



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO-BIOLÓGICAS

Efecto del extracto de *Eryngium carlinae* y el ejercicio sobre la lipidemia, la defensa antioxidante y el rendimiento muscular en la obesidad

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el título profesional de

Maestra en Ciencias en Biología Experimental

Presenta

Biól. Koré Montserrat Moreno Calderón

Directora de tesis: Dra. Rocío del Carmen Montoya Pérez

Codirector de tesis: Dr. Alfredo Saavedra Molina



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS
UMSNH

Morelia, Michoacán

Abril 2022

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
I. INTRODUCCIÓN	8
II. ANTECEDENTES	10
2.1 Obesidad	10
2.2 El tejido adiposo	11
2.3 Regulación del tejido adiposo	13
2.4 Metabolismo de los lípidos	14
2.4.1 Biosíntesis y almacenamiento de ácidos grasos	14
2.5 Músculo	15
2.6 Músculo esquelético	16
2.7 Estructura del músculo esquelético	16
2.7.1 Fibra muscular	17
2.7.2 Sarcolema	17
2.7.3 Sarcoplasma	18
2.7.4 Retículo sarcoplasmático	18
2.7.5 Miofibrillas	19
2.8 Funciones del músculo esquelético	20
2.8.1 Contracción muscular	21
2.8.2 Acoplamiento excitación-contracción	21
2.8.3 Tipos de fibras musculares	23
2.9 Músculo esquelético y obesidad	26
2.9.1 Tejido adiposo como órgano secretor	26
2.9.2 Tejido muscular como tejido secretor	26
2.9.3 Inflamación del tejido adiposo y el tejido muscular	26
2.9.4 Resistencia a la insulina	27
2.10 Especies reactivas de oxígeno	28
2.10.1 Especies reactivas de oxígeno y obesidad	29
2.11 Ejercicio	30
2.11.1 Ejercicio, músculo esquelético y obesidad	30
2.12 <i>Eryngium carlinae</i>	31
III. JUSTIFICACIÓN	33
IV. HIPÓTESIS	34
V. OBJETIVOS	35
5.1 General	35
5.2 Específicos	35
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	36
6.1 Material biológico	36
6.2 Colecta de material fresco de <i>Eryngium carlinae</i>	36
6.3 Preparación del extracto hexánico	36
6.4 Protocolo de ejercicio	37
6.5 Disección	37
6.6 Registro mecánico	38
6.7 Protocolo de estimulación	38
6.8 Determinación de lípidos en suero sanguíneo	39

6.9 Homogeneización de los tejidos	39
6.10 Determinación del estrés oxidante	40
6.11 Determinación de defensa antioxidante	40
6.12 Análisis de datos	41
VII. RESULTADOS	42
7.1 Efecto del extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio en el peso, glucosa y grasa visceral de ratas con obesidad.	42
7.2 Efecto del extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio en los triglicéridos y el colesterol del suero de ratas obesas.	44
7.3 Efecto del extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio en la tensión máxima, la tensión total y el tiempo de fatiga de los músculos EDL y sóleo.	48
7.4 Efecto del extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio en la defensa antioxidante del músculo EDL y el músculo sóleo.	52
7.5 Efecto del extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio en la generación de especies reactivas de oxígeno del músculo EDL y el músculo sóleo.	58
VIII. DISCUSIÓN	60
El tratamiento con ejercicio y extracto hexánico de <i>E. carlinae</i> repercuten en el peso corporal, la grasa visceral y la glucosa sérica de ratas con obesidad.	61
El extracto de <i>E. carlinae</i> y el ejercicio de moderada intensidad mejoran el perfil lipídico durante la obesidad.	62
El ejercicio y el extracto de <i>E. carlinae</i> mejoran el tiempo de fatiga y la fuerza de contracción de los músculos sóleo y EDL durante la obesidad.	65
El ejercicio de moderada intensidad y el extracto hexánico de <i>E. carlinae</i> no inciden en la defensa antioxidante y en la producción de especies reactivas de oxígeno en el músculo EDL y sóleo durante la obesidad.	67
IX. CONCLUSIÓN	69
X. BIBLIOGRAFÍA	70

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AMPK: Cinasa activada por monofosfato de adenosina

ATP: Trifosfato de adenosina

DAG: Diacilglicerol

EDL: *Extensor digitorum longus*

ERO: Especies reactivas de oxígeno

GSH-Px: Glutación peroxidasa

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

IL: Interleucina

IMC: Índice de masa corporal

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

LPL: Lipoproteínlipasa

MCP: Proteína quimioatrayente de monocitos

PUFAs: Ácidos grasos poliinsaturados

RS: Retículo sarcoplásmico

SOD: Superóxido dismutasa

TG: Triglicéridos

TNF: Factor de necrosis tumoral

TT: Túbulos transversos

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

La obesidad es una condición que en la actualidad está catalogada como pandemia, representa un importante factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, hipertensión y un abundante número de tipos de cáncer. Si bien la obesidad afecta a todos los órganos del cuerpo, el músculo esquelético es uno de los más afectados debido a su abundancia en el cuerpo. A la disfunción del músculo esquelético debido a la obesidad se le atribuyen diferentes alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina, hiperlipidemia y también una contribución a una inflamación generalizada y crónica de los tejidos, esto debido a que el músculo esquelético es el encargado en gran medida de mantener la homeostasis de la glucosa y los lípidos.

Entonces un mejor funcionamiento del músculo esquelético en personas que sufren de obesidad puede mejorar considerablemente algunos de los efectos que tiene la excesiva acumulación de grasa en el cuerpo. Con la finalidad de aportar algunos tratamientos que puedan mejorar la función del músculo esquelético y con ello la calidad de vida de las personas que sufren obesidad, en el presente proyecto se analizó el efecto que tiene tanto el ejercicio como la administración de un extracto hexánico de *Eryngium carlinae* en el funcionamiento del músculo esquelético y en la lipidemia durante la obesidad, ya que está bien documentado que el ejercicio es una terapia exitosa para mejorar la función de dicho tejido y se ha observado que algunos extractos de *Eryngium carlinae* mejoran el funcionamiento de tejidos como el hígado y el cerebro durante la diabetes.

Los resultados que se obtuvieron en el presente proyecto indican que el ejercicio y el extracto de *Eryngium carlinae* mejoraron el funcionamiento del músculo esquelético, disminuyeron la hiperlipidemia y también la concentración de glucosa en sangre, obteniéndose mejores resultados cuando se aplicaron ambos tratamientos al mismo tiempo.

Palabras clave: Metabolismo, sóleo, EDL, estrés oxidante, lípidos.

ABSTRACT

Obesity is a condition that is currently classified as a pandemic, it represents an important risk factor for developing cardiovascular diseases, diabetes mellitus, hypertension and an abundant number of types of cancer. Although obesity affects all organs of the body, skeletal muscle is one of the most affected due to its abundance in the body, in turn, skeletal muscle dysfunction due to obesity is attributed to different metabolic dysfunctions such as insulin resistance, hyperlipidemia and also a contribution to generalized and chronic tissue inflammation, this because skeletal muscle is largely responsible for maintaining glucose and lipid homeostasis.

So better skeletal muscle function in people who suffer from obesity can greatly ameliorate some of the effects of excessive fat accumulation on your body. In order to provide some treatments that can improve skeletal muscle function and thus the quality of life of people suffering from obesity, this project analyzed the effect of both exercise and the administration of a hexanic extract of *Eryngium carlinae* in skeletal muscle function and lipidemia during obesity, since it is well documented that exercise is a successful therapy for improving the function of said tissue and it has been observed that some extracts of *Eryngium carlinae* improve the function of some tissues such as the liver and brain during diabetes.

The results obtained in this project indicate that exercise and *Eryngium carlinae* extract improved skeletal muscle function, decreased hyperlipidemia and also blood glucose concentration, with better results being obtained when both treatments were applied at the same time.

I. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una condición que en la actualidad se cataloga como pandemia, en México. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2018) menciona que había un 76.8 % de mujeres y un 73 % de hombres mayores de 20 años con sobrepeso u obesidad, esta enfermedad representa un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, hipertensión y algunos tipos de cáncer (ENSANUT, 2018).

La obesidad afecta todos los órganos del cuerpo, pero uno de los más afectados es el músculo esquelético debido a su abundancia en el cuerpo humano; el músculo esquelético representa hasta un 40 % del peso total en una persona adulta y es el tejido responsable de diversas funciones además de la locomoción, como la homeostasis de la glucosa y de los lípidos ya que en condiciones de reposo; consume aproximadamente el 30 % de la energía disponible y hasta el 75 % en condiciones de ejercicio intenso (Plowman y Smith, 2014; Pawlina, 2016; Truskey, 2018). El tejido adiposo en exceso puede generar inflamación del músculo esquelético, disfunción mitocondrial, resistencia a la insulina, lipotoxicidad, disminución de la masa magra y de la fuerza de contracción, aumento de las especies reactivas de oxígeno y una disminución de la defensa antioxidante, entre otras, por lo que el músculo esquelético es un buen blanco terapéutico para el tratamiento de la obesidad (Di Meo *et al.* 2017; Goodpaster *et al.* 2017).

Diversos estudios proponen al ejercicio como un tratamiento eficaz contra esta patología y sus complicaciones. En especial el ejercicio de moderada intensidad demostró que puede traer adaptaciones que mejoran el funcionamiento del músculo esquelético durante la obesidad, entre ella se encuentra el mejoramiento de la composición corporal debido a una disminución del tejido adiposo, aumento de la masa magra, un aumento en la resistencia a la fatiga y fuerza de contracción, y la secreción o activación de diversas sustancias biológicamente activas que mejoran la flexibilidad metabólica en esta patología como las miocinas antiinflamatorias, además de generar

un mejor mantenimiento de la homeostasis de la glucosa y los lípidos (Martinez-Huenchullan *et al.* 2018).

Por otro lado, en México el uso de plantas medicinales es una costumbre antigua, en el país existe una gran variedad de plantas que se utilizan para tratar diferentes afecciones a la salud, una de ellas es *Eryngium carlinae* la cual es de amplia distribución en Centroamérica y se le conoce vulgarmente como “Hierba del sapo” o “Cabezona”. A esta planta se le atribuyen cualidades para disminuir la hiperglucemia, la hiperlipidemia y como desinflamante natural, parámetros que durante la obesidad se ven afectados. El efecto de *E. carlinae* sobre ellos podría mejorar también la función del músculo esquelético. Diversos estudios demuestran que *E. carlinae* mejora la defensa antioxidante y por lo tanto la función del hígado, el cerebro y los riñones, sin embargo, aún no hay estudios que demuestren su efecto en el músculo esquelético (Noriega-Cisneros *et al.* 2012; Peña-Montes *et al.* 2019; Noriega-Cisneros *et al.* 2020, CONABIO, 2020)

II. ANTECEDENTES

2.1 Obesidad

La obesidad es una enfermedad de origen multifactorial ya que intervienen factores genéticos, ambientales y sociales, según la organización mundial de la salud (OMS) la obesidad es una acumulación excesiva del tejido adiposo que puede ser perjudicial para la salud, esto debido a un desbalance entre la ingesta y el gasto de energía, causando un balance energético positivo crónico y un aumento de peso (OMS, 2020; Vecchiéa *et al.* 2018). La OMS se basa en el índice de masa corporal (IMC) para definir a una persona obesa, considerando a un adulto obeso a aquel que tenga un IMC igual o mayor a 30, sin embargo, este valor no discrimina entre tejido muscular, óseo o graso por lo que existen otros parámetros que también son confiables para determinar la obesidad como lo son el porcentaje de grasa en donde un porcentaje de 25 % para hombres y un 30 % para mujeres se considera obesidad, también es recomendable medir la relación cintura cadera (De Lorenzo *et al.* 2016).

La obesidad se cataloga como una pandemia y es uno de los problemas de salud que tomó más importancia en este siglo, se prevé que para el 2030 el 58 % de la población adulta mundial sea obesa. En cuanto a México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) menciona que para el 2018, había un 76.8 % de mujeres y un 73 % de hombres mayores de 20 años con sobrepeso u obesidad y este número sigue creciendo (ENSANUT, 2018; Jun-Won *et al.* 2018).

La obesidad es un factor de riesgo para otras enfermedades como la diabetes mellitus tipo II, el síndrome metabólico, hipertensión, hipercolesterolemia, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Se sugiere que la distribución de la grasa está estrechamente relacionada con las anomalías metabólicas, es de mayor preocupación la acumulación de grasa visceral, el tejido adiposo que rodea a los órganos, que la grasa subcutánea (De Lorenzo *et al.* 2016; Rivera-Alvarez *et al.* 2020).

2.2 El tejido adiposo

Durante años se consideró que la única función del tejido adiposo era ser el más grande almacén de energía, sin embargo, ahora se sabe que cumple múltiples funciones reguladoras en el cuerpo, es por esto que cada vez a menudo se le cataloga como un órgano (Murawska-Ciałowicz, 2017).

El tejido adiposo se divide en dos tipos, los cuales deben su nombre al color que presentan a la vista: el tejido adiposo pardo y el tejido adiposo blanco. El tejido adiposo pardo se encuentra en grandes cantidades en los neonatos humanos, representa alrededor del 5 % de la masa corporal total y funciona como protección ante la pérdida de calor previniendo la hipotermia. Este tejido disminuye gradualmente, ya que en la vida adulta solo se encuentra en limitadas partes del cuerpo como alrededor de los órganos internos. A este tejido se le denomina multilocular ya que los lípidos se almacenan en sus adipocitos en forma de numerosas gotas pequeñas. Por otro lado, el tejido adiposo blanco está ampliamente distribuido por todo el cuerpo de una persona adulta llegando a representar hasta el 28 % del peso corporal total de una persona sana, está compuesto principalmente de adipocitos, pero también podemos encontrar células del sistema inmune como fibroblastos, leucocitos, monocitos y macrófagos (Brusco *et al.* 2014; Pawlina, 2016; Murawska-Ciałowicz, 2017).

El tejido adiposo blanco se caracteriza por tener una gran plasticidad ya que puede adaptar su tamaño de acuerdo a factores externos como el ejercicio o la dieta. También tiene tres funciones básicas que son la de ser aislante, servir como amortiguador para los órganos y como se mencionó anteriormente, de almacén de energía. Sin embargo, en los últimos años se ha descubierto que es un tejido mucho más complejo y de gran importancia en el metabolismo de los lípidos y la glucosa ayudando así a mantener el balance energético y modulando la función hormonal y reproductiva. Por último, se demostró que el tejido adiposo cumple un papel fundamental en las cascadas inflamatorias (Izaola *et al.* 2015; Murawska-Ciałowicz, 2017).

Los adipocitos son las células que principalmente componen al tejido adiposo. Son células especializadas de gran tamaño (100 μm) que se encargan de la síntesis y el almacenamiento de triglicéridos. Estos lípidos almacenados se encuentran en forma de una única gota que llega a representar hasta el 97 % del volumen total del adipocito. Esta gota lipídica solamente está separada del citoplasma celular por una capa de lípidos condensados que se encuentran reforzados con vimentina. Los adipocitos también pueden sintetizar y secretar citocinas, factores de crecimiento y hormonas a las cuales se les denomina adipocinas, algunas de estas adipocinas están altamente relacionadas con el sistema inmune, tal es el caso de las citocinas inflamatorias como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-4, IL-13 y MCP-1. También se incluyen entre las adipocinas, hormonas como la leptina que regulan la ingesta y el balance energético, que intervienen en la regulación de la homeostasis de la glucosa como la adiponectina, la resistina y la visfatina y en la regulación sanguínea como el angiotensinógeno (Brusco *et al.* 2014; Esteve, 2014; Pawlina, 2016; O'Rourke, 2018).

En la actualidad se sabe que la localización del tejido adiposo blanco tiene grandes implicaciones en su función biológica dándole características metabólicas y endocrinas distintas, es así que el tejido adiposo que se acumula en las mamas o en los glúteos tiene una mayor sensibilidad a los estrógenos. El tejido adiposo que se acumula en el cuello y la espalda interactúa más con los glucocorticoides mientras que la grasa visceral secreta una mayor cantidad de citocinas proinflamatorias, es por esto que la obesidad abdominal es de mayor preocupación para diversas complicaciones que se derivan del exceso de grasa (Esteve, 2014).

Existen diversos factores que influyen en la distribución y acumulación de la grasa. Además, existe evidencia de que la distribución del tejido adiposo cambia con la edad, de forma que al llegar a la edad adulta hay una disminución de la grasa subcutánea y un aumento de la abdominal, incluso en individuos que mantienen un índice de masa corporal estable; también se observa que factores genéticos influyen en la disposición del tejido graso, por ejemplo, las etnias africanas tienen una mayor

acumulación de grasa en los glúteos y las piernas; el sexo también es importante en cuanto a una diferente distribución del tejido graso, se le conoce como distribución androide (manzaniforme) a aquella que se presenta generalmente en hombres, en donde hay una mayor cantidad de grasa en la parte superior del cuerpo como en el abdomen y el pecho, mientras que la distribución ginecoide (periforme) se observa con mayor regularidad en las mujeres y la mayor cantidad de grasa acumulada se observa en la parte inferior del cuerpo como los glúteos o las piernas. El aumento del tejido adiposo en la obesidad se debe a dos principales procesos de los adipocitos, la hiperplasia que es un aumento en el número de células o la hipertrofia que es un aumento en el tamaño, aunque la hipertrofia es reversible con ayuno o un gasto energético mayor, la hiperplasia es resistente al cambio (Esteve, 2014; Di Meo *et al.* 2017).

2.3 Regulación del tejido adiposo

La regulación del tejido adiposo está se relaciona con el sistema digestivo y el sistema nervioso, juntos forman el eje encéfalo-entero-adiposo que se encarga de regular el apetito, la saciedad y la homeostasis energética. Dentro de este eje se encuentran dos sistemas fisiológicos que determinarán la cantidad de tejido adiposo en una persona, uno de los sistemas actúa a corto plazo y el otro a largo plazo (Pawlina, 2016).

El sistema regulador del tejido adiposo a corto plazo se encarga de controlar el apetito y el metabolismo de manera habitual mediante la acción de hormonas peptídicas como la ghrelina y el péptido YY. La ghrelina actúa sobre los receptores del hipotálamo para aumentar el apetito, mientras que el péptido YY es una hormona que secreta el intestino, esta hormona induce la sensación de saciedad después de consumir alimentos. Por otro lado, la leptina y la insulina son las hormonas más importantes en el sistema regulador del tejido adiposo a largo plazo, mientras que la insulina, una hormona que secreta el páncreas, regula la concentración de glucosa en la sangre y permite su conversión en triglicéridos para su almacenamiento. La leptina,

una adipocina, actúa en el sistema nervioso para dar una señal de saciedad (Pawlina, 2016).

2.4 Metabolismo de los lípidos

El estudio del metabolismo de los lípidos cobra cada vez más importancia ya que se relaciona con el proceso de diversas enfermedades y se ha vuelto un objetivo terapéutico.

Los ácidos grasos son la forma más simple para la síntesis de lípidos complejos. Se clasifican de acuerdo al número de dobles enlaces presentes en su estructura, teniendo así ácidos grasos insaturados con un solo doble enlace o poliinsaturados (PUFA) que presentan dos o más dobles enlaces, también, pueden clasificarse de acuerdo al largo de su cadena. Los ácidos grasos de cadena corta que tienen menos de 6 carbonos y ácidos grasos de cadena larga que contienen de 12 a 22 carbonos y los de cadena muy larga a los que forman más de 22 carbonos (Kalish *et al.* 2015).

