



**BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIA QUIMICAS
LICENCIATURA EN FARMACIA**

*“participación de los receptores a canabinoides cb1,
sobre los niveles de glucosa e insulina en un modelo de
síndrome metabólico en ratas wistar”*

T E S I S

Para obtener el título de:

LICENCIADA EN FARMACIA

Presenta:

BLANCA BEATRIZ VAZQUEZ GONZALEZ

Director de tesis:

D.C. MARÍA DE GUADALUPE MUÑOZ ARENAS

Asesor:

D.C. LUIS MANUEL DE JESUS VASQUEZ

Comisión revisora:

D.C. ALFONSO DANIEL DÍAZ FONSECA

M.C JOSÉ GARCÍA TELA

D.C SAMUEL TREVIÑO MORA



PUEBLA, PUE. AGOSTO 2025

**<< Daría todo lo que sé
Por la mitad de lo ignoro >>**
(René Descartes)

AGRADECIMIENTOS



La sustentante del presente trabajo fue apoyada con la beca otorgada por la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado BUAP.

Los sujetos experimentales fueron proporcionados por el bioterio “Claude Bernard” de la benemérita universidad autónoma de Puebla.

Un agradecimiento especial a los animales de laboratorio ya que sin su presencia el presente trabajo no sería posible.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

A la comisión revisora

D.C. Alfonso Daniel Díaz Fonseca

M.C. José García Tela

D.C. Samuel Treviño Mora

Por el tiempo dedicado a la revisión de la presente tesis, y por todas las sugerencias y comentarios que realizaron, las cuales han sido invaluable y siempre con el fin de mejorar el presente trabajo. Gracias

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi universidad, por haberme permitido formarme. Son muchas las personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo. En primer lugar:

A mi familia

Gracias por el amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día se preocupaban mis padres por mi avance y desarrollo de esta tesis. A mi madre por estar dispuesta a acompañarme cada larga y agotada noche de estudio, tus esfuerzos son impresionantes y tu amor es para mí invaluable. Sin duda alguna, eres quien me sirve de ejemplo día a día. Por ti aprendí tanto de la vida. Tú me enseñaste valores, me ayudaste a crecer y me mostraste el camino. Te amo, Mamá. Eres una mujer valiente y decidida. Siempre estuviste dispuesta a luchar por sacarme adelante y darme lo mejor. Eres la persona más buena y humilde que conozco, por eso fuiste, eres y serás mi mejor ejemplo a seguir. Junto con mi padre me has educado, me has dado todo y cada que he necesitado. Quiero darte las gracias, Papá, por haberme enseñado tanto. Me hiciste una mujer con sueños y grandes expectativas ante la vida. Me enseñaste a creer en mí y a no rendirme jamás. Sus enseñanzas las aplicó cada día; de verdad tengo mucho que agradecerte aunque ya no te encuentres aquí con nosotros siempre seguirás estarás en nuestra vida. A mis hermanos por estar ahí y apoyando moralmente cada paso que doy.

A Dra. Guadalupe Muñoz Arenas

Agradezco por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Agradezco de todo corazón, el conocimiento que introdujo durante el tiempo del desarrollo de la tesis, la vida me dio una dichosa oportunidad de compartir tiempo valioso con usted, así mismo le reitero mi respeto y una gran admiración.

A Luis Fernando Flores Gómez

Durante mucho tiempo estuvimos juntos, fuimos novios desde la universidad. Me viste madurar y hacerme mujer. Compartiste todos los momentos conmigo, malos y buenos. Pasamos muchas cosas uno al lado del otro, siempre tienes esa actitud positiva ante la vida y aunque sucedan cosas terribles, tienes mucha fe en que todo puede mejorar. Ahora eres mi compañero, mi esposo y padre del maravilloso hijo que está a nuestro lado, me contagiaste tu fe, tu esperanza. Agradezco infinitamente por apoyarme en los momentos que no encontraba salida, y dedicaste tiempo para que este proyecto concluyera, no fue fácil, pero siempre estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitían; Por eso y más, te amo.

Muchas gracias mi amor.

A mis amigos

Gracias a todas las personas que me ayudaron en el proceso de mi carrera en apoyarme y ayudarme, quiero dar las gracias al grupo de matemáticos que hicieron que amara las matemáticas en especial a Iván Sánchez Silva, Ricardo Guzmán Fuentes y a Enrique, también quiero agradecer a David Poblano Páez y a Adrián Gutiérrez Zarate por ayudarme y orientarme en el proceso de la tesis y por pasar buenos ratos en el laboratorio y en el bioterio. También quiero agradecer al equipo de voleibol en especial Emma Morales, Andrea de la Rosa y a Margott Guzmán por apoyarme emocionalmente y siempre confiar en mí. Así como también a la QFB Angelina por motivarme con su trabajo y amar de nuevo la investigación.

Gracias a todos los que hicieron posible la conclusión de esta tesis.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	9
1.1.	SINDROME METABÓLICO.....	9
1.2.	HISTORIA DE LOS CANABINOIDES	14
1.3.	SISTEMA ENDOCANABINOIDE.....	15
1.3.1.	ENDOCANABINOIDES	17
1.3.2.	BIOSÍNTESIS Y METABOLISMO DE ENDOCANABINOIDES.....	17
1.3.3.	RECEPTORES A CANABINOIDES	20
1.4.	NÚCLEO PARAVENTRICULAR Y SU IMPORTANCIA EN SU ALIMENTACIÓN .	21
1.5.	SISTEMA ENDOCANABINOIDE, OBESIDAD Y SÍNDROME METABÓLICO.....	22
1.6.	PARTICIPACION DE LOS RECEPTORES CB1 EN LA DEPRESION Y ANSIEDAD	25
1.7.	ESTRÉS OXIDATIVO, SINDROME METABOLICO Y RECEPTORES CB1.....	26
1.8.	MODELOS DE INDUCCION DEL SINDROME METABOLICO.....	29
1.8.1.	DESARROLLO DEL MODELO DE SINDROME METABOLICO INDUCIDOS POR DIETA	30
1.9.	PRUEBAS CONDUCTUALES DEPRESION Y ANSIEDAD.....	33
2.	JUSTIFICACIÓN.....	35
3.	HIPÓTESIS	37
4.	OBJETIVOS.....	37
4.1.	OBJETIVO GENERAL.....	37

4.2.	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	37
5.	METODOLOGIA	38
5.1.	DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.....	38
5.2.	SUJETOS DE EXPERIMENTACIÓN.....	38
5.3.	PRUEBAS CONDUCTUALES	40
5.3.1.	SUSPENSIÓN DE COLA.....	40
5.3.2.	CAMPO ABIERTO	40
5.4.	TOLERANCIA A LA GLUCOSA	41
5.5.	CUANTIFICACIÓN DE NITRITOS	41
5.6.	CUANTIFICACIÓN DE INSULINA	42
5.7.	INMUNOHISTOQUÍMICAS.....	42
6.	RESULTADOS.....	43
6.1.	PRUEBAS CONDUCTUALES	43
6.1.1.	LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 PRODUCE DEPRESIÓN Y ANSIEDAD EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO	43
6.2.	LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1, INCREMENTA LA GLUCEMIA EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO.....	46
6.3.	LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 INCREMENTA LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL HIPOCAMPO Y ESTRIADO DE RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO	51

6.4.	LA ACTIVACIÓN CONTINUA DE LOS RECEPTORES CB1, INCREMENTA SU INMUNORREACTIVIDAD EN EL NÚCLEO PARAVENTRICULAR DEL HIPOTÁLAMO DE RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO.....	53
7.	DISCUSIÓN.....	57
8.	CONCLUSIÓN	65
9.	CONGRESO	66
10.	BIBLIOGRAFIA.....	67

1. INTRODUCCIÓN

1.1.SINDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM) es un tema actual y de debate en la comunidad médica, pues se relaciona con las enfermedades que causan mayor mortalidad a nivel mundial, y su incidencia va en aumento (Pineda Carlos, 2008). El incremento en la prevalencia del SM es alarmante a nivel mundial; en la década de 1920, Kylin, describió las alteraciones que se asocian con el SM (Córdoba Pluma, 2014) como la hiperglucemia e hipertensión (Pineda Carlos, 2008), posteriormente en 1956, Vague (Córdoba Pluma, 2014) informó que una distribución de grasa corporal superior se asocia con ciertas anormalidades metabólicas (Pineda Carlos, 2008), es decir la obesidad abdominal o el cuerpo en forma de manzana, se relaciona con alto riesgo de presentar enfermedad cardiovascular (Córdoba Pluma, 2014).

En 1988 Reaven, observó que varios factores de riesgo como dislipidemia, hipertensión, hiperglicemia tendían a estar juntos. A este conjunto de factores se le denominó síndrome X (Córdoba Pluma, 2014) y se reconoció como factor de riesgo múltiple para la enfermedad cardiovascular. Reaven y otros postularon que la resistencia de insulina (RI) es la base del síndrome (Pineda Carlos, 2008); en 1998 fue introducido el término síndrome metabólico por la organización mundial de la salud (OMS) como entidad diagnóstica con criterios definidos (García Zaldívar y cols. 2014). El conocer el SM desde sus bases moleculares hasta su presentación clínica permite un adecuado tratamiento y así mejorar la calidad de vida del paciente (González y cols, 2019); por consiguiente, el SM es considerado en la actualidad como una importante forma de evaluar riesgo cardiovascular y diabetes (Lizarzaburu J.2013); la presencia de SM incrementa hasta cinco veces el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y tres veces el riesgo de enfermedad

cardiovascular (ECV) (González y cols, 2019); el SM son una serie de desórdenes o anormalidades metabólicas como la hipertensión arterial, dislipidemia (Treviño y cols. 2005), alteraciones metabólicas de la glucosa y lípidos, obesidad abdominal, disfunción endotelial (Carranza Jaime y cols. 2008). El principal problema del SM es identificar su prevalencia integrando diferentes definiciones. De acuerdo a la definición de OMS, se considera necesario la intolerancia a la glucosa, alteración antropométrica, relación cintura/cadera $\geq 0,90$ cm para el hombre o $\geq 0,85$ cm para la mujer o Índice de Masa Corporal (IMC) > 30 kg/m²; Alteración lipídica (Triglicéridos ≥ 150 mg/dl o HDL < 35 mg/dl en el hombre o < 39 mg/dl en la mujer); Presión arterial ≥ 140 mm Hg para la sistólica o ≥ 90 mm Hg para la diastólica; Microalbuminuria > 20 μ g/min o relación albúmina/creatinina > 30 mg/g (DeFronzo RA. 2009).

Recientemente la federación latinoamericana de diabetes (ALAD) especifica las medidas para evaluar obesidad abdominal es decir el aumento y acumulación de grasa nivel visceral (DeFronzo RA. 2009) implica formación de tejido graso de sustancias químicas llamadas adipocinas, que favorece estados inflamatorios y protrombóticos que al mismo tiempo contribuyen al desarrollo de la insulinoresistencia, hiperinsulinemia, alteración en la fibrinosis y disfunción endotelial; la adiponectina disminuye, por lo cual, la concentración de triglicéridos incrementa, disminuye las proteínas de alta densidad (HDL), elevación de lipoproteína B y en presencia de partículas pequeñas y densas de lipoproteínas de baja densidad (LDL), al mismo tiempo contribuyen al estado aterotrombótico que presenta el perfil inflamatorio de la adiposidad visceral (Lyon y cols. 2003).

El SM es considerado un estado proinflamatorio, caracterizado por el incremento de citosinas proinflamatorias como la interleucina, cuyo papel inflamatorio lo hace a través de

la regulación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la activación de los macrófagos y el aumento en la expresión de proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) la interleucina-6 (IL-6), liberada en gran medida por el tejido adiposo visceral, que a su vez, estimula en hígado el aumento de marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR). El mecanismo de acción del TNF- α , es a través de la fosforilación inhibitoria del sustrato del receptor de insulina tipo 1 (IRIS-1) lo que a su vez impide la captación de glucosa estimulada por la insulina e inhibe la vasodilatación dependiente del endotelio vía óxido nítrico (NO) de una forma pancreática o autócrina, que ejerce su papel en la resistencia a la insulina disminuyendo la expresión génica del IRIS-1, fosfotidinisitol-3-kinasa (PI3K), del transportador de glucosa 4 (GLU 4) y alterando la fosforilación de PKB (Pinzón y cols; 2015). La insulina juega un papel importante en el organismo afectado, no solo en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, sino también en el crecimiento, proliferación y la función endotelial. La insulina se une a un receptor tipo tirosina-kinasa (TRK) lo que genera la autofosforilación de la subunidad β y la consiguiente del IRIS-1; dicha activación conlleva a que diferentes enzimas como las PI3K y la protein kinasa B (PKB) se activen también. Asimismo, se activa la vía de las MAP cinasas (MAPK), caracterizada por una gran acción en la proliferación celular. Como consecuencia, dicha vía de señalización se altera en pacientes con SM por ejemplo en la disminución de la expresión de TRK (Pinzón y cols., 2015).

Otro factor importante en el SM, es el aumento del estrés oxidativo, las especies reactivas de oxígeno (ROS) son producidas como una consecuencia del metabolismo aeróbico fisiológico normal (Carvajal C.,2019). Estas moléculas de corta duración son importantes para los procesos de expresión de genes y transducción de señales; en una condición

saludable, las ROS se mantienen en un nivel óptimo debido al equilibrio entre su producción y eliminación por los antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutasa, glutatión, catalasa, peroxidasa) y no enzimáticos (vitaminas C y E). En el SM, un aumento de la capacidad oxidante junto a la disminución de los procesos antioxidantes, se crea un desequilibrio denominado estrés oxidativo. El aumento de las ROS, produce toxicidad en las células y los tejidos, ya que incrementa la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. (Hutcheson y cols., 2012).

Las mitocondrias son uno de los organelos más comprometidos en la producción de estrés oxidativo en el SM, principalmente por la hiperglucemia ya que la mitocondria tiene una alta concentración de equivalentes reductores ($\text{NADH} + \text{H}^+$ y FADH_2) provenientes de la glucólisis y que entran a ella a través de lanzaderas de electrones (LE) y por el aumento de la actividad del ciclo de los ácidos tricarbónicos (TCA), alimentado por la descarboxilación de las grandes concentraciones de piruvato que ingresa a la mitocondria a través de su transportador (TP) (Calderon y cols., 2013), los cuales alimentarán a la cadena transportadora de electrones, lo que dará lugar a un incremento de la reducción del oxígeno para formar agua, pero también a la reducción parcial de oxígeno para dar lugar a la formación de (O^{2-}) y el consecuente daño oxidativo (Green y cols 2004).

El incremento de la concentración de glucosa en la célula por sí sola impone una presión importante para producir mayor cantidad de las ROS debido a la entrada excesiva de glucosa, la célula tiene ahora una presión metabólica inducida por alta concentración de sustrato para alimentar en exceso a la cadena respiratoria pero sin un incremento correspondiente y proporcional en la necesidad de ATP en la célula, lo que hace que el potencial protomotriz se acumule en exceso y la cadena respiratoria pueda generar más O^{2-}

que en condiciones de óptimo acople entre la formación de ATP y la función de la cadena respiratoria, en este caso el incremento de la formación de ATP o la función desacoplante pueden reducirla, pero no hay condiciones adecuadas, ya que la célula no tiene necesidades energéticas incrementadas (Calderon y cols., 2013).

La insulina es una hormona anabólica secretada por las células β del páncreas en respuesta a diversos estímulos, siendo la glucosa el más relevante (Galgani y cols 2012). Su principal función es mantener la homeostasis glicémica y de otros sustratos energéticos. De esta forma, posterior a cada comida la insulina inhibe la liberación de ácidos grasos libres mientras que estimula la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo (Carrasco F. y cols, 2013).

En la RI, la liberación de dicha hormona está incrementada, dando lugar a desórdenes del metabolismo lipídico que incluye la acumulación tisular ectópica de lípidos, entre ellos en el músculo esquelético (McGarry J.D, 2002).

El tamaño de la gota lipídica del citoplasma está regulado por múltiples mecanismos, que en general incluyen la lipogénesis (formación de TG) y lipólisis (degradación de TG con salida de ácidos grasos libres a la circulación) (Carrasco F. y cols, 2013). Los adipocitos de gran tamaño poseen una mayor síntesis y liberación de productos de secreción del tejido adiposo (adipoquinas) que pueden deteriorar el metabolismo lipídico y glucídico, tener efectos pro-inflamatorios o pro-trombóticos, además de inhibir la diferenciación de pre-adipocitos en adipocitos (Smith J. y cols, 2006), existen múltiples adipoquinas, cuya secreción está aumentada en los adipocitos hipertróficos, entre las que destacan la leptina, resistina, angiotensina, citoquinas pro-inflamatorias y quemoquinas (Manzu F. y cols

2010). Paralelamente, estos adipocitos de gran tamaño secretan menor cantidad de adiponectina, una de las pocas adipoquinas con efectos antagónicos. Producto de este ambiente auto/paracrino pro-inflamatorio, el TA Es infiltrado por macrófagos, que a su vez secretan moléculas pro-inflamatorias, alterando aún más el perfil secretor del TA, (Fain J.N, 2006). Lo descrito anteriormente sustenta la observación que el tamaño del adipocito del tejido adiposo abdominal subcutáneo se relaciona de manera directa con la RI, siendo también un factor de riesgo de diabetes tipo 2 (Carrasco F. y cols, 2013).

1.2.HISTORIA DE LOS CANABINOIDES

El cannabis fue usado con fines medicinales en China 4000 años a.C. Desde allí, la planta se extendió por India y el Sudeste Asiático, llegando a la civilización grecorromana. En la India, en el siglo XV a.C. se usaba el cáñamo por su efecto estimulante del apetito (Grinspoon y Bakalar, 1993). Durante la Edad Media, los árabes recomendaron el uso médico de cannabis por esa propiedad. En 1842, el empleo del cannabis como remedio medicinal fue introducido en Gran Bretaña con el regreso de un cirujano irlandés que había estado en la India y popularizó la utilización de la denominada tintura de cannabis para distintos estados patológicos, describiendo su efecto sobre el apetito (Ramos y Fernández, 2000). Sin embargo, fue hasta el descubrimiento de su principal componente psicoactivo, el Δ^9 -tetrahidrocanabinol (THC) (Gaoni y Mechoulam, 1964), que se comenzó con una serie de investigaciones para esclarecer los mecanismos por los cuales la marihuana ejercía sus efectos farmacológicos, y que dieron paso al descubrimiento del sistema endocanabinoide (SEC). Existen principalmente, dos tipos de receptores cannabinoides denominados CB1 y CB2, respectivamente. Ambos receptores son de 7 dominios transmembranales y se

acoplan a una proteína $G_{i/o}$; sin embargo, se diferencian en el modo de transmitir la señal y en su distribución en diferentes tejidos (Grotenhermen, 2006).

