alta probabilidad de desarrollar enfermedades como dislipidemia, hipertensión, diabetes tipo 2 y aterosclerosis; este conjunto de enfermedades se denomina síndrome metabólico (Artola, S., 2009; Salazar, A. M. et al., 2013; Acosta E., 2012).

Las enfermedades asociadas a la obesidad presentan un alto índice de mortalidad y generan altos costos al sector salud. El tratamiento para dichas enfermedades tiene como base la politerapia, que genera altos costos al paciente y falta de adherencia al tratamiento. Por estos motivos es importante el estudio de nuevas alternativas terapéuticas como los productos naturales.

Se ha seleccionado a la especie *Agastache mexicana* por los antecedentes etnomédicos y farmacológicos que reportan la obtención de moléculas bioactivas con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas, por lo que el precipitado del extracto hidroalcohólico de esta planta se evaluó en un modelo de obesidad en ratones CD1 macho y en dos modelos murinos con enfermedades relacionadas; diabetes tipo 2 e hipertensión y en modelos *in vitro* para evaluar su potencial efecto vasorrelajante (Hernández, O. et al., 2012; Hernández, O. et al., 2011; García, J. et al., 2016).

### 3.- Antecedentes

#### 3.1.- Síndrome metabólico

El síndrome metabólico o síndrome X está definido como una serie de desórdenes metabólicos, de los cuales, la obesidad es una de los más importantes ya que incrementa el riesgo de desarrollar a las demás anormalidades metabólicas implicadas, como: dislipidemias, hipertensión, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2, provocando finalmente diversas consecuencias tanto a nivel cardiovascular, inflamatorio y renal, entre otras (Lizarzaburu, 2013; Lizarzaburu, 2013; FMD, 2015; Castillo, et al., 2017).

##### 3.1.1.- Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico

Los criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico pueden variar de acuerdo a la definición oficial de las instituciones que los emiten. Por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que para ser diagnosticado con síndrome metabólico se deben presentar al menos dos de los factores que se muestran en la tabla 1, mientras que la Federación Internacional de Diabetes (IDF) establece que la obesidad es un factor que no debe faltar.

**Tabla 1.-** Criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Federación Internacional de Diabetes (IDF) y la Federación Mexicana de Diabetes (FMD).

	OMS	IDF	FMD
Triglicéridos $\geq$ 150 mg/dL	X	X	X
HDL < 35 mg/dL en varones y < 40 mg/dL en mujeres	X	X	X
Presión arterial > 140/90 mm Hg	X	X	X
Resistencia a la insulina (IR)	X		
Glucosa en ayuno > 100 mg/dL		X	
Glucosa 2 h: 140 mg/dL			
Obesidad abdominal		X	X
Índice de masa corporal elevado	X		
Microalbuminuria > 20 $\mu$ g/min	X		X

Ya que el síndrome metabólico involucra a un conjunto de desórdenes de distinta índole y debido a que en la actualidad no se cuenta con un fármaco con propiedades multitarget para poder abatir a cada una de las enfermedades que conforman este padecimiento, el tratamiento farmacológico solo puede ser cubierto utilizando un esquema de politerapia, es decir que cada una de las enfermedades que conforman el síndrome metabólico son actualmente atendidas por separado como se describe a continuación.

### **3.2.- Obesidad**

Actualmente el sobrepeso y la obesidad se reconocen como uno de los retos más importantes de la Salud Pública en el mundo, debido a su magnitud, la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejercen sobre la salud de la población que la padece (Dávila, 2014). En América Latina, más de 20% de niños de entre 0 y 19 años presentan sobrepeso u obesidad, cifra que asciende a aproximadamente 42.5 millones de niños (Shamah, 2018). En el 2016 ENSANUT dio a conocer que en México 3 de cada 10 niños de entre 5 y 11 años presentan sobrepeso u obesidad, 4 de cada 10 adolescentes de entre 12 y 19 años se encuentran en la misma situación, mientras que 7 de cada 10 de los adultos mayores de 20 años también presentan este padecimiento (ENSANUT 2016).

La obesidad se ha definido como un estado de inflamación crónica, es una enfermedad multifactorial caracterizada en gran parte por la acumulación anormal o excesiva de grasa en forma de triglicéridos en el tejido adiposo (TA) y está fuertemente asociada con un mayor riesgo de desarrollar trastornos metabólicos que incluyen dislipidemias, hiperglucemia, resistencia a la insulina e hipertensión al promover una respuesta inflamatoria sistémica (Acosta García E, 2012; Blancas, 2009).

### 3.2.1.- Criterio diagnóstico para la obesidad

El criterio de diagnóstico más utilizado para la obesidad y el sobrepeso es el índice de masa corporal (IMC), en el que se puede encontrar una correlación con la grasa corporal total (OMS, 2018).

El IMC se calcula dividiendo el peso corporal en kilogramos entre la altura en metros cuadrados:

$$\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$$

El resultado obtenido se deberá interpretar con ayuda de una tabla de datos como la que se encuentra a continuación (Tabla 2), la cual establece el grado de obesidad en el que se encuentra el paciente (OMS, 2018).

**Tabla 2.-** Índice de Masa Corporal (OMS, 2018)

IMC	< 18.5	18.5-24.9	25.0-29.9	≥ 30.0	≥ 30-34.9	≥ 35.0-39.9	≥ 40
	Bajo peso	Peso Normal	Sobrepeso	Obesidad	Obesidad Grado 1	Obesidad Grado 2	Obesidad Grado 3

Existen otras formas para diagnosticar la obesidad, como la medición de los pliegues cutáneos en diferentes sitios, con ecuaciones y nomogramas para la conversión del grosor del pliegue en grasa, resultados que se expresa como porcentaje de grasa corporal que debe ser no mayor de 28% en mujeres y no mayor del 20% en hombres. Por otro lado, la medida del índice cintura-cadera, nos brinda información sobre la cantidad de grasa intra-abdominal, este valor es considerado predictivo para el riesgo de alteraciones y consecuencias metabólicas de la obesidad, por ello su uso como diagnóstico de obesidad casi iguala en importancia al IMC. Otros de los métodos utilizados son la medición de la densidad corporal por isótopo-dilución, la conductividad eléctrica bajo el agua, la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética nuclear, estos métodos son directos y precisos, sin embargo, son complicados y costosos (Rodríguez, 2003).

### 3.2.2.- Tipos de tejido adiposo

El TA es un tejido endócrino que se encuentra distribuido en diferentes partes del organismo, secreta importantes moléculas relacionadas con distintos procesos fisiológicos y metabólicos, además de mantener el balance energético. El TA está constituido por un 50% de adipocitos y el resto por constituyentes vasculares, fibroblastos, células endoteliales, preadipocitos y macrófagos (Acosta, 2012).

El adipocito representa la unidad básica del TA y se encarga de almacenar el exceso de grasa en forma de triglicéridos en sus cuerpos lipídicos y liberarlos en situaciones de necesidad energética. Los adipocitos se originan a partir de células precursoras llamadas preadipocitos, que con ayuda de numerosas hormonas y otros mediadores sufren una diferenciación morfológica y funcional hasta convertirse en adipocitos maduros, proceso conocido como adipogénesis (Moreno *et al.*, 2002; Marcano *et al.*, 2006; Suárez *et al.*, 2017).

El TA se clasifica en dos tipos: el tejido adiposo pardo o marrón (TAP) y el tejido adiposo blanco (TAB), ambos presentan diferencias en su morfología, distribución, genes y función. El TAP participa en la regulación del metabolismo y en la termogénesis, se encuentra presente principalmente en la etapa neonatal en lactantes y niños, comienza a disminuir notoriamente después de las 8 semanas de vida dejando sólo pequeñas cantidades en ciertos sitios centrales e internos como: región axilar, subescapular, interescapular, entercostal, cervical e inguinal, para brindar calor principalmente a la sangre circulante dirigida a los órganos vitales. El TAP es caracterizado por poseer adipocitos multiloculares con abundantes mitocondrias con cantidades elevadas de proteína desacoplante 1 (UCP1), que le brindan el característico aspecto pardo junto a una alta capacidad oxidativa necesaria para la disipación energética conocida como termogénesis (Marcano, *et al.*, 2006; Moreno, *et al.*, 2002).

Por otro lado, se encuentra el TAB, este tejido está formado por adipocitos uniloculares que contienen mitocondrias. La formación del TAB comienza antes del nacimiento, la mayor expansión de este comienza rápidamente tras el nacimiento y

su desarrollo es un proceso continuo a lo largo de la vida del individuo. La principal función de este tejido es controlar la ingesta de energía y la distribución de la misma a otros tejidos en los períodos catabólicos. El TAB es un órgano endocrino encargado de secretar sustancias bioactivas, llamadas adipocitocinas. Estas sustancias bioactivas intervienen en la acción de la insulina, el metabolismo de la glucosa, la regulación energética y la regulación de la presión sanguínea. Cada una de las adipocitocinas tiene un papel fundamental para el mantenimiento de la homeostasis entre el metabolismo y el sistema inmunológico. Dichas citocinas son factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF $\alpha$ ), adiponectina, resistina, interleucinas como la IL6, IL1B, IL8, IL10, IL15, leptina, angiotensinógeno y el inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), entre otras (Miranda *et al.*, 2007; Blancas *et al.*, 2009; Izaloe *et al.*, 2015).

Una importante adipocitocina es la adiponectina, ésta regula el metabolismo energético del organismo, ya que estimula la oxidación de ácidos grasos, reduce los triglicéridos plasmáticos y mejora el metabolismo de la glucosa mediante un aumento de la sensibilidad a la insulina. Además, la adiponectina inhibe las fases iniciales de la aterosclerosis, ya que reduce la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales, la transformación de macrófagos en células espumosas, la expresión del TNF- $\alpha$  y la proliferación de células de tejido muscular liso. Otra adipocitocina importante es la leptina, esta circula en la sangre y actúa en el sistema nervioso central, regulando parte de la conducta alimenticia y el balance de la energía, se sabe que es secretada como respuesta a la alimentación para suprimir el apetito a través de una acción hipotalámica. La visfatina es otra de las adipocitocinas, esta molécula tiene una relación directa con la masa de tejido adiposo y también participa en la diferenciación de los linfocitos B.

Por último, una de las adipocitocinas importantes pro-inflamatorias es el TNF- $\alpha$  que es secretado en el sistema inmunitario por monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, células NK y por leucocitos polimorfonucleares. También puede ser secretado por otros tipos celulares como los adipocitos. El TNF- $\alpha$  tiene un amplio rango de efectos biológicos que incluyen inducción de apoptosis, citotoxicidad de células tumorales, activación y diferenciación de monocitos, inducción de la diferenciación de

precursores inmaduros a monocitos, aumento de la actividad antiparasitaria y bactericida de los macrófagos al inducir las vías del superóxido y del óxido nítrico, inducción de la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales favoreciendo la migración local de leucocitos, aumento del receptor de IL-2 en linfocitos T y por consiguiente aumento de la respuesta proliferativa a IL-2, aumento de la respuesta de los linfocitos B estimulados. Por otro lado, el TNF- $\alpha$  tiene efectos fisiopatológicos al ser secretado en grandes cantidades en enfermedades agudas y crónicas, sepsis, infecciones crónicas, inflamaciones crónicas y cáncer (Palomer, *et al.*, 2004; Almanza, *et al.*, 2008; Blancas, *et al.*, 2009; Ramírez, *et al.*, 2012).

En el TAB la energía es almacenada en las células grasas en forma de triglicéridos. La principal fuente de triglicéridos para los adipocitos procede de los quilomicrones y las VLDL circulantes. Los triglicéridos de estas lipoproteínas son hidrolizados hasta ácidos grasos libres y monoglicerol por la lipoproteína lipasa (LPL) que se encuentra en la pared de los capilares del TA. Estos ácidos grasos libres son captados por los adipocitos a través de procesos de transporte activo mediado por proteínas transportadoras específicas de ácidos grasos. Una vez dentro de la célula, los ácidos grasos son reesterificados para formar triglicéridos. Los ácidos grasos plasmáticos que se encuentran en circulación (unidos a albúmina) también puede ser captados por los adipocitos y reesterificarse a triglicéridos. El plasmalema de los adipocitos uniloculares posee receptores para varias sustancias como la hormona del crecimiento (somatotrófica), la insulina, glucocorticoides y noradrenalina que facilitan la captación y la liberación de ácidos grasos libres y glicerol. La acción hormonal se ejerce principalmente a través de la insulina, que permite la captación de glucosa por parte de los adipocitos (Marcano *et al.*, 2006; Moreno *et al.*, 2002; Suárez *et al.*, 2017).

### **3.2.3.- Distribución de los depósitos grasos**

El TA se encuentra distribuido en el cuerpo en dos grandes compartimientos el subcutáneo y el visceral, cada uno de estos compartimientos poseen características biológicas diferentes y aunque mantengan relaciones funcionales

bilaterales, su papel en la fisiopatología de las complicaciones derivadas de la obesidad es muy distinto. Existen numerosas diferencias entre los adipocitos del TAV y los del TAS. Clásicamente se ha considerado que los adipocitos del TAV poseen mayor actividad lipolítica que los del TAS (Marcano *et al.*, 2006).

Los depósitos subcutáneos de grasa abdominal están ubicados inmediatamente por debajo de la piel regional y comprenden alrededor del 80% de la grasa corporal total, los dos principales sitios de acumulación son las regiones femorales y glúteas, aunque también se sitúa en el compartimento subcutáneo abdominal (Salvador *et al.*, 2008).

La grasa visceral está contenida en la parte interna de las cavidades corporales, envolviendo órganos, sobre todo abdominales y está compuesta por la grasa mesentérica y la grasa de los epiplones. Una de las características más sobresalientes del TAV es su sensibilidad a estímulos lipolíticos y su relativa insensibilidad a señales antilipolíticas, que determinan secreciones tónicas de ácidos grasos libres hacia la circulación portal, estableciendo así el primer paso en una serie de eventos que desencadenan resistencia a la insulina, favorecen la producción de citocinas proinflamatorias como IL-6, TNF- $\alpha$  y PAI-1 y aumentan el flujo de ácidos grasos libres al hígado por vía portal.

En conclusión el incremento de ácidos grasos libres derivado del aumento en el tamaño y la actividad lipolítica en la grasa visceral parece ser responsable de las alteraciones metabólicas en el hígado, que conducen finalmente a hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, etc. (Godínez *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2002; Marcano *et al.*, 2006; Salvador *et al.*, 2008; Acosta, 2012; Izaloe *et al.*, 2015; Suárez *et al.*, 2017).

#### **3.2.4.- Tratamiento farmacológico para la obesidad**

La terapia farmacológica se indica en individuos con IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> o con alguna comorbilidad mayor como: diabetes tipo 2, hipertensión arterial, dislipemia, cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular, enfermedad respiratoria,

cáncer de endometrio, mama, próstata, colon, se puede utilizar con IMC inferiores, IMC >25 según la OMS o >27 según la American Association of Clinical Endocrinologists. En todos los casos, la farmacoterapia se debe utilizar como coadyuvante de un buen plan dietético que incluya la corrección de los malos hábitos alimentarios y la práctica regular de ejercicio físico.

El primer paso para el tratamiento de la obesidad en el adulto es mejorar los hábitos alimenticios aunado a un incremento de la actividad física, con el objetivo principal de disminuir la masa grasa del paciente obeso. El tratamiento farmacológico debe ser utilizado solo bajo supervisión médica estrecha y en el contexto de una estrategia de tratamiento a largo plazo.

Tratamiento farmacológico de la obesidad se clasifica según su mecanismo de acción en:

**Fármacos que reducen la ingesta de alimentos.** Estos fármacos incrementan la disponibilidad de neurotransmisores con actividad anorexigénica (serotonina, noradrenalina y dopamina) a nivel de sistema nervioso central, ya sea incrementando la liberación o inhibiendo la recaptura. Algunos ejemplos de estos fármacos son: fentermina, fenfluramida, dexfenfluramida, mazindol, fluoxetina, sibutramina, Paroxetina (Coyote *et al.*, 2008).

**Fármacos que incrementan el gasto energético.** Estos fármacos estimulan la termogénesis e induce pérdida de peso, un ejemplo es la efedrina. Este fármaco presenta efectos simpaticomiméticos y puede ocasionar efectos adversos, principalmente hemodinámicos y metabólicos (Cuevas *et al.*, 2005).

