



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

ANÁLISIS DE LOS EFECTOS DEL ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DOPAMINÉRGICO D2, SULPIRIDA, REDUCIENDO LA GLUCEMIA EN RATONES MACHO Y HEMBRA CON Y SIN OBESIDAD.

Proyecto de tesis

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

Q.F.B SAIRI IZCHEL ROBLES TORRES

TUTOR PRINCIPAL:

DRA. YAZMÍN MACOTELA GUZMÁN

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. BRENDA ANGUIANO SERRANO, INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DR. LUIS ALBERTO TÉLLEZ LIMA, INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

UNAM Campus Juriquilla, Juriquilla, Querétaro, octubre 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.

Universidad Nacional Autónoma de México
Campus Juriquilla, Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Sairi Izchel Robles Torres, cuyo título es: “Análisis de los efectos del antagonista del receptor dopaminérgico D2, sulpirida, reduciendo la glucemia en ratones macho y hembra con y sin obesidad ” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestro (a) en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la Coordinación General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente: _____

Secretario: _____

Vocal: _____

Suplente: _____

Suplente: _____

Coordinador del programa

Resumen

El tratamiento de 4 semanas con el antipsicótico sulpirida, disminuye la glucemia en ayuno y postprandio en ratones macho y hembra con obesidad. Se propone que este fármaco actúa al permitir el transporte de glucosa hacia el músculo esquelético, a través de un aumento del transportador GLUT4 en machos. En hembras se sugiere que permite la activación de la enzima glucógeno sintasa, aumentando las reservas de glucógeno en ratones con obesidad tratados. Los resultados indican una mejora en el metabolismo de la glucosa, por lo que el uso de este fármaco, acompañado de cambios en los hábitos alimenticios y la actividad física podría llegar a ser una nueva alternativa para el tratamiento de la obesidad.

Abstract

A four week treatment with the antipsychotic, sulpiride, decreases glucose levels in fasting and postprandial conditions, in obese male and female mice. We suggest it may act by increasing glucose transport in the skeletal muscle, through the enhancement of the density of glucose transporter GLUT4 in males. In females, we propose that sulpiride promotes the activation of glycogen synthase, increasing the glycogen reserves in both cases. Our results show an improvement in glucose metabolism, therefore, the use of this drug, accompanied by changes in eating habits and physical activity could be used as a new alternative treatment for obesity.

Agradecimientos y dedicatorias personales

A mis padres y hermanos que siempre me dan la fuerza y amor para seguir esforzándome, gracias por confiar en mis capacidades e impulsar mis sueños.

Agradezco a mi tutora, Dra. Yazmín Macotela por recibirme en su equipo a pesar de la premura de mi llegada, gracias por promover el intercambio de ideas entre nosotras, su orientación fue imprescindible para lograr este trabajo, me inspira a ser una mujer de ciencia, espero algún día llegar a ser al menos la mitad de brillante que es usted.

A mis compañeros, Dina Vázquez, por compartir el proyecto que comenzó con sencillez y amabilidad, fue un honor trabajar juntas. A José Luis Dena Beltrán y Ana Luisa Ocampo Ruiz, que además de enseñarme y responder todas mis dudas, hicieron cada día más ameno con su compañía, los admiro como científicos y personas.

A mis amigas, Elena González, Anahí Lugo, que aunque la distancia nos separa, siguen presentes en mi vida.

Agradecimientos Institucionales

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por el apoyo brindado a través de la beca para mis estudios de maestría. CVU: 1222886

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

A la Coordinación General de Estudios de Posgrado de la UNAM

A la Coordinación del Programa Maestría en Ciencias (Neurobiología)

Dr. José Gerardo Rojas Piloni

A la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología (INb)

Dra. Nuri Aranda López

A la Unidad de Videoconferencia del INb, por su asistencia técnica

Mtro. Moisés Mendoza Baltazar

A la Unidad de Microscopía e Histología del INb

Dra. Ericka Alejandra de los Rios Arellano

Ing. Elsa Nydia Hernández Ríos

Abreviaturas

AAAD: L-aminoácido aromático descarboxilasa

AC: adenilato ciclasa

AMPK: AMP activated protein kinase

ARSA: arilsulfatasa A

COMT: catecol-o-metiltransferasa

D2R: receptor dopaminérgico 2

DA: dopamina

DAR: receptores dopaminérgicos

DA-S: dopamina

DBH: dopamina β -hidroxilasa

DE: dieta estándar

DO: dieta obesogénica

DPD: domperidona

GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1

GIP: polipéptido inhibidor gástrico

GLUT4: glucose transporter type 4 o transportador de glucosa tipo 4

GS: glucógeno sintasa

HSL: lipasa sensible a hormonas

IMC: índice de masa corporal

LAT: transportador de aminoácidos tipo L

L- DOPA: L-3,4-dihidroxifenilalanina

MAO: monoamino oxidasa

MAPK: proteína cinasa activada por mitógeno

PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

PKA: proteína cinasa A

PP1: proteína fosfatasa 1

PRL: prolactina

SGLT: proteínas de transporte sodio-glucosa

TH: tirosina hidroxilasa

VMAT: transportador vesicular de monoaminas

ÍNDICE

1.	Introducción.....	8
2.	Antecedentes	8
a.	Fármacos antipsicóticos y metabolismo.....	10
b.	Efectos de la dopamina en órganos metabólicos.....	11
I.	Efectos de la dopamina en páncreas.....	12
II.	Efectos de la dopamina en tejido adiposo	16
III.	Efectos de la dopamina en el riñón	16
c.	Homeostasis de la glucosa.....	18
d.	Regulación central de la glucemia a cargo de la dopamina	23
e.	Regulación periférica de la glucemia por parte de la dopamina	25
f.	Asociación entre dopamina y la obesidad	27
g.	Uso de antagonistas dopaminérgicos en condiciones de obesidad.....	30
3.	Hipótesis.....	34
4.	Objetivos	34
5.	Contribución y relevancia del proyecto	34
6.	Materiales y métodos.....	35
a.	Animales.....	35
b.	Definición de la dosis efectiva de sulpirida	35
c.	Determinación de proteínas mediante Western Blot	36
d.	Medición del índice calórico	37
e.	Análisis estadístico.....	37
7.	Resultados	37
a.	La sulpirida no altera la ganancia de peso corporal en hembras bajo una dieta estándar u obesogénica, y en machos aumenta la ganancia de peso con la dosis de 5 mg/kg.	37
b.	La sulpirida promueve menores niveles de glucosa en machos y hembras alimentados con dieta estándar en condiciones postprandiales.....	40

c.	El efecto de la sulpirida en la glucemia de ratones alimentados con una dieta obesogénica depende del sexo y la sensibilidad a la dieta.	41
d.	El tratamiento con sulpirida normaliza el nivel de fosforilación de diversas proteínas involucradas en el metabolismo de la glucosa, mostrando un dimorfismo sexual en su mecanismo de acción.	43
8.	Discusión	49
9.	Conclusión.....	60
10.	Perspectivas	62
11.	Referencias	64
12.	Lista de figuras y tablas	69
13.	Apéndice	70

1. Introducción

La obesidad es una enfermedad crónica progresiva que afecta a una gran parte de la población a nivel mundial, esta conlleva un alto riesgo de padecer enfermedades metabólicas que disminuyen la calidad de vida e incrementan la mortalidad. Tal es el caso de la diabetes mellitus tipo 2, enfermedad que se caracteriza por hiperglucemia crónica, perjudicial para el organismo. En la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas que puedan contribuir al mejoramiento de las alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad, los agonistas y antagonistas de los receptores D2 dopaminérgicos han adquirido interés en los últimos años, lo que sugiere que la dopamina tiene otros efectos más allá de los ya conocidos a nivel central.

2. Antecedentes

En los últimos 50 años la prevalencia de obesidad se ha incrementado de manera preocupante a nivel mundial, esta es una enfermedad crónica progresiva que representa un reto para la salud pública debido a que es el principal factor de riesgo para padecer otras enfermedades no comunicables, entre ellas, enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, diabetes mellitus, Alzheimer, enfermedades locomotoras como osteoartritis, entre otras, que en conjunto representan más del 70% de las muertes prematuras a nivel mundial (Blüher, 2019; WHO, 2024).

Asimismo, se estima que la obesidad disminuye la esperanza de vida de entre 5 a 20 años, dependiendo del grado de severidad y las comorbilidades que se presenten (Blüher, 2019). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la obesidad se define como la acumulación excesiva de grasa corporal que tiene consecuencias adversas en la salud, y se diagnostica con un índice de masa corporal (IMC) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. También se utiliza el diagnóstico de obesidad abdominal, que implica tener una circunferencia de cintura mayor a 80 cm para mujeres y 90 cm para el caso de los hombres (Campos-Nonato et al., 2023; WHO, 2024).

La Federación Mundial de la Obesidad ha reportado que al año hay casi 5 millones de muertes causadas por complicaciones asociadas a la obesidad y el sobrepeso, además el número de casos de obesidad se elevará dramáticamente, ya que los 810 millones de casos reportados en 2020, se incrementarán a 1530 millones de casos en el 2035, por lo que la obesidad junto con el sobrepeso afectarán al 54% de los adultos a nivel mundial (Lobstein et al., 2024).

Se estima que en México el valor de IMC ha aumentado en 1 kg/m² por década en los últimos 40 años, llegando a ser el segundo país a nivel mundial con mayor prevalencia de obesidad, después de EUA (Blüher, 2019). De acuerdo con la más reciente Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT Continua 2020-2022) la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población adulta de 20 años y más es de 75% (38.3% con sobrepeso y 36.9% con obesidad), en jóvenes de 12 a 19 años de 41%, y en niños de 5 y 11 años del 37% (Campos-Nonato et al., 2023; PROFECO, 2022; Shamah-Levy et al., 2023).

Las causas de la obesidad son multifactoriales y tienen un origen que poco tiene que ver con decisiones individuales, más bien son el resultado de factores sistémicos, como cambios drásticos en los sistemas alimentarios derivados de la urbanización, la industrialización, el consumismo e intereses económicos (Ferreira S, Macotela Y., 2024). Derivado de estos cambios, el sobrepeso y la obesidad resultan del desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las gastadas, como consecuencia del incremento en la ingesta de alimentos hiperpalatables con alto contenido calórico que son ricos en grasas y azúcares simples, mejor conocidos como ultraprocesados, así como la tendencia a practicar menos actividad física debido a la naturaleza sedentaria del actual estilo de vida (trabajo, medios de transporte, urbanización). Por ello, la solución más lógica y simple debería ser adoptar hábitos saludables; sin embargo, en gran parte de los casos, las intervenciones que pretenden reducir la ingesta calórica y aumentar el gasto energético acaban por fallar a largo plazo, a causa de múltiples factores sistémicos que rigen la vida de los individuos (el ambiente alimentario obesogénico, el interés económico de empresas de alimentos, falta de oportunidades de recreación física, la cultura alimenticia, la inequidad social, la falta de conocimiento, el grado de urbanización, etc.) (Blüher, 2019).

En vista de que los casos de obesidad siguen en aumento y con ello el aumento de comorbilidades como la diabetes mellitus, actualmente se busca implementar nuevas alternativas farmacológicas, que se podrían combinar con otro tipo de intervenciones, para ayudar a mejorar las alteraciones metabólicas que ocurren a nivel sistémico en esta enfermedad (*Prescription Medications to Treat Overweight & Obesity - NIDDK*, 2023). Es importante reconocer que, si bien las alternativas farmacológicas son necesarias en casos graves, la solución a la epidemia de obesidad está en cambiar los sistemas alimentarios, favoreciendo la disponibilidad y el consumo de alimentos

saludables, al tiempo que se prohíbe el consumo de ultraprocesados en las escuelas, hospitales, etc., y se disminuye su publicidad agresiva (Ferreira S, Macotela Y., et al., 2024).

a. Fármacos antipsicóticos y metabolismo

Nuestro grupo de trabajo ha propuesto que los fármacos que actúan sobre los receptores dopaminérgicos (DAR), entre ellos los antagonistas del receptor D2 (D2R), podrían utilizarse como tratamiento para las alteraciones metabólicas derivadas de la obesidad. Estos fármacos actualmente son antipsicóticos de primera y segunda generación, utilizados como antidepresivos, además de tratar síntomas gastrointestinales, y actuar como antihipertensivos (Macotela et al., 2022). A pesar de que algunos de estos fármacos muestran efectos metabólicos negativos como aumento de peso, incremento de niveles de triglicéridos, colesterol, glucosa (olanzapina, clozapina, quetiapina), otros muestran efectos positivos, como el reducir la concentración de triglicéridos, colesterol LDL y glucosa (aripiprazol, brexpiprazol, cariprazina, lurasidona, ziprasidona, amisulprida) (Macotela et al., 2022; Pillinger et al., 2020). Por ejemplo, la amisulprida, un antagonista de los receptores D2 y D3 dopaminérgicos, en ensayos clínicos muestra reducir los niveles de glucosa en ayuno y no se asocia con aumento de peso. Además, en un modelo murino, 15 días de tratamiento con dosis bajas de amisulprida mostraron una acción antidiabética al reducir los niveles de glucosa en ayuno en ratones con obesidad inducida por dieta, esto se asocia con un aumento en los niveles de insulina por lo que se propone que el mecanismo es estimular la secreción de insulina en las células β pancreáticas (Macotela et al., 2022; McKeage & Plosker, 2004; Roix et al., 2012).

Debido a este efecto metabólico positivo surge la idea de experimentar con otras benzamidas, una nueva alternativa es el antipsicótico sulpirida, que tiene afinidad por los receptores de dopamina (DA) D2 y D3 fungiendo como un antagonista (Wagstaff et al., 1994). Este fármaco se utiliza como antipsicótico a dosis entre 150 a 1600 mg/día y se sabe que estimula la elevación de prolactina (PRL) en suero y líquido cefalorraquídeo (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2012; Mauri et al., 1996). Además, a dosis menores (50 a 150 mg/día) tiene un efecto antidepresivo y es útil para tratar la gastroparesia diabética (Mansi et al., 1995; Mauri et al., 1996). Es importante mencionar que la sulpirida tiene una baja penetración en la barrera hematoencefálica debido a su baja liposolubilidad, en comparación con otros fármacos psicotrópicos, por lo que es útil para estudiar los efectos de la DA a nivel periférico (Dos Santos Pereira et al., 2014).