1.3.SISTEMA ENDOCANABINOIDE

El SEC se define como un complejo sistema endógeno de señalización distribuido en el organismo de mamíferos e interviene en múltiples vías metabólicas en la fisiología celular, entre ellos el balance energético, el metabolismo lipídico y glucídico (Ruz Maldonado, 2017). El SEC está conformado por tres tipos de componentes moleculares (Ruz Maldonado, 2017) los receptores a cannabinoides RCB1 y RCB2 (Skaper y Di Marzo 2012), los ligandos endógenos de naturaleza lipídica llamados endocannabinoides (Lu y Mackie, 2016), siendo los más conocidos la anandamida (AEA) y el 2-araquidonil-glicerol (2-AG) (Ruz Maldonado, 2017) y las enzimas de síntesis y degradación de los mismos (Lu y Mackie, 2016).

Tanto los receptores CB1 como CB2 pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), de manera específica, a una $PG_{i/o}$, cuya activación, inhibe a la adenilil ciclasa y proteína quinasa activada por mitógeno (Mechoulam y Parker, 2013).

Los receptores CB1 son ubicuos, expresándose densamente en áreas del cerebro que regulan el apetito y la saciedad, la temperatura corporal, la locomoción y el humor (Bisogno,1999) se encuentran principalmente en las neuronas centrales y periféricas (Mechoulam y Parker, 2013). La principal función de estos receptores, es inhibir la liberación de neurotransmisores. Se ha demostrado que la activación de los receptores CB1, disminuye la acumulación de adenosin monofosfato cíclico (AMPC) y, por lo tanto, la inhibición de la proteína quinasa dependiente de AMPC (PKA). Asimismo, La activación del receptor CB1 permite la activación de la proteína quinasa activada por mitógenos

(MAPK), mecanismo por el que los canabinoides afectan la plasticidad sináptica, la migración celular y el crecimiento neuronal. En este sentido, se ha demostrado que los RCB1 modifican la actividad de canales de calcio y potasio (Mechoulam y Parker, 2013).

Por otro lado, los receptores CB2 se expresan principalmente en células inmunes que incluyen linfocitos, macrófagos, mastocitos, células asesinas naturales (natural killer o NK), células mononucleares periféricas y microglía. Se sabe menos acerca de los receptores CB2 que de los CB1, aunque hay evidencia de que los RCB2 pueden desencadenar la migración de células de la microglía y regular la liberación de citoquinas. Por lo tanto, los receptores CB1 y CB2 comparten la capacidad de modular la liberación continua de mensajeros químicos (Grotenhermen, 2006).

Los endocannabinoides pueden actuar de manera paracrina y autocrina, posiblemente también endocrino; y debido a su naturaleza lipídica son capaces de difundir y atravesar membranas.

Como se ha mencionado antes, los endocannabinoides mejor estudiados son la N-araquidonil etanolamina o anandamida (AEA) y el 2-araquidonil glicerol (2-AG). La señalización endocanabinoide está integrada en redes de modulación de la fisiología general del organismo; regula procesos en todos los estadios de la vida (prenatal, pubertad, adolescencia, adultez, vejez); tiene una amplia distribución tisular, celular y subcelular (Macarrone y cols., 2015; Ligresti y cols., 2016) por lo que participa en numerosos procesos fisiológicos centrales y periféricos de vital importancia, tales como el apetito y la ingesta, la sensación de dolor, el estado de ánimo, la transmisión sináptica, la neuroprotección, la nocicepción, el control motor, la memoria y el aprendizaje, el miedo, el desarrollo neuronal, la inflamación, la liberación y acción hormonal, la sensibilidad a la insulina, la función cardiovascular, respiratoria y reproductiva, la modulación del sistema

inmune; la formación ósea, el metabolismo energético y adiposo; las funciones celulares, como la arquitectura celular, la proliferación, la motilidad, la adhesión y la apoptosis (Ligresti y cols., 2016).

1.3.1. ENDOCANABINOIDES

Los endocannabinoides son sustancias muy lipofílicas, que a diferencia de los neurotransmisores clásicos no se almacenan en vesículas antes de liberarse y se sintetizan según la demanda. Por consiguiente, sus vías de señalización están finamente reguladas a

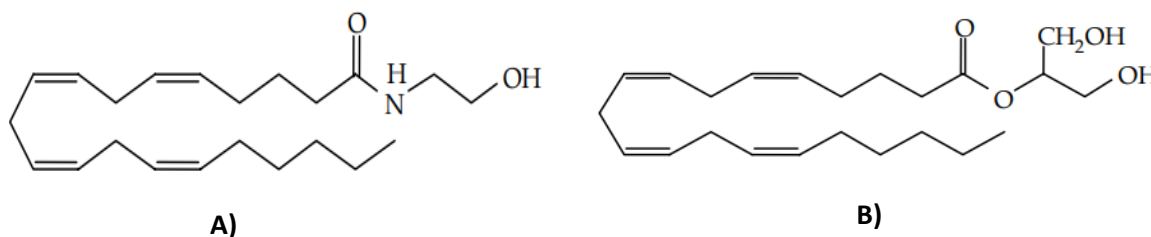


FIGURA 1. **A)** Estructura química del Araquidonil-etanolamida (AEA, anandamida); **B)** Estructura química del Araquidonil-glicerol (2-AG); Tomada de Grotenhermen Franjo (2006).

través de su síntesis, liberación, transporte y degradación (Grotenhermen F.2006). La familia de los endocannabinoides comprende de araquidonil-etanolamida (AEA) (**Figura 1A**) el 2-araquidonil-glicerol (2-AG), (**figura 1 B**). Asimismo, también se han descubierto a la araquidonil-etanolamina (virodhamina), el éter del 2-AG (éter de noladina) y la N-araquidonil-dopamina (Vedrana R. Y cols; 2009).

1.3.2. BIOSÍNTESIS Y METABOLISMO DE ENDOCANABINOIDES

La actividad de los endocannabinoides está controlada por sus niveles endógenos y, por tanto, por el balance entre los mecanismos de biosíntesis y degradación. Los endocannabinoides no se almacenan en vesículas clásicas, sino que se sintetizan y liberan “a

demanda” por medio de la activación de receptores unidos a proteínas G (GPCR) o por despolarización celular (Katona y Freund, 2012). La AEA se sintetiza a partir de la fosfatidil-etanolamina (PEA), que gracias a la acción de la N-acetiltransferasa (NAT) da lugar a la N-araquidonoil-fosfatidiletanolamina (NAPE) por la transferencia de ácido araquidónico desde la fosfatidilcolina. A continuación NAPE es hidrolizada por la fosfolipasa D, dando lugar a la AEA. El 2-AG, por el contrario, se sintetiza a partir de fosfatidil inositol (PI) por acción de la fosfolipasa C (PLC) que da lugar al diacilglicerol (DAG) que será hidrolizado por la diacilglicerollipasa (DAGL) para sintetizar el 2-AG (Fragua y cols., 2014). como se muestra en la **figura 2**.

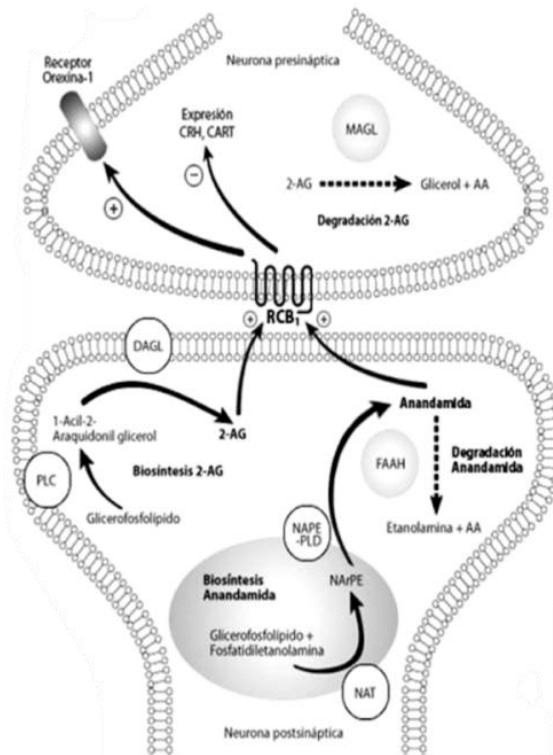


Figura 2. La síntesis.- 2- araquidonoilglicerol (2-AG) y anandamida (AEA). El 2-AG puede formarse a partir del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2), por acción secuencial de una fosfolipasa C (PLC) y de una diacilglicerol lipasa (DAGL), La AEA puede formarse a partir del precursor N-araquidonoilfosfatidiletanolamina (NAPE) a través de la acción de la N-araquidonoil-fosfatidiletanolamina fosfolipasa D (NAPE-PLD), 2) otra en la que una PLC genera fosfo-anandamida (pAEA) sobre la cual actúa una fosfatasa, y 3) la vía de la serina hidrolasa con dominios α/β 4 (ABHD4) que genera glicero-pAEA sobre la cual actúa la glicerofosfodiester

fosfodiesterasa 1 (GDE1). La degradación de los endocannabinoides puede darse por su hidrólisis o por su oxidación mediante distintas lipooxigenasas (LOX) o ciclooxigenasas (COX). En la hidrólisis del 2-AG participan la monoacilglicerol lipasa (MAGL), la serina hidrolasa con dominios α/β 6 (ABHD6) o con

dominios α/β 12 (ABHD12), y la ácido graso amidohidrolasa (FAAH). La AEA puede ser hidrolizada por la FAAH, por la amidasa ácida que hidroliza N-acetiletanolaminas (NAAA), y por la ceramidasa ácida (AC). Tomada de CLARA PASCUAL., 2014.

La AEA también puede ser sintetizada a partir de ácido araquidónico y etanolamina por las mismas enzimas responsables de su degradación, la amido hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) cuando ambos sustratos se encuentran en elevadas concentraciones. El 2-AG se sintetiza también a partir de PI, que por acción de la fosfolipasa A (PLA) da lugar a lisofosfolípidos, y estos al 2-AG al ser hidrolizados por la Lyso-fosfolipasa C (Lyso-PLC). (Fragua y cols., 2014; Pazos y cols., 2017).

En cuanto a la degradación, cabe decir que la AEA tiene una vida media muy corta, pues es recaptada de la hendidura sináptica por un transportador de alta afinidad y degradada en el interior de la célula por la FAAH, dando lugar a sus dos componentes, etanolamida y ácido araquidónico. El 2-AG una vez liberado puede ser recaptado por el transportador de anandamida y degradado posteriormente por la enzima monoacilglicerol lipasa (MAGL) (Fragua y cols., 2014; Pazos y cols., 2017).

Existen fármacos para estudiar la actividad mediada por los receptores cannabinoides principalmente agonistas y antagonistas de estos receptores como por ejemplo:

El **ACEA** o araquidonil-2-cloroetilamida; el cual es un análogo sintético del ligando endógeno canabinoide AEA con una alta selectividad por CB1 sobre CB2 y con una afinidad de 1.4 nM para el receptor CB1 (Hillard, 1999), actúa como un agonista de CB1, inhibiendo la acumulación de AMPc inducida por forskolina *in vitro* e incrementando la unión de [³⁵S]GTP*Gamma*S en membranas cerebrales (Ruz Maldonado, 2017).

1.3.3. RECEPTORES A CANABINOIDES

Como se ha mencionado, RCB1 y RCB2, tienen siete dominios transmembrana, de los cuales uno es amino-terminal extracelular y uno, carboxilo-terminal intracelular. El RCB1 contiene 472-473 aminoácidos organizados en una secuencia altamente conservada entre distintas especies. El receptor CB2 contiene 360 aminoácidos (Fraguas y cols., 2014) y presenta una homología global del 44% (68% en las regiones transmembrana) con el RCB1 (Lannotti y cols., 2016).

El RCB1 es el más abundante en el cerebro de los mamíferos y su presencia en el hipocampo, ganglios basales y el tronco cerebral, representan la mayor parte de las acciones conductuales (Piomelli, 2003) también se han encontrado en varios tejidos periféricos, en adipocitos donde influye directamente en el metabolismo de los lípidos (Francesca y cols., 2008), hígado, páncreas, y músculo esquelético. Dicho receptor se acopla a proteínas Gi cuya activación conlleva al cierre de los canales de Ca^{2+} , la apertura de canales de K^+ , la inhibición de la actividad de la adenilil ciclasa (con su consiguiente disminución en las concentraciones de AMPc citosólico) y la estimulación de quinasas que fosforilan los restos de tirosina, serina, y treoninas en las proteínas (Piomelli, 2003).

Las interneuronas que expresan receptores CB1 se localizan selectivamente en una subdivisión de la amígdala llamada complejo basolateral, una estación clave en el circuito neural que procesa las emociones y un sitio primario de analgesia con canabinoides (Piomelli, 2003). Esta localización, y el hecho de que la inhibición de CB1 causa respuestas similares a la ansiedad y agresividad en roedores, indican que el sistema endocanabinoide podría influir en los estados afectivos a través de los cambios en la actividad de la amígdala, esta idea es respaldada por dos hallazgos: primero, la

presentación de estímulos antigénicos aumenta las concentraciones de AEA y de 2-AG en la amígdala de rata, segundo, los inhibidores de FAAH exhiben propiedades marcadas de tipo ansiolítico en ratas (Piomelli, 2003)

Los endocannabinoides pueden disminuir la liberación de glutamato de las terminales presinápticas de los axones de la corteza y otras regiones cerebrales. Además, al disminuir la liberación de GABA de las interneuronas basolaterales, podrían desinhibir a las neuronas GABAérgicas de los núcleos intercalados adyacentes y, en consecuencia, disminuir la actividad postsináptica (Piomelli, 2003)

El receptor CB2 fue descrito por primera vez en el bazo de rata en 1993 (Munro y cols., 1993), y durante muchos años se creyó que estaba localizado exclusivamente en células y tejidos periféricos relacionados con el sistema inmune, como el propio bazo, las amígdalas y en distintas células del sistema inmune (linfocitos B, aunque también en monocitos y linfocitos T; Galiègue y cols., 1995). Con el avance de las investigaciones, se ha demostrado que también se expresan en células de otros tejidos y órganos periféricos como corazón, endotelio, hueso, hígado y páncreas. Asimismo, los RCB2 se expresan en tejido nervioso, principalmente en células gliales, sobre todo en células de la microglía tras una respuesta neuroinflamatoria (Benito y cols., 2008; Di Marzo y cols., 2015; Lu y Mackie., 2016).

1.4. NÚCLEO PARAVENTRICULAR Y SU IMPORTANCIA EN SU ALIMENTACIÓN

La regulación de la ingesta alimentaria es mediada por un complejo mecanismo en el que participa el hipotálamo, el cual es el encargado de regular las señales de hambre y saciedad (Forero Bogotá y cols., 2020). El sistema consiste de una compleja red de circuitos

neurohormonales, que incluyen señales moleculares de origen periférico y central, de corta y de larga duración; así como, otros factores de tipo sensorial, mecánico y cognitivo (Mercedes E. y cols., 2006). En el cerebro, el hipotálamo es la región que en última instancia está involucrada en la recepción e integración de todas estas señales, tanto periféricas como centrales, el núcleo paraventricular (NPV) hipotalámico es capaz de dar respuesta a las necesidades de energía cambiantes del organismo, modulando la velocidad de la tasa metabólica (Gortari Patricia y cols.,2012). El NPV está anatómicamente conectado a otras áreas hipotalámicas y al tronco encefálico, siendo un núcleo integrador importante para funciones autónomas y neuroendocrinas. Entre las funciones del NPV se encuentran la regulación de la ingesta de alimentos, el reflejo aferente adiposo (AAR), las respuestas al estrés, la modulación de la tasa metabólica, la termorregulación, la modulación de la actividad del nervio simpático y la función cardiovascular (Swanson and Sawchenko, 1980). El NPV envía conexiones al núcleo *accumbens*, cuya señalización es principalmente dopaminérgica y está relacionada con la regulación de los mecanismos de recompensa o gratificación que refuerzan positivamente el consumo de alimentos (de Gortari,. 2009).

1.5.SISTEMA ENDOCANABINOIDE, OBESIDAD Y SÍNDROME METABÓLICO

El humano es un organismo heterótrofo, que obtiene sus alimentos del medio ambiente, por lo que requiere de un sistema muy bien organizado que regule la ingestión de alimentos, el mantenimiento del balance energético y la conservación del peso corporal. Cuando este

sistema falla, se presentan patologías como son la desnutrición y la obesidad (González Hita y cols., 2006).

El sistema nervioso central (SNC) recibe información del estado energético en que se encuentra el organismo y en consecuencia envía señales hacia los diversos órganos y sistemas periféricos para lograr un balance energético óptimo a corto y a largo plazo. Las múltiples señales que integran el sistema de regulación neuroendocrina de la alimentación se han agrupado con base a criterios tales como el sitio donde se originan, ya sea en el SNC o en órganos y tejidos periféricos, dividiéndolas en dos grandes grupos: señales centrales y señales periféricas. (González Hita y cols, 2006)

La regulación de la saciedad por los carbohidratos está relacionada con el aumento de la glucemia que inhibe el hambre a corto plazo. El mecanismo es mediado por la liberación de insulina dependiente de glucosa. La insulina a su vez inhibe a los péptidos orexígenos hipotalámicos (Lebowitz SE, 1992). La insulina es una hormona peptídica de 51 aminoácidos secretada por las células beta del páncreas, tiene un papel fundamental en la regulación del metabolismo. Al igual que leptina, los niveles circulantes de insulina están en relación directa con la cantidad de tejido adiposo, por esta razón, leptina e insulina se consideran señales de adiposidad. La insulina penetra en el SNC atravesando la barrera hematoencefálica por medio de un mecanismo de transporte saturable, alcanzando concentraciones en el líquido cefalorraquídeo (LCR) proporcionales a sus valores plasmáticos (González Hita y cols, 2006)

La insulina ayuda a la formación de tejido graso y aumenta la producción de leptina, tiene efecto anorexígeno al disminuir la expresión de Neuropéptido Y (NPY) en el núcleo arqueado del hipotálamo (NAr); efecto similar al de leptina. (Kieffer T.J y cols., 2000). De

la misma forma, estimula la saciedad a través de la liberación de la colecistocinina (CCK) y de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), por lo que constituye una conexión entre la regulación del apetito y del metabolismo energético a largo plazo. (Gortari y cols.,2012)

La leptina es una hormona proteica de 16 Kd compuesta de 167 aminoácidos de la familia de las citosinas y es sintetizada fundamentalmente por el tejido adiposo blanco. Su síntesis es estimulada cuando existe un aporte y flujo de nutrientes dentro del adipocito que garantiza la formación de triglicéridos, pero también por hormonas como la insulina, glucocorticoides, estrógenos, melatonina y los factores de transcripción que regulan positivamente la expresión del gen del adipocito, en tanto que es inhibida por andrógenos, TNF α y por hormonas tiroideas (Calzada R. Y cols. 2008).