**Fármacos que afectan el metabolismo o la absorción de nutrientes.** Estos tienen efecto en la fase de pre absorción y son inhibidores del vaciamiento gástrico que incrementan la saciedad de forma directa o mediante la acción de hormonas intestinales como amilina o péptido similar a glucagón (Coyote *et al.*, 2008). Los fármacos de la fase absorptiva son inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas intestinales (maltasas, sacarasas, dextrinasas, glucoamilasas), presentes en las vellosidades intestinales, estas enzimas desdoblan la sacarosa, maltosa y otros

oligosacáridos en monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa), como la acarbosa. El resultado es una demora en la digestión de los hidratos de carbono con reducción de los picos glucémicos postprandiales, la dosis debe ser superior a la habitual para observar una pérdida de peso. Los inhibidores de la absorción de grasa como el Orlistat, es uno de los principales fármacos utilizado para la disminución del peso. Su mecanismo de acción se basa en la unión selectiva y covalente al lugar activo de las lipasas gastrointestinales (gástrica, pancreática y carboxilester) con escaso o nulo efecto sobre las demás enzimas digestivas (amilasa, tripsina, quimotripsina y fosfolipasas). De esta manera impide la hidrólisis y absorción de las grasas y no interfiere en la de los hidratos de carbono, las proteínas y los fosfolípidos (Caixas, 2000; Coyote *et al.*, 2008).

### **3.3.- Dislipidemias**

Las dislipidemias se caracteriza por un incremento de los niveles de triglicéridos totales y de triglicéridos unidos a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), descenso de los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), así como niveles aumentados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de colesterol (Panel Europeo de Expertos, 2015)

Las dislipidemias se clasifican en primarias y secundarias, el primer grupo lo constituyen trastornos caracterizados por defectos en las enzimas, receptores o metabolitos que participan en la síntesis y eliminación de las lipoproteínas, la más frecuente es la hipercolesterolemia familiar, seguida por hiperlipidemia familiar combinada, disbetalipoproteinemia e hipertrigliceridemia familiar. El segundo grupo incluye alteraciones en los lípidos como consecuencia de otras enfermedades: diabetes, hipotiroidismo, síndrome nefrótico y uso de algunos fármacos (García *et al.*, 2016; GPC, 2016).

### **3.3.1.- Criterios de diagnóstico para las dislipidemias**

Para el diagnóstico de dislipidemia es necesario medir los lípidos en sangre, los niveles de normalidad para colesterol total es menor de 200 mg/dl, triglicéridos menor de 150 mg/dl y C-HDL mayor de 40 mg/dl (NCEP, 2001). El C-LDL ha reemplazado al colesterol total, como medición primaria para evaluar el riesgo por lipoproteínas aterogénicas y permanece como la medición más usada con objetivo de tratamiento (GPC, 2016). El C-LDL, se calcula por la fórmula de Friedewald siempre que los niveles de triglicéridos se encuentren menores de 400 mg/dl:

$$\text{C- LDL} = \text{Colesterol total} - [\text{C-HDL} + (\text{triglicéridos} / 5)]$$

El objetivo en pacientes con muy alto riesgo cardiovascular es que el C-LDL sea <70 mg/dl; en alto riesgo cardiovascular <100 mg/dl y en moderado o bajo riesgo cardiovascular un C-LDL <115 mg/dl. No solo los niveles elevados de C-LDL incrementan el riesgo cardiovascular, también las lipoproteínas ricas en triglicéridos y remanentes de lipoproteínas son aterogénicas; por lo que se sugiere utilizar como alternativa a la medición del C-LDL, la medición de colesterol No-HDL (C-No HDL) como objetivo terapéutico. Dicho parámetro valora la cantidad total de colesterol no transportado en las HDL y se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\text{C-No HDL} = \text{Colesterol total} - \text{C-HDL}$$

En población de muy alto riesgo los objetivos de tratamiento basados en C-No HDL son <100 mg/dl, en alto riesgo <130 mg/dl y en moderado a bajo riesgo cardiovascular <145 mg/dl (GPC, 2016).

### **3.3.2.- Tratamiento farmacológico para las dislipidemias**

Las diversas estrategias de tratamiento para hipercolesterolemia disponible en la actualidad son: inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas), inhibidores de la absorción del colesterol (ezetimiba), secuestradores de Ácidos Biliares e inhibidores de la Proproteína Convertasa Subtilisina/Kexina tipo 9 (PCSK-9).

Las estatinas son el fármaco de elección para el tratamiento de las dislipidemias ya que reducen la síntesis de colesterol a nivel hepático por inhibición competitiva de la enzima Hidroximetil-glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa. La reducción de las concentraciones a nivel intracelular de colesterol induce la expresión del receptor LDL en la superficie del hepatocito, lo que resulta en disminución de las concentraciones del C-LDL circulante, apolipoproteína B (Apo B), incluyendo partículas de triglicéridos (GPC, 2016).

Las estatinas se clasifican con base a la capacidad de reducción del C-LDL en:

1. Alta intensidad: reducción del C-LDL mayor a 50%.

- Rosuvastatina
- Atorvastatina

2. Moderada intensidad: reducción del C-LDL de 30– 50%.

- Atorvastatina
- Rosuvastatina

3. Baja intensidad: reducción C-LDL menor de 30%.

- Simvastatina.
- Pravastatina
- Fluvastatina

Cuando el paciente no responde al tratamiento de elección se le agrega a la terapia ezetimiba para observar una disminución adicional de los niveles de C-LDL del 24%, con reducción del riesgo absoluto del 2% de eventos cardiovasculares fatal y no fatal a 6 meses de seguimiento (GPC, 2016).

La terapia con fibratos y niacina, son utilizados primordialmente para la disminución de triglicéridos e incremento de C-HDL. Su utilidad principal es la prevención de pancreatitis por hipertrigliceridemia. El uso de fibratos y niacina no se recomienda como monoterapia para prevención secundaria y manejo de hipercolesterolemia (GPC, 2016).

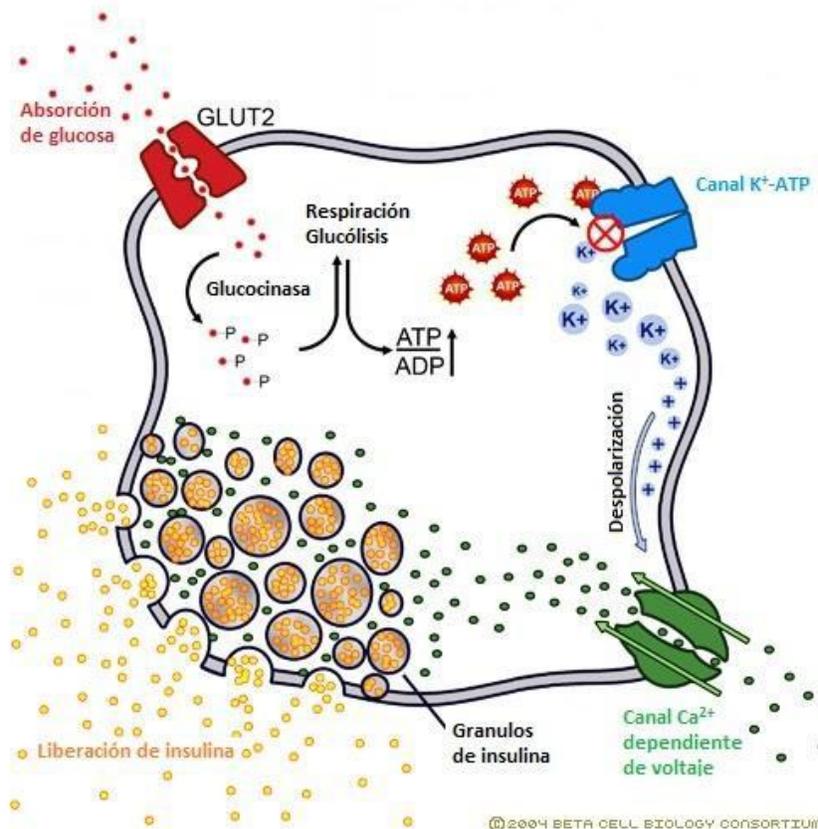
Los inhibidores de PCSK9 han sido estudiados en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota, intolerancia a estatina y en pacientes con muy alto riesgo cardiovascular, demostrando ser seguros y efectivos en la reducción del LDL y lipoproteína a (GPC, 2016).

### **3.4.- Insulina**

La insulina es una hormona polipeptídica producida y liberada por el páncreas, en las células  $\beta$ . La insulina es sintetizada como una preprohormona en las células- $\beta$  de los islotes de Langerhans en el páncreas, en respuesta a altas concentraciones de glucosa en la circulación sanguínea, formando primero preproinsulina, la cual una vez ubicada en el retículo endoplasmático rugoso (RER), se convierte en proinsulina (precursor de la insulina) formada por 3 segmentos correspondientes a las cadenas A, B y C; esta proinsulina viaja al aparato de golgi, en donde las enzimas proteolíticas, convertasa 1, 2 y la carboxipeptidasa, liberan la cadena C de la proinsulina, dejando únicamente a las cadenas A y B unidas por enlaces disulfuro, generando así la insulina. La insulina tiene un peso molecular de aproximadamente 6000 Da (Steiner, 1996) y su función principal regular el metabolismo de los carbohidratos, sin embargo, también cuenta con una importante participación en el metabolismo de lípidos y proteínas.

De manera general la insulina se libera a través del siguiente proceso (Figura 1):

- La glucosa es transportada al interior de las células  $\beta$  del páncreas por el transportador GLUT-2 ocasionando un aumento en la concentración intracelular de glucosa.
- La glucosa que se encuentra al interior de las células  $\beta$  entra a la glucólisis generando un aumento de ATP y provocando un bloqueo de canales de  $K^+$  dependientes de ATP, lo que genera un incremento de  $K^+$  intracelular que conlleva a la despolarización de la membrana generando la entrada de iones  $Ca^{2+}$  que desencadena la exocitosis de los gránulos que contienen insulina (Proks, 2004).

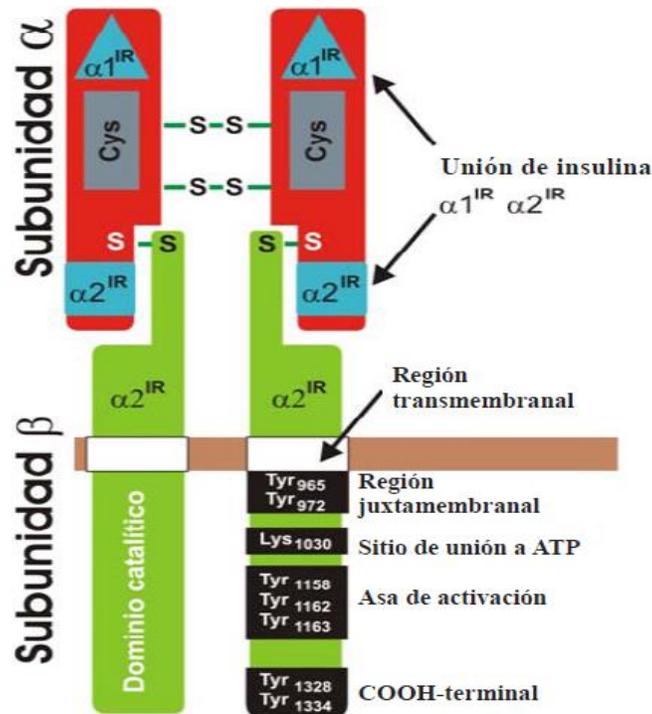


**Figura 1.-** Esquema general para la liberación de insulina. Modificada de Beta Cell Biology Consortium (2004).

Una vez sintetizada y lista para excretarse al haber altas concentraciones de glucosa, la insulina es liberada y viaja por el torrente sanguíneo hacia el tejido adiposo, hígado y músculo esquelético principalmente, uniéndose con su receptor de insulina, permitiendo la entrada de glucosa a la célula. La insulina lleva a cabo su acción biológica mediante la unión con su receptor (IR), este receptor se encuentra en la superficie celular y tienen una actividad de cinasas de tirosina intrínseca (Olivarez *et al.*, 2008).

El RI es un heterotetrámero de 2 sub-unidades extracelulares  $\alpha$  unidas por puentes disulfuro a 2 sub-unidades transmembrana  $\beta$  (Figura 2). La unión de 2 moléculas de insulina con las subunidades  $\alpha$  del receptor desencadena una cascada de señalización, primero se genera un cambio conformacional en el IR que

permite que se enlace una molécula de ATP a las sub-unidades  $\beta$ , en estas sub-unidades se localiza un dominio catalítico de tirocincinasa con un sitio de unión a ATP y sitios de fosforilación en tirosina que se localizan en las regiones yuxtamembranales, en el asa de activación (Tyr1158, Tyr1162, Tyr1163) y el carboxilo terminal, permitiendo así la fosforilación de residuos de Tyr de ciertas proteínas como el sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1), permitiendo un reconocimiento por el dominio SH2 de fosfatidil inositol 3-cinasa (PI3K), la cual convertirá al lípido de membrana fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP2) en fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), esta se asociará con una proteína intracelular, cinasa dependiente de fosfatidilinositol (PDK), permitiendo un cambio conformacional capaz de fosforilar a cinasa B (PKB/AKT) activándola, siendo ésta capaz de fosforilar residuos de serina o treonina de sus proteínas diana. La PKB o AKT activa es capaz de promover la translocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 que se encuentran en vesículas, desde el interior celular a la membrana plasmática favoreciendo la entrada de glucosa a la célula en tejido muscular y adiposo (Olivarez *et al.*, 2008; Mosso, 2015).



**Figura 2.-** Estructura del receptor de insulina (Olivarez *et al.*, 2008).

### **3.4.1.- Resistencia a la insulina**

Se define como resistencia a la insulina (RI) a la disminución de la acción de la insulina a nivel celular, lo que produce alteraciones en el metabolismo glucídico, lipídico y proteico (Pollak, 2016). La RI ocurre cuando la insulina al interactuar con su receptor, no puede desencadenar la cascada de señalización y por tanto no hay transporte de glucosa al interior de la célula, permaneciendo el estado de hiperglucemia. Este evento puede ocurrir por varias razones, pero frecuentemente es en respuesta a la hiperlipidemia y a los estados pro-inflamatorios asociados con la obesidad, mecanismos que no han sido esclarecidos de manera precisa (Olivarez *et al.*, 2008; Mosso, 2015).

### **3.4.2.- Criterios de diagnóstico para la resistencia a la insulina**

Este debe establecerse a través de la presencia de manifestaciones (clínicas y de laboratorio) de la condición dentro de las que se contemplan las siguientes:

- Obesidad abdominal: circunferencia abdominal  $\geq 90$  cm para hombres y  $\geq 80$  cm para mujeres.
- Hiperglicemia
- Hipertrigliceridemia: triglicéridos plasmáticos  $>150$  mg/dl.
- Colesterol HDL bajo:  $<40$  mg/dl en hombres y  $<50$  mg/dl en mujeres.

La presencia de obesidad abdominal junto a cualquiera de ellas, o bien la hiperglicemia sumada a una hipertrigliceridemia, tiene una excelente correlación con RI determinada por clamp euglicémico hiperinsulinémico, método de oro para el diagnóstico de la condición (Carrascon *et al.*, 2013; Pollak, 2016).

### **3.5.- Diabetes**

La diabetes es una enfermedad metabólica que se caracteriza por hiperglucemia, la cual es causada por ausencia de insulina o defectos en su

secreción y acción. La hiperglucemia crónica está asociada con daño, disfunción y falla de varios órganos (ADA, 2012).

### **3.5.1.- Tipos de diabetes**

**Diabetes tipo 1:** Este tipo de diabetes es caracterizada por una producción nula de insulina y para mantener los niveles controlados de glucosa es necesaria la administración diaria de esta hormona, por esta razón se le conoce como diabetes insulino-dependiente o juvenil, no se conoce su etiología pero implica la destrucción total de las células  $\beta$  del páncreas por procesos autoinmunes.

**Diabetes tipo 2:** Se denomina insulino-independiente debido a que existe presencia de insulina, pero esta es incapaz de generar su efecto o bien su secreción esta disminuida, generalmente se debe al estilo de vida sedentario, la obesidad y una alimentación rica en carbohidratos.

**Diabetes gestacional:** Este tipo de diabetes afecta a mujeres embarazadas con una incidencia de 3 a 10%, es caracterizada por hiperglucemia que se presenta como consecuencia de un proceso de resistencia a la insulina, probablemente debido al bloqueo de la insulina por hormonas producidas en la placenta (ADA, 2007).

**Diabetes tipo Mody y otros tipos de diabetes:** Este tipo de diabetes se asocia a defectos genéticos, inicia a edades temprana, generalmente por debajo de los 25 años, presenta una transmisión autosómica dominante y es no dependiente de insulina, al menos en los primeros 5 años después del diagnóstico, y se relaciona principalmente a defectos en la secreción de las células  $\beta$  pancreáticas.

### **3.5.2.- Diabetes tipo 2 (DT2)**

Es el tipo de diabetes más común, se presenta en un 90% de los casos a nivel mundial, se caracteriza por niveles elevados de glucosa en plasma con alteración en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como resultado del defecto de la secreción y acción de la insulina, relacionando también a la

etiología de la DT2, la obesidad, la dislipidemia, poca actividad física y la mala alimentación, afecta para desarrollar hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, entre otras (ADA,2019).