La DA es un neurotransmisor tipo catecolamina que se encuentra de manera predominante en el sistema nervioso central, en donde regula funciones de locomoción, coordinación de movimiento, cognición, emoción, reforzamiento positivo, ingesta de alimento y homeostasis metabólica, todo esto gracias a la coordinación de cuatro sistemas separados: nigroestriatal, mesocortical, mesolímbico y mesoamigdalino (de Donato et al., 2022). En el sistema nigroestriatal, la dopamina modula la locomoción; en el sistema mesocortical, la atención y la cognición; en el sistema mesolímbico modula la motivación y en el mesoamigdalino interviene en el estado de ánimo (de Donato et al., 2022). Sin embargo, los efectos de la DA a nivel periférico son menos conocidos, por ello es importante estudiarlos, ya que se sabe que agonistas y antagonistas dopaminérgicos pueden ejercer sus efectos en tejidos que son relevantes para el metabolismo (Tavares et al., 2021).

b. Efectos de la dopamina en órganos metabólicos

Las acciones periféricas mejor conocidas de la DA involucran sus funciones cardiovasculares; se ha observado que la administración in vivo de DA o sus agonistas inducen vasodilatación cerebral, coronaria, renal y causan hipotensión, además de estimular la contractilidad cardíaca. Asimismo, la DA que se deriva de las terminales sinápticas del sistema nervioso periférico regula diversos procesos como secreción hormonal, transporte de electrolitos, motilidad gastrointestinal y proliferación celular, a su vez, juega un papel importante en el balance energético, este último aspecto es de particular interés y es el que se abordará en el presente trabajo de investigación (Amenta et al., 2001; Borcharding et al., 2011; Tavares et al., 2021).

Los primeros indicios de que la DA tiene un papel en el metabolismo se observaron con su precursor, la L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) que se conoció en un principio por sus efectos hiperglucemiantes en ratas, y con ello se encontró que la DA regula los niveles de hormonas pancreáticas endocrinas, al observar una inhibición de la secreción de insulina (Rubí & Maechler, 2010). Además, en fases tempranas de su uso como tratamiento en la enfermedad de Parkinson, la L-DOPA mostró disminuir los niveles de insulina, como consecuencia de la síntesis periférica de DA, ya que no se observaba este efecto cuando la L-DOPA era coadministrada con carbidopa, un inhibidor periférico de la L-aminoácido aromático descarboxilasa (AAAD), la enzima que convierte a la L-DOPA en DA (Rubí & Maechler, 2010).

La DA circula como dopamina sulfato (DA-S) cuya vida media es de 3-4 horas, en comparación con la DA cuya vida media es de solo unos cuantos minutos, la DA-S puede ser de-conjugada a la

forma bioactiva por la arilsulfatasa A (ARSA) una enzima lisosomal (Borcherding et al., 2011). Debido a que la DA no puede cruzar la barrera hematoencefálica, en la periferia esta se origina en tres fuentes principales: fibras neuronales, médula adrenal y células neuroendócrinas, también llamadas células APUD (por el inglés *amine precursor uptake and decarboxylation cells*) y parece ser que los niveles de DA plasmáticos están determinados principalmente por la actividad de fibras nerviosas simpáticas que liberan el precursor de DA en conjunto con la noradrenalina (Rubí & Maechler, 2010). Por otra parte, las células APUD se pueden localizar en el riñón, páncreas endocrino y exocrino, tracto gastrointestinal, células de la retina, células endoteliales y leucocitos periféricos (Osinga et al., 2017; Rubí & Maechler, 2010).

Para ejercer sus efectos, la DA se une a cinco diferentes receptores acoplados a proteínas G, que se clasifican en dos familias; una constituida por D1R y D5R, asociada a la estimulación de la adenilato ciclasa (AC), y la otra conformada por D2R (isoforma corta y larga), D3R y D4R que promueven la inhibición de la AC. El primer grupo esta acoplado a proteína G_{as} y pueden activar a la proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK); por otro lado, los receptores de la familia D2 están acoplados a proteínas $G_{ai/o}$ que inhiben a la AC impidiendo el aumento de AMPc, además modulan otras vías de señalización, incluyendo a las fosfolipasas, canales iónicos, MAPK, y el intercambiador Na^+/H^+ (Borcherding et al., 2011; Boyd & Mailman, 2012). Estos receptores están ampliamente expresados en el sistema nervioso central, y en la periferia se distribuyen en varios tejidos como riñón, glándulas adrenales, tracto gastrointestinal, vasos sanguíneos, tejido adiposo y corazón (Vranic et al., 2023). A continuación, se expondrán los efectos de la dopamina en órganos que están involucrados en el metabolismo.

1. Efectos de la dopamina en páncreas

Recientemente Aslanoglou y colaboradores (2021) describieron que en los islotes pancreáticos de ratones y humanos, tanto células α como β producen DA de forma independiente de la inervación simpática, particularmente en respuesta a la captación de precursores como L-DOPA. Una evidencia de ello es la expresión de la maquinaria biosintética para catecolaminas como tirosina hidroxilasa (TH), AAAD, dopamina β -hidroxilasa (DBH), transportador de aminoácidos tipo L (LAT1, LAT2), el transportador vesicular de monoaminas (VMAT1 y VMAT2), transportador de dopamina (DAT), lo que les permite a las células pancreáticas sintetizar, convertir, almacenar, secretar y recapturar monoaminas, incluyendo DA (Aslanoglou et al., 2021; Uefune et al., 2022).

Asimismo, la maquinaria catabólica que incluye, monoamino oxidasa A y B (MAOA, MAOB) y catecol-o-metiltransferasa (COMT) se expresa tanto en células α como β pancreáticas (Aslanoglou et al., 2021). Es interesante saber que se ha observado un aumento de la concentración de L-DOPA y DA de >50 veces en la circulación después de las comidas, lo que le permite a las células β sincronizar la síntesis de DA dependiendo del tamaño de la comida (Aslanoglou et al., 2021).

Sin embargo, parece haber diferencias en la capacidad de síntesis de DA entre las células α y β , por un lado, las células α tienen la capacidad de producir y secretar L-DOPA de novo, así como convertirla en DA y norepinefrina, mientras que en las células β la producción de DA ocurre en respuesta al consumo de L-DOPA exógena, esto es porque solo una subpoblación de células β expresa tirosina hidroxilasa (TH) y por lo tanto pocas tienen la capacidad de convertir tirosina a L-DOPA, al contrario, la AADC, que convierte L-DOPA a DA, se observa en la mayoría de las células β (Aslanoglou et al., 2021; Uefune et al., 2022).

Además, las células β expresan receptores D2R y D3R y su señalización tiene como resultado la inhibición de la respuesta secretoria del páncreas, ya que agonistas de estos receptores muestran inhibir la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS del inglés *glucose stimulated insulin secretion*) en experimentos in vivo e in vitro, indicando que la DA es un regulador negativo de la secreción de insulina (Farino et al., 2020; Rubí & Maechler, 2010).

Asimismo, se ha reportado que la DA es co-secretada con la insulina (Uefune et al., 2022). Se ha observado en la línea celular β pancreática, INS-1E, que la estimulación con concentraciones altas de glucosa (20 mM) y en presencia de L-DOPA provoca un aumento considerable en la síntesis de DA, conjuntamente, hay una inhibición dependiente de la dosis en la GSIS al aumentar las concentraciones de este precursor, y este efecto es atenuado por sulpirida, lo que sugiere que los receptores D2 y D3 están involucrados en la inhibición de GSIS (Farino et al., 2020). De igual manera, en islotes pancreáticos de ratones knockout para el receptor D2R y D3R sometidos a tratamientos con L-DOPA, se mostró que no existe esta inhibición de la secreción de insulina estimulada por glucosa, además, la secreción de DA estimulada por glucosa fue menor (Farino et al., 2020). Por último, la concentración de insulina en ratones knockout para el D2R no cambió en condiciones de ayuno, sin embargo, se observaron mayores niveles de insulina después de que consumieran un pellet de comida, lo cual no fue provocado por diferencias en los niveles de glucosa o a la sensibilidad a la insulina, por lo que atribuyen estas diferencias a cambios en el mecanismo

de secreción de insulina, por ello se sugiere que los receptores D2 modulan la secreción de insulina, especialmente después del consumo de alimento (Farino et al., 2020).

Con lo que respecta al comportamiento de inhibición de la secreción de insulina, tanto en islotes pancreáticos de ratones y humanos, ocurre de manera monofásica, es decir, a mayor concentración de DA menor secreción de insulina (Aslanoglou et al., 2021). Además de tener una influencia en la secreción de insulina, se han encontrado efectos diferenciales en la secreción de glucagón en islotes de ratón y humano. Mientras que en ratones la DA aumenta la secreción de glucagón de manera monofásica (a mayor concentración de DA mayor secreción de glucagón), en humanos tiene un comportamiento bifásico, esto es, a concentraciones bajas de DA (100 pM-1 μ M) se reduce la secreción de glucagón, pero a mayores concentraciones (10-100 μ M) se aumenta su secreción (Aslanoglou et al., 2021). Esto se debe a que las células α y β expresan receptores adrenérgicos y que la DA también puede unirse a ellos. En el caso de las células α de humanos los receptores adrenérgicos β_1 y D2 tienen un nivel de expresión similar, mientras que en ratones la expresión de receptores β_1 es 74 veces mayor relativo a receptores D2, esto implica que en humanos, en un principio la DA se une a los D2R, por su mayor afinidad, llevando a cabo una señalización inhibitoria en la secreción de glucagón, y al aumentar la concentración de DA y ocupar también los receptores β_1 adrenérgicos en las células α , se observa como resultado una mayor secreción de glucagón (Aslanoglou et al., 2021). En el caso de los ratones, al expresar en mayor cantidad los receptores β_1 , la DA tendría un efecto estimulatorio en la secreción de glucagón, lo que explica el comportamiento monofásico (Aslanoglou et al., 2021).

Ahora, con respecto a las células β , en humanos la expresión de receptores α_{2A} es 1.5 veces más que la del receptor D2, entre tanto, en ratones los receptores α_{2A} tiene un incremento en 1,395 veces en comparación con los receptores D2, pero la DA tiene el mismo efecto al unirse a cualquiera de estos receptores, que es inhibir la secreción de insulina, y en vista de que los receptores D2 pueden ser activados a menores concentraciones, la DA tiene mayor potencia en disminuir la secreción de insulina en humanos, a comparación de en ratones (Aslanoglou et al., 2021). El mecanismo de inhibición de la secreción de insulina parece implicar la formación de un heterodímero entre D1R-D2R, que al activarse por DA disminuye el flujo de Ca^{2+} a la célula β (Uefune et al., 2022).

En resumen, a bajas concentraciones la DA se une a sus receptores D2 que son inhibitorios y bloquean la liberación de insulina y glucagón, mientras que a mayores concentraciones también se

puede unir a receptores β adrenérgicos en las células α y ser estimulante, teniendo efectos hiperglucemiantes derivados de la liberación de glucagón, asimismo inhibe la liberación de insulina por parte de las células β , determinado por su actividad sobre receptores D2R y/o α_{2A} (Figura 1) (News, 2021).

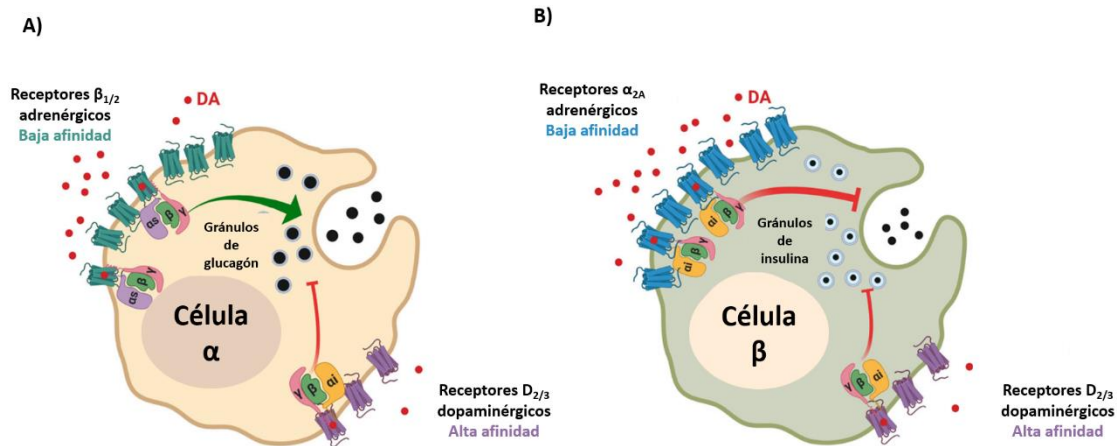


Figura 1. Regulación dopaminérgica de la secreción hormonal pancreática. A) En las células α la DA inhibe la secreción de glucagón a través de $D_{2/3}R$, sin embargo, a mayores concentraciones se une a receptores β adrenérgicos que estimulan su secreción. B) La DA en células β se une a D_{2R} con alta afinidad, a mayores concentraciones ocurre la unión a receptores α_{2A} , la unión a ambos tiene como consecuencia la disminución de la secreción de insulina. Traducido y modificado de Aslanoglou et al., 2021.

Un aspecto importante en enfermedades como la diabetes es la apoptosis y falta de proliferación de las células β , en donde se ha observado que la DA contribuye en el proceso de desdiferenciación, un mecanismo que desencadena la pérdida de células β (Sakano et al., 2016; Talchai et al., 2012). En apoyo a esto, el uso de domperidona (DPD), un antagonista de D_{2R} , protege a las células de la desdiferenciación, apoptosis e incrementa la proliferación (Sakano et al., 2016). Se cree que el mecanismo involucra la formación de un heterodímero con el receptor de adenosina A_2 (ADORA2A), ejerciendo un efecto inhibitorio en su vía de señalización (Sakano et al., 2016). Se ha mostrado que en células β donde se han sobreexpresado a los D_{2R} y D_{3R} por separado o en conjunto, después de 5 días, aquellas que sobreexpresan el D_{2R} tuvieron una mayor disminución del número total de células, en comparación del control, y al añadir DA al medio se aceleró la muerte celular; en cambio las células que sobreexpresan el receptor D_1 no mostraron diferencias, de manera interesante, al sobreexpresar en conjunto ambos receptores se obtuvo un resultado benéfico, particularmente en la presencia de DA (Uefune et al., 2022).

II. Efectos de la dopamina en tejido adiposo

Cuatro de las cinco diferentes isoformas del receptor para DA se han identificado en los adipocitos de manera diferencial a lo largo de su diferenciación, los adipocitos maduros muestran más expresión de D1R y menor expresión de D2R a comparación de la fracción estromal vascular (Borcherding et al., 2011). Es pertinente mencionar que los adipocitos pueden convertir DA-S a la forma activa, ya que se ha reportado la expresión de ARSA y ARSC en tejido adiposo subcutáneo (Borcherding et al., 2011).

