

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AL SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN NUTRICIÓN

P R E S E N T A:

VIVIANA ESTEFANÍA GARCÍA VÁZQUEZ

DIRECTORA:

DRA. MA. ESTHER RUBIO RUIZ

ASESORA

MTRA. GABRIELA AÑORVE VALDEZ

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi querida Facultad y todos los involucrados en mi formación académica, al Instituto Nacional de Cardiología por ser una parte fundamental en este proyecto, con gran y especial reconocimiento al departamento de fisiología. Agradezco profundamente al Dr. Vicente Castrejón, por todos esos aprendizajes en su laboratorio.

A mi directora de tesis la Dra. Esther Rubio Ruiz, la palabra gracias se queda corta. En usted encontré el eco de una estudiante que sufría más incertidumbre que la ya generada por una pandemia, estaré siempre profundamente agradecida por la oportunidad que me brindó, todo ese apoyo, comprensión y cariño. Guardo y me llevo todos los buenos momentos en su servicio y plasmo todo lo aprendido en este proyecto. Mi admiración, respeto y aprecio eternamente con usted, de todo corazón que sus proyectos siempre prosperen.

Gracias a mi mamá por apostarle siempre a mis sueños, por siempre ser mi motor, por el apoyo brindado en todos los sentidos. Siempre con tu ejemplo me has enseñado a ser comprometida, entregada y persistente, fomentando en mí el deseo de superación y triunfo como profesionista y como ser humano. Este proyecto es la culminación de todos esos años de sacrificios. Te admiro y te amo, gracias por todo.

A mi abue, mi Trinita. En tu honor ¡Un abrazo al cielo!

RESUMEN

La coexistencia de masa muscular baja y función muscular (fuerza o rendimiento) disminuida se conoce como sarcopenia. Esta enfermedad tiene una relación sumamente definida con algunos signos que componen el Síndrome metabólico (SMet). Este es un conjunto de condiciones patológicas clínicas caracterizado por obesidad central abdominal, hipertensión, resistencia a la insulina (RI), dislipidemia (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia entre otras). Por otra parte, se ha informado que la ingesta de polifenoles, como el resveratrol (RSV) y/o la quercetina (QRC), reduce los signos característicos del SMet. El presente estudio fue diseñado para comprender mejor el efecto del RSV en conjunto con QRC sobre los mecanismos del SMet relacionados con sarcopenia. En este estudio se utilizaron ratas tratadas con RSV + QRC y otras sin tratamiento, se encontró que las ratas con SMet tienen mayor concentración de adiponectina, que puede asociarse directamente con la presencia de sarcopenia, además de otros factores propios del SMet como dislipidemia y RI, que favorecen la presencia de sarcopenia. En este estudio los animales con SMet presentan sarcopenia; condición asociada con el aumento en la expresión de miostatina, cuyos niveles de esta mioquina no se afectaron con el tratamiento de los compuestos RSV+QRC. Pero la combinación de RSV+QRC resultó útil para prevenir la disminución de la masa muscular al revertir algunos signos del SMet como la dislipidemia y la RI.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 2. ANTECEDENTES | 4 |
| 2.1 SÍNDROME METABÓLICO | 4 |
| 2.2 OBESIDAD SARCOPÉNICA Y TEJIDO ADIPOSO | 6 |
| 2.2.1 <i>Sarcopenia</i> | 6 |
| 2.2.2 <i>Obesidad sarcopénica</i> | 7 |
| 2.2.3 <i>Tejido adiposo</i> | 8 |
| 2.3 ADIPOCINAS Y SU EFECTO EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO | 10 |
| 2.3.1 Adiponectina | 11 |
| 2.3.2 Leptina | 11 |
| 2.4 MIOQUINAS | 12 |
| 2.4.1 Miostatina | 13 |
| 2.5 TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD SARCOPÉNICA | 14 |
| 2.5.1 <i>Intervención nutricional</i> | 14 |
| 2.5.2 <i>Actividad física</i> | 15 |
| 2.5.3 <i>Compuestos naturales</i> | 16 |
| 2.5.3.1 Resveratrol (RSV) | 16 |
| 2.5.3.2 Quercetina (QRC) | 17 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 18 |
| 4. HIPÓTESIS | 18 |
| 5. OBJETIVOS | 19 |
| 5.1 GENERAL | 19 |
| 5.2 ESPECÍFICOS | 19 |
| 6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN | 19 |
| 6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO | 19 |
| 6.2. UNIVERSO DEL TRABAJO Y MUESTRA | 19 |
| 6.3. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS DE INVESTIGACIÓN | 21 |
| 6.3.1. <i>Análisis bioquímicos en suero</i> | 21 |
| 6.3.2. <i>Obtención y procesamiento del músculo esquelético</i> | 22 |
| 6.4. DESARROLLO DEL PROYECTO | 23 |
| 6.4.1. <i>Separación de proteínas por electroforesis.</i> | 23 |
| 6.4.2. <i>Western Blot.</i> | 24 |
| 6.5. DISEÑO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 26 |
| 7. RESULTADOS | 26 |
| 7.1 CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS Y COLESTEROL | 28 |
| 7.2 CONCENTRACIÓN DE ADIPOCINAS | 31 |
| 7.3 DETERMINACIÓN DEL PESO DEL MÚSCULO SÓLEO | 32 |
| 7.4 EXPRESIÓN DE MIOSTATINA | 33 |
| 8. DISCUSIÓN | 34 |
| 9. CONCLUSIÓN | 40 |
| REFERENCIAS | 41 |

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

| | |
|--------------------------------|--|
| ADC | Adiposidad central |
| AHA | American Heart Association |
| AMPK | Cinasa activada por monofosfato de adenina (AMP) |
| ARNm | ARN mensajero |
| AACE | Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos |
| C | Controles |
| cAMP | Adenosín monofosfato cíclico |
| COL | Colesterol total |
| C-HDL | Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad |
| C no HDL | Colesterol no unido a lipoproteínas de alta densidad |
| DM-T2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| GDF-8 | Factor de crecimiento y diferenciación 8 |
| HMB | β -hidroxi- β -metil-butirato |
| HOMA-IR | Modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina |
| HSL | Hormona sensible a lipasa |
| IAS | International Atherosclerosis Society |
| IASO | Asociación Internacional para el Estudio de la Obesidad (International Association for the Study of Obesity) |
| ICV | Intracerebroventricular |
| IDF | Federación Internacional de la Diabetes (International Diabetes Federation) |
| IL-6 | Interleucina – 6 |
| IL-1β | Interleucina - 1Beta |
| IL-18 | Interleucina – 18 |
| INC | Instituto Nacional de Cardiología |
| IV | Intravenosa |
| NCEP-ATP III | Pautas del Panel III de tratamiento para adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol |
| NHLBI | Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (National Heart, Lung, and Blood Institute) |
| OS | Obesidad sarcopénica |
| PA | Presión arterial |
| QRC | Quercetina |
| RPM | Revoluciones por minuto |
| RI | Resistencia a la insulina |
| RSV | Resveratrol |
| SMet | Síndrome metabólico |
| TAB | Tejido adiposo blanco |
| TAP | Tejido adiposo pardo |
| TG | Triglicéridos |
| TGF-β | Factor de Crecimiento Transformante β |
| TNF-α | Factor de necrosis tumoral-alfa |
| WHF | World Heart Federation |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Criterios para el diagnóstico clínico del Síndrome Metabólico | 6 |
| Tabla 2. Adipocinas..... | 10 |
| Tabla 3. Muestras de proteína..... | 24 |
| Tabla 4. Validación modelo de sacarosa 30%..... | 27 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Localización anatómica de los diferentes tejidos adiposos..... | 9 |
| Figura 2. Diseño experimental del efecto de la administración de RSV y QRC en el desarrollo de sarcopenia asociada al SMet en un modelo murino..... | 20 |
| Figura 3. Valores séricos de TG | 28 |
| Figura 4. Valores séricos con COL en los animales controles y con SMet tratados con la mezcla de polifenoles | 29 |
| Figura 5. Valores séricos de Col-HDL en animales tratados con RSV y QRC | 30 |
| Figura 6. Efecto de la administración de RSV y QSC en los valores séricos de Col-no HDL..... | 30 |
| Figura 7. Valores séricos de leptina de animales Controles y con SMet tratados con compuestos naturales. | 31 |
| Figura 8. Valores séricos de adiponectina..... | 32 |
| Figura 9. Determinación del peso del músculo sóleo normalizado con el peso corporal..... | 33 |
| Figura 10. Efecto de la administración de la mezcla de resveratrol y quercetina en la expresión de miostatina en músculo de ratas controles y con SMet. | 34 |
| Figura 11. Mecanismo de acción de la miostatina en sarcopenia. | 38 |

1. INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SMet) se considera un estado crónico y progresivo que representa a un grupo de factores de riesgo, asociado a padecer otras patologías tales como la sarcopenia, la cual se define como la pérdida en la masa y fuerza muscular.¹⁻³ La sarcopenia y el SMet tienen repercusiones negativas en la calidad de vida siendo causa de debilidad, dependencia y aumento de las tasas de morbi-mortalidad. Actualmente, se calcula que el SMet afecta al 25% de la población mundial y estudios epidemiológicos han mostrado que su prevalencia aumenta conforme incrementa la edad.⁴ De forma particular, la obesidad y la resistencia a la insulina (RI) son algunos de los signos del SMet que se han asociado de manera estrecha a la presencia de sarcopenia.¹

Actualmente se reconoce que el tejido adiposo, especialmente el visceral, funciona como un órgano endócrino activo que secreta varios factores humorales, adipocinas como la leptina y la adiponectina, las cuales tienen efectos importantes sobre el metabolismo de varios tejidos incluido el músculo esquelético.^{1,2,5-7} El músculo también produce, expresa y secreta citocinas, así como otros péptidos que ejercen efectos autócrinos, parácrinos y endócrinos que se han clasificado como las mioquinas⁸. Uno de estos péptidos secretados por el tejido muscular es la miostatina. Este inhibidor anabólico se ha asociado con la obesidad y la RI. Se ha descubierto que la disminución de la cantidad de miostatina puede provocar aumento de la masa muscular, mediante hipertrofia e hiperplasia; es por ello que el

estudio de esta proteína es importante para determinar su influencia en algunas enfermedades como el SMet^{6, 8, 9,10}.

En la actualidad existe un interés en los compuestos naturales para el tratamiento o prevención de diversas enfermedades. Se sabe que el RSV, un polifenol contenido principalmente en las uvas rojas, es cardioprotector, antioxidante y antiapoptótico. Y que la QRC un fitoestrógeno que se encuentra principalmente en el té verde, cebolla y manzana, al igual que el RSV, tiene propiedades cardio protectoras, antioxidantes y antiapoptóticas¹¹. Sin embargo, el mecanismo de acción por el cual se ejerce este efecto, no está completamente estudiado.¹² Por lo tanto, es necesario evaluar la asociación entre masa muscular con el SMet, dada la relación de sarcopenia con mortalidad y morbilidad, además de tener un diagnóstico oportuno, es importante llevar un correcto manejo de la enfermedad, mediante modificaciones en el estilo de vida y si es necesario, terapia farmacológica. La administración de compuestos naturales podría marcar una pauta significativa en la intervención y manejo de la obesidad sarcopénica (OS) relacionada a SMet.¹³

2. ANTECEDENTES

2.1 Síndrome metabólico

El SMet ha surgido como un problema de salud en la sociedad moderna, asociado con una enorme carga social, personal y económica tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados⁴. El SMet también conocido como el síndrome X, comprende un conjunto de factores de riesgo representados por: obesidad, RI, hiperinsulinemia, hipertensión y dislipidemia; principalmente, que se

manifiesta en personas que tienen predisposición genética y que presentan factores ambientales asociados al estilo de vida como una dieta rica en hidratos de carbono, grasas saturadas y a la ausencia de actividad física.

Para determinar SMet han surgido múltiples criterios y definiciones, debido a la discrepancia entre estas, en el 2009 la Federación Internacional de la Diabetes (IDF, del inglés, International Diabetes Federation), el Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre (NHLBI, del inglés, National Heart, Lung, and Blood Institute), la Asociación Americana del Corazón (AHA, del inglés, American Heart Association), la Federación Mundial del Corazón (WHF, por sus siglas en inglés, World Heart Federation), la Sociedad Internacional de la Aterosclerosis (IAS, del inglés, International Atherosclerosis Society) y la Asociación Internacional para el Estudio de la Obesidad (IASO, por sus siglas en inglés, International Association for the Study of Obesity) decidieron unificar sus criterios para diagnosticar SMet. En este acuerdo, la obesidad se eliminó como un componente obligado y los criterios de colesterol HDL, triglicéridos (TG), presión arterial y glucosa en ayunas fueron idénticos a la definición del Grupo Nacional de Educación en Colesterol (NCEP ATP III), así mismo se decidió que los umbrales del perímetro abdominal se deben adaptar a cada grupo étnico y para Latinoamérica se recomendó temporalmente la utilización de las medidas asiáticas (perímetro abdominal en hombres ≥ 90 cm hombres y ≥ 80 cm en mujeres). De acuerdo con esta declaración conjunta, se hace un diagnóstico de SMet cuando tres de los cinco factores de riesgo establecidos están presentes (Tabla 1) [6](#), [8](#), [10](#),[14](#).