### 2.5.3.- Criterios de diagnóstico para la diabetes

Los criterios de diagnóstico contempla diversos factores de riesgo que favorecen el desarrollo de diabetes lo que permite identificar desde personas propensas hasta pacientes declaradamente diabéticos. Los factores de riesgo asociados a esta enfermedad son: antecedentes familiares con este padecimiento, poliuria (necesidad frecuente de orinar), polidipsia (sed excesiva) y polifagia (aumento del apetito), cansancio excesivo, IMC > 23 en mujeres y > 25 en los varones, además de obesidad abdominal. A partir de la presencia de estas características se realizan las pruebas clínicas, estas se encuentran basadas en la medición de glucosa, cómo se muestra en la Tabla 3 (ADA, 2019).

**Tabla 3.-** Criterios bioquímicos de laboratorio para el diagnóstico de diabetes tipo 2 (ADA, 2019).

Prueba:		Normal	Prediabetes	Diabetes
<b>Hemoglobina Glicosilada (A1C)</b>	Determina el valor promedio de la glucemia en las últimas 12 semanas.	< 5.6 %	5.7-6.4 %	≥ 6.5 %
<b>Glucosa Postprandial (GP)</b>	Nivel de glucosa capilar o plasmática, a cualquier hora del día.	< 139 mg/dL	140-199 mg/Dl	≥ 200 mg/dL
<b>Glucosa Plasmática en ayunas (FPG)</b>	Niveles de glucosa en sangre en ayunas	< 99 mg/dL	100-125 mg/Dl	≥ 126 mg/dL

### 3.5.4.- Tratamiento farmacológico para diabetes tipo 2

Cuando un paciente es diagnosticado con DT2, se inicia con tratamiento no farmacológico, este consiste en modificar el estilo de vida mediante una alimentación sana y ejercicio para intentar mantener los niveles normoglucémicos (normales), cuando esto no se logra se comienza con el tratamiento farmacológico, que de elección suele ser un fármaco del grupo de las biguanidas. Sin embargo, cuando el paciente deja de responder a la terapia asignada se le comienza a tratar con politerapia, es decir que al tratamiento asignado se suman otros grupos de fármacos utilizados para la DT2 como los que se describen en la tabla 4.

**Tabla 4.-** Tratamiento farmacológico para la Diabetes tipo 2 (Cruz, K., 2016).

<b>GRUPO DE FARMACOS</b>	<b>MECANISMO DE ACCIÓN</b>	<b>FÁRMACOS</b>
<b>SULFONILUREAS</b>	Actúan uniéndose a un receptor, provocando el cierre de los canales de K <sup>+</sup> sensibles a ATP lo que finalmente despolariza a la membrana, ocasionando una entrada de iones Ca <sup>2+</sup> que provoca la translocación de los gránulos de insulina y finalmente su secreción.	Glibenclamida Glimepirida Clorpropamida
<b>MEGLITIDINAS</b>	Actúan estimulando la secreción de insulina, por inhibición de los canales de K <sup>+</sup> dependientes de ATP de las células β-pancreáticas y requieren de glucosa para ejercer su acción.	Repaglinida Nateglinida
<b>INHIBIDORES DE LAS α-GLUCOSIDASAS</b>	Inhiben competitivamente a las enzimas α-glucosidasas intestinales (glucoamilasa, sacarasa, maltasa e isomaltasa) impidiendo que estas enzimas escindan sus substratos (oligosacáridos y disacáridos) en monosacáridos para su posterior absorción, ocasionando un retraso en la absorción de disacáridos y carbohidratos complejos, al evitar su desdoblamiento a monosacáridos más fácilmente absorbibles.	Acarbosa Miglitol
<b>BIGUANIDAS</b>	Actúan disminuyendo la producción hepática de glucosa e incrementando la captación de la misma por el músculo esquelético mediante la activación de la proteína adenosina monofosfatocinasa activada (AMPK) hepática y muscular, la cual a su vez inhibe la lipogénesis y activa la β-oxidación, lo que disminuye la gluconeogénesis y las concentraciones de glucagón en plasma.	Metformina
<b>INHIBIDORES DEL SGLT2</b>	Inhiben de manera reversible y selectiva el SGLT2, aumentando la excreción de glucosa, disminuyendo la glucemia basal y posprandial.	Dapagliflocina Remoglifocina Serglifocina
<b>TIAZOLIDINDIONAS</b>	Agonistas de los receptores PPARγ (receptor activado por el proliferador de peroxisomas gamma), mediante su activación llevan a cabo la reducción de la resistencia a la insulina y el aumento de la sensibilización de la insulina, fundamentalmente a nivel de tejidos periféricos (músculo esquelético y tejido adiposo), con un ligero efecto sobre tejido hepático, inhibiendo la gluconeogénesis.	Pioglitazona Rosiglitazona

### **3.6.- Hipertensión**

La hipertensión arterial (HTA) se puede definir como una elevación de la presión sanguínea sistólica y/ o diastólica por arriba de 130/80 mmHg (Moragrega, 2001; Gijón *et al.*, 2017). La prevalencia de la HTA varía enormemente incrementándose con la edad. Así por ejemplo, en países desarrollados y con una población de mayor edad, más de dos tercios de los adultos mayores padecen HTA, que es el principal factor de riesgo para enfermedad cerebrovascular e insuficiencia cardíaca (Tagle, 2017; Gijón *et al.*, 2017).

#### **3.6.1.- Tipos de hipertensión**

En la actualidad existen dos tipos de hipertensión: la hipertensión primaria o esencial y la hipertensión secundaria. La hipertensión primaria afecta al 90% de los pacientes y se considera idiopática y puede ser causada por factores de riesgo como: alteraciones en el sistema nervioso simpático, volumen sanguíneo, gasto cardíaco, resistencias arteriolas periféricas, sistema renina-angiotensina-aldosterona, sensibilidad al sodio, obesidad y resistencia a la insulina. Por otro lado, la hipertensión secundaria afecta aproximadamente el 10% de los pacientes que la padecen, si aparición se asocia con algunas patologías, como enfermedades renales (glomerulopatías), problemas vasculares y enfermedades tiroideas entre otras (**NOM-030-SSA2-2009**).

#### **3.6.2.- Clasificación de la presión arterial**

En noviembre del 2017, la *American Heart Association* y el *American College of Cardiology* emitieron nuevas guías de práctica clínica para la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la hipertensión en adultos (Tabla 5), esta nueva clasificación refleja el incremento de un 14% en la prevalencia de la hipertensión en Estados Unidos. En México, al extrapolar datos de ENSANUT 2006, es probable que la prevalencia de HTA con esta nueva clasificación también se incremente, estableciéndose alrededor de 46% (Rubio, 2018).

**Tabla 5.-** Clasificación de la hipertensión arterial (ACC, 2017; AHA, 2017)

CATEGORÍA	CIFRAS DE PRESIÓN ARTERIAL (mmHg)	
	Sistólica	Diastólica
Normal	< 120	<80
Elevada	120-129	<80
Hipertensión Estadio 1	130-139	80-89
Hipertensión Estadio 2	≥140	90

### 3.6.3.- Criterios de diagnóstico para la hipertensión arterial

Para diagnosticar hipertensión arterial sistémica, se puede utilizar la “determinación domiciliar de la tensión arterial” (realizada con mediciones secuenciales por paciente/familiar en domicilio) o utilizando “Monitorización Ambulatoria de la Presión arterial” (MAPA), de acuerdo a los siguientes parámetros diagnósticos (IMSS, 2017):

- Promedio de 24 horas  $\geq$  130/80 mmHg.
- Horas diurnas (en estado de despierto) promedio  $\geq$ 135/85 mmHg.
- Horas nocturnas (en estado de dormido) promedio  $\geq$ 120/70 mmHg.
- Promedio  $\geq$  135/85 mmHg en determinaciones domiciliarias repetitivas durante el día.

### 3.6.4.- Tratamiento farmacológico

Cuando el tratamiento no farmacológico (modificaciones en el estilo de vida: dieta balanceada y ejercicio) es insuficiente para controlar los niveles de presión arterial se recurre al tratamiento farmacológico, donde el grupo de fármacos de primera elección son los diuréticos tiazídicos, seguidos de bloqueadores de canales de  $Ca^{2+}$ , los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), y los antagonistas de los receptores de angiotensina II. Cuando los niveles de presión

arterial del paciente no son controlados con la monoterapia se agrega un fármaco de otro grupo como los que se encuentran en la tabla 6.

**Tabla 6.** - Fármacos de primera elección para el tratamiento de la Hipertensión Arterial (Favela et al., 2014; GPC, 2017)

<b>CLASE</b>	<b>FÁRMACO</b>	<b>EFEECTO FARMACOLÓGICO</b>
<b>Diuréticos</b> <b>Tiazidas</b>	Hydrochlorothiazida	Antagoniza al transportador de Na <sup>+</sup> /Cl <sup>-</sup> en el túbulo contorneado distal renal.
<b>Diureticos de asa</b>	Furosemida	Antagoniza al transportador de Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> /2Cl <sup>-</sup> renal en el aza de Henle
<b>Espironolactona/Eplerenona</b>		Antagoniza al receptor de aldosterona en el túbulo colector renal
<b>Beta-bloqueadores</b>	Metroprolol Propanolol	Antagonizan a receptores β <sub>1</sub>
<b>IECA</b> <b>(Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina)</b>	Captopril Enalapril	Disminuyen la resistencia periférica al inhibir la angiotensina II y disminuye el volumen sanguíneo al disminuir la secreción de aldosterona.
<b>ARA-II</b> <b>(Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II)</b>	Candesartán Losartán Telmisartán Valsartán	Antagonistas de los receptores AT <sub>1</sub> para angiotensina
<b>Bloqueadores de canales de Ca<sup>2+</sup></b> <b>(No Dihidropiridinicos)</b>	Diltiazem Verapamilo	Inhibe el flujo del Ca <sup>2+</sup> extracelular a través del bloqueo no selectivo de canales de Ca <sup>2+</sup> tipo L de la membrana celular
<b>Bloqueadores de canales de Ca<sup>2+</sup></b> <b>(Dihidropiridinicos)</b>	Nifedipina Amlodipina Felodipina Felodipina	Bloqueo de canales de Ca <sup>2+</sup>

### **3.7.- Obesidad como origen del síndrome metabólico y las enfermedades que lo conforman**

La obesidad se desarrolla por un desequilibrio entre la energía ingerida y la energía gastada. Cuando existe un balance positivo de energía, el excedente energético se acumula en el tejido adiposo subcutáneo en forma de triacilglicéridos. Cuando el tejido adiposo subcutáneo es incapaz de almacenar apropiadamente el exceso de energía o se ha rebasado el umbral de almacenamiento, aumentan los depósitos de grasa visceral (envolviendo órganos, sobre todo abdominales), este almacenamiento se manifiesta con el incremento de los lípidos intracelulares, aumento del tamaño de los adipocitos (hipertrofia) e incremento del número de adipocitos (hiperplasia), lo que se ve reflejado en un aumento del TAB.

El incremento de lípidos dentro del adipocito aunado a la hipertrofia e hiperplasia de estos, los lleva a presentar disfunción celular. El crecimiento excesivo de los adipocitos en la obesidad genera bloqueo de los vasos sanguíneos que irrigan al TA, esto provoca un estado de hipoxia y finalmente necrosis. La muerte celular de los adipocitos induce la transformación de los macrófagos M2 (secretores de adipocinas anti-inflamatorias) a macrófagos M1 (secretores de adipocitocinas pro-inflamatorias) en TA, estos macrófagos liberan citocinas (principalmente IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$ ) y quimiocinas pro-inflamatorias atrayendo a otras células del sistema inmune, provocando un descenso de adipocitocinas anti-inflamatorias tales como la adiponectina, que suprime la inhibición de la activación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), principal regulador de la transcripción de citoquinas pro-inflamatorias, como TNF- $\alpha$  e interferón gamma (IFN- $\gamma$ ). El incremento en la producción de NF- $\kappa$ B sobrepasa la capacidad funcional del RE provocando un estado de estrés al aumentar la síntesis de proteínas y de lípidos y conduce a la activación de la cinasa de c-jun NH<sub>2</sub>-terminal (JNK) y del inhibidor de la cinasa del NF- $\kappa$ B o IKK, estos a su vez retroalimentan la activación de NF- $\kappa$ B que suprime la actividad de adiponectina y de los transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT-4) (Miranda *et al.*, 2007; Blancas *et al.*, 2009 Izaloe *et al.*, 2015).

Varios estudios han implicado a la activación crónica de la vía proinflamatoria del NF- $\kappa$ B y de la cinasa aminoterminal c-Jun-1 (JNK1), con la resistencia a la

insulina. Estas vías de señalización molecular proinflamatoria regulan la fosforilación de proteínas y eventos de transcripción celular dando lugar a la producción elevada de citocinas proinflamatorias por los adipocitos, incluyendo TNF- $\alpha$ , IL6, leptina, resistina, quimiocinas como el MCP1 y otros mediadores proaterogénicos, como el PAI-1. Las moléculas de adhesión ICAM1 y VCAM1 y las moléculas quimioatrayentes que provienen de las células endoteliales en el tejido adiposo en expansión se unen a las integrinas y a los receptores de quimiocinas (CCR), respectivamente, en la superficie de los monocitos para reclutarlos hacia el tejido adiposo. Algunos estudios se han enfocado en la activación de estas vías en los tejidos blanco de la insulina (tejido adiposo, hígado y músculo) y han encontrado que varias cinasas de serina/treonina son activadas por estímulos inflamatorios o de estrés y contribuyen a la inhibición de la señalización de insulina, siendo las más relevantes la JNK, el inhibidor de NF- $\kappa$ B y PKC- $\theta$  (Bastarrachea *et al.*, 2007; Acosta, 2012; Sánchez *et al.*, 2014).

Todo este proceso inflamatorio, resaltando al TNF- $\alpha$ , la IL-6 y al aumento de ácidos grasos libres ocupan un importante rol en la fisiopatología de la RI, ya que la unión del TNF- $\alpha$  a sus receptores (p55 y p75) activa las cinasas de la familia IKK, que producen la fosforilación del inhibidor del factor nuclear- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) y activa a NF- $\kappa$ B, lo que promueve la fosforilación del sustrato del receptor de la insulina-1 (IRS-1) en el residuo de serina lo que impide su interacción con la sub-unidad  $\beta$  del receptor de insulina y bloquea la señalización de la insulina, lo que se refleja en la disminución de la expresión génica de los GLUT-4 y finalmente se traduce en el aumento de glucosa en sangre (hiperglucemia).

La secreción aumentada de citocinas y lípidos derivados de la grasa abdominal y sistémica alcanza la circulación portal y contribuye a la inflamación hepática y a la resistencia a la insulina en el hepatocito. Este incremento de lípidos como sustrato, es secundario al aumento de adiposidad corporal, y a su vez activa la respuesta inflamatoria en el hígado, con aumento asociado en la producción de citocinas y quimiocinas. Los mediadores proinflamatorios y proaterogénicos son producidos en el hepatocito. Al mismo tiempo, las células inmunes asociadas, incluyendo

monocitos y macrófagos son reclutados y activados causando resistencia local a la insulina y esteatosis en el hepatocito. Dicho proceso se une a la diátesis inflamatoria sistémica que ocurre desde el tejido adiposo y promueve aterogénesis vascular y resistencia a la insulina en el músculo esquelético y otros tejidos (Bastarrachea *et al.*, 2007; Acosta, 2012; Sánchez *et al.*, 2014).

Una importante consecuencia de la RI respecto al metabolismo lipídico es la pérdida del efecto supresor de la insulina sobre la movilización de la grasa del tejido adiposo. Como consecuencia de ello se produce un aumento del flujo de ácidos grasos libres (FFA) debido a la reducción de la supresión de la lipólisis. La falta de supresión de los FFA en el período posprandial como consecuencia de la disminución de actividad de la lipoproteinlipasa (LPL) y el aumento de los FFA plasmáticos a causa de un aumento de la lipólisis en los adipocitos. El patrón lipídico más frecuente en estos pacientes se caracteriza por hipertrigliceridemia, colesterol HDL bajo, colesterol LDL normal o levemente elevado con partículas pequeñas y densas más vulnerables a la oxidación. Adicionalmente, la hiperglicemia crónica provoca la glicación del colesterol LDL, lo que aumenta su aterogenicidad (mayor probabilidad de que se forme una placa de ateroma en las arterias y de origen a aterosclerosis). Por otro lado, la resistencia a la insulina también afecta a la producción de NO debido a que uno de los mecanismos para su generación depende de la insulina, por tanto, al haber una disminución del NO se genera un aumento de las moléculas de adhesión (ICAM, VCAM), provocando que los FFA que se encuentran en circulación se adhieran al vaso sanguíneo los macrófagos M2 localizados en el endotelio vascular detectan estos FFA y son transformados en macrófagos tipo M1. Los macrófagos M1 fagocitan a los FFA generando a las células espumosas, estas se adhieren al vaso sanguíneo provocando una disminución del lumen arterial. De esta manera existe la relación entre estas enfermedades que finalmente desarrollan el síndrome metabólico (Bastarrachea *et al.*, 2007; Acosta, 2012; Ramírez *et al.*, 2012; Sánchez *et al.*, 2014; Mosso, 2015).

