



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

**EFFECTOS DE LA SULPIRIDA, ANTAGONISTA DOPAMINÉRGICO DE LOS RECEPTORES
D2, EN LA HOMEOSTASIS METABÓLICA DE RATONES MACHO Y HEMBRA CON
OBESIDAD. IMPLICACIONES DEL INCREMENTO EN LOS NIVELES DE PROLACTINA**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

PRESENTA:

DINA IATHZIL VÁZQUEZ CARRILLO

DIRECTOR DE TESIS

DRA. YAZMÍN MACOTELA GUZMÁN
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR

DRA. ROCÍO BRENDA ANGUIANO SERRANO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DR. ARMANDO ROBERTO TOVAR PALACIO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRAN

JURIQUILLA, QUERÉTARO. ABRIL DE 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

Efectos de la sulpirida, antagonista dopaminérgico de los receptores D2, en la homeostasis metabólica de ratones macho y hembra con obesidad. Implicaciones del incremento en los niveles de prolactina, +

que presenté para obtener el grado de ----Doctorado---- es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

Dina Iathzil Vázquez Carrillo
515010866

(Nombre, firma y Número de cuenta de la persona alumna)

*Para Susticacán,
mis raíces y la
tierra mágica que cura el alma*

Esta tesis se realizó en el Departamento de Neurobiología Celular y Molecular del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Campus-Juriquilla, Querétaro, bajo la tutela de la Dra. Yazmín Macotela Guzmán. El trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) (proyecto 284771). La alumna recibió la beca CONAHCYT con número de registro **531683**.

Jurado de Examen

Integrantes:

Presidente	Dr. Luis Alberto Téllez Lima
Secretaria	Dra. Yazmín Macotela Guzmán
Vocal	Dra. Lilia Guadalupe Noriega López
Vocal	Dr. Rolando Efraín Hernández Muñoz
Vocal	Dr. Trino José Baptista Troconis

Agradecimientos Institucionales

A la Dra. Yazmín Macotela Guzmán por confiar en mí para el desarrollo de este proyecto, por sus conocimientos brindados, su paciencia, enseñanza y tiempo.

A mi Comité Tutor formado por la Dra. Brenda Rocío Anguiano Serrano y por el Dr. Armando R. Tovar Palacio por su dirección y apoyo académico.

A la Dra. Carmen Clapp Jiménez y al Dr. Gonzalo Martínez de la Escalera por sus consejos académicos durante estos años.

A la Dra. Xarubet Ruiz Herrera y al Nut. Fernando López Barrera por su invaluable apoyo y asistencia técnica.

A la labor asistencial de los laboratoristas Daniel Mondragón Huerta y Antonio Prado Galán.

A la Dra. Alejandra Castilla León, a la Dra. María A. Carbajo Mata y el MVZ. José Martín García Servín por el apoyo y asistencia técnica en la obtención y manejo de los animales del bioterio.

El asesoramiento de la Dra. Nuri Aranda López, responsable de la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología, sin dejar de lado la importante labor de la secretaria Ma. Del Carmen Mendoza López.

A la Dra. Deisy Gasca Martínez responsable de la Unidad de Análisis Conductual del Instituto de Neurobiología por su asesoramiento en los experimentos conductuales.

Por su apoyo técnico y de diseño experimental al Dr. Juan J Ortiz Retana perteneciente al LANIREM del Instituto de Neurobiología.

Por su colaboración y asesoramiento a la Dra. Ericka Alejandra de los Ríos

Arellano y a la Dra. Elsa Nydia Hernández Ríos de la Unidad de Microscopia del Instituto de Neurobiología.

El apoyo técnico del Dr. Francisco. Javier Valles Valenzuela coordinador de la Biblioteca UNAM Campus Juriquilla, del Ing. Ramón Martínez Olvera responsable de la Unidad de Cómputo, así como la asistencia y apoyo de la Lic. Ma. de Lourdes Lara Ayala (E.P.D.) y al Lic. Moisés Mendoza Baltazar quienes fueron responsables de la Unidad de Videoconferencia durante mis años de doctorado.

Agradecimientos personales

Esta es la parte para mí más importante de mi tesis porque refleja la profundidad y todo el apoyo que hubo y sigue habiendo detrás de este trabajo, cada persona mencionada fue parte fundamental para permanecer y concluir esta aventura llamada doctorado.

Agradezco profundamente y con un amor infinito a mi **tía Alegría**, fuente inagotable de sabiduría que en nuestras platicas siempre me recordaba y enseñaba como lo más importante frente a cualquier trabajo y circunstancia es el desarrollo de mi calidad como ser humano; y que me enseñó también a ver los retos del doctorado como oportunidades para desarrollar compasión, bondad y empatía.

A **mi madre** y a **mi padre**, por apoyarme con fe ciega, muchas de las veces sin comprender los propósitos y formas detrás del mundo de la ciencia, pero siempre con un amor y una confianza que fueron sustento para mi perseverancia. La manera en la que ustedes se desarrollaron en sus carreras profesionales, así como en sus vidas siempre serán un ejemplo para mí.

A **Arturo** y **Barbara Medrano**, así como mi **tío Sam**, quienes entraron en mi vida cuando era una niña con un sueño fuera de lo común en su entorno, ellos creyeron en la realización de este sueño mucho antes de que yo supiera como realizarlo, y aunque lamentablemente no vivieron para verlo, se convirtieron en mis ángeles y estaré agradecida siempre por enseñarme a creer en mí misma.

Para agradecer de manera específica a los miembros de mi familia tendría que escribir un libro, sin embargo en estas pocas palabras va expresado todo mi amor y aprecio

por su apoyo. Mis sobrinos: **Bris, Famy y Gus**, simplemente la luz de mis ojos. A **mis abuelas** por heredarme su conexión espiritual con lo divino; y a **mis abuelos** por fomentar el servicio y deber a mi comunidad y a mi país. A mi hermano **Gustavo** y mi cuñada **Lore** por los debates políticos y buenos momentos. A mi primo **Rommel**, por todas esas ocurrencias que podían hacer que un día estresado de laboratorio se convirtiera en el día más gracioso y que es de los pocos que comprenden el sentido de la frase "This is the way". A mi prima y confidente **Areliux** por todas esas horas de pláticas, especialmente en los momentos más difíciles durante la pandemia, donde podíamos pasar del llanto a la carcajada en dos minutos. A **Santino**, llegó a mi vida cuando menos me lo esperaba pero cuando más lo necesitaba.

A los miembros de los laboratorios A15 y A14. A la **Dra. Carmen Clapp** y al **Dr. Gonzalo** por abrirme las puertas de su laboratorio y ser unos jefes de grupo con un gran liderazgo y una organización que permitió el desarrollo de mi proyecto. A mi tutora, la **Dra. Yazmín** porque sin su guía no hubiera sido posible este proyecto, pero sobre todo por la paciencia que tuvo para guiar a una alumna por naturaleza rebelde. A **Elva** y **Gaby**, las maestras que me enseñaron a navegar el mundo del laboratorio, y que se convirtieron en inspiración y guía. A **Areli** y **Ana** por ser las primeras en colaborar en mi proyecto. A **José Luis** y **José Fernando** por incluirse en mi proyecto y ayudarme con mis experimentos cuando estaba de viaje. A **Sairí** y **Magda** por ser unas alumnas que me enseñaron a enseñar.

A **mis roomies** y **Lady**, por haber sido un hogar lleno de locura y afecto. A **Denisse** por ser la primera en presenciar mi reacción cuando reprobé la candidatura y hacerme reír de la desgracia. A **Jose** por la paciencia de ser muro de contención de mis enojos y mi carácter y hacerme reír después de cada uno de ellos.

A **Ángel**, amigo entrañable y compañero de roadtrip, tus detalles en los momentos precisos me dieron valor para enfrentar muchos de los retos del doctorado. A **Giovanna** gracias por esas caminatas de pláticas y filosofía de la vida. A **Ana Karen** y **Cintia**, amigas y compañeras de doctorado, viaje y escalada, la vida de doctorado fue una alegría junto a ustedes y las pláticas en El Muro pura diversión. ¡Vamos por esos parques nacionales!

A las hermanas que me dio la vida. **Gabrielitus**, darling bella, no hay palabras. Desde el primer momento estuviste en contra del doctorado, y al hacerlo fuiste un refugio y

alivio en los momentos de tensión y cansancio. A **Victoria**, la personificación de la calma en la adversidad. Desde que estábamos juntas en la primaria he sabido que te puedo confiar mi vida con los ojos cerrados. Gracias por todos los buenos consejos y puntos de vista.

A **José Luis**, llegaste a media aventura del doctorado, y desde el inicio con esa disponibilidad y buena voluntad de apoyar. Gracias por todo tu apoyo en cada uno de los experimentos y por incluirme en los tuyos. Pero más que nada por todas esas horas de carcajadas y risas en el cubículo. Te convertiste en un gran amigo.

A **Ana**, la palabra gracias me queda corta para agradecerte. Fuiste testigo, cómplice y colaboradora, pero sobre todo amiga invaluable. La única que sabe todo lo que este proyecto me costó y significó para mí. Gracias por todo tu tiempo en los experimentos y también escuchándome. Tu ayuda está reflejada en las páginas de esta tesis y tus aportaciones siempre fueron muestras de perseverancia, optimismo y realismo combinadas. Gracias por todo.

Por último, quiero agradecer a la tierra que me vio nacer. **Susticacán**. Es un pueblo mágico que encierra la combinación más extraña y misteriosa de naturaleza, tradiciones y gente. Buscar descanso en sus cerros, ríos y campos me dieron fortaleza, paz y enorme alegría. Este doctorado fue mi Odisea y Susticacán es Ítaca. Termino con el siguiente poema que refleja la importancia de disfrutar el camino.

Ítaca

Ítaca ya te ha brindado el hermoso viaje.

Sin ella, nunca habrías emprendido el camino.

Con la gran sabiduría que has adquirido en tu viaje,

con tanta de tu propia experiencia ahora,

debes finalmente saber lo que Ítaca realmente significa.

C. P. Cavafy



Índice

Agradecimientos Institucionales	5
Agradecimientos personales	6
Índice	9
Lista de Abreviaturas	12
Resumen	13
Abstract	14
I. INTRODUCCIÓN	15
II. ANTECEDENTES.....	16
II.1 Obesidad	16
II.2 Clasificación de la obesidad	16
II.3 Determinantes de la obesidad	17
II.4 Metabolismo de la glucosa	17
II.5 Tejidos metabólicos relevantes para la homeostasis de la glucosa	18
II.5.1 Páncreas	18
II.5.2 Hígado.....	19
II.5.3 Tejido adiposo.....	19
II.5.4 Músculo.....	24
II.6 La PRL en el metabolismo	24
II.7 Regulación de glucosa por dopamina	25
II.8 Sulpirida	27
III. JUSTIFICACIÓN.....	30
IV. HIPÓTESIS.....	31
V. OBJETIVOS.....	32
V.1 Objetivo General	32
V.2 Objetivos Específicos	32
VI. MÉTODOS.....	33
VI.1 Evaluación de los efectos del fármaco sulpirida en ratones macho y hembra obesos	33
VI.1.1 Animales.....	33
VI.1.2 Curva dosis-respuesta de sulpirida	33
VI.1.3 Tratamiento con sulpirida en ratones obesos	33
VI.1.4 Ensayos de tolerancia a la glucosa (ETG) y a la insulina (ETI).....	34
VI.1.5 Disección de tejidos.....	34
VI.1.6 Niveles de glucosa, insulina y PRL circulantes	35

VI.1.7 Niveles de lípidos en suero	35
VI.1.8 Histología de tejidos	35
VI.1.9 Expresión génica	35
VI.1.10 Niveles de triglicéridos en hígado y páncreas	36
VI.1.11 Niveles de glucógeno en hígado y músculo	36
VI.1.12 Medición de la composición corporal por resonancia magnética	36
VI.1.13 Estadística.....	36
VII. RESULTADOS.....	37
VII.1 La sulpirida incrementa los niveles de PRL en ratones macho en forma dosis-dependiente ...	37
VII.2 La administración de una dieta obesogénica durante 4 semanas eleva el peso corporal y la glucemia en ratones macho	38
VII.3 El tratamiento con sulpirida durante 4 semanas incrementa los niveles séricos de PRL sin afectar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones macho tanto delgados como en los obesos.	38
VII.4 La sulpirida promueve la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratones macho obesos	40
VII.5 La sulpirida mejora el perfil lipídico de los ratones macho al disminuir los triglicéridos en suero y páncreas, sin embargo, no afecta los niveles de triglicéridos hepáticos.	43
VII.6 La sulpirida no afecta el peso del tejido ni el número de adipocitos del TAB visceral de ratones macho	44
VII.7 La sulpirida incrementa el glucogeno en el músculo esquelético.	48
VII.8 La sulpirida incrementa los niveles de PRL sin afectar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones hembra.....	49
VII.9 La sulpirida promueve la tolerancia a la glucosa sin alterar la sensibilidad a la insulina en ratones hembra obesas.	50
VII.10 La sulpirida incrementa el peso del Tejido Adiposo Subcutáneo promoviendo la expansión por hiperplasia en ratones hembra obesas.....	52
VII.11 Los efectos de la sulpirida en la reducción de los niveles de glucosa son independientes de las acciones del receptor de prolactina.	54
VIII. DISCUSIÓN.....	57
IX. BIBLIOGRAFÍA	63
X. INDICE DE FIGURAS	70
XI. INDICE DE TABLAS	72
XII. ANEXOS	73
XII.1 Publicaciones	73
XII.2 Congresos.....	74
XII.2.1 Presentación Oral	74

XII.2.2 Presentación de Carteles.....	74
XII.3 Premios.....	75
XII.4 Artículo de Investigación derivado de esta tesis (Portada)	76

Lista de Abreviaturas

AGL	Ácidos grasos libres
AT	Adipose tissue
DC	Dieta control
DO	Dieta obesogénica
ETG	Ensayo de tolerancia a glucosa
ETI	Ensayo de tolerancia a insulina
G6Pasa	Glucosa 6 fosfatasa
Glut4	Transportador de glucosa 4
HFD	High Fat Diet
Hif1α	Factor inducible por hipoxia 1-alfa
HO	Hembras obesas
Insr	Receptor de insulina
IMC	Índice de masa corporal
IRM	Imagenología por Resonancia Magnética
Ip	Intraperitoneal
MO	Machos obesos
OM	Obese males
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pepck	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa
PRL	Prolactina
Prlr	Receptor de prolactina
Prlr +/+	Ratones silvestres con receptor de PRL
Prlr -/-	Ratones nulos para el receptor de PRL
TA	Tejido adiposo
TAB	Tejido adiposo blanco
TAS	Tejido adiposo subcutáneo
TAV	Tejido adiposo visceral
TG	Triglicéridos
TR	Tiempo de repetición

Resumen

Los niveles bajos de prolactina (PRL) se correlacionan con un mayor riesgo/prevalencia de enfermedades metabólicas, mientras que niveles moderadamente altos, se correlacionan con una menor prevalencia de dichas enfermedades. Las ratas macho con obesidad presentan niveles bajos de PRL y el tratamiento con PRL mejora los parámetros metabólicos en estos animales. Por ello, en este trabajo planteamos como hipótesis que los fármacos que elevan los niveles de PRL, como la sulpirida, un antagonista de los receptores de dopamina D2, podrían tener efectos benéficos contra las alteraciones metabólicas derivadas de la obesidad. Además, estudios previos han demostrado que la sulpirida ejerce efectos sexualmente dimórficos, por ello evaluamos los efectos metabólicos del fármaco tanto en machos como en hembras. Usamos ratones C57BL/6 de 8 semanas de edad alimentados con una dieta alta en grasas (HFD) durante 8 semanas, los que recibieron diariamente 30 mg/kg de sulpirida durante las últimas 4 semanas de la dieta. La sulpirida indujo un aumento más pronunciado en los niveles de PRL en las hembras que en los machos. En cuanto a los parámetros metabólicos, en los MO, la sulpirida disminuyó la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y los niveles de triglicéridos, sin afectar el peso corporal o la ingesta calórica; y en las HO, el tratamiento con sulpirida disminuyó la hiperglucemia, sin alterar los niveles de insulina, triglicéridos, peso corporal o ingesta calórica. Además, la sulpirida redujo la hipertrofia de los adipocitos en el tejido adiposo (TA) visceral de los MO. Mientras que, en las HO, la sulpirida aumentó el peso del TA subcutáneo y el número de adipocitos. Finalmente, para determinar si los efectos de la sulpirida eran dependientes de prolactina, evaluamos su efecto en ratones nulos para el receptor de la hormona y encontramos que la sulpirida ejerce su efecto hipoglucemiante también en ratones (machos y hembras) nulos para el receptor de PRL. En conclusión, si bien la sulpirida ejerce acciones sexualmente dimórficas, reduce la hiperglucemia y mejora los parámetros metabólicos tanto en machos como en hembras con obesidad, además, este efecto es independiente de las acciones de la PRL.

Abstract

Low levels of prolactin (PRL) are correlated with a higher risk/prevalence of metabolic diseases, while moderately high levels are correlated with a lower prevalence of such diseases. Male rats with obesity present low levels of PRL, and treatment with PRL improves metabolic parameters in these animals. Therefore, in this work, we hypothesized that drugs that elevate PRL levels, such as sulpiride, a dopamine D2 receptor antagonist, could have beneficial effects against metabolic alterations derived from obesity. Additionally, previous studies have shown that sulpiride exerts sexually dimorphic effects; therefore, we evaluated the metabolic effects of the drug in males and females. Eight-week-old C57BL/6 mice fed with a high-fat diet (HFD) for 8 weeks received daily 30 mg/kg of sulpiride during the last 4 weeks of the diet. Sulpiride induced a more pronounced increase in PRL levels in females than in males. Regarding metabolic parameters, in MO, sulpiride decreased hyperglycemia, insulin resistance, and triglyceride levels without affecting body weight or caloric intake. In OF, sulpiride treatment reduced hyperglycemia without altering insulin levels, triglycerides, body weight, or caloric intake. Additionally, sulpiride reduced adipocyte hypertrophy in visceral adipose tissue (AT) of OM. Meanwhile, in OF, sulpiride increased subcutaneous AT weight and adipocyte number. Finally, to determine if sulpiride's effects were dependent on prolactin, we evaluated its effect in mice null for the PRL receptor and found that sulpiride exerted its effect decreasing hyperglycemia also in male and female mice null for the PRL receptor. In conclusion, while sulpiride exerts sexually dimorphic actions, it reduces hyperglycemia and improves metabolic parameters in both male and female mice with obesity, and this effect is independent of PRL actions.

I. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad crónica que aumenta el riesgo de padecer otras enfermedades tales como diabetes tipo 2, insuficiencia cardiaca, cáncer, entre otras (Brandão, Guerra, & Mori, 2017). El tejido adiposo es un órgano endocrino que funciona como reservorio de energía y es de vital importancia para el equilibrio de la glucosa y los lípidos en todo el cuerpo (Rosen & Spiegelman, 2014; Gustafson et al. 2015), por lo que una eficiente función del mismo contribuye a mantener la homeostasis metabólica disminuyendo los riesgos de padecer obesidad y sus comorbilidades.

Estudios recientes han mostrado que en la obesidad los niveles bajos de la hormona prolactina (PRL) correlacionan con la resistencia a la insulina sistémica y con la disfunción del tejido adiposo (Chirico et al. 2013; Lemini et al. 2015; Ruiz-Herrera, et al. 2017; Wagner et al. 2014; Wang et al. 2013; Macotela et al. 2020, 2022). Mientras que niveles elevados de la hormona se asocian con mayor sensibilidad a la insulina, menor prevalencia de diabetes tipo 2 e hígado graso, así como una menor hipertrofia adiposa (Ruiz-Herrera, et al. 2017; Ponce, et al., 2020; Macotela et al. 2020, 2022). Mas aun, en ratas obesas, el tratamiento con PRL mejora la sensibilidad a la insulina y previene la hipertrofia adiposa, además de disminuir la expresión de marcadores inflamatorios en el tejido adiposo (Ruiz-Herrera et al. 2017).

Dado que la PRL se ha propuesto como un nuevo blanco terapéutico para favorecer la función del tejido adiposo y la sensibilidad a la insulina en condiciones de obesidad, en este proyecto se pretende evaluar si la sulpirida, un farmaco antagonista de los receptores D2 dopaminérgicos que eleva los niveles de PRL sistémica, puede mejorar la función del tejido adiposo y por ende la homeostásis metabólica en condiciones de obesidad.

II. ANTECEDENTES

II.1 Obesidad

La obesidad se define como la acumulación anormal o excesiva de grasa corporal que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2011). La obesidad se diagnostica utilizando el índice de masa corporal (IMC), que se calcula al dividir el peso corporal de una persona (Kg) entre el cuadrado de su talla (m). El diagnóstico de obesidad se da cuando el IMC es igual o superior a 30 y el de sobrepeso cuando el IMC va de 25 a 29.9 (OMS, 2011).