La interacción entre la leptina y la insulina ha sido estudiada ampliamente debido a la simultaneidad a la resistencia entre la insulina y leptina en individuos obesos con SM (Almanza P. y cols,2008). Se sabe que entre la leptina y la insulina existe una perfecta homeostasis ya que se regulan mutuamente. Así, la leptina inhibe la producción de insulina en las células β del páncreas, mientras que la insulina estimula la producción de leptina en el adipocito (Seufert, 2004). Sin embargo, en un estado de resistencia a leptina caracterizado por hiperleptinemia, se pierde la homeostasis entre estas moléculas, de tal manera que la leptina deja de inhibir la producción de insulina en el páncreas, conduciendo a una fase de hiperinsulinemia y resistencia a esta hormona. Asimismo, se ha demostrado que la leptina puede ser capaz de producir resistencia a la insulina en el hígado (Almanza P. y cols, 2008).

El SEC, participa de manera importante en la modulación de la ingesta de alimento, principalmente a través de la activación de los RCB1. Dicho receptor, se expresa en el NPV

(Di Marzo y cols., 2001). A pesar de que existe un componente modulador de la alimentación y del balance energético mediado por RCB1 a nivel periférico (Matías y cols., 2006), se ha propuesto que los RCB1 hipotalámicos constituyen una pieza clave en la modulación central de la ingesta de alimento (DiPatrizio y cols., 2008). Específicamente, el NPV es considerado como uno de los núcleos donde converge gran parte de la información necesaria para el control del balance del consumo y gasto energético (Mancilla Díaz y cols., 2003). Los RCB1 se expresan en las terminales presinápticas del NPV, de manera específica en terminales serotoninérgicas y GABAérgicas, lo que sugiere que los cannabinoides tienen un papel neuromodulador de las señales orexigénicas y anorexigénicas (Nakazi, y cols. 2000).

1.6.PARTICIPACION DE LOS RECEPTORES CB1 EN LA DEPRESION Y ANSIEDAD

Se ha demostrado que el cannabis tiene efectos benéficos en determinados trastornos psíquicos como la bipolaridad, manía, ansiedad o depresión (Pazos y cols., 2017). Las alteraciones que se producen durante la depresión en determinadas funciones fisiológicas y aquellas inducidas por la señalización canabinoide sugieren que la activación del SEC juega un papel importante en la regulación de los trastornos del ánimo. Existen numerosas evidencias que indican que el SEC se altera en estados de ansiedad y depresión (Urigüen y cols., 2017). Sin embargo, los resultados obtenidos con agonistas cannabinoides son controversiales, ya que hay estudios que afirman que su administración disminuye la ansiedad (Mangiri. 2008; Urigüen y cols., 2017; Fraguas y cols., 2014; Benítez, 2017) y otros mencionan aumento del comportamiento ansioso tras su administración (Mangiri, 2008; Urigüen y cols., 2017; Benitez., 2017); Esto se debe a las cantidades administradas

del agonista, las dosis bajas (Manguiri, 2008) y controladas (Benítez, 2017) causan efectos ansiolíticos y en dosis altas causa un efecto ansiogénico (Urígüen y cols 2017; Manguiri 2008).

1.7. ESTRÉS OXIDATIVO, SINDROME METABOLICO Y RECEPTORES CB1

El estrés oxidativo celular es un componente importante en la generación del daño celular y tisular asociado a los procesos como la inflamación, la formación de tumores, la degeneración relacionada con la edad, y la diabetes (Ruz Maldonado, 2017). El daño oxidativo se presenta cuando hay un crecimiento de la concentración de moléculas oxidantes, sean endógenas o exógenas o cuando tienen una condición de reducción de las defensas antioxidantes (Caderon Salinas, Muñoz Reyes y cols, 2013). El estrés oxidativo resulta del desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y/o de nitrógeno (RNS) y la neutralización de estas por los tampones redox celulares y la actividad de los otros sistemas antioxidantes. Las ROS como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), los radicales hidroxilo (OH^\cdot) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS) como el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrito ($ONOO^-$), son moléculas que cuando aparecen en exceso pueden causar disfunción y muerte celular por alteración de vías metabólicas (Ruz Maldonado, 2017). El desbalance entre la producción de ROS y el sistema de defensa antioxidante en los sistemas vivos ocasiona una ruptura de la función celular (Carvajal, 2018). La formación de las ROS es inherente al metabolismo anaeróbico por medio del cual se obtiene energía de las diferentes moléculas en las células (Caderon Salinas, Muñoz Reyes y cols, 2013). La glucosa es capaz de auto-oxidarse, lo cual sucede de manera muy abundante en condiciones de mayor

concentración de glucosa en la célula. El incremento de la concentración de glucosa en la célula por sí sola impone una presión importante para producir mayor cantidad de las ROS (Caderon Salinas, Muñoz Reyes y cols, 2013). La formación de O^{2-} , generado cuando el O^2 se reduce tras la adquisición de un único electrón, puede ser considerado el paso inicial para la formación de otras ROS y RNS por los diferentes sistemas enzimáticos (Ruz Maldonado, 2017).

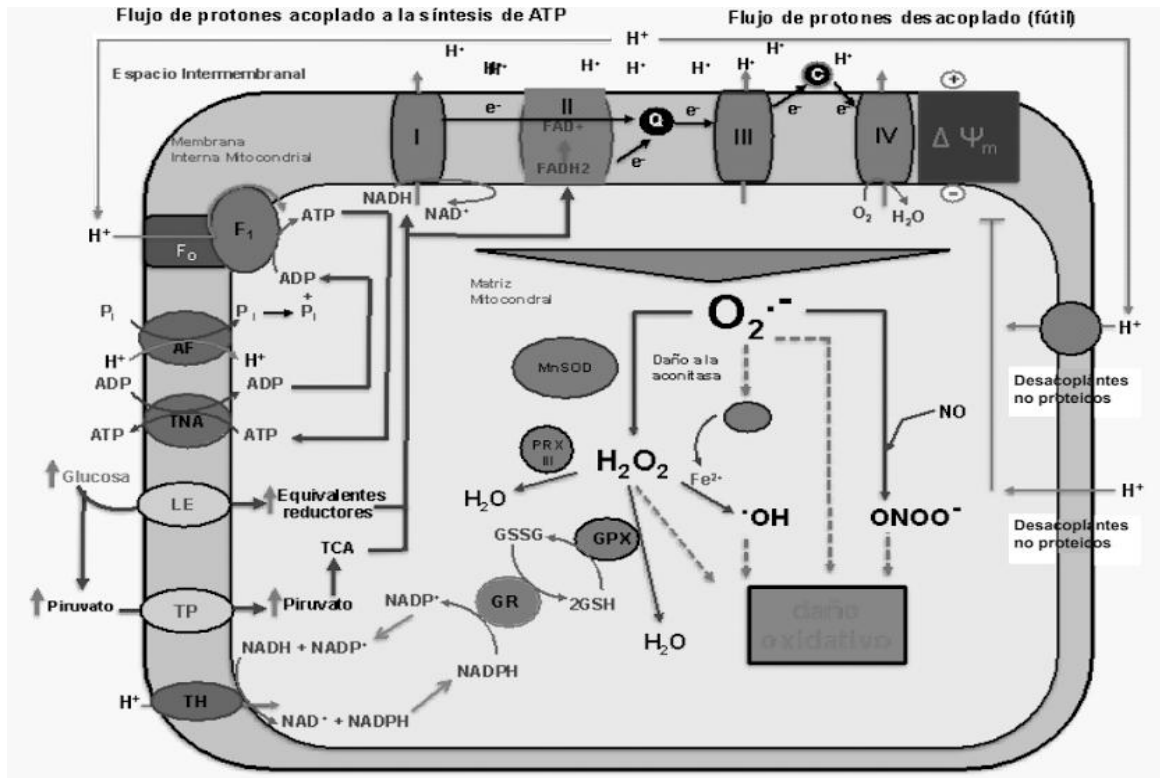
En el metabolismo de las ROS, los electrones que son donados por reacciones oxidoreductoras reducen el oxígeno parcialmente como se muestra en la figura 3. La reducción del oxígeno en el metabolismo es indispensable hasta la formación de agua (Caderon Salinas, Muñoz Reyes y cols., 2013).

Las fuentes principales generadoras de ROS en las células provienen de la cadena transportadora de electrones mitocondrial la NADH-ubiquinona oxidoreductasa, ubiquinona reductasa-citocromo c reductasa, citocromo c oxidasa y el complejo enzimático de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH oxidasa), ubicado en la membrana plasmática (Ruz Maldonado, 2017), estos son producidos mediante una transferencia de electrones al oxígeno molecular. Las ROS son moléculas mensajeras que regulan una amplia variedad de procesos fisiológicos celulares incluyendo la proliferación, la diferenciación y la apoptosis. Otra función de las ROS es la defensa inmune contra agentes externos por medio de la inflamación (Carvajal, 2018). También regulan el metabolismo de la glucosa, induciendo un incremento en la captación de glucosa por parte de los adipocitos y de las células del músculo esquelético. En este caso se da una translocación a la membrana del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) y un incremento consecuente en la captación intracelular de glucosa (Widlansky y Cols, 2011). El receptor

CB1 ha sido relacionado con la producción de ROS en las neuronas, donde se ha visto que su activación, disminuye su producción. El contenido de ROS en islotes pancreáticos a la estimulación con una alta concentración de glucosa activando receptores CB1 fue menor que en condiciones de baja concentración de glucosa, sin embargo los islotes de animales con SM muestran menor contenido de ROS (Ruz Maldonado, 2017).

Figura 3. Modelo propuesto para explicar la participación de la mitocondria en la inducción de daño oxidativo debido a hiperglucemia. La mitocondria tiene una alta concentración de equivalentes reductores ($\text{NADH} + \text{H}^+$ y FADH_2) provenientes de la glucólisis y que entran a la mitocondria a través de lanzaderas de electrones (LE) y por el aumento de la actividad del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), alimentado por la descarboxilación de las grandes concentraciones de piruvato que ingresa a la mitocondria a través de su transportador (TP). La energía generada por el paso de electrones en la cadena respiratoria (complejos I, II, III y IV) que termina en la formación de H_2O a partir de O_2 es usada para el bombeo de protones (H^+) desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembranal generando un gradiente de protones y un incremento en el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). La fuerza del flujo de protones al entrar puede acoplarse por el complejo de la ATP sintetasa (F_0/F_1) y permite la formación de ATP con ADP que proviene del citoplasma por el intercambiador ADP/ATP, también llamado transportador de nucleótidos de adenina (TNA) y con fosfato inorgánico (P_i) que llega a la matriz por medio del acarreador de fosfatos (AF) que también aprovecha la energía de entrada de los protones. Los protones también pueden entrar en una forma fútil a partir de los llamados desacoplantes químicos y las proteínas desacoplantes (PD) que permiten el ingreso de H^+ a la matriz mitocondrial generando calor y reduciendo el $\Delta\Psi_m$. El transporte de electrones en la cadena respiratoria inducen también la formación del radical superóxido ($\text{O}_2 \cdot^-$) como producto secundario indeseable que da lugar a daño oxidativo y a una serie de reacciones que pueden generar más especies reactivas de oxígeno y más daño oxidativo. El $\text{O}_2 \cdot^-$ generado puede seguir las siguientes vías: reaccionar con óxido nítrico (NO) para formar peroxinitrito (ONOO^-); transformarse por la superóxido dismutasa (MnSOD) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2); atacar el centro hierro-azufre FeS de la aconitasa liberando hierro ferroso (Fe^{2+}). El Fe^{2+} y H_2O_2 pueden reaccionar formando el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$). Todas estas especies reactivas de oxígeno ($\text{O}_2 \cdot^-$, ONOO^- , H_2O_2 y $\cdot\text{OH}$) pueden generar daño oxidativo. La mitocondria también tiene defensas antioxidantes, las cuales incluyen la propia MnSOD que reduce al $\text{O}_2 \cdot^-$ a H_2O_2 , mismo que es reducido a su vez por la glutatión peroxidasa (GPX) y peroxirredoxina III (PRX III). El glutatión oxidado (GSSG), se transforma en glutatión reducido (GR) por la acción de la glutatión reductasa que emplea electrones del

$NADPH + H^+$ que a su vez se reduce a partir de su forma oxidada ($NADP^+$) gracias a una transhidrogenasa (TH) que toma energía del gradiente de protones y electrones del $NADPH + H^+$. **IMAGEN TOMADA DE (Caderon Salinas, Muñoz Reyes y cols, 2013).**



1.8. MODELOS DE INDUCCIÓN DEL SÍNDROME METABÓLICO.

El SM es un conjunto de alteraciones bioquímicas, fisiológicas y antropométricas que ocurren simultáneamente que son factores de riesgo para el desarrollo y progresión de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus. (Sollano M. y cols 2022). Hasta la fecha se han utilizado, ratas, ratones, perros, cerdos y conejos como modelos animales (Gunawan S. y cols 2021), pero algunos de ellos no presenta todas las características de los componentes del SM en humanos (Lozano WN y cols, 2019), las ratas y los ratones son los modelos utilizados con más frecuencia para replicar el fenotipo y la patogénesis de la

enfermedad humana, especialmente la hipertensión, la diabetes y la obesidad (Gunawan S. y cols 2021), las ratas Wistar y Sprague-Dawley pueden considerarse los roedores más comunes utilizados para desarrollar modelos de SM, ya que son susceptibles a la obesidad inducida por la dieta y la resistencia con características individuales (Marques C, y cols 2015), se ha demostrado que las ratas alimentadas con una dieta alta en grasas (60% kcal) produjeron SM, es decir, aumento del peso corporal, masa grasa, glucosa plasmática en ayunas, hipertrigliceridemia, esteatosis hepática e hipertensión en un periodo la duración de la inducción del SM también es un determinante fuerte del resultado metabólico (Preguiça I y cols 2020).

1.8.1. DESARROLLO DEL MODELO DE SINDROME METABOLICO INDUCIDOS POR DIETA

La dieta desempeña un papel importante en el desarrollo de las manifestaciones clínicas del desarrollo de SM, se han realizado numerosos estudios relacionados con trastornos metabólicos utilizando modelos animales. Se emplearon diversos tipos de dieta y su composición específica, ya sea en forma de monodietas, como la dieta alta en fructosa, la dieta alta en sacarosa, la dieta alta en grasas, o las respectivas combinaciones de una dieta alta en fructosa y otra alta en grasas o una dieta alta en sacarosa y otra alta en grasas. (Gunawan S. y cols 2021)

MODELOS DE DIETA ALTA EN CARBOHIDRATOS: Los carbohidratos son la principal fuente de energía del cuerpo y se metabolizan con mayor facilidad que las grasas, Una ingesta de carbohidratos que exceda los requerimientos energéticos aumentará las concentraciones de glucosa en sangre (Bender D y cols 2018) y activará la secreción de insulina del páncreas, lo que permitirá que las células absorban glucosa. El consumo

excesivo de carbohidratos a largo plazo puede causar obesidad, lo que afecta la resistencia a la insulina. Los modelos dietéticos básicos aplicados en condiciones experimentales son el tipo de carbohidratos, como la fructosa y la sacarosa. (Gunawan S. y cols 2021).

MODELOS DE DIETA ALTA EN FRUCTOSA: azúcar de fruta (Gunawan S. y cols 2021; Lozano WN y cols, 2019), es un monosacárido similar a la glucosa y la galactosa, se utiliza como potencializador de sabor para hacer alimentos más apetitosos (Bray G y cols 2007; Choo V y cols 2018; Gunawan S. y cols 2021; Lozano WN y cols, 2019), un gran flujo de fructosa en el hígado causa la acumulación de triglicéridos y colesterol debido a los efectos estimulantes de la lipogénesis (Bender D y cols 2018) reduciendo la sensibilidad a la insulina y produciendo resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa (Basciano y cols 2005) una dieta que contiene un 60% de fructosa causa hipertensión , aumenta el azúcar en sangre en ayunas, el aumento de peso y la dislipidemia , y es un factor esencial en el desarrollo de hígado graso en un periodo de 8 semanas (Gunawan S. y cols 2021).

MODELOS DE DIETA EN SACAROSA: La sacarosa, también llamada azúcar, es un disacárido compuesto por una molécula de fructosa y una molécula de glucosa (Murray R y cols, 2012). Al ingerir azúcar, ambas moléculas de glucosa y fructosa se absorben a través de sus mecanismos de transporte específicos. La captación de glucosa en el metabolismo de la glucosa está regulada negativamente por la fosfofructoquinasa, lo que conduce a la entrada continua de fructosa en la vía glucolítica. El exceso de fructosa se convertirá en grasa en el hígado porque la fructosa es un buen sustrato para la síntesis de ácidos grasos en comparación con la glucosa. Por lo tanto, la fructosa se convierte en uno de los componentes que influyen en el desarrollo del SM, que es inducido principalmente por el consumo de sacarosa (Wong S y cols 2016).

MODELOS ALTA EN GRASAS: Las grasas son algunas de las principales macromoléculas que suelen incluirse en las dietas (Brow M y cols 2010). Las grasas contienen el mayor contenido calórico 9 Kcal/g de todas las macromoléculas. La grasa es un éster que suele conocerse como un triglicérido compuesto por tres cadenas de ácidos grasos y glicerol. Grandes cantidades de glicerol y ácidos grasos se movilizan libremente por el torrente sanguíneo. Los ácidos grasos circulan libremente en el plasma y son el principal sustrato para la producción de VLDL y LDL en el hígado (Nielsen S, 2012; Lozano WN y cols, 2019), La acumulación de triglicéridos en el hígado puede causar resistencia a la insulina (Wong S y cols 2016). La administración de una dieta alta en grasas también afecta los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA), como resultado de la descomposición de los triglicéridos ingeridos en la dieta. En la obesidad, los niveles circulantes de NEFA están elevados y los niveles aumentados se correlacionan inversamente con la sensibilidad a la insulina (Nascimento y cols 2019).