El tejido adiposo tiene una importante función endócrina al producir adipocinas entre las que se encuentra la prolactina. La DA inhibe la liberación de prolactina tanto en adipocitos maduros como en preadipocitos primarios al actuar sobre los D2R, esto fue demostrado por Borcherding y colaboradores en 2011 en estudios *in vitro* donde al examinar como afectaba la DA los niveles intracelulares de AMPc y GMPc encontraron que las concentraciones de 1 y 10 nM de DA suprimían su elevación a los 30 minutos de incubación (Borcherding et al., 2011). Además, los autores sugieren que a través de los receptores D1/D5 se regula la liberación de adipocinas, este último efecto se observó tanto a dosis bajas (1 nM) como a dosis altas (100 nM), en donde la secreción de leptina fue inhibida entre un 40-80%, mientras que la liberación de adiponectina se estimuló en un 60-80% en adipocitos primarios diferenciados, con respecto a la IL-6, su liberación tuvo una estimulación de entre el 30-40% (Borcherding et al., 2011).

Es posible que la DA participe en la inducción y mantenimiento de la adipogénesis ya que los genes de los receptores D1 y D2 contienen sitios de unión para los factores de transcripción C/EBPs y PPAR γ , ambos factores son importantes en este proceso, por lo que se sugiere que estos receptores son regulados transcripcionalmente por ellos. Además la misma prolactina secretada por el tejido adiposo, y cuya secreción se ve modificada por DA, estimula la adipogénesis, inhibe la lipólisis y modifica la secreción de adipocinas (Borcherding et al., 2011).

III. Efectos de la dopamina en el riñón

Existe un sistema dopaminérgico intrarrenal, en donde, mientras las concentraciones circulantes de DA son normalmente picomolares en el resto del cuerpo, los niveles de DA en el riñón pueden alcanzar concentraciones nanomolares elevadas, ya que existe producción renal de DA en los túbulos proximales (Amenta et al., 2001; Harris & Zhang, 2012). Igualmente se expresan todos los receptores dopaminérgicos, siendo los receptores D1 y D5 los más abundantes seguidos de D3, D2

y D4; específicamente los receptores D2, D3 y D4 tienen una localización vascular y tubular en la corteza renal, mientras que los receptores D1 se localizan en el músculo liso de las arterias intrarenales, así como en los túbulos de la corteza renal (Amenta et al., 2001; Harris & Zhang, 2012).

El precursor de DA, L-DOPA, se captura por el túbulo proximal mediante diversos transportadores de aminoácidos que incluyen: rBAT, LAT2 y ASCT2 desde la circulación o después de la filtración en el glomérulo, para ser luego convertida a DA por la AADC, que se localiza también en el túbulo proximal, la DA se libera en conjunto con noradrenalina (Harris & Zhang, 2012).

La producción intrarrenal de DA incrementa al aumentar la ingesta de sal y la activación de los receptores dopaminérgicos lleva a una menor reabsorción de sal y agua, este proceso está mediado en parte por la inhibición de transportadores tubulares que incluyen: NHE3, NaPi-II, NBC y Na/K-ATPasa en el túbulo proximal; NKCC2 en el asa de Henle, ENaC y AQP2 en el túbulo colector (Harris & Zhang, 2012). La DA también estimula la producción de prostaglandinas en la médula renal, que a su vez promueven la excreción de sal (natriuresis) y agua (diuresis) (Harris & Zhang, 2012). Con respecto al sistema de renina-angiotensina, parte de los efectos natriuréticos de la DA son mediados por la señalización de la angiotensina II (Harris & Zhang, 2012).

Los efectos de la DA en los riñones incluyen la vasodilatación al interactuar con el músculo liso de las arterias o al reducir el tono simpático ejercido en ellas, por ello ratones deficientes del receptor D2 y D5 desarrollan hipertensión dependiente de especies reactivas de oxígeno, en donde la actividad de NADPH está incrementada (Amenta et al., 2001; Harris & Zhang, 2012). Los ratones que son deficientes en COMT, una de las enzimas que metaboliza la DA, tienen una elevación de la presión sanguínea nocturna en respuesta a altas concentraciones de sal, además, en la deficiencia de AADC desarrollan hipertensión sensible a sal (Harris & Zhang, 2012).

Con esto, la DA tiene una clara influencia en la tasa de filtración glomerular, ya que los fármacos dopaminérgicos que se administran a pacientes con falla renal tienen un efecto positivo en la función renal, al disminuir los niveles de creatinina sanguíneos (de Donato et al., 2022). Se cree que la DA genera este efecto debido a la vasodilatación de las arterias renales, en donde trabaja en cooperación de otras sustancias, como aminoácidos presentes en la dieta y principalmente la vasopresina, ya que se ha visto que la DA puede causar el incremento de los niveles de esta (de Donato et al., 2022).

c. Homeostasis de la glucosa

Los niveles de glucemia se determinan por el equilibrio dinámico entre su tasa de aparición, que implican la ingesta, digestión y absorción intestinal de alimentos, además de la síntesis y liberación a través de los procesos de glucogenólisis y gluconeogénesis, y por otro lado, está la tasa de desaparición, que depende de procesos metabólicos que a su vez obedecen al nivel de actividad e implica la utilización, captura, almacenaje o excreción de glucosa (Aronoff et al., 2004; Bich et al., 2020; Mirzadeh et al., 2022).

Asimismo, el vaciamiento gástrico determina aproximadamente un 35% de la varianza en los niveles de glucosa postprandiales, el cual se acelera durante la hipoglucemia y hay un retraso en situaciones de hiperglucemia (Alsahli & Gerich, 2016). La fuente de glucosa depende del tiempo que transcurre desde la ingesta de alimento; durante las primeras 8-12 h de ayuno la glucogenólisis es la principal fuente de glucosa y el glucagón facilita este proceso, en caso de periodos más prolongados de ayuno, la glucosa es producida vía gluconeogénesis a partir de otros precursores como lactato, piruvato, aminoácidos y glicerol en hígado y riñón (Alsahli & Gerich, 2016; Aronoff et al., 2004).

En humanos, los valores de glucosa en sangre varían alrededor de los 100 mg/dL, con una concentración que no excede los 165 mg/dL, por ejemplo después de alguna comida y permanecen por encima de 55 mg/dL en ausencia de alimentos, como después del ejercicio o un ayuno moderado (Alsahli & Gerich, 2016). Esta estabilidad contrasta con la situación de otros sustratos como glicerol, lactato, ácidos grasos libres, cuerpos cetónicos, etc. Este rango se encuentra regulado por un sistema neurohormonal, por ejemplo, una reducción en los niveles de aproximadamente 20 mg/dL, suprime la liberación de insulina y disminuirá la captura de glucosa en ciertas áreas del cerebro (ej. Hipotálamo donde se localizan los sensores de glucosa), esto activará el sistema nervioso simpático y desencadenará la liberación de hormonas que promueven el aumento de glucosa (glucagón, catecolaminas, cortisol, hormona de crecimiento), al contrario, un incremento de 10 mg/dL en los niveles de glucosa estimula la liberación de insulina y suprime la de glucagón (Alsahli & Gerich, 2016).

Entonces, además de la insulina y glucagón, las hormonas que permiten un estado de normoglucemia incluyen a la amilina, péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), polipéptido inhibidor gástrico (GIP), epinefrina, cortisol y hormona de crecimiento. De estas, la insulina y la

amilina se producen en las células β del páncreas, el glucagón en las células α del páncreas, el GLP-1 y el GIP en las células L intestinales (Aronoff et al., 2004).

La insulina es una de las hormonas que se ve principalmente afectada en enfermedades metabólicas, sobre todo porque sus acciones permiten el control postprandial de la glucosa y estas se pueden resumir de la siguiente manera, en primer lugar, inicia su vía de señalización en los tejidos, como el músculo esquelético, en donde incrementa la captura de glucosa al facilitar la translocación de los transportadores GLUT4 a la membrana celular (Aronoff et al., 2004; Bich et al., 2020). La segunda función implica promover la glucogénesis o síntesis de glucógeno en el hígado y músculo al activar a la proteína fosfatasa 1 (PP1) que desfosforila a la glucógeno sintasa (GS) activándola, además, al activar a PP1 se inhibe la glucogenólisis o degradación de glucógeno debido a que se desfosforila a la enzima glucógeno fosforilasa (que fosforila e inactiva a GS) inhibiendo su actividad (Alsahli & Gerich, 2016; Aronoff et al., 2004; Bich et al., 2020). Por último, la insulina modifica el potencial de membrana de las células α , y con ello inhibe la liberación de glucagón, lo que detiene la glucogenólisis y gluconeogénesis por parte del hígado, todo esto reduce los niveles de glucosa. Otras acciones que tiene la insulina incluyen estimular el almacenaje de triglicéridos en adipocitos, además de inhibir la liberación de ácidos grasos libres a la circulación debido a la supresión de la actividad de la lipasa sensible a hormonas (HSL) y promover la síntesis de proteínas en hígado y músculo (Alsahli & Gerich, 2016; Aronoff et al., 2004; Bich et al., 2020). La secreción de insulina no ocurre al menos que se superen los 60 mg/dl de glucosa, y esta secreción se realiza en dos fases, una rápida que libera insulina preformada, seguida de un incremento en la síntesis de insulina y su liberación en respuesta a los niveles de glucosa, y a pesar de que la glucosa es el principal estimulante de la liberación de insulina otros estímulos contribuyen, como algunos aminoácidos (arginina, leucina, lisina), GLP-1 y GIP, y la estimulación parasimpática del nervio vago (Aronoff et al., 2004).

Existen otros mecanismos mediante los cuales se puede remover a la glucosa de la circulación sanguínea, que contribuyen aproximadamente con el 80% de la captura en el estado basal, y son los primeros en verse alterados en individuos que desarrollan diabetes tipo 2, se cree que el sistema nervioso central puede modular potencialmente estos mecanismos (Mirzadeh et al., 2022). Por ejemplo, la regulación de las células β por el sistema nervioso central involucra vías indirectas (secreción de hormonas neuroendocrinas) y directas (por el sistema nervioso autónomo e

inervación sensorial), por ejemplo, el sistema nervioso simpático suprime la secreción de insulina basal y estimulada por glucosa, mientras que el sistema nervioso parasimpático estimula la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS). En contraste, ambas ramas del sistema autonómico incrementan la secreción de glucagón, además, las fibras del nervio vago, perteneciente al sistema nervioso parasimpático, inervan extensamente el tracto gastrointestinal, no solo al páncreas (Mirzadeh et al., 2022).

Otra hormona implicada en el control de la glucemia es la amilina, que es co-secretada con la insulina por las células β en respuesta a los nutrientes, la relación insulina amilina es 50:1, que debido a la extracción de la insulina por parte del hígado llega a ser 20:1 en circulación, sus niveles llegan a ser 25 pmol/l después de las comidas, y de igual manera que con la insulina en sujetos con diabetes tipo 2 hay alteraciones en sus niveles. La amilina complementa los efectos de insulina al suprimir la secreción de glucagón, pero no la suprime cuando hay episodios de hipoglucemia causados por insulina, también disminuye la velocidad de vaciamiento gástrico, reduce el consumo de alimento y el peso corporal en modelos animales al ejercer sus acciones en el sistema nervioso central principalmente en el área postrema (parte del complejo vagal en el tronco encefálico) (Aronoff et al., 2004). Dentro de las incretinas, GIP, estimula la secreción de insulina, inhibe la secreción de glucagón y regula el metabolismo del tejido adiposo cuando los niveles de glucosa son altos, pero no inhibe el vaciamiento gástrico, además, se sugiere que tiene un papel en la preservación de la función y la proliferación de células β , sus niveles son normales o ligeramente elevados en sujetos con diabetes tipo 2 (Aronoff et al., 2004).

Otra hormona que juega un papel en el control de la glucemia es el glucagón, el cual se secreta en estado de hipoglucemia desde las células α del páncreas endocrino y actúa exclusivamente en el hígado donde se estimula a la enzima fosforilasa que aumentan la glucogenólisis (Alsahli & Gerich, 2016). Adicionalmente, las catecolaminas liberadas por el sistema nervioso simpático durante situaciones de estrés e hipoglucemia, inhiben la liberación de insulina. Sus efectos incluyen el incremento de glucogenólisis en hígado al activar a la glucógeno fosforilasa, en riñón estimulan la gluconeogénesis, en músculo esquelético reducen la captura de glucosa y estimulan la glucogenólisis (que resulta en la liberación de lactato, el precursor más importante de la gluconeogénesis) y, por último, en tejido adiposo se estimula la lipólisis por la activación de HSL (libera ácidos grasos libres y glicerol) (Alsahli & Gerich, 2016).

Una vez que la glucosa se remueve del plasma, esta puede tener diversos destinos, por un lado, puede ser almacenada inmediatamente como glucógeno, someterse a glucólisis que puede ser no oxidativa, que resulta en la producción de piruvato (que puede ser reducido a lactato o transaminarse para formar alanina, al final estos productos se someten a gluconeogénesis para almacenarse o liberarse al plasma). En el caso de ser glucólisis oxidativa se convierte en acetil CoA que es oxidada aún más a través del ciclo de ácido tricarboxílico para formar CO₂ y agua (Alsahli & Gerich, 2016).

Los mecanismos de liberación de glucosa (glucogenólisis vs gluconeogénesis) varían dependiendo de la duración del ayuno por ejemplo, si el ayuno es prolongado la proporción de gluconeogénesis incrementa y la contribución del glucógeno hepático disminuye, además, la contribución relativa de los riñones incrementa durante el ayuno que ocurre durante la noche (Alsahli & Gerich, 2016). A pesar de que la mayoría de los tejidos tienen la capacidad de hidrolizar el glucógeno, solo el hígado y riñón contienen glucosa-6-fosfatasa, la enzima responsable de la liberación de glucosa a la circulación (Aronoff et al., 2004).

Como ya se mencionó los riñones están implicados en el control de la glucemia y llevan a cabo las siguientes funciones: liberación de glucosa hacia la circulación (gluconeogénesis), captura de glucosa desde la circulación para sus requerimientos energéticos y la reabsorción de glucosa en la filtración glomerular. Aproximadamente contribuyen al 20% de la glucosa total en estado de ayuno, la liberación por parte del riñón aumenta una vez que las reservas de glucógeno hepático se han agotado, además, utilizan alrededor del 10% de la glucosa circulante. La reabsorción de glucosa ocurre a través de los co-transportadores sodio-glucosa (SGLT1 y SGLT2) en el túbulo contorneado proximal en donde el 90% se reabsorbe a través de SGLT2 y el resto a través de SGLT1, para luego liberarse a la circulación a través de GLUT2 en la membrana basolateral. Existe un equilibrio en la glucosa liberada desde el hígado y riñón, ya que mientras que aumenta en uno disminuye en el otro, por ejemplo, después de una comida, la liberación de glucosa hepática disminuye en un 80% mientras que la que proviene de los riñones incrementa, esto para permitir que las reservas de glucógeno se reestablezcan (Alsahli & Gerich, 2016).