Dada su alta prevalencia en el mundo, hoy en día la obesidad es considerada como la pandemia del siglo XXI (Tremmel, et al. 2017). Además del aumento excesivo de grasa corporal, la obesidad genera un estado de inflamación sistémica y un exceso de ácidos grasos libres en la circulación (lipotoxicidad), condiciones que en conjunto conllevan al desarrollo de otros padecimientos como: enfermedades cardíacas, síndrome metabólico, diabetes tipo 2, ciertos tipos de cáncer y enfermedad de Alzheimer (Gonzalez-Muniesa, et al. 2017). Por lo anterior, resulta de interés identificar blancos terapéuticos para el tratamiento de esta enfermedad.

II.2 Clasificación de la obesidad

Para fines clínicos y de investigación, la obesidad se clasifica en tres categorías, dependiendo del IMC: Clase I (IMC= 30-34.9), Clase II (IMC= 35-39.9) y Clase III (IMC < 40) (De Lorenzo, et al. 2016); una de las desventajas de la clasificación mediante el IMC es que no permite discernir entre la masa adiposa y la masa magra (que se compone de masa muscular, huesos, órganos y tejidos blandos no grasos y no óseos (Li, G.H., et al. 2021)), así como tampoco la localización y el tipo de tejido adiposo que se encuentra en exceso (Wang & Ren, 2018).

El impacto metabólico de la acumulación adiposa también depende de la localización de los depósitos de grasa: en la obesidad periférica o ginoide, la acumulación de grasa es subcutánea, mientras que en la obesidad abdominal o androide la acumulación de grasa es visceral y está relacionada con un mayor riesgo de padecer complicaciones (De Lorenzo, et al. 2016). Por lo anterior, actualmente se considera otro tipo de clasificación asociada al padecimiento de comorbilidades que divide a la obesidad en

obesidad eumetabólica no asociada a comorbilidades (subcutánea) y obesidad dismetabólica (visceral) asociada a procesos de inflamación, hipoxia, lipotoxicidad y resistencia a insulina, así como a enfermedades como dislipidemia e hipertensión (Pozza & Isidori, 2018).

II.3 Determinantes de la obesidad

En el desarrollo de la obesidad están implicados diversos elementos que tienen muy poco que ver con decisiones individuales y que más bien están determinados por el entorno social y económico en el que vivimos, por lo que se consideran sistémicos. En una revisión reciente, se propusieron ocho determinantes de la obesidad entre los que destaca el ambiente alimentario obesogénico (Ferreira & Macotela, et al., 2024). La transición alimentaria de las últimas décadas en la que modificamos nuestra dieta basada en alimentos naturales hacia una dieta basada en gran medida en productos y bebidas ultraprocesados, resultó en un incremento dramático en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en el mundo y en particular en México, en donde el 75% de los adultos y el 38% de los niños y adolescentes viven con un peso corporal excesivo (ENSANUT 2022).

II.4 Metabolismo de la glucosa

La glucosa es el carbohidrato más abundante de los monosacáridos y en los vertebrados es una de las principales fuentes de energía metabólica (Shendurse, A. & Khedkar, 2016). El mantenimiento de una concentración normal de glucosa en plasma requiere la coordinación precisa del organismo en tres procesos: a) la utilización de la glucosa en los procesos metabólicos, b) la producción endógena de glucosa y c) la absorción y distribución de la glucosa obtenida de los alimentos. La glucosa sanguínea proviene de tres fuentes: la absorción intestinal después de la digestión de carbohidratos obtenidos de los alimentos, la glucogenólisis (rompimiento de glucógeno en glucosa) y la gluconeogénesis (formación de glucosa a partir de aminoácidos y ácidos grasos). La glucosa ingresa a las células a través de varias vías metabólicas: puede almacenarse como glucógeno, someterse a la glucólisis para convertirse en piruvato, o ser sintetizada y liberada al torrente sanguíneo por el hígado y los riñones por medio de la gluconeogénesis. Estos órganos son los únicos que contienen glucosa-6-fosfatasa, la enzima esencial para liberar glucosa en la circulación (Giugliano, D, et al. 2008). La glucosa ingresa a las células a través de varias vías metabólicas: puede almacenarse como glucógeno, someterse a la

glucólisis para convertirse en piruvato, o ser sintetizada y liberada al torrente sanguíneo por el hígado y los riñones por medio de la gluconeogénesis. Estos órganos son los únicos que contienen glucosa-6-fosfatasa, la enzima esencial para liberar glucosa en la circulación. También, a través de la vía de las pentosas fosfato, ocurre oxidación de la glucosa para producir ribosa-5-fosfato y fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) que participan en la síntesis de nucleótidos, así como en la biosíntesis de otros compuestos metabólicos (Teslaa, T. et al., 2023).

El metabolismo de la glucosa tanto en hombres como en mujeres es altamente sensible a factores como cambios en estados fisiológicos, edad, nutrición y actividad física (Tarnopolsky, M. A. & Ruby, B. C., 2001). Siendo las mujeres más sensibles a la insulina de manera sistémica, mientras que los hombres presentan prevalencia ligeramente mayor de diabetes tipo 2 (IDF Diabetes Atlas, 2021). Mientras que en México la mortalidad por diabetes tipo 2 es mayor en mujeres que en hombres (EDR, INEGI, 2023). Mientras que estudios en ratones hembra de la cepa C56BL/6 han mostrado que estas presentan una resistencia a generar alteraciones metabólicas como hiperglucemia y resistencia a la insulina cuando son alimentadas con una dieta alta en grasa (Braga, S. P, et al., 2021; Casimiro, I. et al., 2021). En un estudio realizado en ratones de esta cepa se observó que el TAB de las hembras presentaba una mayor respuesta a la insulina y un mayor aumento en la fosforilación de Akt y la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK), así como en la lipogénesis en comparación con el TAB de los ratones macho (Macotella, Y. et al. 2009).

La regulación de la glucosa depende tanto del sistema nervioso central como de órganos periféricos (páncreas, hígado, TA y músculo), siendo la insulina uno de los reguladores clave de la homeostasis de la glucosa (Koch, L. et al. 2008).

II.5 Tejidos metabólicos relevantes para la homeostasis de la glucosa

II.5.1 Páncreas

El páncreas está compuesto tanto por tejido exocrino como endocrino. Las glándulas exocrinas secretan enzimas digestivas, mientras que la glándula endocrina, que consiste en los islotes de Langerhans, secreta hormonas hacia el torrente sanguíneo (O'Dowd, J. F. & Stocker, C.J., 2013). En los islotes pancreáticos se reconocen cuatro tipos principales de células: células alfa, encargadas de la producción de glucagón, células beta, productoras y secretoras de la insulina, células delta y células PP

(Fernandes-da-Silva, A. et al. 2021). Es a través de la producción de estas hormonas es que el páncreas participa en la regulación de la glucosa.

II.5.2 Hígado

El hígado es el órgano central del metabolismo de lípidos y glucosa (Dietrich, P. & Hellerbrand, C., 2014). El hígado regula la concentración de glucosa circulante a través de procesos como la síntesis de glucógeno y la gluconeogénesis. Además, desempeña funciones esenciales en el metabolismo de lípidos, la desintoxicación de sustancias nocivas, el almacenamiento de vitaminas y minerales, y la producción de proteínas importantes para diversas funciones biológicas. El hígado responde a la insulina regulando la síntesis del glucógeno, así como inhibiendo la gluconeogénesis (Petersen & Shulman, 2018).

Otras vías de señalización relevantes para el metabolismo de la glucosa en el hígado incluyen la vía de AMPK (proteína cinasa activada por AMP), que actúa como un sensor de energía celular y regula la síntesis de glucosa y lípidos, y la vía de mTOR, implicada en el control del crecimiento y la proliferación celular en respuesta a nutrientes y señales hormonales (Adeva-Andany, M. M. et al., 2016).

II.5.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo es un órgano endocrino y principal reservorio energético del organismo, con diversas funciones fisiológicas que promueven la homeostasis metabólica (Ben-Jonathan, et al. 2015). Está compuesto por adipocitos, preadipocitos, macrófagos, células endoteliales, fibroblastos, leucocitos y otras células inmunes (Luo & Liu, 2016). Existen dos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco (TAB), caracterizado por la formación de adipocitos con una sola gota lipídica que ocupa el 90% del volumen de la célula (Ben-Jonathan, et al. 2015); y el tejido adiposo café o termogénico, cuyos adipocitos almacenan triglicéridos formando varias gotas lipídicas y tienen un mayor número de mitocondrias que los adipocitos del tejido adiposo blanco (Klingenspor, et al. 2017). En mamíferos, además de estos dos subtipos de tejido adiposo también existe una tercera clasificación, el tejido adiposo beige, que es tejido adiposo con características del TAB pero que bajo ciertos estímulos tiene la capacidad de adoptar características termogénicas similares a las del tejido adiposo café (Hansen, et al. 2017).

Dependiendo de su localización el tejido adiposo blanco se puede clasificar en: tejido adiposo visceral, que como su nombre lo indica está localizado alrededor de las vísceras; y el tejido adiposo subcutáneo localizado debajo de la piel en distintas partes del cuerpo, principalmente en la región glúteo-femoral (Gesta S, et al. 2007).

II.5.3.1 Funciones del tejido adiposo blanco

El tejido adiposo blanco tiene como principal función servir como reservorio energético al almacenar triglicéridos y liberar ácidos grasos libres en condiciones de ayuno. También desempeña otras funciones como la de protección mecánica (Luo & Liu, 2016), termorregulación y como órgano endócrino a través de la liberación de adipocinas como la leptina, adiponectina, resistina, entre otras, que participan en la homeostasis metabólica (Rosen & Spiegelman, 2014).

Entre los principales procesos que median la funcionalidad de los adipocitos se encuentran: i) su proceso de diferenciación denominado adipogénesis, que es el proceso por el cual una célula precursora o preadipocito se diferencia en un adipocito maduro (Zaiou, et al. 2017); ii) el metabolismo de lípidos, tanto la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos unidos a glicerol para la formación de triglicéridos) y la lipólisis (hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos y glicerol), que regulan la reserva lipídica (Gesta & Khan, 2017); y iii) la síntesis de adipocinas (Figura 1) que participan en la regulación de funciones fisiológicas como la sensibilidad a la insulina, inflamación, función cardiovascular, así como en el desarrollo y crecimiento celular, entre otras (Luo & Liu, 2016).

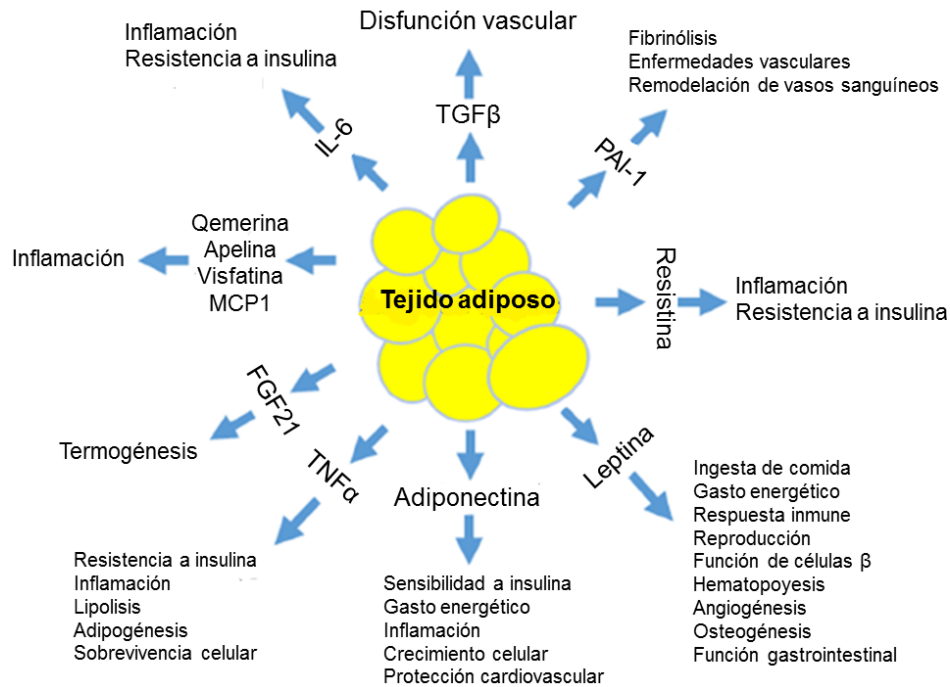


Figura 1. Función fisiológica de las adipocinas. IL-6, interleucina-6; TGFβ, factor de crecimiento transformante beta; PAI-1, inhibidor del activador del plasminogeno 1; TNFα, factor de crecimiento tumoral alfa; FGF21, factor de crecimiento de fibroblastos 21 (Traducido y adaptado de Luo & Liu, 2016).

II.5.3.2 Tejido adiposo blanco en la obesidad

La función de los adipocitos de almacenar lípidos está relacionada con su capacidad de expansión, misma que puede ser por hiperplasia en la que se incrementa el número de células vía adipogénesis o por hipertrofia en la que hay un aumento del tamaño de las células (Lee, et al. 2018).

En ratones transgénicos en etapas postnatales en los que se marca a los adipocitos maduros permitiendo la evaluación de la adipogénesis in vivo y que fueron alimentados con DO desde su etapa embrionaria (madres en DO) se encontró que la expansión del tejido adiposo visceral está dada tanto por hipertrofia como por hiperplasia, mientras que el tejido adiposo subcutáneo se expande únicamente por hipertrofia hasta alcanzar 12 semanas de DO. Lo que indica que el tejido adiposo visceral tiende a expandirse de manera más rápida que el tejido adiposo subcutáneo en estas condiciones (Wang, et al., 2013; Wang & Scherer., 2014).

Por otra parte, en un estudio realizado por Macotela et al. se reportó que el TAB subcutáneo de ratones tiende a expandirse más por hiperplasia, mientras que el TAB visceral se expande más por hipertrofia (Macotela, et al. 2012) y este tipo de expansión

está asociado con la disfuncionalidad del tejido adiposo promoviendo un estado inflamatorio (Kusminski, et al. 2016, Gonzalez-Muniesa, et al. 2017) (Figura 2).

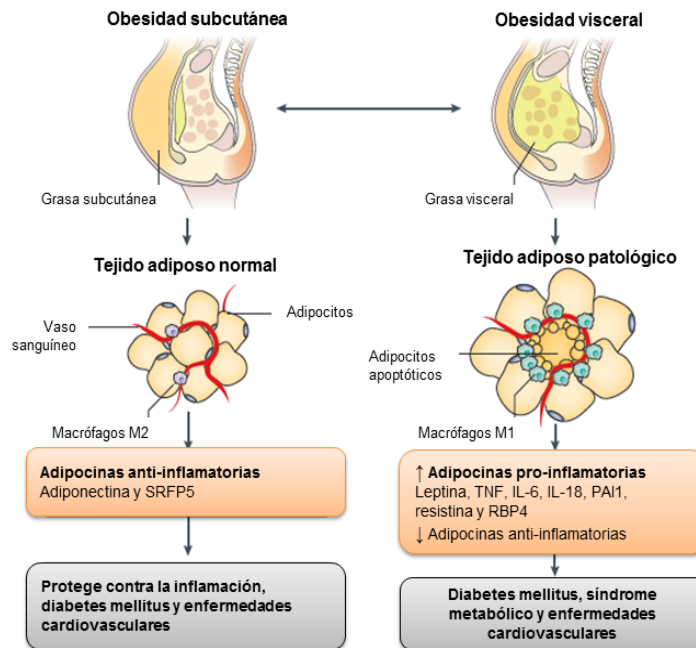


Figura 2. Cambios patológicos en el tejido adiposo derivados de la obesidad.

En la obesidad el tejido adiposo subcutáneo tiende a funcionar saludablemente realizando procesos como la liberación de adipocinas antiinflamatorias, mientras que el tejido adiposo visceral incrementa la secreción de adipocinas proinflamatorias y suprime la secreción de citocinas antiinflamatorias, por lo que crea un estado de inflamación crónica que contribuye con el deterioro de la homeostasis metabólica, lo que aumenta la probabilidad de padecer afecciones relacionadas a la obesidad (Adaptado de Gonzales-Muniesa, et al. 2017).

II.5.3.3 Disfunción metabólica del tejido adiposo blanco

La causa principal de la disfunción metabólica de los adipocitos es la resistencia a la insulina. Una de las principales funciones de la insulina en los adipocitos es inhibir la lipólisis, por lo tanto, al haber resistencia a la insulina ocurre una liberación excesiva de ácidos grasos libres (Petersen & Shulman, 2018). La resistencia a la insulina genera un aumento en la inflamación, fibrosis e hipoxia de los adipocitos (Kusminski, et al. 2016). Sin embargo, los mecanismos moleculares por los que ocurre la resistencia a la insulina en los adipocitos aún no han sido completamente dilucidados. Uno de los mecanismos que pudiera estar generándose la resistencia a insulina es por un fenómeno conocido como "inflamación del tejido adiposo". Esto se define como la infiltración de células inmunes y la activación de macrófagos en los adipocitos generando un estado proinflamatorio, lo que resulta en una mayor secreción de

citocinas proinflamatorias en el tejido adiposo que alteran su funcionalidad. (Santoro, A., McGraw, T. & Kahn, B.B., 2021).

La resistencia a la insulina en los adipocitos propicia la acumulación de ácidos grasos libres en otros órganos del cuerpo como el hígado, el corazón y el músculo, lo que desencadena una resistencia a la insulina sistémica que afecta la funcionalidad del organismo, aumentando la probabilidad de padecer enfermedades cardíacas, diabetes tipo 2, ciertos tipos de cáncer, entre otras (Boucher, et al. 2014; Czech, et al. 2017, Kusminski, et al. 2016) (Figura 3).

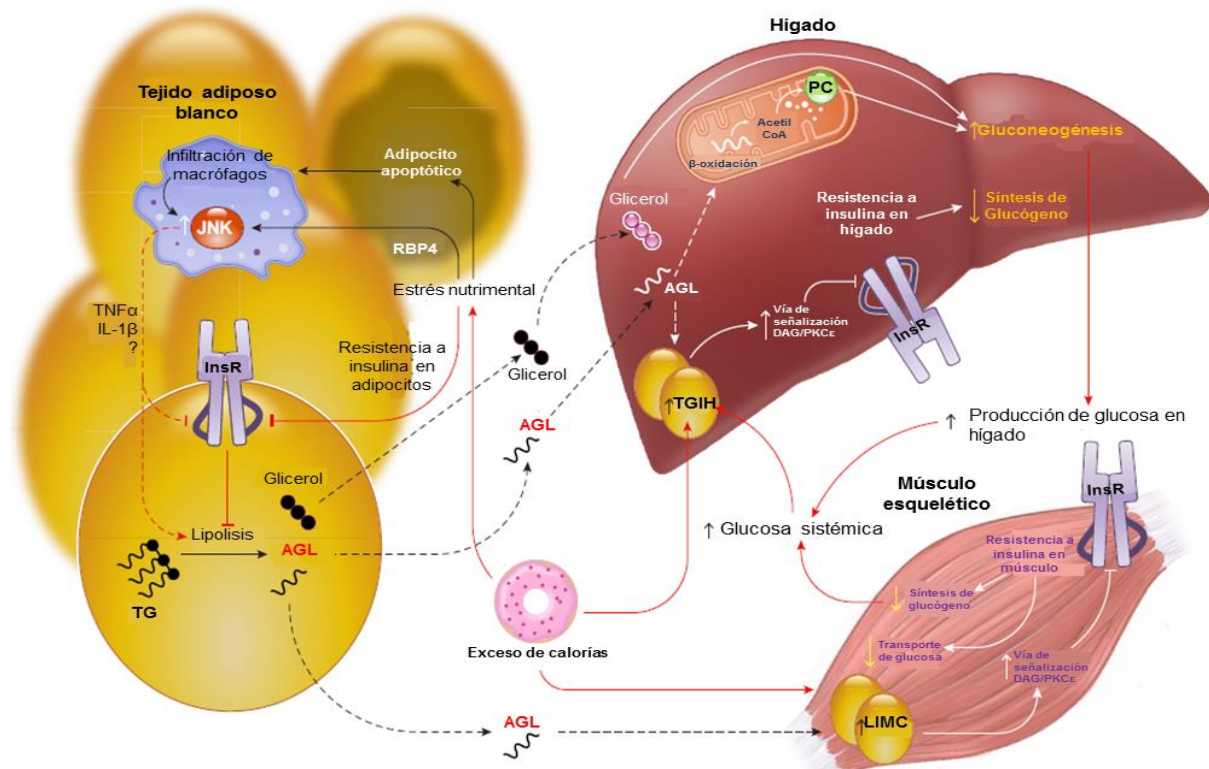


Figura 3. Fisiopatología de la resistencia a la insulina en distintos tejidos.