### **3.8.- Importancia de las plantas medicinales**

En la actualidad, los pacientes buscan otras alternativas a los tratamientos farmacológicos que ya se tienen para enfermedades como las asociadas en el síndrome metabólico; por tal motivo, el uso de las plantas medicinales sigue siendo un pilar importante en la terapéutica. La Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad ha informado que el 85% de la medicina tradicional mundial utiliza la mezcla de diversas plantas como extractos, ungüentos, polvos, etc. para el tratamiento de sus padecimientos más comunes. México ha sido clasificado como el segundo lugar a nivel mundial en cuanto a riqueza de plantas medicinales, con un aproximado de 4,000 especies registradas con efecto terapéutico (Rodríguez *et al.*, 2015).

#### **3.8.1.- Agastache mexicana**

La especie *Agastache mexicana* pertenece a la familia de las *Lamiaceas herbáceas*, crece en bosques mixtos y de coníferas, alcanza una altura de 30 cm a 4 m de alto. Es conocida comúnmente como Tlalaueuetl, ahuehuate de la tierra (Náhuatl: México), toronjil mexicano (Castellano: Centro sur y occidente de México), toronjil morado (Castellano: México) y toronjil rojo (Castellano: Méxi). Se encuentra distribuida a lo largo de los estados de Michoacán, Puebla, Hidalgo, Estado de México (Ozumba) y Morelos (Tlanepantla, población Felipe Neri) (Santillán *et al.*, 2008; González *et al.*, 2015).

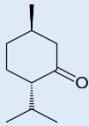
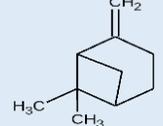
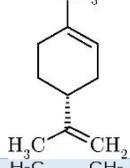
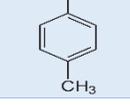
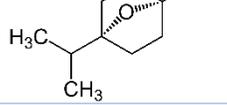
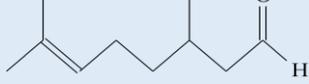
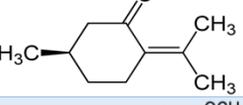
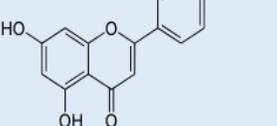
#### **3.8.2.- Antecedentes etnomédicos**

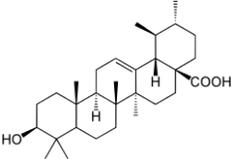
A la especie *Agastache mexicana* se le han atribuido diversos usos, entre los que destacan el control de los nervios, control de la presión arterial, alivio de enfermedades del corazón e insomnio y aminorar el dolor del estómago. También se ha utilizado para el tratamiento de la tos, el asma, la bronquitis, la pulmonía, la garraspera, la sinusitis, la ronquera, la tosferina y la gripe (Monroy, et al., 2007; Cruz, K., 2016).

### 3.8.3.- Antecedentes fitoquímicos de *Agastache mexicana*

Algunos de los compuestos que se han sido aislados de *A. mexicana* se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7.-** Compuestos aislados de *Agastache mexicana* (Zielińska y Matkowski, 2014; Aguirre *et al.*, 2006)

Compuestos aislados	Actividad biológica	Estructura
Mentona	Carminativo, estomacal, antiespasmódico	
Camfeno	Antiinflamatorio, antimicótico, analgésico, antiespasmódico.	
$\beta$ -Pineno	Antiespasmódico, carminativo, aperitivo, antiséptico, expectorante, diurético.	
Limoneno	Antiséptico urinario, antiespasmódico, carminativo, aperitivo, antiséptico, expectorante, eupéptico.	
p-Cimeno	Antiséptico, expectorante	
Cineol	Eupéptico, espasmolítico, aperitivo, colagogo, diurético.	
Citronelal	Carminativo, antiespasmódico.	
Pulegona	Antiséptico urinario.	
Flavonoides	Fortalecimiento de los capilares sanguíneos, mejoradores de las funciones de oxigenación de los tejidos, antiinflamatorios.	

Triterpenos	Antihipertensivo, antiaterosclerótico, antihiperlipidémico, cardiotónico, antioxidante, antidiabético.	
-------------	---	---

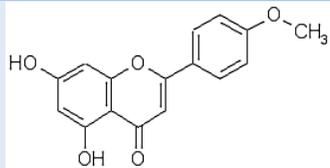
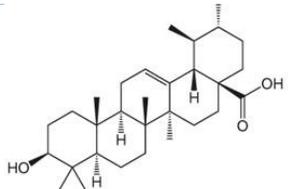
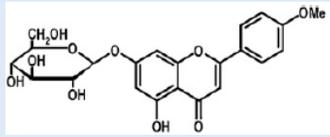
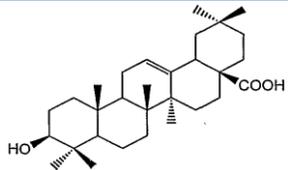
### 3.8.4.- Antecedentes farmacológicos de *Agastache mexicana*

Los efectos farmacológicos descritos para *A. mexicana* incluyen su acción como espasmolítico, antinociceptivo, antihipertensivo, antiaterosclerótico, vasorrelajante y antidiabético y se han relacionado con componentes identificados en la planta, como: acacetina, ácido ursólico, tilianina, ácido oleanólico, entre otros (Aguirre *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009, 2011, 2013; González *et al.*, 2012.; Ramírez *et al.*, 2014.), ya que dichos compuestos actúan bloqueando los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje e inducen la apertura de canal de  $K^+$ . El ácido ursólico, oleanólico y acacetina inducen la secreción de NO mediante la presencia del endotelio (Flores-Flores *et al.*, 2016).

En estudios previos de nuestro grupo de trabajo se estableció que el extracto hidroalcohólico de la planta *Agastache mexicana* y un precipitado obtenido del mismo mostraron efectos antihiperlipidémico, en una curva de tolerancia a la glucosa en ratones normoglucémicos CD1 y efecto vasorrelajante en anillos de aorta aislada de rata precontraídos con noradrenalina (NA) (Cruz K. C., 2016). En este sentido, los antecedentes sugieren que ambas muestras poseen potencial actividad antidiabética y antihipertensiva las cuales fueron exploradas en el presente proyecto. En dicho estudio se pudo establecer también que la mezcla de compuestos contiene tilianina y ácido ursólico (Cruz, K., 2016).

Los diferentes efectos farmacológicos establecidos para *A. mexicana*, las partes de las plantas estudiadas y algunos metabolitos secundarios responsables de dichas actividades se enlistan en la tabla 8.

**Tabla 8.-** Ubicación de los compuestos con actividad biológica en la planta *Agastache mexicana*. (Aguirre *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009, 2011, 2013; González *et al.*, 2012; Verano *et al.*, 2013; Ramírez *et al.*, 2014).

Parte de la planta	Principio activo	Actividad	Referencia
Inflorescencias	Ácido ursólico Acacetina	Espasmolítico antinociceptivo	
Partes aéreas	Ácido ursólico	Antinociceptivo Antihipertensivo Antiaterosclerótico	
Partes aéreas	Tilianina	Antihipertensivo Vasorrelajante Antidiabético	
Partes aéreas	Ácido oleanólico	Antiadiabético Antihipertensivo	

#### **4.- Justificación**

Como se describió en los antecedentes, la obesidad y enfermedades concomitantes como la hipertensión y la diabetes muestran un impacto importante a nivel mundial. En México la obesidad ocupa el primer lugar en la población infantil y el segundo en adultos, lo que ha provocado que la Secretaría de Salud emita alertas sanitarias con respecto a este padecimiento y las enfermedades relacionadas. Es por ello que la búsqueda de alternativas terapéuticas novedosas que traten de manera integral a la obesidad y a las enfermedades relacionadas como la diabetes, las dislipidemias y la hipertensión es una necesidad imperante en la actualidad. Por lo que el presente proyecto pretende determinar la eficacia terapéutica y la seguridad del precipitado del extracto hidroalcohólico de *A. Mexicana* (PP EHA $Am$ ) en un modelo de obesidad y enfermedades concomitantes provocado por una dieta de cafetería y modelos de diabetes e hipertensión.

## **5.- Hipótesis**

El PP EHA*Am* mostrará efectos antihipertensivo, antidiabético y antihiperlipidémico en un modelo murino de obesidad basado en la dieta de cafetería y en modelos murinos de diabetes e hipertensión.

## **6.- Objetivo general**

Determinar el efecto antihipertensivo, antidiabético y antihiperlipidémico del PP EHA*A*m en un modelo murino de obesidad basado en la dieta de cafetería y en modelos murinos de diabetes e hipertensión.

## 7.- Objetivos particulares

- Obtener el extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana*.
- Separar y caracterizar la mezcla de compuestos que precipita de manera espontánea del extracto hidroalcohólico.
- Determinar la eficacia antidiabética del PP EHA $A_m$  en el modelo de obesidad basado en la dieta de cafetería y en modelos de diabetes no insulino dependiente.
- Determinar el efecto antihiperlipidémico del PP EHA $A_m$  en el modelo de obesidad basado en la dieta de cafetería.
- Determinar el efecto antihipertensivo del PP EHA $A_m$  en el modelo de obesidad basado en la dieta de cafetería y en ratas SHR.
- Analizar los perfiles bioquímicos de los animales tratados con el PP EHA $A_m$  en el modelo de obesidad basado en la dieta de cafetería, posterior al tratamiento subagudo.
- Analizar la expresión de genes relacionados con la obesidad a nivel de ARN mensajero PPAR- $\gamma$ , GLUT 4 y adiponectina en células C2C12 (músculo esquelético).

## 8.- Metodología

### 8.1.- Recolección y preparación del material vegetal

La especie vegetal *Agastache mexicana* (Figura 3) que se utilizó en este estudio fue recolectada en el mes de junio del año 2014 e identificada taxonómicamente por la Dra. Irene Perea Arango del Centro de Investigaciones en Biotecnología (CEIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) con el número de voucher 26336.



Figura 3.- *Agastache mexicana*

### 8.2.- Obtención del precipitado del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana*

La planta recolectada se colocó al aire libre, en la sombra para su secado y a temperatura ambiente, una vez seca se fragmentaron todas las partes de la planta en un molino de cuchillas. Se pesaron 100 g del material vegetal y se realizaron macerados hidroalcohólicos (con una proporción de 70% etanol y 30% agua destilada), por triplicado durante 72 horas, posteriormente se filtró y se llevó a sequedad con ayuda de un rotaevaporador. Una vez hecho esto, se logró obtener el EHA<sub>Am</sub>.

Por otro lado, se realizó una segunda maceración de la cual precipitó de manera espontánea un sólido verde amorfo, que se filtró al vacío en un embudo Buchner, lo que permitió obtener el precipitado (PP EHA*Am*) seco, que posteriormente fue sometido a sucesivas cromatografías para separar los componentes de la mezcla de dicho precipitado.

### **8.3.- Uso y manejo de animales**

Los animales empleados en este proyecto fueron los siguientes: para los ensayos vasorrelajantes se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, para los ensayos antihipertensivos se utilizaron ratas macho de la cepa SHR, para los ensayos antidiabéticos y dieta de cafetería se utilizaron ratones macho de la cepa CD1. Dichos animales fueron tratados de acuerdo a lo establecido en la Norma de Regulación Federal para el Manejo y Experimentación de Animales emitida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Nom-062-ZOO-1999, 1999).

### **8.4.- Dieta de cafetería**

En el modelo de dieta de cafetería fueron utilizados dos grupos: el grupo Normal el cual tenía una dieta estándar y agua natural y el grupo dieta de cafetería con una alimentación hipercalórica (tabla 9) y agua con azúcar estándar (15%) se monitoreó durante 6 meses peso, consumo de calorías, consumo de agua, concentraciones de glucosas y se realizaron curvas de tolerancia cada mes para determinar la efectividad del modelo. Al finalizar los 6 meses el grupo de dieta de cafetería se dividió en 4 grupos: Control positivo (Metformina), Tratamientos (PP EHA*Am* y EHA*Am*) y vehículo (tween 80 al 10%).

**Tabla 9.-** Productos utilizados para la dieta de cafetería

<b>Fruit-loop Golden Foods ®</b>
<b>Chicharrón de cerdo Sabritas®</b>
<b>Crackets Gamesa®</b>
<b>Doritos nachos Sabritas®</b>
<b>Quesabritas Sabritas®</b>
<b>Papas onduladas ®</b>
<b>Galletas Oreo Gamesa®</b>
<b>Gansito</b>
<b>Ruffles de queso Sabritas®</b>
<b>Dálmata Marinela®</b>
<b>Carlos V blanco</b>
<b>Crunch Nestle®</b>
<b>Cremax de nieve Gamesa®</b>
<b>Bolitas de chocolate Golden Foods ®</b>
<b>Cheetos Puff ®</b>

#### **8.4.1.- Curva de tolerancia a la glucosa**

Para analizar el metabolismo de la glucosa a lo largo del modelo entre los diferentes grupos de animales, se procedió a realizar curvas de tolerancia a la glucosa cada mes, después de haber iniciado con la dieta de cafetería. Para ello, los ratones se dejaron 13 horas en ayuno. Se registró la glucosa basal ( $G_0$ ) previo a la administración por vía oral de dextrosa disuelta en agua destilada (2 g/Kg), después de la administración de dextrosa se registraron los niveles de glucosa a intervalos de tiempo 0.5, 1, 1.5, y 2 horas.

#### **8.4.2.- Determinación de presión arterial**

Se determinó la presión arterial sistólica, diastólica y media, así como la frecuencia cardíaca mediante un método no invasivo (tail-cuff), el cual consiste en inmovilizar al animal en una cámara de acrílico y colocar un mango con sensor en la arteria coccígea en la cola del ratón (Panlab s.l.u LE5007, Harvard Apparatus) y se comparan con los valores de presión de los animales normales. El método aplicado se basa en la técnica esfigmomanométrica utilizada para medir presión arterial en humanos. Como en el humano, el equipo está equipado con un mango

(cuff), que sirve para ocluir el paso de sangre, así como un transductor que sirve para seguir la evolución del pulso a lo largo de la medición. Se tomaron los promedios de 10 lecturas de presión para cada animal posterior a la administración del PP EHA*Am*.

#### **8.4.3.- Determinación del perfil bioquímico (glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL)**

Con el objetivo de analizar la presencia de hiperglicemia y /o dislipidemias al término del estudio (6 meses), se determinaron los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y HDL en suero, en todos los grupos.

La sangre se extrajo por punción cardíaca colocándola en tubos correctamente etiquetados marca Eppendorf sin anticoagulante, posteriormente, se centrifugaron a 3,500 rpm durante 10 minutos para obtener suero sanguíneo y así determinar los diferentes parámetros bioquímicos. Esta parte experimental se realizó en colaboración con la Dra. Natividad Sara García Jiménez, de la Facultad de Farmacia, los resultados fueron realizados en equipo automatizado COBAS C111 y reactivos ROCHE USA.

#### **8.5.- Curva de tolerancia a glucosa en ratones normoglucémicos**

Debido a que el modelo de dieta de cafetería no dio resultado se implementaron los modelos de diabetes e hipertensión por separado. El primer ensayo que se llevó a cabo fue la curva de tolerancia a glucosa para analizar los efectos del PP EHA*Am* y el EHA*Am* en el metabolismo del ratón.

Para determinar el efecto antihiper glucémico del PP EHA*Am* y del EHA*Am* (100 mg/Kg), se realizaron curvas de tolerancia a glucosa (CTG) en ratones normoglucémicos, los cuáles fueron separados para formar 4 grupos de experimentación. Posteriormente, los animales se ponen en ayuno previo de 13 horas y con libre acceso a agua. El día del ensayo, se pesaron los ratones para determinar la cantidad de muestra de prueba a administrar. Al primero y segundo grupo se les administró las muestras de prueba (PP EHA*Am* y EHA*Am*) a una dosis de 100 mg/kg, vía oral y se miden los niveles de glucosa capilar previo a la

administración de las muestras de prueba. El grupo control se administró con 0.1 mL/kg de una mezcla de tween 80, al 10% (vehículo) y el grupo control positivo se administró con una dosis de 5 mg/Kg de glibenclamida, 15 min después se administró una carga de glucosa a una dosis de 2 g/Kg de peso de cada animal. Posterior a la administración se miden los niveles de glucosa a los tiempos 0.5, 1, 1.5, 2 y 3 horas.

## **8.6.- Modelo no insulino-dependiente**

Después de la CTG el siguiente modelo que se realizó fue el antidiabético donde podemos observar el efecto del EHA<sub>Am</sub> y del PP EHA<sub>Am</sub> en animales con glucosas elevadas, simulando un paciente diabético tipo 2 y tener una idea del mecanismo de acción de dicho precipitado.