En el caso del hígado, este es responsable de la liberación del 80% de la glucosa en el periodo de ayuno, del cual el 50% proviene de la glucogenólisis y el resto de la gluconeogénesis, las reservas de glucógeno se agotan completamente después de 20 h (Alsahli & Gerich, 2016).

Durante el ayuno, no ocurre el almacén de glucosa, como consecuencia la glucosa que es capturada en los tejidos es completamente oxidada a CO_2 , o liberada a la circulación como lactato, alanina y glutamina para que se reincorpore a la vía de gluconeogénesis (Alsahli & Gerich, 2016). Además, la utilización de la glucosa durante el ayuno ocurre en diferente proporción en los tejidos, por ejemplo, el cerebro es responsable del 50 a 60%, músculo esquelético del 15-20 %, riñón del 10 al 15 %, órganos esplácnicos 3-6% y tejido adiposo del 2 al 4%. Mientras que otros tejidos pueden utilizar sustratos alternativos para obtener energía, en el cerebro la glucosa es el combustible por obligación (el cerebro tiene un coeficiente respiratorio de 1), debido a la cantidad limitada de otros sustratos (cuerpos cetónicos, lactato) o a la limitación en el transporte a través de la barrera hematoencefálica (ej. ácidos grasos libres), y debido a que el cerebro es incapaz de sintetizar glucosa de novo, y el único almacén de glucógeno se encuentra en astrocitos (Alsahli & Gerich, 2016; Dienel, 2019).

Al momento de consumir alimentos, la glucosa ingerida aparece en sangre a partir de los 15 minutos, pero llega a su concentración máxima hacia los 60-80 minutos y gradualmente disminuye a partir de ahí (Alsahli & Gerich, 2016). En promedio, la asimilación completa de carbohidratos ocurre en un periodo postprandial de 4-5 hrs donde cerca del 75% de la glucosa en plasma proviene del alimento y la liberación de glucosa endógena por parte del hígado disminuye rápidamente en un 80% a las 5 hrs del periodo postprandial (Alsahli & Gerich, 2016). Esta glucosa es capturada por los órganos y tejidos para ser almacenada o pasar por la glucólisis, al inicio el 30% de la glucosa ingerida termina en tejidos esplácnicos como el hígado (y se incorpora en forma de glucógeno y otra pasa a glucólisis), 25-30% por el músculo esquelético (para ser oxidado en lugar de ácidos grasos libres y después ser almacenada como glucógeno), 15-20% se captura en el cerebro, los riñones toman un 10%, lo que deja un 7-15% de la glucosa para ser capturada por el tejido adiposo (Alsahli & Gerich, 2016).

El control de la glucemia no está limitado a los órganos periféricos, se ha reportado que muchas regiones del cerebro tienen la capacidad de participar en el control de la glucemia, entre estas se encuentran núcleos del hipotálamo mediobasal (núcleo ventromedial, núcleo arcuato, núcleo paraventricular), hipotálamo lateral y del romboencéfalo (núcleo del tracto solitario), las neuronas de estas estructuras se encuentran en una posición en la que pueden influir en la tasa de producción y captura de glucosa debido a su relación con el sistema nervioso autónomo, así como en el sistema

neuroendocrino, además de poseer la maquinaria necesaria para detectar los niveles de glucosa y receptores para hormonas y nutrientes, se especula que la homeostasis de glucosa depende de la habilidad del sistema nervioso central para (1) detectar señales interoceptivas con respecto a los niveles de glucosa, (2) calcular de forma rápida las consecuencias homeostáticas de estas señales, y (3) regular el equilibrio entre las tasas de producción y utilización de glucosa mediante el ajuste adaptativo del flujo de salida autónomo y neuroendocrino a los órganos efectores de metabolismo de la glucosa, incluidos el páncreas y el hígado (Mirzadeh et al., 2022).

d. Regulación central de la glucemia a cargo de la dopamina

La regulación de la glucemia por parte del sistema nervioso está menos estudiada, por un lado, el hígado y el páncreas son regulados por nervios autonómicos, en donde la estimulación de los nervios simpáticos incrementa la secreción de glucagón e inhibe la secreción de insulina desde el páncreas, además de aumentar la gluconeogénesis por medio de la estimulación de receptores β_2 adrenérgicos (Ikeda et al., 2020). En contraste, la estimulación de nervios parasimpáticos aumenta la secreción de insulina, la glucogénesis y disminuye la gluconeogénesis (Ikeda et al., 2020).

Se ha indagado sobre el papel de la DA en la regulación central de la concentración de glucosa, un ejemplo es el estudio de Ikeda y colaboradores en 2020, en el cuál mediante inyecciones intracerebroventriculares (i.c.v) administraron diferentes agonistas y antagonistas dopaminérgicos. En primer lugar, no existió algún efecto en la glucosa plasmática con el agonista SKF 38393 (3 y 10 μg) o el antagonista SCH 23390 (1 y 3 μg) de los receptores D1 centrales por lo que sugieren que este receptor no parece estar involucrado en la regulación central de los niveles de glucosa (Ikeda et al., 2020). Asimismo se examinó el papel de los receptores D2 centrales por medio de inyecciones i.c.v con el agonista quinpirol (10 μg i.c.v) y el antagonista L-sulpirida (10 μg i.c.v), mostrando un incremento de la glucemia (Ikeda et al., 2020). Este incremento no parece ser resultado de la secreción de glucocorticoides y de la misma manera, no se observaron cambios en los niveles de glucagón e insulina (Ikeda et al., 2020). Sin embargo, al cuantificar los niveles de glucógeno estos disminuyeron solamente con quinpirol, por lo que sugieren que la estimulación central de los receptores D2 incrementa la glucogenólisis, además los niveles de ARNm de glucosa-6-fosfatasa (G6Pase) y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), enzimas importantes para la gluconeogénesis, mostraron un incremento con ambos fármacos, estos hallazgos sugieren que la

estimulación e inhibición de los receptores centrales D2 incrementan la glucemia a través de la producción hepática de glucosa (Ikeda et al., 2020).

En este mismo trabajo se investigó si el incremento de la glucemia mediante la estimulación o inhibición de los receptores D2 a nivel central produce algún efecto en la inervación periférica del hígado. En primer lugar para impedir la señalización adrenérgica dada por la inervación simpática en el hígado, se hizo uso del antagonista de los receptores β_2 ICI 118,551 y se encontró que solo la hiperglicemia inducida por L-sulpirida era inhibida con su administración, lo que indica que la inhibición de los receptores D2 centrales provoca la estimulación de nervios simpáticos y esto aumenta la glucemia (Ikeda et al., 2020). Por su parte, la vía parasimpática se interrumpió al realizar una vagotomía a nivel del hígado y como consecuencia no ocurrió la hiperglucemia inducida por quinpirol, por el contrario no hubo efecto en la hiperglucemia inducida por L-sulpirida, y debido a que la estimulación parasimpática disminuye la glucemia, se sugiere que la estimulación central de los receptores D2 incrementa la glucemia mediante inhibición de los nervios parasimpáticos (Ikeda et al., 2020).

Se cree que la regulación de las fibras parasimpáticas y simpáticas a nivel central está a cargo del hipotálamo, una estructura que se encarga de regular la homeostasis metabólica, puesto que se ha observado que los nervios parasimpáticos y simpáticos del páncreas son regulados por el hipotálamo lateral (LH) y el núcleo paraventricular (PVN) respectivamente, por su parte, los nervios simpáticos del hígado son regulados por el hipotálamo ventromedial (VMH), el LH regula actividad vagal y el PVN regula ambas simpática y parasimpática (Ikeda et al., 2020). Un mecanismo propuesto por este grupo de investigación es que la estimulación de los receptores D2 dopaminérgicos en el hipotálamo lateral (LH) y/o el núcleo paraventricular (PVN) incrementa la glucosa sanguínea a través de la inhibición de nervios parasimpáticos, mientras que la inhibición de estos mismos receptores en el hipotálamo ventromedial (VMH) y/o en el PVN incrementa los niveles de glucosa a través de la estimulación de nervios simpáticos (Ikeda et al., 2020).

A su vez, se han observado diferentes efectos en los niveles de glucosa cuando la administración del antipsicótico es sistémica o central (Ikeda et al., 2020). Por un lado, la administración sistémica de quinpirol y bromocriptina (agonista D2) incrementa la glucemia, y la hiperglucemia observada por quinpirol se inhibe con el antagonista D2 central haloperidol, pero no con el antagonista que actúa a nivel periférico domperidona (Ikeda et al., 2020; Saller & Kremer, 1991).

e. Regulación periférica de la glucemia por parte de la dopamina

Con la identificación de los receptores para DA en órganos periféricos como el páncreas y el tejido adiposo, se necesita describir su implicación en la regulación de estos y otros tejidos u órganos metabólicos. Dentro de esta línea de pensamiento, un estudio por Tavares y colaboradores (2021) evaluó el efecto que tiene la administración exógena de DA sobre la captura de glucosa *in vivo*. Para ello se administró de forma intravenosa una dosis de DA (100 nmol) a ratas en ayuno seguida de la ingesta de una carga de glucosa estándar, y observaron que se promueve la captura de glucosa en mayor proporción en el músculo sóleo (70% más de la captura basal), tejido adiposo café (88% arriba del valor basal), en hígado y tejido adiposo blanco epididimal (Tavares et al., 2021).

Para caracterizar los receptores dopaminérgicos involucrados en este proceso se incubaron los tejidos con diferentes agonistas y antagonistas dopaminérgicos, y se describe lo siguiente: A) Hígado: en tanto que la dopamina por sí misma no cambia la captura de glucosa, la incubación en presencia de insulina promueve un aumento, que es disminuido en un 26% por la domperidona (un antagonista D2R), por su parte, la bromocriptina (un agonista D2R) junto con insulina incrementan en un 48% la captación (Tavares et al., 2021). B) Músculo esquelético: cuando se administra solo DA se incrementa la captura en un 47%, y al no observar algún efecto con bromocriptina, se administró haloperidol en una dosis que le permite bloquear a los D1R y D2R, mostrando inhibir la captura de glucosa, lo que sugiere que los receptores D1R son los responsables de influir en la captura de glucosa en el músculo (Tavares et al., 2021). C) Tejido adiposo blanco: en tejido adiposo mesentérico, la DA y bromocriptina por sí mismas no alteraron la captación de glucosa, pero cuando se administraron en conjunto con insulina, se muestra una potenciación en la captura de glucosa inducida por esta última, efecto que fue bloqueado con domperidona, por lo que están implicados los D2R en este mecanismo (Tavares et al., 2021). Debido a la diferencia en la expresión de los transportadores de glucosa entre el hígado (GLUT2), músculo y tejido adiposo (GLUT4), es de esperarse que la captura de glucosa dependiente de DA sea influenciada por el tipo de transportador de glucosa (Tavares et al., 2021).

En el mismo estudio, para determinar el grado de influencia que tiene la DA en la vía de señalización de la insulina, se determinó el nivel de fosforilación del receptor (InsR) en Tyr972, como parámetro de su activación. En primer lugar, la incubación con DA y bromocriptina no cambió los niveles de fosforilación en el hígado, sin embargo, se observó un incremento cuando se

incubó en presencia de domperidona junto con bromocriptina e insulina (Tavares et al., 2021). En músculo esquelético, de manera independiente la DA y la insulina inducen la fosforilación de InsR, aunque juntos el efecto no se ve modificado, lo que sugiere que actúan sobre la misma vía de señalización; al administrar los antagonistas haloperidol y domperidona, en conjunto con insulina y DA se observa una disminución en los niveles de fosforilación (Tavares et al., 2021). Por último, en tejido adiposo, la DA y bromocriptina de manera independiente o presencia de insulina no modificaron el grado de fosforilación; en cambio, al añadir domperidona a la condiciones DA con insulina y bromocriptina con insulina se observó un incremento, lo cual sugiere que bloquear los D2R tienen un efecto en la vía de señalización de InsR (Tavares et al., 2021).

Una enzima que contribuye en el balance energético es la AMPK (se activa al aumentar la relación AMP/ATP) por lo que se analizó el grado de influencia que tiene la DA en su activación (mediante la fosforilación en Thr172). En el hígado, los niveles de fosforilación no se vieron modificados en presencia de DA e insulina, o al añadir domperidona en presencia de ellas. Sin embargo, cuando se encuentra el hígado en incubación con el agonista D2 bromocriptina en presencia de insulina y domperidona disminuyen los niveles basales de fosforilación (y activación), aunque los autores mencionan que esto sugiere que la activación de D2R es necesaria para la función de AMPK, bromocriptina además de ser un agonista D2R, también muestra un ligero antagonismo hacia D1, y el hecho de que no haya tenido efecto en presencia de D1 complica su interpretación (Ozery & Wadhwa, 2024; Tavares et al., 2021). En músculo se observó un aumento en la fosforilación de AMPK con la insulina (29%), con DA (47%) y bromocriptina en presencia de insulina (73%), estos efectos fueron bloqueados por haloperidol (antagonista D1/D2) y domperidona (Tavares et al., 2021). En cambio, en tejido adiposo mesentérico la DA y bromocriptina no modificaron los niveles de fosforilación de AMPK, por otro lado, en tejido adiposo epididimal, la DA no afecta los niveles de fosforilación pero bromocriptina los disminuye en un 44%, en tanto que se observa en la incubación de este mismo tejido con DA o bromocriptina en presencia de domperidona e insulina provocó un incremento de los niveles de fosforilación de AMPK en un 48% y 90% respectivamente (Tavares et al., 2021).

Para indagar acerca de la influencia de la DA en las vías metabólicas del tejido adiposo, se analizó una vía catabólica mediante la fosforilación de AKT en Ser473 (activación), que es inducida normalmente por insulina, y se mostró que la presencia de DA o bromocriptina o en conjunto con

insulina no modificaron sus niveles, pero al añadir domperidona cuando estas se encuentran en conjunto con insulina, incrementa la fosforilación, y ya que la DA o bromocriptina por sí mismas no tuvieron algún efecto, se sugiere que ejercen sus acciones de manera independiente de la activación de la vía de señalización de la insulina (Tavares et al., 2021).