2.4.1 Biosíntesis y almacenamiento de ácidos grasos

La mayor parte de los ácidos grasos en los humanos se obtienen de la dieta, sin embargo, cuando se tiene un exceso de carbohidratos, estos se utilizan para la síntesis *de novo* de ácidos grasos, proceso al cual se le denomina lipogénesis. Este proceso ocurre principalmente en el hígado y los adipocitos y se puede dividir en dos estadios: estadio 1) en donde la acetil-CoA se convierte en malonil-CoA que dará como resultado ácidos grasos pares con un número par de carbonos, en el siguiente estadio o en pionil-CoA que servirá como sustrato para la síntesis de ácidos grasos con un número impar de carbono, esto ocurre gracias a la acción de la enzima acetil-CoA carboxilasa que es una enzima dependiente de la biotina; en el estadio 2) en donde tras haber agregado un cebador en el grupo cisteína en el acetil-CoA, reacción que cataliza la acetil transacilasa, la ácido graso sintasa cataliza un proceso de seis pasos para generar un ácido graso, este proceso se repite 7 veces con cada malonil-CoA la cual

proporciona 2 carbonos para elongar la cadena del ácido graso en proceso, el producto final en un ácido graso de 16 carbonos llamado palmitato. El palmitato puede sufrir modificaciones adicionales en el retículo endoplásmico (Kalish *et al.* 2015; Baynes y Dominiczak, 2019).

Los ácidos grasos se almacenan en forma de triacilglicéridos que están constituidos por tres ácidos grasos unidos a un esqueleto de glicerol, la síntesis de estos se da principalmente en el hígado. El esqueleto de glicerol proviene de intermediarios de la glucólisis y los ácidos grasos se añaden secuencialmente por la acción de enzimas aciltransferasas. Los triacilgliceroles que son producidos en el hígado, específicamente en el retículo endoplasmático liso se asocian con el colesterol, fosfolípidos y lipoproteínas para su exportación al aparato de Golgi en donde se forman las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las cuales se liberan al torrente sanguíneo para ser captadas por otros tejidos (Kalish *et al.* 2015; Michele *et al.* 2017; Baynes y Dominiczak, 2019).

2.5 Músculo

El tejido muscular es un conjunto de células especializadas en la contracción, se encarga del movimiento del cuerpo y de funciones tan vitales como el latir del corazón o el movimiento del alimento a través de los intestinos. Los músculos representan alrededor del 40 % del peso corporal total de una persona adulta y es uno de los tejidos más activos metabólicamente hablando ya que en condiciones de reposo consume aproximadamente el 30 % de la energía disponible y hasta el 75 % en condiciones de ejercicio intenso (Plowman y Smith, 2014; Pawlina, 2016; Truskey, 2018).

El tejido muscular tiene características que lo hacen único, entre ellas se incluyen cuatro principales que son la irritabilidad, la contractilidad, la extensibilidad y la elasticidad y todas se basan en la capacidad de las células musculares para convertir una señal eléctrica en una acción mecánica (Plowman y Smith, 2014).

La clasificación del tejido muscular se basa en el aspecto de las células contráctiles, es así que se conocen dos tipos principales de músculos: el músculo estriado, en el cual se observan estriaciones transversales a través del tejido y el músculo liso el cual no presenta estriaciones, a su vez el músculo estriado se subdivide en músculo esquelético que es el responsable de la posición, la postura y el movimiento del sistema óseo, mientras que el músculo cardíaco se encuentra formando las paredes del corazón (Pawlina, 2016).

2.6 Músculo esquelético

El músculo esquelético en realidad es un sincitio multinucleado formado por numerosas células musculares, más comúnmente llamadas fibras musculares, estas se forman por la fusión de mioblastos, unas pequeñas células individuales (Pawlina, 2016).

El cuerpo humano contiene alrededor de 600 músculos esqueléticos que en conjunto se encargan de llevar a cabo tres funciones principales: 1) provocan movimiento del cuerpo generando fuerza en las extremidades óseas; 2) mantienen la postura y 3) producen calor durante un periodo de exposición al frío, sin embargo, en la actualidad se sabe que este tejido tiene otras funciones que son importantes para mantener la homeostasis de la glucosa y la síntesis de citocinas antiinflamatorias llamadas miosinas. Una de las características más distintivas del músculo esquelético es la apariencia estriada de sus células. Esas estrías son producidas por la alternancia de bandas claras y oscuras que aparecen a lo largo de la fibra muscular (Wilmore y Costill, 2010; Huaizhu, 2017).

2.7 Estructura del músculo esquelético

Las fibras musculares se mantienen unidas unas a otras gracias a capas de tejido conjuntivo, el cual continúa a lo largo del músculo y se une a los extremos formando los tendones, mediante los cuales los músculos se unen al periostio de los huesos. El tejido conectivo se designa de acuerdo a su posición en el músculo, así se encuentra el endomisio inmediatamente recubriendo cada una de las fibras musculares,

en el endomisio se encuentran vasos sanguíneos de bajo calibre y células nerviosas, posteriormente se encuentra el perimisio que es una capa de tejido conectivo más gruesa, que rodea grupos de fibras musculares a manera de paquetes a los cuales se les denomina fascículos, por último, el epimisio rodea a los fascículos para formar un músculo, esta vaina de tejido conectivo es mucho más densa y se encuentra irrigada por nervios y vasos sanguíneos (Tortora y Derrickson, 2015; Pawlina, 2016).

2.7.1 Fibra muscular

Las fibras musculares son el componente más importante del músculo esquelético, su diámetro varía entre 10 y 100 μm y su longitud dependerá del músculo al que pertenece, por ejemplo, el músculo sartorio perteneciente a la pierna llega a medir hasta un metro. Cada fibra muscular llega a tener hasta 100 núcleos gracias a que durante la etapa embrionaria existe una fusión de 100 o más células mesodérmicas. La cantidad de fibras musculares presentes en cada músculo está establecida desde el nacimiento, en su mayoría esto persiste durante toda la vida y varía de acuerdo al tamaño y función del músculo (Wilmore y Costill, 2010; Tortora y Derrickson, 2015; Pawlina, 2016).

Las células musculares se componen aproximadamente del 75 % de agua, 20 % proteínas y un 5 % de sustancias como vitaminas, minerales, varios iones, aminoácidos, carbohidratos y grasas (MacLaren y Morton, 2012).

2.7.2 Sarcolema

La bicapa lipídica que rodea cada fibra muscular se denomina sarcolema. El sarcolema posee invaginaciones que se extienden de forma perpendicular a lo largo de la célula, estas invaginaciones llamadas túbulos transversos (TT) forman canales que comunican la superficie celular con el interior de la fibra muscular, debido a esto los TT están llenos de líquido intersticial lo que permite que los impulsos nerviosos sean transmitidos rápidamente a miofibrillas individuales, además de conectarse entre ellos. En el extremo de cada fibra muscular, el sarcolema se fusiona con el tendón para

insertarse en el hueso. Los TT en conjunto con el retículo sarcoplasmático forman el sistema sarcotubular, el cual actúa como una red de comunicación celular que permite el paso de iones como el calcio, la transmisión del impulso nervioso y facilita el desecho de productos de eliminación (Wilmore y Costill, 2010; MacLaren y Morton, 2012; Exeter *et al.* 2010).

Por otro lado, entre el sarcolema y la lámina basal se encuentran unas células no diferenciadas llamadas células satélite las cuales juegan un papel clave en el crecimiento y reparación muscular, además de ser fundamental en la adaptación de los músculos a diferentes estímulos (Exeter *et al.* 2010)

2.7.3 Sarcoplasma

Se le denomina sarcoplasma al citoplasma de las células musculares y está compuesto por proteínas, minerales, grandes depósitos de glucógeno y grasas disueltas, además de contener los orgánulos celulares. El sarcoplasma contiene una proteína a la que se le denomina mioglobina, la cual es capaz de almacenar oxígeno. La mayor parte del sarcoplasma está ocupado por miofibrillas musculares contráctiles que les dan su característica principal a las fibras musculares (Exeter *et al.* 2010; Wilmore y Costill, 2010).

2.7.4 Retículo sarcoplasmático

Dentro de cada fibra muscular existe un sistema de sacos membranosos que corren paralelos a las miofibrillas y están llenos de líquido a los cuales se les denomina retículo sarcoplásmico (RS). El RS funciona como un depósito de calcio que sirve para desencadenar la contracción muscular. En áreas adyacentes a los túbulos transversos los sacos del RS se dilatan en zonas conocidas como cisternas terminales. Cada TT colinda con dos cisternas terminales, una a cada lado, formando una triada (Exeter *et al.* 2010; Tortora y Derrickson, 2015).

2.7.5 Miofibrillas

Las miofibrillas son los elementos contráctiles del músculo esquelético. Cada fibra muscular puede contener hasta 1000 miofibrillas y estas a su vez están compuestas por proteínas de diferentes tipos como proteínas moduladoras (troponina y tropomiosina), proteínas accesorias como la titina y la nebulina que le confieren al músculo elasticidad, proteínas moduladoras como troponina y tropomiosina y proteínas contráctiles como la actina y la miosina, estas últimas constituyen hasta el 85 % de la proteína muscular total siendo la miosina la que ocupa la mayor parte con un 60 %. Todas estas proteínas están formando en la fibra muscular filamentos finos y gruesos que le darán al músculo esquelético su apariencia estriada (MacLaren y Morton, 2012; Tortora y Derrickson, 2015).

Los filamentos finos están formados principalmente por una doble hélice de actina G, proteína que mide aproximadamente 8 nm de diámetro, pesa 42 kDa y tiene un extremo positivo que tiene forma barbada el cual está unido a la línea Z del sarcómero con ayuda de la actinina- α y la nebulina, mientras que su extremo negativo tiene una forma puntiaguda, cada molécula de actina G tiene un sitio de unión a miosina que se encuentra oculto por la tropomiosina y su proteína reguladora la troponina a lo largo de todo el filamento fino. Funcionalmente la troponina consta de tres subunidades: la troponina C que es la subunidad más pequeña que se encarga de fijar Ca^{2+} ; la troponina T de 30 kDa que une la tropomiosina con el complejo de troponinas; y la troponina I que también consta de 30 kDa que se fija a la actina inhibiendo la interacción entre actina y miosina. Por otro lado, los filamentos gruesos están compuestos por varios cientos de moléculas de miosina II que es una proteína motora que mide alrededor de 16 nm de diámetro, cada molécula se forma por la torsión entre sí de dos cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras, un extremo de cada hebra forma una cabeza globular que consta de un sitio de unión a la actina y un sitio de hidrólisis del trifosfato de adenosina (ATP). De manera general, hay dos filamentos finos por cada filamento grueso los cuales se superponen. Todos los componentes de una miofibrilla están dispuestos en unidades funcionales denominadas sarcómeros (Exeter *et al.* 2010; Tortora y Derrickson, 2015; Pawlina, 2016).

Los sarcómeros son la unidad contráctil de la fibra muscular, cada sarcómero se separa uno de otro por una capa de tejido conjuntivo llamada línea Z, esta línea Z sirve como sitio de anclaje para los filamentos finos, cada sarcómero mide de 2 μm a 3 μm en un músculo relajado y puede distenderse hasta 4 μm o contraerse hasta 1 μm durante una contracción. Los filamentos gruesos se sitúan en la parte central del sarcómero a la cual se le denomina banda A, que es una porción oscura, anisotrópica y se anclan por la línea M, la banda I es más clara, se forma únicamente por filamentos de actina y es isotrópica, mientras que la zona formada solo por filamentos de miosina se denomina zona H (Tortora y Derrickson, 2015; Pawlina, 2016).

2.8 Funciones del músculo esquelético

El buen funcionamiento del músculo esquelético recae en su mayoría en su apropiado suministro nervioso que le permita estar bien provisto de impulsos neuronales, esto a través de la acción de α -motoneuronas o nervio motor, un solo nervio motor inerva varias fibras musculares y estas en conjunto reciben el nombre de unidad motora. La unión neuromuscular es el punto en donde se comunica una neurona y una fibra muscular, entre ambas existe un pequeño espacio denominado espacio sináptico en donde la neurona libera acetilcolina (ACh) el neurotransmisor se encarga de llevar a cabo la sinapsis neurona-músculo; en el músculo los receptores sarcolemales específicos para ACh desencadenan un potencial de acción una vez que son activados por el neurotransmisor, despolarizando así el sarcolema y permitiendo la entrada de Na^+ hacia el sarcoplasma. La despolarización de la membrana tanto nerviosa como del músculo se debe a que ambos tejidos mantienen una distribución desigual de los iones a través de sus membranas, el potencial de membrana en reposo (PMR). En las neuronas el PMR es de -70 mV y en los músculos es de -90 mV, al abrirse los canales de Na^+ por el estímulo del neurotransmisor el potencial de membrana se vuelve temporalmente positivo provocando la despolarización de la membrana.(Exter *et al.* 2010; Wilmore y Costill, 2010; MacLaren y Morton, 2012).

2.8.1 Contracción muscular

La contracción del músculo esquelético permite generar fuerza para mover o resistir una carga, esta se caracteriza por un acortamiento de los sarcómeros y la banda I, mientras que la banda A permanece con la misma longitud, en este proceso existe una superposición de los miofilamentos gruesos y delgados, el resultado de la longitud del músculo dependerá de la fuerza a vencer habiendo contracciones de tipo excéntricas, concéntricas e isométricas (Pawlina, 2016).

Además, la energía en forma de ATP se genera por la combustión de sustratos derivados de los alimentos y el Ca^{2+} son imprescindibles para el proceso de contracción muscular y el resultado de esto es el deslizamiento de los miofilamentos de actina y miosina, acción a la cual se le conoce como teoría de los filamentos deslizantes (Exeter *et al.* 2010).

2.8.2 Acoplamiento excitación-contracción

Para lograr la contracción muscular, primero hay una serie de eventos eléctricos en donde un potencial de acción en el sarcolema de la célula muscular inicia el deslizamiento de los filamentos de actina y miosina (Plowman y Smith, 2014). Este proceso se puede dividir en tres fases importantes:

1. Despolarización de la célula muscular. Una vez que el impulso nervioso de la neurona motora llega al botón sináptico se comienza una liberación mediada por calcio de ACh a la hendidura sináptica gracias a la fusión de vesículas sinápticas que contienen el neurotransmisor con la membrana de la neurona motora, la ACh se difunde a través del espacio sináptico hacia los receptores específicos que son canales iónicos para activarlos. Una vez activados estos canales se abren causando un flujo de Na^+ hacia la fibra muscular y un eflujo de K^+ . Sin embargo, es mayor la afluencia de Na^+ que la salida de K^+ lo que da como resultado que el interior de la fibra muscular se cargue positivamente permitiendo la despolarización de la membrana sarcolemal, este cambio en el potencial de membrana desencadena un potencial de acción que se propaga a lo largo del

sarcolema y través de los TT. Sin embargo, se necesita una liberación continua de ACh para provocar potenciales de acción continuos y mantener las contracciones, ya que la ACh se degrada rápidamente por la enzima acetilcolinesterasa, una enzima que se encuentra en la matriz extracelular de la hendidura sináptica (Exeter *et al.* 2010; MacLaren y Morton, 2012).

2. El calcio se une a la troponina. El potencial de acción se propaga a través de los TT a una velocidad de 5 m/s activando los receptores de dihidropiridina que se encuentran en la membrana que son canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. Esto permite la liberación de Ca^{2+} desde los sacos adyacentes del retículo sarcoplásmico hacia el sarcoplasma. La función fundamental del Ca^{2+} en la contracción muscular es permitir la liberación de los sitios de unión de la actina con la miosina, este ion una vez que se encuentra en el sarcoplasma se une a la troponina en su subunidad C y se inicia el proceso de acción levantando las moléculas de tropomiosina en los lugares activos de los filamentos de actina permitiendo así que las cabezas de miosina se unan a los filamentos de actina, lo cual se le denomina golpe de poder (Exeter *et al.* 2010; Wilmore y Costill, 2010; Plowman y Smith, 2014).
3. Ciclo de los puentes cruzados. La generación de fuerza se logra gracias la unión de las cabezas de miosina a los filamentos de actina, cuando ocurre esta unión los dos filamentos se deslizan uno a lo largo del otro. La miosina tiene una fuerte atracción molecular que se logra cuando la tropomiosina libera los sitios activos de la actina y se provoca una tracción del filamento de actina por la inclinación de la cabeza de miosina hacia el brazo. Todo este proceso produce el acortamiento del músculo y la generación de fuerza. Una vez termina este proceso mediante el uso de ATP la cabeza de miosina se separa del punto activo y gira nuevamente hacia su posición original para iniciar un nuevo ciclo (Exeter *et al.* 2010; Wilmore y Costill, 2010; Plowman y Smith, 2014).

Al cesar el potencial de acción, el Ca^{2+} presente en el citosol es secuestrado hacia el interior del retículo sarcoplásmico mediante una bomba dependiente de ATP que se encuentra en la membrana de RS (SERCA), mientras que el intercambiador de Na^+ - Ca^{2+} que se encuentra en el sarcolema, intercambia 3 moléculas de Na^+ al citosol por una de Ca^{2+} hacia el medio extracelular, esto pone fin a la contracción muscular (López y Fernández, 2010).

2.8.3 Tipos de fibras musculares

El músculo esquelético es un tejido muy dinámico que puede adaptarse a diversos cambios metabólicos y demandas fisiológicas a las que se enfrenta. Las proteínas funcionales y contráctiles son las que le dan sus características propias a cada músculo ya que estas varían en sus propiedades mecánicas, bioquímicas y metabólicas.

Los diferentes tipos de fibras se encuentran en proporciones variables dentro de cada músculo, gracias a esto cada músculo está perfectamente adaptado a su función en el cuerpo (Qaisar *et al.* 2016).

Las células musculares estriadas generalmente se clasifican por sus propiedades fisiológicas contráctiles (rápidas frente a lentas) y por el tipo principal de metabolismo (oxidativo frente a glucolítico) (Baynes y Dominiczak, 2019).

Entonces existen tres tipos principales de fibras: 1) fibras oxidativas lentas, 2) fibras oxidativas-glucolíticas rápidas y 3) fibras glucolíticas rápidas (Tortora y Derrickson, 2013; Qaisar *et al.* 2016).

1. Fibras oxidativas lentas (OL): También llamadas tipo I son de color rojo oscuro por que contienen grandes cantidades de mioglobina y muchos capilares sanguíneos. Las OL generan ATP principalmente por respiración celular aeróbica, por lo que se les denomina fibras oxidativas. Estas fibras son lentas

porque la ATPasa de las cabezas de miosina hidroliza con relativa lentitud, es decir que son las que más despacio hidrolizan el ATP para contraerse. Este fenómeno determina, a su vez, que la velocidad máxima de acortamiento de fibras sea la menor dentro de los distintos tipos de fibras, sus contracciones aisladas duran de 100 a 200 ms y demoran más en alcanzar la tensión máxima. Sin embargo, las fibras lentas son muy resistentes a la fatiga y pueden tener contracciones sostenidas, prolongadas, durante muchas horas ya que la concentración elevada de mioglobina y el gran número de capilares y de mitocondrias favorece el aporte de oxígeno y su utilización. Estas fibras de contracción lenta están adaptadas para mantener la postura y para actividades aeróbicas de resistencia, como correr un maratón (Tortora y Derrickson, 2013; Qaisar *et al.* 2016).