La prevalencia de SMet en Ciudad de México de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), NCEP-ATP III y de la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AACE) fue de 8.96, 37.6 y 42.12%; respectivamente.¹⁵

| Tabla 1. Criterios para el diagnóstico clínico del Síndrome Metabólico | |
|---|---|
| Circunferencia de cintura | ≥90 cm hombres ≥80 cm mujeres |
| Triglicéridos (TG) | >150 mg/dl |
| C-HDL | < 40 mg/dl hombres, < 50 mg/dl mujeres |
| Presión arterial (PA) | Sistólica >130 mm Hg, diastólica >85 mm Hg |
| Glucosa sanguínea en ayuno | > 100 mg/dl |

Adaptado de Fragozo-Ramos MC. Síndrome metabólico: revisión de la literatura. Med. Lab [tabla].2022

2.2 Obesidad sarcopénica y tejido adiposo

2.2.1 Sarcopenia

En los últimos años, ha quedado claro que la sarcopenia está estrechamente relacionada con SMet, diabetes mellitus tipo 2 (DM-T2) y enfermedades cardiovasculares¹⁶. La sarcopenia es definida como la pérdida de masa muscular combinada con alteraciones en la función y calidad muscular. Existe un ciclo de retroalimentación positiva entre la sarcopenia y la obesidad. La pérdida de músculo esquelético y la acumulación de grasa intramuscular son responsables del deterioro

de la función contráctil del músculo y de las anomalías metabólicas. Estas se asocian con una variedad de patologías a través de una combinación de factores, que incluyen estrés oxidativo, aumento en la producción de citocinas inflamatorias, disfunción mitocondrial, RI e inactividad física. Debido a esta acción sinérgica de los tejidos adiposo y muscular, ha surgido un nuevo e importante concepto desde el punto de vista de la salud: la obesidad sarcopénica (OS) durante la cual la masa grasa permanece sin cambios o aumenta, lo que potencialmente explica la ausencia de pérdida de peso no obstante de la pérdida de masa muscular. La OS juega un papel central en los deterioros de la calidad y la función muscular, así como en el desarrollo de trastornos cardiometabólicos y óseos.^{4, 6, 7, 9,16}

2.2.2 Obesidad sarcopénica

La patogenia de la OS es multifactorial. Dentro estos factores se incluyen el envejecimiento, el sedentarismo, la nutrición inadecuada por hábitos alimenticios poco saludables, la RI, la inflamación sistémica y el estrés oxidativo, lo que conlleva una disminución cualitativa y cuantitativa de la masa muscular y fuerza, así como en un aumento concomitante de la masa grasa. Por otro lado, la sarcopenia también se observa a menudo en pacientes con enfermedades agudas o crónicas de atrofia muscular, como tumores malignos, enfermedad pulmonar, insuficiencia cardíaca, enfermedad renal, enfermedad neuromuscular y enfermedad hepática, es decir, sarcopenia secundaria¹⁶.

La sarcopenia de tipo secundario se presenta cuando la disminución en la masa muscular esquelética es ocasionada por una causa diferente al proceso de

envejecimiento. Las personas con esta patología incrementan el riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares debido al efecto sinérgico causado por la obesidad y la sarcopenia^{6, 7, 9,17}.

2.2.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo se divide clásicamente según la ubicación anatómica y el componente principal del tipo de célula. Histológicamente, existen tres tipos principales de tejido adiposo: tejido adiposo blanco (TAB), tejido adiposo pardo (TAP) y tejido adiposo beige / brite. El TAB representa más del 95% de la masa adiposa mientras que el TAP, representa del 1% al 2% de la grasa y, en humanos, se presenta en pequeñas acumulaciones en las regiones cervical, axilar y paraespinal; y el tejido adiposo beige / brite, que es difícil de cuantificar, pero representa células intercaladas dentro del TAB, que son capaces de transformarse en adipocitos de color marrón después de exposición al frío o estimulación adrenérgica. Anatómicamente, el tejido adiposo se divide en depósitos viscerales y subcutáneos (Figura 1).⁵ La acumulación de TAB visceral intraabdominal, que se presenta en la obesidad central, se asocia con RI y con un mayor riesgo de enfermedades metabólicas, mientras que la acumulación de TAB subcutáneo, presente en grasa de las caderas y flancos, no tiene efectos adversos e incluso puede ser protector contra SMet. En la obesidad y en el SMet, el tejido adiposo aumenta debido a la participación de dos procesos: hipertrofia (incremento de tamaño de los adipocitos) e hiperplasia que es el acrecentamiento en el número de estas células.

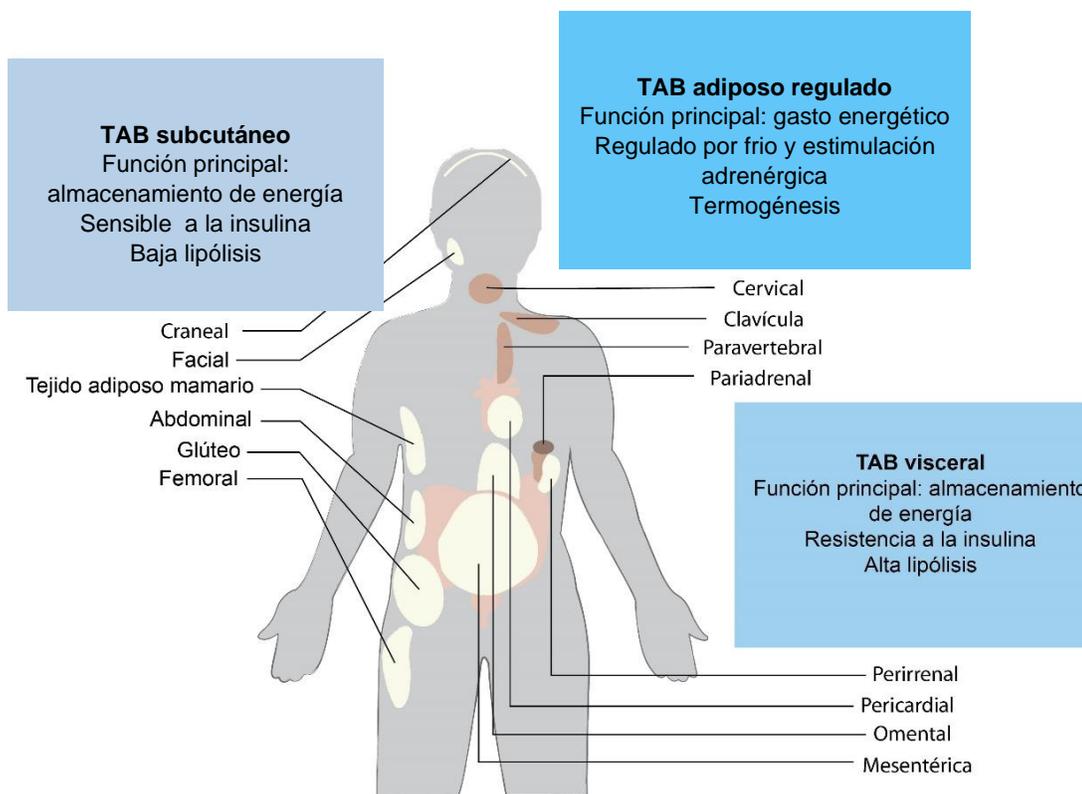


Figura 1. Localización anatómica de los diferentes tejidos adiposos

Imagen tomada y modificada de Kahn CR. Tejido adiposo alterado y función de los adipocitos en la patogenia del síndrome metabólico [Imagen]. 2019. Disponible en *The Journal of Clinical* <https://doi.org/10.1172/JCI129187>.

En esta condición, el tejido adiposo, modifica su función elevando la producción de moléculas proinflamatorias, así como por una producción desregulada de diversas adipocinas, como la leptina, la cual aumenta la captación de glucosa y la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético a través del eje del sistema nervioso hipotalámico-simpático, así como la adiponectina, que provoca efectos adversos en tejidos como hipotálamo, hígado, páncreas y músculo esquelético. El tejido adiposo también está infiltrado por una gran cantidad de macrófagos que son los principales productores de citocinas como TNF- α , IL-6, IL-1 β e IL-18 y que contribuyen al proceso inflamatorio presente en la obesidad.^{5,18}

2.3 Adipocinas y su efecto en el músculo esquelético

Adipocinas o adipocitocinas son los términos para referirse a las proteínas secretadas por el tejido adiposo. Entre ellas destacan la leptina y la adiponectina (Tabla 2) que provienen principalmente del tejido adiposo blanco (TAB) y tienen un papel primordial en la homeostasis de varios procesos fisiológicos, entre los que se incluyen la ingesta de alimentos, la regulación del equilibrio energético, la acción de la insulina y el metabolismo de la glucosa^{1,2,5,19}.

| Tabla 2. Adipocinas | |
|----------------------------|---|
| Adiponectina | Proteína producida tanto en el TAB y TAP con los niveles más altos en TAB subcutáneo. La adiponectina actúa para mejorar la sensibilidad a la insulina a través de dos receptores presentes en las membranas celulares en varios órganos, incluido el músculo esquelético. Además, la adiponectina puede actuar en el sistema nervioso central para estimular el apetito y reducir el gasto energético. |
| Leptina | Proteína producida principalmente por el TAB que actúa sobre los receptores de leptina en el hipotálamo para suprimir la alimentación y aumentar el gasto energético. Las concentraciones elevadas de esta adipocina se han asociado con enfermedades como osteoporosis y sarcopenia |

Adaptado de Sánchez-Muñoz F. Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune[tabla]. México, 2005

2.3.1 Adiponectina

La adiponectina mejora el medio metabólico sistémico al potenciar la oxidación de ácidos grasos del músculo esquelético. Como tal, la adiponectina globular, activa a la cinasa activada (AMPK) mediante el monofosfato de adenina (AMP), por sus siglas en inglés, una enzima que tiene un rol en las acciones que aumentan la sensibilidad a la insulina. La AMPK es un sensor de la energía intracelular que también se activa por la actividad física y en el músculo esquelético estimula la oxidación de ácidos grasos.¹⁸⁻²¹

2.3.2 Leptina

Los receptores de leptina se expresan abundantemente en el músculo esquelético humano y se regulan positivamente en respuesta a la atrofia, lo que indica que la leptina estimula el crecimiento del músculo esquelético. Ésta estimula la quinasa dependiente de AMPK en los miocitos, incrementando el gasto energético. Junto a este papel primordial en la regulación energética, también está implicada en la promoción del crecimiento, el metabolismo mineral óseo, la función inmune, así como en la mitosis celular y el desarrollo de distintos órganos.²⁰⁻²²

En el músculo esquelético, los efectos de la leptina se observaron en el músculo sóleo (un tipo de músculo rojo). La leptina tiene poco efecto sobre la captación de glucosa en el músculo esquelético *ex vivo* (terapia génica donde la transducción de la célula diana puede realizarse fuera del organismo). Aunque la inyección intracerebroventricular (ICV) o intravenosa (IV) de leptina normaliza los niveles de glucosa en sangre en animales DM-T2 con deficiencia de insulina, la captación de glucosa inducida por leptina aumenta con la administración de insulina.

Por tanto, la leptina estimula la captación de glucosa en el músculo tanto de manera insulín dependiente como independiente.²³

Los individuos obesos tienen concentraciones plasmáticas altas de leptina, por lo que actualmente se habla también, de un proceso de resistencia a la leptina por la obstrucción de su paso a través de la barrera hematoencefálica mediante el cual se pretende explicar la presencia de obesidad y riesgo cardiovascular en presencia de hiperleptinemia. Además, el fenómeno de resistencia a la leptina también está presente en el músculo esquelético ya que la respuesta a esta adipocina se encuentra bloqueada o interrumpida.²⁴

2.4 Mioquinas

Una variedad de estudios recientes ha incrementado el interés por aclarar el papel que juegan las citocinas proinflamatorias, mioquinas y adipocinas en la fisiopatología de sarcopenia y OS. Las mioquinas que han generado más interés en los últimos años son la miostatina y la irisina que se producen principalmente en el músculo esquelético. Un número de estudios han sugerido que la miostatina (que regula la cantidad de masa muscular) aumentaría y la irisina (cuya presencia se asocia a un incremento en la masa muscular) se reduciría en sarcopenia. Actualmente la información respecto al efecto del mecanismo de acción de la miostatina ha incrementado, pero sin ser completamente descrito debido a que esta proteína representa un blanco terapéutico útil.^{8,25}

2.4.1 Miostatina

La miostatina o también conocida como factor de crecimiento y diferenciación 8 (GDF 8), actúa como regulador negativo de la masa muscular esquelética, determinando el número y el tamaño de las fibras musculares. Se ha descubierto que la disminución de la cantidad de miostatina puede provocar aumento de la masa muscular, no sólo por hipertrofia del músculo sino también por hiperplasia⁸; es por ello que el estudio de esta proteína es importante para determinar su influencia en algunas enfermedades como el SMet.