COMBINACION DE MODELOS DE DIETAS EN GRASAS Y CARBOHIDRATOS:

Esta dieta combinada ofrece varias ventajas. El aumento de triglicéridos se produce principalmente debido a dietas altas en fructosa, mientras que la obesidad se produce debido a dietas altas en grasas. Esta dieta combinada se asoció con un aumento en los niveles de colesterol plasmático, una disminución del colesterol HDL y un aumento del doble del peso del hígado en ratas (Moreno F Y Cols 2018.)

1.9. PRUEBAS CONDUCTUALES DEPRESION Y ANSIEDAD

La prueba de suspensión de la cola es una prueba conductual en ratones útil para la detección de posibles fármacos antidepresivos o la evaluación de otras manipulaciones que se espera que afecten a los comportamientos relacionados con la depresión. (Can A. y cols 2012), La prueba de suspensión de la cola fue aplicada por primera vez en 1985 por Steru para examinar la eficacia de los antidepresivos en ratones, el aspecto principal de la prueba es la evaluación conductual del sentimiento de desesperanza o impotencia ante la pérdida de motivación (Sahin Z. y cols 2021). Los ratones se suspenden de la cola con cinta adhesiva, en una posición que les impide escaparse ni agarrarse a superficies cercanas. Esta prueba, que suele durar seis minutos, se cuantifican los comportamientos de escape resultantes. (Can A. y cols 2012). Dicha prueba pretende determinar el comportamiento de permanecer quieto o soltarse, lo cual es un reflejo de la desesperanza conductual, la inactividad se asocia con la desesperanza debido a la pérdida de defensa o motivación para huir, en lugar de hipoactividad debido al gasto de energía. Esto se puede demostrar evaluando la frecuencia, amplitud y relación temporal de los movimientos individuales probados, o mediante análisis bioquímicos relacionados con el metabolismo energético. (Sahin Z. y cols 2021).

El campo abierto es una prueba muy conocida y aplicada en el laboratorio animal (Garua Adriana 1985), la cual se utilizó inicialmente para medir el comportamiento emocional en roedores, mientras que más tarde se utilizó para medir los cambios de comportamiento inducidos por drogas psicotrópicas y choques electroconvulsivos. (Hiamanshu y cols 2020). La prueba de campo abierto se utiliza ampliamente para evaluar el comportamiento exploratorio y el comportamiento relacionado con la ansiedad (Tatem KS y cols 2014). Este

test proporciona una evaluación fácil y justa de los comportamientos (Seibenhener M y cols 2015) El test consiste en una arena rodeada de muros altos para evitar escapes, y el suelo del campo abierto está dividido en cuadrados (Samira s. y cols 2017), cada animal debe colocarse en el centro del aparato. La persona que coloca a los ratones no debe realizar movimientos bruscos ni ruidos, ya que pueden afectar gravemente los resultados. La duración de la sesión de prueba debe ser de 5 minutos para una evaluación novedosa, pero para examinar la habituación a un entorno cada vez más familiar, se recomienda una sesión de 30 minutos (Azeez T. 2015), el número de líneas o cuadrados cruzados se registrará automáticamente y al final del experimento se accederá al resultado para verificar el comportamiento exploratorio (Hiamanshu y cols 2020).

2. JUSTIFICACIÓN

Uno de los principales problemas de salud pública que se presenta actualmente, es el denominado síndrome metabólico (SM), el cual se reconoce como una entidad patológica, que se caracteriza por diferentes marcadores fisiológicos y bioquímicos, tales como la hipertensión arterial ($> 160/90$ mmHg), dislipemia (triglicéridos >150 mg/dl); colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad [cHDL] < 35 MG/dl), obesidad (índice de masa corporal [IMC] >30), obesidad abdominal (circunferencia de cintura > 102 cm en varones y >88 cm en mujeres) e hiperglucemia en ayunas (> 110 mg/dl) (Laclaustra y cols., 2005). Hasta nuestros días, no se ha determinado los factores por las que ocurre el síndrome metabólico, sin embargo, se propone que los factores genéticos y sobre todo, los hábitos alimenticios y el sedentarismo, juegan un papel determinante en su aparición.

Uno de los marcadores principales del SM, es la resistencia a la insulina (RI), la cual es la responsable del exceso de ácidos grasos libres (AGL) circulantes que se derivan de triglicéridos (TG) del tejido adiposo. Existen otros factores que pudieran estar involucrados en la aparición del SM y que ayuden a explicar los diferentes eventos patológicos que se presentan en dicho síndrome. Se ha demostrado que los receptores CB1 se localizan en islotes pancreáticos en ratas y que el agonista selectivo Araquidonil-2'-cloroetilamida (ACEA), produce intolerancia a la glucosa de manera específica e incrementan la ingesta de alimentos en animales saciados donde la motivación para comer es mínima (Arias H., 2007); dicha intolerancia a la glucosa disminuye después de la administración del antagonista CB1, N-(piperidin-1-il)-5-(4-iodofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol-3-carboxamida (AM251) (Bermúdez-Silva., 2006). Así como también disminuye la motivación para la ingesta de alimentos (Arias H., 2007).

Asimismo se ha demostrado que la activación de los receptores CB1, incrementa la secreción de insulina en los islotes pancreáticos (Horváth B y cols, 2012); mientras que su antagonismo con AM251, disminuye la resistencia a la insulina en ratas obesas de la cepa Zucker (Merroun., 2013).

Sin embargo, hasta ahora no se ha estudiado la acción de los receptores CB1 en un modelo de SM inducido por los hábitos alimenticios, es por ello que se propone estudiar a los receptores del sistema endocanabinoide en un modelo de SM y sus repercusiones en cuanto a la concentración de glucosa e insulina de dichas ratas.

3. HIPÓTESIS

La activación de los receptores CB1, incrementa la intolerancia a la glucosa e incrementa la concentración de insulina, aumenta el estado de ansiedad y el estado depresivo en un modelo de síndrome metabólico en ratas wistar.

4. OBJETIVOS.

4.1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la activación de los receptores CB1 sobre las concentraciones de glucosa e insulina, ansiedad y depresión en un modelo de SM en rata Wistar.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Establecer el síndrome metabólico en ratas Wistar
- ✓ Evaluar los efectos de la activación del receptor CB1 en la conducta alimenticia y peso en ratas con síndrome metabólico.
- ✓ Evaluar los efectos de la activación del receptor CB1 sobre la conducta de ansiedad y depresión en ratas con síndrome metabólico.
- ✓ Medir la concentración de glucosa e insulina en ratas con síndrome metabólico después de la activación de los receptores CB1.
- ✓ Medir la expresión de los receptores CB1 en el núcleo paraventricular del hipotálamo de ratas con síndrome metabólico.

5. METODOLOGIA

5.1. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO

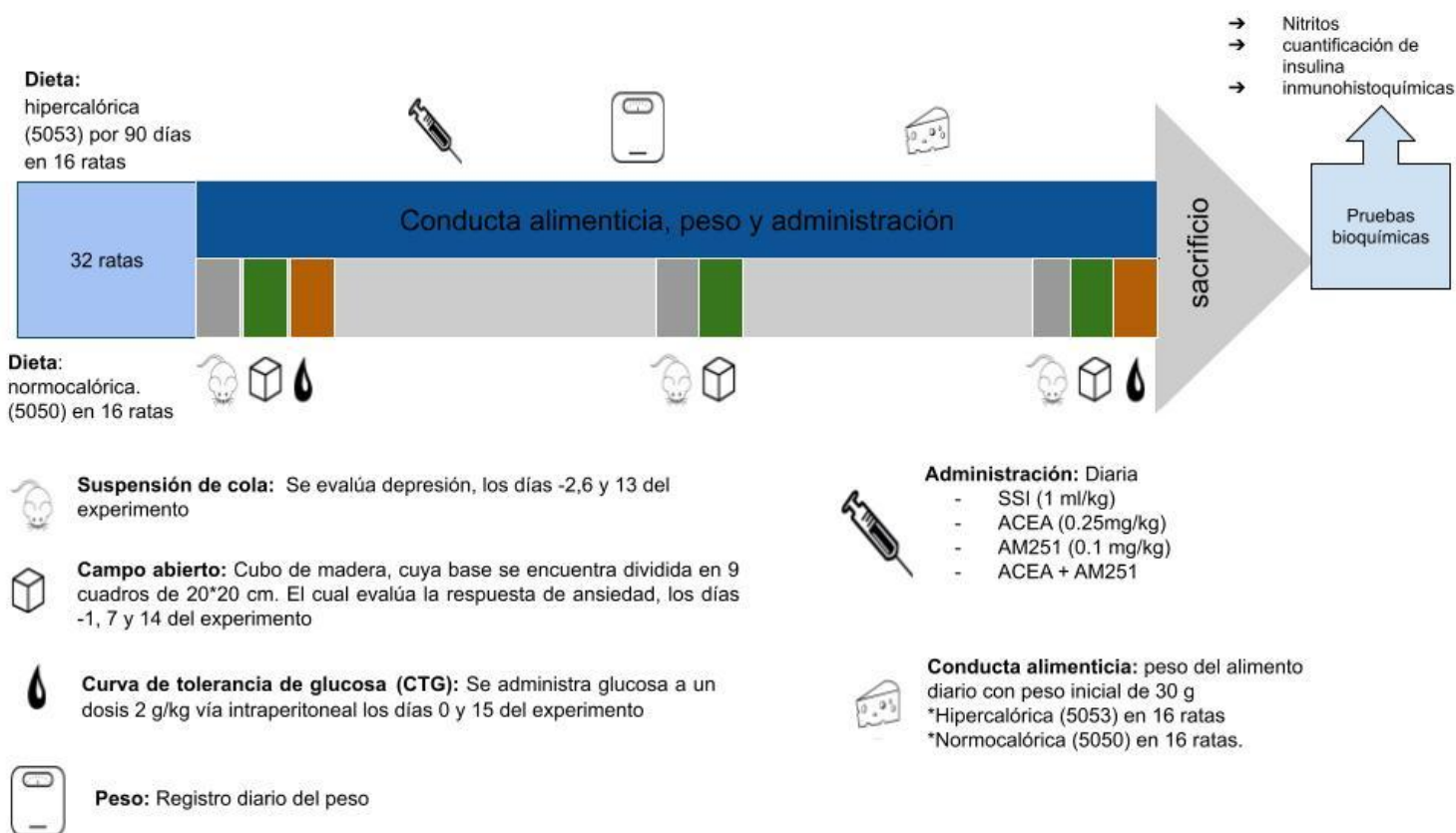


FIGURA 4. Diagrama general de trabajo. Se indica el procedimiento realizado, así como las etapas en los sujetos de experimentación

5.2. SUJETOS DE EXPERIMENTACIÓN

Se emplearon ratas macho (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar (n=32) de 190 a 230g de peso, provenientes del Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las ratas se mantuvieron en cajas a temperatura de 24°C, con un ciclo luz/obscuridad de 12-12 horas y libre acceso a agua y alimento, hasta llegar al peso

requerido; todo con base a los protocolos de cuidado y manejo de animales de laboratorio del Bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y con fundamento en la NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio).

Se formaron dos grupos (n=16), cada grupo se dividió en 4 subgrupos (n=4), el primer grupo de 16 ratas se sometió a una dieta hipercalórica/hiperglucémica por 90 días con alimento 5053 el cual tiene la siguiente composición: cada 10 gramos contiene 7.14 g de carbohidratos con un aporte de 28.6 Kcal, 0.73 g de proteínas con un aporte de 2.92 Kcal, 0.58 g de lípidos con un aporte de 5.22 Kcal, 0.0 g de fibra y 0.35 de cenizas dando un aporte total de 36.74 Kcal para favorecer el SM.

El segundo grupo se sometió a una dieta normocalórica con alimento (5050).

Una vez transcurrido el tiempo para inducir el SM, ambos grupos se subdividieron en 4 grupos con n=4, al primer subgrupo se le administró solución salina isotónica (SSI) con una dosis de 0.1ml/10g, el segundo subgrupo fue administrado con

Araquidonil-2-cloroetilamida (ACEA) con una dosis de (0.25 mg/kg), el tercer subgrupo fue administrado N-(piperidin-1-il)-5-(4-iodofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol-3-carboxamida (AM251) con una dosis de (0.1mg/kg), el cuarto subgrupo fue administrado con ACEA (0.25mg/kg) + AM251 (0.1mg/kg); la administración fue diaria en el periodo del experimento.

Durante el experimento se evaluó la conducta alimenticia; durante el periodo de la experimentación, se colocaron 30 g de alimento a cada rata de acuerdo a cada grupo; el grupo (n=16) de la dieta hipercalórica se colocó a cada rata 30g de alimento 5053 cada 24 horas se registró el peso restante para determinar el consumo diario de las ratas; al grupo

(n=16) de la dieta normocalorica se colocó a cada rata 30 g de alimento 5050 cada 24 horas se registró el peso restante para determinar el consumo diario de las ratas.

Se les realizaron medidas zoométricas a ambos grupos (circunferencia abdominal, talla) cada 3 días, el peso se registró diario durante el experimento.

5.3.PRUEBAS CONDUCTUALES

5.3.1. SUSPENSIÓN DE COLA

La suspensión de cola permitió evaluar el estado depresivo de los animales; el modelo consistió en una caja de madera con una cuerda donde las ratas fueron suspendidas de la cola durante 5 minutos, se registraron los tiempos de inmovilidad y de movimientos bruscos; Entre mayor movilidad, se presume que la rata está en estado de ansiedad, en caso contrario si la rata presenta mayor tiempo de inmovilidad se presume que la rata se encuentra en depresión. Se evaluaron los días -2, 6 y 13 del tiempo de experimentación.

5.3.2. CAMPO ABIERTO

El modelo consiste de un cubo de madera de 60*60*50 cm, cuya base se encuentra dividida en 9 cuadros de 20*20 cm el cual evalúa la respuesta de ansiedad de los sujetos de experimentación la cual consiste en la respuesta incondicionada de la ansiedad al encontrarse en un ambiente ajeno a ellos, las rata se colocó en el cuadro central del modelo, se dibujó la trayectoria y se cuantificó el número de veces que pasó por el centro en un periodo de 10 min. Se evaluaron los días -1,7 y 14 del periodo de experimentación como se muestra en la figura 7.

5.4. TOLERANCIA A LA GLUCOSA

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa en los días 0 y 15 del período de experimentación, los sujetos de experimentación de los diferentes grupos se administraron con glucosa a una dosis de 2 g/kg vía intraperitoneal; se obtuvieron muestras sanguíneas a partir de una pequeña incisión en la cola y se realizó la determinación de glucosa por el método enzimático de glucosa oxidasa-peroxidasa, a través de un glucómetro digital (ACCU-CHECK Brand active). En los siguientes tiempos 0, 5, 10, 15 y 45 min posteriores a la administración de glucosa.

Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas después del sacrificio de los sujetos de experimentación:

5.5. CUANTIFICACIÓN DE NITRITOS

En los tejidos de cerebro (hipocampo y estriado), hígado y páncreas se determinó la concentración de nitrito utilizando la reacción de Griess. El reactivo de Griess se preparó una solución de dihidrocloruro N-(1-Naftil)-etilendiamina al 0.1% diluido en agua destilada y la solución de sulfanilamida al 1% en ácido fosfórico al 5%. Ambas soluciones son estables a 4°C protegidas de la luz.

Las muestras se realizaron por triplicado, los tejidos se colocaron en eppendorfs agregando 1000 microlitros de Buffer de fosfatos salinos (PBS) 1X previamente refrigerado y se homogenizaron cuidadosamente, se mantuvieron en refrigeración a 4°C.

Las muestras se centrifugaron a 12500 rpm durante 30 minutos a 4°C, se retiró el sobrenadante colocándolos en eppendorfs nuevos. La reacción colorimétrica se obtiene agregando 50 microlitros de sobrenadante, 50 microlitros de sulfanilamida, 50 microlitros de NED obteniendo un total de 150 microlitros. Estableciéndose su absorbancia a 546 nm.

Como estándar se utilizó NaNO₂ 0.1 mM. La concentración se estableció como micromoles de nitrito/L.

La reacción de Griess se basa en la formación de un cromoforo por la reacción de sulfanilamida con nitrito en medio ácido, seguido de un acoplamiento con aminas bicíclicas como el NED. (Adames H y cols., 2009).

5.6. CUANTIFICACIÓN DE INSULINA

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción cardíaca, se centrifugaron a 2 x g por 5 min para obtener el plasma, el cual se procesó para medir la concentración de insulina a través de un inmunoensayo por ELISA y por reacción antígeno-anticuerpo la cual se estableciéndose su absorbancia a 415 nm (WinerLAB group).

5.7. INMUNOHISTOQUÍMICAS

Brevemente, los animales se anestesiaron mediante administración intraperitoneal de pentobarbital. Se llegó al tórax, en donde se practicó una punción en el ápex cardíaco con una cánula y se realizó una incisión en la aurícula derecha del corazón para facilitar el drenaje de sangre, que luego fue sustituido por solución salina (0.9%) a temperatura ambiente. Cuando se observó el blanqueamiento de los órganos se detuvo la perfusión, se extrajo el cerebro y se almacenó en una solución fijadora de paraformaldehído 4X.

Posteriormente los tejidos se deshidrataron con alcohol en forma gradual y se incluyeron en parafina, posteriormente se cortaron en pequeñas láminas de 6 micras con ayuda del micrótopo (para localizar el núcleo paraventricular) colocando las láminas en portaobjetos previamente gelatinizados para fijación de las muestras. Se tomaron 3 muestras donde se localizó el núcleo paraventricular y se procedió a desparafinar las muestras con xilol y alcohol en forma gradual, se enjuagaron con PBS 1X previamente refrigerado, se realizó

una inmersión en solución de albumina bovina (BSA) al 2% en PBS 1X. Se incubó con el anticuerpo primario (anti-CB1) 1:100 a 4°C con una dilución de BSA al 1% en PBS 1X. Después de la incubación con el anticuerpo primario, se prosiguió con la incubación del anticuerpo secundario conjugado con FITC (Jackson ImmunoResearch Laboratories) 1:200 diluido en BSA al 1% en PBS 1X en un lugar oscuro durante 2 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo se montó con Vecta Shield-DAPI; se colocó 10 microlitros por cada muestra y se selló con barniz.