2. Fibras oxidativas-glucolíticas rápidas (OGR): también llamadas fibras IIa. Conceptualmente estas fibras suelen considerarse una “mezcla” de las características de las fibras lentas y rápidas, al igual que las OL contienen grandes cantidades de mioglobina y numerosos capilares sanguíneos. Las fibras OGR pueden generar una cantidad considerable de ATP por respiración celular aeróbica, lo que les confiere una resistencia a la fatiga moderadamente alta. Como su nivel de glucógeno intracelular es alto, también generan ATP por glucólisis anaeróbica. Estas fibras son rápidas porque la ATPasa de sus cabezas de miosina hidroliza el ATP de 3 a 5 veces más rápido que las fibras OL. Entonces las contracciones aisladas de fibras OGR alcanzan la contracción máxima con mayor rapidez que las fibras tipo I, pero son de duración más breve; menos de 100 ms. Las fibras OGR contribuyen al desarrollo de actividades, como caminar y correr con velocidad (Tortora y Derrickson, 2013; Qaisar *et al.* 2016).
3. Fibras glucolíticas rápidas (GR): A estas fibras también se les llama tipo IIx contienen la menor cantidad de mioglobina y mitocondrias (esto le da una coloración blanca), tienen una capacidad limitada para el metabolismo oxidativo y

esto le da menos resistencia a la fatiga que los demás tipos de fibras. Contienen grandes cantidades de glucógeno y generan ATP, fundamentalmente mediante la glucólisis. Debido a su gran tamaño y su capacidad de hidrolizar rápidamente el ATP, las fibras GR se contraen con fuerza y rapidez. Por esta razón, las fibras tipo IIX son activadas en actividades que requieren tasas máximas de producción de fuerza y formación de puentes cruzados, tales como carreras de velocidad, sin embargo, tiene que ser de corta duración ya que se fatigan rápido. Estas fibras tienen una gran capacidad de hipertrofia durante programas de entrenamiento de fuerza, a través de la acumulación de más proteínas miofibrilares que finalmente resultan en una mayor producción de fuerza. En un levantador de pesas estas fibras pueden ser un 50 % más grandes que las de una persona sedentaria o las de un deportista de resistencia (McLaren y Morton, 2012; Tortora y Derrickson, 2013; Qaisar *et al.* 2016).

2.9 MÚSCULO ESQUELÉTICO Y OBESIDAD

2.9.1 Tejido adiposo como órgano secretor

El tejido adiposo secreta una gran variedad de sustancias biológicamente activas entre las que se encuentran hormonas, citocinas, factores de crecimiento y enzimas. Las citocinas secretadas por los adipocitos se denominan adipocinas y entre las más importantes se encuentran la leptina, la adiponectina, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la interleucina-6 (IL-6), proteína quimio-atrayente de monocitos (MCP-1) e inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). Se sabe que en la obesidad existe una remodelación del tejido adiposo debido a la hiperplasia de los adipocitos subcutáneos y la hipertrofia de los adipocitos viscerales, esto lleva a una desregulación del tejido adiposo y por lo tanto a una mayor secreción de citocinas que provocan un estado de inflamación tanto local como sistémico (Izaola *et al.* 2015).

2.9.2 Tejido muscular como tejido secretor

Las células musculares expresan y secretan miocinas que tienen funciones antiinflamatorias a diferencia de los adipocitos en donde las citocinas son mayoritariamente inflamatorias, entre estas miocinas se encuentran la IL-6, IL-8, IL-15 y otras moléculas como FGF21, irisina, mionectina y miostatina las cuales se regulan principalmente por el ejercicio y tienen efectos beneficiosos en el metabolismo de los lípidos y de la glucosa. Las miocinas al igual que las adipocinas pueden ejercer efectos autocrinos, endocrinos y paracrinos (Huaizhu *et al.* 2017).

2.9.3 Inflamación del tejido adiposo y el tejido muscular

La principal característica de la inflamación del tejido adiposo es la infiltración de células del sistema inmune como los macrófagos y linfocitos T, en la actualidad se sabe que esta infiltración también ocurre en el músculo esquelético durante la obesidad gracias al tejido adiposo intramiocelular que también se expande durante esta patología hacia el tejido muscular. A pesar de que las miocinas son propiamente antiinflamatorias, también pueden expresarse y secretarse miocinas proinflamatorias, las cuales aumentan el estado inflamatorio en la obesidad. Todo esto apunta a que la inflamación

del músculo esquelético en la obesidad se provoca mayoritariamente por el tejido adiposo intramolecular y en una pequeña parte por las miosinas proinflamatorias (Huaizhu *et al.* 2017).

Por otro lado, la gran afluencia de ácidos grasos derivados de la lipólisis también contribuye a la inflamación, especialmente los ácidos grasos de cadena larga como el ácido palmítico, mientras que la hipertrigliceridemia que se asocia a la obesidad también aporta ácidos grasos y contribuye a la inflamación. De hecho, la hipertrigliceridemia se asocia como un factor causal de resistencia a la insulina y la diabetes tipo II (Huaizhu *et al.* 2017).

2.9.4 Resistencia a la insulina

En una persona sana en condiciones de ayuno existe una transición desde un metabolismo glucolítico hacia uno más oxidativo, si por el contrario se pasa de un estado de ayuno a uno en donde se consumen alimentos el metabolismo cambiará de uno oxidativo a uno glucolítico, a esta capacidad del organismo de pasar de un metabolismo a otro de acuerdo con las necesidades se le llama flexibilidad metabólica. Uno de los componentes más importantes en este proceso es la liberación de insulina en respuesta a los alimentos (Goodpaster *et al.* 2017). En la obesidad esta flexibilidad del metabolismo no se da de manera correcta y esto se debe en gran parte a la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina es una reducción de la sensibilidad a la concentración fisiológica de esta hormona y por lo tanto una respuesta disminuida por parte de los tejidos diana en donde se incluyen el músculo esquelético y el hígado, la resistencia a la insulina se caracteriza por una disminución del metabolismo de la glucosa, los lípidos y las proteínas que posteriormente puede llevar al desarrollo de diabetes tipo II. Debido a su masa y a su importancia en la homeostasis de la glucosa, el músculo representa un papel importante en el desarrollo de resistencia a la insulina (Di Meo *et al.* 2017; Goodpaster *et al.* 2017).

La unión de la insulina a la subunidad α de receptores específicos en el músculo esquelético estimula la fosforilación de tirosina del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS 1), Las proteínas IRS fosforiladas en tirosina activan a PI3K lo que permite la translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana sarcoplásmica para permitir la entrada de la glucosa a la célula, esto promueve la síntesis de glucógeno y grasa en el hígado y el músculo y se suprime la lipólisis en el tejido adiposo, sin embargo, en la obesidad existen diversos factores que no permiten este sistema para la correcta traslocación de GLUT 4. La inflamación crónica que existe en el tejido adiposo, el músculo esquelético y a nivel sistémico puede condicionar a la resistencia a la insulina, en condiciones proinflamatorias los mediadores inflamatorios como el $\text{TNF}\alpha$ se unen a receptores de membrana que además de desencadenar la migración del $\text{NF}\kappa\beta$ al núcleo y la fosforilación en serina en lugar de en sitios de tirosina de IRS1 lo que inhibe la señal química para la translocación de GLUT4. Por otro lado, se sabe que los diacilglicéridos y las ceramidas presentes en el tejido muscular por la acumulación excesiva de triglicéridos en la obesidad ejercen un efecto inhibitorio sobre la señal insulínica ya que posee actividad serina quinasa, que al igual que los intermediarios inflamatorios fosforila en serina al IRS1 (Carrasco *et al.* 2013; Di Meo *et al.* 2017; Goodpaster *et al.* 2017).

2.10 Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son moléculas que tienen un electrón desacoplado en su estructura, son moléculas muy reactivas que se forman cuando el oxígeno se expone a estrés ambiental, como la radiación ultravioleta o el calor o mediante reacciones químicas de transferencia de electrones, en la mayoría de los seres vivos estas moléculas se forman principalmente en las mitocondrias como producto de la cadena de transporte de electrones, aunque también, pueden generarlas los peroxisomas, el retículo endoplásmico, los lisosomas y la membrana plasmática. Las ERO se encuentran como radicales de oxígeno reactivos tales como el superóxido (O^{2-}), hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), peróxido (RO^{2-}), alcoxilo ($\text{RO}\cdot$) y los no radicales que tras alguna reacción se convierten en radicales como el ácido hipocloroso (HOCL), el ozono (O^3), el

oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Si bien las especies reactivas de oxígeno cumplen funciones importantes en la señalización intracelular para cumplir diversos procesos biológicos como la diferenciación, proliferación, muerte celular y senescencia en grandes cantidades se les asocia con daño a la estructura de biomoléculas como los lípidos, las proteínas y el ADN (Villiers et al. 2018; Zielinska-Blizniewska et al. 2019).

2. 10.1 Especies reactivas de oxígeno y obesidad

Las especies reactivas de oxígeno están involucradas en una variedad de procesos que se asocian con la obesidad como la inflamación, el apetito y la homeostasis energética, así como el equilibrio entre la biogénesis mitocondrial y la mitofagia (Zielinska-Blizniewska et al. 2019).

Cuando existe un desequilibrio del estado redox del organismo provocado por la disfunción mitocondrial, la sobreproducción de especies reactivas y una deficiente defensa antioxidante se entra en un estado de estrés oxidante (EO). De hecho durante la obesidad existe un estado de EO crónico. La obesidad conduce a un estrés oxidante sistémico a través de diferentes mecanismos bioquímicos incluida la fosforilación oxidativa, la generación de superóxido a partir de NADPH oxidasas, la autooxidación de gliceraldehído, las vías de poliol y hexosamina y la activación de la proteína quinasa C (Tobore, 2020).

Por otro lado, también se sabe que el EO puede influir en el aumento de la obesidad debido a que regulan la diferenciación de los adipocitos promoviendo la adipogénesis, sin embargo aún no queda bien claro el papel que cumplen las especies reactivas de oxígeno en este proceso. Se demostró que durante la adipogénesis la proporción de glutatión con el glutatión oxidado disminuye y que la diferenciación adipogénica en presencia de H_2O_2 aumenta. También se ha demostrado que la adición de antioxidantes como la N-acetilcisteína, rotenona y apocinina inhiben parcialmente la diferenciación adipogénica de células madre derivadas del tejido adiposo humano (Villiers et al. 2018; Tobore, 2020).

2.11 Ejercicio

El ejercicio es un episodio de actividad muscular que requiere un gasto de energía por encima del requerido en reposo, esto interrumpe el estado de homeostasis del cuerpo y genera una respuesta fisiológica ya sea crónica o aguda. Tres factores son considerados cuando se determina la respuesta aguda al ejercicio: la modalidad del ejercicio, la intensidad y la duración (Plowman y Smith, 2014).

2.11.1 Ejercicio, músculo esquelético y obesidad

Cada uno de los músculos del cuerpo humano están formados por una mezcla de los diferentes tipos de fibras musculares, aunque siempre existe una predominante, esto le da a cada músculo características distintas tales como la irritabilidad, la elasticidad, la contractilidad y la extensibilidad que van de acuerdo con su función en el cuerpo. La realización de ejercicio puede modificar estas características, ya que el músculo esquelético es un tejido altamente adaptable a las demandas fisiológicas que se le imponen (López y Fernández, 2010).

En la obesidad existe una disminución de la función muscular que se puede observar como una disminución de la fuerza y del tiempo de fatiga debido a diversos factores como la inflamación, la resistencia a la insulina y la acumulación excesiva de lípidos intramiocelulares. Se recomienda ampliamente el ejercicio para el tratamiento de esta patología y sus complicaciones, se propone que el entrenamiento de moderada intensidad trae múltiples beneficios que pueden contrarrestar muchas alteraciones metabólicas de la obesidad. Entre los efectos benéficos se encuentran el mejoramiento de la composición corporal debido a una disminución del tejido adiposo y aumento de la masa magra, un aumento en la resistencia a la fatiga y fuerza de contracción y la secreción o activación de diversas sustancias biológicamente activas que mejoran la flexibilidad metabólica en esta patología (Martinez-Huenchullan *et al.* 2018).

La activación de la proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK) es uno de los procesos mediante los cuales el ejercicio de moderada

intensidad puede mejorar el balance energético en el cuerpo. AMPK es un sensor intracelular de consumo de ATP. Durante el ejercicio esta proteína se activa por el alto consumo de ATP y la alta concentración de AMP por lo que promueve la realización de procesos catabólicos como la lipólisis e inhibe los procesos anabólicos y también es responsable de la traslocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana sarcoplásmica de manera independiente a la insulina (Thomson, 2018).

Por otro lado también se demostró que el ejercicio físico puede mejorar la función y el contenido mitocondrial del músculo esquelético por lo que mejora la salud muscular al aumentar la fosforilación oxidativa y la actividad de las enzimas oxidantes. la generación de especies reactivas durante el ejercicio activa vías de señalización que activan factores transcripcionales como Nrf2, NF-κB y el cofactor de transcripción PGC-1α 25 que aumentan la expresión de enzimas antioxidantes y actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx (Poblete-Aro *et al.* 2018; Angulo *et al.* 2020).

2.12 *Eryngium carlinae*

En la medicina tradicional mexicana existen una gran variedad de plantas que se utilizan para tratar diversas enfermedades, entre ellas se encuentran algunas que podrían tener efectos benéficos para la obesidad.

Eryngium carlinae es una planta perenne que se distribuye en México y Centroamérica es mejor conocida como “cabezona” o “hierba del sapo”, crece en lugares perturbados, en sitios abiertos a la orilla de parcelas. En la medicina tradicional se utiliza para tratar anomalías de los lípidos, existen diversos estudios que comprueban que diversos tipos de extractos como el etanólico, el hexánico y las infusiones de distintas partes de esta planta tienen efectos positivos sobre el colesterol, los triglicéridos y la glucosa en la diabetes y la hipertrigliceridemia, además de tener efectos en la defensa antioxidante de diversos órganos como el hígado, el cerebro y los riñones de ratas (Noriega-Cisneros *et al.* 2012; Peña-Montes *et al.* 2019; Noriega-Cisneros *et al.* 2020, CONABIO 2020)

El efecto hipolipemiante de esta planta se debe a que aumenta la expresión y la actividad de transportadores de unión a ATP llamados ABCG5 y ABCG8 (del inglés ATP- Binding Cassette), que son transportadores intestinales que también podemos encontrar en el hígado y son responsables de bombear el colesterol consumido en la dieta hacia la luz del intestino y hacia los ácidos biliares en el hígado para su posterior deshecho (Castro-Torres *et al.* 2017).

III. JUSTIFICACIÓN

La obesidad es un problema de salud mundial que es responsable de millones de muertes al año; provoca el mal funcionamiento de diversos órganos y tejidos, siendo de los más afectados el músculo esquelético.

Diversos estudios comprueban que tratamientos no farmacológicos como el ejercicio y el uso de extractos de plantas pueden mejorar diferentes marcadores bioquímicos tanto a nivel sistémico como a nivel muscular que resultan de importancia en esta patología.

Es por esto que es de interés identificar los efectos del ejercicio de moderada intensidad y del extracto de *Eryngium carlinae* en el funcionamiento del músculo esquelético , en la defensa antioxidante, y en el perfil de lípidos durante la obesidad.

IV. HIPÓTESIS

El tratamiento con el extracto de *E. carlinae* y ejercicio reducen la lipidemia y mejora el rendimiento muscular durante la obesidad al aumentar la defensa antioxidante y reducir la producción de ERO.

V. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar el efecto del tratamiento con extracto de *Eryngium carlinae* y el ejercicio de moderada intensidad en la lipidemia, la defensa antioxidante y el rendimiento muscular durante la obesidad.

5.2 Específicos

1. Determinar el efecto del tratamiento con extracto de *E. carlinae* y el ejercicio sobre el perfil de lípidos durante la obesidad.
2. Evaluar el desarrollo de fuerza muscular durante la obesidad con el tratamiento del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio de moderada intensidad.
3. Identificar si el tratamiento con extracto de *E. carlinae* y el ejercicio mejoran la defensa antioxidante en el músculo esquelético durante la obesidad.
4. Evaluar el efecto del tratamiento con extracto *E. carlinae* y el ejercicio en los niveles de especies reactivas de oxígeno en músculo esquelético durante la obesidad.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Material biológico

Se utilizaron ratas macho Wistar de entre 300 y 400 g de peso las cuales se dividieron en ocho grupos: control (C), obesas (O), sanas tratadas con extracto (X), sanas ejercitadas (E), sanas ejercitadas tratadas con extracto (EX), obesas ejercitadas (OE), obesas tratadas con extracto (OX) y obesas ejercitadas tratadas con extracto (OEX).

Los animales durante todo el protocolo experimental se mantuvieron bajo condiciones de 12 h de luz y 12 h de oscuridad con una temperatura constante.

Los grupos obesos se sometieron a una dieta alta en grasa durante 8 semanas la cual consistía en bolitas de 35 g de peso de los cuales el 30 % era pellet marca Rodent® molido, 35 % manteca vegetal y 35 % manteca animal de marca comercial. Mientras que los grupos sanos solamente se alimentaron con pellet y agua *ad libitum*.

6.2 Colecta de material fresco de *Eryngium carlinae*

Se colectó la parte aérea de plantas de *Eryngium carlinae* en Morelia, Michoacán en las coordenadas 19°38'02.0" N 101°16'14.0" E en un campo abierto a la orilla de la carretera.

Se separaron las flores de los tallos y hojas de la planta fresca y se dejaron secar durante dos semanas, el material seco se pesó y se almacenó en recipientes de plástico bajo refrigeración a una temperatura de - 4 °C para su posterior uso.

6.3 Preparación del extracto hexánico

Se maceró el material seco en n-hexano en una relación 1:10 durante 7 días, posterior a esto, se filtró descartando el material sólido y almacenando el líquido, el cual se llevó a concentrarse en un rotavapor a una temperatura de 60 °C para evaporar el solvente y obtener el extracto puro de *Eryngium carlinae*, una vez obtenido el extracto,

este se disolvió en dimetilsulfoxido (DMSO) a una concentración de 50 mg de extracto por cada ml de DMSO, esto para usarse como un stock en donde posteriormente se le agregaría agua desionizada para llevar el solvente a un 2 % de concentración.

El extracto hexánico de *Eryngium carlinae* se administró a los grupos correspondientes a una dosis de 30 mg/kg de peso de cada rata durante 60 días continuos.

PROTOCOLO DE EJERCICIO DE MODERADA INTENSIDAD 8 SEMANAS

Semana 1: 10 m/min x 10 min
Semana 2: 10 m/min x 15 min
Semana 3: 10 m/min x 15 min
17 m/min x 5 min
Semana 4: 10 m/min x 15 min
17 m/min x 10 min
Semana 5: 10 m/min x 15 min
17 m/min x 10 min
22 m/min x 5 min
Semana 6: 10 m/min x 20 min
17 m/min x 10 min
22 m/min x 5 min
Semana 7: 10 m/min x 20 min
17 m/min x 15 min
22 m/min x 5 min
Semana 8: 10 m/min x 20 min
17 m/min x 15 min
22 m/min x 5 min

6.4 Protocolo de ejercicio

Las ratas se ejercitaron durante 8 semanas, 5 días a la semana en una cinta rodante sin fin, además de una semana de acondicionamiento físico, el protocolo consistió en un entrenamiento de moderada intensidad en donde cada semana había un aumento gradual del tiempo y la distancia recorrida. El protocolo se muestra en el cuadro 1.

6.5 Disección

Una vez terminaron los tratamientos las ratas se eutanasiaron mediante decapitación y se extrajeron los músculos sóleo y *extensor digitorio longus* (EDL) de ambas patas, el par de músculos de una de las patas se guardaron en tubos Eppendorf con solución Krebs-Ringer (118 mM NaCl, 4.75 mM KCl, 1.18 mM MgSO₄, 24.8 mM NaHCO₃, 1.18 mM KH₂PO₄) (Steward *et al.* 2011) y se almacenaron a -80 °C para su posterior uso, mientras que el otro par de músculos se colocó en una caja de Petri revestida con fondo de resina transparente y fijado con alfileres entomológicos al fondo de la caja para proseguir a retirar el exceso de tejido conectivo y graso bajo el microscopio estereoscópico. Los músculos constantemente se perfundieron con solución

Krebs-Ringer adicionada con glucosa y carbonato de potasio además de oxigenarse, todo esto con la finalidad de mantenerlos en condiciones lo más parecidas a su entorno normal y poder llevar a cabo las pruebas de tensión *in vitro*, al terminar se guardaron en tubos Eppendorf con solución Krebs-Ringer a temperatura de - 80 °C.