A diferencia de miostatina, un miembro altamente conservado de la transformada superfamilia del factor de crecimiento β (TGF- β), es la única mioquina que induce atrofia muscular, contrapesando las otras mioquinas anabólicas. De hecho, se informa que la inactivación del gen de la miostatina da como resultado una extensa hipertrofia del músculo esquelético en ratones, bovinos y humanos⁸.

Por tanto, la miostatina se considera una molécula diana prometedora para el tratamiento del desgaste muscular. De hecho, un enfoque de inhibición de la miostatina es muy intrigante para muchas compañías farmacéuticas y actualmente se están explorando una variedad de intervenciones farmacológicas para mejorar la masa del músculo esquelético en diversos ensayos clínicos. La inhibición de la miostatina es una etapa muy temprana del desarrollo clínico y claramente se requieren más pruebas para asegurar si este tratamiento es seguro y significativo para mejorar la masa del músculo esquelético. La eficacia de estos enfoques se hará más evidente en los próximos años cuando se anuncien los mayores resultados de ensayos clínicos.⁸

2.5 Tratamiento de la obesidad sarcopénica

Estudios diversos en animales y humanos han demostrado la interrelación entre la sarcopenia y la obesidad, así como la RI, pero la relación entre la sarcopenia y los otros signos que constituyen el SMet no se ha revisado ampliamente. Algunos autores han propuesto que la RI podría ser la causa subyacente de la asociación entre obesidad y sarcopenia, y que los ácidos grasos y los TG se relacionan a su vez con la RI.⁶ Hasta el momento, se desconocen los mecanismos que producen sarcopenia; sin embargo, debido a la complejidad del metabolismo muscular se piensa que pueden estar involucrados una gran cantidad de factores.

2.5.1 Intervención nutricional

Varios factores están involucrados en la formación de músculo, entre ellos una dieta correcta, acorde a las necesidades y requerimientos de este grupo poblacional vulnerable que comprende una ingesta adecuada de calorías y proteínas, así como actividad física y la administración de determinados aminoácidos, vitaminas y oligoelementos. Sin embargo, el tratamiento específico aún no se ha definido, debido a la actual falta de consenso y evidencia adecuada. Generalmente se aconseja proporcionar un suministro de proteína de 0,8-1,0 g/kg/día en adultos sanos, 1-1,2 g / kg / día en ancianos, incluso > 1,2 g / kg / día en pacientes ancianos con actividad física y enfermedad aguda o crónica asociada⁹. En el enfoque nutricional es fundamental la incorporación de proteínas de alto valor biológico a la dieta que junto al ejercicio de resistencia van a tener un efecto sinérgico sobre el tejido muscular. Otros autores también indican que el HMB (β -hidroxi- β -metil-butirato) metabolito natural del aminoácido esencial y ramificado de

la leucina, preserva la masa muscular en los adultos mayores y que puede ser útil en la prevención de la atrofia muscular inducida por el reposo en cama y otros factores²⁶.

La alimentación debe estar enfocada en preparaciones hiperproteicas complementado con hidratos de carbono de bajo o medio índice glucémico y moderado en grasas con el fin de mejorar su estado nutricional. Se recomienda que la ingesta de proteínas al día sea de 2-3 porciones de proteína cárnica o láctea. Hay que tener en cuenta la calidad de proteína de la dieta, de forma que el aporte proteico animal será del 60% y el 40% será de proteína vegetal²⁷.

Diversos estudios usan la leucina como parte de sus intervenciones nutricionales en pacientes sarcopénicos. Estos autores afirman que la combinación de proteínas, leucina, vitamina D y ejercicio físico no solo mejora la masa y fuerza muscular, sino que además contribuye a aumentar su bienestar²⁸.

2.5.2 Actividad física

Los datos disponibles hasta la fecha sugieren que los ejercicios de resistencia parecen ser más útiles para contrarrestar la sarcopenia, mientras que el entrenamiento aeróbico es más útil para la obesidad. Por tanto, parece razonable recomendar una combinación de ambos tipos de ejercicios en pacientes con OS. En un reciente estudio aleatorizado controlado de 6 meses en individuos obesos entre 60-80 años, se registró una mejoría en el rendimiento físico del grupo que realizó ejercicio físico combinado en contraste con aquellos que sólo realizaron ejercicios de resistencia o solo actividad aeróbica. Además, la fuerza muscular

aumentó y la masa magra disminuyó en el grupo de ejercicios combinados en comparación con el grupo de ejercicio aeróbico¹⁰. Sin embargo, se dispone de poca información sobre el efecto del ejercicio en la población que presenta OS, particularmente en poblaciones más jóvenes. Así como datos limitados sobre la eficacia de otros tipos de ejercicio donde la electroestimulación es uno de estos. La suma de un suplemento proteico con prescripción de ejercicio físico en sujetos con SO también parece ser eficaz. Sin embargo, se necesitan más estudios para definir la cantidad óptima de suplemento proteico⁹.

2.5.3 Compuestos naturales

2.5.3.1 Resveratrol (RSV)

Los fitoquímicos que se encuentran en frutas y verduras tienen potencial para inhibir la adipogénesis e inducir la apoptosis. Se ha informado que el RSV (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), una fitoalexina natural que se encuentra en los vinos tintos y el jugo de uva, tiene una variedad de efectos farmacológicos, incluidos los anticancerígenos, los antiinflamatorios y los antiplaquetarios. También se ha demostrado que reduce la síntesis de lípidos en el hígado de ratas. De igual forma se ha descrito que el RSV tiene efecto anti adipogénico ya que disminuye la hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo.²⁹⁻³⁰ En los músculos esqueléticos, se demostró que el RSV reduce la lesión del gastrocnemio en ratas. En otras investigaciones, la regeneración muscular se potenció como resultado del tratamiento con RSV en ratones. En ratas, también se demostró que el tratamiento con resveratrol atenúa el desgaste muscular durante la descarga mecánica en un

tipo de músculo de contracción lenta, el sóleo. También se demostró que el RSV favorece la adaptación fisiológica y el contenido de energía en pacientes con fatiga muscular periférica durante el ejercicio.³¹

2.5.3.2 Quercetina (QRC)

La QRC es un flavonoide dietético derivado de plantas que se puede encontrar en forma de glucósido en varios vegetales, frutas, semillas, vino tinto y té. Se presume que la QRC tiene efectos antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos e inmunoprotectores, con efectos potencialmente beneficiosos sobre las enfermedades cardiovasculares. Se ha demostrado que inhibe la captación de glucosa en adipocitos aislados de rata y aumenta la lipólisis. Un efecto sinérgico con la epinefrina ya que las catecolaminas han sido reconocidas como factores lipolíticos potentes, éstas poseen dos tipos de receptores en el tejido adiposo subcutáneo, receptores α y β . Los receptores α son antilipolíticos mientras que los receptores β son lipolíticos. Estos últimos estimulan Proteínas G que activan la enzima adenilato ciclasa aumentando las concentraciones intracelulares de cAMP (Adenosín monofosfato cíclico -segundos mensajeros-) que posteriormente activan proteínas quinasas y con esto se activa la Hormona sensible a lipasa (HSL). También se ha demostrado que la QRC reduce la proliferación celular en varios tejidos³².

Ha existido un interés creciente en la medicina occidental sobre el fenómeno causado por los compuestos naturales. Se ha demostrado que la administración simultánea de los polifenoles tiene un efecto sinérgico que ayuda al control de

algunas enfermedades como algunos tipos de cáncer, así como algunas enfermedades cardiovasculares^{30, 33}. Algunos autores, entre ellos el departamento de fisiología del Instituto Nacional de Cardiología (INC) Ignacio Chávez, han demostrado que el tratamiento con RSV y QRC es una herramienta útil para el control del SMet y la obesidad.³⁴

3. JUSTIFICACIÓN

Nuestro grupo de trabajo, departamento de fisiología del INC Ignacio Chávez, ha documentado el efecto benéfico del tratamiento con RSV y QRC en un modelo murino de SMet disminuyendo el peso corporal, la hipertensión arterial, la cantidad de grasa visceral, la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática. En estos estudios se han evaluado algunos de los mecanismos por los que estos compuestos naturales tienen efecto benéfico³⁴, sin embargo, se desconocen los efectos del RSV y QRC en el músculo esquelético. El músculo esquelético es uno de los principales tejidos afectados por la resistencia a la insulina y la obesidad que caracterizan al SMet, por lo que es relevante estudiar si la administración de la mezcla de RSV y QRC puede ser capaz de regular los mecanismos moleculares involucrados en la fisiopatología muscular, particularmente la vía de la miostatina.

4. HIPÓTESIS

Las ratas con Smet presentarán sarcopenia la cual estará asociada con el aumento de la concentración de miostatina. La administración de la mezcla de RSV y QRC evitará la disminución de la cantidad de masa muscular reduciendo la cantidad de esta mioquina.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Evaluar los efectos de la administración de la mezcla RSV y QRC en el desarrollo de sarcopenia en ratas Wistar machos con SMet.

5.2 Específicos

- Determinar la presencia de sarcopenia en los animales con SMet
- Evaluar la expresión de miostatina en músculo soleo (músculo esquelético) en las ratas con SMet.
- Evaluar el efecto de RSV y QRC en la masa muscular y en la concentración de miostatina.
- Determinar el efecto de la administración de los polifenoles en las concentraciones de leptina y adiponectina y su posible asociación con la OS.

6 METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Diseño del estudio

Ensayo experimental controlado.

6.2. Universo del trabajo y muestra

Se utilizaron ratas Wistar machos de 25 días de edad que se separaron en 4 grupos: grupo I, controles (C); grupo II, experimentales (animales con SMet); grupo III, C-RSV+QRC (control con RSV+QRC) y grupo IV, SMet-RSV+QRC (síndrome

metabólico con RSV+ QRC). El tratamiento consistió en darles de beber *ad libitum* al grupo I agua y al grupo II una solución de azúcar comercial al 30% durante 6 meses.

Cinco meses después de haber iniciado el tratamiento (C consumiendo agua simple y SMet azúcar comercial al 30%), a los grupos III y IV se les administró una mezcla comercial de RSV 50 mg/kg/día y QRC 0.95 mg/kg/día disuelto en etanol (0.2%) como vehículo en el agua de bebida (agua natural para el grupo III o solución de azúcar para el grupo IV); la solución fue preparada diariamente para evitar la degradación de los polifenoles. Los compuestos naturales se obtuvieron del suplemento alimenticio comercial marca registrada ResVitalé® que contiene 20 mg de QRC por cada 1,050 mg de RSV (Figura 2).

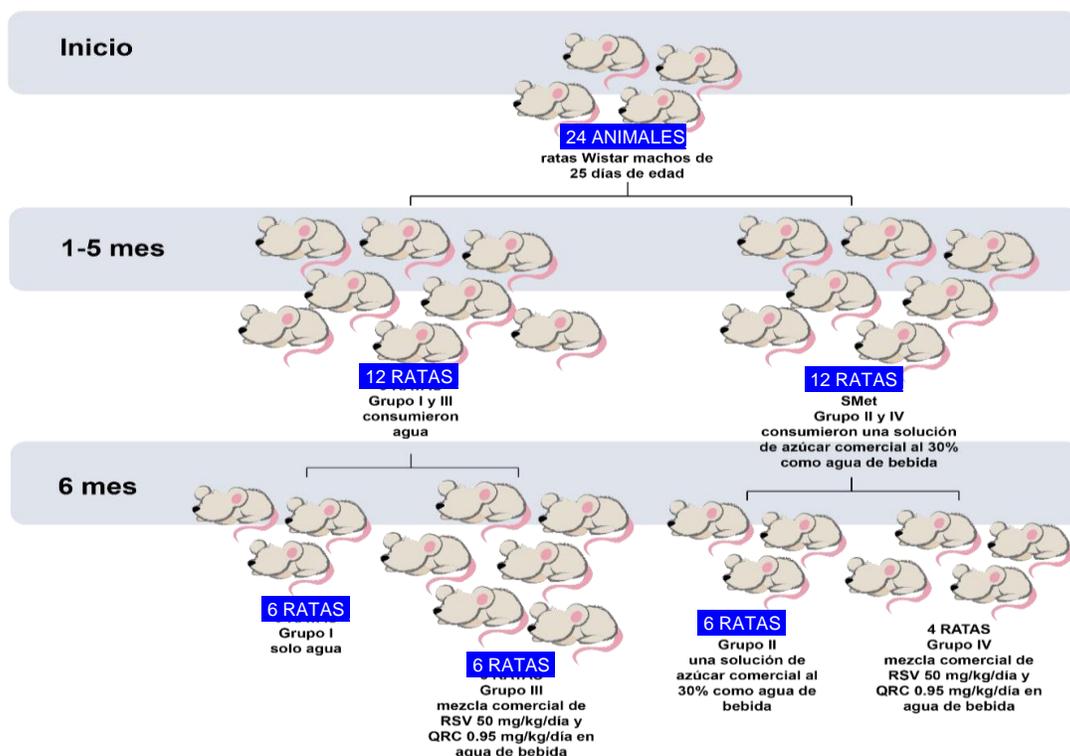


Figura 2. Diseño experimental del efecto de la administración de RSV y QRC en el desarrollo de sarcopenia asociada al SMet en un modelo murino

Dieta de los roedores: Los animales se mantuvieron en condiciones de temperatura y ciclos de luz-obscuridad controlados (12 horas). La dieta consistió en alimento comercial para roedores marca Purina 5001® (Richmond, IN) a libre demanda. El alimento contenía 23% de proteína, 12% de grasa y 65% de carbohidratos y provee 14.63 KJ/g (3.49 Kcal/g).