El modelo experimental de diabetes no insulino-dependiente se indujo en ratones macho (cepa CD1) sanos, con un ayuno previo de 16 horas. Para ello, se administró por vía intraperitoneal (i.p.) una dosis de 120 mg/Kg de estreptozotocina (STZ), la cual se disolvió en un buffer frío de citratos con un pH de 4.5, después de 15 minutos se administra nicotinamida disuelta en agua destilada a una dosis de 40 mg/Kg. Posterior a dos semanas, se midieron los niveles plasmáticos de glucosa, con un glucómetro portátil ACCU-CHECK® PERFORMA. Se utilizaron para el ensayo los ratones que presentaron niveles plasmáticos de glucosa mayores a 140 mg/dL.

### **8.6.1.- Antidiabético ensayo agudo**

En el modelo experimental de diabetes no insulino-independiente fueron considerados aquellos ratones cuya glucosa plasmática en ayuno fue mayor a 140 mg/dL después de dos semanas de la diabetización.

Evaluación aguda: Se midió la glucosa inicial de los animales previo al ayuno ( $G_0$ ). A continuación fueron administrados con 100 mg/Kg de los extractos a evaluar, glibenclamida (5 mg/kg) como control positivo y el vehículo (tween 80, al 10%). Posteriormente, se midió la glucosa a las 1, 3, 5 y 7 horas.

## 8.7.- Determinación del efecto vasorrelajante *ex vivo*

Por otro lado para evaluar la parte antihipertensiva del precipitado se inició con la determinación del efecto vasorrelajante de manera *ex viva*.

Las ratas macho de la cepa Wistar, con un peso entre 250 y 300 g., fueron sacrificadas con éter etílico para posteriormente realizar la disección, para llevar a cabo el aislamiento de la aorta, a la que posteriormente se le retiró el tejido adiposo y conectivo. Teniendo la aorta limpia, se cortó en 6 segmentos de aproximadamente 3 mm. Para los ensayos que si lo requirieron, el endotelio fue removido de manera mecánica con ayuda de un estilete (Figura 4).



**Figura 4.-** *Disección y obtención de anillos de aorta*

Estos anillos se colocaron en una cámara de incubación (Figura 5) donde se mantuvieron bajo condiciones fisiológicas a una temperatura de 37.5°C, burbujeo constante de una mezcla gaseosa de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95:5), pH de 7.4 y con 10 mL de una solución de Krebs (118 mM NaCl, 4.7 Mm KCl, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.026 mM EDTA, 11.1 mM glucosa, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>).



**Figura 5.-** *Cámara de incubación*

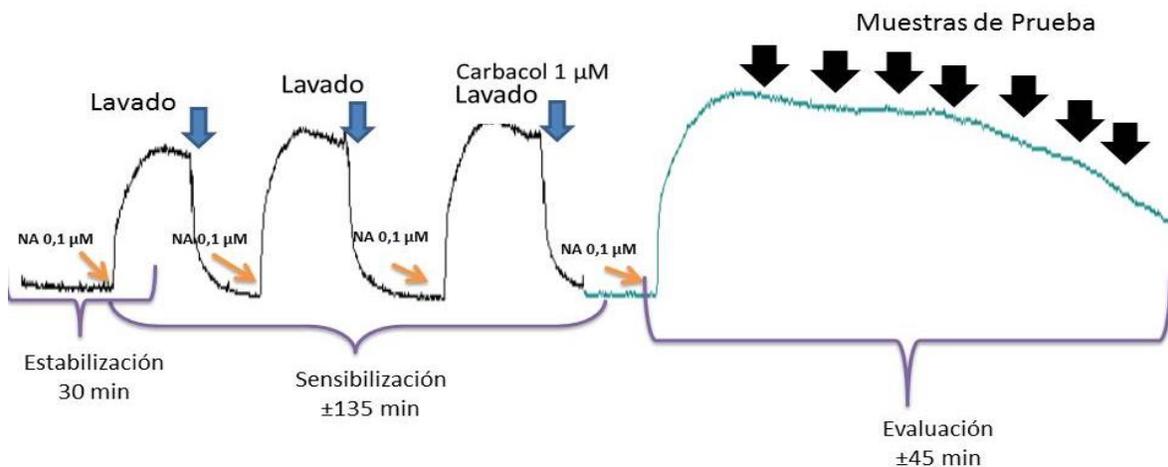
Una vez colocados los segmentos de tejido a estudiar en las condiciones fisiológicas, los anillos se sometieron a una tensión basal de 3 g durante 30 minutos mediante un transductor de fuerza isométrico modelo Grass FR03 (Figura 6).



**Figura 6.-** Transductor de fuerza isométrico modelo Grass FT03

Previo al ensayo con el extracto y el precipitado, el tejido pasó por un proceso de sensibilización (Figura 7) el cual consistió en la estimulación de la contracción por 3 veces con NA a  $0.1 \mu\text{M}$  en intervalos de 30 minutos, entre cada estímulo el tejido se lavó con la solución Krebs. Se utilizó carbacol ( $1 \mu\text{M}$ ) en la última sensibilización con NA para observar la presencia o ausencia de endotelio en los anillos de aorta.

Seguido de la sensibilización del tejido, se realizó el ensayo de vasorrelajación con el PP EHA $m$  y el EHA $m$ . Para ello, una vez más los anillos de aorta fueron contraídos con NA ( $0.1 \mu\text{M}$ ) y una vez que se alcanzó la contracción máxima constante se agregaron las diluciones del extracto (de la más diluida a la más concentrada) cada 3 minutos (Figura 7). Finalmente el efecto vasorrelajante se determinó debido a la comparación de la magnitud de la contracción antes y después de agregar las diferentes concentraciones de las muestras de prueba. Posteriormente, se realizaron curvas concentración-respuesta, esto se llevó a cabo empleando los programas Acknowledge® (BIOPAC®, CO., USA) y Origin Pro 8.0®.

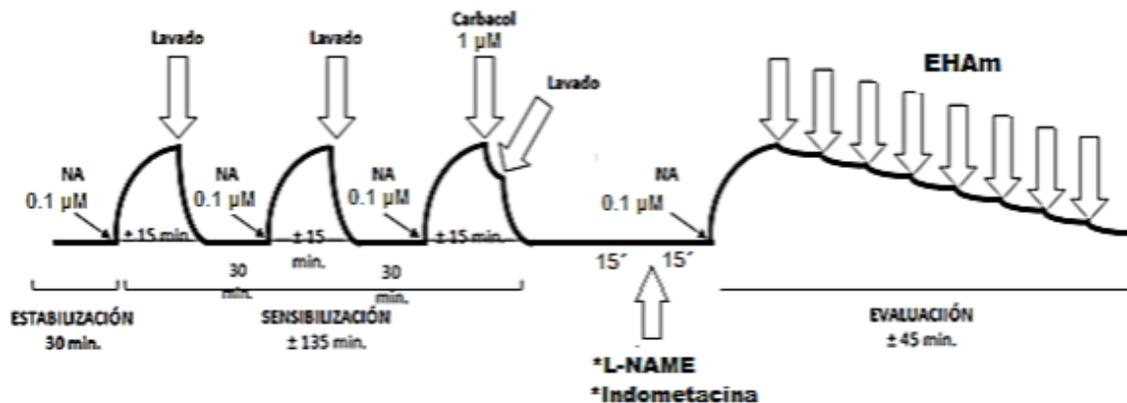


**Figura 7.-** Proceso de sensibilización de los anillos de aorta

### 8.7.1.- Mecanismo de acción dependiente de endotelio

Se realizó la determinación del mecanismo de acción con el PP EHA $Am$  ya que presentó una mejor actividad en el ensayo *ex vivo* y en los ensayos antihiper glucémico y antidiabético, por esta razón se descartó al EHA $Am$  de los siguientes experimentos.

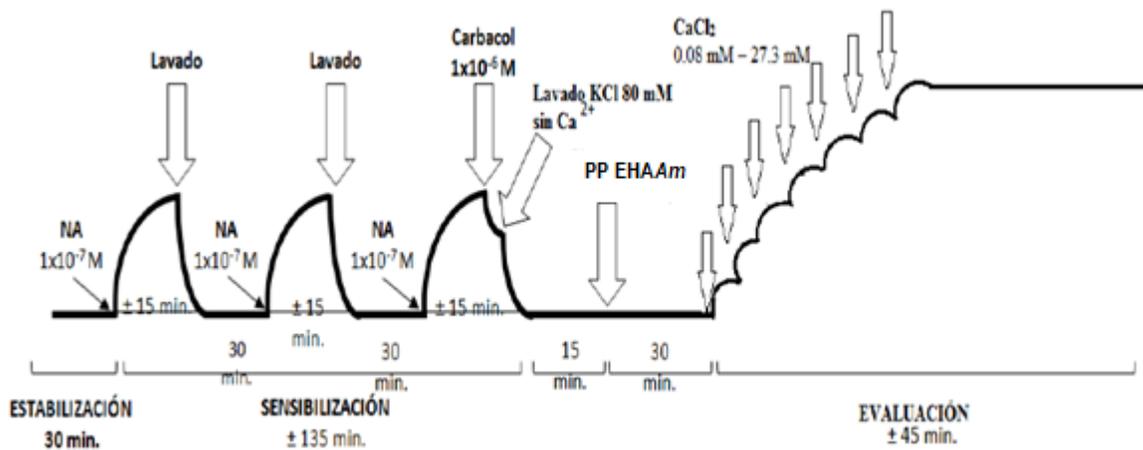
Para llevar a cabo el mecanismo de acción se siguió la metodología descrita en el número 7.8, después se realizaron 2 experimentos, donde los anillos de aorta con endotelio fueron preincubados durante 15 minutos con los inhibidores, L-NAME (10  $\mu M$ ) un inhibidor inespecífico de la óxido nítrico sintasa (Vlkovicova et al., 2008) e indometacina inhibidor de la ciclooxigenasa COX (10  $\mu M$ ) (Carregaro et al., 2008). Posteriormente, el tejido se contrajo con NA (0.1  $\mu M$ ) y se agregaron las concentraciones de prueba del PP EHA $Am$  como se muestra en la figura 8.



**Figura 8.-** Determinación del mecanismo de acción del PP EHAAm, preincubados con L-NAME (10 μM) e Indometacina (10 μM) en anillos de aorta de rata.

### 8.7.2.- Determinación vasorrelajante del PP EHAAm sobre el efecto contráctil de CaCl<sub>2</sub> en anillos de aorta de rata sin endotelio

Con la finalidad de conocer si el efecto relajante del compuesto era producido mediante el impedimento del influjo de Ca<sup>2+</sup> hacia las células del músculo liso, después del periodo de equilibrio y sensibilización los anillos de aorta fueron lavados con solución de Krebs 80 mM sin calcio durante 15 minutos y posteriormente se agregó CaCl<sub>2</sub> (80 μM a 27 mM) de forma acumulativa a la cámara de incubación con el objetivo de construir una curva control concentración-respuesta. De forma similar, pero en distintos anillos de aorta, se incubaron durante 15 minutos las muestras de prueba (PP EHAAm) y posteriormente se agregó CaCl<sub>2</sub> (80 μM a 27 mM). Finalmente, se comparó el efecto contráctil de CaCl<sub>2</sub> en ausencia y presencia del compuesto (Figura 9).



**Figura 9.-** Influencia de la actividad vasorrelajante de las muestras de prueba sobre el efecto contráctil de  $\text{CaCl}_2$ .

### 8.8.- Modelo antihipertensivo agudo

Debido a los excelentes resultados del efecto vasorrelajante se decidió realizar la prueba de manera *in vivo* en el modelo antihipertensivo agudo. Para la evaluación del efecto antihipertensivo agudo del PP EHAAM se formaron dos grupos de experimentación con ratas de la cepa SHR, un grupo fue administrado por vía intragástrica con el vehículo (tween 80 al 10%) y el segundo grupo se le administró el PP EHAAM (100 mg/Kg). Se tomaron los registros a la hora 0, 1, 3, 5 y 7 de la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y frecuencia cardíaca (FC) de ambos grupos con un pletistómetro LE 5001 (Figura 10), HARVARD APPARATUS®, LE programa Chart V4.2 de Powerlab ADInstruments® (Hernández et al., 2013).



**Figura 10.-** Determinación del efecto antihipertensivo agudo del EHAAM en un modelo *in vivo* en ratas SHR.

## 9.- Resultados y discusión

### 9.1.- Rendimiento

La especie medicinal *Agastache mexicana* es una planta que es utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades metabólicas, psicológicas y respiratorias, entre otras. Esta planta, que es conocida en la medicina tradicional como toronjil, es una fuente importante de entidades químicas con diversas propiedades farmacológicas dentro de las que destacan los ácidos ursólico y oleanólico, acacetina, apigenina (Flores et al., 2016) y tilianina (Hernández et al., 2009; García et al., 2016). En nuestro grupo de trabajo se demostró que esta especie medicinal muestra actividad antihipertensiva en modelos *ex vivo* e *in vivo* (Hernández et al., 2009; 2013; Flores et al., 2016). De manera adicional, los ácidos ursólico y oleanólico junto con la tilianina, obtenidos de *A. mexicana*, han mostrado efectos antidiabético, antihipertensivo y antidislipidémico en modelos animales diversos (Ramírez et al., 2011; García et al., 2016). Por este motivo, en el presente proyecto se decidió determinar el efecto del extracto hidroalcohólico, y el precipitado obtenido del mismo, en un modelo animal de obesidad con dieta de cafetería (dieta hipercalórica) para poder establecer si las muestras de prueba son capaces de controlar los niveles plasmáticos de glucosa, la presión arterial, las dislipidemias y las alteraciones metabólicas y proinflamatorias comunes en los pacientes obesos. De manera adicional, se pretendía establecer la capacidad de dichas muestras para prevenir o revertir la resistencia a la insulina generada.

En este contexto, los modelos animales de obesidad o sobrepeso con dieta de cafetería alteran de manera significativa los niveles de triglicéridos en plasma, colesterol total, HDL, los niveles de glucosa, LDL, entre otras. Todo este desequilibrio comienza a verse reflejado en el desarrollo de diversos daños metabólicos como: la resistencia a la insulina, esteatosis hepática, dislipidemias, altos niveles de presión arterial, aumento de tejido adiposo, aterosclerosis, así como la presencia de citocinas pro-inflamatorias. Se pretende que estos desequilibrios metabólicos presentados en el modelo de obesidad en ratones, se asemeje al proceso que sufren los humanos al padecer obesidad y sus alteraciones

subsecuentes para poder probar diversos compuestos que sean multitarget para las diversos blancos donde se deba general un efecto (Tapp et al., L 2010; Sampey et al., 2011, Fuentes, 2016).

Así, en primer término se realizó el macerado hidroalcohólico de *Agastache mexicana* donde se encontró y separó el precipitado (PP EHA<sub>Am</sub>), una vez obtenido el PP EHA<sub>Am</sub> se realizaron los cálculos correspondientes para saber su rendimiento respecto al total de la planta utilizada, según como se reportó en estudios previos (Cruz, 2016). Como se observa en la tabla 10, el rendimiento para el PP EHA<sub>Am</sub> obtenido de 2 Kg de planta fue del 0.73%.

**Tabla 10.-** Rendimiento del PP EHA<sub>Am</sub>

<b>Planta Agastache mexicana</b>	<b>2000 g</b>
<b>Precipitado del extracto hidroalcohólico de Agastache mexicana EHA<sub>Am</sub></b>	<b>0.7327 %</b>

## **9.2.- Dieta de cafetería.**

Al realizar el experimento de la dieta de cafetería se realizaron evaluaciones constantes durante el periodo de dieta de cafetería y realizar la comparación con un grupo de dieta estándar esto con la finalidad de monitorear la efectividad del modelo.

Se realizó el cálculo de las calorías consumidas de los grupos de dieta estándar y DCF, donde se observa que en el primer mes el grupo normal presenta 782.66 calorías por encima del consumo de los ratones con dieta de cafetería, en los siguientes meses no hay diferencia significativa del consumo entre ellos (Figura 11).

Por otro lado, se determinó el consumo de agua entre los animales con dieta estándar (agua de garrafón) y los de dieta de cafetería (agua con sacarosa), en la figura 12 se muestra la misma tendencia de consumo de agua entre estos dos grupos durante los 6 meses.