6.6 Registro mecánico

Los músculos sóleo y EDL previamente limpiados de tejido conectivo se montaron en una cámara para el registro de la tensión isométrica (fig. 2), mediante el tendón de uno de los lados se sujetó al fondo de la cámara mientras que el otro extremo se sujetó al gancho de un transductor óptico, el cual a través de un amplificador y de una interfase analógico-digital permitió adquirir la tensión que generó cada músculo en una computadora, mediante el software MDAC (World precision Instruments, USA). Posteriormente, se aplicó el protocolo para inducir la fatiga mediante estimulación eléctrica repetitiva. La tensión basal del músculo se ajustó a aproximadamente 1.3 veces su longitud de reposo. En todo momento el tejido estuvo inmerso en solución Krebs-Ringer adicionada con glucosa y carbonato, esta solución estuvo en constante movimiento ya que se suministró mediante un mecanismo de llaves de tres vías y se recogió por un mecanismo de succión, además la solución se suministró con una mezcla de gas carbógeno durante todo el tiempo que duró el experimento.

6.7 Protocolo de estimulación

La fatiga muscular se indujo mediante estimulación eléctrica repetitiva. El protocolo se aplicó mediante pulsos de 100 Volts, 300 ms de duración y una frecuencia de 45 Hz para el sóleo y 50 Hz de frecuencia para el EDL, se aplicaron mediante un estimulador (Grass, USA) y una unidad aisladora de estímulos, la cual llevaba electrodos de platino-iridio directamente dentro de la solución en donde estaba sumergido el músculo, pero sin tocarlo. El tejido se estimuló hasta que la tensión disminuyó un 60-70 % aproximadamente respecto a la tensión inicial. Terminada la

estimulación los músculos se guardaron en tubos Eppendorf con solución Krebs-Ringer a una temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

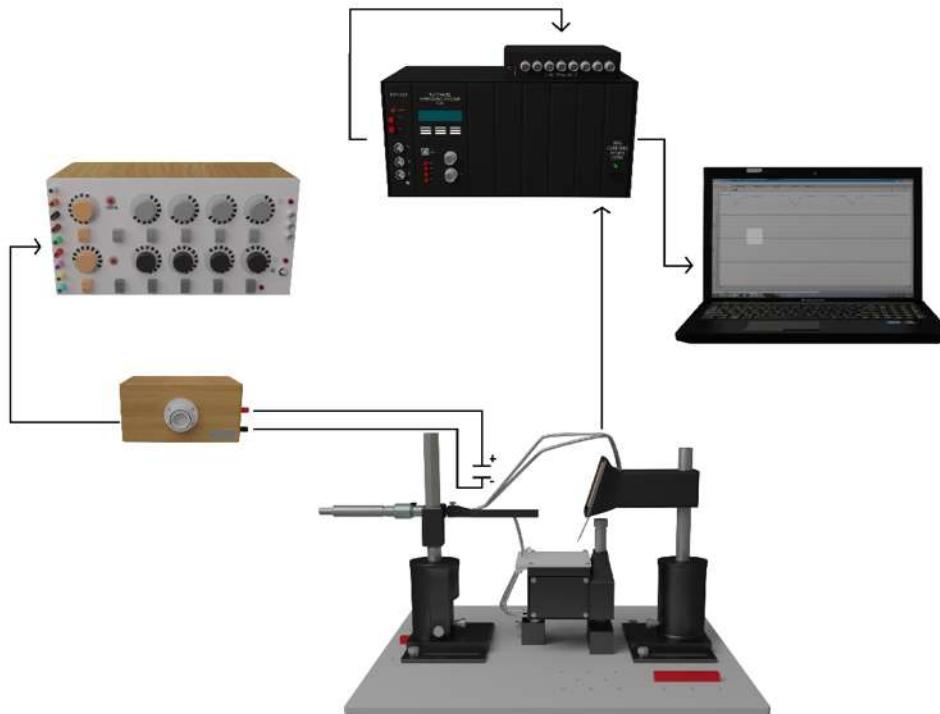


Figura 2. Dispositivo experimental. Muestra el montaje del músculo en la cámara de registro, así como el circuito utilizado para la realización del experimento en donde se estimularon los músculos sóleo y EDL (Martínez *et al.* 2020).

6.8 Determinación de lípidos en suero sanguíneo

Una vez decapitados los ejemplares, se recolectó la sangre en tubos de laboratorio estériles, las muestras se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 5 min para separar las células sanguíneas del suero, por último se tomaron 2 ml del suero y se colocaron en un tubo eppendorf debidamente rotulado para posteriormente llevarlos a un laboratorio para que se obtuviera el colesterol total, el colesterol HDL, LDL, VLDL y los triglicéridos de cada muestra.

6.9 Homogeneización de los tejidos

El músculo esquelético se descongeló para homogeneizar las muestras en un tubo Eppendorff que contenía solución Krebs-Ringer con un homogenizador marca Dragon

Lab D-500, para guardarse de nuevo a temperatura de - 80 C°, y posteriormente usarlo para realizar las pruebas bioquímicas.

6.10 Determinación del estrés oxidante

La producción de especies reactivas de oxígeno se determinó con la sonda de fluorescencia de diacetato 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (H₂DCFDA). Se resuspendieron 0.3 mg/ml de proteína de homogeneizados de tejido en tampón (HEPES 10 mM, KCl 100 mM, MgCl₂ 3 mM y KH₂PO₄ 3 mM, pH 7,4) y se incubó con 12,5 µM de H₂DCFDA durante 15 min en un baño de hielo con agitación (Ortíz-Avila *et al.* 2013). La fluorescencia basal se registró después de 1 min; posteriormente, se incubó durante 60 min en agitación. Los cambios en la fluorescencia se registraron a longitudes de onda de excitación/emisión de 491 nm/ 518 nm en un espectrofluorofotómetro Shimadzu RF-5301 PC (Shimadzu, Kyoto, Japón)

6.11 Determinación de defensa antioxidante

Este parámetro se obtuvo mediante un método enzimático en donde se estimó el contenido de glutatión total (GSht) (Rahman *et al.* 2006). En tubos eppendorf se agregó 1 ml de solución liberadora (ácido sulfosalícilico al 5 %, 0.1 % de Triton-X100 en 0.1 M de buffer de fosfato 5 mM EDTA), pH 7.5 (BFE), posteriormente se adicionaron 100 µl de la muestra de cada músculo para ser desproteinizado, se sonicó durante 10 s tres veces inmerso en hielo, posteriormente se congeló a - 80 °C y se descongeló repitiendo este paso dos veces. Se centrifugó a 8000 xg durante 10 min. Se descartó el precipitado y transfirieron 500 µl y 500 µl en dos tubos distintos para que de la misma muestra se pudiera obtener el glutatión total y el glutatión oxidado.

Para el glutatión total se agregaron a una celda 700 µl de buffer a temperatura ambiente se añadieron 100 µl de la mezcla (solución liberadora y muestra), también 120 µl de una mezcla que contenía 100 mM de 5,5'-ditiobis (ácido-2-nitrobenzoico) (DTNB) y 0.125 U/ml de glutatión reductasa (GR) a un volumen final de 1ml BFE. Esto se

incubó durante 1 min en la celda y pasado el minuto se agregaron 60 μ l de NADPH. La reducción de DTNB se siguió espectrofotométricamente a 512 nm durante 5 min en un espectrofotómetro.

Para el glutatión oxidado la mezcla de solución liberadora y la muestra se incubaron en oscuridad durante 1 h con 5 μ l de vinilpiridina, transcurrido el tiempo de incubación se prosiguió a seguir los mismos pasos que con el glutatión total.

6.12 Análisis de datos

Los resultados se expresaron como la media \pm el error estándar de los experimentos independientes usando muestras de diferentes animales, las diferencias estadísticas de los datos fueron determinadas por un ANOVA de una vía con una prueba post-hoc de Tukey tomando en cuenta como nuestra variable independiente los tratamientos con ejercicio, extracto y la combinación de ambos y pruebas T con análisis Holm-Sidak que permitió comparar solo entre los grupos más importantes. Las diferencias estadísticamente significativas se definieron como $P < 0.05$ mediante el programa GraphPAD 8.

VII. RESULTADOS

7.1 Efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio en el peso, glucosa y grasa visceral de ratas con obesidad.

Para determinar el efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio sobre el peso (g), los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) y en la grasa visceral (g), se evaluaron los tres parámetros biométricos al final de cada tratamiento.

Para el peso corporal (fig. 3) se observó que hubo un aumento significativo de peso en todos los grupos que se alimentaron con una dieta alta en grasa (grupos obesos), esto comparándolo con el control, se observa que ni el extracto, ni el ejercicio ni la combinación de ambos tratamientos tuvieron un efecto significativo para disminuir este parámetro durante la obesidad.

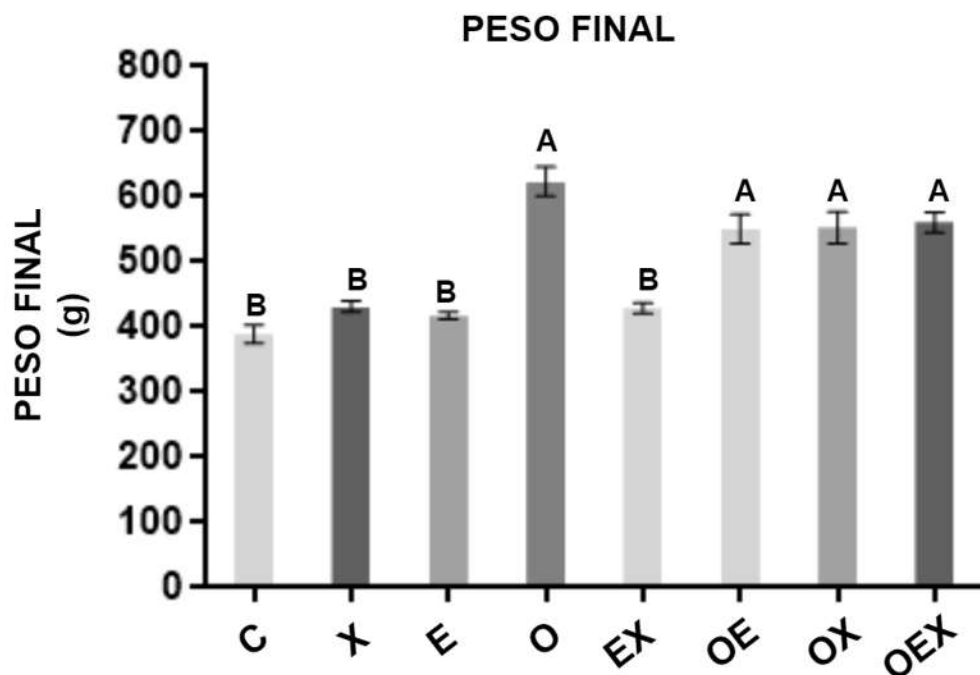


Figura. 3. Peso final de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. Se puede observar el peso final (g) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

En cuanto a la grasa visceral (g) (fig.4) el grupo obeso (11.26 ± 0.58 g) tuvo un aumento significativo de esta respecto al control, sin embargo, nuestros tratamientos con ejercicio (23.22 ± 2.34 g), extracto (25.85 ± 2.51 g) y ejercicio en combinación con el extracto (20.71 ± 0.68 g) fueron igualmente efectivos para disminuir la cantidad de grasa visceral presente durante la obesidad, así mismo el ejercicio ($6.28 \pm .09$ g) también disminuyó la grasa visceral en ratas sanas, esto respecto al control sano.

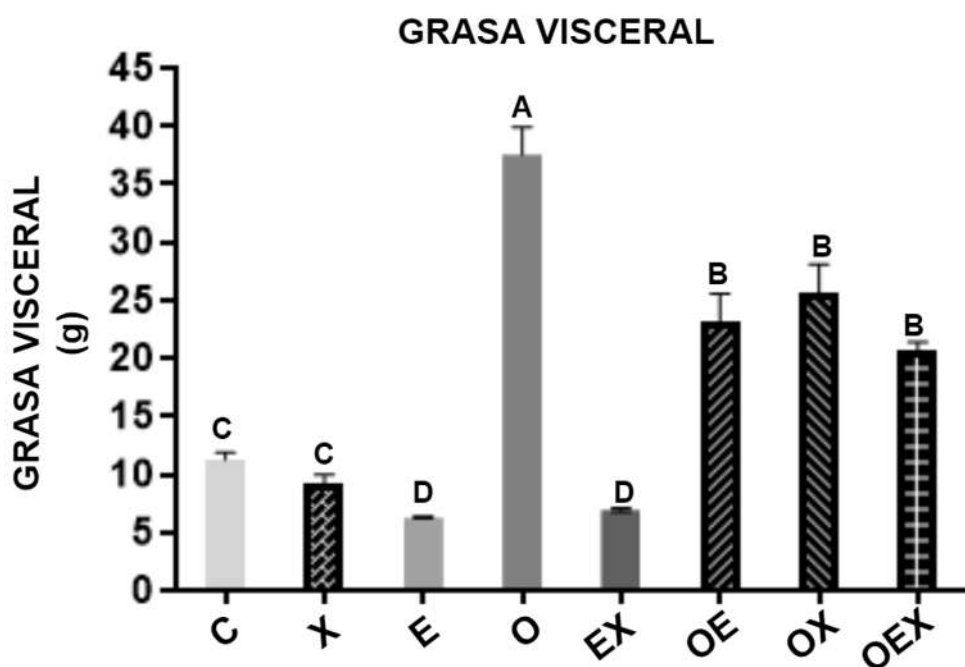


Figura 4. Grasa visceral de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. Se muestra la grasa visceral (g) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas ($n=6$; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

Respecto a la glucosa en sangre (mg/dL) (fig. 5), la obesidad (108 ± 3 mg/dL) mostró un aumento significativo en comparación con el control (83 ± 1.063) mientras que en el grupo obeso tratado con el extracto (89 ± 1.75 mg/dL) y el obeso que se sometió a ejercicio y al tratamiento con el extracto (78 ± 3 mg/dL) se observó una disminución importante de la glucosa, siendo mayor la diferencia respecto al grupo

obeso en la combinación de ambos tratamientos. El ejercicio (75 ± 1.27 mg/dL) fue efectivo para disminuir significativamente la glucosa en sangre de ratas sanas, pero no fue eficiente por sí solo para disminuirla en una condición obesa.

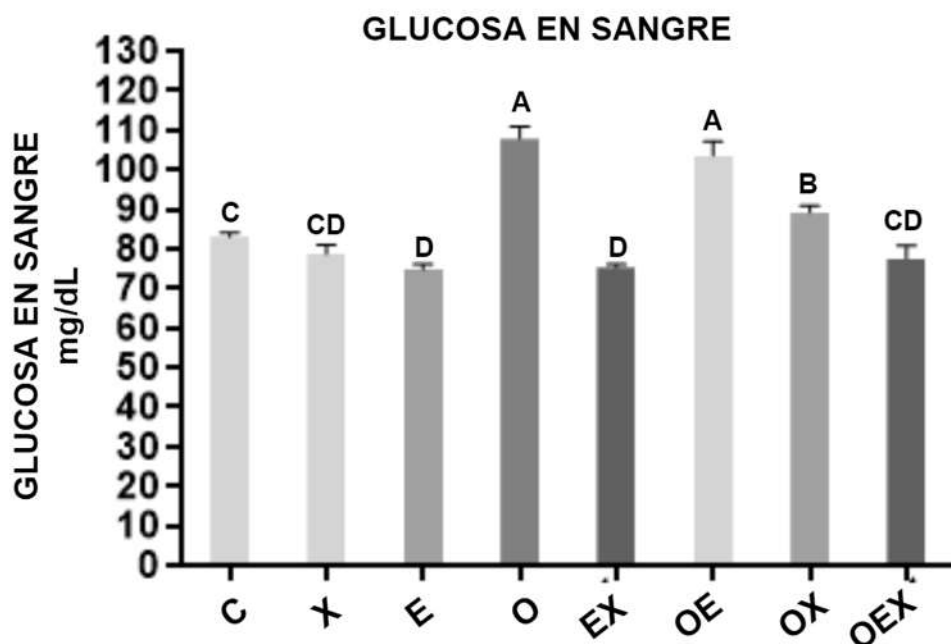


Figura. 5. Glucosa en sangre de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. Se observa la glucosa en sangre (mg/dL) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

7.2 Efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio en los triglicéridos y el colesterol del suero de ratas obesas.

Se determinó el perfil de lípidos en el suero de ratas obesas.

Los triglicéridos (fig.6A) mostraron un aumento significativo en el grupo obeso (159 ± 11 mg/dL) comparándolo con el control (85 ± 7.67 mg/dL), pero el ejercicio (106 ± 13 mg/dL) fue eficiente para bajar los triglicéridos durante la obesidad. Si bien los grupos obesos extracto (141 ± 13.75 mg/dL) y obesos ejercitados con extracto (140 ± 10.11 mg/dL) mostraron una ligera disminución respecto al grupo obeso. En el caso del colesterol total (fig. 6B) la obesidad (173 ± 19.37 mg/dL) lo aumentó significativamente

en comparación con el control (90 ± 3 mg/dL), pero el tratamiento con ejercicio (84 ± 8.22 mg/dL), el extracto (87 ± 10.30 mg/dL) y la combinación de ambos tratamientos (79 ± 2.67 mg/dL) lo disminuyeron significativamente durante la patología, siendo más efectivo la combinación de ambos. En el LDL-colesterol (fig.6C) nuevamente el grupo obeso (95 ± 10.78 mg/dL) mostró el mayor aumento siendo significativo en comparación con el control (53 ± 4.66 mg/dL). Los tratamientos durante la obesidad con ejercicio (26 ± 3.49 mg/dL) y extracto (18 ± 5.19 mg/dL) disminuyeron el LDL- colesterol en comparación con el grupo obeso, sin embargo, el tratamiento más efectivo para disminuir esta lipoproteína en la sangre durante la obesidad fue la combinación de ejercicio con extracto (16 ± 1.98 mg/dL) siendo incluso menor la cantidad de LDL en este grupo en comparación con el control sano (39 ± 6.66 mg/dL).

En la fig. 6D se muestra el VLDL-colesterol en donde se observó que la obesidad (31 ± 2.54 mg/dL) aumentó significativamente esta lipoproteína en comparación con el control (18 ± 1.9 mg/dL) y que el protocolo de ejercicio durante la obesidad (21 ± 2.31 mg/dL) fue efectivo para disminuirlo significativamente respecto al grupo obeso. Si bien en los demás grupos se observaron ligeros cambios en la cantidad de VLDL estos cambios no fueron significativos entre los grupos.

Por último en el HDL-colesterol se puede observar un aumento muy similar entre todos los grupos (42 ± 2.64 mg/dL grupo X; 40 ± 1.86 mg/dL en el grupo E; 37 ± 2.13 mg/dL grupo O; 40 ± 3.06 mg/dL grupo EX; 36 ± 2.85 mg/dL en el grupo OE; 41 ± 2.93 mg/dL en OX y 35 ± 1.23 mg/dL en OEX) respecto al control (24 ± 2.76 mg/dL).