6.3. Técnicas, instrumentos y procedimientos de investigación

Al término de cada periodo (cada fin de mes), a las ratas se les midió la PA sistólica colocándoles un brazaletes en la cola, el cual se conectó a un transductor de pulso neumático (Narcobio-systems®, Inc., Healthdyne. Co) y un electroesfingomanómetro programado y se registró su peso corporal. Una vez concluidos los 6 meses de tratamiento y posterior a un ayuno de aproximadamente 14 horas, los animales se sacrificaron por decapitación para la obtención del suero, grasa abdominal y músculo esquelético. Para la obtención del suero, la sangre se centrifugó en una centrífuga clínica a 600 g durante 15 minutos a temperatura ambiente, se recuperó el suero con ayuda de una pipeta y se guardó a -20°C. El tejido adiposo visceral se extrajo y se pesó en fresco.

6.3.1. Análisis bioquímicos en suero

Las concentraciones séricas de colesterol total (COL), colesterol LDL, C-HDL, TG y glucosa se determinaron mediante métodos enzimáticos colorimétricos comerciales siguiendo las instrucciones del fabricante (RANDOX® Laboratories, UK). Se determinó el C-HDL en la fracción del fondo obtenida mediante ultracentrifugación del plasma a una densidad de 1.063 g/mL por 2.5 h a 100,000

rpm (Beckman® óptima TLX). Para el cálculo de C no HDL este se definió como la diferencia entre el valor de COL y el C-HDL, por lo que no solo incluye el colesterol de las LDL, sino que comprende las fracciones de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las VLDL. Las concentraciones de insulina, leptina y adiponectina fueron determinadas mediante la técnica de radio-inmuno análisis con kits específicos para rata siguiendo las instrucciones del fabricante (Linco Research®, Inc. St Charles, MO, USA). El índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR; modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina) se calculó mediante la fórmula:

$$\text{HOMA-IR} = (\text{Insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{Glucosa } (\text{mmol/L})) / 22.5$$

6.3.2. Obtención y procesamiento del músculo esquelético

El músculo sóleo se extrajo, se limpió del tejido conectivo, se pesó en fresco, se congeló en nitrógeno líquido y se mantuvo en ultracongelación (-70°C) hasta su uso. Se obtuvo el peso estandarizado, dividiendo el peso fresco del músculo en gramos, sobre el peso corporal en gramos, y este valor se consideró como índice de OS.

El tejido congelado se homogenizó en un mortero con buffer de lisis 25% peso fresco/v (25 mM Hepes, 100 mM NaCl, 15 mM Imidazol, 10% glicerol, 1% Triton X-100) pH 8, e inhibidores de proteasas. El homogenizado se centrifugó a 19,954 x g durante 10 minutos a 4°C, se separó el sobrenadante en el que se determinó la concentración de proteína por el método de Bradford³⁵. La

determinación se lleva a cabo midiendo la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro marca Eppendorf®.

6.4. Desarrollo del proyecto

6.4.1. Separación de proteínas por electroforesis.

Las muestras de proteína se separaron por el método propuesto por Laemmli, las cuales se sometieron a un proceso de electroforesis desnaturizante.³⁶El gel de poliacrilamida separador se elaboró al 12 % y el gel concentrador al 4% una vez polimerizado todas las muestras se cargaron por pozo, el volumen de todas las muestras se ajustó para que tuvieran 50 µg de proteína total y se agregó buffer de carga 3x (0.5 M Tris HCl pH 6.8, 3 g SDS, 2 mercaptoetanol, 100% glicerol, azul de bromofenol 0.75 mg) (Tabla 3). Estas muestras previamente se calentaron a 100°C durante 5 minutos y después se centrifugaron por 5 segundos a 13.2 rpm. Se colocaron 6 muestras en total por gel. En un gel se cargaron los grupos controles I y III (3 muestras de C y 3 muestras del grupo C-RSV+QRC, correspondientes a diferentes animales) mientras que en otro gel se corrieron los grupos II y IV (3 muestras de cada grupo) además se incluyó en un carril un marcador de peso molecular (precision plus protein dual standards, marca BioRad®). Posterior a esto, se aplicó un voltaje de 40 mV durante 15 minutos, para asegurar que las muestras llegaran al gel separador al mismo tiempo, y después se aumentó el voltaje a 100 mV durante 2 horas aproximadamente.

| Tabla 3. Muestras de proteína | | | |
|--|----|-----------------------------|------------------|
| Volumen de muestra (μL) correspondiente a: | | 50 μg | Buffer 3x |
| Grupo I - Controles | 1 | 3.889 | 1.296 |
| | 2 | 3.902 | 1.300 |
| | 3 | 7.997 | 2.665 |
| Grupo II - SMet | 4 | 17.322 | 5.774 |
| | 5 | 7.605 | 2.535 |
| | 6 | 6.779 | 2.259 |
| Grupo III – Control – RSV+QRC | 7 | 4.120 | 1.373 |
| | 8 | 3.886 | 1.295 |
| | 9 | 5.404 | 1.801 |
| | 10 | 6.270 | 2.090 |
| | 11 | 5.450 | 1.816 |
| Grupo IV - SMet- RSV+QRC | 12 | 7.407 | 2.469 |
| | 13 | 3.972 | 1.324 |
| | 14 | 4.856 | 1.618 |
| | 15 | 4.293 | 1.431 |

6.4.2. Western Blot.

6.4.2.1 Transferencia de proteínas.

La transferencia de las proteínas separadas por electroforesis a una membrana de PVDF (Fluoruro de polivinilideno), se llevó a cabo por el método de Towbin³⁷. En la cual se utilizó una cámara húmeda (BIO-RAD®), a 4°C y a 1 A durante 1 hora y con agitación constante. La membrana de PVDF se activó utilizando metanol al 100% y se colocó sobre el gel de acrilamida.

6.4.2.2 Bloqueo de la membrana

Al finalizar la transferencia, se dejó secar la membrana a temperatura ambiente y se volvió a humedecer con metanol al 100 % para fijar aún más las proteínas a la membrana. Después la membrana se incubó con una solución de leche en polvo marca svelty Nestlé® al 5 % disuelta en buffer TBS más tween-20 al 0.1 %. La incubación se llevó a cabo durante toda la noche a 4°C en agitación constante. Esta técnica ya fue utilizada previamente³⁸.

La identificación de la miostatina se realizó mediante inmunodetección. La membrana de PVDF se incubó con un anticuerpo primario (Anti-GDF8/ Myostatin antibody ab203076 marca abcam®) en una solución de TBS/tween toda la noche a 4°C. Al final de la incubación, el anticuerpo primario se recuperó y la membrana se lavó cuatro veces por 10 minutos, con una solución de TBS-Tween 0.1 %. Posteriormente, la membrana se incubó con un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa de rábano (HRP específico para anticuerpo primario marca Abcam®, ab205718) disuelto en una solución de TBS-Tween 0.1 %. La incubación con el anticuerpo secundario se llevó a cabo durante toda la noche a 4° C. Al término, el anticuerpo secundario se eliminó y la membrana se lavó cuatro veces por 10 minutos, con una solución de TBS-Tween 0.1 %. Como control de carga se utilizó a la proteína Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH; anticuerpo marca Abcam® ab8245) para normalizar los niveles de miostatina detectados en cada muestra.

6.4.2.3 Inmuquimioluminiscencia

La detección del anticuerpo unido a la proteína de interés se realizó mediante el uso de un kit de quimioluminiscencia marca Milipore®. La luminiscencia emitida fue captada mediante la exposición y el revelado de una placa de rayos X en un cuarto oscuro con luz roja. El análisis semi-cuantitativo de la expresión de la miostatina y GAPDH se evaluó mediante densitometría utilizando un equipo Bio-Rad® GS-800.

6.5. Diseño de análisis estadístico

Los resultados se reportan como el promedio \pm desviación estándar. A los resultados obtenidos se les aplicó análisis estadísticos utilizando el programa Sigma Plot 12 (Jandel Scientific®). La prueba t de Student se usó para la comparación de dos grupos con una sola variable mientras que el análisis de varianza (ANOVA) se aplicó para las comparaciones entre distintos grupos. Una $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

7 RESULTADOS

En el grupo II-SMet la administración de sacarosa en el agua al 30% durante 6 meses mostró un incremento significativo del peso corporal, acumulación de adiposidad central (ADC), aumento de PA, niveles de insulina y un mayor puntaje en el parámetro HOMA-IR, comparadas con las del grupo I-contróles. Además, hubo una disminución significativa en los niveles de insulina, por tanto, un menor puntaje en el parámetro de HOMA-IR, PA y ADC del grupo IV- SMet- RSV+QRC comparado

con las ratas del grupo II-SMet, pero no se observó un cambio en el peso corporal. Los niveles de glucosa no se vieron alterados en ninguno de los casos (Tabla 4). El tratamiento con los compuestos naturales no modificó significativamente ningún parámetro en el grupo III- Control- RSV+QRC.

Tabla 4. Validación modelo de sacarosa 30%

| | Control (grupo I) | Síndrome metabólico (grupo II) | Control RSV 50 + QRC 0.95 mg/kg/día (grupo III) | SMet RSV 50 + QRC 0.95 mg/kg/día (grupo IV) |
|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--|--|
| Peso corporal (g) | 457.2 ± 13.7 | 598.1 ± 9.1** | 514.2 ± 20.9 | 481.8 ± 7.7 |
| ADC (g) | 4.9 ± 0.3 | 12.9 ± 0.3** | 6.3 ± 0.9 | 7.8 ± 1.0 # |
| PA (mm Hg) | 102.8 ± 0.8 | 141.8 ± 0.9** | 110.8 ± 3.9 | 115.4 ± 2.9 # |
| Glucosa (mg/dL) | 93.0 ± 3.3 | 95.5 ± 2.4 | 91.1 ± 5.2 | 90.1 ± 2.2 |
| Insulina (μU/mL) | 0.14 ± 0.03 | 0.45 ± 0.05** | 0.12 ± 0.02 | 0.16 ± 0.01 # |
| HOMA-IR | 0.81 ± 0.19 | 2.16 ± 0.30** | 0.56 ± 0.10 | 0.60 ± 0.07 # |

Los valores se presentan como promedio ± desviación estándar *n*=6 por grupo.

** *p*< 0.01 SMet vs. Control

p< 0.01 SM + RSV-QRC vs. SMet

* *p*< 0.01 C RSV+QRC vs. Control

7.1 Concentración de triglicéridos y colesterol

En la evaluación de la presencia de dislipidemia, un factor fisiopatológico del SMet, se determinaron los niveles de TG, COL, C-HDL y colesterol no HDL (C no-HDL) en suero. El grupo II (SMet) tuvo una mayor concentración de TG comparado con el grupo I control ($p < 0.01$). Sin embargo, la administración de RSV + QRC a una dosis de 50 mg y 0.95; respectivamente, previno el aumento de la concentración sérica de TG, como se observó en el grupo IV ($p < 0.01$) pero en el grupo III control con RSV +QRC no se encontró ningún efecto (Figura 3). Se determinó la concentración sérica de COL en los grupos I (control) y II (SMet), no se encontraron diferencias entre ellos, ni con los grupos que recibieron tratamiento (Figura 4).