Con el propósito de indagar más en otras vías de señalización del metabolismo lipídico se realizó la medición de las formas fosforiladas de HSL (Ser563, lipasa sensible a hormonas, hidroliza triglicéridos para liberar ácidos grasos libres), ACC (Ser79, acetil-CoA carboxilasa, interviene en la síntesis de novo de ácidos grasos, esta fosforilación es inhibitoria), ACL (Ser455, ATP citrato liasa, interviene en la síntesis de novo de ácidos grasos). La presencia de DA o bromocriptina por sí mismas o junto con insulina no cambiaron los niveles de HSL-Ser563, no obstante, si se añade domperidona cuando están en presencia de insulina se incrementa la fosforilación en tejido adiposo mesentérico y epididimal, con esto se puede especular que inhibir los receptores D2 promueve la oxidación de lípidos en tejido adiposo (Tavares et al., 2021). En cambio, la dopamina y bromocriptina solo promueven la fosforilación de ACC-Ser79 cuando se le añade insulina y domperidona, al ser esta fosforilación inhibitoria se inactiva la enzima y se promovería una disminución en la síntesis de ácidos grasos (Tavares et al., 2021). Por último, la DA y bromocriptina no mostraron tener un efecto en la fosforilación de ACL, pero con la presencia de domperidona e insulina se elevaron los niveles de ACL-Ser455 en tejido adiposo mesentérico y epididimal (Tavares et al., 2021).

Con esto, parece que los receptores D1 y D2 están involucrados de manera diferencial en la captación de glucosa, la regulación de la vía de señalización de la insulina, la fosforilación de AMPK en tejidos sensibles a la insulina, particularmente, mediante el D1R se regula la captación de glucosa en músculo soleo, mientras que por medio del D2R se regula en hígado y tejido adiposo blanco, en donde también interviene en vías metabólicas importantes (Tavares et al., 2021).

f. Asociación entre dopamina y la obesidad

Los primeros estudios acerca de la DA y la alimentación la vinculan con la regulación de la ingesta de alimentos al participar en el circuito mesolímbico de recompensa. Esto se ha observado en estudios con animales genéticamente obesos, carentes de leptina (*ob/ob*) en donde los agonistas de DA normalizan el peso corporal (Wang et al., 2001). Con respecto a los estudios en humanos, Wang y colaboradores en 2001 mediante tomografía de emisión de positrones, observaron que en

individuos con obesidad la disponibilidad del receptor D2 en el estriado es menor en comparación con individuos con un IMC normal y al existir una asociación entre la alimentación y el incremento de la DA extracelular en el núcleo accumbens, se cree, que contribuye al efecto reforzador de la euforia experimentada después de comer, similar a aquella ocasionada por las drogas de abuso. Una explicación que ofrecen sobre la disminución de disponibilidad de los receptores D2R es que representan un mecanismo de compensación hacia la sobreestimulación crónica que aparece con la sobrealimentación. Además, la disminución en el número de receptores puede incrementar la vulnerabilidad a comportamientos adictivos, incluida la ingesta compulsiva de alimentos (Wang et al., 2001).

El consumo de una dieta alta en grasa interrumpe la señalización dopaminérgica normal en el cerebro, por un lado, impactando la actividad neuronal dopaminérgica del área ventral tegmental (VTA), involucrada con procesos de recompensa, aprendizaje, memoria y adicciones. La dieta alta en grasa reduce a nivel del ARNm y proteína a la TH en el VTA y con ello la capacidad de síntesis de DA, independientemente de la presencia de obesidad, sin embargo, la síntesis se restituye al cambiar a una dieta baja en grasa. Asimismo, la dieta alta en grasa interfiere en el núcleo accumbens con los mecanismos que regulan a la DA a nivel sináptico, como por ejemplo, una disminución en el potencial de unión a los receptores D2, así como una menor función y localización membranaral del transportador de DA o DAT (Wallace & Fordahl, 2022). Adicionalmente, se activan procesos inflamatorios que contribuyen a la resistencia a la insulina en neuronas (Wallace & Fordahl, 2022). De forma aguda, la dieta alta en grasa aumenta la DA en el núcleo accumbens, pero su consumo crónico reduce la capacidad de tener neurotransmisión dopaminérgica debido a la repetida estimulación de los receptores, también se ha observado que reduce la recaptura máxima de DA, mientras que una dieta occidental (que es una dieta alta en grasa y con azúcares añadidos), disminuyó la secreción y recaptura en el estriado y núcleo accumbens (Wallace & Fordahl, 2022). Los efectos también dependen del tipo de grasa presente en la dieta, ya que experimentos con una composición del 50% de grasa saturada reducen al DAT e incrementan la expresión del receptor D1, al compararse con grasas monoinsaturadas o dieta control (Wallace & Fordahl, 2022).

Al comparar los efectos de la dieta alta en grasa y la restricción de alimento se observa que ambos reducen la expresión del DAT y la recaptura de DA en el estriado, sin embargo solo la dieta alta en grasa disminuye la expresión del receptor D2, mientras que la restricción de comida lo aumenta

(Wallace & Fordahl, 2022). Las repercusiones de la dieta alta en grasa parecen depender del tiempo de consumo; en un estudio donde se siguió una dieta alta en grasa por 20 días, se observó un incremento de la densidad de receptores D2 en el núcleo accumbens y estriado, mientras que una dieta por más de 20 semanas disminuyó la unión a estos receptores, sin embargo, se incrementa su expresión. Esto sugiere que la comida hiperpalatable aumenta la neurotransmisión dopaminérgica y esta se ve alterada por la ingesta crónica, lo que tiene como consecuencia disminuir la unión a D2R y la capacidad de liberación de DA, que conlleva una menor capacidad de ofrecer una recompensa por parte de la DA liberada en el núcleo accumbens, y esto promueve comer en exceso y como consecuencia el aumento de peso (Wallace & Fordahl, 2022).

Una complicación que surge al consumir una dieta alta en grasa es un constante estado de inflamación sistémica, las consecuencias que tienen las citocinas inflamatorias en el metabolismo de la DA son disminuir su empaquetamiento y su señalización a causa de una menor expresión del transportador vesicular de monoaminas 2 (VMAT2), disminución del transportador DAT, del receptor D2, que alteran su recaptura; por otro lado, las especies reactivas de oxígeno reducen la disponibilidad del cofactor tetrahidrobiopterina que requiere la tirosina hidroxilasa, enzima clave para su síntesis (Wallace & Fordahl, 2022).

Tabla 1.. Efectos de la DA en órganos metabólicos.

Tejido	Efecto y receptores implicados
Páncreas	-Inhibición de la secreción de insulina (D2R en humanos y D2R/α_{2A} ratones). -Humanos: A bajas concentraciones (100 pM-1 μM) se reduce la secreción de glucagón (D2R), pero a mayores concentraciones (10-100 μM) se aumenta (β_1 adrenérgicos). -Ratones: aumenta la secreción de glucagón (β_1) (Aslanoglou et al., 2021)
Hígado	-Agonista D2 (nivel central): incremento de la glucogenólisis y gluconeogénesis que aumenta la glucemia, por inhibición de los nervios parasimpáticos (Ikeda et al., 2020). -Antagonista D2 (nivel central): incremento de la gluconeogénesis y estimulación de nervios simpáticos que aumentan la glucemia (Ikeda et al., 2020). -Agonista D2 (en incubación con el tejido): Incremento de la captura de glucosa con bromocriptina y dopamina, en presencia de insulina (Tavares et al., 2021). -Antagonista D2 (en incubación con el tejido): Fosforilación InsR-Tyr972 con domperidona (Tavares et al., 2021).
Tejido adiposo	-Disminución de la producción de prolactina y leptina, aumento de secreción de adiponectina e IL-6 (Borcherding et al., 2011). -Incubación del tejido con dopamina o su agonsita bromocriptina en presencia de insulina, aumenta la captura de glucosa (Tavares et al., 2021). -Incubación del tejido con el antagonista domperidona: aumenta la fosforilación en InsR-Tyr972 (vía de señalización de la insulina), Akt-Ser473 (promueve adipogénesis), HSL-Ser563 (hidrolisis de triglicéridos), ACC-Ser79A (inhibición de la síntesis de novo de ácidos grasos), ACL-Ser455 (síntesis de ácidos grasos a partir de carbohidratos) (Tavares et al., 2021).
Riñón	-Mayor excreción de sodio y agua (Harris & Zhang, 2012). -Causa vasodilatación de arterias renales (D2/D5) (Harris & Zhang, 2012)
Músculo	-Incremento de la captura de glucosa (al actuar en D1R) (Tavares et al., 2021). -Aumento de la fosforilación de: InsR-Tyr972, AMPK-Tyr172 vía D2R (que tiene como efecto incrementar la captura de glucosa, oxidación de ácidos grasos y estimular la biogénesis mitocondrial (Jäger et al., 2007; Tavares et al., 2021).

g. Uso de antagonistas dopaminérgicos en condiciones de obesidad.

En búsqueda de un tratamiento para las alteraciones metabólicas que se presentan en la obesidad, en nuestro grupo de trabajo se comenzó a utilizar el antagonista dopaminérgico D2, sulpirida. Ratones macho C57BL/6 de 8 semanas de edad se sometieron a una dieta obesogénica (DO, 60% de grasa) durante 8 semanas, y en los últimos 30 días de la dieta se les administró una dosis diaria de 30 mg/kg de sulpirida intraperitoneal (i.p) (Vázquez-Carrillo et al., 2024).

En primer lugar, los resultados muestran que esta dosis de sulpirida incrementó los niveles de prolactina (PRL) a 59.8 μ g/L en promedio, sin alterar el peso corporal o el consumo de alimento con respecto al grupo sin tratamiento (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Con respecto al efecto metabólico de la sulpirida, se encontró que los ratones alimentados con dieta obesogénica y tratados

con sulpirida muestran menores niveles de glucosa en condiciones de ayuno y postprandiales, a comparación del grupo que solo sigue la dieta alta en grasa, de manera sorprendente también se observaron menores niveles de glucosa en condiciones postprandiales en ratones que siguen una dieta estándar (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Además, los ratones obesos mostraron una reducción en la tolerancia a la glucosa que mejoró con el tratamiento con sulpirida, esto se manifestó con una menor área bajo la curva en la prueba de tolerancia a la glucosa, prueba que nos muestra la habilidad del organismo para regular la glucemia (Bich et al., 2020; Vázquez-Carrillo et al., 2024). La disminución de los niveles de glucosa no se debió a un incremento en la secreción de insulina, sino a un aumento a la sensibilidad a esta, ya que los ratones bajo dieta obesogénica sin tratamiento desarrollan resistencia a la insulina, y aquellos que se sometieron al tratamiento tuvieron un mejor desempeño en la prueba de tolerancia a la insulina, a la vez que redujeron sus niveles de insulina (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Por último, existió una disminución del 42% en el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR, que además evalúa la función de las células beta pancreáticas), mientras que este parámetro no se vio afectado en ratones bajo la dieta estándar (Vázquez-Carrillo et al., 2024).

Para explorar los posibles mecanismos por los cuales disminuyen los niveles de glucosa se analizaron los niveles de glucógeno en hígado y músculo, los niveles de este polisacárido se encontraban disminuidos en el hígado de ratones alimentados con una dieta obesogénica y la sulpirida no alteró esta condición, a diferencia de este, los niveles de glucógeno en músculo no se modificaron con la dieta, en cambio, incrementaron con el tratamiento con sulpirida únicamente en ratones obesos tratados, indicando que la sulpirida promueve el almacenaje de glucosa en músculo esquelético en condiciones de hiperglucemia (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Con respecto a la gluconeogénesis hepática, la sulpirida no afectó la expresión génica de las enzimas involucradas en este proceso (glucosa-6-fosfatasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa I).

Debido a que la sulpirida incrementa los niveles plasmáticos de PRL se decidió probar si la reducción de la glucemia se debía a la acción de esta sobre sus receptores, para ello se alimentaron con dieta alta en grasas a ratones knockout para el receptor de PRL y, se observó que aun cuando el receptor de PRL se encuentra ausente, la sulpirida ejerce su efecto de reducir la glucosa tanto en condiciones de ayuno como de postprandio, e igualmente mejora la tolerancia a la glucosa y a la

insulina (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Lo que indica que la acción de la PRL y su receptor no es necesaria para el efecto de la sulpirida reduciendo la glucosa.

Asimismo, se analizó el perfil lipídico de los ratones, mientras que la dieta obesogénica incrementó los triglicéridos, ácidos grasos libres, glicerol y colesterol total, además de provocar un exceso de triglicéridos en hígado y páncreas, la sulpirida mostró disminuir los niveles de triglicéridos en suero y páncreas, únicamente en ratones alimentados con una dieta obesogénica (Vázquez-Carrillo et al., 2024).

De igual manera, se mostraron cambios a nivel del tejido adiposo visceral y subcutáneo, como era de esperarse, la dieta obesogénica incrementó el peso del tejido adiposo visceral en 2.5 veces, y la sulpirida no afectó este parámetro, pero se observó una tendencia a incrementar el número relativo de adipocitos en ratones con una dieta obesogénica tratados con sulpirida. Por otro lado, la hipertrofia de los adipocitos (aumento del tamaño) provocada por la dieta obesogénica presentó una disminución con el tratamiento con sulpirida en un 40%. Adicionalmente, la dieta obesogénica provocó alteraciones en la expresión del ARNm del tejido adiposo visceral en genes involucrados en el metabolismo de la glucosa e insulina, por un lado, disminuyó la expresión del *Insr*, *Prlr* (receptor de prolactina), mientras que incrementó la expresión de *Hif1α* (regulador transcripcional en respuesta a la hipoxia), sin embargo, el tratamiento con sulpirida contrarrestó estas alteraciones (Vázquez-Carrillo et al., 2024).

Con respecto al tejido adiposo subcutáneo, la dieta obesogénica también incrementó su peso en 2.2 veces y la sulpirida no mostró alterar este parámetro en ninguna de las dietas. Tanto el número como el tamaño de los adipocitos se incrementaron en el grupo de dieta obesogénica. Por su parte, en el grupo de animales obesos que además se trataron con sulpirida se observó un número aún mayor de adipocitos pero con una reducción de su tamaño de un 33 %, lo que sugiere que el aumento del peso de este tejido se debe a la hiperplasia, que se considera un mecanismo saludable de expansión. En cuanto a la expresión génica en este tejido, los ratones con dieta obesogénica con o sin tratamiento con sulpirida disminuyeron la expresión de *Glut4* sin alteraciones en otros genes (Vázquez-Carrillo et al., 2024).