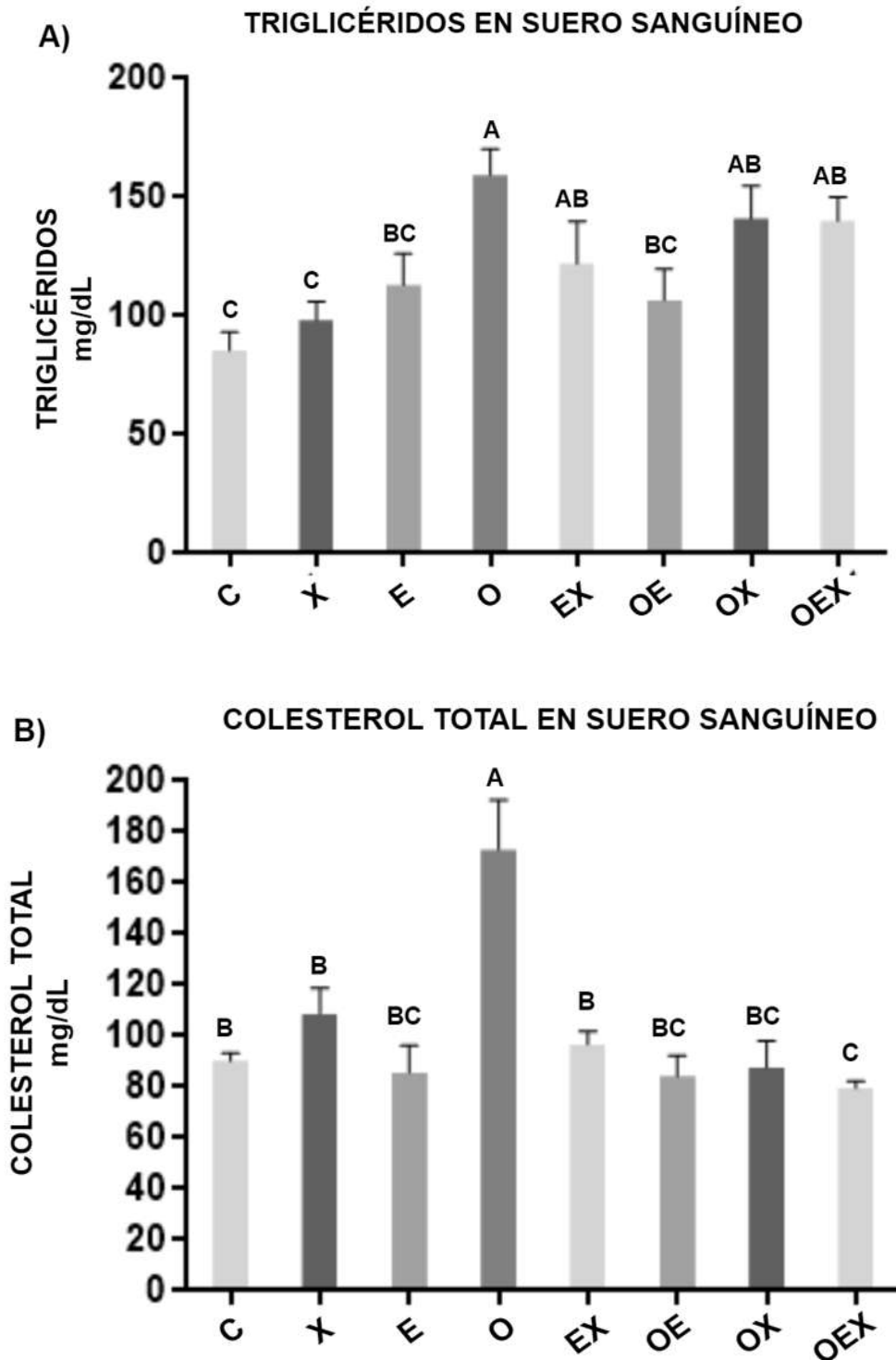


Figura 6. Triglicéridos y colesterol total de cada grupo al final de los tratamientos. Se observa en A los triglicéridos en suero sanguíneo y en B el colesterol total en sangre (mg/dL) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

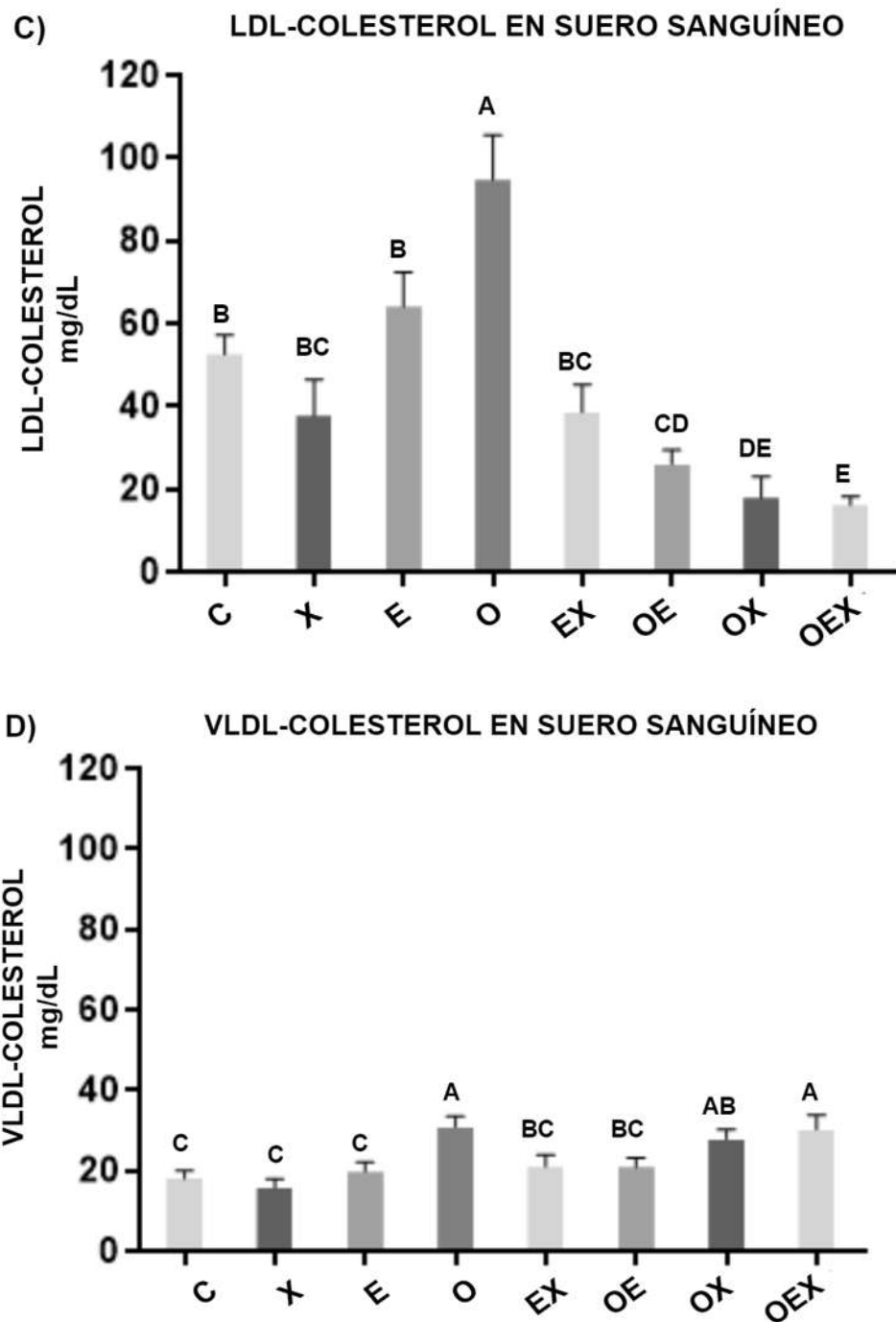


Figura. 6. LDL-colesterol y VLDL-colesterol de cada grupo al final de los tratamientos. Se observa en C el LDL-colesterol en suero sanguíneo y en D el VLDL-colesterol en sangre (mg/dL) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

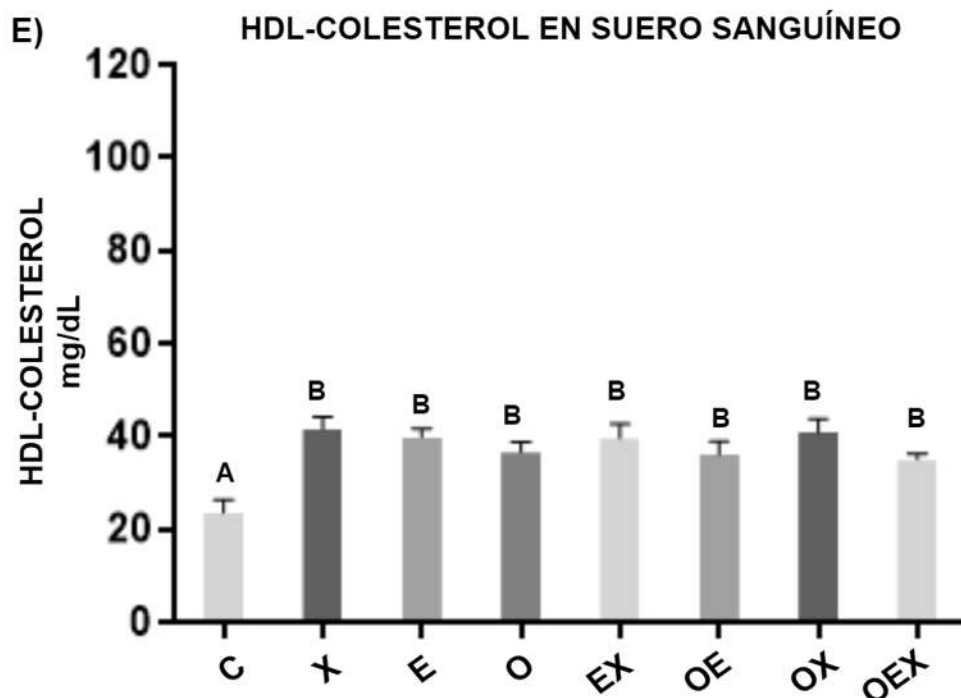


Figura 6. HDL-colesterol de cada grupo al final de los tratamientos. Se observa en E el HDL-colesterol en sangre (mg/dL) de las ratas para cada grupo C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

7.3 Efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio en la tensión máxima, la tensión total y el tiempo de fatiga de los músculos EDL y sóleo.

Se evaluó la tensión máxima, la tensión total y la resistencia a la fatiga mediante la estimulación de los músculos EDL y sóleo.

En la fig. 7A se puede apreciar la tensión máxima y total para el músculo EDL en donde el grupo obeso disminuyó significativamente tanto la tensión máxima (278 ± 9.63 g) como total (427 ± 21.22 g) en un 25 % en ambas, respecto al control (371 ± 23 g tensión máxima, 576 ± 28.28 g tensión total). El extracto (397 ± 19.40 g tensión máxima, 655 ± 25.41 g tensión total), el ejercicio (399 ± 18.19 g tensión máxima, 663 ± 29.12 g tensión total) y la combinación de ambos (395 ± 17.99 g tensión máxima, 655 ± 46.58 g tensión total) fueron igualmente efectivos para recuperar la fuerza de contracción durante la obesidad ya que aumentaron la tensión máxima en un 43 % y la tensión total en un 55 % en comparación con el grupo obeso. Por otro lado, el ejercicio

(521 ± 26.43 g tensión máxima, 1029 ± 49.38 g tensión total) también aumentó en un 40 % la tensión máxima y en un 78 % la fuerza de contracción de las ratas sanas.

Con respecto al músculo sóleo (fig. 7B) se puede ver que la obesidad disminuyó la tensión máxima (98.84 ± 1.9 g) en un 46 % y la tensión total (133 ± 1.4 g) en un 49 % respecto al control (183 ± 7.5 g tensión máxima y 270 ± 16 g tensión total) mientras que el tratamiento con extracto (273 ± 6.22 g tensión máxima y 401 ± 12.20 g tensión total), el ejercicio (231 ± 20.21 g tensión máxima y 366 ± 13.96 g tensión total) y la combinación de los dos tratamientos (286 ± 19.71 g tensión máxima y 347 ± 7.71 g tensión total) mejoraron significativamente la tensión máxima en un 176 %, 134 % y 189 % y la tensión total en un 202 %, 176 % y 162 % respectivamente.

Por otro lado, en las ratas sanas el ejercicio (242 ± 13.61 g tensión máxima y 415 ± 29.28 g tensión total) mejoró significativamente tanto la tensión máxima (32 %) y la tensión total (53 %).

En las gráficas 8A y 8B se muestra el tiempo de resistencia a la fatiga para los músculos EDL y sóleo respectivamente. Se puede observar que en ambos músculos la obesidad disminuyó significativamente la resistencia a la fatiga si se compara frente al control, disminuyó en un 30 % para el EDL (117 ± 4.68 s) y en un 44 % para el sóleo (142 ± 7.46 s), sin embargo, los tratamientos con extracto (256 ± 11.84 s en el EDL 275 ± 17.75 s en el sóleo), ejercicio (190 ± 10.48 s en el EDL y 256 ± 18 s en el sóleo) y la combinación de ambos (212 ± 5.68 s en el EDL y 295 ± 20.17 s en el sóleo) mejoraron significativamente el tiempo de fatiga durante la obesidad en un 118 %, 62 % y 82 % en el EDL y en 94 %, 80 % y 107 % en el sóleo.

En las ratas sanas el ejercicio mejoró en un 32 % el tiempo de fatiga del EDL (220 ± 6.97 s) y en un 52 % el tiempo de fatiga del sóleo (329 ± 4.52 s).

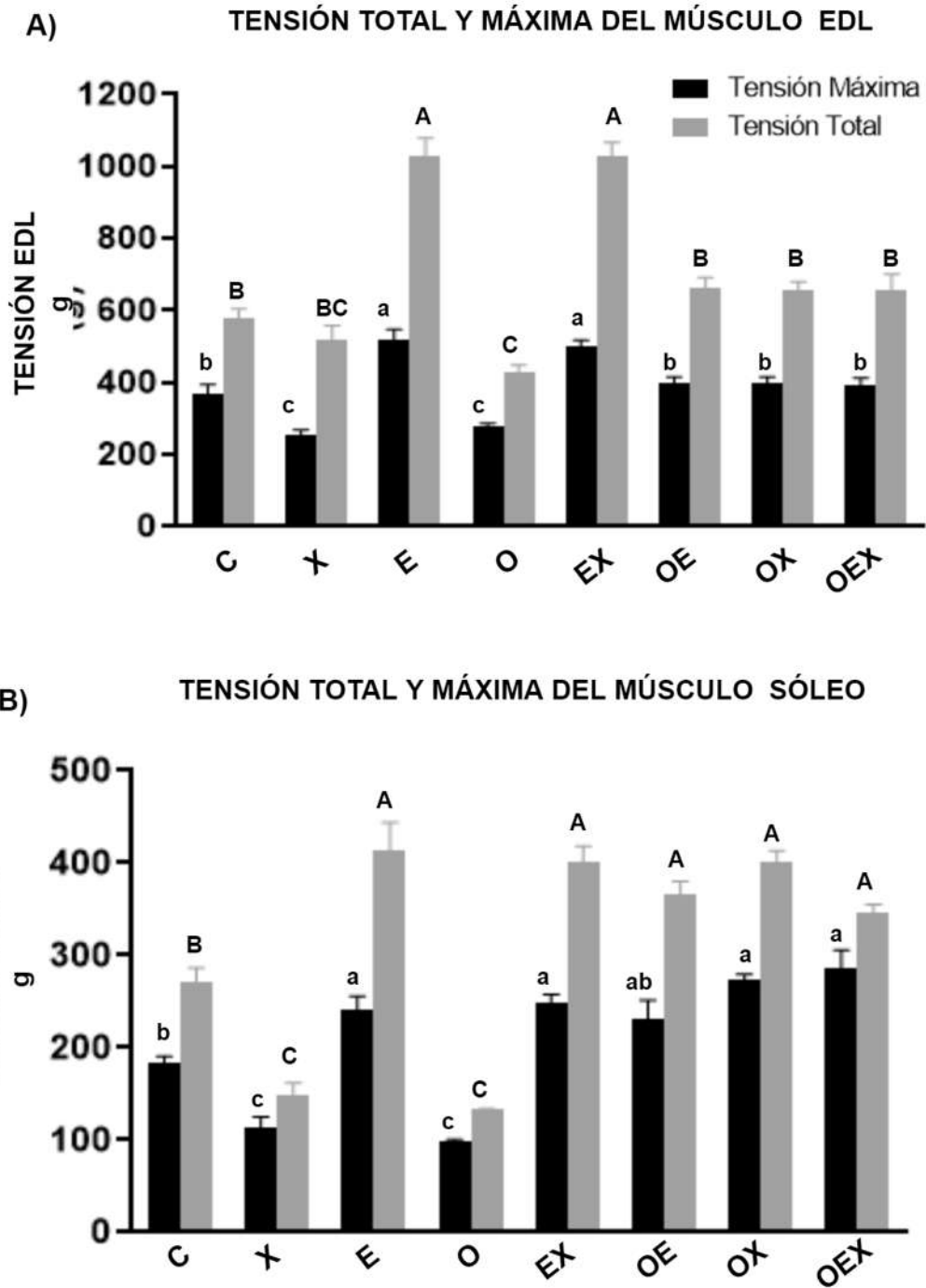


Figura. 7. Tensión máxima y total de los músculos EDL y el sóleo de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. En la gráfica A se observa la tensión máxima y total para el músculo EDL y en la gráfica B la tensión máxima y total para el sóleo. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). ANOVA de 1 vía, TUKEY prueba post-hoc.

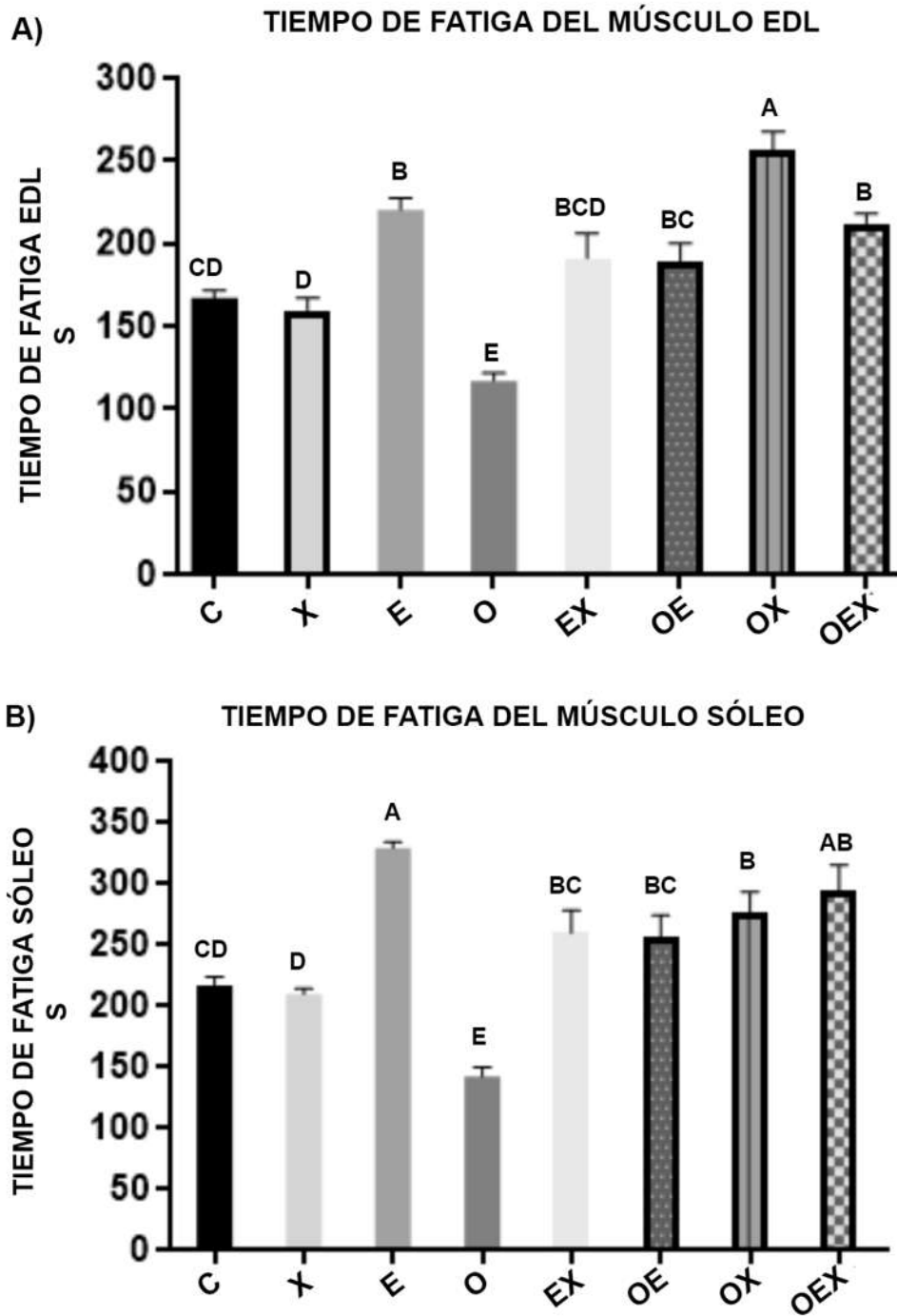


Figura 8. Tiempo de fatiga de los músculos EDL y sóleo de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. En la gráfica A se observa el tiempo de fatiga para el músculo EDL y en la gráfica B el tiempo de fatiga para el sóleo. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

7.4 Efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio en la defensa antioxidante del músculo EDL y el músculo sóleo.