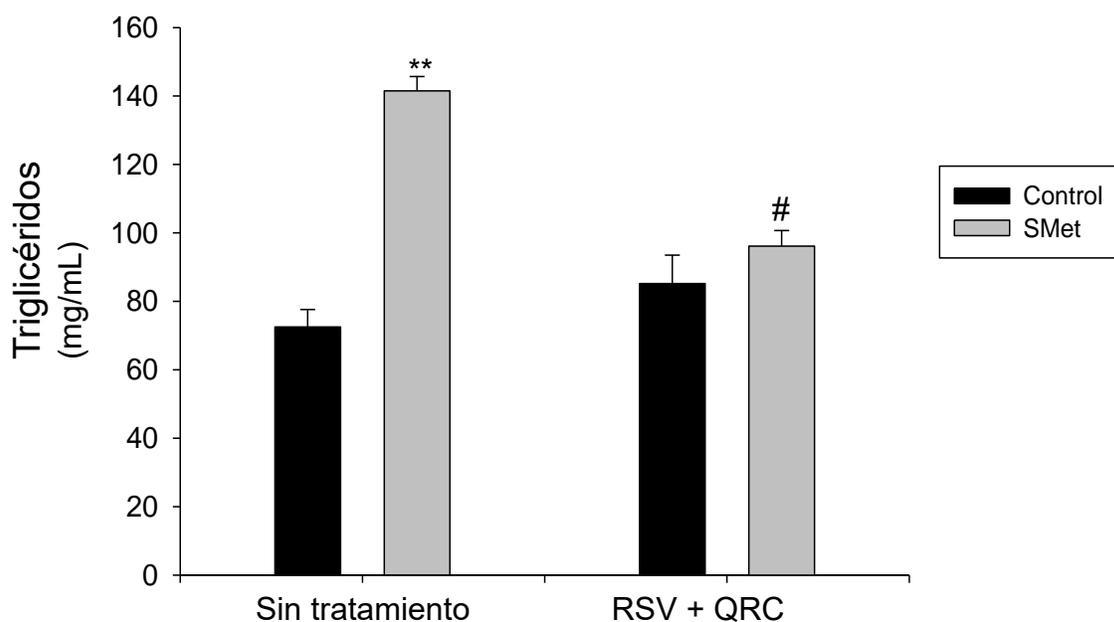


Figura 3. Valores séricos de TG

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. $n=6$ por grupo ** $p < 0.01$ SMet vs. Control; # $p < 0.01$ SMet – RSV+QRC vs. SMet.

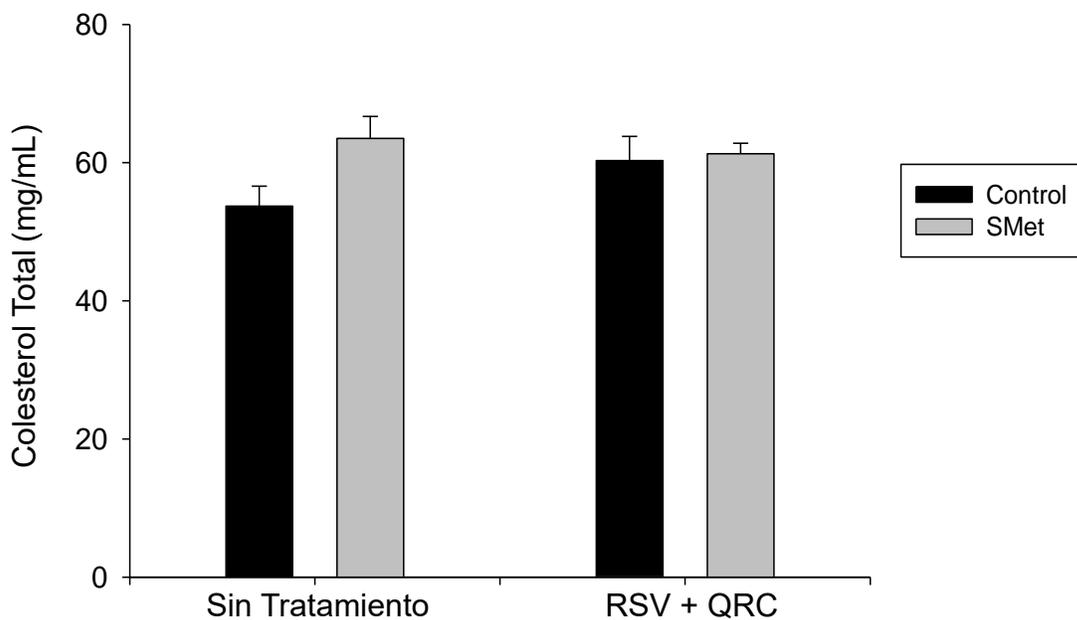


Figura 4. Valores séricos con COL en los animales controles y con SMet tratados con la mezcla de polifenoles

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. n=6 por grupo

Al término del tratamiento, el grupo II- SMet presentó menores concentraciones de C-HDL en suero comparado con el grupo I -Controles ($p < 0.01$), pero al evaluar el efecto del tratamiento con los polifenoles, la concentración de C-HDL del grupo IV aumentó, siendo este valor significativamente diferente en comparación con el grupo SMet (Figura 5). La concentración de C no-HDL en suero se encontró elevada en el grupo II - SMet en comparación significativa con el grupo I control ($p < 0.01$), pero al administrar RSV + QRC se disminuyeron los niveles de C no-HDL en el grupo IV ($p < 0.01$) (Figura 6). Los valores del grupo control no se vieron afectados con el tratamiento con los compuestos naturales.

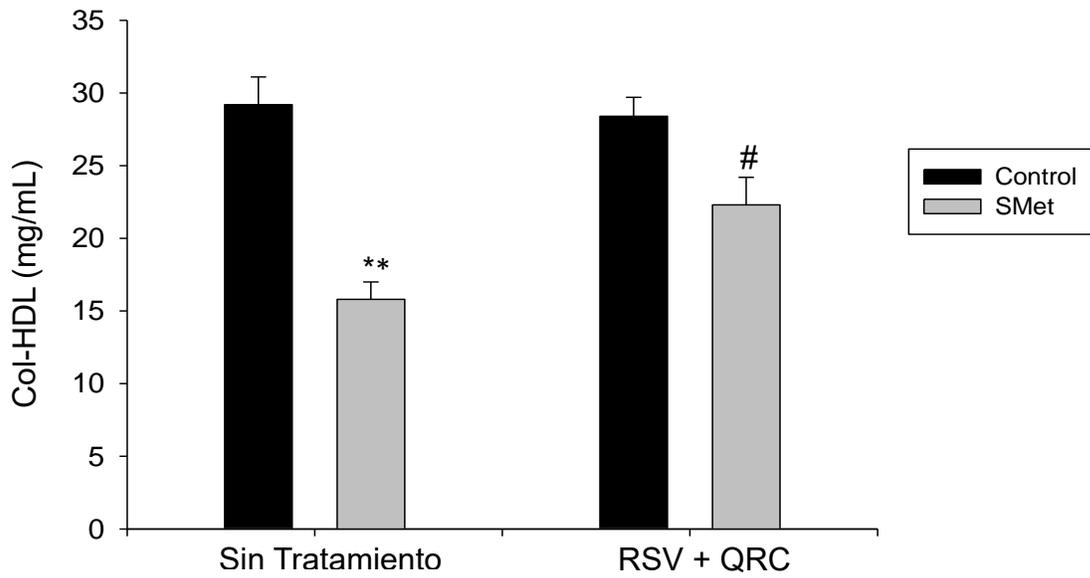


Figura 5. Valores séricos de Col-HDL en animales tratados con RSV y QRC

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. $n=6$ por grupo $**p < 0.01$ SMet vs. Control; $\#p < 0.01$ SMet + RSV-QRC vs. SMet.

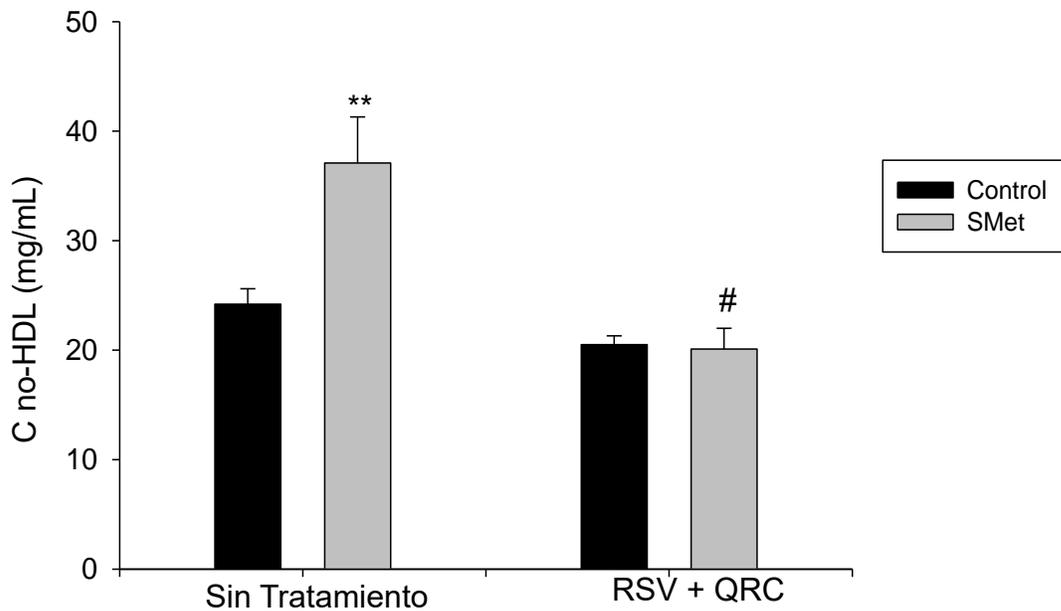


Figura 6. Efecto de la administración de RSV y QSC en los valores séricos de Col-no HDL

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. $n=6$ por grupo $**p < 0.01$ SMet vs. Control; $\#p < 0.01$ SMet + RSV-QRC vs. SMet.

7.2 Concentración de adipocinas

En la valoración de la concentración sérica de leptina, se puede apreciar que los resultados del grupo II (SMet) son superiores y significativos ($p < 0.01$) en comparación con el grupo I (control) y que la administración del tratamiento RSV 50mg/kg/día - QRC 0.95mg/kg/día promueve una disminución en los niveles séricos de la leptina en el grupo IV comparado con el grupo II (SMet) ($p < 0.01$). En cuanto al grupo III (control-RSV + QRC a una dosis de 50 mg y 0.95; respectivamente) no se observó ningún cambio (Figura 7).

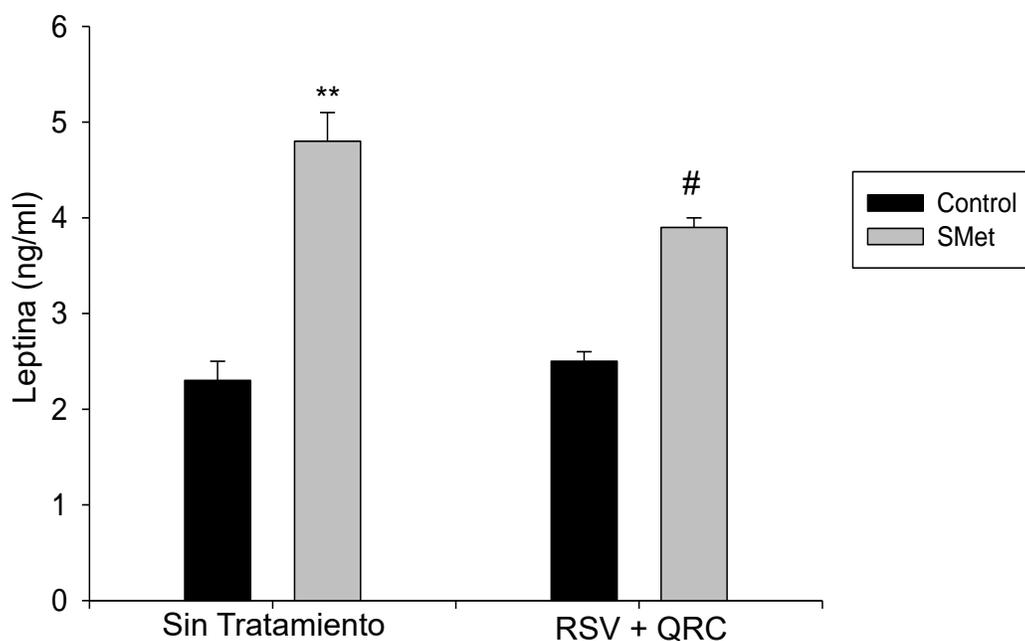


Figura 7. Valores séricos de leptina de animales Controles y con SMet tratados con compuestos naturales.

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. $n=6$ por grupo ** $p < 0.01$ SMet vs. Control; # $p < 0.01$ SMet + RSV-QRC vs. SMet.

La adiponectina sérica tuvo un valor superior en el grupo SMet comparado con el grupo control ($p < 0.01$). Sin embargo, la administración de RSV + QRC a una dosis de 50 mg y 0.95; respectivamente, previene el aumento de la concentración sérica de adipocina como se observó en el grupo IV ($p < 0.01$) pero en el grupo control con RSV +QRC no se encontró ningún efecto (Figura 8).