6. RESULTADOS

6.1.PRUEBAS CONDUCTUALES

6.1.1. LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 PRODUCE DEPRESIÓN Y ANSIEDAD EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO

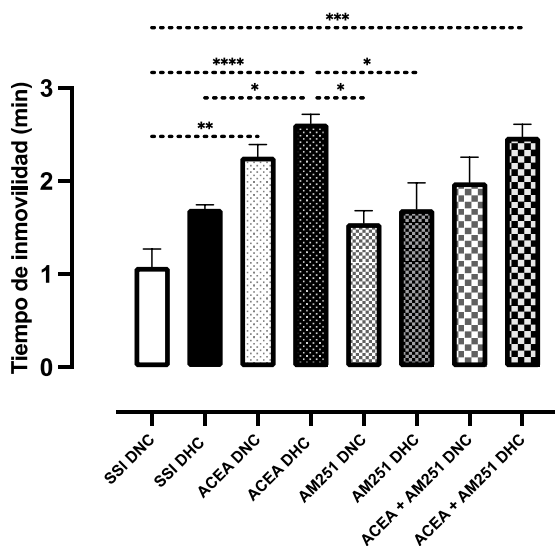
La prueba conductual que se realizó para conocer el estado de depresión de los sujetos de los diferentes grupos. Se sujetó la cola de la rata (desde la base) y se suspendió durante 5 minutos; se registró el tiempo de inmovilidad.

La disminución de movilidad es variable en los grupos como se muestra en la gráfica 1, los grupos alimentados con una dieta normocalórica tienen más movilidad en comparación con los grupos de dieta hipercalórica con un valor de $p < 0.05$, también se puede observar que los grupos donde se activó a los receptores CB1 y que fueron alimentados con dieta hipercalórica, presentan mayor tiempo de inmovilidad con una media de 2.2 y 2.6 min en comparación con el grupo de dieta normocalórica con una media de 1.08 min. Sin embargo, cuando se realizó la administración del antagonista de los receptores CB1, el

AM251, el tiempo de inmovilidad disminuyó de manera significativa, pues se registró una media de 1.550 para el grupo tratado con DNC y de 1.702 para el administrado con DHC. Finalmente, se determinó una media de 1.988 para el grupo de DNC, donde se coadministró el agonista y el antagonista CB1; mientras que se registró una media de 2.478 para el grupo con la misma coadministración, pero de DHC.

TABLA 1. Media \pm ESM de los minutos de inmovilidad de los sujetos de experimentación en el modelo de suspensión de cola.

SUSPENSIÓN DE COLA				
GRUPO	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	1.080 \pm 0.2859	2.264 \pm 0.2674	1.550 \pm 0.3196	1.988 \pm 0.2998
DHC	1.702 \pm 0.2998	2.620 \pm 0.2674	1.702 \pm 0.2610	2.478 \pm 0.2998



Grafica 1. El incremento del tiempo es notable en los grupos que donde se activa el receptor CB1 con dieta hipercalórica y normocalórica.

ANOVA de una vía con test de comparación múltiple de Bonferroni, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, **** $p < 0.00001$

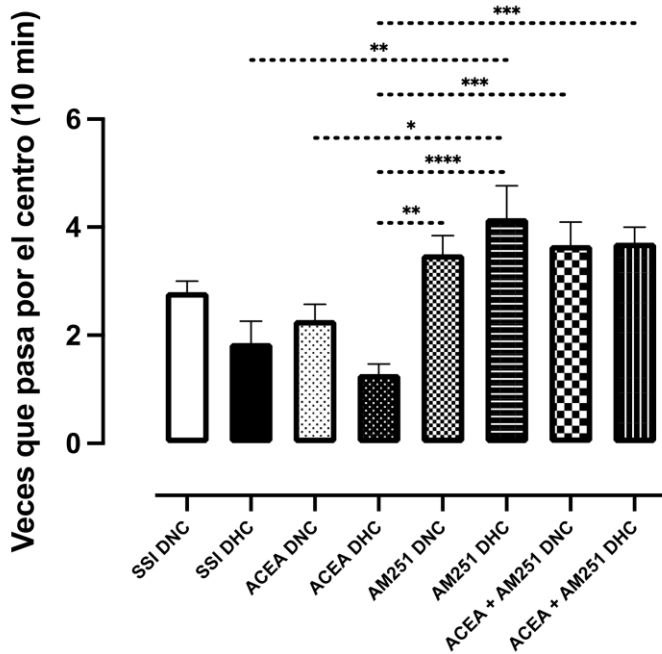


Figura 5. Muestra el erguimiento de la rata, el cual intenta liberarse y es el tiempo que se cuenta para la prueba de suspensión de cola.

El campo abierto, es un modelo que permite evaluar la ansiedad de los sujetos de experimentación al exponerse a un sitio no explorado. Como se puede observar en la gráfica 2, el grupo SSI DNC, presentó una media de 2.8 cuadros visitados, mientras que los animales alimentados con DHC, registraron una media de 1.857. la activación de los receptores CB1 en animales con DNC, incrementó la ansiedad en ellos, ya que registraron una media de 2.286, mientras que la misma activación en animales con DHC incrementó más este proceso, pues los animales registraron 1.286. Interesantemente, el antagonismo de los receptores CB1, disminuyó la ansiedad en los animales alimentados con DNC y DHC, pues estos incrementaron su paso por el centro (DNC= 3.500; DHC= 4.167); mientras que este incremento se mantiene al administrar el ACEA y AM251 (DNC= 3.667; DHC= 3.714). Dichos resultados se pueden observar en la tabla 2 y en la gráfica 2.

TABLA 2. Media \pm ESM de las veces que los animales alimentados con DNC y DHC pasan por el centro del campo abierto, después de haber sido activados o inactivados los receptores CB1

Grupo	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	2.8 \pm 0.5329	2.286 \pm 0.5329	3.5 \pm 0.5510	3.667 \pm 0.5510
DHC	1.857 \pm 0.5329	1.286 \pm 0.5329	4.167 \pm 0.5510	3.714 \pm 0.5329



Grafica 2. Muestra la cantidad de veces que la rata pasa por el centro de los diferentes grupos.

ANOVA de una vía con test de comparación múltiple de Bonferroni,

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, **** $p < 0.00001$.



Figura 6. Sin importar la dirección por la que la rata debe pasar n veces para pronosticar su ansiedad. La rata realiza una exploración sobre los costados de la caja para encontrar un lugar seguro

6.2.LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1, INCREMENTA LA GLUCEMIA EN RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO.

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa. Para ello, se administró glucosa a una dosis de 2 g/kg vía intraperitoneal. La gráfica 3 muestra los resultados obtenidos; los sujetos alimentados con dieta normocalórica, no muestra cambios significativos con respecto al tiempo ($P < 0.001$). Sin embargo el grupo de ACEA + AM251 DNC presenta una media menor con valor de 229.8 mg/dL al inicio de la curva de tolerancia de glucosa en comparación con el grupo control de SSI DNC con una media de 278.1 mg/dL como se muestra en la tabla 3. la grafica 3B muestra la curva de tolerancia de glucosa con grupos con dieta hipercaloria con un valor de $p < 0.0001$ el cual no tiene valor significativo queda mencionar que el grupo de ACEA + AM251 DHC presenta a los 10 minutos de haber

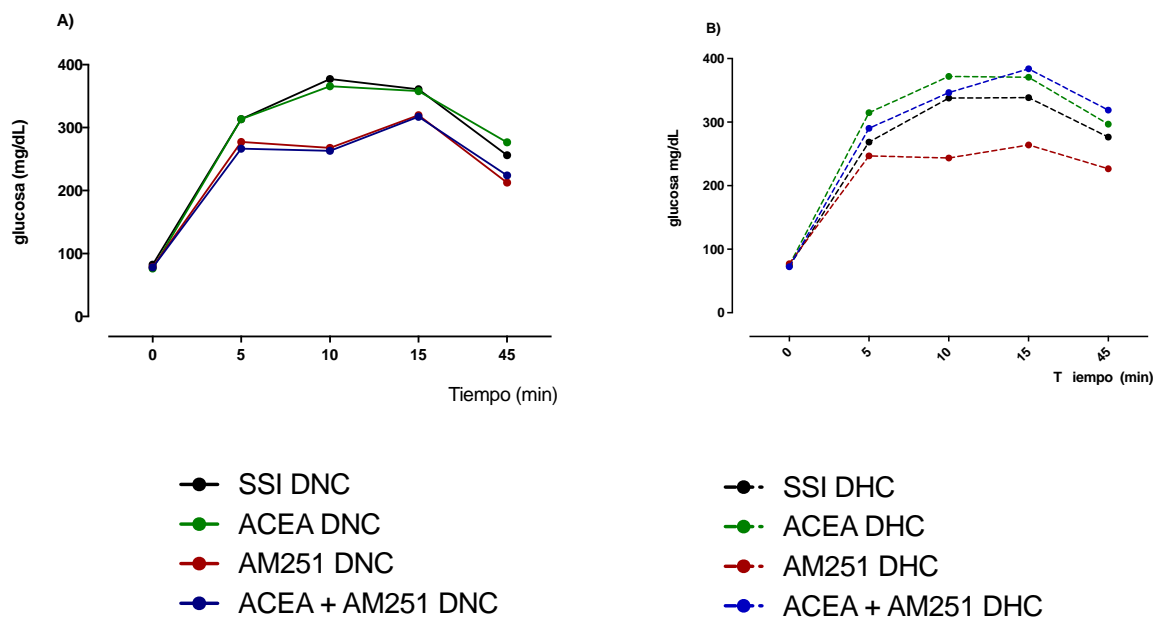
administrado la glucosa presenta una media de 346.5 mg/dL de concentración de glucosa en sangre y a los 15 minutos de haber administrado la glucosa muestra un incremento de una media de 383.75 mg/dL donde alcanza su punto máximo de concentración en sangre , sin embargo, los grupos de SSI DHC,ACEA DHC,SSI DHC y AM251 DHC presentan su punto máximo de concentración de glucosa en sangre a los 10 minutos de haber administrado la glucosa, cabe mencionar que el grupo de AM251 DHC presenta una baja concentración de glucosa en sangre con respecto a al grupo control de SSI DHC, como se muestra en la tabla 4 el grupo con menor concentración de glucosa en sangre es el AM251 DHC con una media de 211.6 mg/dL y el grupo que presenta mayor concentración de glucosa en sangre es el grupo de ACEA DHC con una media de 285.8 mg/dL.

TABLA 3. Media \pm ESM de la curva de la tolerancia de glucosa en sangre en ratas con DNC y DHC , después de haber sido activados o inactivados los receptores CB1



Figura 7. Se realiza toma de muestras sanguíneas a partir de una pequeña incisión en la cola y se realizó la determinación de glucosa por el método enzimático de glucosa oxidasa-peroxidasa, a través de un glucómetro digital (ACCU-CHECK Brand active).

Grupo	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	278.1 \pm 53.29	278 \pm 52.99	231.2 \pm 41.81	229.8 \pm 40.73
DHC	258.9 \pm 48.74	285.8 \pm 54.77	211.6 \pm 34.16	282.3 \pm 54.74



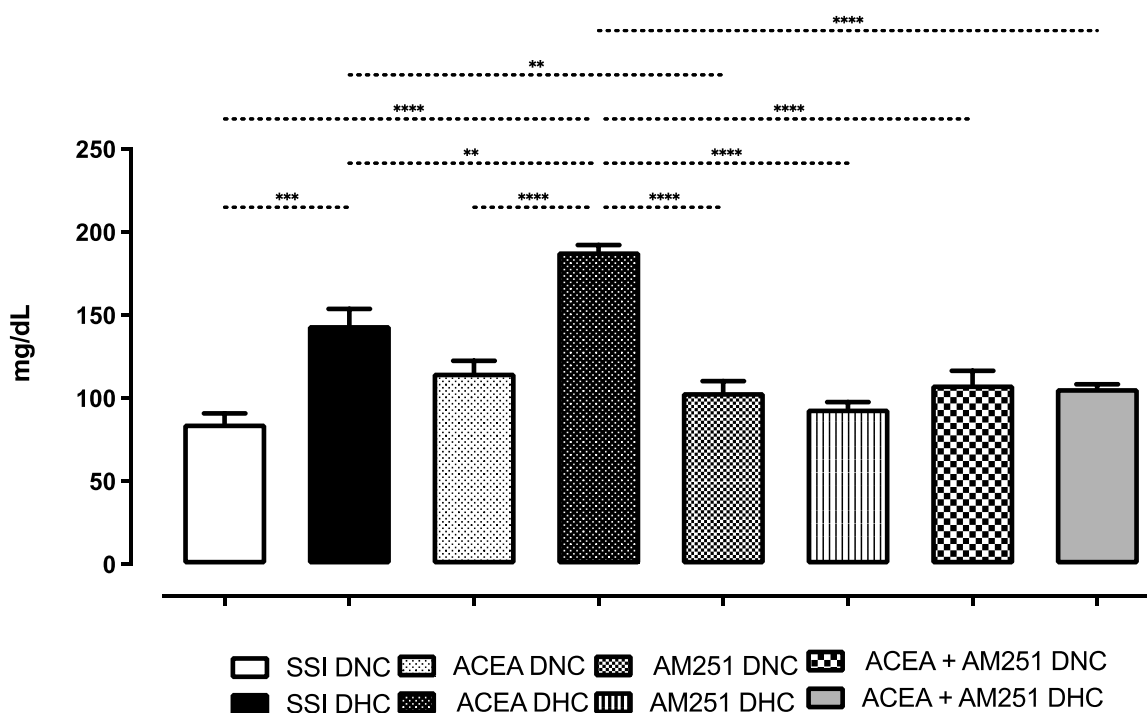
Gráfica 3. Curvas de tolerancia a la glucosa en los animales alimentados con dieta normocalórica e hipercalórica, después de haber administrado 2g/kg de glucosa (vip) y haber activado o bloqueado a los receptores CB1.

Al término del experimento, las ratas fueron administradas con el agonista o antagonista de los receptores CB1 o con la coadministración de ambos fármacos, y fueron sacrificados por sobredosis con pentobarbital. Se extrajo 1 mL de sangre por punción cardíaca, la cual fue centrifugada para obtener el plasma y medir la concentración de glucosa en los animales; resultados que se pueden observar en la tabla y gráfica 4 . La concentración de glucosa en las ratas del grupo alimentado con DNC y administrado con SSI, mostró una media de 85.00 mg/dL de glucosa, mientras que el grupo alimentado con DHC, mostró un incremento, ya que la media fue de 144.3 mg/dL. La activación de los receptores CB1 en el grupo con DNC, presentó una media de 115.7 mg/dL de glucosa, mientras que esta misma activación, pero en el grupo alimentado con DHC, produjo una concentración media de glucosa de 188.7 mg/dL. Por otro lado, la administración del antagonista CB1, disminuyó la concentración de glucosa a 104 mg/dL en el grupo alimentado con DNC, mientras que en

el grupo con DHC, este bloqueo produjo que la concentración de glucosa bajara a 94 mg/dL. La coadministración del agonista y antagonista de los receptores CB1, produjo que la concentración de glucosa fuera de 108.5 mg/dL en el grupo DNC, mientras que en el grupo DHC, se presentara una concentración media de 106.3 mg/dL.

TABLA 4. Se muestra la media \pm ES de la concentración de glucosa en el plasma de ratas alimentadas con DNC o DHC más la activación o bloqueo de los receptores CB1.

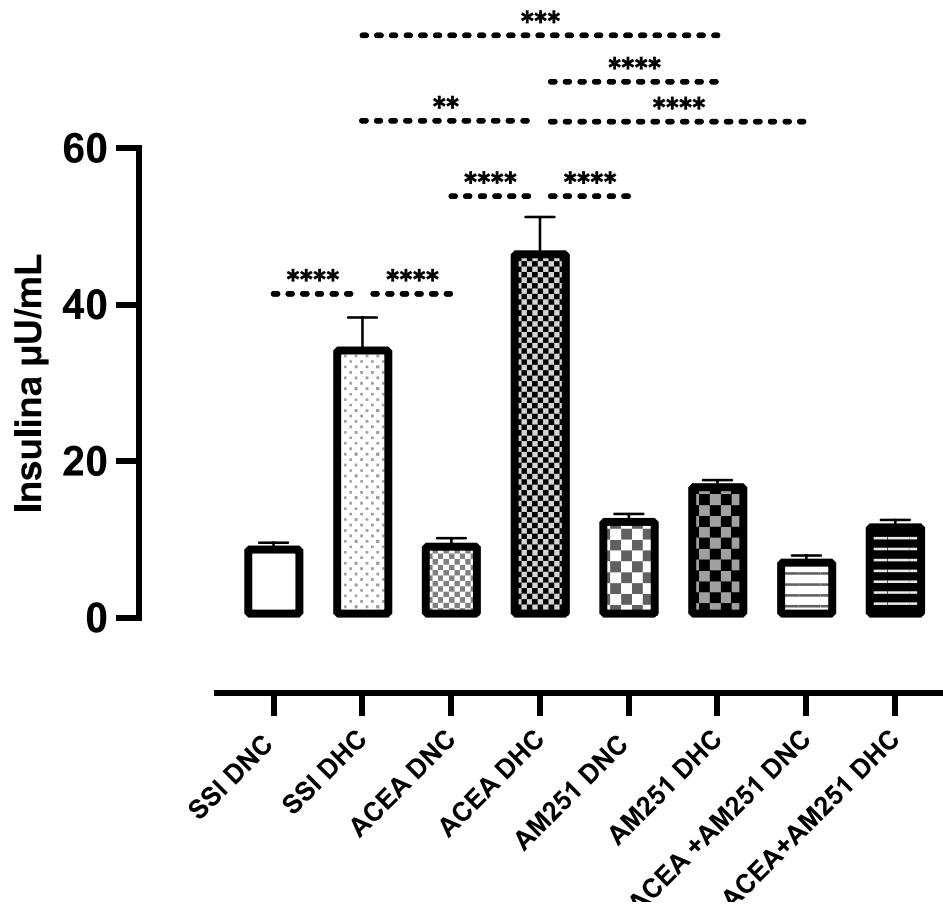
GRUPOS	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	85 \pm 9.279	115.7 \pm 9.279	104 \pm 9.279	108.5 \pm 8.680
DHC	144.3 \pm 9.279	188.7 \pm 9.279	94 \pm 8.680	106.3 \pm 8.680



Se midió la concentración de insulina en el plasma de las ratas de los diferentes grupos experimentales. El grupo de SSI DHC desarrolló resistencia a la insulina, pues se midió un incremento del 256.3% con respecto a ratas del grupo SSI DNC. En este mismo sentido, las ratas con DHC más la activación de los receptores CB1, presentaron un incremento de insulina del 35.56 % con respecto al grupo de SSI DHC , un 383.03% con respecto al grupo SSI DNC. En la tabla 5 se muestran las medias de las concentraciones de insulina donde se observa que los grupos AM251 DHC, y AM251 DNC no presentan diferencia significativa con un promedio de 15.01.