Para la determinación de la defensa antioxidante se evaluó el estado rédox del glutatión para los músculos EDL y sóleo.

En la gráfica 9A se muestra el estado rédox del glutatión para el músculo EDL en donde se observa que el ejercicio (6.38 ± 0.43 nm/mg de proteína) mejoró significativamente el estado rédox del glutatión respecto al control (3.75 ± 0.68 nm/mg de proteína), el tratamiento del ejercicio en combinación con el extracto (21 ± 2.93 nm/mg de proteína) fue el único tratamiento que mejoró la defensa antioxidante de este músculo durante la obesidad.

En la gráfica 9B se observa el glutatión total del músculo EDL en donde solamente el grupo obeso ejercitado (2.63 ± 0.15 nm/mg de proteína) mostró una disminución significativa en comparación con todos los demás grupos.

Los grupos extracto (0.81 ± 0.16 nm/mg de proteína), ejercicio (0.71 ± 0.16 nm/mg de proteína) y obesidad (1.5 ± 0.18 nm/mg de proteína) mostraron una mayor cantidad de glutatión oxidado (fig. 9C) que el grupo control (3 ± 0.81 nm/mg de proteína), siendo la obesidad la que tuvo un mayor aumento de este parámetro. El tratamiento con ejercicio en combinación con el extracto (0.21 ± 0.07 nm/mg de proteína) mostró una mejora significativa durante la obesidad, sin embargo, cada uno de los tratamientos por separado no pudieron disminuir el estado oxidado del glutatión.

Por último, el ejercicio disminuyó el glutatión reducido (fig. 9D) en los grupos de ratas sanas (ejercitadas 2 ± 0.30 nm/mg de proteína y ejercitadas con extracto 3 ± 0.30 nm/mg de proteína), esto respecto al control, mientras que no se observaron diferencias significativas entre los demás grupos.

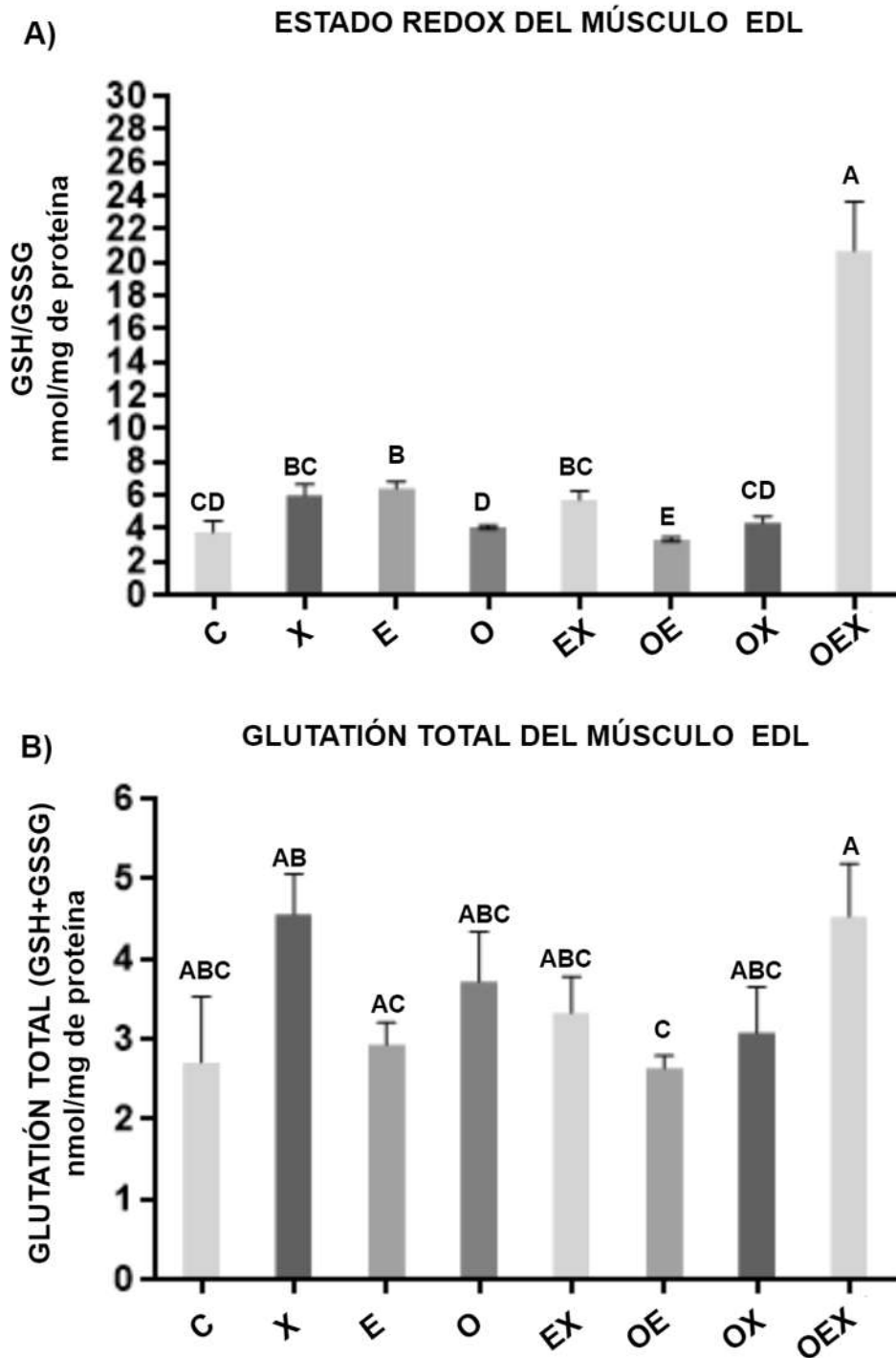


Figura. 9. Estado rédox del glutatión y glutatión total del músculo EDL de las ratas de cada grupo al final de los tratamienos. En la gráfica A se observa el estado rédox del glutatión y en la gráfica B el glutatión total para el músculo EDL. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

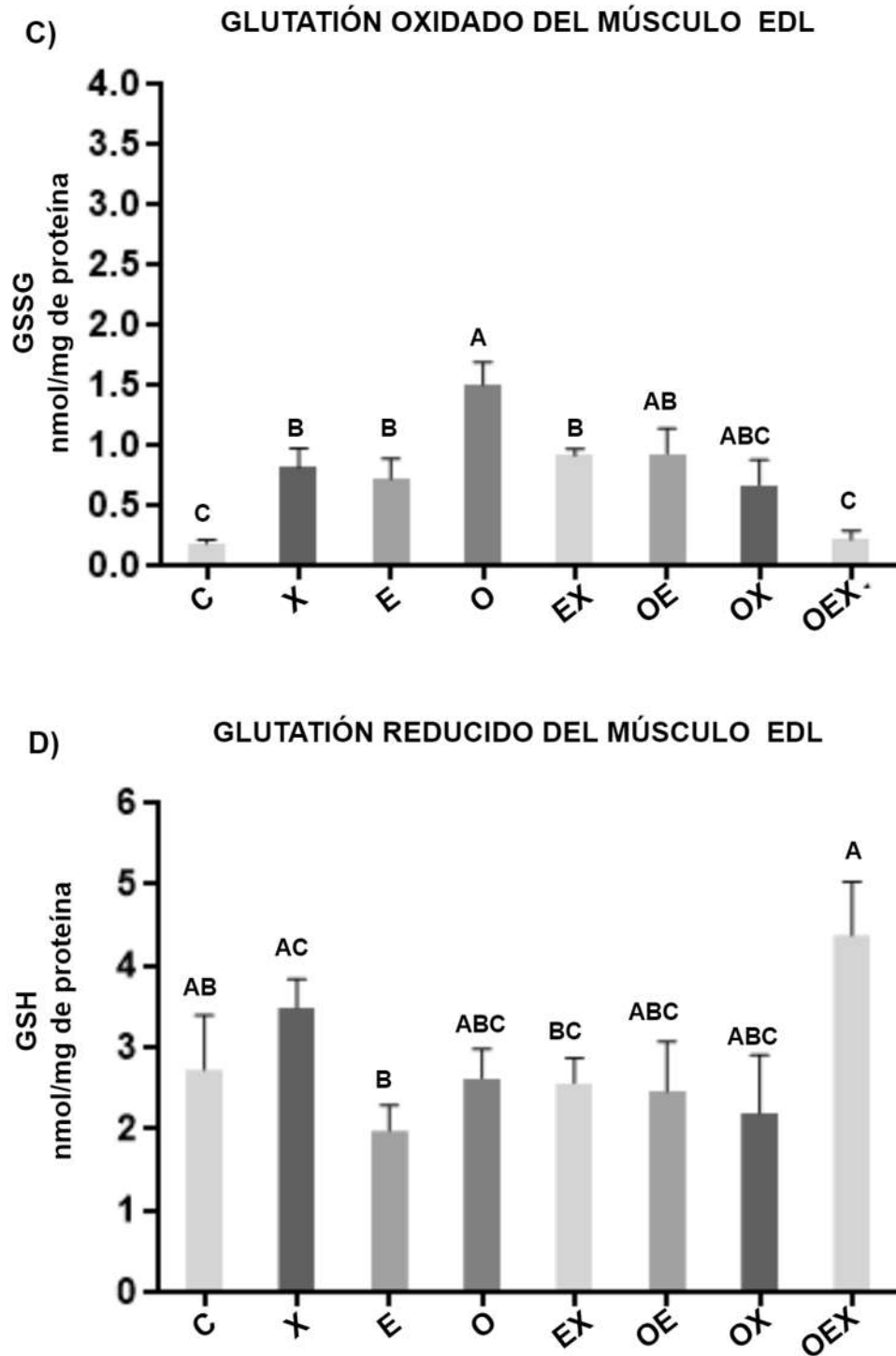


Figura. 9. Glutación oxidado y glutación reducido del músculo EDL de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. En la gráfica C se observa el glutación oxidado y en la gráfica D el glutación reducido para el músculo EDL. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak

En el sóleo el estado redox del glutatión (fig.10A) mostró una disminución significativa en el grupo extracto (1.63 ± 0.35 nm/mg de proteína) y el grupo ejercitado (2.71 ± 0.35 nm/mg de proteína) de las ratas sanas respecto al control (6 ± 0.75 nm/mg de proteína), en los grupos obesos el grupo que tenía la combinación de ambos tratamientos (3.57 ± 0.59 nm/mg de proteína) fue el menos afectado en su defensa antioxidante a pesar de ser menor que en el grupo obeso sin tratamiento.

En el glutatión total del sóleo (fig. 10B) solamente el grupo obeso (1.5 ± 0.21 nm/mg de proteína) mostró una disminución significativa respecto al control (3.55 ± 0.57 nm/mg de proteína), mientras que los demás grupos no tuvieron diferencias significativas entre ellos.

El glutatión oxidado (fig. 10C) aumentó considerablemente tanto en los grupos sanos tratados con extracto (4 ± 0.57 nm/mg de proteína) y con ejercicio (3 ± 0.27 nm/mg de proteína) respecto al control (3.55 ± 0.57 nm/mg de proteína) como en los grupos obesos tratados con ejercicio (3.63 ± 0.51 nm/mg de proteína) y obeso tratado con extracto (3.45 ± 0.36 nm/mg de proteína) siendo este el que mostró más diferencia respecto al grupo obeso.

Por último, en el glutatión reducido (fig. 10D) solamente el grupo obeso (2.62 ± 0.35 nm/mg de proteína) y el grupo obeso con extracto (2 ± 0.70 nm/mg de proteína) mostraron una disminución significativa respecto al control (3 ± 0.66 nm/mg de proteína), mientras que los demás grupos no mostraron algún cambio.

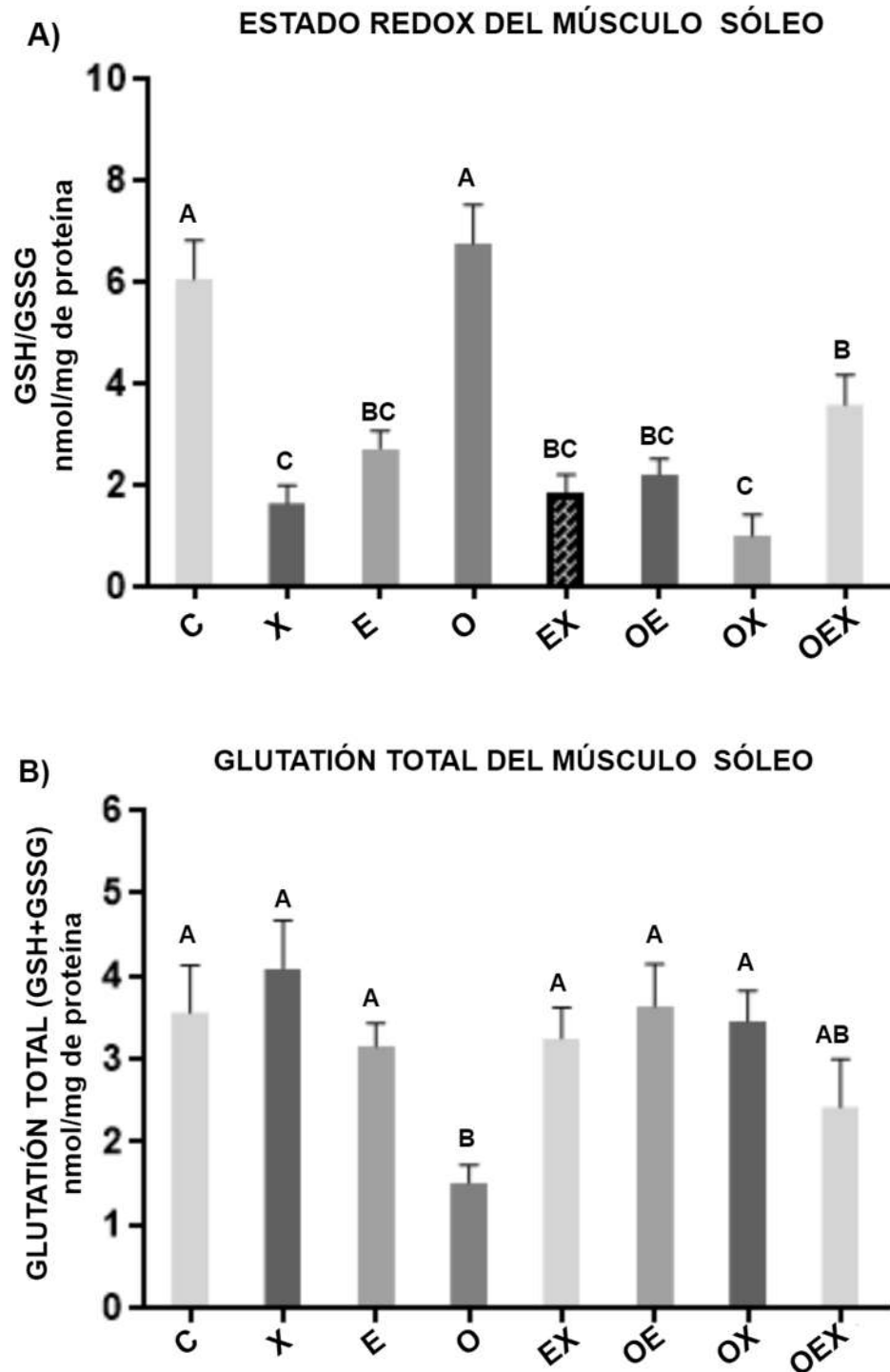


Figura 10. Estado redox del glutatión y glutatión total del músculo sóleo de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. En la gráfica A se observa el estado redox del glutatión y en la gráfica B el glutatión total para el músculo sóleo. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

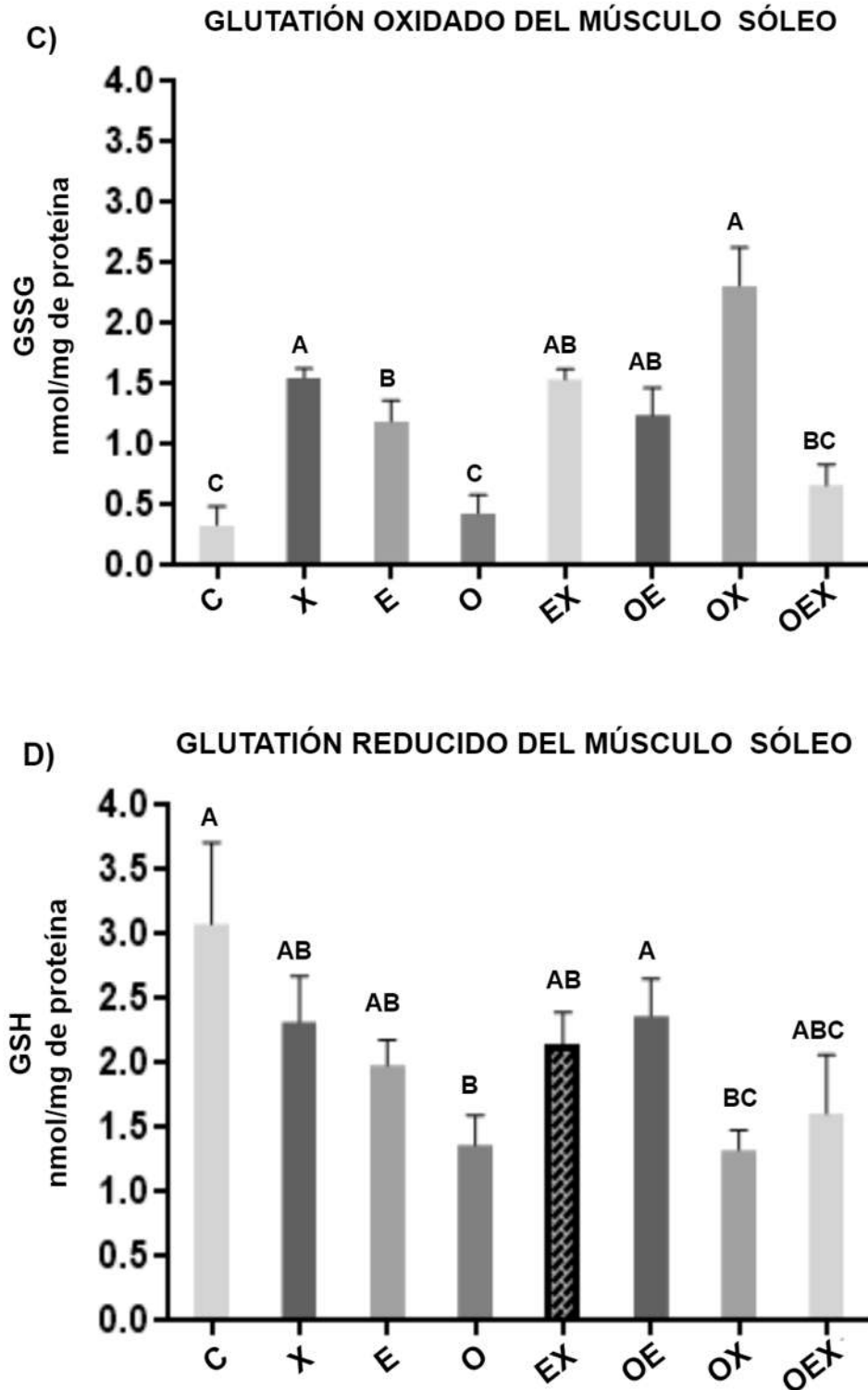


Figura. 10. Glutación oxidado y glutación reducido del músculo sóleo de las ratas de cada grupo al final de los tratamientos. En la gráfica C se observa el glutación oxidado y en la gráfica D, el glutación reducido para el músculo Sóleo. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak

7.5 Efecto del extracto de *E. carlinae* y el ejercicio en la generación de especies reactivas de oxígeno del músculo EDL y el músculo sóleo.