Basándonos en estos hallazgos, nos propusimos profundizar sobre el efecto de la sulpirida en la reducción de la glucosa, estudiando por un lado, si la dosis de sulpirida que se requieren para lograr este efecto es la misma en machos y en hembras, y por otro, investigar el mecanismo mediante el

cual la sulpirida reduce los niveles de glucosa en ratones con obesidad, centrándonos específicamente en el músculo, dado que es uno de los principales órganos metabólicos que consume grandes cantidades de glucosa. En cuanto al posible dimorfismo sexual en los efectos de la sulpirida, se conoce que las dosis necesarias para el efecto antipsicótico de la sulpirida son menores en mujeres que en hombres (Lange et al., 2017). Además, el efecto de la sulpirida incrementando los niveles de PRL es mayor en hembras que en machos a una misma dosis (Lange et al., 2017).

3. Hipótesis

1. La dosis efectiva de sulpirida para reducir la glucemia es menor en hembras que en machos.
2. La sulpirida incrementa la síntesis de glucógeno en el músculo esquelético al estimular la activación de la glucógeno sintasa en el músculo esquelético (gastrocnemio y soleo), teniendo como consecuencia disminuir la glucemia en ratones macho y hembra con obesidad.

4. Objetivos

a) General:

Caracterizar el efecto de la sulpirida en la glucemia y explorar parte del mecanismo en músculo esquelético, en ratones macho y hembra con obesidad.

b) Particulares:

1. Definir la dosis efectiva del antagonista dopaminérgico D2, sulpirida, que reduce los niveles de glucosa en ratones macho y hembra con:
 - a) Dieta estándar (DE).
 - b) Dieta obesogénica (DO).
2. Investigar el posible mecanismo por el cual la sulpirida aumenta los niveles de glucógeno muscular en ratones obesos:
 - a) Determinar si el tratamiento con sulpirida influye en el nivel de fosforilación de la enzima glucógeno sintasa muscular en los ratones tratados con sulpirida.
 - b) Evaluar el nivel de expresión del transportador de glucosa en músculo (GLUT4) de ratones con y sin tratamiento.
 - c) Examinar el nivel de activación de la vía ERK1/2 y Akt involucrada en la vía de señalización de la insulina, importante para la captura de glucosa.

5. Contribución y relevancia del proyecto

El presente estudio pretende entender el mecanismo por el cual el fármaco sulpirida, antagonista D2 dopaminérgico, disminuye la glucemia en condiciones de obesidad. Además de dilucidar si al actuar en los receptores dopaminérgicos se interviene con la captura y almacenaje de glucosa. Por

último, comparar el efecto que tiene antagonizar los receptores D2 en el metabolismo de la glucosa entre machos y hembras, tanto en condiciones de dieta estándar como en dieta obesogénica.

6. Materiales y métodos

a. Animales

Ratones C57BL/6, machos y hembras de 8 semanas de edad fueron alojados en el bioterio del Instituto de Neurobiología siguiendo un ciclo de luz/oscuridad con duración de 12 h/12 h a una temperatura de 22 °C con acceso libre a su dieta particular y agua. Los ratones fueron alimentados con una dieta estándar, que corresponde a su alimentación habitual (Laboratory rodent Diet 5001, LabDiet, Richmond, IN) o una dieta obesogénica en la que el 60% de las calorías provienen de grasa saturada (Open Source Diet, D12492, Research Diets, New Brunswick, NJ). Después de 4 semanas bajo la dieta estándar u obesogénica, se iniciaron los tratamientos con las diferentes dosis de sulpirida mediante administración i.p. (Dogmatil, Sanofi-Aventis, Barcelona, España), en un volumen aproximado de 30 µL una vez al día, durante 30 días. Después de este periodo los animales fueron sacrificados mediante inhalación de CO₂ seguido de decapitación. El peso corporal se registró cada semana. La presente investigación fue aprobada por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con los números de protocolo 075 y 033, que cumplen con la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio publicada por el Consejo Nacional de Investigación de EE.UU. (Octava edición, National Academies Press, Washington, D.C).

b. Definición de la dosis efectiva de sulpirida

Después de que trascurrieron 4 semanas de alimentación con la dieta asignada y para definir la dosis efectiva bajo condiciones de dieta estándar y dieta obesogénica, se administró una dosis diaria de sulpirida usando como vehículo 30 µL de solución fisiológica (NaCl 0.9%) por vía i.p, se manejaron las siguientes dosis de sulpirida: 0 (control), 5, 10, 20 y 30 mg/kg, por un periodo total de 30 días. Cada grupo de dosis estaba conformado de 5 a 6 ratones. A partir del día 24 desde el comienzo de la administración se realizaron las determinaciones de glucosa en sangre en condiciones de ayuno (4 h sin alimento) y postprandio (2 h sin alimento), para así definir la dosis mínima que disminuía la concentración de glucosa. Las mediciones de glucosa fueron realizadas con tiras reactivas y un glucómetro (Accu-Check Active, Roche, Mannheim, Germany) a partir de sangre venosa.

c. Determinación de proteínas mediante Western Blot

El músculo esquelético de los animales fue congelado en nitrógeno líquido y almacenado a -80°C hasta su procesamiento. Para la extracción de proteína se utilizó buffer de lisis a base de buffer fosfato salino en el cual se disolvió: Tris-HCl 1M, EGTA 0.2 M, EDTA 0.2M, IGEPAL® CA-630 1%, Na_3VO_4 0.2 M, NaF 0.205%, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0.22%, sacarosa 9.2%, 200 μL por cada 50 mL de buffer de la preparación de una pastilla cOmplete^M Protease Inhibitor Cocktail (Hoffmann-La Roche), y 1 pastilla PhosSTOP (Hoffmann-La Roche) por cada 10 mL de buffer. Después de sonicar (Branson Sonifier® Digital Ultrasonic Cell Disruptor) el tejido inmerso en el buffer a una potencia del 35% durante 5 segundos por 4 ciclos, se incubó 1 h a 4°C en rotación continua, a continuación se centrifugó a 12,000 r.p.m a 4°C durante 20 minutos y se colectó el sobrenadante para proseguir a la cuantificación.

La cuantificación de proteína se realizó por el método colorimétrico basado en ácido bicinonínico (BCA), PierceTM BCA Protein Assay Kit (Thermo ScientificTM). Posteriormente 30 μg de proteína total de cada muestra, se calentaron durante 5 min a 95°C con buffer de carga Laemmli (cat #1610747, Bio-Rad, Hercules, CA, USA), y mediante electroforesis desnaturizante en geles de poliacrilamida al 10% se realizó la separación en base al peso molecular, seguido de la transferencia hacia membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad, Nitrocellulose Membranes, 0.2 μm , Germany). Las membranas se bloquearon con una solución a base de seroalbúmina bovina al 5% durante 1 h (Equitech-Bio, Kerrville, Texas, USA).

Se incubaron durante la noche a 4°C con los siguientes anticuerpo primarios, todos a una dilución 1:1000: **glucógeno sintasa fosforilada** (cat #3891, Phospho-Glycogen Synthase (Ser 641), Cell Signaling Thechnology), **ERK total** (cat #9102, p44/42 MAPK ERK 1/2, Cell Signaling Thechnology), **ERK 1/2 fosforiladas** (cat #9101, Phospho-p44/42 MAPK ERK 1/2 (Thr202/Tyr204), Cell Signaling Thechnology), **Akt total** (cat #9272, Akt Antibody, Cell Signaling Thechnology), **Akt fosforilada** (cat #9271, Phospho-Akt (Ser473), Cell Signaling Thechnology), **GLUT4 total** (cat #MA5-17176, GLUT4 Monoclonal Antibody 3G10A3, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific), **vinculina** (sc-73614, vinculin (7F9), Santa Cruz Biotechnology, INC), **tubulina** (ab6046, Anti-beta Tubulin antibody-Loading Control, Abcam). Al siguiente día se hicieron lavados con TBS-Tween 1% e incubaron durante 2 h a temperatura ambiente con los anticuerpos secundarios correspondientes (cat #115-055-003, Alkaline Phosphatase AffiniPureTM Goat Anti-

Mouse IgG (H+L) y cat #111-055-003, Alkaline Phosphatase AffiniPure™ Goat Anti-Rabbit IgG (H+L), Jackson ImmunoResearch Secondary Antibodies).

La detección cromógena fue a través del método de fosfatasa alcalina (cat #1706432, AP Conjugate Substrate Kit, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Se realizaron tres ensayos independientes de las muestras de cada grupo y para la semicuantificación de las bandas mediante densitometría óptica se utilizó el software de procesamiento digital ImageJ 1.54g (Schneider, Caroline et al., 2012). La expresión de cada proteína, la forma total o fosforilada, se normaliza en primer lugar contra la proteína que funge como control de carga (vinculina o tubulina según corresponda), para posteriormente hacer la relación de la proteína fosforilada entre la proteína total y el resultado se expresa en veces de cambio con respecto al promedio del grupo en dieta estándar de machos o hembras.

d. Medición del índice calórico

Para calcular las calorías que consume un ratón por día, se determinó el consumo semanal por grupo, este valor se dividió entre el número de ratones por caja, que corresponde al consumo semanal por ratón, para posteriormente dividirlo entre los días de la semana. Al determinar el consumo de cada ratón por día se multiplicó por el valor calórico de la DO (5.24 kcal/gramo) (Open Source Diet, D12492, Research Diets, New Brunswick, NJ).

e. Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó usando el programa GraphPad Prism 9.4.1 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Las diferencias entre las distintas dosis de sulpirida fueron evaluadas mediante la prueba t de Student con corrección de Welch comparando el grupo control con las diferentes dosis de sulpirida.

7. Resultados

a. La sulpirida no altera la ganancia de peso corporal en hembras bajo una dieta estándar u obesogénica, y en machos aumenta la ganancia de peso con la dosis de 5 mg/kg.

En primer lugar, el modelo de inducción de obesidad logró provocar un mayor aumento de peso en machos y hembras a comparación de los animales alimentados con DE (Figura 2B y 2D, grupo

control, Apéndice f). Y después de los 30 días de administración con vehículo (solución salina) o sulpirida, todos los grupos alimentados con una DE o DO, en hembras, mostraron un porcentaje de ganancia de peso final similar a su grupo control correspondiente (Figura 2C y 2D), es decir la sulpirida no induce ganancia o pérdida de peso en hembras. Con respecto a los machos, tanto en DE como en DO existió un aumento de peso con la dosis de 5 mg/kg ($p = 0.0008$, Figura 2A y 2B), pero no con dosis mayores.

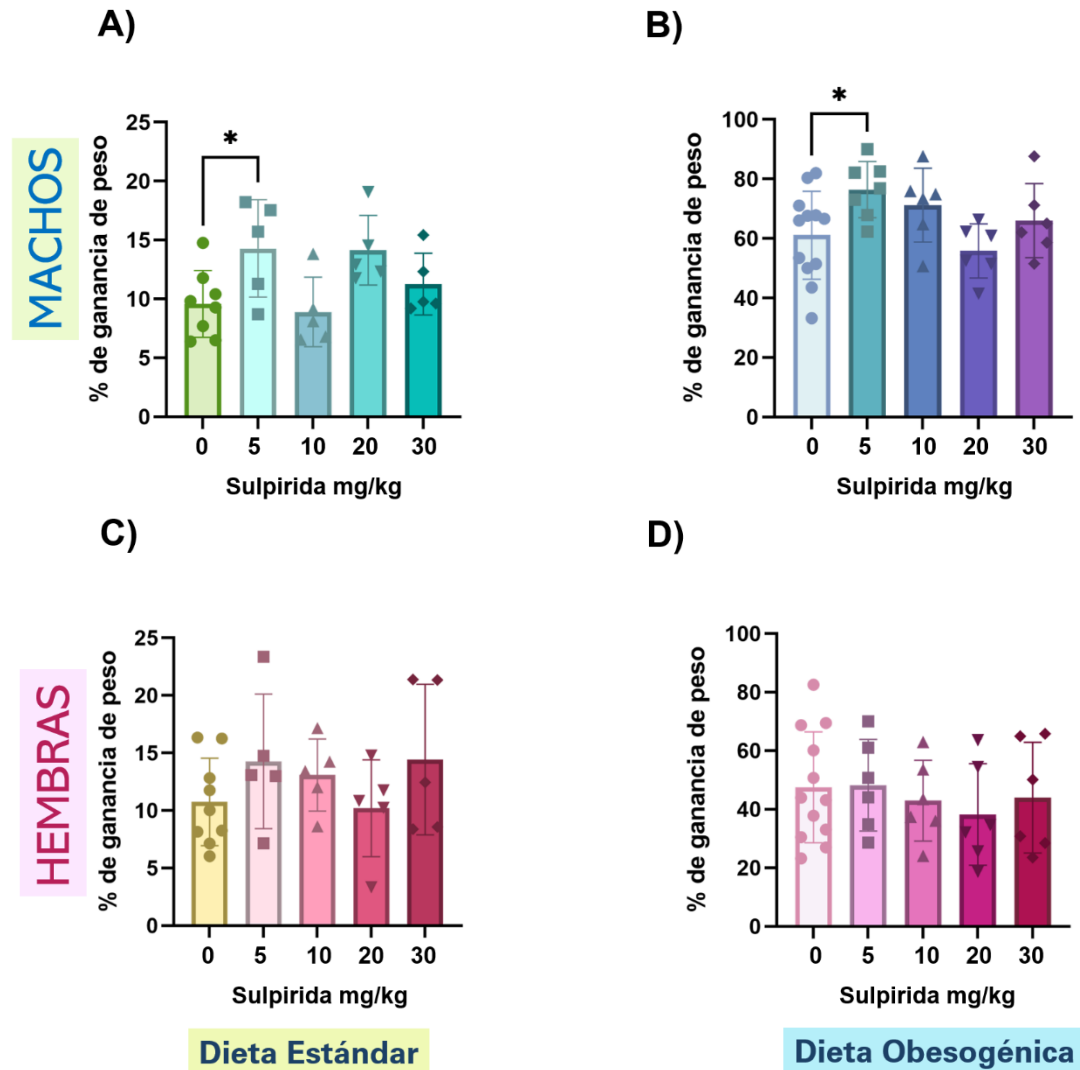


Figura 2. La sulpirida no induce cambios en la ganancia de peso corporal en hembras bajo una DE y DO, en machos en DE y DO aumenta la ganancia de peso con la dosis de 5 mg/kg. Ratones macho y hembra fueron alimentados con una DE o una DO durante 8 semanas y tratados con sulpirida i.p. durante los últimos 30 días, el peso corporal fue determinado una vez a la semana. A) Porcentaje de ganancia de peso final en ratones macho en DE. B) Porcentaje de ganancia de peso final en ratones macho en DO. C) Porcentaje de ganancia de peso final en ratones hembra en DE. D) Porcentaje de ganancia de peso final en ratones hembra en DO. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar del porcentaje de ganancia de peso. $n = 5$ para DE, $n = 6$ para DO. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Prueba t Student con corrección de Welch.