TABLA 5. Se muestra la media \pm ES de la concentración de insulina en ratas alimentadas con DNC o DHC más la activación o bloqueo de los receptores CB1.

GRUPOS	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	9.75 \pm 0.5573	9.575 \pm 0.6343	12.8 \pm 0.4491	12.13 \pm 0.3705
DHC	34.65 \pm 3.745	46.98 \pm 4.229	17.23 \pm 0.3705	12.13 \pm 0.3705



Gráfica 5. Efecto de la activación o bloqueo de los receptores CB1 en ratas alimentadas con DNC o DHC, sobre la concentración de insulina en sangre. Se observa que la activación de los receptores CB1 en ratas alimentadas con dieta hipercalórica, incrementa la concentración de insulina, mientras que el antagonismo de los CB1, disminuye la concentración de la misma. ANOVA de una vía con test de comparación múltiple de Bonferroni, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, **** $p < 0.00001$.

6.3. LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES CB1 INCREMENTA LA CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN EL HIPOCAMPO Y ESTRIADO DE RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO

Esta prueba es un medio indirecto de comprobar que hay daño a nivel celular principalmente en la mitocondria y retículo endoplásmico. La gráfica 6A muestra que el grupo administrado con ACEA presenta una concentración mayor en la región del estriado con una media de 8.137 NO₂/g tejido (tabla 6), mientras que la administración del AM251

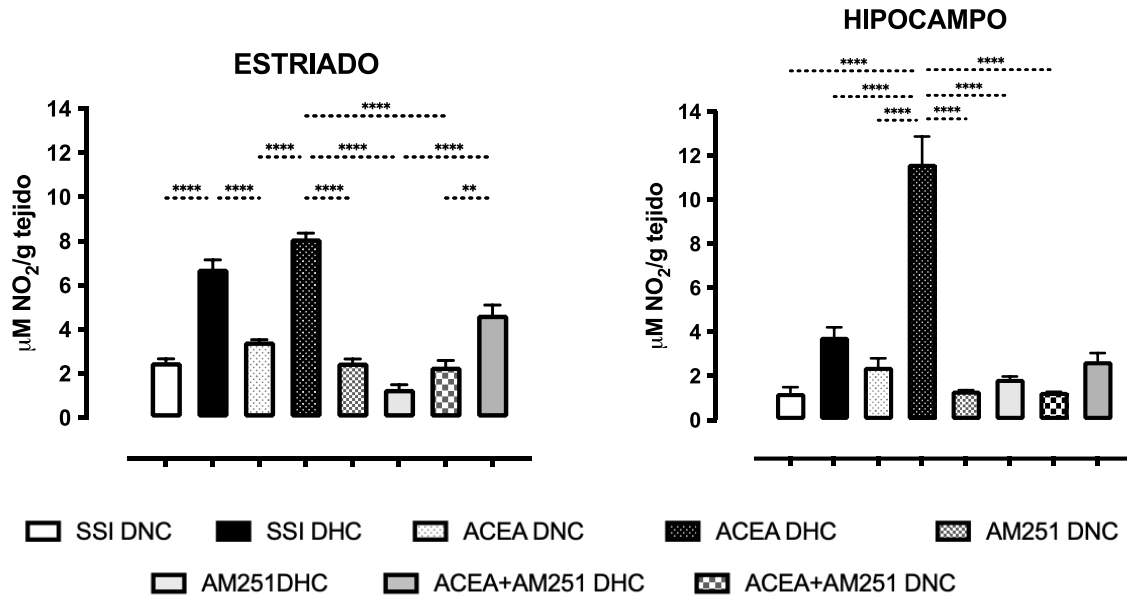
presenta una concentración menor con una media de 1.31 NO₂/g tejido con una diferencia del 5.44 NO₂/g tejido al grupo control. En la gráfica 6B se observa que los grupos AM251 y ACEA + AM251 en la región de hipocampo presentan menor concentración de NO en la región de estriado con un promedio de 2.27 NO₂/g tejido con respecto al grupo control.

TABLA 6. Se muestra la media \pm ES de la cuantificación de nitritos en ratas alimentadas con DNC más la activación o bloqueo de los receptores CBI.

GRUPOS	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
ESTRIADO	6.753 \pm 0.4081	8.137 \pm 0.2281	1.31 \pm 0.1874	4.664 \pm 0.4368
HIPOCAMPO	3.787 \pm 0.4197	11.64 \pm 1.228	1.872 \pm 0.1132	6.674 \pm 0.3755

TABLA 7. Se muestra la media \pm ES de la cuantificación de nitritos en ratas alimentadas con DHC más la activación o bloqueo de los receptores CBI.

GRUPOS	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
ESTRIADO	2.516 \pm 0.1547	3.463 \pm 0.0762	2.507 \pm 0.1587	2.31 \pm 0.2847
HIPOCAMPO	1.229 \pm 0.2673	2.424 \pm 0.3774	0.3442 \pm 0.0173	0.2795 \pm 0.0052



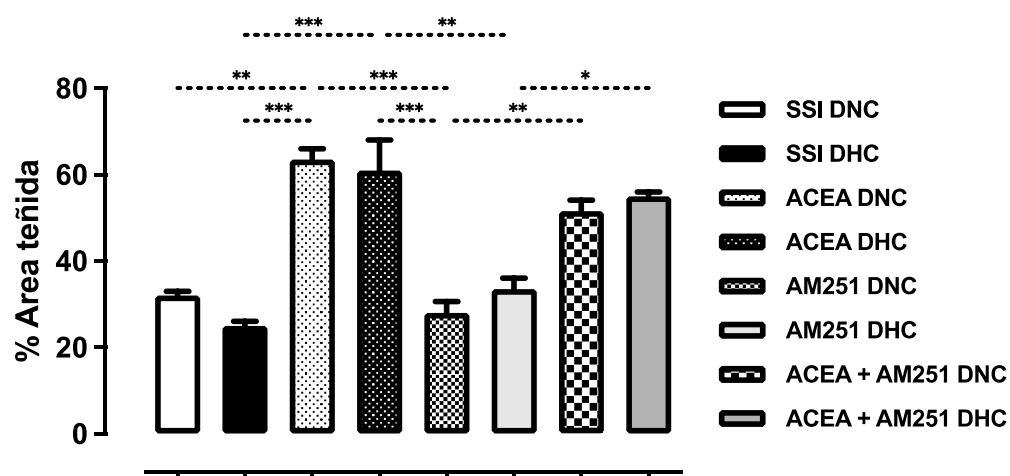
Gráfica 6. Efecto de la activación o bloqueo de los receptores CB1 en ratas alimentadas con DNC o DHC, sobre la concentración de nitritos en el estriado e hipocampo. Se observa que la activación de los receptores CB1 en ratas alimentadas con dieta hipercalórica, incrementa significativamente la concentración de nitritos, mientras que el antagonismo de los CB1, la disminuye. ANOVA de una vía con test de comparación múltiple de Bonferroni, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, **** $p < 0.00001$.

6.4. LA ACTIVACIÓN CONTINUA DE LOS RECEPTORES CB1, INCREMENTA SU INMUNORREACTIVIDAD EN EL NÚCLEO PARAVENTRICULAR DEL HIPOTÁLAMO DE RATAS CON SÍNDROME METABÓLICO.

Al realizarse la eutanasia de los animales, se obtuvieron cerebros completos y se colocaron en paraformaldehído para posteriormente realizar cortes coronales y realizar la técnica de inmunofluorescencia, para poder observar si existen cambios en la expresión de los receptores CB1 en el núcleo paraventricular del hipotálamo, clave en la regulación de la conducta alimentaria. Las imágenes fueron tomadas con el objetivos de 20 X y 40 X , una vez que se obtuvieron las imágenes para su observación se utilizó el software ImageJ para obtener la cuantificación de las células expresadas.

TABLA 8. Media \pm ESM de la cuantificación del porcentaje de células con la expresión de receptores CB1 en ratas con DNC y DHC.

Grupo	SSI	ACEA	AM251	ACEA+AM251
DNC	32 \pm 1	63.5 \pm 2.5	28 \pm 2.646	51.5 \pm 2.5
DHC	25 \pm 1	53.67 \pm 8.373	33.5 \pm 2.5	55 \pm 1



Gráfica 7. Efecto de la activación o bloqueo de los receptores CB1 en ratas alimentadas con DNC o DHC, sobre la inmunorreactividad de los receptores CB1 en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Se observa que la activación de los receptores CB1 en ratas alimentadas con dieta hipercalórica, incrementa la inmunorreactividad de los receptores, mientras que el antagonismo de los CB1, la disminuye. ANOVA de una vía con test de comparación múltiple de Bonferroni,

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$, **** $p < 0.00001$.

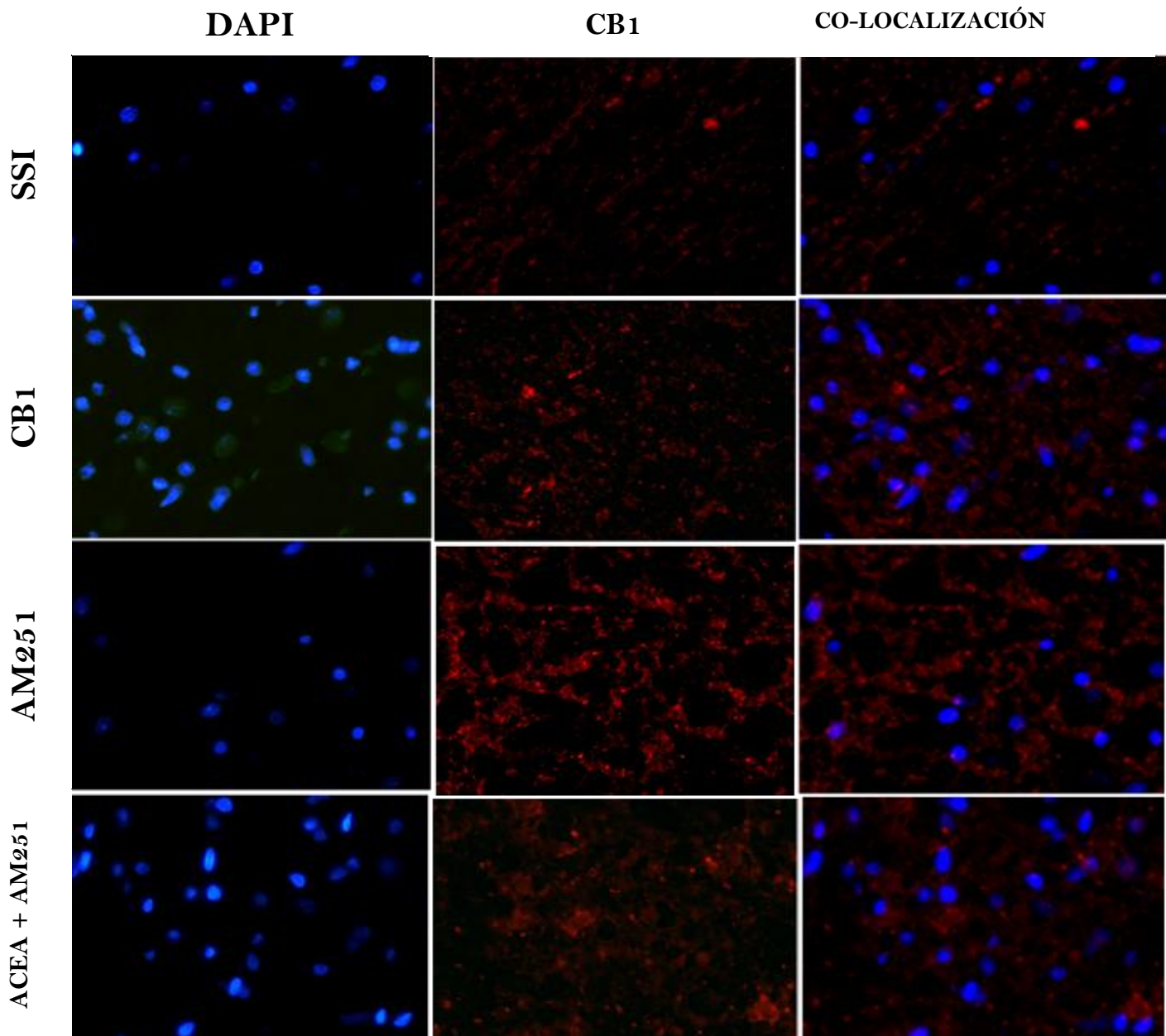


Figura 8. Expresión de los receptores CB1 en núcleo paraventricular en ratas con dieta normocalórica. Esquema de corte coronal de cerebro de rata (Paraxinos y Watson 1998). Las fotomicrografías tomadas con el objetivo 20X de cada grupo experimental con los diferentes tratamientos farmacológicos, la primera columna se muestran los núcleos en DAPI (marca azul), en la segunda columna la expresión de receptor CB1 (marca roja) en el núcleo paraventricular y en la tercera columna la co-localización de los núcleos y el receptor CB1

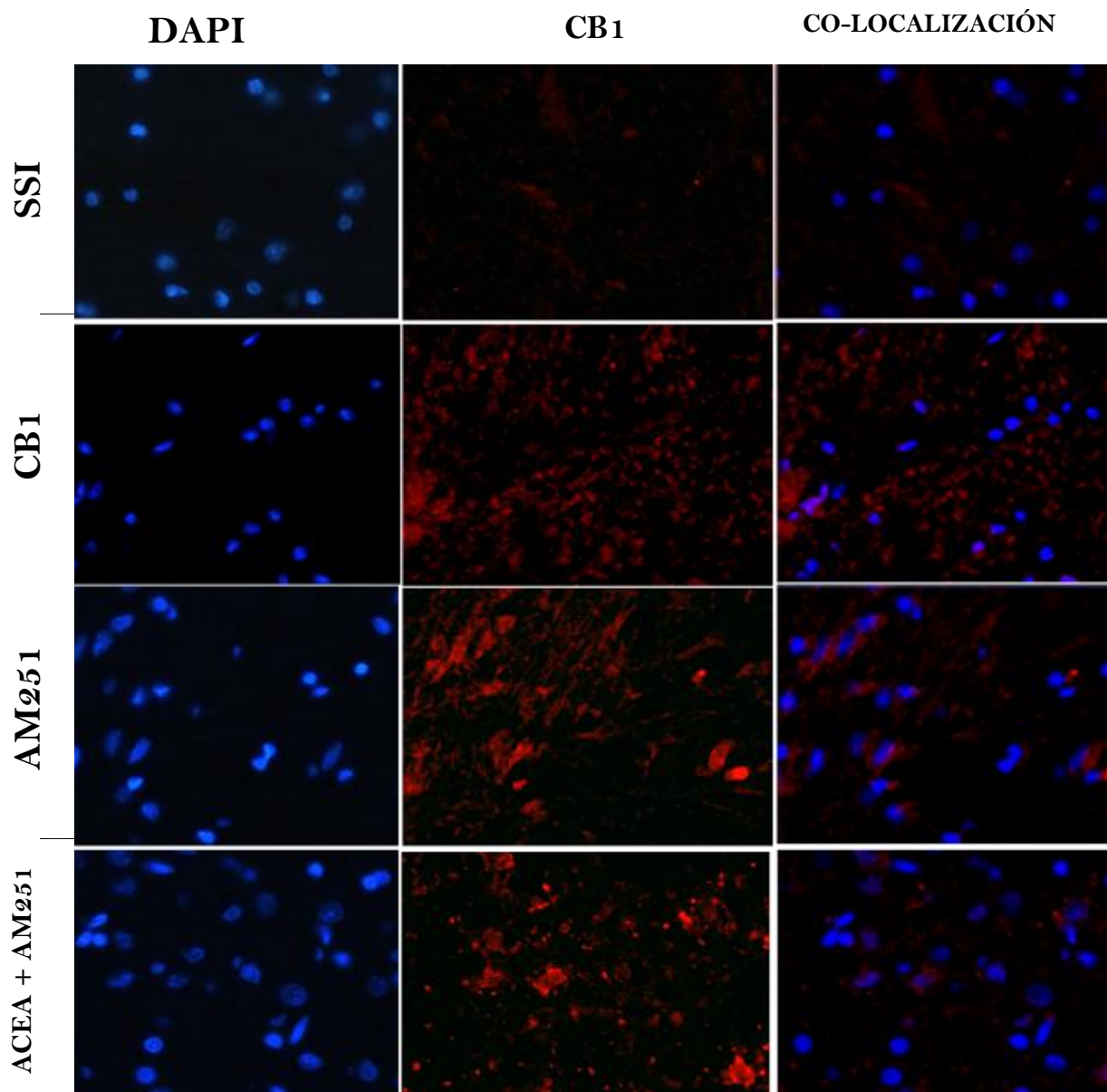


Figura 9. Expresión de los receptores CB1 en núcleo paraventricular en ratas con dieta hipercalórica. Esquema de corte coronal de cerebro de rata (Paraxinos y Watson 1998). Las fotomicrografías tomadas con el objetivo 20X de cada grupo experimental con los diferentes tratamientos farmacológicos, la primera columna se muestran los núcleos en DAPI (marca azul), en la segunda columna la expresión de receptor CB1 (marca roja) en el núcleo paraventricular y en la tercera columna la co-localización de los núcleos y el receptor CB1