Se midió la generación de especies reactivas de oxígeno mediante la sonda de fluorescencia diacetato 2'7'diclodihidrofluorosceína.

En el músculo EDL la generación de especies reactivas de oxígeno (fig. 11A) se vio disminuida en el grupo ejercitado (8 ± 0.43 unidades arbitrarias* mg de proteína), ejercitado con extracto (12 ± 2.86 unidades arbitrarias* mg de proteína) y en el grupo obeso (8 ± 2.13 unidades arbitrarias* mg de proteína) en comparación con el control (38 ± 5.92 unidades arbitrarias* mg de proteína). Esta disminución de las especies reactivas de oxígeno también se observó en los grupos obeso ejercitado (11 ± 2.47 unidades arbitrarias* mg de proteína) y obeso extracto (14 ± 2.88 unidades arbitrarias* mg de proteína), la cual no fue significativa respecto al grupo obeso, pero si respecto al grupo control. Si bien el grupo obeso ejercitado (22 ± 3.63 unidades arbitrarias* mg de proteína) con extracto mostró una disminución respecto al control, esta no fue significativa.

En cuanto al sóleo (fig. 11B) los grupos extracto (42 ± 6.88 unidades arbitrarias* mg de proteína), ejercicio (51 ± 10.44 unidades arbitrarias* mg de proteína) y ejercicio con extracto (53 ± 8.82 unidades arbitrarias* mg de proteína) tuvieron un aumento significativo de las especies reactivas de oxígeno respecto al control (17 ± 3.50 unidades arbitrarias* mg de proteína), por otro lado, el grupo obeso (6 ± 2.31 unidades arbitrarias* mg de proteína) y el grupo obeso ejercitado (4 ± 0.95 unidades arbitrarias* mg de proteína) mostraron una disminución en comparación con el control.

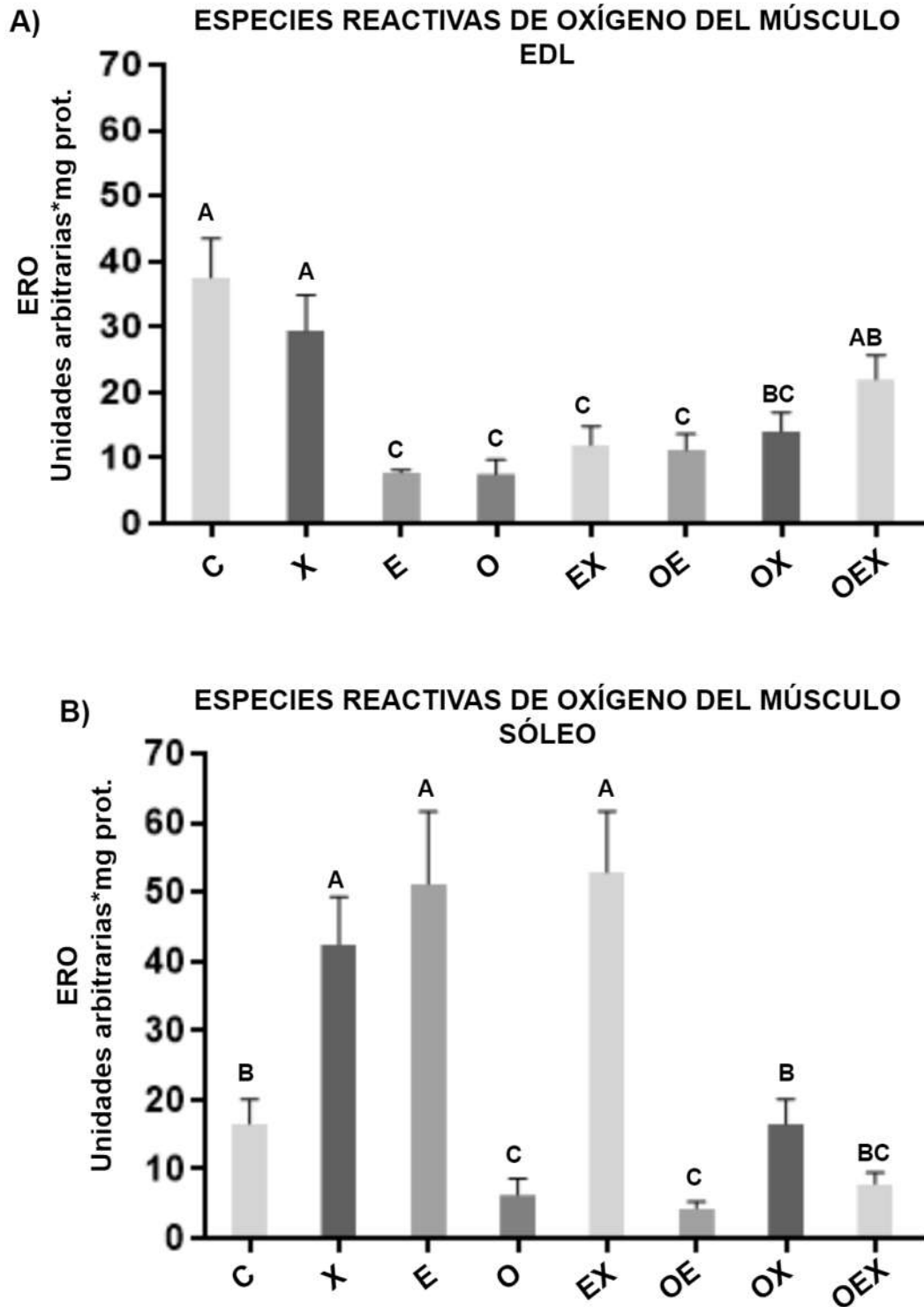


Figura. 11. Especies reactivas de oxígeno presentes en el músculo EDL y sóleo. En la gráfica A se observa las especies reactivas de oxígeno en el músculo EDL y en la gráfica B las especies reactivas de oxígeno para el músculo sóleo. C=Control, X=Extracto, E=Ejercitadas, O=Obesas, EX=Ejercitadas con extracto, OE=Obesas (n=6; los datos se presentan con la media \pm error estándar). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p \leq 0.05$). Prueba T análisis Holm-Sidak.

VIII. DISCUSIÓN

La obesidad es una enfermedad que se ha convertido en una epidemia a nivel mundial que cobra miles de muertes al año, las complicaciones que se pueden presentar durante esta patología incluyen enfermedades cardiovasculares, resistencia a la insulina que puede derivar en diabetes tipo 2 y algunos tipos de cáncer (Wu y Ballantyne, 2017; Vecchié *et al.* 2018).

El músculo esquelético es uno de los tejidos más afectados por la obesidad, su abundancia en el cuerpo, la cual representa hasta un 40 % del peso corporal en adultos sanos, lo vuelven el tejido responsable de aproximadamente el 80 % de la captación y eliminación de glucosa estimulada por insulina, por lo cual es considerado el órgano más importante para la homeostasis de la glucosa (Vecchié *et al.* 2018). Se ha descrito que durante la obesidad existe una desregulación del tejido adiposo generando movilización” de grasa desde el tejido adiposo hacia el músculo esquelético lo que desencadena en una acumulación desmedida de lípidos intramiocelulares que puede llevar a una inflamación crónica y a presentar resistencia a la insulina (Wu y Ballantyne, 2017).

Se ha demostrado que el ejercicio es un componente esencial para la prevención y el tratamiento de la obesidad, ya que puede generar adaptaciones en el músculo esquelético que mejoran las complicaciones que se dan en la obesidad, entre ellas se encuentran la disminución de la grasa visceral la cual se asocia con un mayor riesgo de complicaciones metabólicas, la disminución del peso corporal, aumento de la captación de glucosa y mayor sensibilidad a la insulina, disminución de la inflamación tanto muscular como sistémica y una aumento en la generación de masa y fuerza muscular (Dimassi *et al.* 2018; Kleinert *et al.* 2018).

Por otro lado, existe evidencia de que el extracto de *E. carlinae* tiene efectos positivos para bajar la concentración de colesterol y triglicéridos en sangre y es efectivo aumentando la defensa antioxidante, dos características que pueden mejorar la funcionalidad del músculo esquelético y se encuentran alteradas en la obesidad (Castro-Torres *et al.* 2017; Peña-Montes *et al.* 2019).

El tratamiento con ejercicio y extracto hexánico de *E. carlinae* repercuten en el peso corporal, la grasa visceral y la glucosa sérica de ratas con obesidad.

Según la organización mundial de la salud el peso es un factor importante para diagnosticar la obesidad, ya que es un componente de la ecuación para determinar el índice de masa corporal, en donde un IMC mayor o igual 30 m/kg se considera obesidad (OMS- 2016, 2021). Este dato es consistente con nuestros resultados (fig. 3) en donde se observa que una dieta alta en grasa genera un aumento significativo en el peso corporal de las ratas. Si bien no se observa una disminución en el peso en los grupos obesos tratados con ejercicio, con extracto y con la combinación de ambos es importante resaltar que en esta medida no se toma en cuenta el porcentaje de músculo y de grasa correspondiente al total del peso corporal. Estos porcentajes resultan de mayor utilidad en el momento de verificar si un tratamiento es efectivo para disminuir la obesidad o las complicaciones que se le atribuyen. Además, el peso tampoco discrimina la localización de la grasa en el cuerpo, lo cual resulta importante ya que el aumento de la grasa abdominal o visceral se asocia con un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares ya que existe una irrigación sanguínea hasta tres veces mayor en el tejido adiposo visceral que en el ectópico. Esto sugiere que los adipocitos abdominales están exportando constantemente ácidos grasos a la circulación (Chia-Hua y Harris, 2016; Vecchié *et al.* 2017), en el presente proyecto se observó que durante la obesidad existe un aumento significativo de la grasa visceral (fig. 4), sin embargo, el tratamiento con ejercicio de moderada intensidad disminuyó la cantidad de grasa localizada en esta zona. Esto es consistente con Zhang *et al.* que en el 2017 observaron un mayor porcentaje de grasa visceral en mujeres obesas y un entrenamiento de moderada intensidad y larga duración (40 min) logró bajar significativamente este porcentaje, sin embargo, nuestro protocolo de entrenamiento demostró que esta pérdida de grasa visceral puede darse, aunque el entrenamiento de moderada intensidad se lleve a cabo en un menor tiempo (20 min).

Por otro lado, el extracto hexánico de *E. carlinae* también disminuyó significativamente la grasa visceral durante la obesidad (fig. 4), esto puede deberse a que se le atribuyen efectos hipolipemiantes a esta planta, así lo demostraron

Noriega-Cisneros *et al* en el 2012 con un extracto etanólico de *E. carlinae* al disminuir la lipidemia en ratas con diabetes experimental, si bien el extracto que se utilizó en este proyecto es hexánico, más adelante se hablará más a fondo de su efecto positivo en la hiperlipidemia presente en la obesidad. Una disminución de los lípidos circulantes disminuye la cantidad de ácidos grasos disponibles para su almacenamiento y su utilización como fuente de energía en los adipocitos viscerales.

El tejido adiposo se considera un órgano endócrino ya que secreta diversas hormonas que se denominan adipocinas, entre ellas se encuentran diversas citocinas proinflamatorias como la IL-6, el TNF- α y la IL-1 β , los lípidos almacenados intramuscularmente también liberan estas citocinas que provocan la inflamación del músculo esquelético, así mismo estas moléculas proinflamatorias contribuyen a la resistencia a la insulina en el músculo esquelético ya que intervienen en vías de señalización que provocan la fosforilación del receptor de insulina 1 (IRS-1) en residuos de serina en lugar de residuos de tirosina inducida por la insulina, esto provoca la inhibición de la translocación del receptor de glucosa en el músculo GLUT4 (Wu y Ballantyne, 2017), por lo que en la obesidad se pueden presentar niveles altos de glucosa como se observó en la fig. 5, donde el grupo de ratas obesas mostró niveles significativamente altos de glucosa en ayuno con respecto al control, pero el tratamiento con extracto hexánico *E. carlinae* fue eficaz al disminuirlos también durante la patología, estos resultados concuerdan con lo reportado por Peña-Montes *et al.* que en 2019 observaron que una dosis de 30 mg/kg de extracto hexánico de *E. carlinae* disminuyó significativamente los niveles de glucosa en sangre de ratas con diabetes experimental.

El extracto de *E. carlinae* y el ejercicio de moderada intensidad mejoran el perfil lipídico durante la obesidad.

Una de las complicaciones más comunes en la obesidad es la hiperlipidemia ya que cuando las necesidades de almacenar grasa corporal superan la capacidad del adipocito para funcionar normalmente se presenta una capacidad de almacenamiento de energía reducida en combinación con un exceso de liberación de ácidos grasos

libres (Ebbert y Jensen, 2013). En el presente proyecto, el grupo obeso presentó un perfil lipídico alterado, en comparación con el grupo control, en donde se registró un aumento significativo de los triglicéridos (fig. 6A), el colesterol (fig. 6B), el LDL-colesterol (fig.6C) y el VLDL-colesterol (fig. 6D), esta dislipidemia se asocia con un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, por el contrario, un aumento en la relación de LDL-HDL se asocia con una mayor protección cardiovascular. Así mismo la dislipidemia presente en la obesidad se relaciona con un aumento en la grasa visceral y resistencia a la insulina la cual se caracteriza por hiperglucemia e hiperinsulinemia (Ebbert y Jensen, 2013).

El ejercicio resultó ser eficaz para disminuir la lipidemia durante la obesidad mostrando niveles significativamente bajos en comparación con el grupo obeso sin tratamiento de triglicéridos, colesterol, LDL-colesterol y VLDL-colesterol, esto concuerda con D'Amuri *et al* (2021) que observaron que sujetos obesos sometidos tanto a un entrenamiento de moderada intensidad como uno de intervalos de alta intensidad tuvieron una mejora en el perfil de lípidos al disminuir el LDL y el VLDL, sin embargo, ellos no encontraron mejoras en el HDL ni en los triglicéridos como se encontraron en el presente estudio. Se sabe que el entrenamiento de resistencia puede activar a la lipoproteinlipasa (LPL), lo que promueve la descomposición de triglicéridos (TG) y de lipoproteínas rica en TG como las VLDL, esto proporciona sustratos adicionales para la síntesis de HDL, esto a su vez desencadena la disminución de la concentración plasmática de LDL, aunado a esto el ejercicio también puede disminuir el catabolismo de HDL aumentando aún más la concentración de esta lipoproteína (He y Ye, 2020). Por otro lado, el ejercicio puede incrementar la expresión de proteínas mitocondriales, así como de enzimas que participan en la β -oxidación, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones, esto puede aumentar la capacidad respiratoria de las células hasta en un 40 % mejorando sustancialmente la capacidad de oxidar ácidos grasos, cetonas y piruvato. Además, estas mismas adaptaciones del músculo esquelético al ejercicio permiten que exista una menor dependencia de la oxidación de los carbohidratos para la obtención de energía y una mejor utilización de los ácidos grasos (Hawley *et al.* 2018), estas adaptaciones podrían estar contribuyendo a la disminución

del colesterol total, VLDL, LDL y triglicéridos que se observó en el grupo obeso que se estrenó durante 8 semanas.

Por otro lado, el extracto hexánico de *Eryngium carlinae* fue eficaz para disminuir el colesterol total y el LDL, pero no para disminuir los triglicéridos y el VLDL durante la obesidad, se piensa que el mecanismo de acción de esta planta para disminuir la lipidemia es mediante los receptores ABCG5 y ABCG8 presentes en el intestino y en el hígado. Castro-Torres y su equipo de trabajo en el 2017 reportaron que el extracto de *E. carlinae* disminuyó el colesterol no HDL sin alterar la concentración del colesterol HDL en ratas con hipercolesterolemia inducida por la dieta, esto por la mayor expresión de las proteínas ABCG5 y ABCG8. Estas proteínas forman un heterodímero que funciona como transportador inverso del colesterol, en el intestino se opone a la absorción de colesterol y fitoesteroles provenientes de la dieta llevándolos de nuevo a la luz intestinal para su eliminación mediante las heces fecales, mientras que en el hígado contribuyen a la eliminación del colesterol mediante la secreción biliar, esto representa del 70 % al 90 % de la secreción de colesterol biliar (Su *et al.* 2014). Sin embargo, estos transportadores no se encargan de los triglicéridos por lo que el VLDL que se sintetiza en el hígado y transporta triglicéridos hacia los órganos no presentó ninguna alteración durante la obesidad con el tratamiento del extracto, así mismo un aumento de esta lipoproteína aumenta también los niveles sanguíneos de los triglicéridos.

Por último, parece ser que el extracto de *E. carlinae* inhibe los efectos que pudiera estar teniendo el ejercicio en los triglicéridos y la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) ya que los resultados mostraron que la combinación de ambos tratamientos durante la obesidad tuvieron efecto mejorando la concentración del colesterol total y el LDL pero no los niveles de triglicéridos y VLDL, contrario a lo que se observó en el tratamiento con solo ejercicio y muy similar a lo que se observó al tratamiento en donde se administró únicamente el extracto a las ratas obesas.

El ejercicio y el extracto de *E. carlinae* mejoran el tiempo de fatiga y la fuerza de contracción de los músculos sóleo y EDL durante la obesidad.