Una ingesta calórica excesiva de forma crónica promueve un estrés nutricional en los adipocitos, resultando en resistencia a la insulina y apoptosis. Adicionalmente, este exceso calórico y la disfunción adiposa favorecen la acumulación de lípidos en el músculo esquelético y el hígado, lo que causa resistencia a la insulina en esos tejidos. En el tejido adiposo, el incremento en la adipocina RBP4 y otras señales proinflamatorias promueven la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo blanco. En respuesta, estos activan a c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) que incrementa los niveles de mediadores paracrinos como TNF α e IL-1, entre otros. Estas citocinas pueden incrementar la lipólisis en los adipocitos directa o indirectamente interrumpiendo la señalización de la insulina. Al verse aumentada la lipólisis incrementa la secreción de ácidos grasos libres (AGL) y el recambio de glicerol. Esto tiene un efecto estimulador tanto directo (conversión del glicerol a glucosa) como indirecto (Acetil-Coa derivado de AGL activa piruvato carboxilasa (PC)) en la gluconeogénesis, además promueven la acumulación de triglicéridos intrahepáticos (TGIH) ocasionando una resistencia a la insulina hepática, que a su vez, deteriora la síntesis de glucógeno hepática. Juntos estos efectos incrementan la producción de glucosa. La liberación crónica de AGL también puede facilitar la acumulación de lípidos intramiocelulares y provocar resistencia a la insulina en el músculo (Traducido y adaptado de Petersen & Shulman, 2018).

II.5.4 Músculo

El músculo esquelético es el tejido más abundante en el cuerpo, representando entre el 40% y el 50% del peso corporal total en adultos sin obesidad, y es un determinante importante del gasto energético en todo el cuerpo (Pleggi, C. A., Parmar, G. & Harper, M. H., 2021). Es el órgano que absorbe el mayor porcentaje de glucosa sanguínea a través del transportador de glucosa 4 (Glut4) (Richter, E.A. & Hargraves, M. 2013). En humanos, la conversión de la glucosa ingerida en glucógeno muscular como reservorio energético varía desde el 40% hasta el 90% (Pederson, A. B., et al. 2005).

II.6 La PRL en el metabolismo

La PRL es una hormona de 23 kDa y 199 aminoácidos, producida por las células lactotropas de la glándula pituitaria (Martin, et al. 2017). Es una hormona con más de 300 acciones en múltiples procesos, como la lactancia, la reproducción sexual, funciones metabólicas (Macotela et al., 2022), la angiogénesis (Clapp, et al. 2015) y que también está involucrada en la tumorigénesis (Ben-Jonathan, et al. 2008). Su receptor (PRLR) pertenece a la familia de receptores de citocinas tipo I, en el humano existen 6 isoformas y ejerce su acción activando varias vías de señalización como las JAK-STAT, MAPK y PI3K (Ben-Jonathan, et al. 2015). La PRL también desempeña funciones como citocina (Ben-Jonathan, et al. 2002) y se ha descubierto que otros tejidos como la glándula mamaria, el tejido adiposo, el útero y los linfocitos también tienen la capacidad de producir PRL (Carret & Binart, 2014).

En el tejido adiposo, la PRL regula la secreción de adiponectina en cultivos de tejido adiposo humano y en ratones in vivo (Nilsson & Binart, 2005). En ratas macho obesas se encontraron niveles bajos de PRL sistémica (Lemini, et al. 2015) en comparación con ratas de peso normal, resultado que concuerda con una serie de estudios en humanos que muestran una correlación entre niveles bajos de PRL con obesidad y diabetes tipo 2 e incluso en niños con síndrome metabólico (Balbach, et al. 2013; Chirico, et al. 2013; Wang, et al. 2013; Wagner, et al. 2014).

Por otra parte, se encontró que el tratamiento con PRL aumenta la sensibilidad a la insulina en ratas macho obesas. En el mismo estudio, se encontró que ratones obesos carentes del receptor de PRL presentan una mayor hipertrofia de adipocitos viscerales comparado con ratones silvestres (Ruiz-Herrera, et al. 2017). Estos estudios ponen

de manifiesto el papel benéfico de la PRL favoreciendo la homeostasis metabólica en la obesidad.

Por lo anterior, es de interés desarrollar estrategias que permitan incrementar (en un rango fisiológico) los niveles de PRL con la idea de promover la funcionalidad del tejido adiposo y la homeostasis metabólica en condiciones de obesidad. Diversos fármacos antagonistas del receptor D2 de dopamina, usados típicamente como antipsicóticos, incrementan los niveles de PRL a través de bloquear la función inhibitoria de los receptores D2 de dopamina que se encuentran en las células lactotropas adenohipofisarias y que regulan la expresión y secreción de PRL (Wagstaff, A. et al. 1994; Phillips, R.H., et al. 2020), por lo que podrían resultar de interés en el tratamiento de la disfunción metabólica derivada de la obesidad.

II.7 Regulación de glucosa por dopamina

La dopamina, también conocida como 3-hidroxitiramina, es un neurotransmisor catecolaminérgico asociado a una variedad de procesos neurológicos, que incluyen el control motor, la cognición, el aprendizaje y la recompensa. Además de estas y otras funciones del sistema nervioso central (SNC), la dopamina influye en numerosas funciones periféricas como la motilidad gastrointestinal, la liberación de hormonas (como prolactina en tejido adiposo y la insulina en páncreas), la presión arterial y el equilibrio de sodio (Matt, S. M. & Gaskill, P. J. 2020). Además de que el sistema dopaminérgico mesolímbico regula la ingesta de alimentos y los sistemas de recompensa cerebral, así como también los comportamientos alimentarios que llevan a la obesidad (Leite. F. & Ribeiro, L. 2020). La dopamina ejerce sus efectos principalmente a través de la activación de los receptores de dopamina, que son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Los receptores de dopamina se dividen en 2 subgrupos, receptores tipo D1 que comprenden los receptores D1 y D5, tienen un efecto de activación, y tipo D2 que agrupa a los receptores D2, D3 y D4 con acción inhibitoria (Matt, S. M. & Gaskill, P. J. 2020).

En cuanto a la regulación de la glucosa por dopamina se sabe que en condiciones de obesidad el tono dopaminérgico está disminuido (Keck, F. S., et al. 1991; Lee, Y., et al. 2018; Wallace, C.W. & Fordahl, S. C. 2022) y que la administración de una alta dosis de dopamina disminuye los niveles de glucosa sistémica en ratas (Keck, F. S., et al. 1991). Además, el tratamiento con agonistas de dopamina ha mostrado tener

efectos contrarios al disminuir (keck, F. S., et al. 1991; Luo, S., et al. 1999; Kabir, M. T., et al. 2022) y aumentar los niveles de glucosa (Ikeda, H., et al. 2020).

Por otro lado, la dopamina también desempeña funciones en distintos órganos periféricos. En el tracto gastrointestinal, la dopamina participa en la regulación de la motilidad gastrointestinal. En el sistema cardiovascular, influye en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de sodio y agua. Además, en los riñones, la dopamina es crucial para el mantenimiento del equilibrio hídrico y la excreción de sodio (Matt, S. M. & Gaskill, P. J. 2020).

En un estudio realizado por Tavares y cols. se estudiaron los efectos de la dopamina periférica utilizando un agonista: Bromocriptina; y dos antagonistas: domperidona específico para el receptor D2 de dopamina y haloperidol, específico para D1 y D2 en tejidos metabólicos obtenidos *ex-vivo* de ratas macho Wistar. Como resultados se obtuvo que la dopamina estimula la captación de glucosa en el hígado, el músculo esquelético y el TAB; actúa directamente en estos tejidos regulando la fosforilación de InsR, Akt y AMPK independientemente de la participación de la insulina, así como participando en la regulación de funciones metabólicas en el TAB. Estos efectos periféricos de la dopamina son modulados por la interacción de la dopamina con sus receptores D1 y D2. (Tabla 1), (Tavares, G., et al. 2021).

Tejido	Parámetro metabólico	Efecto directo de la dopamina	Efecto del receptor D1	Efecto del receptor D2
TAB mesentérico	Captación de glucosa	=	=	↑
	Señalización de insulina			=
	Señalización de AMPK			=
	Almacenamiento de lípidos			↑
TAB del epidídimo	Captación de glucosa	=	=	=
	Señalización de insulina			=
	Señalización de AMPK			
	Almacenamiento de lípidos			↑
Hígado	Captación de glucosa	=	=	↑↑
	Señalización de insulina	=		=
	Señalización de AMPK	↑		↑
Músculo	Captación de glucosa	↑	↑↑	=
	Señalización de insulina	↑	=	↑
	Señalización de AMPK	↑	=	↑

Tabla1. Efectos de la dopamina en órganos periféricos e implicación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 (Traducido y adaptado de Tavares, G., et al., 2021).

II.8 Sulpirida

La sulpirida es un fármaco antagonista de los receptores de dopamina D₂. Se utiliza en el tratamiento de esquizofrenia, neurosis y depresión (Kim, et al., 2018), también se clasifica como un fármaco procinético que promueve la movilidad gastrointestinal (Mansi C, et al. 1995; Kim D, et al. 2019) y que tiene efectos anti-ulcerantes en el tracto gastrointestinal (Desai JK, et al. 1994). Dada su capacidad de antagonizar los efectos de la dopamina, la sulpirida eleva los niveles de PRL generando un estado de hiperprolactinemia (Radojkovic, et al. 2018). Esto lo hace actuando en los receptores de tipo D₂ en los lactotrofos hipofisarios y de esta manera bloqueando la acción inhibitoria de la dopamina sobre la secreción de PRL, cuyo mecanismo es a través de la activación de los receptores D₂ de dopamina acoplados a proteína G (con acción inhibitoria) presentes en los lactotrofos, estos, a través de la vía de cAMP, inducen una inhibición tónica de la secreción de PRL (Phillips, R.H., et al. 2020).

Estudios en ratas macho alimentadas con una DO (alta en grasa) muestran que la administración de sulpirida no afecta el peso corporal; sin embargo, tiene un efecto hiperglucemiante e hiperinsulinémico que correlaciona con niveles elevados de PRL, mientras que no genera cambios en otras hormonas como testosterona, T₄, T₃, TG y DHEA-S (Baptista, et al. 2002). Por otra parte, en ratas hembra la sulpirida aumenta la masa corporal y disminuye los niveles de insulina, pero no altera los niveles de glucosa (Baptista, et al. 1998). Estos autores concluyeron que en machos la sulpirida no afecta el peso corporal, pero dispara un patrón metabólico que sugiere una resistencia a la insulina; y en hembras que el aumento de peso propiciado por el tratamiento con sulpirida no está dado por un efecto hiperinsulinémico o resistencia a la insulina. A pesar de que estos resultados son obtenidos de un modelo diseñado para generar efectos adversos mediante el uso conjunto de la sulpirida y la DO, son de los primeros estudios donde se evaluaron los efectos de la sulpirida en parámetros metabólicos relacionados con el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratas con dieta alta en grasas.

En concordancia con Baptista, un estudio realizado en ratas hembra obesas tratadas con sulpirida, mostró que la administración de sulpirida derivó en un aumento en el peso corporal, sin embargo, no se observaron cambios en los niveles de leptina ni de insulina sérica, por lo que los autores proponen que el aumento de peso acompañado de niveles normales de leptina e insulina podría estar relacionado con otros mecanismos como la hiperprolactinemia o el hipogonadismo (LaCruz, et al. 2000).

Por otra parte, en un estudio reciente realizado en ratas macho delgadas se analizó el efecto de la sulpirida en el metabolismo de la glucosa y la funcionalidad del hígado y el TAB. Los resultados mostraron que la sulpirida induce hígado graso y además, estimula la fosforilación de serina 307 en IRS1 (sustrato del receptor de insulina tipo 1) que medía la resistencia a la insulina en el tejido adiposo, por lo que este incrementa la liberación de ácidos grasos libres a la circulación, lo que podría explicar la acumulación ectópica de ácidos grasos en el hígado. También encontraron que el co-tratamiento con bromocriptina (agonista de dopamina) disminuye los niveles de PRL y previene la resistencia a la insulina y el hígado graso en ratas delgadas (Zhou, et al. 2018).

Por otra parte, la administración de sulpirida (10 mg/kg) en ratones C57BL/6 macho no induce un efecto hiperglucemiante, ni inhibe el transporte de glucosa en un cultivo celular con células PC12 (Dwyer & Donohoe, 2003). Hasta donde se ha investigado, no se han encontrado estudios que muestren los efectos metabólicos de la sulpirida en pacientes con obesidad. Los efectos de la sulpirida difieren dependiendo de las dosis utilizadas como tratamiento para distintos padecimientos, ya que se requiere una dosis elevada para generar los efectos antipsicóticos (> a 1000 mg/día en humanos), que es donde en conjunto se reportan efectos adversos al metabolismo (Zhou, et al. 2018), mientras que las dosis utilizadas en el tratamiento contra la gastroparesia son bajas (< a 100 mg/ día en humanos) y sin reportes de efectos adversos (Kim, D. et al. 2019; Wagstaff, A. et al. 1994).

Hasta donde se investigó, existen pocos estudios evaluando los efectos metabólicos de la sulpirida en hembras, y además los resultados son contradictorios respecto a los efectos que la sulpirida tiene en la regulación de parámetros metabólicos como el peso corporal, ingesta calórica y niveles séricos de glucosa. En un estudio con ratas Wistar hembras que se trataron con sulpirida junto con una dieta obesogénica (como modelo

de alteraciones metabólicas generadas por antipsicóticos), el tratamiento con 20 mg/kg de sulpirida durante 10 días mostró un aumento en la ganancia de peso y una disminución en los niveles de insulina sin alteraciones en los niveles de glucosa (Baptista, et al. 1998). Por otro lado, en un estudio donde también se utilizaron ratas Wistar hembras lactantes con una dieta estándar, y el tratamiento con sulpirida consistió en dos dosis: 2.5 mg/kg y 25 mg/kg durante los 21 días de la gestación. En estas condiciones, se observó que ninguna de las dosis produjo cambios en el peso corporal ni en la ingesta de alimentos (Vieira, et al., 2013), mientras que en ratas Wistar hembras nulíparas con una dieta estándar, donde se utilizaron dos dosis de sulpirida 20 y 40 mg/Kg, se observó que la dosis de 20 mg/kg incrementó los niveles de PRL alrededor de 160 ng/mL pero no generó alteraciones en el peso corporal. Por el contrario, con la dosis de 40 mg/kg de sulpirida se incrementaron los niveles de PRL a más de 200 ng/mL, y esta dosis mostró un efecto de disminución en el peso corporal de las hembras (Mostafapour, et al., 2014).

Hasta el momento de esta investigación no hay estudios evaluando los efectos de la sulpirida en la homeostasis metabólica en condiciones de obesidad en ratones, sin embargo, hay un estudio realizado en ratonas albinas donde se administraron 3 dosis de sulpirida 3 (10, 20 y 40 mg/kg) y se evaluó la ingesta de alimento en 3 tiempos (1 h, 2 h y 3 h). Los resultados mostraron que solo con la dosis de 10 mg/Kg se incrementó la ingesta de alimento en comparación con el grupo control, mientras que las dosis de 20 y 40 mg/kg no tuvieron efectos sobre la ingesta calórica. En este estudio no se evaluaron otros parámetros metabólicos (Kaur, G. & Kulkarni, S. 2002).

En mujeres, un estudio realizado por Baptista y cols. mostró que la administración diaria de 200 mg/día de sulpirida durante 28 días incrementó los niveles de PRL dependiendo del día del ciclo menstrual. En el día 3 los niveles fueron de 90.7 ± 17 ng/mL, en los días 10 y 20 los niveles fueron alrededor de 160 ng/mL y en el día 26 del ciclo menstrual a 245 ± 39 ng/mL. El área bajo la curva de glucosa mostró un incremento derivado del tratamiento con sulpirida, mientras que no hubo alteraciones en el área bajo la curva de insulina. Además, la sulpirida no mostró alteraciones en el peso corporal, ni en hormonas tiroideas y cortisol, así como tampoco en triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL ni LDL (Baptista, T. et al. 1997).

III. JUSTIFICACIÓN

La disfunción del tejido adiposo subyace a la resistencia a la insulina y al desarrollo de comorbilidades derivadas de la obesidad, por lo tanto, contrarrestar la disfuncionalidad del tejido adiposo y sus efectos adversos es de relevancia terapéutica. La PRL juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis metabólica y en la funcionalidad del tejido adiposo, y elevar los niveles de PRL en condiciones de obesidad mejora la funcionalidad del tejido adiposo. Consecuentemente, el uso de fármacos que eleven los niveles de PRL sérica podría tener una acción metabólica benéfica. Dado su efecto incrementando los niveles de PRL y sus propiedades como procinético, la sulpirida podría ejercer efectos metabólicos benéficos.

Por tal motivo, en este proyecto se evaluaron los efectos de la sulpirida en el metabolismo de la glucosa y la insulina, así como en el tejido adiposo de ratones macho y hembra, tanto delgados como obesos, y los mecanismos involucrados en tales efectos.

IV. HIPÓTESIS

H₁: El incremento de los niveles circulantes de PRL, promovido por la sulpirida, favorece la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina sistémicas, y contrarresta la disfuncionalidad del tejido adiposo en ratones obesos macho y hembra.

V. OBJETIVOS

V.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del incremento de los niveles de PRL promovido por la sulpirida en el metabolismo de la glucosa, la sensibilidad a la insulina y la funcionalidad del tejido adiposo, así como elucidar los posibles mecanismos que median estos efectos en condiciones de obesidad.

V.2 Objetivos Específicos

1. Encontrar la dosis mínima de sulpirida que incrementa los niveles de prolactina en ratones macho.
2. Evaluar el efecto de la sulpirida en la tolerancia a la glucosa, en la sensibilidad a la insulina y en la funcionalidad del tejido adiposo en ratones macho y hembra alimentados con dieta alta en grasa.
3. Evaluar si los efectos de la sulpirida en la tolerancia a la glucosa y en la sensibilidad a la insulina, así como en la funcionalidad del tejido adiposo están mediados por la prolactina/receptor de prolactina utilizando ratones macho y hembra nulos para el receptor de prolactina alimentados con dieta alta en grasa.

VI. MÉTODOS

VI.1 Evaluación de los efectos del fármaco sulpirida en ratones macho y hembra obesos

VI.1.1 Animales

Ratones macho y hembra de la cepa C57BL/6 fueron alojados a 22 °C en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas/12 horas con acceso libre a comida y agua en el Laboratorio Universitario de Bioterio del Instituto de Neurobiología, UNAM, Campus Juriquilla. De igual manera se utilizaron ratones macho y hembra C57BL/6 de (8 semanas de edad), nulos para el gen del receptor de PRL (Prlr^{-/-}). La colonia de ratones nulos para el receptor de prolactina ha sido expandida y mantenida durante muchas generaciones en el vivero de nuestro Instituto y se inició originalmente a partir de ratones Prlr^{-/+} en un fondo C57BL/6, obtenidos del The Jackson Laboratory. Todos los estudios fueron aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (Números de protocolo 075 y 033), que cumple con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicada por los Institutos Nacionales de Salud de EE.UU.

VI.1.2 Curva dosis-respuesta de sulpirida

Para determinar la dosis mínima de sulpirida que mejor eleva los niveles de PRL en ratones macho C57BL/6 se realizó una curva con las siguientes dosis: 10, 20, 30, y 40 mg/kg. Se utilizaron 4 ratones macho por cada dosis, a estos se les administró sulpirida intraperitoneal (ip) durante 4 días. Al final se realizó el sacrificio 2 h después de la última inyección de sulpirida y se obtuvo suero sanguíneo para medir niveles de PRL por un inmunoensayo.

VI.1.3 Tratamiento con sulpirida en ratones obesos

Ratones macho y hembra adultos (8 semanas), de la cepa C57BL/6 se dividieron en dos grupos los cuales se alimentaron con dos tipos de dieta: dieta control (DC) y dieta obesogénica (DO). A su vez, por cada dieta se formaron dos grupos, uno tratado con sulpirida y otro con solución vehículo como control (solución salina 9%). Los animales se mantuvieron en su respectiva dieta (DC o DO) durante 4 semanas *ad libitum* sin tratamiento. A partir de la quinta semana se inició el tratamiento con inyecciones ip diarias de sulpirida, administrando una dosis de 30 mg/kg por un periodo de 4

semanas, al término de las cuales los animales se sacrificaron para obtener suero sanguíneo y los órganos: TA visceral, TA subcutáneo, hígado, páncreas y músculo.

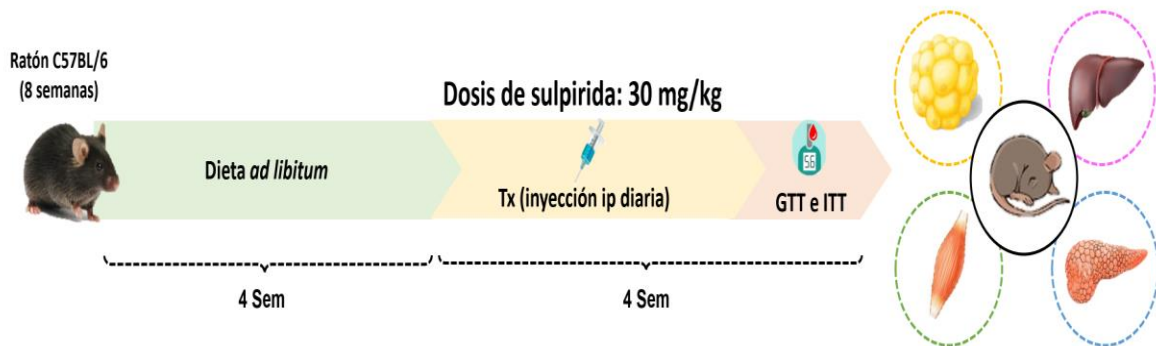


Figura 4. Diseño experimental del tratamiento con sulpirida en ratones (C57BL/6) obesos

VI.1.4 Ensayos de tolerancia a la glucosa (ETG) y a la insulina (ETI)

El ETG se evaluó en la séptima semana de dieta. Previo al ensayo se les retiró la comida a los animales por un periodo de 4 h después de las cuales se midieron los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) en distintos tiempos: antes de una inyección de glucosa intraperitoneal (2 mg/kg) y después de la aplicación de esta (tiempos: 0, estímulo, 15, 30, 60, 90 y 120 min).