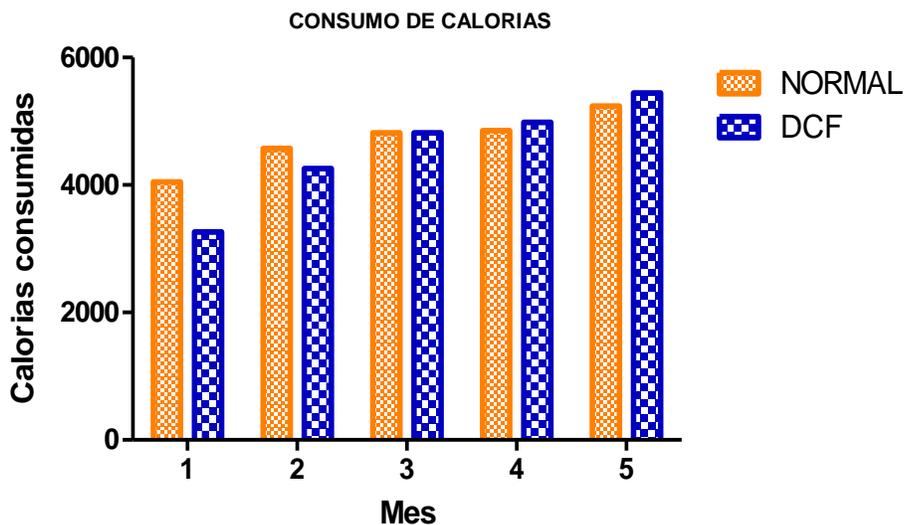


Figura 11.- Consumo de calorías de cada mes, comparando el grupo normal y el grupo dieta de cafetería Anova de dos vías, post-hok Bonferroni \*  $p < 0.01$ .

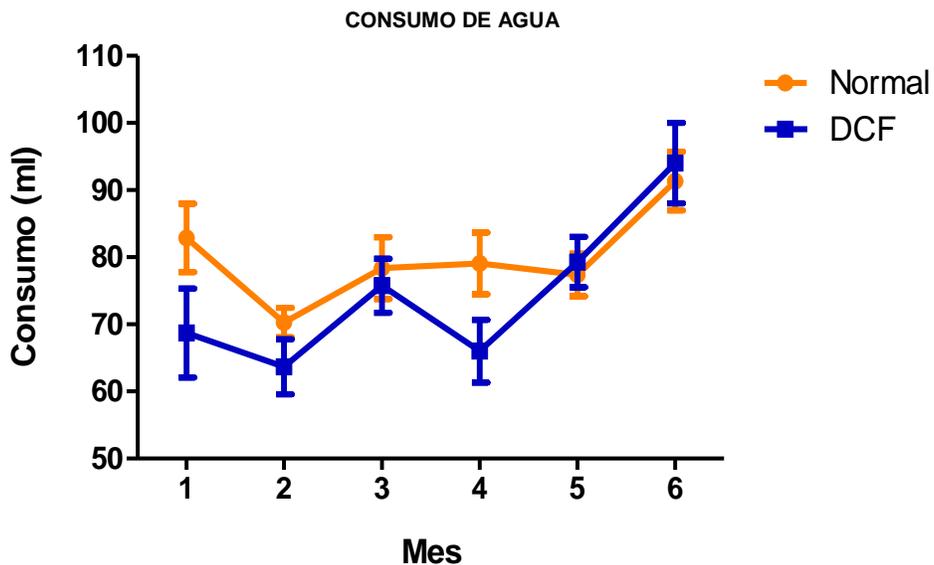
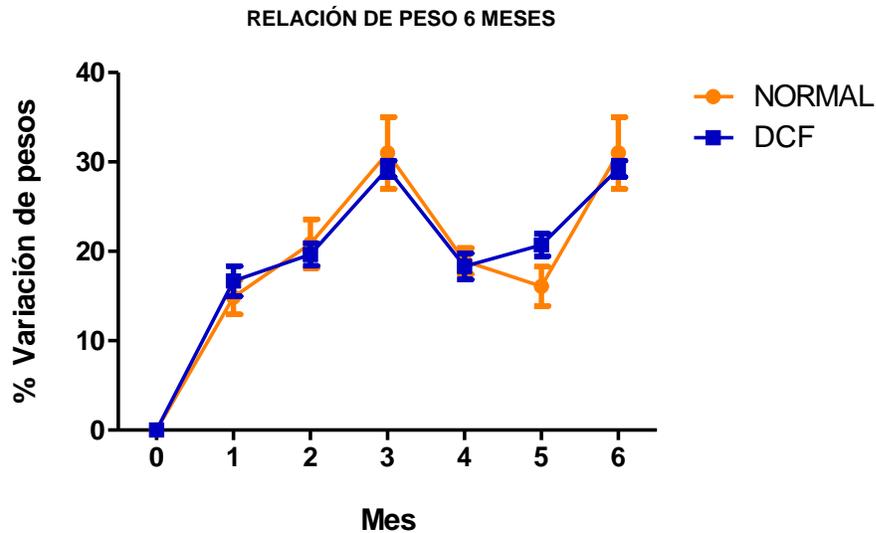


Figura 12.- Consumo de agua durante 6 meses, comparando el grupo normal y el grupo dieta de cafetería. Anova de dos vías, post-hok Bonferroni \*  $p < 0.01$ .

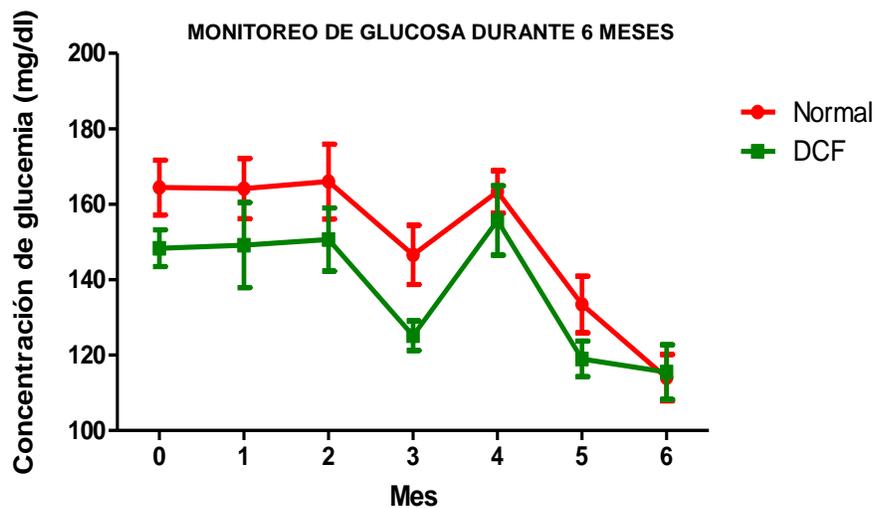
Por último, se determinó el % de variación de peso de los grupos de dieta estándar y de dieta de cafetería (Figura 13), donde se tiene como resultado que durante los 6 meses transcurridos con las diferentes dietas no se observa ninguna diferencia significativa, esto se encuentra estrechamente relacionado con el

consumo de calorías, ya que sus consumos no presentan una variación notable entre ellos.



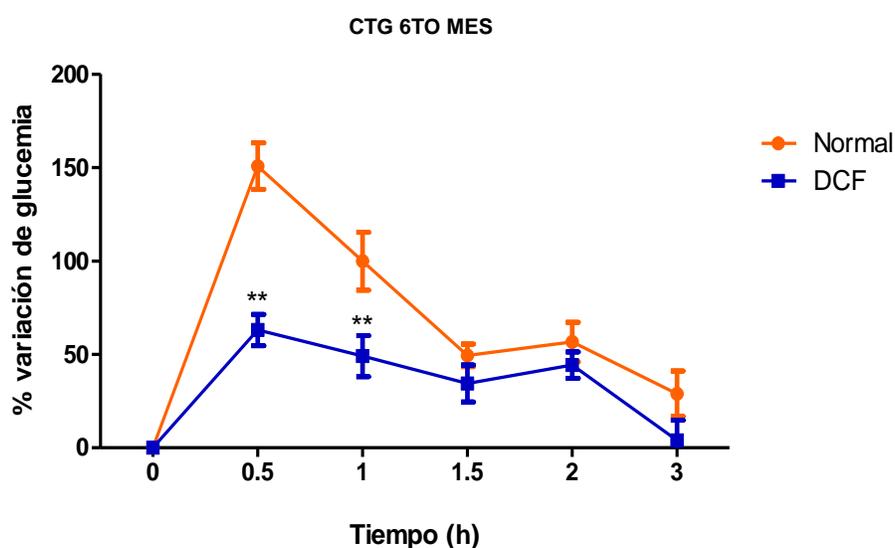
**Figura 13.-** Relación del porcentaje de variación del peso durante 6 meses del modelo. Anova de dos vías, post-hok Bonferroni \*  $p < 0.001$

Se graficó la concentración de glucemia postprandial del grupo de dieta estándar y de dieta de cafetería de cada mes durante los 6 meses, en esta gráfica nos indica que no existe diferencia significativa entre estos dos grupos (Figura 14).



**Figura 14.-** Monitoreo de glucosa durante 6 meses. Anova de dos vías, post-hok Bonferroni \*  $p < 0.001$

Una vez concluidos los 6 meses, se decidió realizar una curva de tolerancia a glucosa (CTG) para observar el comportamiento del metabolismo de glucosa comparando el grupo normal y el grupo de dieta de cafetería, en esta CTG que se muestra en la figura 15, donde se observa que el grupo de dieta estándar tuvo un pico hiperglicémico mayor que el grupo DCF y esta diferencia significativa la encontramos desde la media hora hasta la hora. Esto nos podría indicar que el metabolismo del grupo de dieta de cafetería se está viendo afectado por la dieta consumida y quizá se esté dando el proceso de hiperinsulinemia por esta razón no se está permitiendo llegar al pico hiperglicémico.



**Figura 15.-** Curva de tolerancia a glucosa del sexto mes. Anova de dos vías, post-hok Bonferroni \*  $p < 0.01$ .

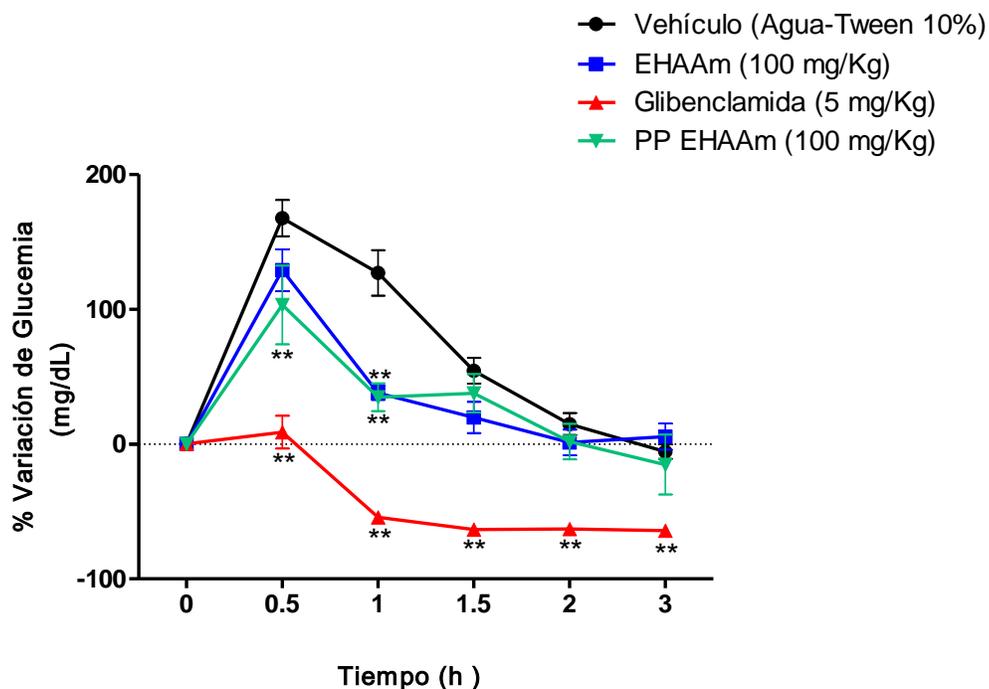
Como se desprende de los resultados mostrados anteriormente, el modelo de obesidad inducido por dieta de cafetería en ratones CD1 que se pretendió establecer no resultó, ya que no mostró un aumento de peso con diferencia significativa con respecto al grupo que recibió dieta estándar, tampoco consumieron más calorías, cambiaron los valores del perfil bioquímico en sangre, no se alteró la presión arterial y tampoco hubieron cambios en las curvas de tolerancia a la glucosa entre ellos. Esto puede estar relacionado con el tipo de roedor y la cepa utilizada, ya que los ratones tienden a tener mayor resistencia ante el daño inducido por la

dieta hipercalórica, o que posiblemente los tiempos que se utilizaron para inducir el daño metabólico no fueron los suficientes (Ayala, et al., 2008 ).

En este sentido, decidimos determinar los efecto antihiperглиcémico y antidiabético agudo, así como el efecto vasorrelajante y el mecanismo de acción y finalmente la actividad antihipertensiva en modelos animales *ex vivo* e *in vivo* del precipitado obtenido del extracto hidroalcohólico de *A. mexicana*.

### **9.3.- Curva de tolerancia a glucosa en ratones normoglicémicos**

En la figura 16 se observa que el precipitado obtenido a partir del extracto hidroalcohólico de *A. mexicana* (PP EHA $Am$ ) mostró un efecto antihiperглиcémico a la media hora y a la hora posterior a la administración de glucosa, disminuyendo de manera significativa ( $p < 0.01$ ) el pico hiperглиcémico y comparado con el vehículo utilizado, lo que sugiere que los componentes del extracto podrían estar bloqueando el transporte de glucosa del intestino al torrente sanguíneo ya sea a través del bloqueo del Glut-2 o a través del bloqueo de la bomba sodio glucosa . Por otro lado, el EHA $Am$  mostró un disminución significativa del área bajo la curva ( $p < 0.01$ ), especialmente posterior a la hora de la administración, y el efecto fue similar al mostrado por el precipitado, evidenciando la participación de mecanismos extrapancreáticos relacionados con la estimulación de la acción de la insulina.

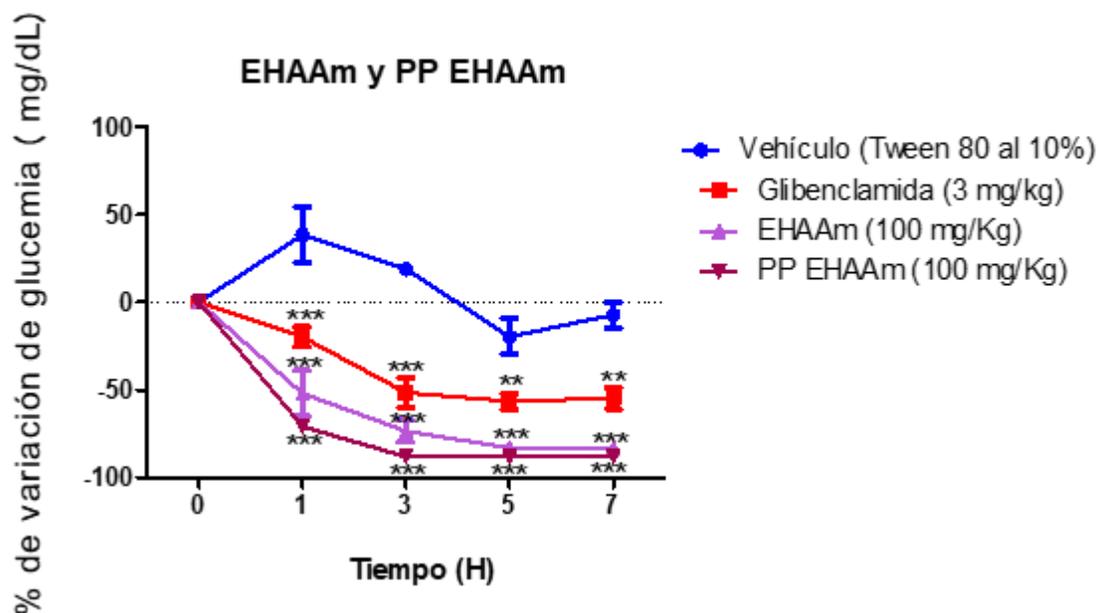


**Figura 16.-** Comparación del efecto antihiper glucémico del EHAAM y el PP EHAAM con el control positivo (glibenclamida) y el vehículo. \*\* p<0.01 vs vehículo.

#### 9.4.- Antidiabético ensayo agudo

Con base en que tanto el extracto hidroalcohólico y el precipitado mostraron un efecto antihiper glucémico significativo y un potencial efecto sensibilizador de la función de la insulina, se decidió determinar el efecto antidiabético en el modelo de ratón diabetizado con STZ-nicotinamida (Ramírez et al 2011; Chávez et al 2018). En la figura 17 se muestra el efecto antidiabético del EHAAM y su PP EHAAM, EHAAM tiene una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el vehículo, y se observó un efecto mayor al que muestra glibenclamida (utilizada como control positivo) desde la primera hora y durante todo el experimento, y aunque ambas muestras de prueba resultaron similares en su efecto, el PP EHAAM mostró mayor efecto que el extracto. Esta actividad abona información acerca del efecto antidiabético producido por una potencial sensibilización de la función de la insulina, posiblemente mediado por la activación de PPAR $\gamma$  y que consecuentemente favorece la translocación del Glut-4 en tejido adiposo y músculo

(Chávez et al., 2018), o probablemente a través de la inhibición de PTP-1B (Ramírez et al., 2011), o quizá relacionado con la activación de AMPK (Gutiérrez et al., 2017). Es necesario realizar otros experimentos para corroborar las hipótesis planteadas.