Diversos estudios demuestran que la obesidad puede disminuir la fuerza de contracción del músculo esquelético y una mayor fatigabilidad, también se ha observado que una dieta alta en grasa promueve la atrofia muscular y la proteólisis muscular debido a un alza en la tasa de factores atrofícos como atrogin-1/ MAFbx y MURF1, además la infiltración de lípidos en las fibras musculares que se puede dar durante la obesidad no permite una correcta contracción del músculo y provoca lipotoxicidad, por otro lado, existe una inflamación del músculo esquelético debido a la alta concentración de lípidos almacenados intramuscularmente que liberan constantemente adipocinas proinflamatorias en el músculo y llevando a la infiltración de células del sistema inmune, estrés oxidante y oxidación de los lípidos, viéndose reflejado en la pérdida de fuerza y fatigabilidad de los músculos esqueléticos (Lipina y Hundal, 2017; Wu y Ballantyne, 2017; Martínez-Huenchullan *et al.* 2018), tal como se observó en el presente proyecto en donde tanto el músculo EDL como el sóleo sufrieron una pérdida en su capacidad para generar fuerza durante la obesidad (fig. 7A y 7B) y se fatigaron en un menor tiempo (fig. 8A y 8B), mientras que el tratamiento con ejercicio de moderada intensidad mejoró considerablemente estos parámetros en ambos músculos tanto en el grupo sano como en el grupo obeso, esto concuerda con Martínez-Huenchullan y su grupo de trabajo que en el 2018 observaron que ratones a los cuales se alimentó con una dieta alta en grasa mostraron una menor fuerza de agarre en un cable colgante y un aumento significativo de los lípidos almacenados intramuscularmente en el cuádriceps en comparación con los ratones sanos, sin embargo, un entrenamiento de moderada intensidad tres veces por semana durante 10 semanas mejoró significativamente la fuerza de agarre y disminuyó los lípidos intramusculares del cuádriceps. En la actualidad se han descrito las adaptaciones que se logran con el ejercicio tanto a nivel sistémico como a nivel muscular y que resultan en un mejor rendimiento del músculo esquelético incluso durante patologías como la obesidad.

Estas adaptaciones pueden traducirse en la hipertrofia del músculo esquelético por activación del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IFG-1), el ejercicio también puede activar a AMPK que es un sensor metabólico que se encarga de activar o desactivar procesos anabólicos y catabólicos en el cuerpo, otra función importante del músculo esquelético que se ve mejorada por el ejercicio es la secreción de citocinas antiinflamatorias como la IL-10, la IL-6 y la adiponectina que se contraponen a la inflamación causada por el tejido adiposo, además el ejercicio activa factores de transcripción que promueven la expresión de proteínas mitocondriales y de enzimas que participan en la β -oxidación, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones mejorando la oxidación de los ácidos que se encuentran almacenados tanto en el músculo como los que se encuentran en el suero sanguíneo, esto mejora la sensibilidad a la insulina ya que disminuye la lipotoxicidad por exceso de ceramidas y diacilglicerol (DAG), además de que el ejercicio promueve la absorción de glucosa independiente de la insulina en el músculo esquelético (Lipina y Hundal, 2017; Goodpaster y Sparks, 2018; Thomson, 2018; Kleinert *et al.* 2018).

El tratamiento con el extracto de *E. carlinae* también resultó eficiente para mejorar la fuerza de contracción del EDL y el sóleo y mejorar el tiempo de fatiga de ambos músculos en ratas obesas, si bien hasta el momento no se habían descrito los efectos de los extractos de esta planta sobre el músculo esquelético sí se han obtenido efectos benéficos sobre otros órganos, como Peña-Montes *et al*, quienes demostraron que el extracto hexánico de *E. carlinae* disminuyó la peroxidación de lípidos y la carbonilación de proteínas en el hígado, riñones y cerebro de ratas diabéticas, mientras que Arana-Argaéz *et al* (2021) observaron que esta planta tiene efectos antiinflamatorios gracias a que aumenta la producción de IL-10, una citocina antiinflamatoria que activa el factor de transcripción ERK y que regula negativamente la producción de TNF- α y de IL-1 β adipocinas inflamatorias muy abundantes en la obesidad, esta capacidad antiinflamatoria del extracto es muy parecida a la que tiene el ejercicio en el músculo esquelético mediante la producción de miocinas como la misma IL-10, es por eso que podemos ver resultados similares en ambos tratamientos en los dos tipos de músculos. Además, el extracto de *E. carlinae* también disminuyó el

colesterol total y LDL en suero sanguíneo lo que puede contribuir a los buenos resultados de la mejora en la fuerza de contracción y tiempo de resistencia a la fatiga de ambos músculos ya que una disminución de estos parámetros disminuye el bombardeo de lípidos que recibe el músculo reduciendo así la lipotoxicidad, la inflamación local que causan los lípidos almacenados intramiocelularmente y mejorando la absorción de glucosa y la resistencia a la insulina (Lipina y Hundal, 2017).

La combinación de ambos tratamientos fue igualmente efectiva en comparación con cada tratamiento por separado durante la obesidad.

El ejercicio de moderada intensidad y el extracto hexánico de *E. carlinae* no inciden en la defensa antioxidante y en la producción de especies reactivas de oxígeno en el músculo EDL y sóleo durante la obesidad.

Existe evidencia de que durante la obesidad la disfunción del tejido adiposo provoca la aparición de dislipidemia, hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos; infiltración del tejido adiposo con monocitos-macrófagos, aumento de la secreción de citocinas proinflamatorias y altos niveles de adipocinas que provocan la sobrecarga del retículo endoplásmico (RE), el estrés del RE y la disfunción mitocondrial provocan una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), además los radicales libres en exceso inhibe la translocación de GLUT4 lo que conlleva a una hiperglucemia lo que amplifica el estrés oxidante disminuyendo la capacidad antioxidante que ejerce la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión o ambos mecanismos (Picu *et al.* 2017), sin embargo, diversos estudios como el de Tinahones *et al.* (2009) muestran resultados contradictorios ya que demostraron que durante la obesidad puede aumentar la actividad de enzimas antioxidantes como la de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), esto en un intento por mantener equilibradas las ERO, mientras que disminuye la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) lo cual se relaciona directamente con una mayor resistencia a la insulina en sujetos con obesidad, en el presente proyecto no se vio alguna alteración de la capacidad antioxidante del EDL y el sóleo durante la obesidad

(relación GSSG/GSH, fig. 9A y 10A) y los niveles de ERO (fig. 11A y 11B) se mantuvieron similares al grupo control.

Nuestros tratamientos con ejercicio y extracto mostraron una disminución significativa de la capacidad antioxidante de GSH-Px en ambos músculos y un aumento significativo de las ERO en el tratamiento con extracto durante la obesidad, esto puede explicarse ya que la actividad de la SOD se ve disminuida por la hiperlipidemia y por la resistencia a la insulina, mientras que la actividad de GSH-Px aumenta en un intento por mantener las ERO disminuidas, estos dos biomarcadores (hiperlipidemia y la hiperglucemia que podría sugerir resistencia a la insulina) se vieron disminuidos en esta investigación durante la obesidad, lo que puede provocar la mayor actividad de otras enzimas antioxidantes como la SOD y una menor actividad de GSH-Px, esto tomando en cuenta que las ERO se mantuvieron normales al menos en el tratamiento con ejercicio en el grupo obeso (Tinahones F. *et al* 2009). En cuanto al grupo obeso tratado con la combinación de ambos tratamientos, fue el que mostró una mejor defensa antioxidante de los tres tratamientos, incluso en el músculo EDL el ejercicio y la administración del extracto de *E. carlinae* tuvieron un efecto sinérgico en la capacidad antioxidante de GSH-Px.

IX.CONCLUSIÓN

El ejercicio y el extracto de *E. carlinae* mejoraron la función muscular durante la obesidad gracias a una disminución de la hiperlipidemia y de la hiperglucemia sistémica, obteniéndose mejores resultados con la combinación de ambos tratamientos.

X. BIBLIOGRAFÍA

Angulo, J., El Assar, M., Álvarez-Bustos, A., & Rodríguez-Mañas, L. (2020). Actividad física y ejercicio: Estrategias para el manejo de la fragilidad. *Biología redox*, 35, 101513. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101513>

Alves-Bezerra, M. y Cohen, DE (2017). Metabolismo de triglicéridos en el hígado. *Fisiología integral*. 8 (1), 1–8. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170012>

Arana-Argáez, V., Alonso-Castro, A. J., Yáñez-Barrientos, E., Euan-Canto, A., Torres-Romero, J. C., Isiordia-Espinoza, M. A., Brennan-Bourdon, L. M., Juárez-Vázquez, M., & González-Ibarra, A. A. (2021). In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of an ethanol extract from the aerial parts of *Eryngium carlinae* F. Delaroche (Apiaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 266, 113406. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113406>

Baynes J. W. y Dominiczak M. H. (2019). Bioquímica médica. Barcelona, España: Elsevier.

Brusco, H. A., López, C. J. J., Loidl, C.F. (2014) Histología médico-práctica. Barcelona, España: Elsevier.

Castro-Torres, I. G., De la O-Arciniega, M., Naranjo-Rodríguez, E. B., Castro-Torres, V. A., Domínguez-Ortíz, M. Á., & Martínez-Vázquez, M. (2017). The Hypocholesterolemic Effects of *Eryngium carlinae* F. Delaroche Are Mediated by the Involvement of the Intestinal Transporters ABCG5 and ABCG8. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2017, 3176232. <https://doi.org/10.1155/2017/3176232>

Carrasco, N. F., Galgani, J. F., Reyes, J. M. (2013). Insulin resistance síndrome: diagnosis and management. *Revista médica clínica Los Condes*, 24(5), 827-837. DOI: 10.1016/S0716-8640(13)70230-X

D'Amuri, A., Sanz, JM, Capatti, E., Di Vece, F., Vaccari, F., Lazzer, S., Zuliani, G., Dalla Nora, E. y Passaro, A. (2021). Efectividad del entrenamiento en intervalos de alta intensidad para la pérdida de peso en adultos con obesidad: un ensayo aleatorizado controlado de no inferioridad. *Medicina del ejercicio y el deporte abierto BMJ* , 7 (3), e001021. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2020-001021>

De Lorenzo, A., Soldati, L., Sarlo, F., Calvani, M., Di Lorenzo, N., & Di Renzo, L. (2016). New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication. *World journal of gastroenterology*, 22(2), 681–703. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i2.681>

de Villiers, D., Potgieter, M., Ambele, M. A., Adam, L., Durandt, C., & Pepper, M. S. (2018). The Role of Reactive Oxygen Species in Adipogenic Differentiation. *Advances in experimental medicine and biology*, 1083, 125–144. https://doi.org/10.1007/5584_2017_119

Dimassi, S., Karkeni, E., Laurant, P., Tabka, Z., Landrier, J. F., & Riva, C. (2018). Microparticle miRNAs as Biomarkers of Vascular Function and Inflammation Response to Aerobic Exercise in Obesity?. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 26(10), 1584–1593. <https://doi.org/10.1002/oby.22298>

Di Meo, S., Iossa, S., & Venditti, P. (2017). Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *The Journal of endocrinology*, 233(1), R15–R42. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0598>

Esteve Ràfols M. (2014). Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinología y nutrición: organo de la Sociedad Espanola de Endocrinología y Nutricion*, 61(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.03.011>

Ebbert, J. O., & Jensen, M. D. (2013). Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients*, 5(2), 498–508. <https://doi.org/10.3390/nu5020498>

Exeter, D., y Connell, D. A. (2010). Skeletal muscle: functional anatomy and pathophysiology. *Seminars in musculoskeletal radiology*, 14(2), 97–105. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1253154>

Goodpaster, B. H., & Sparks, L. M. (2017). Metabolic Flexibility in Health and Disease. *Cell metabolism*, 25(5), 1027–1036. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.015>

Heo, J. W., Yoo, S. Z., No, M. H., Park, D. H., Kang, J. H., Kim, T. W., Kim, C. J., Seo, D. Y., Han, J., Yoon, J. H., Jung, S. J., & Kwak, H. B. (2018). Exercise Training Attenuates Obesity-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Mitochondria-Mediated Apoptosis in the Skeletal Muscle. *International journal of environmental research and public health*, 15(10), 2301. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102301>

Hawley, J. A., Lundby, C., Cotter, J. D., & Burke, L. M. (2018). Maximizing Cellular Adaptation to Endurance Exercise in Skeletal Muscle. *Cell metabolism*, 27(5), 962–976. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.014>

He, N., & Ye, H. (2020). Exercise and Hyperlipidemia. *Advances in experimental medicine and biology*, 1228, 79–90. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1792-1_5

Izaola, O., de Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J. C., & Vidal, M. (2015). INFLAMACIÓN Y OBESIDAD (LIPOINFLAMACIÓN) [Inflammation and obesity (lipoinflammation)]. *Nutricion hospitalaria*, 31(6), 2352–2358. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.6.8829>

Judge, A. y Dodd, MS (2020). Metabolismo. *Ensayos de bioquímica*, 64 (4), 607–647. <https://doi.org/10.1042/EBC20190041>

Kalish, B. T., Fell, G. L., Nandivada, P., & Puder, M. (2015). Clinically Relevant Mechanisms of Lipid Synthesis, Transport, and Storage. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*, 39(1 Suppl), 8S–17S. <https://doi.org/10.1177/0148607115595974>

Kleinert, M., Parker, B. L., Jensen, T. E., Raun, S. H., Pham, P., Han, X., James, D. E., Richter, E. A., & Sylow, L. (2018). Quantitative proteomic characterization of cellular pathways associated with altered insulin sensitivity in skeletal muscle following high-fat diet feeding and exercise training. *Scientific reports*, 8(1), 10723. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28540-5>

Kuo, C. H., & Harris, M. B. (2016). Abdominal fat reducing outcome of exercise training: fat burning or hydrocarbon source redistribution?. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 94(7), 695–698. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0425>

Lipina, C., & Hundal, H. S. (2017). Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8(2), 190–201. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12144>

López-Chicharro J. y Fernández-Vaquero A. (2010). Fisiología del ejercicio. Madrid; Buenos Aires: Médica Panamericana

Maclaren D. y Morton J. (2012) Biochemistry for sport and exercise metabolism. Estados Unidos: Jhon Wiley & Sons Inc.

Martínez-Huenchullan, SF , Maharjan, BR , Williams, PF , Tam, CS , Mclennan, SV , Twigg, SM .(2018). *Efectos metabólicos diferenciales del entrenamiento en intervalos de intensidad moderada versus alta constante en ratones alimentados con alto contenido de grasas: posible función de la adiponectina muscular. Representante físico* , 6 (4). <https://doi.org/10.14814/phy2.13599>

Murawska-Ciałowicz, E. (2017). Adipose tissue - morphological and biochemical characteristic of different depots. *Postepy higieny i medycyny doswiadczonej (Online)*, 71(0), 466–484. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.3829>

Noriega-Cisneros, R., Ortiz-Ávila, O., Esquivel-Gutiérrez, E., Clemente-Guerrero, M., Manzo-Avalos, S., Salgado-Garciglia, R., Cortés-Rojo, C., Boldogh, I., & Saavedra-Molina, A. (2012). Hypolipidemic Activity of *Eryngium carlinae* on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biochemistry research international*, 2012, 603501. <https://doi.org/10.1155/2012/603501>

Noriega-Cisneros, R., Peña-Montes, D. J., Huerta-Cervantes, M., Torres-Martínez, R., Huerta, M., Manzo-Avalos, S., Salgado-Garciglia, R., & Saavedra-Molina, A. (2020). *Eryngium carlinae* Ethanol Extract Corrects Lipid Abnormalities in Wistar Rats with Experimental Diabetes. *Journal of medicinal food*, 23(8), 827–833. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0189>

O'Rourke, R. W. (2018). Adipose tissue and the physiologic underpinnings of metabolic disease. *Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery*, 14(11), 1755–1763. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2018.07.032>

Pawlina, W. (2016). *Histología, texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular*. Barcelona, España: Wolters Kluwer.

Peña-Montes, D. J., Huerta-Cervantes, M., Ríos-Silva, M., Trujillo, X., Huerta, M., Noriega-Cisneros, R., Salgado-Garciglia, R., & Saavedra-Molina, A. (2019). Protective Effect of the Hexanic Extract of *Eryngium carlinae* Inflorescences In Vitro, in Yeast, and in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(3), 73. <https://doi.org/10.3390/antiox8030073>

Picu, A., Petcu, L., Ștefan, S., Mitu, M., Lixandru, D., Ionescu-Tîrgoviște, C., Pîrcălăbioru, G. G., Ciulu-Costinescu, F., Bubulica, M. V., & Chifiriuc, M. C. (2017). Markers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Romanian Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(5), 714. <https://doi.org/10.3390/molecules22050714>

Plowman S. A. y Smith D.L. (2014). Exercise physiology. For Health, Fitness, and Performance. Philadelphia, Estados Unidos: Wolters Kluwer.

Poblete-Aro, C., Russell-Guzmán, J., Parra, P., Soto-Muñoz, M., Villegas-González, B., Cofré-Bolados, C., & Herrera-Valenzuela, T. (2018). Efecto del ejercicio físico sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 [Exercise and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus]. *Revista medica de Chile*, 146(3), 362–372. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872018000300362>

Qaisar, R., Bhaskaran, S., & Van Remmen, H. (2016). Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. *Free radical biology & medicine*, 98, 56–67. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.025>

Su, K., Sabeva, N. S., Wang, Y., Liu, X., Lester, J. D., Liu, J., Liang, S., & Graf, G. A. (2014). Acceleration of biliary cholesterol secretion restores glycemic control and alleviates hypertriglyceridemia in obese db/db mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 34(1), 26–33. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.302355>

Thomson D. M. (2018). The Role of AMPK in the Regulation of Skeletal Muscle Size, Hypertrophy, and Regeneration. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3125. <https://doi.org/10.3390/ijms19103125>

Tinahones, F. J., Murri-Pierri, M., Garrido-Sánchez, L., García-Almeida, J. M., García-Serrano, S., García-Arnés, J., & García-Fuentes, E. (2009). Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(2), 240–246. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.536>

Truskey G. A. (2018). Desarrollo y aplicación de sistemas microfisiológicos del músculo esquelético humano. *Lab en un chip*, 18 (20), 3061–3073. <https://doi.org/10.1039/c8lc00553b>

Tobore T. O. (2020). Towards a comprehensive theory of obesity and a healthy diet: The causal role of oxidative stress in food addiction and obesity. *Behavioural brain research*, 384, 112560. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112560>

Tortora G. J. y Derrickson B. (2013). Principios de anatomía y fisiología. México, México: Médica Panamericana.

Vecchié, A., Dallegri, F., Carbone, F., Bonaventura, A., Liberale, L., Portincasa, P., Frühbeck, G., & Montecucco, F. (2018). Obesity phenotypes and their paradoxical association with cardiovascular diseases. *European journal of internal medicine*, 48, 6–17. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.10.020>

Yang, A. y Mottillo, EP (2020). Lipólisis de adipocitos: de los mecanismos moleculares de regulación a la enfermedad y la terapéutica. *The Biochemical journal* , 477 (5), 985–1008. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190468>

Wu, H., & Ballantyne, C. M. (2017). Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *The Journal of clinical investigation*, 127(1), 43–54. <https://doi.org/10.1172/JCI88880>

Zhang, H., Tong, T. K., Qiu, W., Zhang, X., Zhou, S., Liu, Y., & He, Y. (2017). Comparable Effects of High-Intensity Interval Training and Prolonged Continuous Exercise Training on Abdominal Visceral Fat Reduction in Obese Young Women. *Journal of diabetes research*, 2017, 5071740. <https://doi.org/10.1155/2017/5071740>

Zielinska-Blizniewska, H., Sitarek, P., Merecz-Sadowska, A., Malinowska, K., Zajdel, K., Jablonska, M., Sliwinski, T. y Zajdel, R. (2019). Extractos de Plantas y Especies Reactivas de Oxígeno como Dos Agentes Contrarrestantes con Propiedades Anti- y Pro-Obesidad. *Revista internacional de ciencias moleculares* , 20 (18), 4556. <https://doi.org/10.3390/ijms20184556>