El ETI se realizó también en la séptima semana de dieta. Con un ayuno de 2 h después de las cuales se midieron los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) a distintos tiempos: antes de una inyección de insulina intraperitoneal (1.5 Ui/kg) y después de la aplicación de esta (tiempos: 0, estímulo, 15, 30, 60, 90 y 120 min). La sangre se obtuvo de la vena de la cola y se midió utilizando tiras reactivas para glucosa.

VI.1.5 Disección de tejidos

El sacrificio de los ratones se realizó por inhalación de CO₂ (hielo seco), inmediatamente después se obtuvo el suero de la sangre, así como el TAB (visceral y subcutáneo), el páncreas, el hígado y el músculo. Con estas muestras se realizaron análisis de histología, así como la extracción de ARNm para buscar genes de interés y comparar diferencias entre dietas y tratamientos.

VI.1.6 Niveles de glucosa, insulina y PRL circulantes

Los niveles de glucosa se midieron en condiciones de ayuno (4 h sin alimento) y posprandial (2 h sin alimento) utilizando tiras reactivas de glucosa (Accu-Check Active, 07124112, Roche, Mannheim, Germany), los niveles de insulina circulante se realizaron con el kit de uELISA ultrasensible para insulina de ratón (Crystal Chem) y los niveles de PRL circulante se realizaron por ensayo de uELISA específica para PRL de ratón (Guillou A, et al. 2015).

VI.1.7 Niveles de lípidos en suero

Los triglicéridos (TG) se midieron utilizando un kit de ensayo colorimétrico (10010303-96, Cayman Chem, Ann Arbor, MI); los ácidos grasos libres (AGL) en suero se midieron utilizando el kit de cuantificación de AGL (MAK044-1KT, Sigma-Aldrich, Burlington, MA); el glicerol en suero se midió utilizando el kit de ensayo de glicerol (MAK117-1KT, Sigma-Aldrich), Los niveles de glucagón se evaluaron utilizando un kit de ELISA para Glucagón en ratones (81518, Crystal Chem, Elk Grove Village, IL).

VI.1.8 Histología de tejidos

El TAB visceral y el subcutáneo de los ratones se fijaron en formalina al 10%, y luego de esta fijación, las muestras se deshidrataron con solventes orgánicos (etanol: a 60 % (1 h), a 70% (1h), a 80% (1 h), a 96% (1 h), absoluto (2 h), etanol 50 % + xileno 50% (1 h), xileno (2 h)) y se incluyeron en parafina (2 h). Con los tejidos incluidos en bloques de parafina se realizaron cortes de 7 μ m de grosor. Por último, los cortes se tiñeron con hematoxilina/eosina y se evaluó el tamaño y número de adipocitos usando el software ImageJ. Se analizaron 9 campos distintos por cada corte histológico de cada ratón.

VI.1.9 Expresión génica

Se realizó la extracción de ARNm de los tejidos y órganos metabólicos obtenidos, para cuantificar mediante qPCR la expresión de genes involucrados con la homeostasis metabólica de los ratones. Para evaluar la funcionalidad de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo se evaluaron los genes de *Prlr*, *Glut4*, *InsR* y *Hif1 α* y en hígado se evaluaron los genes *G6Pasa* y *Pepck*. Como gen de expresión constitutiva o “casero” *Tbp*.

VI.1.10 Niveles de triglicéridos en hígado y páncreas

Se recolectaron muestras de hígado y páncreas y se almacenaron a -80 °C, luego se homogeneizaron 150-200 mg de cada tejido y se utilizaron para la cuantificación de triglicéridos con un kit de ensayo colorimétrico de triglicéridos (10010303-96, Cayman Chem).

VI.1.11 Niveles de glucógeno en hígado y músculo

Se recolectaron muestras de hígado y músculo esquelético (gastrocnemio) de animales con un ayuno de 4 horas y se almacenaron a -80°C. Los tejidos homogeneizados se utilizaron para medir el contenido de glucógeno con un kit de ensayo colorimétrico (700480, Cayman Chem, Ann Arbor, MI).

VI.1.12 Medición de la composición corporal por resonancia magnética

La composición corporal se midió mediante imágenes por resonancia magnética (IRM) en ratones macho que fueron anestesiados y monitoreados. Se colocaron en una posición con el dorso hacia la camilla e inmovilización de la cabeza para obtener cortes coronales de cuerpo completo. Se determinó la composición corporal midiendo la grasa subcutánea y abdominal, así como los músculos de brazos y piernas utilizando IRM. Las imágenes se adquirieron utilizando un escáner de resonancia magnética de 7.0 T, con una secuencia de pulso de imagen eco-planar, imágenes T2 altamente ponderadas (TR = 2 s). Se adquirieron un total de 52 cortes con un grosor de corte de 400 µm.

VI.1.13 Estadística

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software GraphPad Prism 8.3 realizando análisis de varianza (ANDEVA) corregidas por el método Bonferroni, así como pruebas t de Student dependiendo del análisis que se requirió. Los niveles de significancia son cuando el valor de $p < 0.05$.

VII. RESULTADOS

VII.1 La sulpirida incrementa los niveles de PRL en ratones macho en forma dosis-dependiente

Todas las dosis de sulpirida (10, 20, 30 y 40 mg/kg) administradas durante 4 días consecutivos en ratones macho incrementaron significativamente los niveles de PRL sistémica en comparación con el grupo control (solución salina) ($F = 3.14 \text{ e-}09$, $p < 0.0001$). Las dosis que promovieron un mayor incremento en los niveles de PRL sistémica fueron las dosis de 30 mg/kg (media = $59.7 \pm 4.4 \text{ } \mu\text{g/L}$, $p < 0.0001$) y 40 mg/kg (media = $57 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 3.6$, $p < 0.0001$), y se observó que no hubo una diferencia significativa en los niveles de PRL entre estas dosis ($t = 1.078$, $p = 0.302$), por lo tanto, la dosis mínima con el mayor efecto fue la de 30 mg/kg, misma que se determinó como la óptima para realizar el diseño experimental con ratones macho obesos (Figura 5).

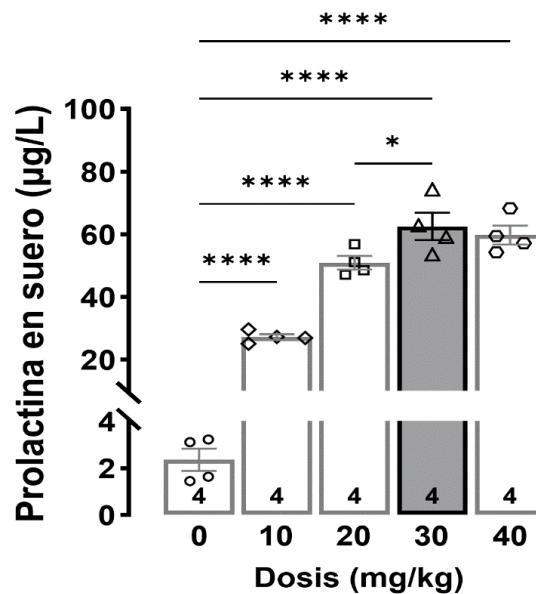


Figura 5. Curva dosis-respuesta de sulpirida. Niveles de PRL en el suero de ratones macho C57BL/6 tratados con distintas dosis de sulpirida. Cuantificación realizada mediante uELISA. Tratamiento: ip por 4 días consecutivos. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

VII.2 La administración de una dieta obesogénica durante 4 semanas eleva el peso corporal y la glucemia en ratones macho

Una vez determinada la dosis de sulpirida, se inició el diseño experimental y se encontró que la DO consumida durante 4 semanas aumentó significativamente el peso corporal de los ratones macho comparado con el peso corporal del grupo de ratones en DC ($t = 10.07$, $p < 0.0001$), (Figura 6, A). De igual manera, el grupo alimentado con DO presentó un incremento de su glucemia a las 4 semanas de consumo comparado con el grupo en DC ($t = 9.99$, $p < 0.0001$), (Figura 6, B).

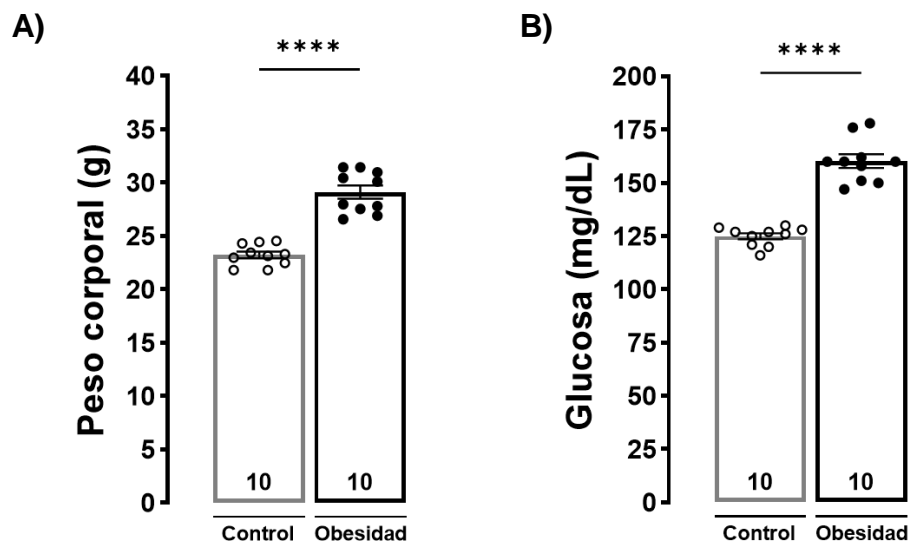


Figura 6. La dieta alta en grasa aumenta el peso corporal y la glucemia de ratones macho a partir de las 4 semanas. A) Peso corporal de ratones macho. B) Niveles de glucosa sistémica. Control (dieta control), Obesidad (dieta obesogénica). Números en barras (muestra). **** $p < 0.0001$

VII.3 El tratamiento con sulpirida durante 4 semanas incrementa los niveles séricos de PRL sin afectar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones macho tanto delgados como en los obesos.

La administración ip de sulpirida (30 mg/kg) incrementó los niveles de PRL sistémica en los ratones macho. En ratones delgados, el tratamiento con sulpirida incrementó 6 veces los niveles de PRL circulante en comparación con los ratones tratados con solución salina (**Control** = 9.2 ± 1.1 $\mu\text{g/L}$ vs **Control + sulpirida** = 69.8 ± 10.1 $\mu\text{g/L}$, $p < 0.0001$). De similar manera, en ratones obesos la sulpirida incremento 11 veces los

niveles de PRL circulante en comparación con los ratones obesos tratados con solución salina (**Obesidad** = $5.9 \pm 0.8 \mu\text{g/L}$ vs **Obesidad + sulpirida** = $74.6 \pm 11.5 \mu\text{g/L}$, $p < 0.0001$). Los niveles de PRL en ratones delgados y obesos tratados con sulpirida no fueron diferentes (**Control + sulpirida** = $69.8 \pm 10.1 \mu\text{g/L}$ vs **Obesidad + sulpirida** = $74.6 \pm 11.5 \mu\text{g/L}$, $p = 0.65$), sin embargo, la mayor magnitud del efecto de la sulpirida incrementando los niveles de PRL en los ratones obesos con respecto a los delgados, se debe a que los ratones obesos presentaron niveles de PRL significativamente más bajos que los ratones en dieta control (Figura 7 A), lo que confirma resultados publicados por nuestro grupo (Ruiz-Herrera, 2017).

Los ratones con dieta obesogénica aumentaron su masa corporal en comparación con los ratones control ($F = 44.7$, $p < 0.0001$), sin embargo, se pudo observar que la administración de sulpirida no afectó el peso corporal (**Control** (Vehículo vs sulpirida): $p = 0.99$; **Obesidad** (Vehículo vs sulpirida): $p = 0.99$), en ninguna de las dietas (Figura 7, B). También se observó que la ingesta de alimento no se vio afectada por el tratamiento con sulpirida (**Control** (Vehículo vs sulpirida): $p = 0.54$, **Obesidad** (Vehículo vs sulpirida): $p = 0.90$) en ninguna de las dietas, aunque por otro lado, como era de esperar, sí hubo un aumento en la cantidad de calorías ingeridas por tipo de dieta, siendo mayor el número de calorías ingeridas por los grupos en dieta obesogénica, en comparación con el grupo alimentado con una dieta control ($F = 5.327$, $p < 0.001$), (Figura 7. C).

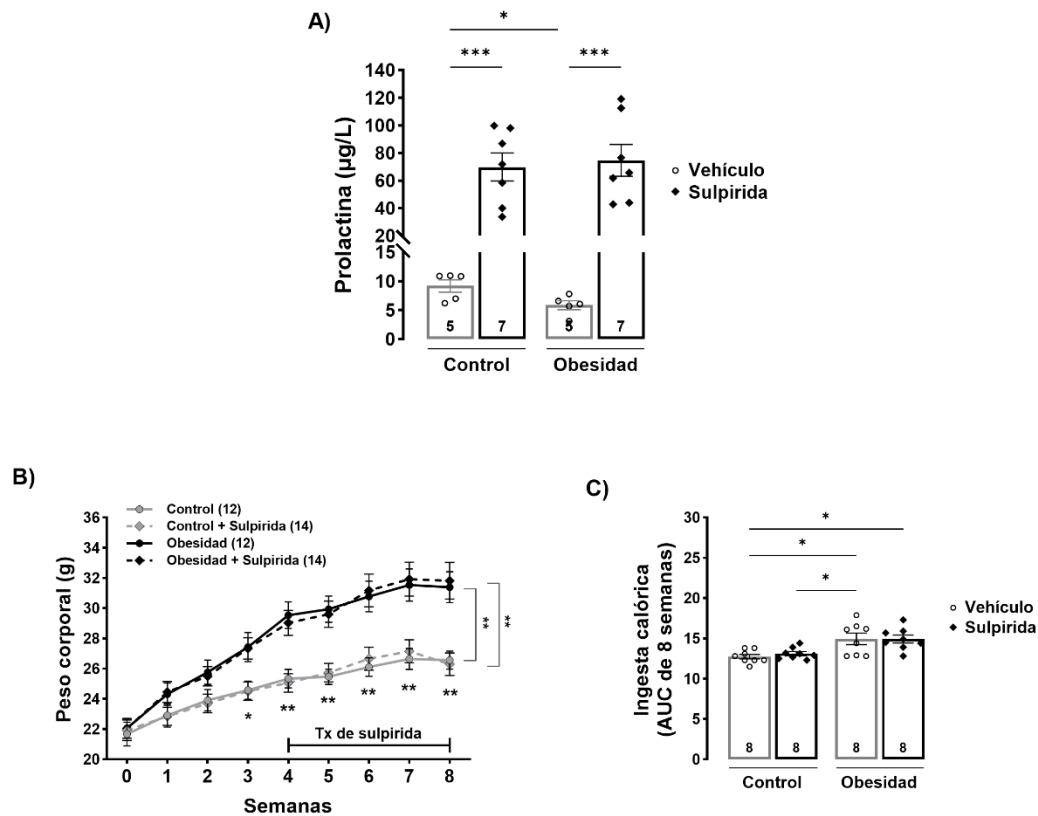


Figura 7. La sulpirida aumenta los niveles de PRL sin alterar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones macho. A) Niveles de PRL sérica evaluados por uELISA. **B)** Ganancia de peso corporal durante 8 semanas en ratones macho tratados con sulpirida 4 semanas **C)** Ingesta calórica de ratones macho tratados con sulpirida 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

VII.4 La sulpirida promueve la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratones macho obesos

Para evaluar el efecto de la sulpirida en el metabolismo de la glucosa, se expuso a los ratones a un estímulo ip de glucosa (ETG) y se registraron los cambios en los niveles de glucosa con respecto al tiempo. Se observó que la sulpirida tiene un efecto reduciendo la glucemia tanto en condiciones de peso normal como de obesidad. Después del estímulo glucémico en el **grupo obeso** se observó una disminución retardada de los niveles de glucosa comparada con los **ratones delgados** (minutos 60, 90 y 120: $p < 0.01$), lo que indica intolerancia a la glucosa, mientras que el **grupo obeso tratado con sulpirida** presentó una disminución más rápida de sus niveles de glucosa que el **grupo obeso** (minutos 60, 90 y 120: $p < 0.01$), lo que indica un aumento de la tolerancia a la glucosa promovido por la sulpirida. El mismo efecto se observó

en el **grupo control**, donde el tratamiento con sulpirida resultó en una mayor disminución de los niveles de glucosa en comparación con el grupo en **control sin tratamiento** (minutos 15, 30 y 60: $p < 0.01$) (Figura 8, A).

De manera interesante, al analizar los niveles de glucosa basales de los animales, se observó que la sulpirida tuvo un efecto hipoglucemiante. En ayuno (4 h) se observó que los ratones en DO presentaron mayores niveles de glucosa que los ratones delgados (**Control** = 117.3 ± 2.1 mg/dL vs **Obesidad** = 162.9 ± 6.0 mg/dL); y que los animales obesos tratados con sulpirida presentaron menor glucemia que el grupo obeso (**Obesidad** = 162.9 ± 6.0 mg/dL vs **Obesidad + sulpirida** = 131.5 ± 5.0 mg/dL), (Figura 8, B).

Además, en condiciones posprandiales (2 h) la sulpirida mostró tener un efecto hipoglucemiante tanto en los controles (**Control** = 138.3 ± 3.2 mg/dL vs **Control + sulpirida** = 116.9 ± 5.0 mg/dL) como en los ratones obesos (**Obesidad** = 172.3 ± 5.4 mg/dL vs **Obesidad + sulpirida** = 153.7 ± 3.7 mg/dL), lo que podría indicar que la sulpirida promueve una mayor captación de la glucosa cuando esta se eleva durante el estado postprandial (Figura 8, B). Esta disminución en la glucemia promovida por la sulpirida pudiera estar relacionada con una mayor producción de insulina o una mayor sensibilidad a la insulina, por lo que estos factores fueron evaluados posteriormente.

Para determinar si el efecto normoglucemiante de la sulpirida en los ratones macho estaba relacionado con un mayor incremento en los niveles de insulina o con una mejora en la sensibilidad a la misma, se realizó un ensayo de tolerancia a insulina y se evaluaron los niveles de insulina circulante, así como el índice de HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance).

En el ensayo de sensibilidad a la insulina (ETI), se expuso a los ratones a un estímulo ip de insulina (1.5 UI/Kg) y se registraron los cambios en los niveles de glucosa con respecto al tiempo. Se observó que la sulpirida tiene un efecto de mejora de la sensibilidad a la insulina tanto en condiciones de peso normal como de obesidad. Después del estímulo de insulina en el **grupo obeso** se observó una disminución retardada (minuto 15, $p < 0.01$), y una recuperación más rápida (minuto 120, $p < 0.01$) de los niveles de glucosa comparada con los **ratones delgados**, lo que indica una menor sensibilidad a la insulina o resistencia a esta, mientras que el **grupo obeso**

tratado con sulpirida presentó una disminución más rápida (minutos 15, $p < 0.01$) y una recuperación más lenta (minuto 120, $p < 0.01$) de los niveles de glucosa que el **grupo obeso**, lo que indica una mejora de la sensibilidad a la insulina promovido por la sulpirida. El mismo efecto de la sulpirida se observó en **animales delgados** que fueron tratados con sulpirida donde hubo una mayor disminución de los niveles de glucosa que en el grupo de **ratones delgados sin tratamiento** (minuto 15, $p < 0.01$) (Figura 8, C).

En cuanto a la posibilidad de que la sulpirida estuviera elevando los niveles de insulina, se observó que los niveles de insulina están incrementados en ratones obesos comparados con ratones delgados (**Control** = 0.57 ± 0.06 ng/mL vs **Obesidad** = 1.64 ± 0.25 ng/mL), lo que coincide con la resistencia a la insulina, mientras que la sulpirida redujo los niveles de insulina circulante en los ratones obesos sin equiparar a los ratones control (media = 1.2 ± 0.11 ng/mL), en concordancia con la mayor sensibilidad a la insulina observada en estos animales. Por otra parte, en los ratones delgados tratados con sulpirida (media = 0.61 ± 0.05) no hubo ningún efecto en los niveles de insulina (Figura 8, D). Menores niveles de insulina en asociación con niveles reducidos de glucosa indicaron un efecto favoreciendo la sensibilidad a la insulina, lo que confirmamos al evaluar el índice HOMA-IR que reportó un valor de resistencia a la insulina. Este análisis mostró valores menores en los ratones obesos tratados con sulpirida comparado con los ratones obesos sin tratamiento (**Obesidad** = 16.3 ± 2.4 vs **Obesidad + sulpirida** = 10.6 ± 1.0). Por otro lado, en los ratones delgados, la sulpirida no generó cambios en los niveles de insulina sistémica, ni en el índice de resistencia a insulina (HOMA-IR), (Figura 8, D). Estos datos nos indican que la sulpirida disminuye los niveles de insulina sistémica además de reducir la resistencia a la insulina en ratones obesos.