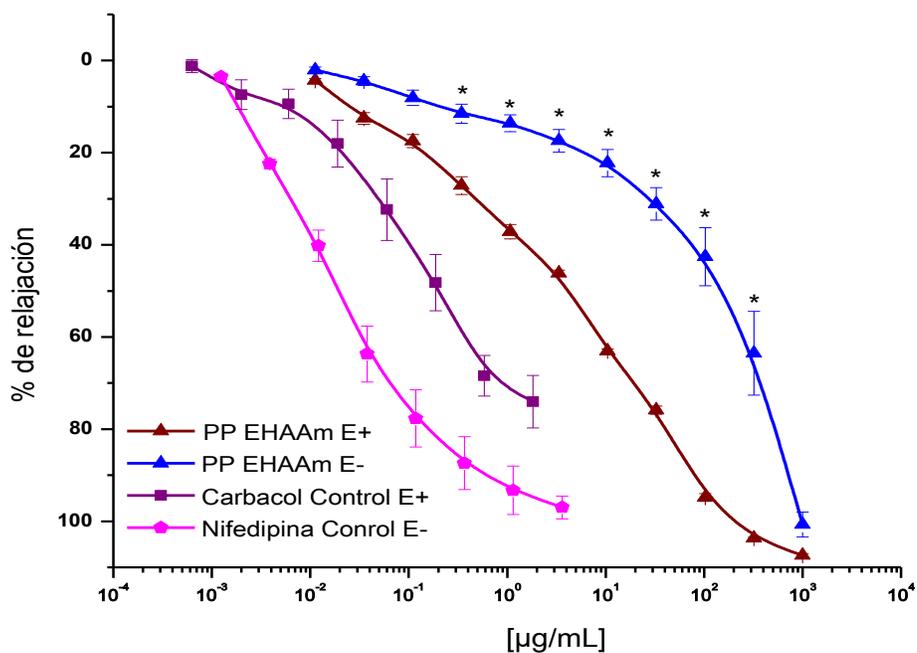


**Figura 17.-** Comparación del efecto antidiabético del EHAAM su PP EHAAM con el control positivo (glibenclamida) y el vehículo. \*\*\*  $p < 0.01$  vs vehículo.

### 9.5.- Determinación del efecto vasorrelajante *ex vivo*

En la figura 18 y tabla 9, se compara, en anillos de aorta en presencia y ausencia de endotelio el efecto del PP EHAAM, donde se observó que este precipitado tuvo un mejor porcentaje de relajación en presencia de endotelio. Es importante destacar que en estudios previos se determinó el efecto vasorrelajante de los ácidos ursólico y oleanólico (Aguirre *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2012), de la acacetina (Flores *et al.*, 2016) y de la tilianina (Hernández *et al.*, 2009) y que mostraron efectos vasorrelajantes significativos, lo que explica que las mezclas de los compuestos obtenidos en el precipitado presenten una excelente relajación y una potenciación en la actividad. Como se puede observar, el PP EHAAM mostró efecto vasorrelajante parcialmente dependiente de endotelio, lo que sugiere

mecanismos de acción relacionados con la liberación de factores relajantes derivados de endotelio como es el NO, el H<sub>2</sub>S, la PGI<sub>2</sub> o el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (Hernández *et al.*, 2009). Por otro lado, la componente relajante que no es dependiente de endotelio podría estar relacionado con el bloqueo o apertura de canales iónicos, o con la interacción con segundos mensajeros (Hernández *et al.*, 2009).



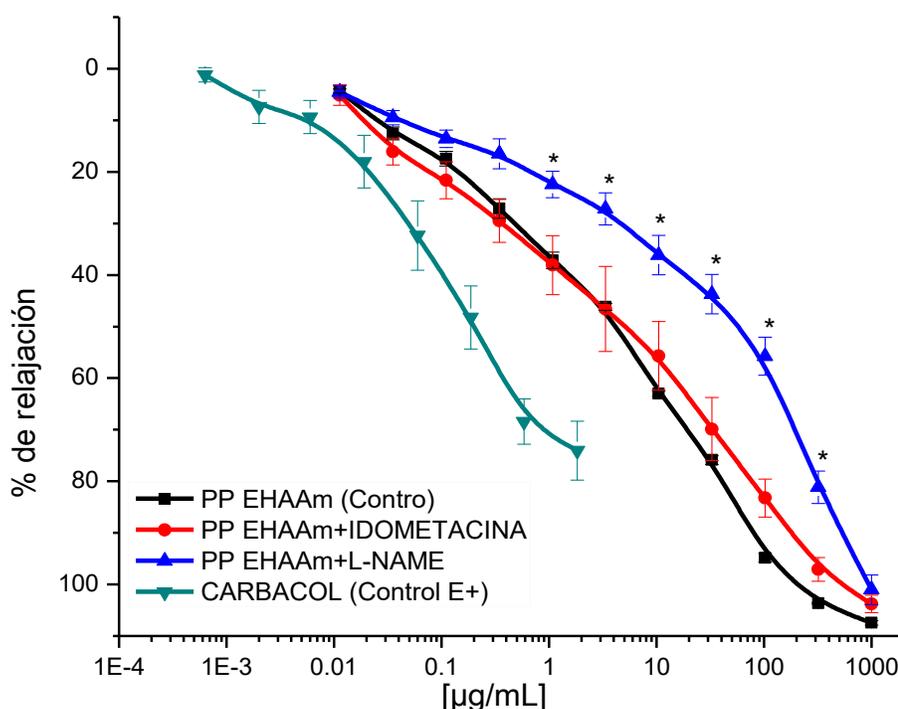
**Figura 18.-** Comparación del efecto vasorrelajante del PP EHAAM en anillos de aorta aislada de rata en presencia y ausencia de endotelio. \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001.

**Tabla 9.-** Comparación de la eficacia y potencia del PP EHAAM en presencia y ausencia de endotelio y sus respectivos controles obtenidos en el ensayo *ex vivo*

Comparación de la eficacia y potencia del PP EHAAM con los respectivos controles				
	PP EHAAM (E-)	PP EHAAM (E+)	CARBACOL	NIFEDIPINA
EFICACIA (%)	100 ± 2.73	100 ± 0.44	74.06 ± 5.7	97 ± 2.48
CE <sub>50</sub> (µg/mL)	157.32 ± 9.10	4.46 ± 0.68	0.082 ± 6.7	0.01 ± 3.37

## 9.6.- Mecanismo de acción dependiente de endotelio

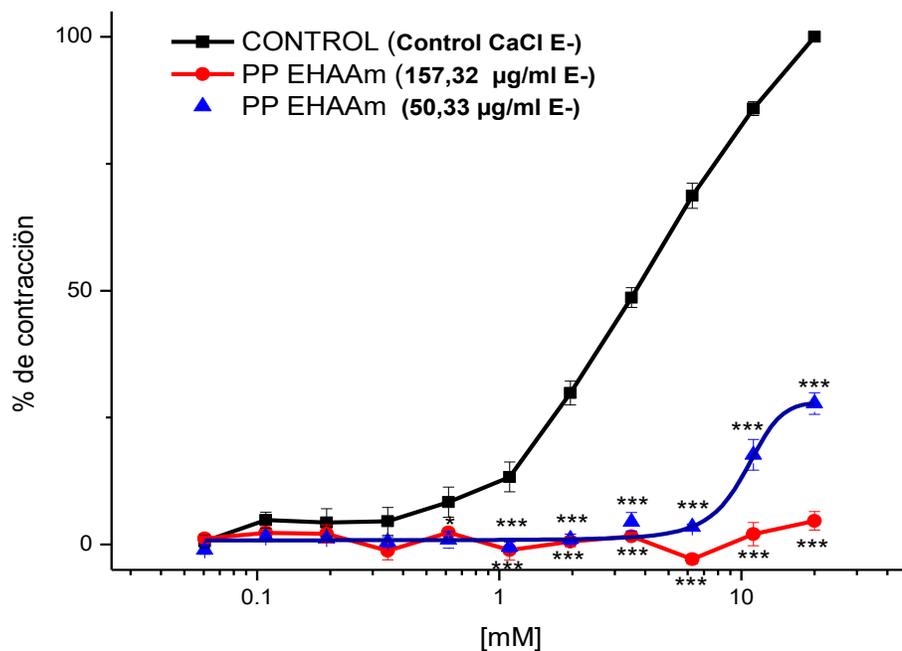
Como podemos observar en la figura 19, se presenta un bloqueo parcial del efecto relajante en presencia de L-NAME, desplazando la curva concentración-respuesta a la derecha en presencia del inhibidor, donde la potencia del PP EHA $Am$  disminuye con respecto a la curva control, además podemos apreciar que el efecto es dependiente de la concentración. Estos resultado nos indican que el efecto del PP EHA $Am$  se ve reducido en ausencia de la producción de NO sugiriéndonos de una posible activación de la eNOS para una producción biológica de NO. Por otro lado, en presencia de indometacina no se observó diferencia significativa en comparación con la curva control lo que nos sugiere que el PP EHA $Am$  no presenta actividad significativa en inducir la síntesis de PGI $2$ .



**Figura 19.-** Efecto vasorrelajante del PP EHA $Am$  en presencia de Indometacina y L-NAME en anillos de aorta aislada de rata en presencia de endotelio. \*\* $p < 0.01$

### 9.7.- Determinación vasorrelajante del PP EHA<sub>Am</sub> sobre el efecto contráctil de CaCl<sub>2</sub> en anillos de aorta de rata sin endotelio

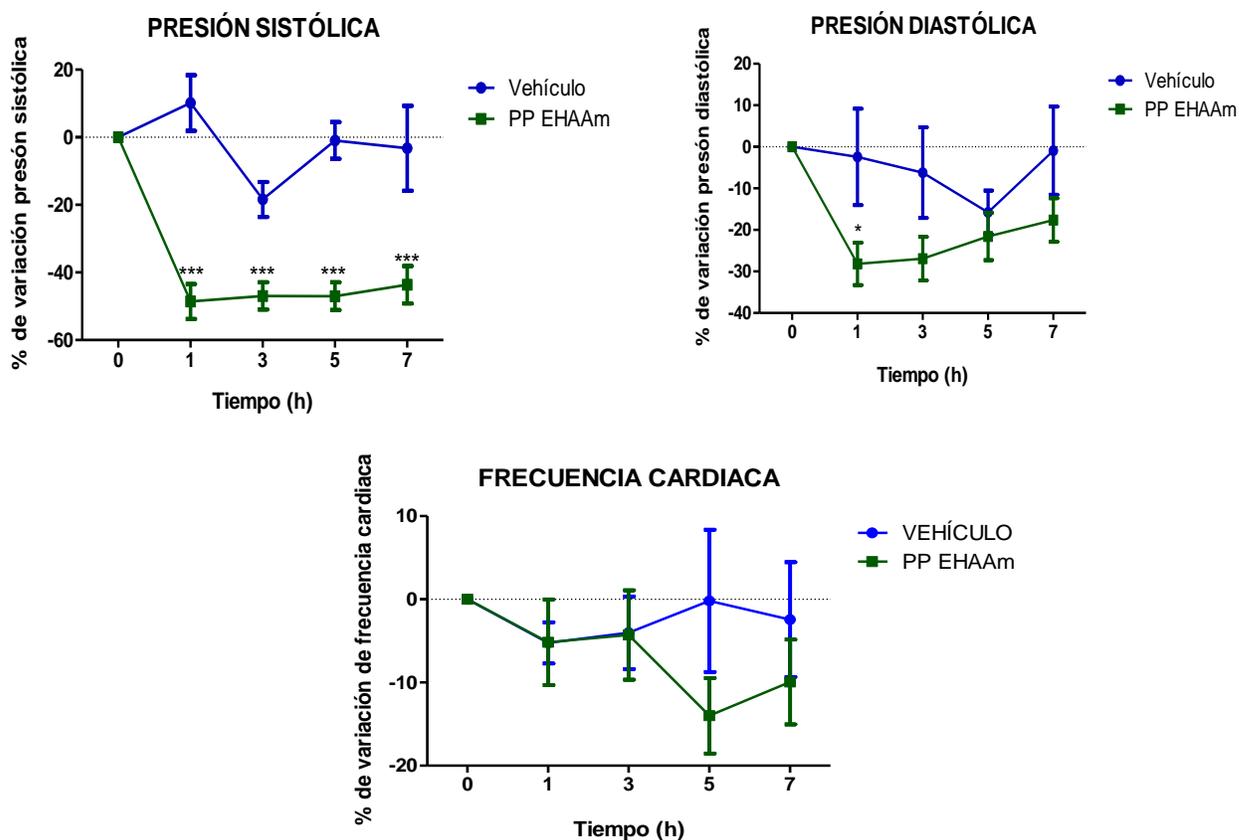
En la figura 20 podemos observar que a la concentración efectiva media el PP EHA<sub>Am</sub> se impide completamente la contracción inducida con CaCl<sub>2</sub>, lo que sugiere que existe un impedimento del flujo de Ca<sup>2+</sup> hacia el interior de las células del músculo liso, esto nos indica que este es uno de los principales mecanismos de acción del precipitado en anillos de aorta sin endotelio. De la misma manera, se probó una concentración más baja del PP EHA<sub>Am</sub> (-1/2 log), sin embargo, el efecto contráctil se observa en las concentraciones mayores de CaCl<sub>2</sub>, mostrándose así que el efecto es dependiente de la concentración. Ambas concentraciones del precipitado tuvieron un efecto significativo como bloqueadores de canales de Ca<sup>2+</sup>.



**Figura 20.-** Curva concentración respuesta a la contracción inducida con CaCl<sub>2</sub> en ausencia de endotelio. \*\*\*p<0.001

## 9.8.- Modelo antihipertensivo agudo

En el estudio antihipertensivo agudo (Figura 21), se observó una disminución notable en la presión sistólica desde la primera hora, y este efecto fue sostenido hasta la séptima hora ( $p < 0.001$ ). Por otro lado, para el caso de la presión diastólica, al transcurrir la primera hora se encuentra una disminución significativa, sin embargo, posterior a ese tiempo se observa una tendencia a mantener los valores de presión arterial bajos, pero este efecto no fue significativo al compararlo con el control ( $p < 0.05$ ). Esta actividad se le puede atribuir a los compuestos que ya se tienen identificados en este precipitado que son el ácidos ursólico y oleanólico, tilianina y acacetina (Flores *et al.*, 2016), y esto con base en los antecedentes previos descritos para cada compuesto (Aguirre *et al.*, 2006; Rios *et al.*, 2012).



**Figura 21.-** Ensayo agudo antihipertensivo con ratas SHR del PP EHAAM. Anova de dos vías, post-hoc Bonferroni \*  $p < 0.01$  \*\*\* $p < 0.001$ .

## 10.- Conclusión

El PP EHA $Am$  mostró actividad antidiabética cuyo mecanismo de acción podría estar relacionado a un proceso insulino-sensibilizador.

El PP EHA $Am$  presentó *in vitro* un efecto significativo vasorrelajante dependiente de la concentración. Su mecanismo de acción es parcialmente dependiente de endotelio, y por otro lado, podría estar actuando como bloqueador de canales de  $Ca^{2+}$ .

El PP EHA $Am$  tiene una actividad antihipertensiva *in vivo* en ratas SHR significativa.

## 11.- Perspectivas

- Determinar el mecanismo de acción antidiabético del PP EHA*Am*.
- Determinar la toxicidad aguda y subaguda del PP EHA*Am*.
- Determinar y caracterizar cada uno de los compuestos contenidos en el PP EHA*Am*.
- Determinar el efecto del PP EHA*Am* en un modelo antihipertensivo subagudo con ratas SHR.

## 12.- Bibliografía

A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines (2017) Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. Clinical Practice Guideline.

Acosta-García, E. (2012) Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 46, 183-94.

Almanza-Pérez, J. C., Blancas-Flores, G., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F. J., Cruz, M. (2008) Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. Gaceta Médica de México 6, 535-542.

Ayala I., Cámara P., Fernández-Pardo J., Flores I., Cascales A. I., Gutiérrez Panizo, C., Valdés M., Castells M. T., García Pérez B. (2008) MODELOS ANIMALES EXPERIMENTALES DE ENFERMEDAD DE HÍGADO GRASO Y SÍNDROME METABÓLICO. Revista veterinaria de México, 24: 5-16.

Bastarrachea, R. A., López-Alvarenga, J. C., Bolado-García, V. E, Tellez-Mendoza, J., Laviada-Molina, H., Comuzzie, A. G. (2007) Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. Gaceta Médica de México 6, 505-512.