Se atribuye la mayor ganancia de peso en la dosis de 5 mg/kg en machos por un aumento en la ingesta calórica por día ($p=0.0008$, Figura 3A), que no ocurre a dosis mayores, y a pesar de que también existe un aumento de la ingesta calórica en hembras con la misma dosis de sulpirida ($p=0.0044$, Figura 3B), en ellas no se ve afectado el porcentaje de ganancia de peso al final del periodo experimental (Figura 2D).

Mientras que los machos tuvieron una ganancia de peso más homogénea, las hembras alimentadas con DO manifestaron tener mayor variación, en tanto que algunas únicamente ganaron del 20 al 30% de su peso original, otras tuvieron una ganancia mayor del 50%, esto ocurrió con todas las dosis de sulpirida e incluso en el grupo control.

Con respecto a la influencia que tiene la sulpirida en la ganancia de peso, podemos concluir que no altera la ganancia de peso tanto bajo una DE como en una DO, a excepción de la dosis más baja (5 mg/kg) en machos.

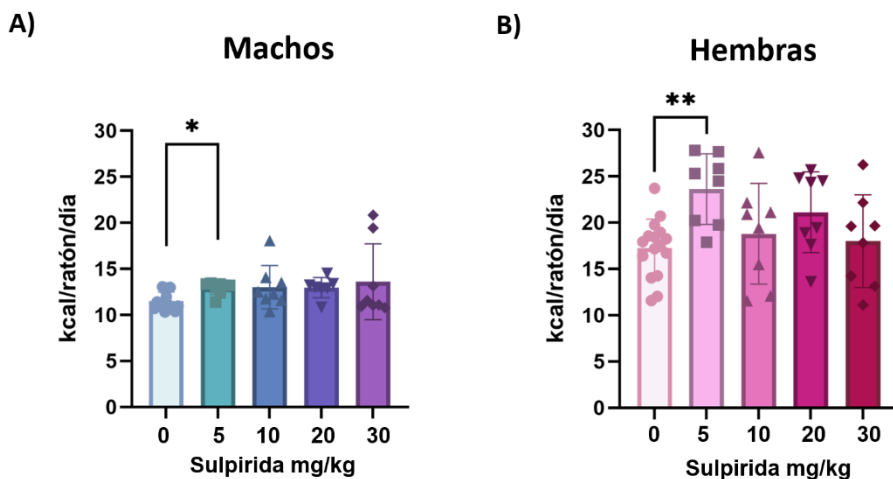


Figura 3. Sulpirida aumenta la ingesta calórica durante las 8 semanas experimentales en ratones bajo DO administrados con la dosis de 5 mg/kg. Ratones macho y hembra fueron alimentados con una DE o una DO durante 8 semanas y tratados con sulpirida i.p. durante los últimos 30 días, el consumo calórico fue determinado a partir de la medición del consumo de alimento semanal, por grupo de dosis de sulpirida, se calcularon las kilocalorías consumidas por cada ratón en un día. A) Consumo calórico en machos en DO. B) Consumo calórico en hembras en DO. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar del porcentaje de ganancia de peso. $n= 5$ para DE, $n= 6$ para DO. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Prueba t Student con corrección de Welch.

b. La sulpirida promueve menores niveles de glucosa en machos y hembras alimentados con dieta estándar en condiciones postprandiales.

Bajo condiciones de ayuno (4 h), los machos alimentados con una DE no mostraron disminuir su glucemia con el tratamiento con sulpirida (Figura 4A). En cambio, en condiciones postprandiales (2 h), el tratamiento con 10 mg/kg y 30 mg/kg de sulpirida, disminuyó la glucemia con respecto al grupo control ($p < 0.001$, Figura 4B), y a pesar de que el valor de p no es significativo se observa una tendencia a disminuir la glucemia con la dosis de 20 mg/kg ($p=0.069$).

En el caso de las hembras, no se observaron diferencias entre el grupo control y ninguna de las dosis de sulpirida en ayuno (Figura 4C), sin embargo, en condiciones de postprandio la dosis de 5 mg/kg disminuyó la glucemia con respecto al grupo control ($p= 0.0226$, Figura 4D), la cual es una dosis menor a la efectiva en machos. Con esto, podemos concluir que existe un dimorfismo sexual con respecto a la dosis que muestra tener un efecto en la disminución de los niveles de glucosa, en donde la dosis efectiva es menor en hembras a comparación de los machos. También observamos que la sulpirida solo tiene un efecto de disminución de la glucemia en condiciones de postprandio cuando los animales son alimentados con DE. Es de notar, que los ratones en condiciones de ayuno presentaron niveles más elevados de glucosa que los ratones en condiciones posprandiales, lo que podría sugerir que había un factor que provocó el aumento de los niveles de glucosa en la condición de ayuno, por ejemplo los mecanismos fisiológicos de control de la glucosa (glucogenólisis o gluconeogénesis) podrían haberse desencadenado por parte del hígado. Esto podría estar contrarrestado los efectos de la sulpirida.

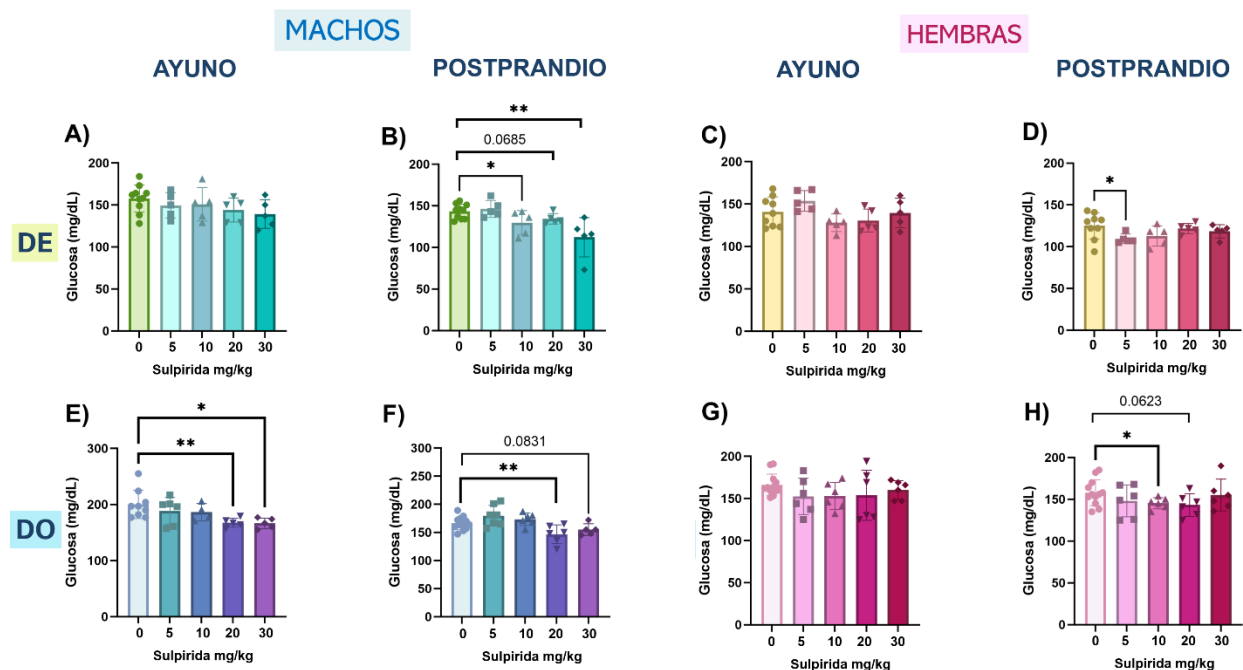


Figura 4. La sulpirida disminuye la glucemia en machos y hembras bajo una DE durante el postprandio, y durante el ayuno y postprandio en ratones bajo una DO. A partir del día 24 de la administración de sulpirida se evaluaron los niveles de glucosa en sangre. A) Concentración de glucosa bajo condiciones de ayuno en machos en DE. B) Concentración de glucosa bajo condiciones de postprandio en machos en DE. C) Concentración de glucosa bajo condiciones de ayuno en hembras en DE. D) Concentración de glucosa bajo condiciones de postprandio en hembras en DE. E) Concentración de glucosa bajo condiciones de ayuno en machos en DO. F) Concentración de glucosa bajo condiciones de postprandio en machos en DO. G) Concentración de glucosa bajo condiciones de ayuno en hembras en DO. H) Concentración de glucosa bajo condiciones de postprandio en hembras en DO. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar de los niveles de glucosa. $n=5$ para DE, $n=6$ para DO. * $p<0.05$, ** $p<0.01$. Prueba t Student con corrección de Welch.

c. El efecto de la sulpirida en la glucemia de ratones alimentados con una dieta obesogénica depende del sexo y la sensibilidad a la dieta.

El aumento de peso que se observa con el cambio a DO en machos y hembras se ve acompañado de un incremento en la glucemia después de 4 semanas, tanto en machos ($p<0.0001$), como en hembras ($p<0.0001$, Figura 5). El efecto de la DO fue un incremento del 37% en la glucemia con respecto a los niveles de glucosa que presentan sus contrapartes bajo DE, antes del tratamiento con sulpirida. Es de notar, que mientras no existe una diferencia en los niveles de glucosa entre machos y hembras alimentados con una DE, se muestran mayores niveles de glucosa en machos en DO al compararlos con hembras en DO ($p=0.0034$).

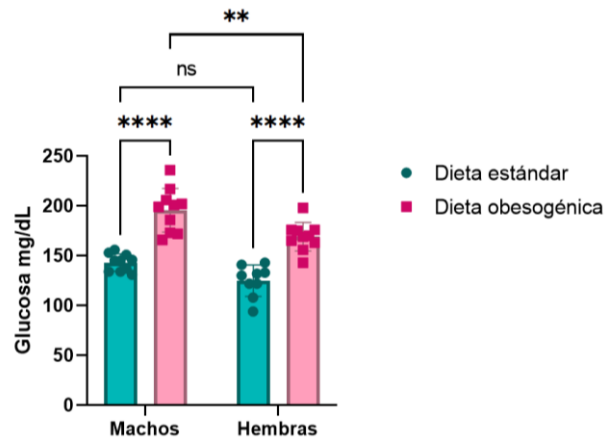


Figura 5. Glucemia en ratones después de 4 semanas de alimentación con dieta estándar u obesogénica y antes del tratamiento con sulpirida. La glucosa se midió en los ratones en condiciones de postprandio a partir de una gota de sangre de la vena de la cola utilizando un glucómetro. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar de los niveles de glucosa. $n=10$ para machos y hembras en DE, $n=12$ para machos y hembras en DO. * $p<0.05$, ** $p<0.01$. Prueba t Student con corrección de Welch.

El efecto del tratamiento con sulpirida en la glucemia en machos bajo una DO, es una disminución de los niveles de glucosa en ayuno cuando se administraron las dosis de 20 mg/kg ($p=0.024$) y 30 mg/kg ($p=0.012$), así como en postprandio con la dosis de 20 mg/kg ($p=0.035$), y en este caso la dosis de 30 mg/kg no logró disminuir la glucemia (aunque muestra tendencia a hacerlo), lo cual indica que la dosis efectiva de sulpirida en machos alimentados con una DO es de 20 mg/kg (Figura 4E y F). Por su parte, en las hembras alimentadas con DO, la sulpirida no mostró tener efecto en los niveles de glucosa en ayuno, únicamente en condiciones de postprandio disminuye la glucemia con la dosis de 10 mg/kg ($p=0.029$, figura 4H).

En vista de que las hembras mostraron una ganancia de peso más heterogénea tras consumir la DO, en todos los grupos experimentales (Figura 2D), se decidió dividir los grupos de cada dosis en dos (cada grupo de dosis ahora con 3 sujetos experimentales), un grupo de hembras que tuvo un aumento de peso menor al 50% de su peso inicial, y otro grupo de hembras que tuvo un aumento de peso mayor o igual al 50%. Al hacer esta clasificación, fue posible demostrar el efecto que tiene la sulpirida en las hembras. Se observa que en condiciones de ayuno, la sulpirida no disminuye la glucemia en las hembras con aumento de peso $<50\%$, en cambio, en las hembras con aumento de peso $>50\%$ ($n=3$) la dosis de 10 mg/kg fue efectiva ($p=0.037$, Figura B). Asimismo, en condiciones de postprandio no hubo efecto en hembras con aumento de peso $<50\%$, y en el caso de las hembras con aumento de peso $>50\%$ la dosis de 10 mg/kg sugiere tener un efecto ($p=0.051$, Figura 8B).

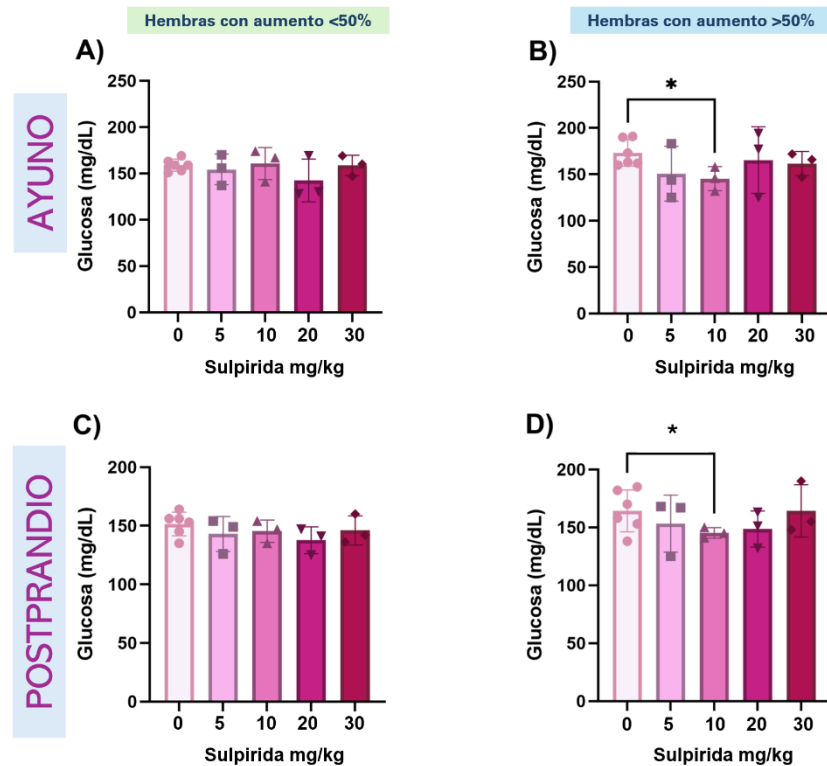


Figura 6. Efecto de la sulpirida en los niveles de glucosa de hembras separadas de acuerdo con el porcentaje de ganancia de peso final. A) Hembras con ganancia de peso <50% en ayuno. B) Hembras con ganancia de peso >50% en ayuno. C) Hembras con ganancia de peso <50% en postprandio. D) Hembras con ganancia de peso >50% en postprandio. Las barras representan la media $\pm$ la desviación estándar de los niveles de glucosa. $n=6$ para hembras sin sulpirida en DO con aumento <50% y >50%, y $n=3$ para hembras con sulpirida en DO con aumento <50% y >50%. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Prueba t Student con corrección de Welch.

d. El tratamiento con sulpirida normaliza el nivel de fosforilación de diversas proteínas involucradas en el metabolismo de la glucosa, mostrando un dimorfismo sexual en su mecanismo de acción.