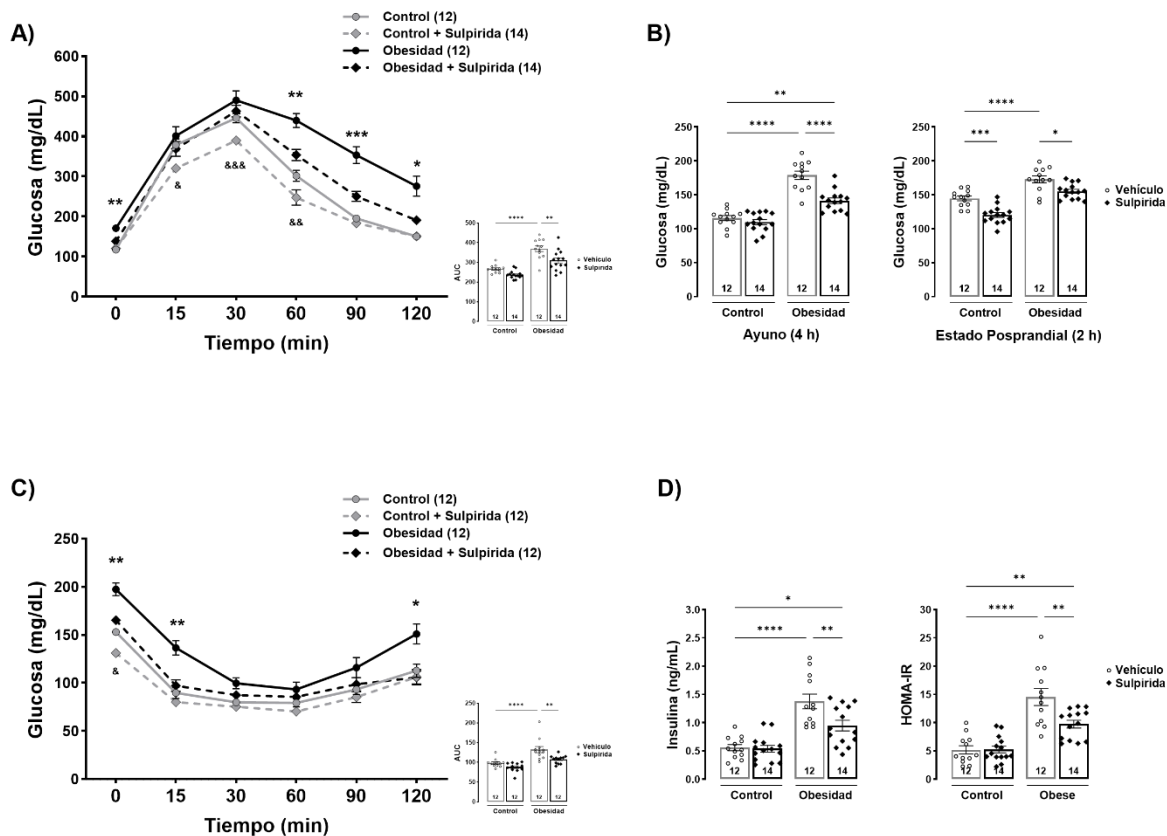


Figura 8. La sulpirida promueve la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratones macho obesos. A) Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **B)** Niveles basales de glucosa en ayuno (4 h) y en estado posprandial (2 h). **C)** Ensayo de tolerancia a insulina en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **D)** Niveles de insulina en ayuno (4 h) e índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR). Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

VII.5 La sulpirida mejora el perfil lipídico de los ratones macho al disminuir los triglicéridos en suero y páncreas, sin embargo, no afecta los niveles de triglicéridos hepáticos.

La dieta obesogénica promovió un aumento de los niveles séricos de triglicéridos (Obesidad = 160.3 mg/dL vs Control = 118 mg/dL), AGL (Obesidad = 0.06 nmol/uL vs Control = 0.04 nmol/uL), glicerol (Obesidad = 3.1 mg /dL vs Control = 1,9 mg/dL) y colesterol total (Obesidad = 154.2 mg/dL vs Control = 57.1 m/dL) en comparación con la dieta control. Además, la dieta obesogénica produjo una acumulación de triglicéridos tanto en el hígado (Obesidad = 162.5 mg/dL vs Control = 109.5 mg/dL)

como en el páncreas (Obesidad = 66.8 mg/dL vs Control = 17.23 mg/dL) en comparación con la dieta control. La sulpirida disminuyó los niveles de triglicéridos en suero (117.5 mg/dl) y en el páncreas (37.6 mg/dl) en ratones obesos, y no tuvo efecto sobre los niveles séricos de AGL, glicerol o colesterol total, así como en los triglicéridos en el hígado (Figura 9, A, B y C).

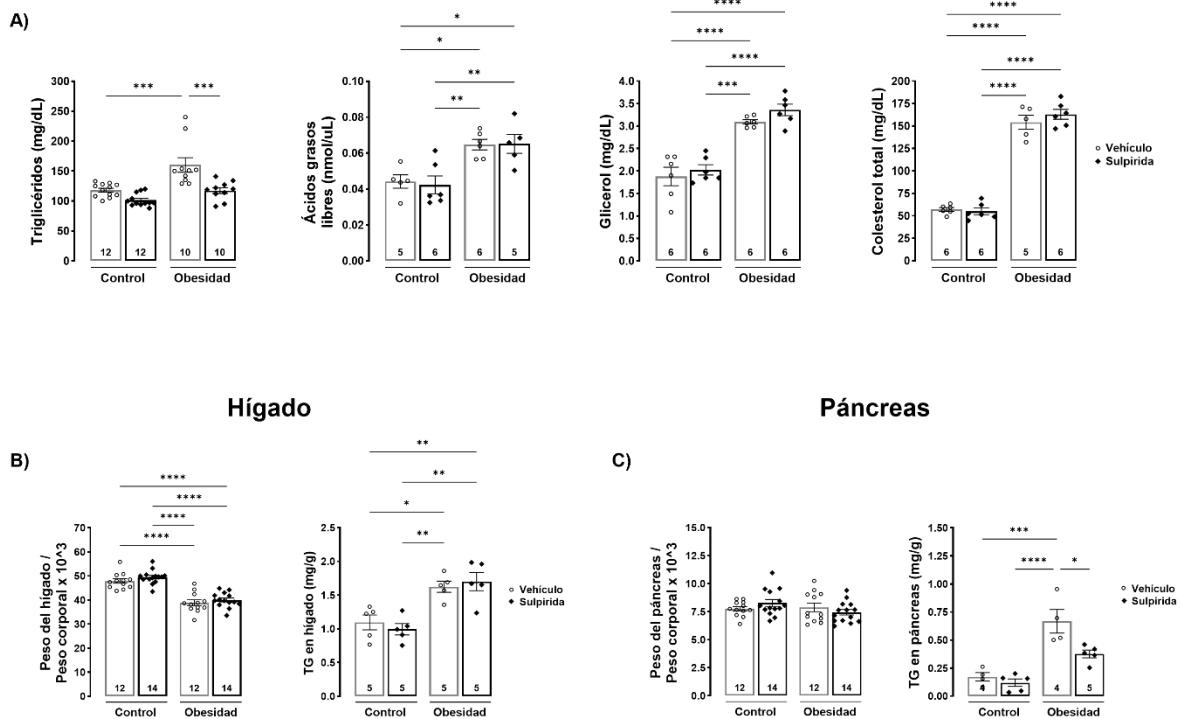


Figure 9. La sulpirida disminuye los triglicéridos séricos y en páncreas en ratones macho obesos. A) Triglicéridos, AGL, glicerol y colesterol total en suero medidos en ratones macho obesos tratados con sulpirida durante 4 semanas. **B)** Triglicéridos en hígado y **C)** páncreas medidos por ensayos colorimétricos después de 4 semanas de tratamiento con sulpirida. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

VII.6 La sulpirida no afecta el peso del tejido ni el número de adipocitos del TAB visceral de ratones macho

Los efectos de la sulpirida disminuyendo los niveles de glucosa y de insulina podrían deberse entre otros factores a una mejor función metabólica del TAB, ya que como se mencionó anteriormente este tejido es central en el metabolismo de la glucosa y los lípidos. Al evaluar el TAB visceral (TAV), encontramos que la dieta obesogénica

incrementó la masa adiposa comparado con la dieta control (**Control** = 9.21 ± 0.74 vs **Obesidad** = 33.24 ± 2.64), sin embargo, la sulpirida no afectó el peso del TAV ni en la dieta control (**Vehículo** = 9.21 ± 0.74 vs **sulpirida** = 9.64 ± 0.43) así como tampoco en la obesidad (**Vehículo** = 33.24 ± 2.64 vs **sulpirida** = 32.77 ± 2.95), (Figura 10, A), lo que era de esperarse ya que tampoco se encontraron efectos de la sulpirida en el peso corporal (Figura 7, B). Aunque no se encontraron diferencias en el peso del TAV, evaluamos si la expansión de este había sido por hipertrofia (expansión no saludable) o por hiperplasia (expansión saludable) y si estos procesos de expansión pudieran verse afectados por la sulpirida. Al evaluar el número de adipocitos (crecimiento por hipertrofia) encontramos que la sulpirida no afecta el número de adipocitos en ninguna de las dietas (**Control** = 0.26 ± 0.02 vs **Control + sulpirida** = 0.29 ± 0.03 , $p > 0.99$, **Obesidad** = 0.39 ± 0.05 vs **Obesidad + sulpirida** = 0.56 ± 0.08 , $p = 0.1364$). Sin embargo, se encontró una diferencia significativa entre los ratones delgados sin tratamiento y los ratones obesos tratados con sulpirida ($t = 0.1314$, $p < 0.001$) señalando posiblemente un menor tamaño de los adipocitos en el grupo obeso tratado con sulpirida (Figura 10, C).

Al medir el área de los adipocitos se encontró que los ratones obesos presentan mayor hipertrofia que los ratones delgados (**Control** = $929.43 \pm 36.23 \mu\text{m}^2$ vs **Obesidad** = $4288.05 \pm 409 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$), mientras que la administración de sulpirida disminuye significativamente el área de los adipocitos de ratones obesos comparados con su control (**Vehículo** = $4288 \pm 409 \mu\text{m}^2$ vs **sulpirida** = $2591.03 \pm 120.6 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$), (Figura 10, C), es decir, hay una disminución de la hipertrofia causada por la obesidad. Esta disminución se puede observar en los cortes histológicos donde los ratones obesos tratados con sulpirida presentaron adipocitos de menor tamaño que los ratones obesos sin tratamiento; mientras que en los ratones control no hay diferencia en el tamaño de los adipocitos (Figura 10, C).

Dada la disminución en el área de los adipocitos del TAV derivada del tratamiento con sulpirida, se evaluó la expresión de genes relacionados con la funcionalidad de este tejido. Observamos que, de acuerdo con lo esperado, en el tejido adiposo de los **ratones obesos**, el receptor de PRL (*Prlr*), el transportador de glucosa 4 (*Glut4*) y el receptor de insulina (*Insr*) presentaron una expresión menor que en el tejido adiposo de **ratones delgados**, lo que se asocia con la disfuncionalidad de este tejido. Mientras que, en los **ratones obesos**, la sulpirida normalizó la expresión de estos

genes, mostrando niveles similares a los de **ratones delgados**. Además, de manera interesante, la sulpirida incrementó la expresión de *Glut4* en el TAV de **ratones delgados**. Por otra parte, se observó un aumento en la expresión del factor inducible por hipoxia 1 alfa (*Hif1α*) en los **ratones obesos** en comparación con los **ratones delgados**, mientras que, de manera interesante el tratamiento con sulpirida previno este incremento. Dado que la disminución de la sensibilidad a la insulina, así como la generación de hipoxia están asociados con la disfuncionalidad del tejido adiposo, estos resultados nos muestran que la administración de sulpirida tiene un efecto disminuyendo las alteraciones del tejido adiposo en condiciones de obesidad (Figura 10, E).

En cuanto al tejido adiposo subcutáneo se mostró que la dieta obesogénica genera un incremento en el peso del tejido y que la sulpirida no altera el peso del mismo (Figura 10, A). En cuanto al tamaño de los adipocitos se observó que los ratones obesos presentaron una mayor hipertrofia adiposa que los ratones control y que el tratamiento con sulpirida disminuye el tamaño de los adipocitos indicando una disminución de la hipertrofia en condiciones de obesidad. En cuanto al número de adipocitos se observó que en los ratones control la sulpirida incrementa el número de adipocitos, pero en los ratones obesos no tiene dicho efecto aunque se pueda observar una tendencia (Figura 10, D). Al evaluar los genes relacionados con la funcionalidad del tejido adiposo subcutáneo encontramos que en los ratones obesos hay una disminución en de los genes del *Prlr* y de *Glut4*, pero el tratamiento con sulpirida no tuvo efecto en su expresión, así como tampoco en el *Insr*, y *Hif1α* donde tampoco se produjeron alteraciones derivadas de la obesidad (Figura 10, E). Con base a esto, los efectos en el tejido subcutáneo podrían estar regulados por un mecanismo distinto al del tejido adiposo visceral; sin embargo en ambos tejidos, la sulpirida tiene un efecto benéfico en la funcionalidad de los tejidos al promover la disminución de la hipertrofia de los adipocitos causada por la obesidad.

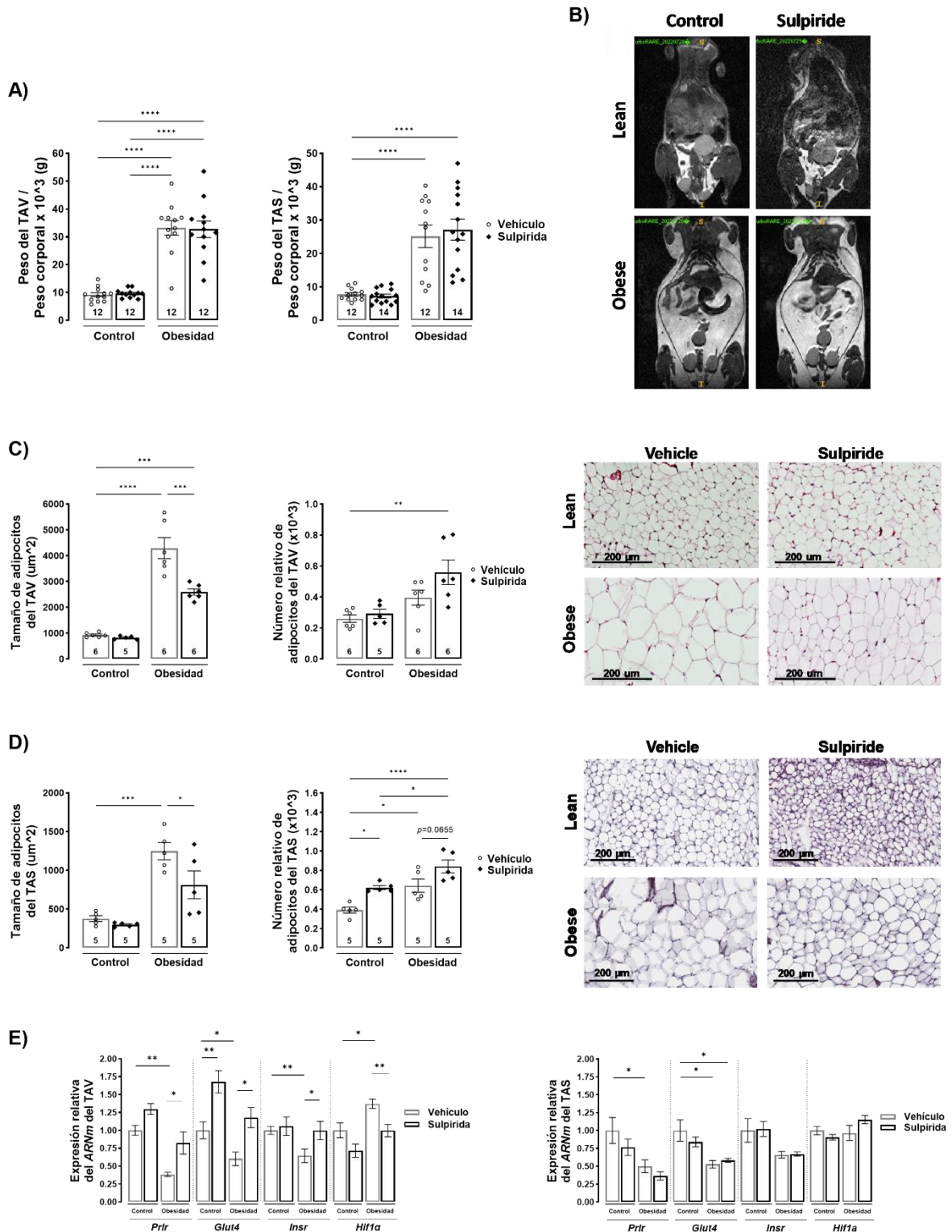


Figura 10. La sulpirida disminuye la hipertrofia de los adipocitos en los tejidos adiposos visceral y subcutáneo con distintos efectos en la expresión de genes relacionados con sensibilidad a la insulina. A) Peso corporal de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo de ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas **B)** Imágenes de resonancia magnética de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo **C)** Tamaño, número e histología (H&E) de los adipocitos del tejido adiposo visceral **D)** Tamaño, número e histología (H&E) de los adipocitos del tejido adiposo subcutáneo. **E)** Expresión de genes relacionados con funcionalidad adiposa de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

VII.7 La sulpirida incrementa el glucogeno en el músculo esquelético.

Para explorar más a fondo los posibles mecanismos por los cuales la sulpirida reduce los niveles de glucosa en ratones obesos, evaluamos los niveles de glucosa almacenada como glucógeno en ratones con 4 horas de ayuno en sus principales órganos de almacenamiento, el hígado y el músculo, de ratones delgados y obesos tratados con y sin sulpirida. Además, se evaluó la expresión génica de factores involucrados en la gluconeogénesis hepática. En el hígado, los niveles de glucógeno disminuyeron debido a la dieta obesogénica y no se alteraron por el tratamiento con sulpirida en ninguna de las condiciones dietéticas (Figura 11 A). Por otro lado, el glucógeno muscular no se alteró por la dieta obesogénica, pero aumentó con el tratamiento con sulpirida en ratones obesos (Figura 11 B), lo que indica que la sulpirida promueve el almacenamiento de glucosa en el músculo esquelético, lo que apunta a este mecanismo como uno de los mediadores del efecto de la sulpirida disminuyendo los niveles circulantes de glucosa. En cuanto a la gluconeogénesis hepática, la sulpirida no tuvo efecto en la expresión génica de las principales enzimas involucradas en este proceso: glucosa-6-fosfatasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa 1 (Figura 11 C).

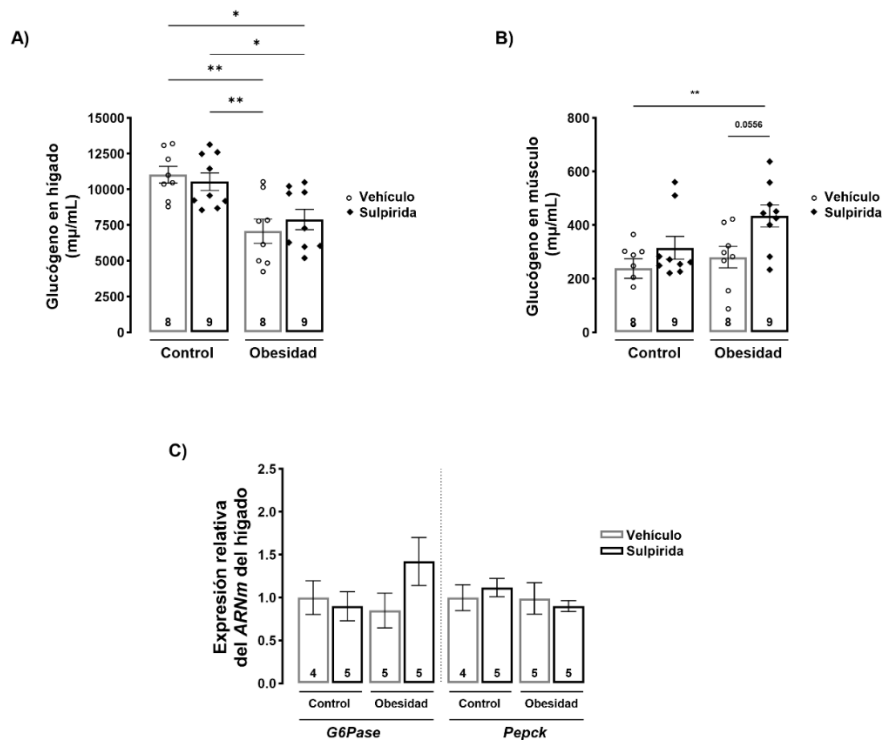


Figura 11. La sulpirida incrementa el nivel de glucógeno en el músculo esquelético de ratones macho obesos. A) Niveles de glucógeno en hígado y **B)** músculo esquelético de ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **C)** Expresión relativa de genes involucrados con gluconeogénesis en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

VII.8 La sulpirida incrementa los niveles de PRL sin afectar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones hembra.