7. DISCUSIÓN

El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto producido por la activación de los receptores CB1 en los procesos de ansiedad y depresión en las ratas con SM; los resultados reflejaron que las ratas que fueron alimentadas con una DNC presento una media de 2.8 en los cuadros visitados mientras que las ratas alimentadas con una DHC presentaron una media de 1.857, esto nos indica que las ratas desarrollan un mayor estado de ansiedad sólo por su alimentación; la ansiedad y la alimentación están relacionadas con el SM ya que es resultado de varios factores como el estrés crónico, la obesidad, la dieta rica en grasas y azúcares, esto puede influir en la regulación del metabolismo llevando a un aumento en la producción de cortisol (Kyrou y col, 2009) lo cual influye en el aumento de la resistencia a la insulina, acumulación de grasa visceral, incremento de la presión arterial y en el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Grundy, 2008). Sin embargo, las ratas que fueron alimentadas con una DHC+ACEA, presentó un estado mayor de ansiedad con un 42.8% en cuadros vitados, con respecto a las ratas con una dieta DNC, este resultado nos arroja que al activar a los receptores CB1 estimula al hipotálamo, donde está involucrado en la regulación del apetito (Verty y col, 2009), dicha activación libera a la hormona grelina que aumenta el apetito mediante su acción en varios núcleos hipotalámicos, como el núcleo arcuato, NPV e hipotálamo lateral. (Tucci, 2008), la activación del NPV libera la hormona corticotropina (CRF) (Tschopm, y col, 2000) iniciando la actividad del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HPA) a través de la liberación de la CRF como parte de la respuesta neuroendocrina, autónoma y conductual coordinada por el estrés. (Jiang, 2018). Sin embargo, las ratas que llevaron una DNC+AM251 tienen una reducción notable con un 46% en cuadros visitados con respecto a las ratas con DHC S.S. Los resultados obtenidos

son controversiales, Mangiri (2008), Uriguen y Col. (2017) afirman que al administrar cannabinoides reducen el estado ansiogénico y otros estudios mencionan un aumento del mismo (Benitez, 2017); esto se debe a las cantidades administradas del agonista, las dosis bajas (Manguiri, 2008) y controladas (Benítez, 2017) causan efectos ansiolíticos y en dosis altas causa un efecto ansiogénico (Uriguen y Cols. 2014, Manguiri, 2008). Además, es importante tomar en cuenta que en este estudio, se realizó una administración diaria durante 16 días del agonista CB1, lo que puede explicar los datos ansiogénicos y depresivos. Dicho de otra manera, al tener solo la dieta alta en calorías incrementa el estado ansiogénico como se observa en la tabla 1 y al activar a los receptores CB1 incrementa aún más el estado de ansiedad, en caso contrario al antagonizar a los receptores CB1 disminuye considerablemente dicho estado. Los resultados mostraron que la depresión en ratas con DNC, presentan más movilidad que las ratas con DHC, esto es considerando que la depresión es un padecimiento ocasionado por la alimentación, existe literatura que menciona que la depresión podría estar asociada a mayor índice de masa corporal (IMC) ocasionada por la gran ingesta calórica y menor calidad en la dieta sumado al sedentarismo con todos los factores que incrementan el riesgo a padecer SM (Márquez, 2016). Los estudios refieren que en los roedores que fueron sometidos a una dieta alta en grasa se exacerba la depresión (Ontiveros, 2016). También se encontró que al activar a los receptores CB1 en ratas con DHC presentan mayor tiempo de inmovilidad en comparación con las ratas con DNC. El *canabis* ha sido utilizado desde hace siglos por diferentes culturas por sus efectos y mejora del estado de ánimo (Islas y cols. 2023), y que el SEC afecta principalmente a la comunicación sináptica neuronal, y por ello, incide en un importante número de funciones biológicas (Gómez y col. 2002). Hay evidencia que sugiere que el SEC está alterado en el trastorno depresivo mayor (TDM) y que el SEC es

un sistema neuromodulador generalizado que involucra una combinación de endocannabinoides, enzimas y receptores que regulan numerosas funciones, incluidas las emociones y la cognición. (Bright Uri y cols; 2022), estudios realizados con roedores sugieren firmemente que la activación del SEC produce respuestas similares a las de los antidepresivos en una variedad de pruebas de comportamiento, estos efectos dependen de la dosis, la vía de administración y otros factores (Ebrahimi-Ghiri y cols; 2021). Los grupos donde se antagonizó a los RCB1 (DNC+AM251, DHC+AM251) no muestran diferencia significativa en la inmovilidad con respecto a las ratas con DNC + SSI, los estudios de Beyer y col (2010) menciona que las ratas que fueron sometidas a tratamiento crónico con un antagonista de los receptores CB1 produce trastornos del estado de ánimo debido a la reducción de los niveles de serotonina del sistema nervioso central (SNC), donde es suficiente para evocar síntomas depresivos (Rosenweig-lipson y cols, 2007). Además la administración en ratas con DHC+ACEA tiene una media de 188.7 mg/dL de glucosa, esto nos indica que el grupos presentan un incremento de glucosa así como también un incremento en la concentración de insulina con una media del 46.98 μ U/mL en ratas con DHC+ACEA, esto puede parecer contradictorio, ya que algunos estudios han mostrado que la activación de los receptores CB1 puede incrementar la secreción de insulina desde las células β pancreáticas lo que es beneficioso para la regulación de glucosa en sangre (Pico y col, 2006). La resistencia de insulina ocurre cuando el exceso de glucosa en sangre reduce la capacidad de las células de absorber y utilizar la glucosa para obtener energía (Flores, 2020), como se sabe la insulina es una hormona anabólica secretada por las células β del páncreas en respuesta a diversos estímulos, siendo la glucosa el más relevante (Carrasco y Col, 2013) su principal función es mantener la homeostasis glicémica y de otros sustratos energéticos, de esta forma, posterior a cada comida, la insulina suprime la

liberación de ácidos grasos libres mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. (Galgani y col, 2020) Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo (Carrasco y Col, 2013). Al estimular a los receptores CB1 que se encuentran en los islotes pancreáticos modulan la secreción de insulina (Starowicz y col, 2008) y los receptores CB1 hepáticos inhiben la captación de glucosa y potencia la gluconeogénesis (Mazier y col, 2015). Numerosos estudios en modelos animales indican que los agonistas de los receptores a CB1 promueven el consumo de alimentos sabrosos que estimulan la adipogénesis y la preservación de energía mediante la inhibición del gasto energético y la termogénesis, la sobreactivación de los receptores CB1 favorece la obesidad y otros desórdenes metabólicos (Suarez y col 2017), así como también comenzará por desencadenar una resistencia a nivel hipotalámica de la leptina, y un aumento en la vía de señalización de la lipogénesis hepática, que con el tiempo se convertirá en factores primarios para el desarrollo de SM, debido a que estas proteínas regulan de manera indirecta la glucemia (Soria y col, 2019). Bermudez en 2008 y Matias en 2006 coinciden en que la activación o inhibición de los receptores canabinoides en la célula β provoca cambios en el flujo de Ca^{2+} intracelular afectando la secreción de insulina estimulada por glucosa (Ruz Maldonado, 2017). Existen referencias donde nos menciona que en particular el SEC ejerce un papel modulador en el metabolismo, al estimular los receptores CB1 se incrementa la expresión de lipoproteína lipasa en los adipocitos, lo cual estimula a la lipogenia donde reduce la expresión y la secreción de adiponectina (Di Marzo y col.2005) esta proteína es circulante específico del tejido adiposo, que desempeña un papel regulador en el metabolismo graso y de glucosa (Costa y Col, 2003). La administración del antagonista CB1, disminuye la glucemia en ratas con DHC con un valor del 94 mg/dL; esto

se debe a que el antagonista AM251 disminuye la producción de glucosa en el hígado (Kola, 2005) y la reducción de la glucosa en sangre (Sherman, 2003); gracias a que el AM251 bloquea a los receptores CB1 ocurre una disminución en la gluconeogénesis, que es el proceso por el cual el hígado produce glucosa (Kola, 2005) esto se debe a que disminuye la expresión de la glucosa-6-fosfatasa (G6PC) e inhibe la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y disminuye la producción de AMPc (Herling y col, 2012) también la activación del antagonista AM251 aumenta la producción de GLUT 4 mediante la activación de la vía de señalización de PI3K/Akt, lo que lleva a un aumento en la producción de GLUT4 (Tam, 2011), cómo también puede disminuir la cantidad de ácidos grasos para la lipogénesis, (Li y col 2015), no obstante al antagonizar a los receptores CB1 mejora la sensibilidad a la insulina como se muestra en nuestros resultados las ratas con DHC+AM251 se obtuvo una disminución de insulina con una media de 17.23 μ U/mL de insulina, esto se respalda mediante al aumento a la sensibilidad a la insulina regulando la expresión de insulina receptor sustrato 1 (IRS-1) que es clave para la sensibilidad de la insulina (Tam, 2011), otro factor que puede influir es la disminución del estado inflamatorio donde al antagonizar al receptor CB1 disminuye la concentración de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α y el IL-1 β ayudando a la sensibilidad de la insulina (Herling y col, 2012). La exposición a concentraciones elevadas de glucosa induce una respuesta inflamatoria en las células, lo que implica un aumento en la producción de óxido nítrico (NO), un mediador clave para la inflamación y el estrés oxidativo.(Schmindt y col, 2016).La inflamación crónica es un proceso que se mantiene por largo tiempo, la producción de TNF- α , el IL-1 β y IL-6 que perpetúa en las enfermedades metabólicas, estas citoquinas reducen la sensibilidad de la insulina en los tejidos y a su vez promueven la inflamación en el tejido adiposo y páncreas (Hotamisligil, 2006); al activar a los receptores CB1 aumenta la producción de citoquinas

por las diferentes vías de señalización; la activación de la vía de proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) se desencadena gracias a que al activar al receptor CB1 a través de eventos moleculares que involucran la activación de la proteína G desencadenando la activación de la proteína quinasa C (PKC) que regula la expresión de los genes de inflamación, la proliferación celular y la supervivencia celular(Parcher y col, 2006). La activación del receptor CB1 en condiciones de inflamación crónica se asoció con un aumento significativo en la producción de NO en ratas con DHC+ACEA con un valor promedio de 8.137 NO₂/g en región de estriado y un 11.64 NO₂/g en la región del hipocampo, este hallazgo sugiere que la activación del receptor CB1 puede desencadenar una respuesta inflamatoria adicional caracterizada por la liberación de NO y que a la vez potencia la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). (Hofmann y col, 2006). La producción de NO es un proceso complejo que involucra la activación de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) que cataliza a la L-arginina produciendo citrulina y NO; la liberación de NO en el hipotálamo tiene varios efectos como la relajación de los vasos sanguíneos, regulación de la temperatura corporal , modulación de la respuesta al estrés (Garthwaite, 2008) los resultados mostraron que la concentración de NO es significativamente mayor en el estriado que en el hipocampo, esta diferencia regional en la concentración de NO sugiere que el estriado puede ser más sensible a la modulación de NO, lo que puede estar relacionado con su papel en la regulación del movimiento y coordinación motora (Kashihara y col, 2010). Como se observa en la tabla 6 la activación de los receptores CB1 en ratas con DNC+ACEA y DHC+ACEA induce un aumento significativo en la concentración de nitritos en plasma, este aumento en la concentración de nitritos sugiere una mayor producción de NO en respuesta a la activación de los receptores CB1, lo que está relacionado con la modulación de la función vascular y la regulación de la

inflamación en condiciones de obesidad y resistencia a la insulina (Verty y col, 2009), este incremento de NO es ocasionado por la activación de varios mecanismos empezando por la activación de la proteína G y la señalización de MAPK donde ambos mecanismos incrementan la producción de NO. (Pacher, 2006), sin embargo al antagonizar a los receptores CB1 en ratas con DNC S.S hay una disminución significativa de 1.31 NO₂/g en región de Estriado y 1.872 NO₂/g en región de hipocampo, el antagonismo de los receptores canabinoides CB1 con AM251 induce la disminución significativa en la concentración de nitritos, esta reducción se origina al bloquear la señalización de la proteína G originando la reducción de la adenilciclase, la PKA y las NOS conduciendo a la disminución del NO (Maccarrone, 2008) que a su vez modifica la actividad y la expresión de los receptores CB1. El NO activa la guanilato ciclase, aumentando los niveles de GMP cíclico (GMPc), lo que afecta la fosforilación de proteínas en la célula y, puede cambiar la sensibilidad o la densidad de los receptores CB1. (Di marzo y col 2015). La concentración de los receptores CB1 se encuentran mayormente en el sistema nervioso central donde se involucra una variedad de funciones desde la modulación de neurotransmisores hasta la regulación emocional (Maccarrone, 2008). En el NPV los receptores CB1 están involucrados en la modulación de la liberación de varias hormonas y neurotransmisores, como la oxitocina, la vasopresina y el cortisol, que están asociados con respuestas de estrés y funciones metabólicas. (Mato y col 2015) como se observa en la tabla 8 la expresión de los receptores CB1 tiene un incremento en la densidad de los receptores CB1 esto se origina a través de la activación de la vía de señalización intracelular que, a su vez, incrementan la expresión de más receptores CB1 en ciertas células del NPV. (Di Marco, 2004) como las cascadas de MAPK, que están involucradas en la regulación de la transcripción génica. Esta activación podría llevar a un aumento en la expresión de los

receptores CB1 (Schlicker y col 2001), sin embargo; al antagonizar a los receptores CB1 en las ratas con DHC+AM251 y DNC+AM251 se observó una disminución en su expresión, el bloqueo de los receptores CB1 puede llevar a una desensibilización del sistema endocannabinoide. La desensibilización se refiere a una disminución de la respuesta de los receptores CB1 ante la señalización, incluso si los ligandos están presentes es a la reducción en la cantidad total de receptores CB1 en la membrana celular como parte de un proceso adaptativo. Si los receptores CB1 no se activan regularmente debido a su bloqueo, la célula puede disminuir la cantidad de receptores CB1 en su superficie para evitar una señalización innecesaria o excesiva. La regulación puede ocurrir como respuesta a la ausencia de activación o a una señalización sostenida que no produce los efectos esperados lo que impide la activación de factores de transcripción y cascadas de señalización necesarias para aumentar la expresión de receptores (Pertwee,2006).

8. CONCLUSIÓN

Los resultados muestran que la activación de los receptores CB1, incrementa la concentración de glucosa e insulina, por lo que se considera, desempeñan un papel crucial en la alteración de la homeostasis metabólica en modelos de síndrome metabólico, también su activación indujo estrés y ansiedad en los animales, que son las alteraciones neuroendocrinas típicas del síndrome metabólico. El aumento en la expresión de los receptores CB1 en el núcleo paraventricular refuerza la idea de que esta región del cerebro juega un papel central en la respuesta al estrés, el aumento en la concentración de óxido nítrico y está asociado con la disfunción vascular y otros efectos metabólicos negativos observados en el síndrome metabólico, estos resultados respaldan la hipótesis de que la activación de los receptores CB1 influye de manera compleja en el metabolismo de la glucosa e insulina en modelos de síndrome metabólico, además de afectar la regulación emocional y la función vascular. Estos efectos podrían ser relevantes para comprender los mecanismos patofisiológicos subyacentes al síndrome metabólico.

9. CONGRESO



Participación de receptores CB1 sobre la concentración de glucosa en ratas con síndrome metabólico.

Vázquez González B¹. Muñoz Arenas G².Díaz Fonseca A².

¹Estudiante Lic. En Farmacia (beatrizblanca823@gmail.com), ²Departamento De Farmacia FCQ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

10.BIBLIOGRAFIA

1. Aderm H.,JP Solís., A Müller, M Galleguillos determinación de nitrito como metabolito estable del óxido nítrico en el líquido sinovial de articulación metacarpofalagica equina (2009)41:255-259
2. Almanza-Pérez Julio César, Gerardo Blancas-Flores, Rebeca García-Macedo, Francisco Javier Alarcón-Aguilarb y Miguel Cruza, Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (2008) 535-541
3. Arias Horcajadas Francisco; Sistema cannabinoide y regulación de la conducta alimentaria. (2007) 20: 171-183.
4. Azeez Taiwo, The open field and animal behaviour (2015)3-6.
5. Bender DA, Mayes PA, Harper's Illustrated Biochemistry. 31.^a ed. Nueva York: McGraw-Hill Education; 2018. Panorama general del metabolismo y el suministro de combustibles metabólicos; págs. 336–362.
6. Belá Horuat, Partha Mukho pandhyay, György Hasko and Pál Pacher; The Endocannabinoid system and Plant-Derived Cannabinoids in Diabetes and Diabetic complications. (2012) 100: 432-442.
7. Benítez Gómez María Isabel; terapias alternativas con cannabis en ansiedad y sintomatología relativa al sistema nervioso central (2017)8-36.
8. Benito C,Tolon RM, Pazos MR, Nuñez E. Cannabinoid CB2 receptor in human brain inflammation. (2015) 153:227-285
9. Bermudez J. Antonia Serrano, Frnsisco Diaz molina Activation of de cannabinoid CB1 receptors induces Glucose intolerance in ratas (2006)521: 282-284

10. Beyer CE, Dwyer JM, Piesla MJ, Platt BJ, Shen R., Rahman Z., Chan K., Manners MT, Samad TA, Kennedy JD, et al. Fenotipo similar a la depresión después del antagonismo crónico del receptor CB1. *Neurobiol. Dis.* 2010;39:148–155.
11. Bisogno T, Berrendero F, Ambrosino G, Cebeira M, Ramos JA, Fernández-Ruiz JJ y Di Marzo V (1999) Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 256:377-380.
12. Bray GA ¿Qué tan dañina es la fructosa? *Am. J. Clin. Nutr.* 2007;86:895–896
13. Bright U, Akirav I. Modulation of Endocannabinoid System Components in Depression: Pre-Clinical and Clinical Evidence. *Int J Mol Sci.* 2022 May 15;23(10):5526.
14. Brown MA, Storlien LH, Huang XF, et al. Composición de grasas y carbohidratos en la dieta: Enfermedad metabólica. En: Montmayeur JP, le Coutre J, editores. *Detección de grasas: Sabor, textura y efectos postingestativos.* Boca Ratón (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2010.
15. Buettner, R, Scholmerich J, Bollheimer LC (2007) High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)* 15: 798-808.
16. Calderón Salinas, José Víctor, Muñoz Reyes, Elvia Guadalupe, & Quintanar Escorza, Martha Angélica. *Estrés oxidativo y diabetes mellitus* 2013
17. Calzada-León Raul , Nelly Altamirano-Bustamante, María de la Luz Ruiz-Reyes, *Reguladores neuroendocrinos y gastrointestinales del apetito y la saciedad* (2008)468-481
18. Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. *J Vis Exp.* 2012 Jan 28

19. Carrasco Dr. Fernando, Nut. José Eduardo Galgani F., Dra. Marcela Reyes J. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo (2013): 827-837
20. Carvajal Carvajal Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. Costa Rica. 2019, vol.36,
21. Chanda D , Kim DK , Li T , Kim YH , Koo SH , Lee CH , Chiang JY , Choi HS . La señalización del receptor cannabinoide tipo 1 (CB1R) regula la gluconeogénesis hepática a través de la inducción de la proteína H de unión al elemento sensible al AMPc (CREBH) del factor de transcripción unido al retículo endoplásmico en hepatocitos primarios . *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 27971 – 27979 .
22. Choo VL, Vigiiliouk E, Blanco Mejia S, Cozma AI, Khan TA, Ha V, Wolever TMS, Leiter LA, Vuksan V, Kendall CWC, de Souza RJ, Jenkins DJA, Sievenpiper JL. Food sources of fructose-containing sugars and glycaemic control: systematic review and meta-analysis of controlled intervention studies. *BMJ*. 2018
23. Córdova Pluma Víctor Hugo, Guadalupe Castro Martínez. Breve crónica de la definición del síndrome metabólico (2014) 312-328
24. Cruz Martínez Ana María, González Hernández Brenda, Cedejas Trejo Nancy Mancilla Díaz Juan Manuel, Floran Garduño Benjamín, Escarti Pérez Rodrigo. Inhibición de la saciedad alimentaria inducida por activación de recetores CB1 hipotalámicos (2010) 39 - 51
25. de Gortari, Patricia La regulación de la conducta alimentaria en un modelo experimental de anorexia *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, (2009) 185-190
26. DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture. *Diabetologia*. 2009;53(7):1270-87.