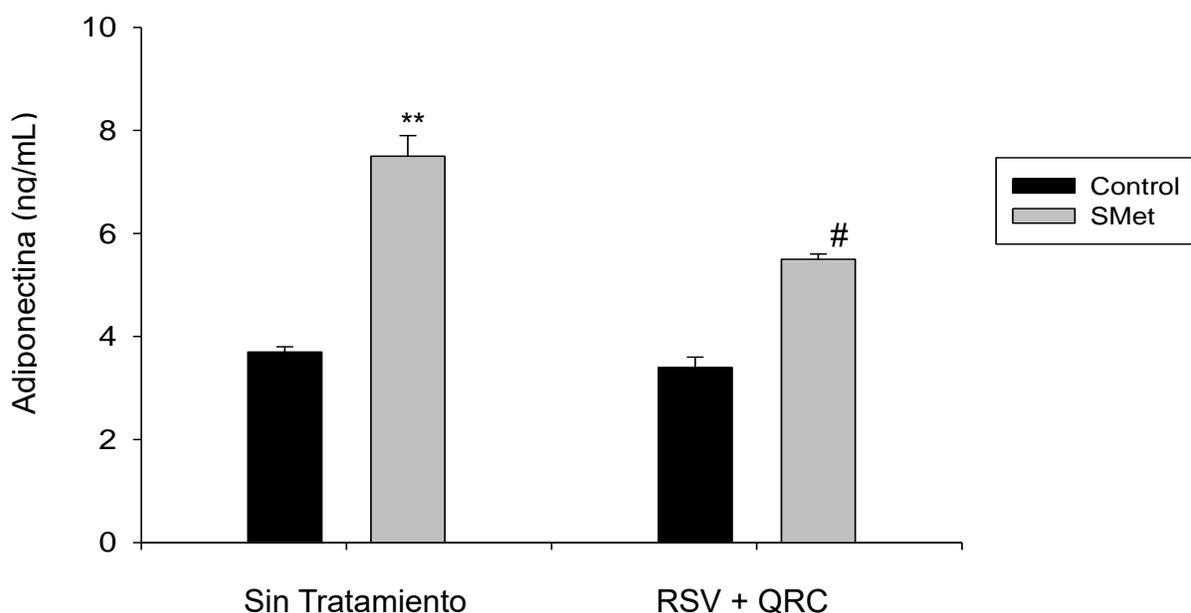


Figura 8. Valores séricos de adiponectina.

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. $n=6$ por grupo
 ** $p < 0.01$ SMet vs. Control; # $p < 0.01$ SMet – RSV+QRC vs. SMet.

7.3 Determinación del peso del músculo sóleo

Se observó que las ratas con SMet tienen menor cantidad de masa muscular comparada con el grupo control ($p < 0.05$) y que la administración del tratamiento RSV 50mg/kg/día - QRC 0.95mg/kg/día promueve un aumento del músculo soleo en ambos grupos, III y IV ($p < 0.05$). Los datos se obtuvieron mediante peso estandarizado (Figura 9).

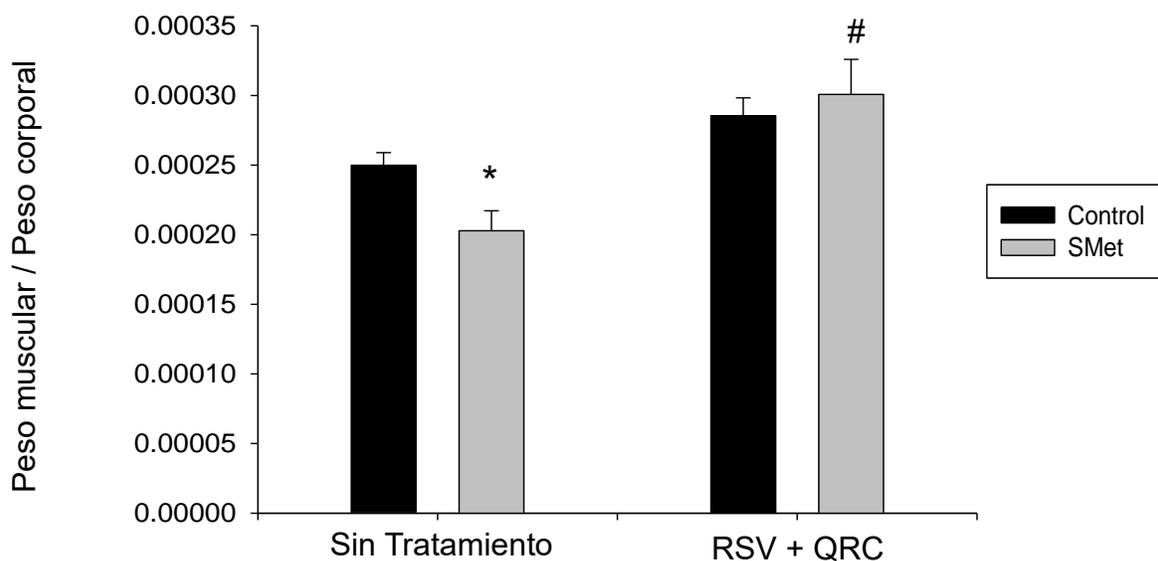
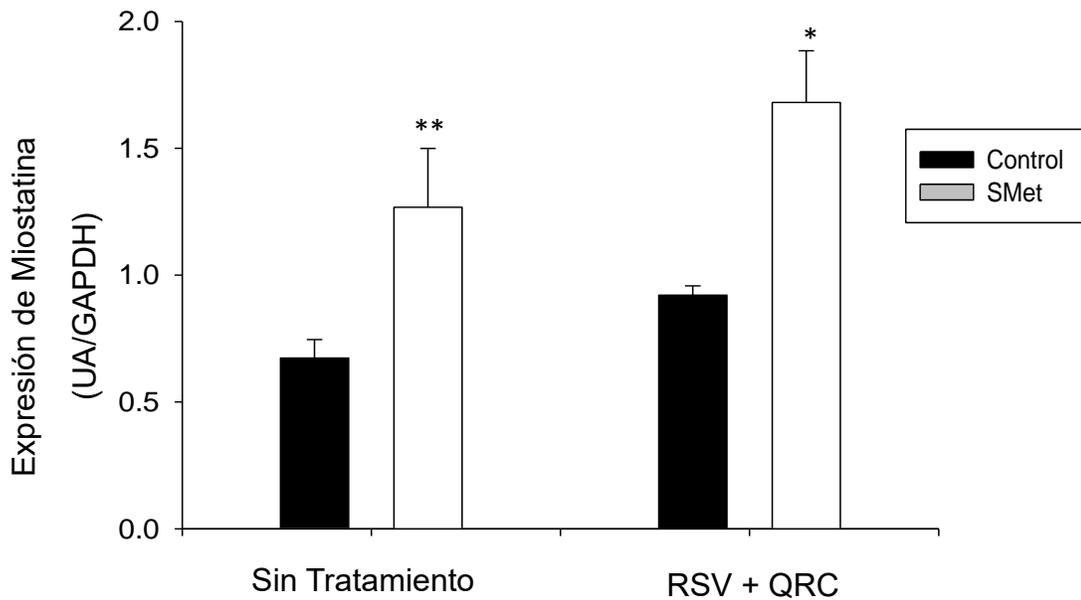


Figura 9. Determinación del peso del músculo sóleo normalizado con el peso corporal.

Los valores se presentan como promedio \pm error estándar. $n=6$ por grupo * $p < 0.05$ SMet vs. Control; # $p < 0.05$ RSV+QRC vs. Sin tratamiento, respectivo grupo.

7.4 Expresión de miostatina

Debido a que la presencia de sarcopenia se asocia con el aumento en la cantidad de la miostatina, se decidió evaluar la concentración de esta proteína en nuestros grupos experimentales. La figura 10 muestra que el grupo SMet sin tratamiento tuvo una mayor concentración de esta proteína comparado con el grupo control ($p < 0.01$). La administración del tratamiento RSV 50mg/kg/día - QRC 0.95mg/kg/día mantiene las diferencias entre los grupos control y con SMet.



Miostatina control

Miostatina SMet

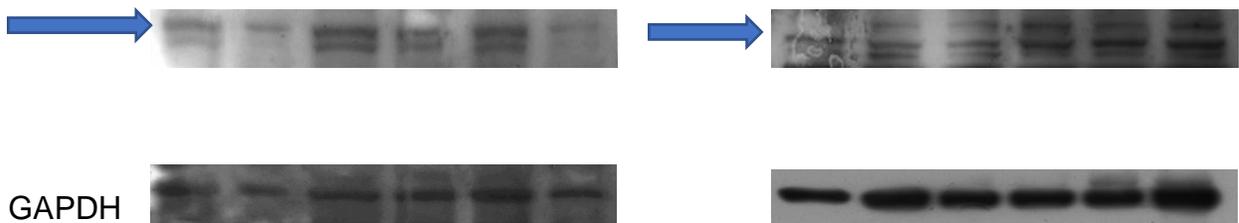


Figura 10. Efecto de la administración de la mezcla de resveratrol y quercetina en la expresión de miostatina en músculo de ratas controles y con SMet.

Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. * $p < 0.01$ SMet vs. Control

8. DISCUSIÓN

La presente tesis aborda un tema importante pues existen pocos reportes acerca del estudio de la sarcopenia y su asociación con el SMet, así como reportes que demuestran el efecto del RSV y QRC en la concentración de miostatina, el regulador negativo de la masa muscular.

El tratamiento con sacarosa al 30% provocó en las ratas un incremento en parámetros comúnmente medidos para determinar SMet, tal como lo describen otros autores, quienes mencionan que a partir de los 4 meses de ingesta de sacarosa los animales muestran incremento de peso, adiposidad central (siendo este un mejor indicador de obesidad en los modelos animales), hipertensión arterial e hipertrigliceridemia y posteriormente a los 6 meses se hace evidente la hiperinsulinemia y disfunción vascular.^{2,13,39}

Se ha descrito que el aumento en la cantidad de grasa visceral, característica del SMet, está estrechamente asociado con la disminución de la masa muscular ⁶. Esta asociación puede deberse a la modificación en la cantidad de adipocinas secretadas por este tejido como la leptina y adiponectina. Estas hormonas participan de manera importante en la regulación del metabolismo de los carbohidratos y de las grasas, pero se conoce también que pueden ejercer diferentes acciones en distintos órganos y tejidos como el músculo esquelético. Específicamente, la leptina puede favorecer la captación de glucosa y la oxidación de grasas en el músculo, efecto que se pierde en situaciones de resistencia a la leptina como ocurre en el SMet. En obesidad, el aumento en la concentración de esta adipocina se asocia negativamente con la cantidad de masa muscular^{40, 41}. Por otro lado, la adiponectina modula el metabolismo muscular y disminuye el proceso inflamatorio en este tejido. Actualmente, existe información controversial acerca de la relación de los niveles de adiponectina y la presencia de sarcopenia; sin embargo, un estudio demostró la asociación de sarcopenia con niveles elevados de adiponectina⁴². Nuestro modelo con SMet tiene concentraciones elevadas de leptina

y adiponectina (figuras 7 y 8) por lo que coincide con la información reportada y apoya el hecho de que la sarcopenia está asociada con la concentración de estas adipocinas.

Otro de los signos del SMet es la resistencia a la insulina, condición que también se ha asociado con la disminución de la masa muscular⁴³. La insulina es la hormona que ejerce la mayor parte de los efectos metabólicos y anabólicos en el músculo ya que promueve la captación de glucosa y favorece la síntesis de proteínas. En nuestro estudio, los animales con SMet presentaron resistencia a la insulina (Tabla 4) indicado por el índice HOMA, por lo que la disminución en la masa muscular de las ratas del grupo II (Figura 9), también puede estar asociada a esta condición.

Se sabe que la obesidad está estrechamente relacionada con la dislipidemia y que los ácidos grasos libres pueden acumularse y causar daño en órganos como el hígado, el páncreas y el músculo esquelético. Específicamente, la acumulación de TG en el músculo contribuye a la presencia de resistencia a la insulina pues se pierde la capacidad para metabolizar la glucosa y los lípidos para la obtención de energía⁴⁴. Nuestros resultados mostraron que la presencia de dislipidemia podría relacionarse con la sarcopenia; sin embargo, existen pocos reportes que demuestren esta relación. Un estudio clínico realizado en un grupo de jóvenes, no encontró una correlación estadísticamente significativa entre masa muscular y dislipidemia⁴⁵ por lo que pensamos que sería interesante realizar más estudios sobre este tema.

Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con RSV y QRC fue capaz de prevenir la disminución de la masa muscular en los animales con SMet. Este efecto puede estar asociado a la reducción de factores como la adiposidad central, la concentración de leptina y de adiponectina, así como al aumento en la sensibilidad a la insulina (disminución de índice HOMA, tabla 4). En el grupo control, el tratamiento con los polifenoles no tiene efecto significativo en ninguno de estos parámetros.