Otro de los objetivos de este trabajo, fue comparar los efectos de la sulpirida entre ratones macho y hembras. La administración ip de sulpirida (30 mg/kg) incrementó los niveles de PRL sistémica en los ratones hembra. En **ratonas delgadas**, el tratamiento con sulpirida incrementó 22 veces los niveles de PRL circulante en comparación con las ratonas tratadas con solución salina. De manera similar, en **ratonas obesas** la sulpirida incremento 39.7 veces los niveles de PRL circulante en comparación con **las ratonas obesas tratadas** con solución salina, los niveles de PRL en **ratonas delgadas** y **obesas tratadas** obesos tratados con sulpirida no fueron diferentes (Figura 12, A).

Las ratonas con DO aumentaron su masa corporal en comparación con las ratonas en dieta control, sin embargo, se pudo observar que la administración de sulpirida no

afectó el peso corporal, en ninguna de las dietas (Figura 12, B). También se observó que la ingesta de alimento no se vio afectada por el tratamiento con sulpirida en ninguna de las dietas, aunque sí hubo un aumento en la cantidad de calorías ingeridas por tipo de dieta, siendo mayor el número de calorías ingeridas por lo grupos en dieta obesogénica, en comparación con el grupo alimentado con una DC, (Figura 12, C).

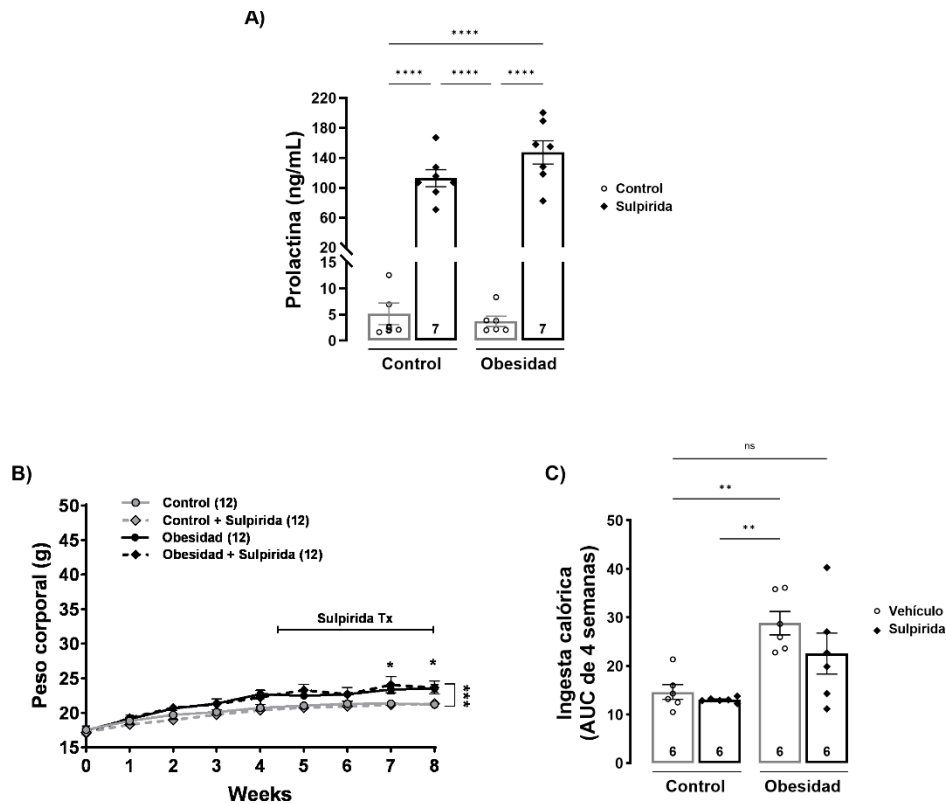


Figura 12. La sulpirida incrementa los niveles de PRL séricos sin alterar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratonas obesas. A) Niveles de PRL sérica evaluados por uELISA. **B)** Ganancia de peso corporal durante 8 semanas en ratonas hembra tratadas con sulpirida 4 semanas **C)** Ingesta calórica de ratonas hembra tratadas con sulpirida 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

VII.9 La sulpirida promueve la tolerancia a la glucosa sin alterar la sensibilidad a la insulina en ratonas hembra obesas.

De igual manera a lo que ocurrió en los ratones macho, la sulpirida mejoró la tolerancia a la glucosa en HO tratadas con sulpirida sin presentar efectos en las ratonas control (Figura 13, A). En las HO la disminución de los niveles de glucosa basales solo ocurrió

en el estado posprandial sin alteraciones en los niveles de glucosa en condiciones de ayuno (ayuno de 4 h) (Figura 13, B). La disminución observada durante el ensayo de tolerancia a glucosa en estas ratonas no está relacionada con una mejora en la sensibilidad a la insulina, ya que la dieta alta en grasas no generó intolerancia a la insulina en las hembras. El tratamiento con sulpirida tampoco tuvo efecto en ninguno de los grupos de dietas (Figura 13, C). De igual manera la DO no desarrolló en las hembras obesas una resistencia a la insulina, de tal manera que ni la dieta ni el tratamiento con sulpirida afectaron la sensibilidad a la insulina, los niveles séricos de insulina, ni el índice de resistencia a la insulina (Figura 13, C, D).

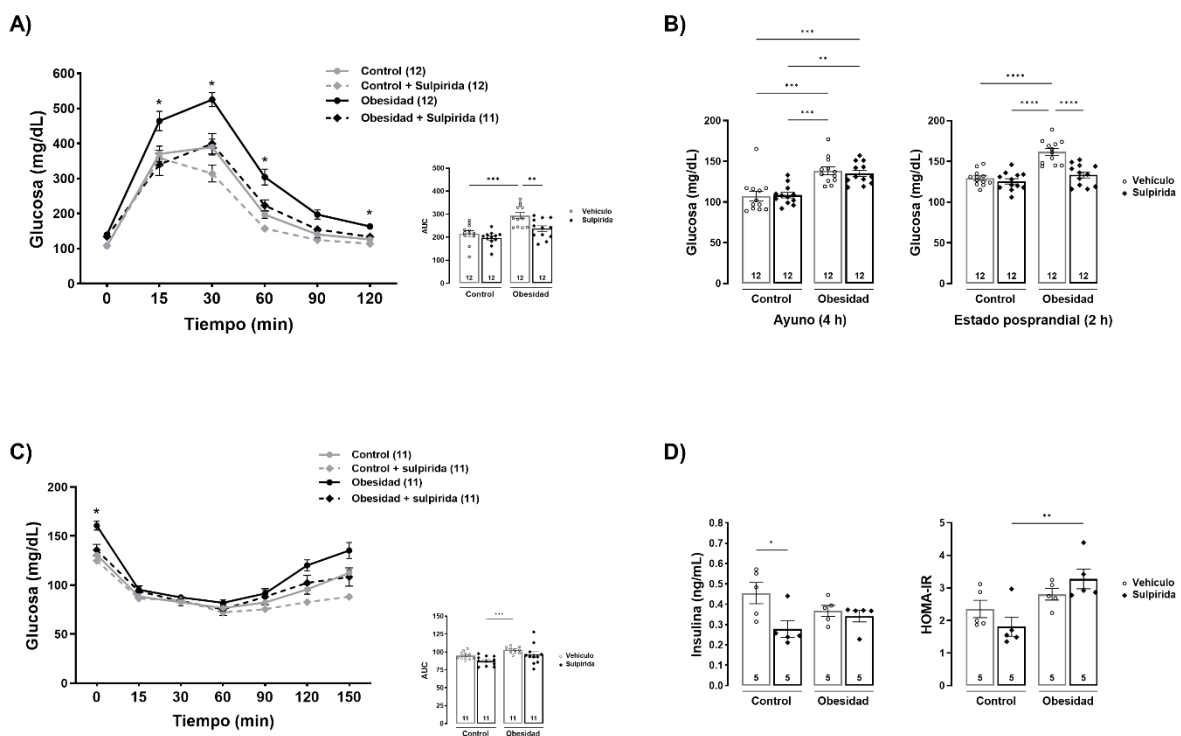


Figura 13. La sulpirida mejora la tolerancia a la glucosa en ratonas obesas sensibles a insulina. A) Ensayo de tolerancia a glucosa en ratonas hembra tratadas con sulpirida durante 4 semanas. **B)** Niveles basales de glucosa en ayuno (4 h) y en estado posprandial (2 h). **C)** Ensayo de tolerancia a insulina en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **D)** Niveles de insulina en ayuno (4 h) e índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR). Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

VII.10 La sulpirida incrementa el peso del Tejido Adiposo Subcutáneo promoviendo la expansión por hiperplasia en ratones hembra obesas.

Cuando se evaluó el peso de los tejidos adiposos en las hembras se encontró que tanto en el TAV como en el TAS hubo un incremento de peso derivado del consumo de la DO en comparación con la DC. Sin embargo, la sulpirida no tuvo un efecto en el peso del TAV (Figura 14, A), pero sí incrementó el peso del TAS en HO (Figura 14, B). En condiciones de obesidad, el TAS tiene una mayor capacidad de expansión que el TAV sin perder su funcionalidad; por lo tanto, evaluamos marcadores de su función, como su expansión y su expresión génica. Las HO mostraron una mayor hipertrofia de los adipocitos que el grupo control, sin embargo, la sulpirida no tuvo ningún efecto en el tamaño de los adipocitos del TAS (Figura 14, C). Mientras que, cuando se evaluó el número de adipocitos se encontró que la sulpirida incrementa el número de adipocitos en HO indicando una expansión por hiperplasia, lo que significa que el incremento de peso del TAS derivado del tratamiento con sulpirida se debe a que promueve una mayor adipogénesis, lo que se considera un tipo de expansión saludable (Figura 14, D). En cuanto a la expresión génica, encontramos que la sulpirida disminuyó la expresión del *Prlr* solo en el grupo control, pero no en las ratonas obesas, mientras que en los genes del *Insr*, *Glut4* (marcadores de sensibilidad a la insulina) y *Hif1 α* (marcador de hipoxia) no hubo alteraciones en la expresión derivadas ni de la dieta obesogénica ni por el tratamiento con sulpirida (Figura 14, E).

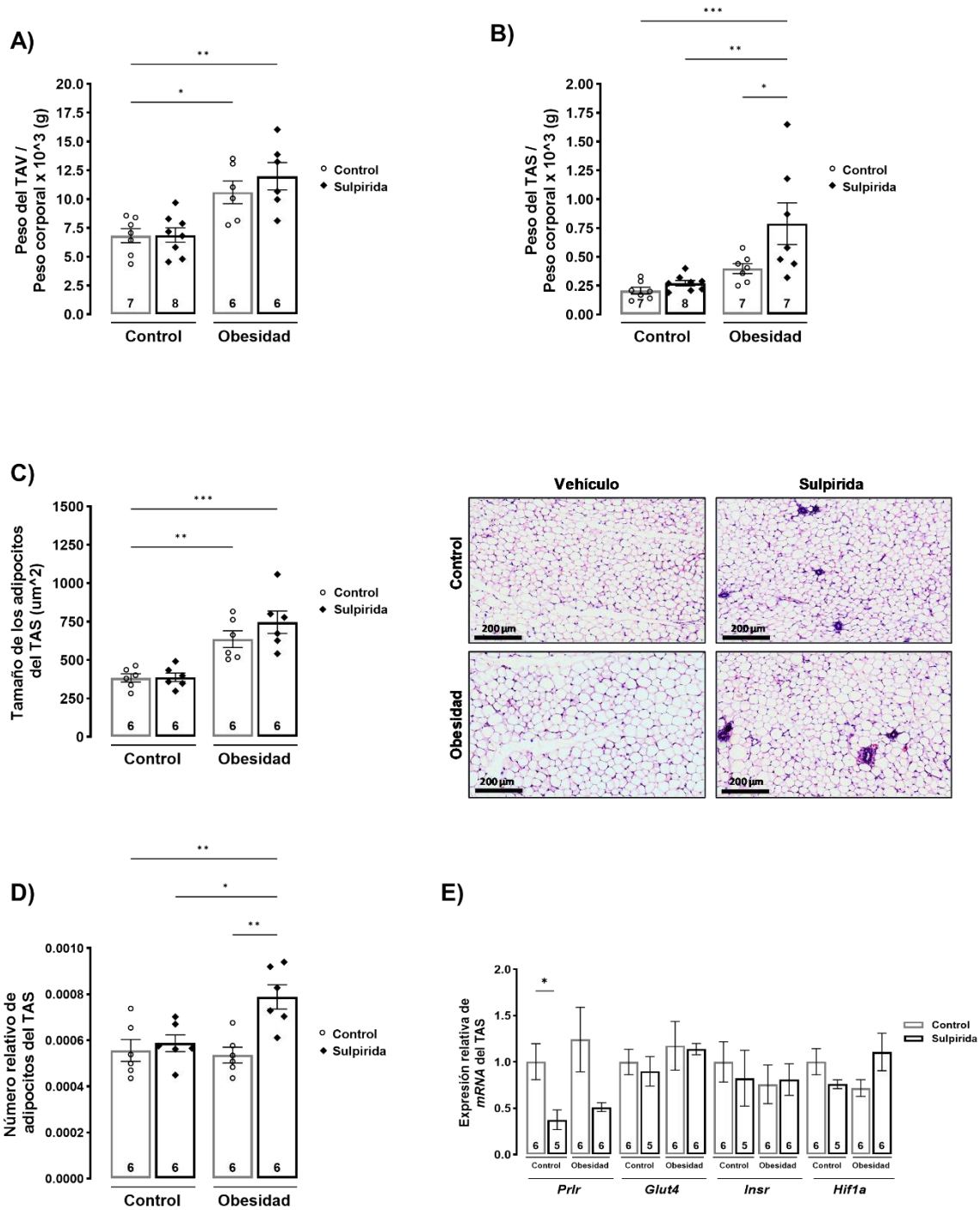


Figura 14. La sulpirida incrementa el peso del TAS promoviendo la expansión por hiperplasia. A) Peso de los tejidos adiposos visceral y B) subcutáneo de ratonas hembra tratadas con sulpirida durante 4 semanas. C) Tamaño de los adipocitos del tejido adiposo subcutáneo e histología H&E. D) Número de adipocitos y E) expresión génica del tejido adiposo subcutáneo de ratonas hembra tratadas con sulpirida durante 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

VII.11 Los efectos de la sulpirida en la reducción de los niveles de glucosa son independientes de las acciones del receptor de prolactina.

Finalmente, para dilucidar si los efectos de la sulpirida en la reducción de los niveles de glucosa en ratones MO estaban mediados por las acciones exacerbadas de la PRL derivadas de los niveles elevados de la hormona inducidos por la sulpirida, alimentamos a ratones nulos para el receptor de PRL (Prlr^{-/-}) y a sus contrapartes silvestres (Prlr^{+/+}) con una dieta obesogénica durante 8 semanas y los tratamos con sulpirida o vehículo durante los últimos 30 días del período de 8 semanas. De manera interesante y en contra de nuestra hipótesis, encontramos que la sulpirida ejerció su acción reduciendo los niveles de glucosa tanto en los ratones Prlr^{+/+} como en los Prlr^{-/-} (Figura 15, A). La sulpirida mejoró la tolerancia a la glucosa (Figura 15, A), redujo los niveles de glucosa en ayuno y posprandiales (Figura 15, B) y aumentó la tolerancia a la insulina en ratones obesos tanto Prlr^{+/+} como Prlr^{-/-} (Figura 15, C). Estos resultados indican que las acciones de la PRL en sus receptores canónicos no son necesarias para que la sulpirida reduzca los niveles de glucosa en condiciones de obesidad.

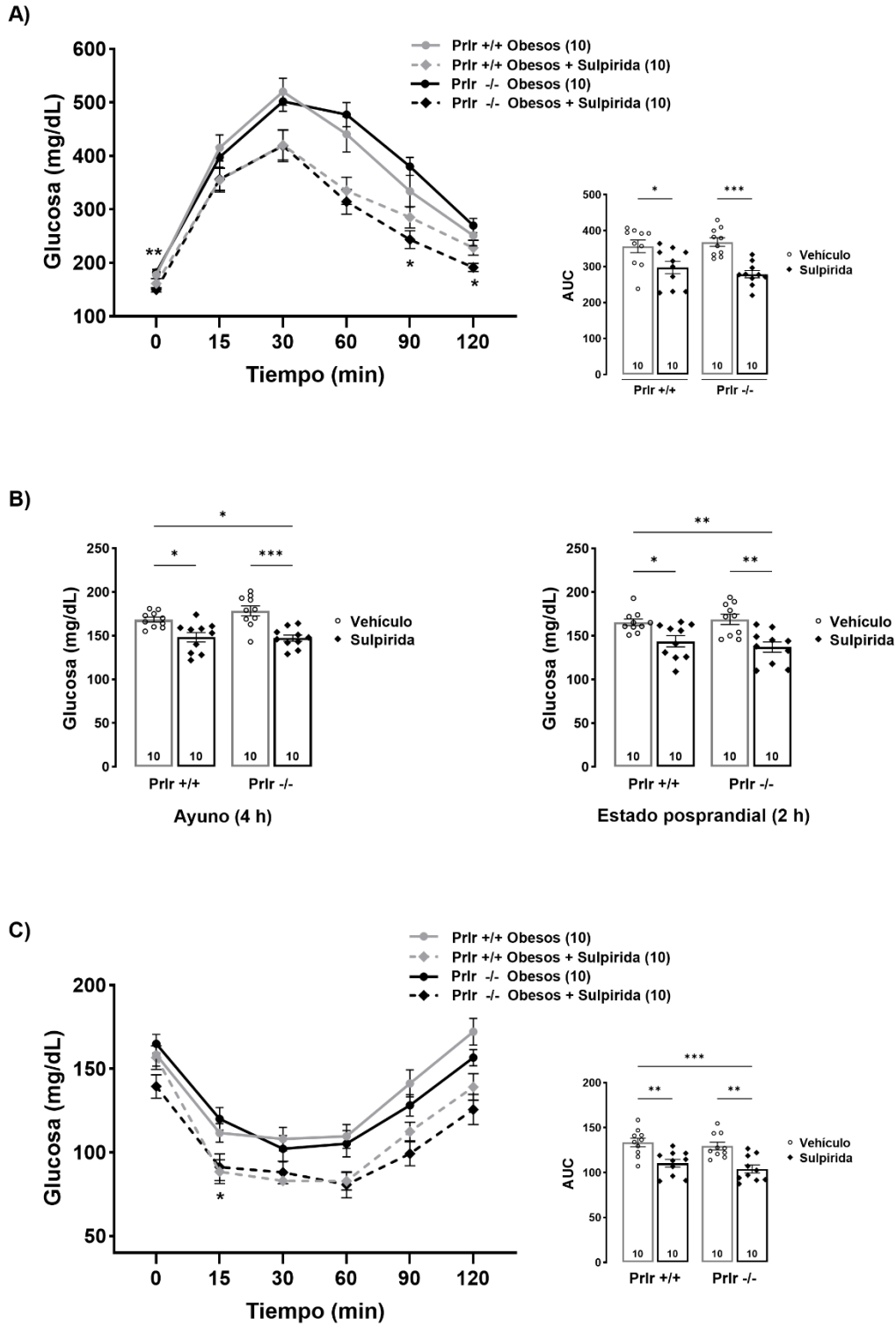


Figura 15. El efecto hipoglucemiante de la sulpirida es independiente de las acciones del receptor de PRL. A) Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **B)** Niveles basales de glucosa en ayuno (4 h) y en estado posprandial (2 h). **C)** Ensayo de tolerancia a insulina en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

VII.12 El efecto de la sulpirida en la reducción de los niveles de glucosa es independiente de las acciones del receptor de prolactina en ratonas hembras obesas.

En el ensayo de tolerancia a glucosa realizado en ratonas obesas nulas para el receptor de PRL se pudo observar que la sulpirida promovió una disminución de los niveles de glucosa demostrando que, al igual que en los ratones macho, su efecto hiperglucemiante es independiente de las acciones del receptor de PRL (Figura 16, A). En las ratonas nulas para el receptor de PRL también hubo una disminución de los niveles de glucosa basales en ayuno pero no en estado postprandial (Figura 16, B, D) derivada del tratamiento con la sulpirida. Sin embargo, de igual manera que en las ratonas con el receptor de PRL, las ratonas nulas para el receptor no mostraron mejora en su sensibilidad a la insulina (Figure 16, C).