27. Di Marzo, V., et al. (2004). "The endocannabinoid system and the regulation of energy balance." *Journal of Neuroendocrinology*, 16(4), 314-320.
28. Di Marzo, V., & Piscitelli, F. (2015). "The endocannabinoid system and its modulation by phytocannabinoids." *Neurotherapeutics*, 12(4), 692-705.
29. Di Marzo V, Bifulco M. De petrocellis L. The cannabinoid system and its therapeutic exploitation (2004) 3: 771-784.
30. Dipatrizio NV, Jolin A, Jung KM, Piomelli D. Endocannabinoid signal in the gut mediates preference for dietary unsaturated fats. (2013) 27: 2513-2520.
31. Ebrahimi-Ghiri M., Khakpai F., Zarrindast MR URB597 anula los comportamientos ansiogénicos y depresivos en ratones con abstinencia de metanfetamina: papel del receptor cannabinoide tipo 1, el receptor cannabinoide tipo 2 y los canales de potencial transitorio del receptor vanilloide 2021 875-884.
32. Fain J.N. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. (2006), pp. 443-477
33. Fezza F. Bari M. Florio R, Talamonti E. Endocannabinoids, related compounds and their metabolic routes. *Molecules* (2014) 24: 17078-17106.
34. Fraguas Sanchez Ana; Fernandez Caramillo Ana; torres Suarez Cannabinoides: una prometedora herramienta para el desarrollo de terapias (2014) 80: 555-577.
35. Friedman MI . Obesidad y control hepático de la conducta alimentaria . s 2007 ; 20 : 573-578
36. Forero Bogotá Mónica Adriana, Maritza Gómez Leguizamón. Determinantes fisiológicos y ambientales de la regulación del control de la ingesta de alimentos(2009)

37. Galgani J.E., Ravussin E. Postprandial whole-body glycolysis is similar in insulin-resistant and insulin-sensitive non-diabetic humans. *Diabetologia*, 55 (2012), pp. 737-742
38. Galiégue S. Mary S Marchand J. Dussosoy D. expression of central and periphera cannabinoid receptor in human immune tissues and leukocyte subpopulations (1995) 232:54-61
39. González Chávez Antonio, Gómez Miranda Joan Erick, Elizondo Argueta Sandra, guía de práctica clínica de síndrome metabólico (2019) 3-28
40. González Hita Elvira, Ambrosio Macías Karen, Sánchez Enrique Sergio, Relación neuroendocrina del hambre, saciedad y mantenimiento del balance energético (2006) 191-200
41. Gómez, Claudia; Saldívar, J. Alfredo; Rodríguez, Rodolfo Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica *Salud Mental*, vol. 25, núm. 1, febrero, 2002, pp. 14-24 Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz Distrito Federal, México
42. Gortari Patricia , María Elena González-Alzati, Lorraine Jaimes-Hoy, Aimee Estrada, Karen Mancera, Cinthia García-Luna, María Isabel Amaya, La hormona liberadora de tirotrópina (TRH) del núcleo paraventricular hipotalámico y sistema límbico como reguladora de la homeostasis energética y de la conducta alimentaria en animales con ayuno, restricción alimentaria y anorexia. (2012) 385-393.
43. Grotenhermen Franjo. Los cannabinoides y el sistema endocannabinoide. (2006)1:10-14.
44. Gunawan S, Aulia A, Soetikno V. Development of rat metabolic syndrome models: A review. *Vet World*. 2021 Jul;14(7):1774-1783

45. Himanshu; Dharmila; Sarkar D; Nutan. A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. Clin Psychopharmacol Neurosci. 2020
46. Hillard, CJ; Maná, S; Greenberg, MJ; Dicamelli, R; Ross, RA; Stevenson, Luisiana; Murphy, V; Pertwee, RG; Campbell, WB (1999). "Síntesis y caracterización de agonistas potentes y selectivos del receptor cannabinoide neuronal (CB1)". La Revista de Farmacología y Terapéutica Experimental . 289 (3): 1427–33Hutcheson Rebecca and Petra Rocic. The metatabolic sydrome, and oxidative stress, Enviromnent nd cardiovascular Disease: the great Exploration (2012) 28
47. Hutcheson, R., & Rocic, P. (2012). The Metabolic Syndrome, Oxidative Stress, Environment, and Cardiovascular Disease : The Great Exploration. 2012
48. Islas Sergio-Andrade, Luisa L. Rocha-Arrieta, Oscar Arrieta, Miguel A. Celis, Judith Domínguez-Cherit, Alberto Lifshitz,* Armando Mansilla-Olivares, Iris Martínez, Alberto José Mimenza, Mucio Moreno, Alejandro A. Reyes-Sánchez, Guillermo J. Ruiz-Argüelles, Antonio Soda-Merhy, Julio Sotelo, Sonia Toussaint, Diana Vilar-Compte y Emma Verástegui; Cannabinoides y su uso terapéutico (2023)
49. Itoh N, Okamoto H. Translational control of proinsulin synthesis by glucose. Nature 1980;283:100-2.
50. Jaime Carranza Madrigal, López Correa Sonia Maria, El síndrome metabólico en Mexico (2014) 251-261
51. Jourdan T, godlewski G., Cianar R., Bertola A., Activation of the NLRP3 inflammasome in infiltrating macrophages by endicannabinoids mediates beta cel loss in type 2 (2013) 19:1132-1140

52. Jiang Z, Rajamanickam S, Justice NJ. Local Corticotropin-Releasing Factor Signaling in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus. *J Neurosci*. 2018 Feb 21;38(8):1874-1890.
53. Pico Juan, E, Fuente,E.,Bermudez Silvia F.J., Diaz Molina F.J Ripoll, C., de Fonseca F.R., (2006) cannabinoid receptors regulate Ca⁺ signals an insulin secretion in pancreatic beta-cell *Calcium* 155-162
54. Katona I. Freud TF. Multiple funtions of ensocannabinoid signailng in the brain (2012) *79:516-525*
55. Kieffer TJ, Habener the adipoinular axis:effects of on Pancreatic cell (2000) 278-280
56. Kola, b (2005). cannabinoid receptor CB1 antagonism reduces hepatic glucose production in the rat, 3221-3228
57. Krishnan V, Han MH, Mazei-Robison M, Iniguez SD, Ables JL, Vialou V, Berton O, Ghose S, Covington HE, Wiley MD, Henderson RP, Neve RL, Eisch AJ, Tamminga CA, Russo SJ, Bolanos CA, Nestler EJ. La señalización de AKT en el área tegmental ventral regula las respuestas celulares y conductuales a estímulos estresantes. *Biol Psychiatry*. 2008;64:691–700.
58. Lanntti FA, Hill CL. Leo A. Ahusini,Nonpsychotropic plant cannabioid (2014) *19:1131-1114*
59. Lebowitz SE Neurochemical- neuroendocrine system in the brain controlling macronutrient intake and metabolism (1992) 491-497
60. Ligresti A. de Petrocellis L. Di marzo V. From Phytocnnabinoids to cannabinoid receptor and endocannabinoids: pleiotropic physiological and pathologicl roles through complex pharmacology (2006) *96:1593-1659*

61. Lizarzaburu Robles Juan Carlos, Metabolic Syndrome: concept and practical application (2013) 74:315-320.
62. Lozano WM, Arias-Mutis OJ, Calvo CJ, Chorro FJ, Zarzoso M. Diet-Induced Rabbit Models for the Study of Metabolic Syndrome. *Animals (Basel)*. 2019 Jul 20;9(7):463
63. Lu Hc, Mackie k. an introduction to the endógenos cannabioid system (2016) 79: 516-525.
64. Lutz, B. (2009). "The endocannabinoid system and its role in pain." *Progress in Neurobiology*, 88(4), 391-405.
65. Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity inflammation and atherogenesis. *Endocrinology* 2003; 144 (6)
66. Maccarrone, M., (2008). "Endocannabinoids and nitric oxide: Mutual interactions in the control of vascular function." *Pharmacological Research*, 57(1), 33-42
67. Macarrone M. Bab, Biró T, cabral GA y cols, Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends Pharmacol Sci*. (2015) 36: 277-296.
68. Mangiri A. Regina. Los estudios con animales ponen de manifiesto el potencial terapéutico de los cannabinoides para la depresión. (2008)3:4-7.
69. Manzu Fernando, M. D. Ciro Alvear, QF. Alicia Norma adipocitos, obesidad visceral inflamación y enfermedad cardiovascular (2010) 207-203.
70. Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, Faria A, Calhau C. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*. 2015 Jul 15;5(1):11-21
71. Mato, S., et al. (2015). "Cannabinoids and the cardiovascular system: Therapeutic implications." *Cardiovascular Therapeutics*, 33(3), 143-151.

72. Mazier W, Saucies N, Gatta- Cherifi. The encocannabinoid system:pivotal orchestrator of obesity and mtbolic disease (2015) 26:524-537
73. Mechoulam R, Parker LA. The endocannabinoid system and the brain. Annu Rev Psychol. Annual Reviews; (2013); 64:21–47.
74. Mendez Juan Pablo, Vazquez-Velazquez, Garcia-Garcia; trastornos de la conducta alimenticia. (2008) 65: 579-590.
75. Mercedes Elvira González Hita, Karen Gabriela Ambrosio Macias Y Sergio Sánchez Enríquez; Regulación neuroendócrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético. (2006)8:191-199.
76. Merroun I, Sánchez González cristina Rosario Martínez, López Chávez y cols, Novel effect of the cannabinoid inverse agonist AM251 on parameters rela ted to metabolic síndrome in obese Zuker rats. (2013) 62:1641-1650.
77. Morioka T, Asilmaz E, Hu J, Dishinger JF, Kurpad AJ, Elias CF, et al. Disruption of leptin receptor expression in the pancreas directly affects growth and function in mice. J Clin Invest 2007;117:2860-2868.
78. Munros, Thomas KL. Abu-shaar M. Molecular Characterizacion of peripheral receptor cannabinoids, Nature (1993) 365:61-65.
79. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. 29.^a ed. McGraw-Hill Education; Columbus 2012. Sección 2: Bioenergética y metabolismo de carbohidratos y lípidos
80. McGarry J.D. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. Diabetes, 51 (2002), pp. 7-18
81. Nascimento AR, Gomes F, Machado MV, Gonçalves-de-Albuquerque C, Bousquet P, Tibiriçá E. Il-imidazoline receptor-mediated cardiovascular and metabolic effects in

- high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Auton Neurosci.* 2019 Mar;217:18-25.
82. Nielsen S, Karpe F. Determinants of VLDL-triglycerides production. *Curr Opin Lipidol.* 2012 Aug;23(4):321-6
83. O. Valverde, T. Mantamadiotis, M. Torrecilla et al., "Modulación del comportamiento similar a la ansiedad y la dependencia de la morfina en ratones deficientes en CREB", *Neuropsychopharmacology*, vol. 29, no. 6, pp. 1122-1133, 2004.
84. Pazos Rodriguez y P. Grandes Moreno. *Cannabinoides y sistema cannabinoide* (2017) 7-37.
85. Juan-Pico. P, Esther Fuentes a, F. Javier Bermúdez-Silva b, F. Javier D'íaz-Molina b, Cristina Ripoll a, Fernando Rodríguez de Fonseca b, Angel Nadal a, (2006). Cannabinoid receptors regulate glucose homeostasis in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 116(10), 2848-2856.
86. Juan-Pico. P, Esther Fuentes a, F. Javier Bermúdez-Silva b, F. Javier D'íaz-Molina b, Cristina Ripoll a, Fernando Rodríguez de Fonseca b, Angel Nadal a, (2006). Cannabinoid receptors regulate Ca²⁺ signals and insulin secretion in pancreatic β -cell 155-166
87. Pacher, P., (2006). "The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy." *Pharmacological Reviews*, 58(3), 389-462.
88. Pineda, Carlos Andrés Síndrome metabólico: definición, historia, criterios Colombia Médica, vol. 39, núm. 1, enero-marzo, 2008, pp. 96-106
89. Moreno-Fernández S, Garcés-Rimon M, Vera G, Astier J, Landrier JF, Miguel M. Una dieta rica en grasas y glucosa induce síndrome metabólico en un modelo experimental de ratas. *Nutrients.* 2018;10(10):1502.

90. Pinzón Duque, Oscar Alonzo López Zapata, Síndrome metabólico: enfoque fisiopatológico (2015)31:1328-1342.
91. Piomelli Daniele the molecular logic of endocannabinoide signalling (2003) 4: 873-882.
92. Piomelli Daniele, Freud F, Istuan katona, Role of endogenous Cannabinoids in synaptic signaling (2003)83: 1017-1066
93. Preguiça I, Alves A, Nunes S, Fernandes R, Gomes P, Viana SD, Reis F. Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders-A guide to a translational perspective. *Obes Rev.* 2020
94. Rojas Aguilar Salinas, Jimenez Corona A. Shama Levyt, Metabolic síndrome in mexican adults. Results from the National Health and nutrition survey 2006. (2010) 11-18
95. Rosenzweig-Lipson, Chad E. Beyer, Zoë A. Hughes, Xavier Khawaja, Somana J. Rajarao, Jessica E. Malberg, Zia Rahman, Robert H. Ring, Lee E. Schechter, Differentiating antidepressants of the future: Efficacy and safety, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 113, Issue 1, 2007, Pages 134-153
96. Ruz-Maldonado Inmaculada Los receptores CB1 y GPR55 en la fisiología del islote pancreático y en la fisiopatología de la diabetes tipo 2 , 2017. 31-80
97. Sahin Z. Assessment of commonly used tests in experimental depression studies according to behavioral patterns of rodents. *Med Rev* (2021). 2023 Nov 1;3(6):526-531
98. Samira S. Valvassori, Roger B. Varela, João Quevedo, Chapter 38 - Animal Models of Mood Disorders: Focus on Bipolar Disorder and Depression, Editor(s): P. Michael Conn, *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*, Academic Press, 2017, Pages 991-1001

99. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes* 2004;53: 152-158.
100. Smith J., Al-Amri M., Dorairaj P., Sniderman A. The adipocyte life cycle hypothesis. *Clin Sci*, 110 (2006), pp. 1-9
101. Sherman, L.P. (2003) . antagonism of the cannabinoid CB1 receptor improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice 4250-4258
102. Seibenhener ML, Wooten MC. Uso del laberinto de campo abierto para medir el comportamiento locomotor y de ansiedad en ratones. *J Vis Exp* 2015
103. Schlicker, E., & Kathmann, M. (2001). "Regulation of neurotransmitter release via presynaptic cannabinoid receptors." *Trends in Pharmacological Sciences*, 22(11), 565-572.
104. Sollano-Mendieta Xóchitl Cruz, Gerardo Norberto Escalona-Cardoso, Edgar Cano-Europa Norma Paniagua-Castro; Proposal for a metabolic syndrome model in CD1 mice induced with a hypercaloric diet (2022) 126-133
105. Soria-Lara, Dulce María, Gaitán-Vélez, Brayan Vladimir, Jiménez-Islas, Hugo, & Miranda-López, Rita. (2019). El Sistema de Endocannabinoides como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la Mangiferina. *Revista biomédica*, 30(2), 83-102 2019.
106. Tatem KS, Quinn JL, Phadke A, Yu Q, Gordish-Dressman H, Nagaraju K. Mediciones conductuales y locomotoras mediante un sistema de monitorización de la actividad en campo abierto para enfermedades del músculo esquelético. *J Vis Exp* 2014;(91):51785.

107. T. D. Perera, S. Park y Y. Nemirovskaya, "Papel cognitivo de la neurogénesis en la depresión y el tratamiento antidepresivo", *Neuroscientist*, vol. 14, no. 4, pp. 326-338, 2008
108. Tucci, Sonia. (2008). Grelina en regulación del apetito y papel en obesidad y trastornos alimentarios: Abordajes terapéuticos. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 6(2), 15-23.(2008)
109. Treviño Samuel, Aguilar Alonzo, Flores Hernandez, Brambila E., Guevara J. Flores G, Muños Arenas, Morales Medina Toxqui V, Venegas B, Diz F. A High calorie Diet Causes Memory Loss, Metabolic Syndrome And Oxidative stress into Hipocampus y Temporal cortex of Rats. (2015) 69: 421-433
110. Tolmunen T , Voutilainen S, Hintikka J, Rissanen T, Tanskanen A, et al. (2003) Dietary folate and depressive symptoms are associated in middle-aged Finnish men. *J Nutr* 133: 3233-3236.
111. Urigüen, L. B. Garcia Bueno, J.C. Leza y L.F. Callado cannabinoides y trastornos mentales (2017) 139-151.
112. Valdovinos Rosales Carmen Monserrat, El sistema endocanabinoide y su función en los animales (2019) 4-24.
113. Valenzuela Carina, Aguirre Carolina, Valeska Castillo, Ronco Ana, Ilanos Miguel; Participación del sistema endocanabinoide en el desarrollo de obesidad (2010) 138: 621-629.
114. Vedrana Reichenbach, Josefa Ros y Wladimiro Jimenez, Canabinoides endógenos en la enfermedad hepática: muchos dardos para una sola diana (2009); 323-329.
115. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab (Lond)*. 2016

116. Zainuddin MS, Thuret S (2012) Nutrition, adult hippocampal neurogenesis and mental health. *Br Med Bull* 103: 89-114