Por otro lado, la sarcopenia es un proceso complejo y multifactorial en el que están involucrados diferentes factores liberados por órganos así como por factores producidos de forma local por el músculo que se encargan de regular el metabolismo, la síntesis y degradación de proteínas⁴⁶. Uno de estos factores es la miostatina.

El aumento de los niveles de miostatina tanto en el músculo como en la sangre se ha asociado con una carga mecánica baja (p. ej., inmovilización, reposo en cama, lesiones músculo esqueléticas, sarcopenia, cáncer e inflamación), lo que conduce a atrofia y atrofia muscular. Las mutaciones de pérdida de función o la eliminación del gen de la miostatina están asociadas con hipertrofia e hiperplasia muscular, relacionadas con la duplicación de la masa muscular en varios mamíferos, como ratones, perros, ovejas y humanos.⁴⁷

En un trabajo generado en Sevilla, se hace referencia al mecanismo de acción de esta mioquina, en él se indica que el aumento de la miostatina puede deberse a la acción de los factores de transcripción como la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP) y la proteína de unión al elemento

Un trabajo en el que se analizó a la miostatina como biomarcador sérico del progreso de la Distrofia Muscular Duchenne (DMD), menciona que al bloquear miostatina endógena en ratones durante tres meses obtuvieron aumentos significativos de la masa muscular y de la fuerza absoluta, además de una reducción significativa de la degradación muscular, afirmando que el bloqueo de miostatina proporciona una nueva vía farmacológica para enfermedades como la DMD. También señala que otro estudio mostró que el bloqueo de miostatina en ratones con músculos dañados por toxinas o que genéticamente eran deficientes (mdx), aumentaba el grosor de las fibras musculares y reducía la fibrosis, generando una mejora funcional en los modelos mdx⁴⁹.

En diversos estudios *in vitro* e *in vivo* demostraron que los ratones con deficiencia de miostatina presentaron una masa muscular significativamente mayor caracterizada por un área de sección transversal aumentada y un número elevado de fibras. La miostatina no solo regula negativamente la masa de músculo esquelético luego de su liberación bajo una lesión traumática o condiciones catabólicas, sino que también puede regular el desarrollo óseo y la reparación ósea; específicamente, la miostatina actúa negativamente sobre la formación ósea y positivamente sobre la resorción ósea^{47, 49}.

En este experimento al evaluar el efecto de RSV y QSC en la masa muscular y en la concentración de miostatina se habría esperado que la concentración de esta mioquina disminuyera ya que la administración del tratamiento RSV 50mg/kg/día – QRC 0.95 mg/kg/día promovió un aumento del músculo soleo en grupos III y IV ($p < 0.05$); sin embargo, se pudo apreciar que a pesar de la administración de los

polifenoles, la diferencia en las concentraciones se mantuvo entre los grupos. Este resultado sugiere la posibilidad de explorar la vía de señalización de esta mioquina y evaluar si el tratamiento con los polifenoles tiene algún efecto en ésta.

Esto puede deberse a que esta mioquina es altamente versátil y está implicada en patologías como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la diabetes tipo II. Además, se sabe que alteraciones genéticas que la sobre expresan se ligan a resistencia a la insulina, así como la pérdida de la masa muscular. Y se ha determinado que hay un incremento de miostatina favorecido por el entrenamiento de resistencia. A pesar de que cada vez es más claro que un aumento en la miostatina está implicado en los mecanismos genéticos y epigenéticos que disminuyen la masa muscular y que su decremento, aumenta la masa magra y la formación ósea.⁵⁰

9 CONCLUSIÓN

Los animales con SMet presentan sarcopenia; esta condición está asociada con el aumento en la expresión de miostatina. El tratamiento con el RSV y QRC es una herramienta útil para prevenir la disminución de la masa muscular al revertir algunos factores fisiopatológicos de riesgo del SMet como la dislipidemia, la resistencia a la insulina y al aumento en la concentración de leptina y adiponectina.

REFERENCIAS

1. Rosique-Esteban N, et al. Leisure-time physical activity at moderate and high intensity is associated with parameters of body composition, muscle strength and sarcopenia in aged adults with obesity and metabolic syndrome [La actividad física en el tiempo libre a intensidad moderada y alta se asocia con parámetros de composición corporal, fuerza muscular y sarcopenia en adultos mayores con obesidad y síndrome metabólico]. PREDIMED-Estudio Plus, Clinical Nutrition. 2018; <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.05.023>
2. Peredo A. Efecto del resveratrol y la quercetina en el control de la expresión de moléculas sujetas a control epigenético asociadas al síndrome metabólico en un modelo de rata [tesis de maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México, México; 2015
3. Carvajal Carvajal Carlos. Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento. Med. Leg. Costa Rica [Internet]. 2017 Mar [cited 2021 Sep 05]; 34(1): 175-193. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152017000100175&lng=en
4. García-García F. J., Monistrol-Mula A., Cardellach F., y Garrabou, G. Nutrition, Bioenergetics, and Metabolic Syndrome [Nutrición, bioenergética y síndrome metabólico]. Nutrients. 2020; 12(9): 2785. <https://doi.org/10.3390/nu12092785>
5. Kahn CR, Wang G. y Lee KY. Tejido adiposo alterado y función de los adipocitos en la patogenia del síndrome metabólico. *The Journal of Clinical Research*. 2019; 129 (10), 3990–4000. <https://doi.org/10.1172/JCI129187>
6. Rubio-Ruiz ME, Guarner-Lans V., Pérez-Torres I. y Soto ME. Mechanisms underlying metabolic syndrome-related sarcopenia and possible therapeutic measures [Mecanismos subyacentes a la sarcopenia relacionada con el síndrome metabólico y posibles medidas terapéuticas]. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (3): 647. <https://doi.org/10.3390/ijms20030647>
7. Tournadre A., Vial G., Capel, F., Soubrier M. y Boirie, Y. Sarcopenia. *Columna articular ósea*. 2019; 86 (3): 309-314.
8. Romagnoli C., Pampaloni B. y Brandi ML. Endocrinología muscular y su relación con la nutrición. *Investigación clínica y experimental sobre el envejecimiento*. 2019; 31 (6): 783-792.
9. Ciudin A, Simó-Servat A, Palmas F, Barahona MJ. Obesidad sarcopénica: un nuevo reto en la clínica práctica. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*. 2020 1 de diciembre; 67 (10): 672-81. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2020.03.004>
10. JAL Calbet CFF. La miostatina y el crecimiento muscular. *Archivos de medicina del deporte: revista de la Federación Española de Medicina del Deporte y de la Confederación Iberoamericana de Medicina del Deporte*. 2003; 20 (95): 237–42.
11. Bureau G., Longpré F. y Martinoli MG. El resveratrol y la quercetina, dos polifenoles naturales, reducen la muerte celular neuronal apoptótica inducida por

- la neuroinflamación. Revista de investigación en neurociencia. 2008; 86 (2), 403-410.
12. Rubio-Ruiz ME, Peredo-Escárcega AE, Cano-Martínez A, Guarner-Lans V. Una perspectiva evolutiva de la nutrición y la inflamación como mecanismos de enfermedad cardiovascular. *Int J Evol Biol.* 2015; 2015: 179791. doi: 10.1155 / 2015/179791. Publicación electrónica el 29 de noviembre de 2015. PMID: 26693381; PMCID: PMC4677015.
 13. Castro D. Asociación entre la masa magra, masa grasa y obesidad sarcopénica con el síndrome metabólico [tesis de por el grado de médico internista]. Universidad Autónoma de México, México; 2020.
 14. Fragozo-Ramos MC. Síndrome metabólico: revisión de la literatura. *Med. Lab.* [Internet]. 11 de enero de 2022 [citado 25 de julio de 2022];26(1):47-2. Disponible en: <https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/559>
 15. Pacheco-Armenta M. C., y Jáquez-Torres J. Á. Prevalencia de síndrome metabólico en la consulta externa. *Revista de Sanidad Militar.* 2017; 71(3): 264-275.
 16. Nishikawa H, Asai A, Fukunishi S, Nishiguchi S, Higuchi K. Síndrome metabólico y sarcopenia. *Nutrientes.* 7 de octubre de 2021; 13 (10): 3519. doi: 10.3390/nu13103519. PMID: 34684520; IDPM: PMC8541622.
 17. Gusmão-Sena MHL, Curvello-Silva K, Barreto-Medeiros JM, da-Cunha-Daltro CH. Association between sarcopenic obesity and cardiovascular risk: where are we? *Nutr Hosp* 2016; 33:1245-1255. DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.592>
 18. Rubio-Ruiz ME., Vázquez-Meza H., Guarner-Lans V. El Síndrome metabólico como proceso inflamatorio. *Anestesia Cardiovascular.* Editorial Alfíl. 2013; 4:157-167. ISBN: 978-607-8283-09-5
 19. Sánchez-Muñoz F, García-Macedo Rebeca, Alarcón-Aguilar Francisco, Cruz Miguel. Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gac. Méd. aMéx*[revista en la Internet].2005 Dic [citado 2022 Feb 27];141(6):505-512.Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132005000600009&lng=es
 20. McCracke Emma, Monaghan Monica Y Sreenivasan Shiva. Pathophysiology of the metabolic síndrome [Fisiopatología del síndrome metabólico]. *Clinics in dermatology.* 2017; 36(1):14-20
 21. Martos-Moreno GA, Kopchick JJ, Argente J. Adipoquinas en el niño sano y con obesidad [Adipokines in healthy and obese children]. *An Pediatr (Barc).* 2013 Mar;78(3):189.e1-189.e15. Spanish. doi: 10.1016/j.anpedi.2012.10.008. Epub 2012 Nov 24. PMID: 23228441; PMCID: PMC4307602.
 22. Stern JH, Rutkowski JM, Scherer PE. Adiponectina, leptina y ácidos grasos en el mantenimiento de la homeostasis metabólica a través de la diafonía del tejido adiposo. *Metab. celular* 2016 10 de mayo; 23 (5): 770-84. doi: 10.1016/j.cmet.2016.04.011. PMID: 27166942; PMCID: PMC4864949.

23. Minokoshi Y., Toda C. y Okamoto, S. Papel regulador de la leptina en el metabolismo de la glucosa y los lípidos en el músculo esquelético. *Revista india de endocrinología y metabolismo*. 2012; 16 (3): S562-S568. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.105573>
24. C. Ferragut Fiol and JAL. Calbet. La miostatina y el crecimiento muscular. *Archivos de medicina del Deporte*. 2003; 20 (95). 237-242
25. Ossman JJ, Revelo RR. Obesidad sarcopénica. Recomendaciones de la asociación colombiana en endocrinología, diabetes y metabolismo para el manejo de la obesidad. 2020; (2) 87
26. Lara J., Carolina A., y Mosquera Looor M. Manejo nutricional de la obesidad sarcopénica en el adulto mayor. BS [tesis de licenciatura]. 2021.
27. Burgos Peláez R.. Enfoque terapéutico global de la sarcopenia. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2006 Mayo [citado 2022 Mar 04] ; 21(Suppl 3): 51-60. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000600008&lng=es.
28. Rubio del Peral José Andrés, Gracia Josa Ma. Sonia. Suplementos proteicos en el tratamiento y prevención de la sarcopenia en ancianos. Revisión sistemática. *Gerokomos* [Internet]. 2019 [citado 2022 Mar 04] ; 30(1): 23-27. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-928X2019000100023&lng=es.
29. Gibellini L., Pinti M., Nasi M., Montagna JP, De Biasi S., Roa, E., y Cossarizza, A. Quercetina y quimiopreención del cáncer. *Medicina complementaria y alternativa basada en evidencias*. Hindawi Publishing Corporation. 2011; 2011 doi: <https://doi.org/10.1093/ecam/neq053>
30. Leri M, Scuto M, Ontario ML, Calabrese V, Calabrese EJ, Bucciantini M, Stefani M. Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 13;21(4):1250. DOI:[10.3390 / ijms21041250](https://doi.org/10.3390/ijms21041250)
31. Mañas-García L, Denhard C, Mateu J, Duran X, Gea J, Barreiro E. Beneficial Effects of Resveratrol in Mouse Gastrocnemius: A Hint to Muscle Phenotype and Proteolysis. *Cells*. 2021;10(9):2436. Published 2021 Sep 15. doi:10.3390/cells10092436
32. Modzelewska B, Drygalski K, Kleszczewski T, et al. Quercetin relaxes human gastric smooth muscles directly through ATP-sensitive potassium channels and not depending on the nitric oxide pathway. *Neurogastroenterol Motil*. 2021;33(7):e14093. <https://doi.org/10.1111/nmo.14093>
33. Aro C. P. Regulación hormonal de la lipólisis en el ejercicio aeróbico de intensidad media. *RED: Revista de entrenamiento deportivo. Journal of Sports Training*. 2015; 29(4): 21-31
34. Peredo-Escárcega A, V Guarner-Lans, I Pérez-Torres, S Ortega-Ocampo, E Carreón-Torres, V Castrejón-Tellez, E Díaz-Díaz and ME Rubio-Ruiz. The combination of resveratrol and quercetin attenuates Metabolic Syndrome in rats by modifying the serum fatty acid composition and by upregulating SIRT 1 and