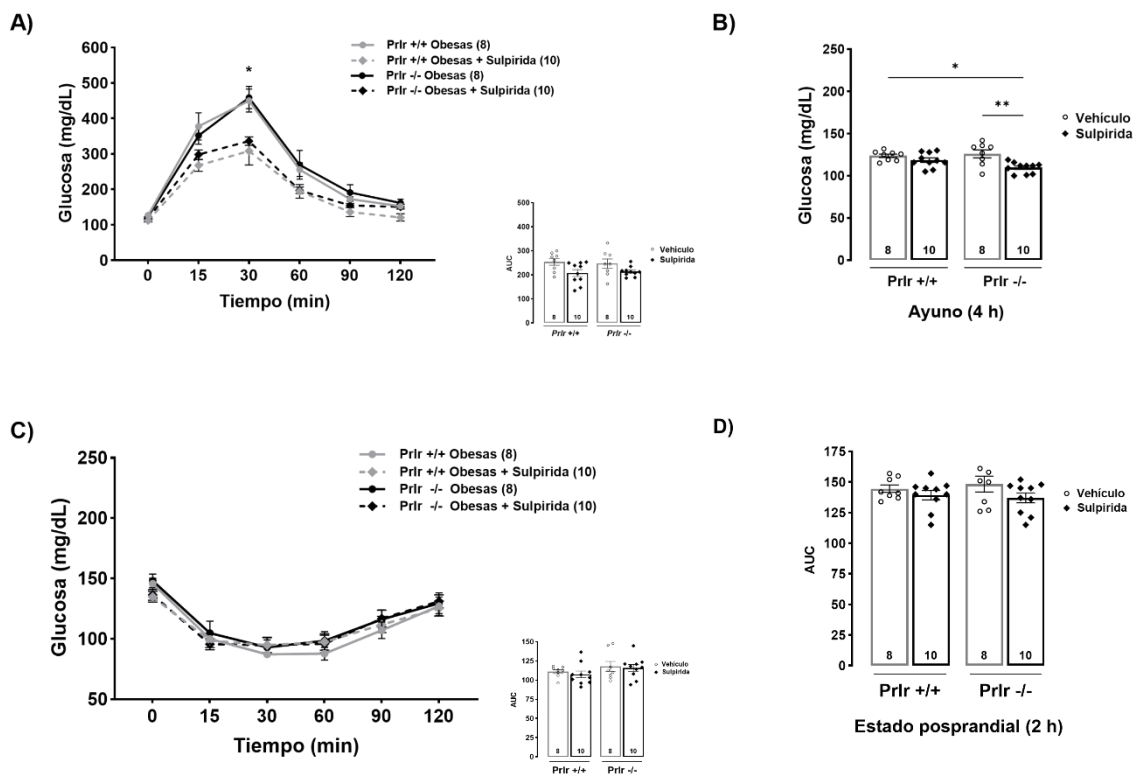


Figura 16. La sulpirida mejora la tolerancia a la glucosa en ratonas obesas nulas para el receptor de PRL. A) Ensayo de tolerancia a glucosa en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. **B)** Niveles basales de glucosa en ayuno (4 h) **C)** Ensayo de tolerancia a insulina en ratones macho tratados con sulpirida durante 4 semanas. Vehículo (círculos blancos), sulpirida (rombos negros). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

VIII. DISCUSIÓN

Estos datos nos muestran que el tratamiento crónico con sulpirida (30 días), incrementa los niveles circulantes de PRL, mejora la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina y disminuye los niveles de glucosa e insulina en condiciones de obesidad. Estos efectos son independientes de cambios en el peso corporal. Además, en el tejido adiposo visceral, la sulpirida disminuye su expansión por hipertrofia, previene la disminución de la expresión de *Prlr*, *Glut4* e *InsR* y disminuye la expresión de *Hif1α* en condiciones de obesidad. Por lo tanto, la sulpirida tiene un efecto de mejora metabólica en ratones obesos. De manera interesante, los efectos de la sulpirida reduciendo los niveles de glucosa son independientes de la presencia del receptor de PRL.

En un modelo de obesidad en ratones C57BL/6 inducido por una dieta alta en grasas, se encontró que a las ocho semanas de consumo de la dieta hay un incremento en el peso corporal y una pronunciada hiperglucemia, en comparación con los ratones en una dieta control. Una vez establecidas las características patológicas de la obesidad, el tratamiento con sulpirida nos permitió evaluar los efectos que tiene este fármaco en el metabolismo. La sulpirida incrementó los niveles de PRL tanto en los **ratones delgados** como **obesos**, también se observó que los **ratones obesos** presentaron niveles más bajos de PRL que los **ratones delgados**, en concordancia con lo previamente reportado por Lemini y Ruiz Herrera en ratas Wistar macho (Lemini, et al. 2015; Ruiz-Herrera, et al. 2017), lo que apoya lo propuesto por Macotela y cols. mostrando que los desequilibrios en los niveles de PRL puede ser causa de alteraciones metabólicas que irrumpen la homeostasis del metabolismo en condiciones de obesidad (Macotela, et. al. 2020). En cuanto al peso corporal, la administración de sulpirida no generó alteraciones ni en **ratones delgados** ni **obesos**. Cabe resaltar que este es el primer trabajo donde se evaluaron los efectos de la sulpirida como agente terapéutico en contra de la disfunción metabólica derivada de la obesidad, pues existen otros trabajos donde se ha evaluado la administración de sulpirida como agente antipsicótico y en aras de describir sus efectos secundarios adversos. Sin embargo, el uso de la sulpirida como antipsicótico debe ser mayor a 1200 mg/día en humanos (Zhou, et al. 2018), mientras que su uso como coadyuvante digestivo es en dosis bajas (75 mg/día) que no presentan efectos adversos (Kim, et al. 2019). Por otra parte, Baptista quien reportó un incremento de peso corporal en

ratas Wistar hembras, así como alteraciones metabólicas en ratas Wistar macho en respuesta a sulpirida, utilizó la sulpirida junto con una dieta obesogénica como modelo de obesidad inducido por fármaco por lo que sus hallazgos, buscando exacerbar las comorbilidades de la obesidad. Estas condiciones no son equiparables con las evaluadas en este modelo donde se aborda a la sulpirida como un posible agente terapéutico una vez ya desarrollada la obesidad. Dado que durante el tiempo de administración de la sulpirida en el presente proyecto no se generan cambios en el peso corporal, sería interesante evaluar si un periodo de tratamiento más largo pudiera inducir una disminución del peso corporal o por el contrario que una administración más prolongada pudiese ser perjudicial y favorecer la ganancia de peso.

Aunque no se encontró una mejora en el peso corporal ni la ingesta calórica, se observó que la sulpirida aumenta la tolerancia a la glucosa tanto en **ratones delgados como obesos**, este dato concuerda con lo reportado por Ruiz-Herrera en ratas tratadas con PRL, donde se observó una mayor tolerancia a la glucosa en ratas obesas tratadas con la hormona mientras que en el mismo trabajo, ratones nulos para el receptor de PRL probaron ser más intolerantes a la glucosa que los ratones silvestres, remarcando que la PRL desempeña un papel fundamental en el metabolismo de la glucosa. Por lo anterior, en un principio se pensó que el aumento de la tolerancia a la glucosa en ratones obesos fue debido al incremento de PRL circulante generado por la sulpirida, sin embargo, se descartó esta hipótesis con los resultados del tratamiento con sulpirida en los ratones nulos para el receptor de PRL. Aquí, la sulpirida ejerció un efecto hipoglucemiante demostrando que sus efectos son independientes de la PRL y su receptor, estando posiblemente ligados a los efectos directos de antagonizar el receptor D2 de dopamina. Interesantemente, la sulpirida disminuye los niveles de glucosa basales en condiciones posprandiales tanto en **ratones delgados como obesos**, lo que sugiere que la sulpirida mejora la captación de la glucosa en condiciones posprandiales y que esta captación pudiera estar ligada con su efecto como coadyuvante digestivo. De igual manera, en condiciones de ayuno, la sulpirida disminuyó los niveles de glucosa en el **grupo obeso** comparado con los niveles de **ratones obesos control** y que presentan hiperglucemia, sin embargo, en los **ratones delgados**, la sulpirida no disminuye los niveles de glucosa, evitando un efecto hipoglucemiante en condiciones fisiológicas óptimas al mantener los niveles de glucosa similares a los **ratones delgados sin sulpirida**, siendo el efecto

de disminución de la glucemia únicamente en los **ratones obesos**. Estos datos en su conjunto señalan a la sulpirida como un fármaco que favorece la normoglucemia en condiciones de obesidad.

Para buscar la causa de los efectos de la sulpirida reduciendo la hiperglucemia, se evaluó la sensibilidad a la insulina y los niveles circulantes de insulina. Ya que estos efectos pudieran deberse a una mayor sensibilidad de la insulina o un incremento en la secreción de esta. En el ensayo de tolerancia a insulina se observó que el **grupo obeso** presenta una menor sensibilidad a la insulina, al igual que hiperinsulinemia y un índice mayor de HOMA-IR que el grupo de **ratones delgados**. La administración de sulpirida incrementó la sensibilidad a la insulina en **ratones delgados y obesos**; y disminuyó los niveles de insulina circulante y la resistencia a la insulina en los **ratones obesos**. Contrariamente, en los **ratones delgados** la sulpirida no produjo ningún efecto adverso, lo que indica su efecto de mejora en condiciones de obesidad al mismo tiempo que no desencadena efectos adversos en condiciones de salud. De estos resultados se puede decir que el efecto de la sulpirida como agente normoglucemiante se debe a que de manera sistémica hay una mayor sensibilidad a la insulina, se previene la hiperinsulinemia y se reduce la resistencia a la insulina generadas por la obesidad. Ahora las siguientes preguntas son en que órganos se están promoviendo estos efectos y mediante qué mecanismos moleculares se están dando.

La hiperprolactinemia se asocia con un perfil lipídico adverso (Ciresi, et al. 2013; Dos Santos Silva, et al. 2011). Sin embargo, en nuestro modelo experimental, aunque la sulpirida incremento los niveles de PRL a niveles mayores que 25 ng/mL, no hubo alteraciones en los niveles de colesterol, ácidos grasos libres, ni glicerol en los ratones delgados ni tampoco en los obesos. Sin embargo, la sulpirida redujo los niveles de triglicéridos en los ratones obesos que presentaron un incremento de triglicéridos comparados con los ratones delgados, efecto esperado derivado de la dieta obesogénica (Hoffler, et al. 2009). La acumulación ectópica de triglicéridos derivados de una dieta alta en grasa en ratones ha sido reportada tanto en hígado (Jiang, et al. 2005) y páncreas (Pinnick, et al. 2008; Quiclet, et al. 2019), alteraciones conocidas como hígado y páncreas grasos, de igual manera se encontró mayor acumulación de triglicéridos en el hígado y páncreas de nuestros ratones obesos. La sulpirida no indujo ningún cambio en los niveles de triglicéridos acumulados en el hígado, lo que indica

que su efecto metabólico benéfico no deriva de una disminución del hígado graso. Sin embargo, la sulpirida redujo los niveles de triglicéridos en el páncreas, efecto que pudiera estar dado por una interacción directa con el receptor D2 de dopamina o por la acción de la prolactina con su receptor. De hecho, en un modelo de diabetes inducida por STZ (fármaco con acción citotóxica en células beta pancreáticas) con ratones nulos para el receptor de PRL se mostró que la ausencia del receptor incrementa los niveles de glucosa, y en páncreas hay una disminución de la densidad de islotes pancreáticos, número de células β , mientras que hubo un incremento de células α e inflamación pancreática (Ramirez-Hernandez, et al. 2021); sin embargo, más experimentación es necesaria para esclarecer el mecanismo.

El tejido adiposo, principal órgano relacionado con la obesidad, es de vital importancia en el mantenimiento de la homeostasis metabólica y su disfunción es el principal desencadenante de los efectos adversos de la obesidad. En el TAV, el tratamiento con sulpirida no alteró el peso del tejido ni en los **ratones delgados** ni **obesos**. Ya que en la obesidad el TAV disfuncional se expande mayormente por hipertrofia, se evaluó la hiperplasia y la hipertrofia del TAV en respuesta a la sulpirida. Se encontró que los **ratones obesos** presentaron una mayor hipertrofia que los **ratones delgados**, y que el tratamiento con sulpirida promueve una disminución en la hipertrofia del TAV de los **ratones obesos**. Este efecto podría ser resultado de una expansión por hiperplasia, sin embargo, nuestros resultados no mostraron que la sulpirida afectara el número de adipocitos. En su trabajo, Ruiz-Herrera reportó que en ratas obesas tratadas con PRL se incrementa el peso del TAV, disminuye la hipertrofia y aumenta el número de adipocitos. Dado que la hipertrofia es uno de los marcadores de disfuncionalidad del TA en la obesidad, esta disminución de la hipertrofia derivada del tratamiento con sulpirida indica una mejora en la funcionalidad del TAV, cambio que a su vez podría contribuir a la mejora sistémica del metabolismo. Sin embargo, para determinar si esta disminución en el tamaño de los adipocitos está acompañada de una mejora en la funcionalidad del tejido adiposo, es necesario evaluar también procesos de captación de glucosa, lipogénesis, lipólisis, vascularización e inflamación.

Para seguir evaluando marcadores de funcionalidad del TAV, se evaluó la expresión génica en el TAV en busca de cambios en genes involucrados con la homeostasis metabólica del mismo. Se encontró que en el **grupo obeso** hubo una disminución de la expresión de los genes del *Prlr*, *Glut4* e *InsR* (estos dos últimos marcadores de

sensibilidad a la insulina), y un incremento de *Hif1 α* , marcador de hipoxia, que, a su vez, es uno de los marcadores de disfuncionalidad del TA. Por su parte, el tratamiento con sulpirida mostró prevenir la pérdida de expresión o incrementarla en los genes *Prlr*, *Glut4* e *InsR* de manera similar a los **ratones delgados**, favoreciendo una adecuada expresión de los genes encargados de la sensibilidad a la insulina en el TAV. La sulpirida también mostró tener un efecto de disminución de la expresión de *Hif1 α* o una prevención de la sobreexpresión en condiciones de obesidad, por lo que se podría considerar a la sulpirida como un agente protector contra hipoxia en el TAV. Sin embargo, se requieren más experimentos para evaluar los niveles de las proteínas y vías de señalización implicadas por las cuales la sulpirida pudiese estar mejorando la funcionalidad del TAV.

Así como ocurrió en los machos, la sulpirida ejerció efectos benéficos en la homeostasis de la glucosa en las hembras. En particular, la sulpirida redujo la hiperglucemia derivada de la dieta obesogénica. Sin embargo, una gran diferencia es que en las hembras la dieta obesogénica no induce resistencia a la insulina como ocurre con los machos, por ello no es posible evaluar si la sulpirida disminuye la resistencia a la insulina.

En este estudio se replica que la sulpirida no afecta el peso corporal en condiciones de dieta estándar como se observó en ratas lactantes y nulíparas, así como en mujeres, y por primera vez se reporta que en condiciones de obesidad la sulpirida tampoco altera el peso corporal de los ratones C57BL/6. Debido a que en las hembras los efectos de mejora de tolerancia a la glucosa y disminución de los niveles de glucosa basales en estado posprandial derivados de la sulpirida son independientes de la insulina; esto sugiere que el mecanismo de acción de la sulpirida podría diferir entre machos y hembras. Al respecto, la sulpirida incrementa la adipogénesis en el TAS de las HO pero no en los machos. Dados los distintos efectos de la sulpirida en los tejidos adiposos subcutáneos de machos y hembra se muestra que los efectos de la sulpirida son mediados por distintos mecanismos sexo dependientes y se requieren más experimentos para elucidar dichos mecanismos. Otra posibilidad es que el mecanismo de disminución de la hiperglucemia por sulpirida sea el mismo en machos y en hembras, pero que los cambios en el tejido adiposo se deban a efectos de la prolactina. Para dilucidar esto, se requiere hacer los análisis correspondientes en el tejido adiposo de los animales nulos para el receptor de prolactina.

El conjunto de los datos aquí presentados, nos indican que el tratamiento crónico (30 días) con sulpirida mejora la homeostasis metabólica en condiciones de obesidad, Además, la sulpirida no produce efectos adversos en el metabolismo de la glucosa y la insulina en condiciones control tanto en ratones macho como hembras. En machos, la sulpirida tiene efectos benéficos en el metabolismo del TAV y TAS, disminuye la concentración de TG en páncreas e incrementa la acumulación de glucógeno en el músculo esquelético en condiciones de obesidad. Mientras que en las hembras mejora la expansión del TAS sugiriendo un efecto de promoción de la adipogénesis en condiciones de obesidad. El efecto de la sulpirida disminuyendo la hiperglucemia es independiente de la acción del receptor de PRL, ya que como se mostró en los experimentos hechos tanto en hembras como en machos, el efecto de mejora de la tolerancia a la glucosa y la disminución de glucosa se mantuvo en los ratones nulos para el Prlr. Sin embargo, no sabemos si los otros efectos metabólicos benéficos de la sulpirida dependen de la acción de la prolactina. Experimentos futuros nos permitirán conocer más acerca de los mecanismos de acción de la sulpirida en condiciones de obesidad y las diferencias entre machos y hembras para poder continuar una investigación sobre los efectos sobre otras especies y en medicina traslacional.

IX. BIBLIOGRAFÍA

ADÁN, Norma, et al. "Prolactin promotes cartilage survival and attenuates inflammation in inflammatory arthritis". *The Journal of Clinical Investigation*. 2013, 123(9):3902-3913.

ADEVA-ANDANY, M. María. et al. "Liver glucose metabolism in humans". *Bioscience Reports*. 2016, 36:6.

BALBACH, Lisa, et al. "Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes?". *BMC Endocrine Disorders*. 2013. 13, p. 12.

BAPTISTA, Trino, et al. "Effects of the antipsychotic drug sulpiride on reproductive hormones in healthy women: relationship with body weight regulation". *Pharmacopsychiatry*. 1997, 30: 256-262.

BAPTISTA, Trino, et al. "Glucose tolerance and serum insulin levels in an animal model of obesity induced by the antipsychotic drug, sulpiride". *Pharmacology & Toxicology*. 1998, 83 57-61.

BAPTISTA, Trino, et al. "The antipsychotic drug sulpiride does not affect bodyweight in male rats. Is insulin resistance involved?". *European Journal of Pharmacology*. 2002, 447 91-98.

BEN-JONATHAN, Nira & HUGO, Eric. "Prolactin (PRL) in Adipose Tissue: Regulation and Functions". En: Diakonova, M. (ed). *Recent Advances in Prolactin Research. Advances in Experimental Medicine and Biology*. London: Springer, 2015, 846, pp. 1–35.

BEN-JONATHAN, Nira, et al. "Prolactin as an autocrine/paracrine growth factor in human cancer". *TRENDS in Endocrinology & Metabolism*. 2002, Vol.13 No.6. 245-250.

BEN-JONATHAN, Nira, et al. "What can we learn from rodents about prolactin in humans?". *Endocrine Reviews*. 2008, vol. 29,1: 1-41.

BEN-JONATHAN, Nira & HUGO, Eric. "Prolactin (PRL) in Adipose Tissue: Regulation and Functions". En: Diakonova, M. (ed). *Recent Advances in Prolactin Research. Advances in Experimental Medicine and Biology*. London: Springer, 2015, 846, pp. 1–35.

BOUCHER, Jérémie, et al. "Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States". *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014, 6:(1) 1-26.

BOYKO, Edward, et al. "IDF Diabetes Atlas" International Diabetes Federation. 10th Edition. 2021. Disponible en Web: <https://diabetesatlas.org>

BRAGA, Sara, et al. "Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice". *Behavioral Brain Research*. 2021, 398.

BRANDÃO, B. Bruna, GUERRA, A. Beatriz. and MORI, A. Marcelo. "Shortcuts to a functional adipose tissue: The role of small non-coding RNAs", *Redox Biology*. Elsevier. 2017, 12(1), pp. 82–102.

CARRÉ, Nadège & BINART, Nadir. "Prolactin and adipose tissue", *Biochimie*. Elsevier Masson SAS, 2014, 97(1), pp. 16–21.

CASIMIRO, Isabel, et al. "Phenotypic sexual dimorphism in response to dietary fat manipulation in C57BL/6J mice". *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2021, 35.

Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas (CIEE). "Encuesta Nacional de Salud Continua 2022". *ENSANUT*. 2022. Disponible en Web: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/>.

CHAO-CHENG, Lin, et al. "Improved body weight and metabolic outcomes in overweight or obese psychiatric patients switched to amisulpride from other atypical antipsychotics". *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2009, Volume 29, Number 6 529-536.

CHIRICO, Valeria, et al. "Prolactin in obese children: a bridge between inflammation and metabolic-endocrine dysfunction", *Clinical Endocrinology*. 2013, 79(4), pp. 537–544.

CLAPP, Carmen, et al. "Regulation of Blood Vessels by Prolactin and Vasoinhibins". En: Diakonova, M. (ed). *Recent Advances in Prolactin Research. Advances in Experimental Medicine and Biology*. London: Springer, 2015, 846, pp. 83-95.