Blancas-Flores, G., Almanza-Pérez, J. C., López-Roa, I., Alarcón-Aguilar, F., García-Macedo, R., Cruz, M. (2010) La obesidad como un proceso inflamatorio. Boletín médico del Hospital Infantil de México 67, 88-97.

Caixas, A. (2019) Tratamiento farmacológico de la obesidad. Endocrinología y Nutrición, 1-43.

Carrascon, F., Galgani, J. E., Reyes, M. (2013) Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. Revista Médica Clínica Las Condes 24, 827-837.

Castillo-Hernández, J. L., Cuevas-González, M. J., Almar-Galiana, M., Romero-Hernández, E. Y. (2017) Síndrome metabólico, un problema de salud pública con diferentes definiciones y criterios. Revista Médica de la Universidad Veracruzana 2, 7-24.

Chávez-Silva, F., Cerón-Romero, L., Arias-Duran, L., Navarrete-Vázquez, G., Almanza-Pérez, J., Román-Ramos, R., Ramírez-Ávila, G., Perea-Arango, I., Villalobos-Molina, R., Estrada-Soto, S. (2018). Antidiabetic effect of Achillea millefolium through multitarget interactions:  $\alpha$ -glucosidases inhibition, insulin sensitization and insulin secretagogue activities. Journal of Ethnopharmacology, 212, 1-7.

Costa-Espinosa, J. E., Spendí, E. (2017). La tormentosa relación entre las grasas y el desarrollo de la diabetes mellitus de tipo 2: actualizado. Parte 1. Revista argentina de endocrinología y metabolismo 54, 109-123.

Cruz-Torres, K. C., (2016) Determinación del efecto antidiabético y antihipertensivo de extractos orgánicos de *Agastache mexicana* y su comparación con el extracto hidroalcohólico. Tesis de licenciatura, Facultad de Farmacia, UAEM.

Dávila-Torres, J., González-Izquierdo, J. J., Barrera-Cruz, A. (2014) Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 53, 240-9  
Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, SSA, México D.F., México (2008) Obesidad, inflamación y diabetes. *Gaceta Médica de México* 1, 39-46.

Diabetes Care (2019) Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education* Vol.42, Supplement 1.

Esquivel-Gutiérrez, E. R., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M. A., Saavedra-Molina, A., & Salgado-Garciglia, R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*, 14(1), 45–52. Retrieved from [http://www.biologicas.umich.mx/documentos/no14/julio/8.Plantas\\_antidiabeticas\\_y\\_antihipertensivas.pdf](http://www.biologicas.umich.mx/documentos/no14/julio/8.Plantas_antidiabeticas_y_antihipertensivas.pdf)

Favela-Pérez, E. A., Gutiérrez-Barbosa, J. L., Rolón-Montaña, M. del C., Sierra-Soría, C. C., & Viniegra-Osorio, A. (2014). *Diagnóstico y tratamiento de la Hipertensión arterial en el primer nivel de atención*.

Flores-Flores, A., (2010). "Determinación del modo de acción vasorrelajante del extracto diclorometánico de la especie *Agastache mexicana*". Tesis de Técnicos Laboratoristas. Facultad de Farmacia, UAEM.

Flores-Flores, A., Hernández-Abreu, O., Rios, M. Y., León-Rivera, I., Aguilar-Guadarrama, B., Castillo-España, P., Perea-Arango, I., Estrada-Soto, S. (2016). Vasorelaxant mode of action of dichloromethanic extract from *Agastache mexicana* and its main bioactive compounds. *Pharmaceutical Biology*. Artículo en revisión.

Fuentes-Debray, S., (2016) Caracterización bioquímica y molecular de un modelo murino de obesidad basado en una dieta de cafetería. Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia, UAEM.

García-Díaz, J. A., Navarrete-Vázquez, G., García-Jiménez, S., Hidalgo-Figueroa, S., Almanza-Pérez, J. C., Alarcón-Aguilar, F. J., Gómez-Zamudio, J., Cruz, M., Ibarra-Barajas, M., Estrada-Soto, S. (2016). Antidiabetic, antihyperlipidemic and anti-inflammatory effects of tilianin in streptozotocin-nicotinamide diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*.

García-Díaz, J. D., Latorre-Mesa, J. M., Valbuena-Parra, A. R., Corps-Fernández, D. (2016) Protocolo diagnóstico de las dislipidemias. *Medicine* 12, 1107-10.

Gijón-Conde, T., Gorstidi, M., Camafort, M., Abad-Cardiel, M., Martín-Rioboo, E., Morales-Olivas, F., Vinyoles, E., Armario, P., Banegas, J. R., Coca, A., de la Sierra, A., Martell-Claros, N., Redón, J., Ruilope, L. M., Segura, J. (2018) Documento de la Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA) sobre las guías ACC/AHA 2017 de hipertensión arterial. *Hipertensión y riesgo vascular* 352, 1-11.

González-Chávez, A. (1999) Consenso Mexicano de Resistencia a la Insulina y Síndrome Metabólico. *Revista Mexicana de Cardiología* 10, 3-19.

González-Ramírez, A., González-Trujano, M. E., Pellicer, F., & López-Muñoz, F. J. (2012). Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the *Agastache mexicana* extracts by using several experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(3), 700–705. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.044>

González-Trujano, M. E., Ponce-Muñoz, H., Hidalgo-Figueroa, S., Navarrete-Vázquez, G., & Estrada-Soto, S. (2015). Depressant effects of *Agastache mexicana* methanol extract and one of major metabolites tilianin. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(3), 185–190. [http://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60312-6](http://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60312-6)

Guía de práctica clínica (GPC) (2016) Diagnóstico y tratamiento de dislipidemias (hipercolesterolemia) en el adulto. CENETEC.

Hall, J. E. (2011). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. Elsevier Health Sciences. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=UMYoE90LPmcC&pgis=1>

Hernández-Abreu O, Torres-Piedra M, García-Jiménez S, Ibarra-Barajas M, Villalobos-Molina R, Montes S, Rembao D, Estrada-Soto S. (2013). Dose-dependent antihypertensive determination and toxicological studies of tilianin isolated from *Agastache mexicana*. *J Ethnopharmacol*. 2013 Mar 7;146(1):187-91. doi: 10.1016/j.jep.2012.12.029. Epub 2012 Dec 28.

Hernández-Abreu, O., Castillo-España, P., León-Rivera, I., Ibarra-Barajas, M., Villalobos-Molina, R., González-Christen, J., Vergara-Galicia, J., Estrada-Soto, S. (2009). Antihypertensive and vasorelaxant effects of tilianin isolated from *Agastache mexicana* are mediated by NO/cGMP pathway and potassium channel opening. *Biochemical Pharmacology* 78, 54-61.

Instituto Mexicano del Seguro Social (2017) Diagnóstico y tratamiento de hipertensión arterial en el adulto mayor. Guía de práctica clínica.

Izaola, O., De Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J. C., Vidal, M. (2015) Inflamación y obesidad (lipoinflamación). *Nutrición Hospitalaria* 31, 2352-2358.

Jiménez-Castellanos, J., Catalina-Herrera, C. J., & Bono-Carmona, A. (2002). *Anatomía humana general* (1 ra). Universidad de Sevilla. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=m9-RRP8Qc4gC&pgis=1>

Latarjet, M., & Ruiz-Liard, A. (2004). *Anatomía humana, Volumen 2*. Ed. Médica Panamericana. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=5Rpr4aSnC5gC&pgis=1>

Lizarzaburu-Robles, J. C. (2013) Metabolic syndrome: concept and practical application. *Anales de la Facultad de Medicina* 74, 135-20.

Marcano, Y., Torcat, J., Ayala, L., Verdi, B., Lairet, C., Maldonado, M., de Vegas, J. (2006) Funciones endocrinas del tejido adiposo. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* 1, 15-21.

Monroy-Ortíz, C., & Castillo-España, P. (2007). *Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos*. (CONABIO, Ed.) (2 da.).

Moragrega-Adame, J. L. (2001) •Definición •Causas •Clasificación (adultos) •Epidemiología •Prevención primaria. *Revista Mexicana de Cardiología* 12, 9-18.

Moreno, M. J., Martínez, J. A. (2002) Adipose tissue: a storage and secretory organ. *Anales de la Facultad de Medicina* 25, 29-39.

Mosso-González, D., (2015) "Diseño, síntesis y acoplamiento molecular de derivados de *N*-[4-(benciloxi)bencil]leucina como ligandos duales PPAR  $\alpha/\gamma$ ". Tesis de licenciatura. Facultad de Farmacia. UAEM.

NOM-030-SSA2-2009, "Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica".

Olivares-Reyes, J. A., Arellano-Plancarte, A. (2008) Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de educación bioquímica* 27, 9-18.

Palomer, X., Pérez, A., Blanco-Vaca, F. (2005) Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Medicina Clínica* 124, 388-95.

Pollak, F. (2016) *Resistencia a la insulina: Verdades y controversias*. *Revista Médica Clínica Las Condes* 27, 171-178.

Porks, P., Antcliff, J. F., Lippiat, J., Gloyn, A. L., Hattersley, A. T., Ashcroft, F. M. (2004) Molecular basis of Kir6.2 mutations associated with neonatal diabetes or neonatal diabetes plus neurological features. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 50, 17539-17544.

Ramírez-Alvarado, M. M., Sánchez Roitz, C. (2012) El factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nutrición Hospitalaria* 27, 1751-1757.

Ramírez-Espinosa, J. J., Rios, M. Y., López-Martínez, Paoli, P., Flores-Morales, V., Camici, G., de la Rosa- Lugo, V., Hidalgo-Figueroa, S., Navarrete-Vázquez, G. Estrada-Soto, S. (2014). Chemistry Synthesis of oleanolic acid derivatives : In vitro , in vivo and in silico studies for PTP-1B inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry* 87, 316-327.

Ramírez-Espinosa, J. J., Rios, M. Y., López-Martínez, S., López-Vallejo, F., Medina-Franco, J. L., Paoli, P., Camici, G., Navarrete-Vázquez, G., Ortiz-Andrade, R., Estrada-Soto, S. (2011). Antidiabetic activity of some pentacyclic acid triterpenoids, role of PTP-1B: in vitro, in silico, and in vivo approaches. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46, 2243-2251.

Ramírez-Espinosa, J. J., (2009). "Actividad vasorrelajante del extracto hexánico de *Valeriana edulis* a través del bloqueo de canales de calcio". Tesis de Licenciatura. Facultad de Farmacia, UAEM.

Ramírez-Espinosa, J. J., García-Jiménez, S., Rios, M. Y., Medina-Franco, J. L., López-Vallejo, F., Webster, S. P., Binnie, M., Ibarra-Barajas, M., Ortiz-Andrade, R., Estrada-Soto,

S., (2013). Antihyperglycemic and sub-chronic antidiabetic actions of morolic and moronic acids, in vitro and in silico inhibition of 11 $\beta$ -HSD 1. *Phytomedicine* 20, 571-576.

Ramos-Ibañez, N. (2009) Tejido adiposo intra-abdominal: crecimiento, evaluación y su asociación con el desarrollo de problemas metabólicos en niños y adolescentes. *Boletín médico del Hospital Infantil de México* 66, 492-501.

Rios, M. Y., López-Martínez, S., López-Vallejo, F., Medina-Franco, J. L., Villalobos-Molina, R., Ibarra-Barajas, M., Navarrete-Vázquez, G., Hidalgo-Figueroa, S., Hernández-Abreu, O., Estrada-Soto, S. (2012). Vasorelaxant activity of some structurally-related triterpenic acids from *Phoradendron reichenbachianum* (Viscaceae) mainly by NO production: ex vivo and in silico studies. *Fitoterapia* 83, 1023-1029.

Rodríguez-Ramos, I. E., Sampedro-Rosas, L., Rosas-Acevedo, J. L., & Meneses-Rentería, A. (2015). Cuidado de la biodiversidad y uso de plantas medicinales en indígenas migrantes del municipio de Acapulco , Guerrero Resumen Introducción.

Rubio-Guerra, A. F. (2018) Nuevas guías del American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension para el tratamiento de la hipertensión. ¿Un salto en la dirección correcta?. *Medicina Interna de México* 34, 299-303.

Salvador, J., Silva, C., Pujante, P., Frühbeck, G. (2018) Obesidad abdominal: un estandarte del riesgo cardiometabólico. *Endocrinología y Nutrición* 55, 420-32.

Sánchez-Muñoz, F., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F., Cruz, M. (2005) Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta Médica de México* 6, 505-511.

Sampey, BP, Vanhoose, AM, Winfield, HM, Freemerman, AJ, Muehlbauer, MJ, Fueger, PT., y Makowski, L. (2011). Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to highfat diet. *Obesity*, 19(6), 1109-1117.

Sánchez, J. C., Ramón-Romero, C., Victoria-Muñoz, L., Alonso-Rivera, R. (2016) El órgano adiposo, un arcoiris de regulación metabólica y endocrina. *Revista Cubana de Endocrinología* 27, 105-119.

Sánchez-Recalde, Á., & Kaski, J. C. (2001). Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Revista Española de Cardiología*, 54(6), 751–763. [http://doi.org/10.1016/S0300-8932\(01\)76390-7](http://doi.org/10.1016/S0300-8932(01)76390-7)

Santillán-Ramírez, M. A., López-Villafranco, M. E., Aguilar-Rodríguez, S., & Aguilar-Contreras, A. (2008). Estudio etnobotánico, arquitectura foliar y anatomía vegetativa de *Agastache mexicana* ssp. *mexicana* y *A. mexicana* ssp. *xolocotziana*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79(2), 513–524. Retrieved from

Shamah-Levy, T., Cuevas-Nasu, L., Gaona-Pineda, E. B., Gómez-Acosta, L. M., Morales-Ruán, Ma. del C., Hernández-Ávila, M., Rivera-Dommarco, J. A. (2018) Sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes en México, actualización de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *Salud Pública de México* 3, 244-253.

Silverthorn, D. U. (2008). *Fisiología Humana. Un enfoque integrado 4a edición*. Ed. Médica Panamericana. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=X5sKQuy8q0C&pgis=1>

Sosa-Herrera, K. G., Torres-Romero, J. C., Escobedo-Guerrero, H., & Ramírez-Camacho, M. A. (2014). Impacto de un programa de atención farmacéutica en el control metabólico de pacientes con diabetes tipo 2 en población rural del estado de Yucatán, México. Retrieved November 23, 2015, from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v45n3/v45n3a8.pdf>

Suárez-Carmona, W., Sánchez-Oliver, A., González-Jurado, J. A. (2017) Pathophysiology of obesity: Current view. *Revista chilena de nutrición* 3, 2485-2458.

Tagle, R. (2018) *Diagnóstico de hipertensión arterial*. *Revista Médica Clínica Las Condes* 29, 12-20.

Tapp, L., LE, KA, Tran, C., y Paquot N. (2010). Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*, 26(11), 1044-1049.

Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti-Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., De Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G. Y. H., McManus, R., Narkiewicz, K., Ruschitzka, F., Schimieder, R. E., Shlyakhto, E., Tsioufis, C., Aboyans, V., Desormais, I. (2018) 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal* 39, 3021-3104.

Zielińska, S., & Matkowski, A. (2014). Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus *Agastache* (Lamiaceae). *Phytochemistry Reviews*, 13(2), 391–416. <http://doi.org/10.1007/s11101-014-9349-1>.

VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Karla Catalina Cruz Torres

Título de la tesis: "Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Natividad Sara Concepción García Jiménez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

---

---

---



Firma del miembro del jurado

19/Marzo/2019

Fecha

VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Karla Catalina Cruz Torres

Título de la tesis: "Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

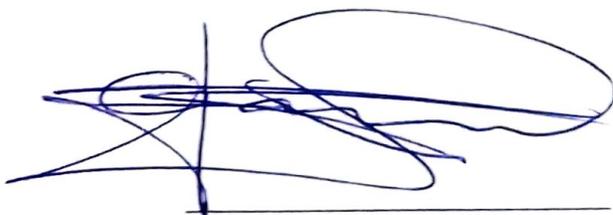
Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

---

---

---



Firma del miembro del jurado

19/Marzo/2019

Fecha

VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Karla Catalina Cruz Torres

Título de la tesis: "Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Rafael Villalobos Molina

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

---

---

Rafael Villalobos Molina

Firma del miembro del jurado

20-03-2019

Fecha

VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Karla Catalina Cruz Torres

Título de la tesis: "Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Cairo David Toledano Jaimes

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

---

---

---



Firma del miembro del jurado

19/Marzo/2019

Fecha

VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Karla Catalina Cruz Torres

Título de la tesis: "Caracterización farmacológica del extracto hidroalcohólico de *Agastache mexicana* en modelos murinos de diabetes, obesidad e hipertensión"

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Rachel Mata Essayag

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

---

---

---



Firma del miembro del jurado

20/03/19

Fecha