- SIRT 2 expression in white adipose tissue. *Evid Based Complement Alternat Med.*2015; <http://dx.doi.org/10.1155/2015/474032>
35. Bradford, MM. Un método rápido y sensible para la cuantificación de cantidades de microgramos de proteína utilizando el principio de unión proteína-colorante. *Bioquímica analítica.*1976; 72 (1-2): 248-254.
 36. Laemmli. Escisión de proteínas estructurales durante el ensamblaje de la cabeza del bacteriófago T4. *Naturaleza.*1970; 227 (5259), 680-685.
 37. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979 Sep;76(9):4350-4. doi: 10.1073/pnas.76.9.4350. PMID: 388439; PMCID: PMC411572.
 38. Rubio-Ruiz ME, Guarner-Lans V, Cano-Martínez A, Díaz-Díaz E, Manzano-Pech L, Gamas-Magaña A, Castrejón-Tellez V, Tapia-Cortina C, Pérez-Torres I. Resveratrol and Quercetin Administration Improves Antioxidant DEFENSES and reduces Fatty Liver in Metabolic Syndrome Rats. *Molecules.* 2019 Apr 3;24(7):1297. doi: 10.3390/molecules24071297. PMID: 30987086; PMCID: PMC6479544.
 39. Clavel P. Efecto de un modelo de síndrome metabólico sobre la función olfativa, memoria y procesos neurodegenerativos en ratas [tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, México; 2021
 40. Kohara K, Ochi M, Tabara Y, Nagai T, Igase M, et al. Leptin in Sarcopenic Visceral Obesity: Possible Link between Adipocytes and Myocytes. *PLoS ONE.*2011; 6(9): e24633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024633>
 41. Yang ZY, Chen WL. Examining the Association between Serum Leptin and Sarcopenic Obesity. *J Inflamm Res.* 2021 Jul 22; 14:3481-3487. PMID: 34326656; PMCID: PMC8315286. doi: 10.2147/JIR.S320445
 42. Komici K, Dello Iacono A, De Luca A, Perrotta F, Bencivenga L, Rengo G, Rocca A, Guerra G. Adiponectin and Sarcopenia: A Systematic Review With Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Apr 15; 12:576619. doi: 10.3389/fendo.2021.576619. PMID: 33935962; PMCID: PMC8082154.
 43. Armandi A, Rosso C, Caviglia GP, Ribaldone DG, Bugianesi E. The Impact of Dysmetabolic Sarcopenia Among Insulin Sensitive Tissues: A Narrative Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Nov 10; 12:716533. doi: 10.3389/fendo.2021.716533. PMID: 34858322; PMCID: PMC8631324.
 44. Carvajal K., Hernández-Esquivel ML., Moreno-Sánchez R. PPARs síndrome metabólico y enfermedad cardíaca. *Arch Cardiol. Mex.*2007;77(S4).
 45. Delgado López V, Valeria Jakeline Hinojoza Mantilla, Catherine Andrade Trujillo, Dennys. Leonardo Abril Merizalde. Relación entre masa muscular y dislipidemia aterogénica en adultos jóvenes de 20 a 45 años de edad. *Pol. Con.* 2020 Septiembre; 5(49): 1275 -1287 ISSN: 2550 - 682X DOI: 10.23857/pc.v5i9.1845
 46. Hardee JP, Lynch GS. Current pharmacotherapies for sarcopenia. *Expert Opin Pharmacother.* 2019 Sep;20(13): 1645-1657. doi:10.1080/14656566.2019.1622093. PMID: 31120352.

47. Gomarasca M. Mioquinas, Banfiab G., Lomabardiac G. El acoplamiento endocrino del músculo esquelético y del hueso. *Avances en química clínica*, 94, 155-218.
48. Zumárraga J. Ejercicio físico y mioquinas. [tesis de licenciatura] universidad de Sevilla, Sevilla; 2019
49. Montes L. Evaluación de Miostatina y Folistatina como biomarcadores séricos del progreso de la Distrofia Muscular Duchenne en pacientes tratados con deflazacort [tesis de licenciatura] Universidad Nacional Autónoma de México, México; 2015
50. Araya T., Rodríguez D., Vargas S., Murillo M., y Scholz G. Mioquinas: mediadoras de los efectos del ejercicio físico en la salud. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*. 2016;10(2): 32-43.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos, a 13 de febrero del 2023

Asunto: Voto aprobatorio.

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
ENCARGADA DE DESPACHO DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN, UAEM
P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que en mi calidad de jurado para examen de grado del (a) estudiante de Licenciatura en Nutrición Viviana Estefanía García Vázquez he leído y revisadola tesis titulada **EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AI SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO**, que estuvo bajo la dirección de la Dra. Ma. Esther Rubio Ruíz, y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DOCENTE

MSP Ana Lucía Rodríguez Ríos
Facultad de Nutrición
Universidad Autónoma del Estado de Morelos



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ANA LUCIA RODRIGUEZ RIOS | Fecha:2023-02-13 11:18:25 | Firmante

U8js0A+T7Y+5s4qoggYGCnWgzU4uU/cPccnrNEuJ3GpueDthK3nmSpTG5XSuXy+qjQriwkUTypSjAGzJRSvDpr1uSTY9hZja3vG2puo+ydh2A7sz4xL5Wuj+FN3GypJaNaiKMeBwIh5yENz+Jz/oYMh2KzUrGBi4ULizMeOZUney4WppEsyq5TUnWUvQZHWebXqRd2G8lFCHb2ToSh+qkoOat/g4fXLifGCod7aZrl01spF/6M0VVL69Ow8LWwVajKz5Z/nTe77k9ls6wqTT0x7s7cHzezpVmSmqpZxFFMaQh0ZTYZ7Q9PAjs6GfymAQoDuBEZzkBEUsqorlxsKAQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[pJgYUXbRc](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/OLgDKOvL9xZBHUGNmHmR5x6cJI26Yx1k>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos, a 13 de febrero de 2023
Asunto: Voto aprobatorio.

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
ENCARGADA DE DESPACHO DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN, UAEM

P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que en mi calidad de jurado para examen de grado del (a) estudiante de Licenciatura en Nutrición Viviana Estefanía García Vázquez he leído y revisado la tesis titulada **EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AL SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO**, que estuvo bajo la dirección de la Dra. Ma. Esther Rubio Ruíz, y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, la estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

DR. JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR
Profesor de la Facultad de Nutrición, UAEM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR | Fecha:2023-02-12 23:20:23 | Firmante

1Q10dsxlzSElp+i4KsL+h1dG10sUZ8uWuOTsfh9bb12uFP0WBiMNBocYbjEydpHjGWeoMLmQpXFr2Zpj9UPO1AWzVS5PxiWjvoLoinSgJd9THDrw/eSIIFCJkak+GDWctoJGw3YxBgUUpJRjihlWdaD2Lo2QsmfwEA4pQspAbXz79g7DyWpHjIidCyZbwP2YR+hXa7ttqCNkY71CFzfq2fVhCVN5E2IimtrjirZv3BucwgNVBZ2CeWZB/ujaEmgWjeVzErdTqwwBijTB9rZQRK7bRMh7ArNjFDbynJXgNKcKXdDfGWdg/MXtIJ+u8zla0Rt57w+Mq5rCJAARlQEbQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[jQ2om6UE0](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/G3ed61OCAHp8iPJsmNrodS2VfgLB0I8r>





Cuernavaca Morelos, a de 13 de febrero del 2023
Asunto: Voto aprobatorio

MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
ENCARGADA DE DESPACHO DE LA
FACULTAD DE NUTRICIÓN, UAEM
PRESENTE

Por este conducto me permito comunicarle que, en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de Licenciatura en Nutrición Viviana Estefanía García Vázquez, he leído y revisado la tesis titulada **EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AL SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO**, que estuvo bajo la dirección de la Dra. Ma. Esther Rubio Ruíz, y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

*Por una humanidad culta Una
Universidad de excelencia*

ATENTAMENTE

M. en D. OMAR CALDERÓN GARZA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

OMAR CALDERON GARZA | Fecha:2023-02-13 19:24:30 | Firmante

sKxHf3N5x9nFVap1tVcBw4NEU7X337LiuqIPVJGqDz9DFa1uhK2ev5NC+rxslyQBIR/AOZTCL3b1eupmxs5mx5dyNk7Hq55SuWS/kkNWQYX4sbslu9ohI5bz92PRpUbn8loSzBvu5rQcB2Fxi/jO4JcV/rn0D5B9VpVQO887hnL5R/iNiZJK081gYNx+ROnZX2Zcz7WY+WKypCm/zwIOK2DdMjnxrePS7HpTwKtrCwJ32O/udPtJnHVzrbBNctCnNsrszFYpXezVx5sil5zCdiMj05pmMXRZ4X+HCKnDs+/mf576mhwCrN9HODJaiFEI9jCbI9e22wkgnuJO7nEyAGYw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



xTotAqzCK

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/CfZE0N5fWOLPSMSc3fFVmQTLigcTNvzl>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos, a 14 de diciembre de 2022.
Asunto: Voto aprobatorio.

**MCS. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
ENCARGADA DE DESPACHO
DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN, UAEM
P R E S E N T E**

Por este conducto me permito comunicarle que en mi calidad de jurado para examen de grado de la estudiante de Licenciatura en Nutrición VIVIANA ESTEFANÍA GARCÍA VÁZQUEZ, he leído y revisado la tesis titulada EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AL SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO, que estuvo bajo la dirección de la Dra. Ma. Esther Rubio Ruíz y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, el estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DRA. DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO
Profesora Investigadora Tiempo Completo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2023-02-13 21:49:23 | Firmante

J5KYF/uUn5M/E7mAGIVXaYCogzvzuE1yup1QKlz1qFoSJ47lhGuywEoTDj3Hq7kfSoLQS/U6C1hls6Lp7ch/BsdD6Qr5X7U+LH1A2k2AekAr78KYOWkNbp95T2gy2Kxlr/AzewtU78cd6gwkUhEvy3I7ZCTqY54fzmpRc1yulHKWKn4gDIJeHMsWm4oWPeis4AROPvn2nnFBMhF3V6+0uEua1ebnI9G6Qvzj4CLmOIOPNIkL++I3as4Lgplv2zZASvG1q8A6F8G6cJvt1SvQiFNHo+IburfgL9m9+7khQaxrL9Qo47xjXwaDvuDIPcUI/7JQWmh0uQJ0Tn71WN3pA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[v9qdwRJBb](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Sj8wsj8TOXOZAsDIljSHQiLmgYPmd836>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



Cuernavaca, Morelos, a 13 de febrero de 2023

Asunto: Voto aprobatorio

**MTRA. JÉSICA LÓPEZ BUCIO FABIÁN
ENCARGADA DE DESPACHO DE LA
FACULTAD DE NUTRICIÓN UAEM**

P R E S E N T E

Por este conducto me permito comunicarle que en mi calidad de jurado para examen de grado del (a) estudiante de Licenciatura en Nutrición Viviana Estefanía García Vázquez he leído y revisado la tesis titulada **EFEECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE RESVERATROL Y QUERCETINA EN EL DESARROLLO DE SARCOPENIA ASOCIADA AL SÍNDROME METABÓLICO EN UN MODELO MURINO**, que estuvo bajo la dirección de la Dra. Ma. Esther Rubio Ruíz, y considero que ésta cubre los requisitos señalados en los lineamientos de Titulación de la Universidad para tesis profesional. Por lo tanto, la estudiante puede continuar con los trámites correspondientes para solicitar fecha de examen.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

**DRA. PAULINA LIZETTE TOSCANO ARENAS
PROFESORA DE LA FACULTAD DE NUTRICIÓN**





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PAULINA LIZETTE TOSCANO ARENAS | Fecha:2023-03-07 12:09:56 | Firmante

CuRI/wdliPhyOBGatRq1ORWX4F3F/oNmhe32wBcBjnuRRGm/iE+/7Zd8W/Y+/mel/ekizhE9JVetZL1XjCPF1V72Hm2b98b2h0qK0dmbL8Wrdo8Q5GX+AuO3l8qlG+Fvd+z/+Bg3H
O7Wg9pGzGMamMs6M8bOF/rfa9TZg4UAozV/qnBVTd/AYI/cd25/Tj3EcHh0vSGsvufcrUX9rERhITRn8nshXUi8LQc0PzW9s+GKO+8F/7mu1unkP1TOITNXhOZh+Xr2d97Cb/hPjf
18pNZ71NU/Yrye7nSzEiW0H8nVvQwHUQmNLTRU+TPwXQg7OHneOgzLZedOXcMUyBoQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[X6fzU4tlr](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/e5XVxO4zGqYtBT1xViHNsdPZRBgM28wo>