CZECH, P. Michael. "Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes". *Nature Medicine*. 2017, Volume 23 Number 7, pp. 804-814.

DASAI, K. Jagruti & PARMAR, S. Narayan. "Gastric and duodenal anti-ulcer activity of sulpirida, a dopamine D2 receptor antagonist, in rats". *Agents Actions*. 1994, 42 (3-4):149-53.

DE LORENZO, Antonio, et al. "New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication". *World Journal of Gastroenterology*. 2016, vol. 22, 2: 681-703.

DIETRICH, Peter & HELLERBRAND, Claus. "Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome". *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2014, 28, pp. 637-653.

DWYER, Donard & DONOHOE, Dallas. "Induction of hyperglycemia in mice with atypical antipsychotic drugs that inhibit glucose uptake". *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2003, 75 255-260.

FERNANDES-DA-SILVA, Aline. et al. "Endoplasmic reticulum stress as the basis of obesity and metabolic diseases: focus on adipose tissue, liver, and pancreas". *European Journal of Nutrition*. 2021, 60:2949–2960.

FERREIRA, Sandra, et al. "Determinants of obesity in Latin America". *Nature Metabolism*. 2024, 6, pp. 409-432.

GESTA, Stephan & KAHN, C. Ronald. "White Adipose Tissue". En: SYMONDS, M. E. (ed.) *Adipose Tissue Biology*. Segunda Edición. New York: Springer Science+Business Media LLC. 2017, pp. 149-199.

GIUGLIANO, Dario, CERIELLO, Antonio & ESPOSITO, Katherine. "Glucose metabolism and hyperglycemia". *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008, 87:2, pp. 175-225.

GUILLOU, Anne, et al. "Assessment of lactotroph axis functionality in mice: longitudinal monitoring of PRL secretion by ultrasensitivity-ELISA". *Endocrinology*. 2015, pp 1-7.

GONZALES-MUNIESA, Pedro, et al. "Obesity". *Nature Reviews. Disease Primers*. 2017, Volume 3, Article number 17034.

GORVIN, M. Caroline. "The prolactin receptor: Diverse and emerging roles in pathophysiology". *Journal of Clinical and Translational Endocrinology*. 2015, 2(3), pp. 85–91.

GUSTAFSON, Birgit, et al. "Insulin resistance and impaired adipogenesis", *Trends in Endocrinology & Metabolism*. Elsevier Current Trends. 2015, 26(4), pp. 193–200.

HANSEN, N. Stine, et al. "Keeping fat on time: Circadian control of adipose tissue". *Experimental Cell Research*. 2017, 360: 31-34.

HEYMSFIELD, B. Steven & WADDEN, A. Thomas. "Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity". *The New England Journal of Medicine*. 2017, 376;3.

IKEDA, H. et al. "Central dopamine D2 receptors regulate plasma glucose levels in mice through autonomic nerves". *Scientific Reports*. 2020, 10(1), 1–11.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). "Estadísticas de defunciones registradas (EDR) 2023". INEGI, 2023. Disponibilidad en Web: <https://www.inegi.org.mx>

KABIR, M. T. et al. "Therapeutic potential of dopamine agonists in the treatment of type 2 diabetes mellitus". *Environmental Science and Pollution Research*. 2022, 29(31), 46385–46404.

- KAUR, Gurpreet & KULKARNI, K. Shrinivas. "Studies on modulation of feeding behavior by atypical antipsychotics in female mice". *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2002, Vol 26(2): 277-285.
- KECK, S. Fritz, et al. "Comparative effects of dopamine and dobutamine on glucoregulation in a rat model". *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1991, 69(8), 1178–1183.
- KIM, Dohoon, et al. "Therapeutic switching of sulpiride, an anti-psychotic and prokinetic drug, to an anti-colic drug using colon-specific drug delivery". *Drug Delivery and Translational Research*. 2018, 9: 334-343.
- KLINGENSPOR, Martin, et al. "Brown Adipose Tissue". En: Symonds, M. E. (ed.) *Adipose Tissue Biology*. Segunda Edición. New York: Springer Science+Business Media LLC. 2017, pp. 91-147.
- KOCH, Linda. et al. "Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice". *The Journal of Clinical Investigation*. 2008, 118(6):2132–2147.
- KOPF, Daniel, et al. "Insulin secretion and sensitivity after single dose amisulprida, Olanzapine or placebo in young male subjects: Double blind, cross-over glucose clamp study". *Pharmacopsychiatry*. 2012, 45: 223-228.
- KUNATH, Anne & KLÖTING, Nora. "Adipocyte biology and obesity-mediated adipose tissue remodeling". *Obesity Medicine*. 2016, Pages 15-20.
- KUSMINSKI, M. Christine, BICKEL, E. Perry & SCHERER, E. Philipp. "Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes". *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2016, 15, pp. 639-660.
- LACRUZ, Anny, et al. "Antipsychotic drug-induced obesity in rats: correlation between leptin, insulin and body weight during sulpirida treatment". *Molecular Psychiatry*. 2000, 5, 70-76.
- LEE, Ying, et al. "Lower dopamine tone in the striatum is associated with higher body mass index". *European Neuropsychopharmacology*. 2018, 28(6), 719–731
- LEITE, Fernanda & RIBEIRO, Laura. "Dopaminergic Pathways in Obesity-Associated Inflammation". *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2020, 15, 93–113.
- LEMINI, María, et al. "Prolactin anterior pituitary expression and circulating levels are reduced in obese and diabetic rats: role of TGF- β and TNF- α ". *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2015, 308:9 R792-R799.
- LI, H. Gloria, et al. "The effect of different measurement modalities in the association of lean mass with mortality: A systemic review and meta-analysis". *Osteoporosis and Sarcopenia*. 2021, 7, S13-S18.

- LUO, Shuqin, LIANG, Ying & CINCOTTA, H. Anthony. "Intracerebroventricular Administration of Bromocriptine Ameliorates the Insulin-Resistant/Glucose-Intolerant State in Hamsters". *Neuroendocrinology*. 1999, Volume 69(3), 160–166.
- LUO, Liping. & LIU, Meilian. "Adipose tissue in control of Metabolism". *Journal of Endocrinology*. 2016, 231, R77–R99.
- MACOTELO, Yazmín, et al. "Intrinsic differences in adipocytes precursor cells from different white fat depots". *Diabetes*. 2012, 61:1691-1699.
- MANSI, Carlo, et al. "Gastrokinetic effects of levosulpiride in dyspeptic patients with diabetic gastroparesis". *American Journal of Gastroenterology*. 1995, 90(11) 1989-93.
- MARTIN, Niamh. "Prolactin disorders". *Medicine*. 2017, 45, 8 pp. 484-487.
- MATT, M. Stephanie & GASKILL, J. Peter. "Where Is Dopamine and how do Immune Cells See it?: Dopamine-Mediated Immune Cell Function in Health and Disease". *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2020, 15, 114–164.
- MOSTAFAPOUR, Sara, et al. "Sulpiride-induced hyperprolactinemia in mature female rats: evidence for alterations in the reproductive system, pituitary, and ovarian hormones". *International Journal Fertility & Sterility*. 2014, Vol 8(2): 193-206.
- O'DOWD, F. Jacqueline & STOCKER, J. Claire. "Endocrine pancreatic development: impact of obesity and diet". *Frontiers in Physiology*. 2013, 4:170.
- PEDERSON, A. Bartholomew, et al. "Glucose Metabolism in Mice Lacking Muscle Glycogen Synthase". *Diabetes*. 2005, 54(12): 3466–3473.
- PETERSEN, C Max & SHULMAN, I. Gerald. "Mechanisms of insulin action and insulin resistance". *Physiological Reviews*. 2018, 98: 2133–2223.
- PHILLIPS R. Hollian, et al. "Patterns of prolactin secretion". *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020, 502, 110679.
- PLEGGI, A. Chantal, PARMAR, Gaganvir. & HARPER, Mary-Hellen. "The lifecycle of skeletal muscle mitochondria in obesity". *Etiology and Pathophysiology. Obesity Reviews*. 2021, 22:5.
- POZZA Carlota & ISIDORI M. Andrea. "What's Behind the Obesity Epidemic". En: Laghi A., Rengo M. (eds) *Imaging in Bariatric Surgery*. Springer, Cham. 2018, pp. 1-8.
- RADOJKOVIC, Danijela, et al. "Expression of prolactin receptors in the duodenum, kidneys and skeletal system during physiological and sulpiride-induced hyperprolactinemia" *Endocrine*. 2018, 62: 681.

RATTENBACHER, A. Maria, et al. "Alterations of glucose metabolism during treatment with clozapine or amisulprida: results from a prospective 16 weeks study". *Journal of Psychopharmacology*. 2007, 21(4) 400-404.

RICHTER, A. Erik & HARGRAVES, Mark. "Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake". *Physiological Reviews*. 2013, 93:3.

ROSEN, D. Evan & SPIEGELMAN, M. Bruce. "What We Talk About When We Talk About Fat", *Cell*. Cell Press. 2014, 156(1–2), pp. 20–44.

RUIZ-HERRERA, Xarubet, et al. "Prolactine promotes adipose tissue fitness and insuline sensitivity in obese males". *Endocrinology*. 2017, 158(1):56-68.

SANTORO, Anna, MCGRAW, Timothy & KAHN, B. Barbara. "Insulin action in adipocytes, adipose remodeling, and systemic effects". *Cell Metabolism*. 2021 Volume 33, Issue 4, Pages 748-757

SHENDURSE, Ashish & KHEDKAR, D. Chandrashekar. "Glucose: Properties and analysis". *The Encyclopedia of Food and Helth*. 2016. Vol 3, pp. 239-247.

SIKARIS, A. Keneth, "The Clinical Biochemistry of Obesity—More Than Skin Deep". *Heart, Lung and Circulation*. 2007, pp. S45-S50.

TARNOPOLSKY, Mark & RUBY, C. Brent. "Sex differences in carbohydrate metabolism". *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2001, 4:521–6.

TAVARES, Gabriela, et al. "Peripheral Dopamine Directly Acts on Insulin-Sensitive Tissues to Regulate Insulin Signaling and Metabolic Function". *Frontiers in Pharmacology*. 2021, 12, 713418.

Teslaa, Tera, et al. "The pentose phosphate pathway in health and disease". *Nature Metabolism*. 2023, 5, pp. 1275-1289.

TOURAINÉ, Philippe & GOFFIN, Vincent. "Physiologie de la prolactine". *EMC - Endocrinologie*. Elsevier Masson. 2016, 2(1), pp. 50–76.

TREMMELE, Maximilian, et al. "Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review". *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017, 14(4), 435.

TUCKER, A. Larry. "Fiber Intake and Insulin Resistance in 6374 Adults: The Role of Abdominal Obesity". *Nutrients*. 2018, 10(2), 237.

VARLAMOV, Oleg, BETHEA, Cynthia & ROBERTS, Charles. "Sex-specific differences in lipid and glucose metabolism". *Frontiers in Endocrinology*. 2014, Vol. 5:241, pp. 1-7.

- VERBOVEN, Keneth, et al. "Abdominal subcutaneous and visceral adipocyte size, lipolysis and inflammation relate to insulin resistance in male obese humans". *Scientific Reports*. 2018, volume 8, Article number: 4677.
- VIERA, L. Milene, et al. "Lactational exposure to sulpiride: Assessment of maternal care and reproductive and behavioral parameters of male rat pups". *Physiology & Behavior*. 2013, 122: 76-83.
- WAGNER, Richard, et al. "Age-dependent association of serum prolactin with glycaemia and insulin sensitivity in humans". *Acta Diabetologica*. Springer Milan. 2014, 51(1), pp. 71–78.
- WALLACE, W. Conner & FORDAHL, C. Steve. "Obesity and dietary fat influence dopamine neurotransmission: Exploring the convergence of metabolic state, physiological stress, and inflammation on dopaminergic control of food intake". *Nutrition Research Reviews*. 2022, 35(2), 236–251.
- WANG, A. Qiong & SCHERER, E. Philipp "The AdipoChaser mouse: A model tracking adipogenesis in vivo". *Adipocyte*. 2014, vol. 3,2: 146-50.
- WANG, A. Qiong, et al. "Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration". *Nature medicine*. 2013, vol. 19,10: 1338-44.
- WANG, Shuyi & REN, Jun. "Obesity Paradox in Aging: From Prevalence to Pathophysiology". *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2018, Volume 61, Issue 2, Pages 182-189.
- WANG, Tiange, et al. "Circulating prolactin associates with diabetes and impaired glucose regulation: a population-based study". *Diabetes Care*. American Diabetes Association, 2013, 36(7), pp. 1974–80.
- ZAIYOU, Mohamed, et al. "The clinical potential of adipogenesis and obesity-related microRNAs". *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2018, Volume 28, Issue 2, Pages 91-111.
- ZHOU, Xia, et al. "The antipsychotics sulpiride induces fatty liver in rats via phosphorylation of insulin receptor substrate-1 at Serine 307-mediated adipose tissue insulin resistance". *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2018, 345 (2018) 66–74.

X. INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Función fisiológica de las adipocinas.

Figura 2. Cambios patológicos en el tejido adiposo derivados de la obesidad.

Figura 3. Fisiología de la resistencia a la insulina en distintos tejidos.

Figura 4. Diseño experimental del tratamiento con sulpirida en ratones (C57BL/6) obesos.

Figura 5. Curva dosis-respuesta de sulpirida.

Figura 6. La dieta alta en grasa aumenta el peso corporal y la glucemia de ratones macho a partir de las 4 semanas.

Figura 7. La sulpirida aumenta niveles de PRL sin alterar el peso corporal ni la ingesta calórica en ratones macho.

Figura 8. La sulpirida la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratones macho obesos.

Figure 9. La sulpirida disminuye los triglicéridos séricos y en páncreas en ratones macho obesos.

Figura 10. La sulpirida disminuye la hipertrofia de los adipocitos en los tejidos adiposos visceral y subcutáneo con distintos efectos en la expresión de genes relacionados con sensibilidad a la insulina.

Figura 11. La sulpirida incrementa el nivel de glucógeno en el músculo esquelético de ratones macho obesos.

Figura 12. La sulpirida incrementa los niveles de PRL séricos sin alteraciones en peso corporal ni ingesta calórica en ratonas obesas.

Figura 13. La sulpirida mejora la tolerancia a la glucosa en ratonas obesas sensibles a insulina.

Figura 14. La sulpirida incrementa el peso del TAS promoviendo la expansión por hiperplasia.

Figura 15. El efecto hipoglucemiante de la sulpirida es independiente de las acciones del receptor de PRL.

Figura 16. La sulpirida mejora la tolerancia a la glucosa en ratonas obesas nulas para el receptor de PRL.

XI. INDICE DE TABLAS

Tabla1. Efectos de la dopamina en órganos periféricos e implicación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2.

XII. ANEXOS

XII.1 Publicaciones

Sulpiride counteracts hyperglycemia and insulin resistance in diet-induced male obese mice. (2024). Dina I. Vázquez-Carrillo, Ana Luisa Ocampo-Ruiz, Arelí Báez-Meza, Gabriela Ramírez-Hernández, Elva Adán-Castro, José Fernando García-Rodrigo, José Luis Dena-Beltrán, Ericka A. de los Ríos, Magdalena Karina Sánchez-Martínez, María Georgina Ortiz-Arballo, Gonzalo Martínez de la Escalera, Carmen Clapp, Yazmín Macotela. Accepted in PlosOne for publication. doi: 10.1371/journal.pone.0301496 **2024**

The beneficial metabolic actions of prolactin. (2022). Macotela Y, Ruiz-Herrera X, Vázquez-Carrillo DI, Ramírez-Hernández G, Martínez de la Escalera G, Clapp C. *Frontiers of Endocrinology* 23;13:1001703. doi: 10.3389/fendo.2022.1001703. PMID: 36213259; PMCID: PMC9539817. **2022**

XII.2 Congresos

XII.2.1 Presentación Oral

Sulpiride reduces hyperglycemia and insulin resistance in diet-induced obese female and male mice. Séptima reunión bianual de la Sociedad Norteamericana de Endocrinología Comparada (NASCE). **2023**

XII.2.2 Presentación de Carteles

Metabolic Benefits of Dopamine D2 Receptor Antagonism: Sulpiride Reduces Hyperglycemia and Promotes Subcutaneous Adipose Tissue Hyperplasia in Obese Female Mice. **Reunión GroPro**, Stirling, Scotland. **2024**

Dopamine D2R antagonist improves glucose homeostasis targeting different white adipose tissues in diet-induced obese female and male mice. Reunión anual de la **Sociedad de Neurociencias (SfN)**, Washington, D.C. **2023**

Sulpiride, a dopamine D2 receptor antagonist, counteracts hyperglycemia and promotes growth and hyperplasia in subcutaneous adipose tissue in diet-induced obese female mice. Reunión anual de la **Sociedad de Neurociencias (SfN)**, San Diego, CA. **2022**

Sulpiride, antagonist of D2 dopamine receptor improves glucose absorption and insulin tolerance and alters the metabolic rate of male C57BL/6 mice. **FENS Forum**, Paris, Francia. **2022**

Sulpiride, a D2 dopamine receptor antagonist improves glucose tolerance, insulin sensitivity and reduces visceral adipocyte hypertrophy in obese mice". **IV Congreso de Neurobiología por la Sociedad Mexicana de Bioquímica**, Oaxaca, México. **2022**

Antagonism of dopamine DR2 receptors by sulpiride does not alter the metabolic profile of female and male mice. Reunión anual de la **Sociedad de Neurociencias (SfN)** formato virtual, USA. **2021**

XII.3 Premios

Travel Award for. **Reunión GroPro**, Stirling, Scotland. **2024**

Trainee Professional Development Award” para asistencia a la 50 reunión anual de la **Sociedad de Neurociencias (SfN)**. **2021**

XII.4 Artículo de Investigación derivado de esta tesis (Portada)

Doi:

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Dopamine D2 receptor antagonist counteracts hyperglycemia and insulin resistance in diet-induced obese male mice

Dina I. Vázquez-Carrillo, Ana Luisa Ocampo-Ruiz, Areli Báez-Meza, Gabriela Ramírez-Hernández, Elva Adán-Castro, José Fernando García-Rodrigo, José Luis Dena-Beltrán, Ericka A. de los Ríos, Magdalena Karina Sánchez-Martínez, María Georgina Ortiz[‡], Gonzalo Martínez de la Escalera, Carmen Clapp, Yazmín Macotela^{‡*}

Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro, México

‡ Current address: División de Ciencias de la Salud, Universidad Anáhuac Querétaro, Querétaro, México
* macotela@unam.mx



OPEN ACCESS

Citation: Vázquez-Carrillo DI, Ocampo-Ruiz AL, Báez-Meza A, Ramírez-Hernández G, Adán-Castro E, García-Rodrigo JF, et al. (2024) Dopamine D2 receptor antagonist counteracts hyperglycemia and insulin resistance in diet-induced obese male mice. *PLoS ONE* 19(4): e0301496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301496>

Editor: Wataru Nishimura, Jichi Medical University, Jichi Ika Daigaku, JAPAN

Received: October 13, 2023

Accepted: March 18, 2024

Published: April 18, 2024

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301496>

Copyright: © 2024 Vázquez-Carrillo et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript and will be submitted as

Abstract

Obesity leads to insulin resistance (IR) and type 2 diabetes. In humans, low levels of the hormone prolactin (PRL) correlate with IR, adipose tissue (AT) dysfunction, and increased prevalence of T2D. In obese rats, PRL treatment promotes insulin sensitivity and reduces visceral AT adipocyte hypertrophy. Here, we tested whether elevating PRL levels with the prokinetic and antipsychotic drug sulpiride, an antagonist of dopamine D2 receptors, improves metabolism in high fat diet (HFD)-induced obese male mice. Sulpiride treatment (30 days) reduced hyperglycemia, IR, and the serum and pancreatic levels of triglycerides in obese mice, reduced visceral and subcutaneous AT adipocyte hypertrophy, normalized markers of visceral AT function (PRL receptor, Glut4, insulin receptor and Hif-1 α), and increased glycogen stores in skeletal muscle. However, the effects of sulpiride reducing hyperglycemia were also observed in obese prolactin receptor null mice. We conclude that sulpiride reduces obesity-induced hyperglycemia by mechanisms that are independent of prolactin/prolactin receptor activity. These findings support the therapeutic potential of sulpiride against metabolic dysfunction in obesity.

Introduction

Obesity, the most prevalent non-communicable disease of our time, triggers metabolic alterations leading to type 2 diabetes (T2D) and cardiomyopathy—chronic disorders that diminish the quality of life [1]. Obesity is defined as the excessive accumulation of adipose tissue that is deleterious to health [2], although it is recognized that some people with obesity remain metabolically healthy [3]. Metabolically unhealthy obesity is mainly derived from white adipose tissue (WAT) dysfunction, involving adipocyte hypertrophy, inflammation, macrophage infiltration, hypoxia, fibrosis, and atrophied angiogenesis and adipogenesis [4]. In obesity conditions, visceral adipose tissue (VAT) is more likely to become dysfunctional than