Debido a que se han reportado mayores cantidades de glucógeno en machos obesos tratados con sulpirida (Vázquez-Carrillo et al., 2024), a través de determinaciones de proteína mediante western blot se analizaron los niveles de fosforilación de la enzima glucógeno sintasa (GS) en músculo esquelético (gastrocnemio y soleo), en donde tiene un papel crucial en este proceso. Los resultados en machos mostraron que la DO provoca una menor fosforilación de esta enzima en comparación con los ratones alimentados con DE, mientras que el tratamiento con sulpirida normaliza los niveles en ratones en DO, mostrando niveles similares a aquellos ratones alimentados con DE (Figura 7A

y 7C). Mientras tanto, en el caso de las hembras, ocurre una situación contraria, ya que la DO ocasiona un aumento en el nivel de fosforilación de la GS, mientras que el tratamiento con sulpirida tanto en hembras alimentadas con DE o con DO disminuye los niveles de fosforilación de la enzima, normalizando la fosforilación a niveles similares a aquellas alimentadas con DE en el caso de hembras con obesidad (Figura 7B, 7D y 7E).

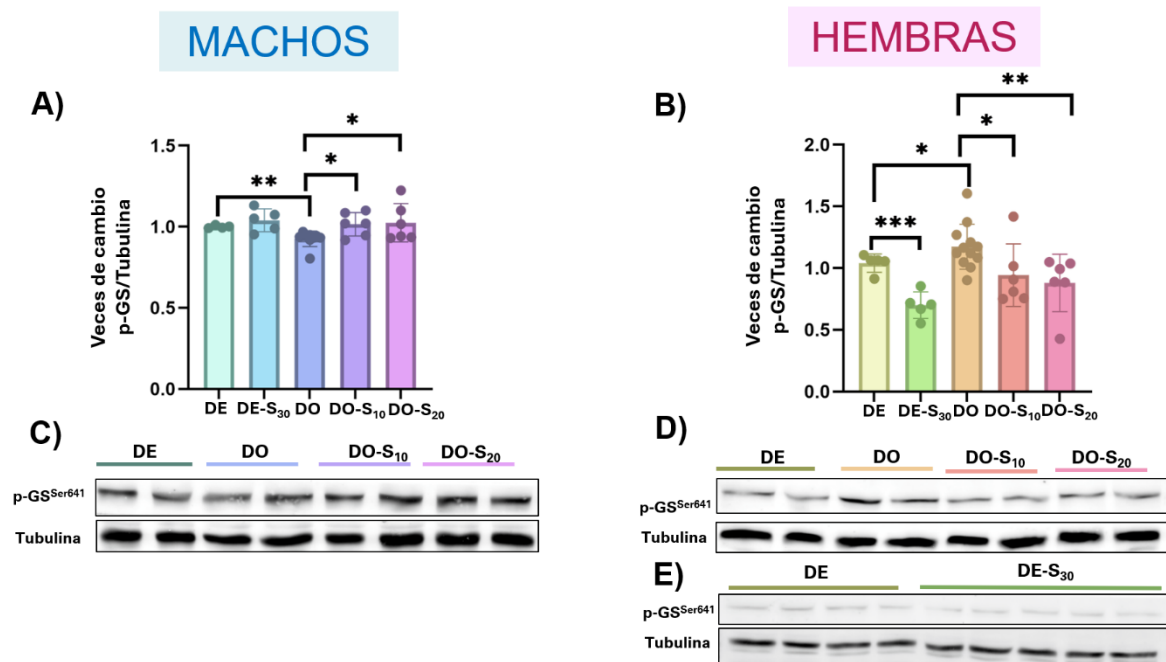


Figura 7. La sulpirida normaliza los niveles de fosforilación de la enzima glucógeno sintasa muscular en machos y hembras. A) Niveles de fosforilación de GS en machos. B) Niveles de fosforilación de GS en hembras. Western blot representativo de la expresión relativa de p-GS en C) machos y en D) hembras. E) Western blot representativo de la expresión relativa de la forma fosforilada de GS en hembras con DE sin y con tratamiento con sulpirida. Se normalizaron los niveles de p-GS con respecto a la proteína tubulina. DE-S₃₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 30 mg/kg en DE, DO-S₁₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg en DO, DO-S₂₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 20 mg/kg en DO. n= 5 para machos y hembras en DE y DE-S₃₀, n=6 para machos y hembras en DO-S₁₀ y DO-S₂₀, n=12 para machos y hembras en DO. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. Prueba t Student con corrección de Welch.

Por otro lado, se analizó el nivel de fosforilación de las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERKs) que se encuentran en la vía de señalización de la insulina a través de Ras/Raf/Mek. ERK se presenta en dos isoformas (ERK 1 y 2) que están involucradas en diversos procesos que incluyen proliferación, diferenciación, supervivencia celular, migración, apoptosis, determinación morfológica, transformación oncogénica, además de verse involucradas en la resistencia a la

insulina asociada a obesidad (Ozaki et al., 2016; Shaul & Seger, 2007). Esta cinasa en su forma fosforilada se encuentra activada y se observó una tendencia a presentar mayor nivel de fosforilación (Thr202/Tyr204) en condiciones de obesidad en el caso de las hembras, que se normalizó con el tratamiento con 20 mg/kg de sulpirida, y mostrando una tendencia a disminuir con la dosis de 10 mg/kg (Figura 8B y 8D). Por otra parte, en machos se mostró un menor nivel de fosforilación en ratones alimentados con DO, sin embargo, no parece haber cambios en el nivel de fosforilación con el tratamiento con sulpirida en DE y DO (Figura 11A), lo que sugiere que la sulpirida tiene un efecto de recuperación parcial sobre los niveles de fosforilación de ERK1/2.

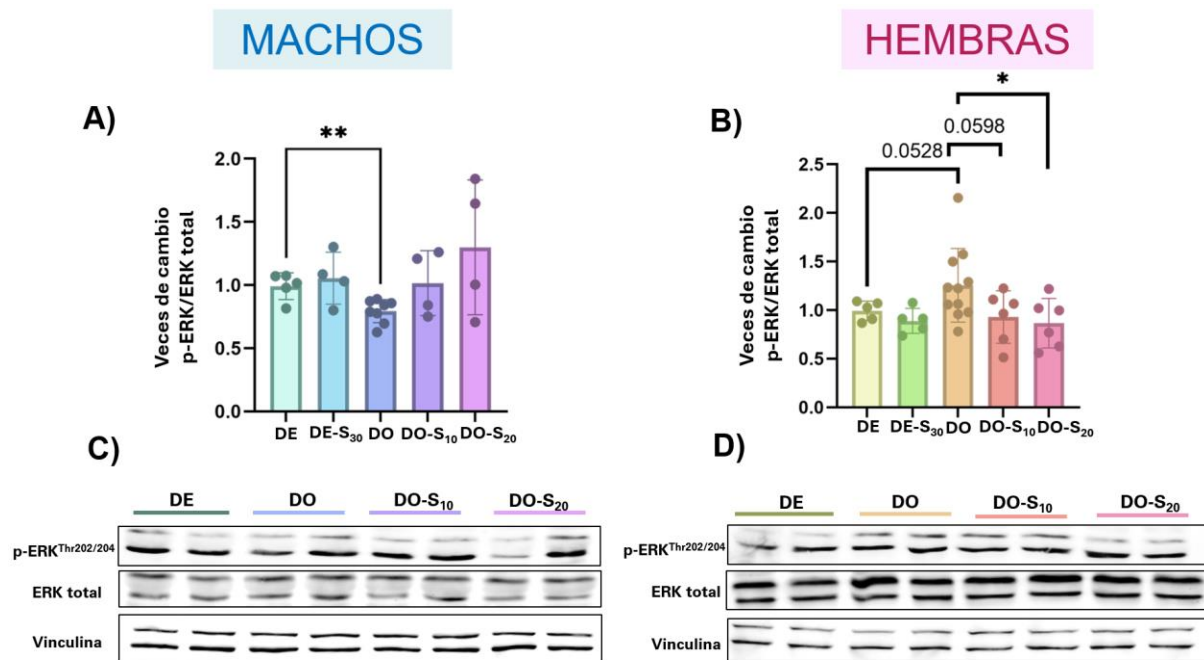


Figura 8. La sulpirida normaliza los niveles de fosforilación de ERK 1/2 en el músculo esquelético de hembras con obesidad. Niveles de fosforilación de ERK 1/2 en A) machos y en B) hembras. Western blot representativo de la expresión relativa de p-ERK(1/2) en C) machos y en D) hembras. Se normalizaron los niveles de ERK fosforilada y ERK contra la proteína vinculina, para posteriormente hacer la relación entre la forma fosforilada entre la total. DE-S₃₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 30 mg/kg en DE, DO-S₁₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg en DO, DO-S₂₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 20 mg/kg en DO. n= 5 para machos y hembras en DE y DE-S₃₀, n=6 para machos y hembras en DO-S₁₀ y DO-S₂₀, n=12 para machos y hembras en DO. *p < 0.05. **p < 0.01. Prueba t Student con corrección de Welch.

También se analizó el nivel de fosforilación de la proteína AKT 1/2/3 (Ser473), que pertenecen a la familia de la proteína cinasa B, esta se encuentra en la cascada de señalización de la insulina a través de la activación de PI3K y está involucrada en procesos de transporte de glucosa, glucólisis,

síntesis de proteínas, lipogénesis, síntesis de glucógeno, supresión de gluconeogénesis, supervivencia celular, y progresión del ciclo celular (Whiteman et al., 2002). En machos obesos sin tratamiento los niveles de fosforilación (Ser473) no se vieron modificados con respecto a los ratones en DE, sin embargo, el tratamiento con sulpirida disminuyó los niveles de fosforilación de AKT, al compararlos con ratones en DE y DO (Figura 12A). En el caso de las hembras, en DE el tratamiento con sulpirida aumentó los niveles de fosforilación, mientras en hembras con DO no se observaron alteraciones en la fosforilación por la dieta o por el tratamiento con sulpirida (Figura 12B).

Otra proteína que tiene un papel importante en el metabolismo de la glucosa es el transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4), que es la isoforma más abundante en el músculo y es responsable de la captura de glucosa estimulada por insulina y por la contracción muscular (Chadt & Al-Hasani, 2020). Se detectaron mayores niveles de este transportador en el músculo esquelético de ratones macho alimentados con DE tratados con 30 mg/kg de sulpirida y en machos alimentados con DO tratados con 20 mg/kg (Figura 13A), mientras que en las hembras no existieron diferencias entre condiciones dietéticas o dosis de sulpirida (Figura 13B).

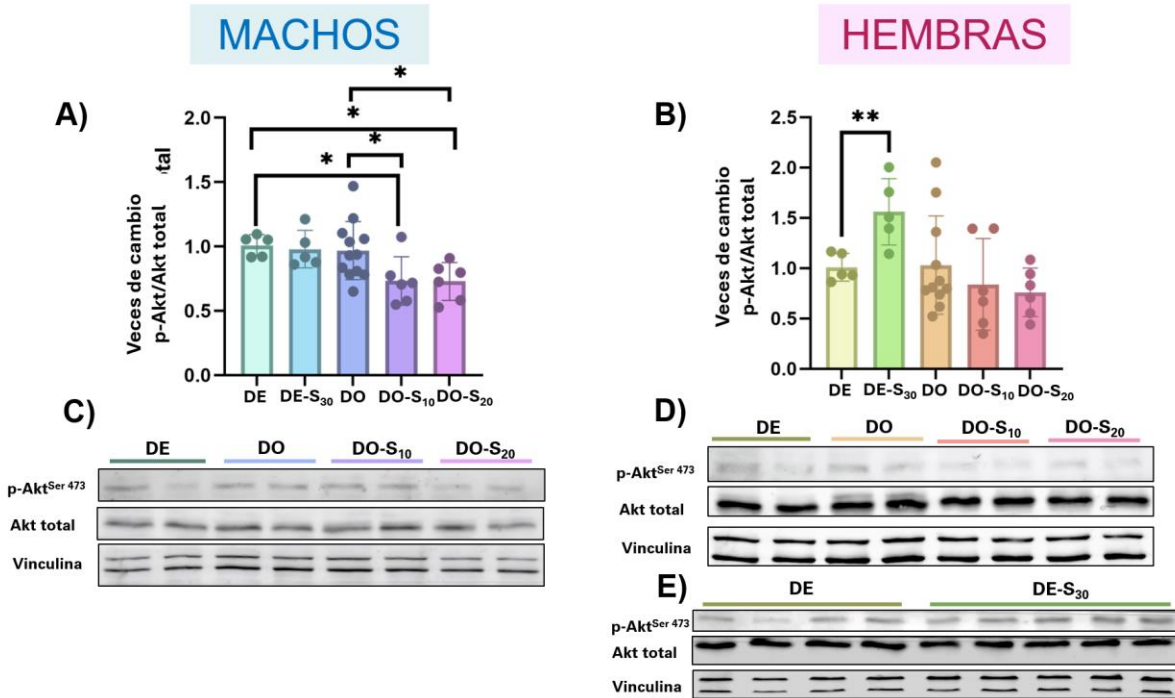


Figura 9. La sulpirida disminuye los niveles de fosforilación de Akt en el músculo esquelético de machos bajo una DO, pero no en hembras. Niveles de fosforilación de Akt1/2/3 en A) machos y en B) hembras. Western blot representativo de la expresión relativa de la forma fosforilada de Akt1/2/3 en C) machos y en D) hembras. E) Western blot representativo de la expresión relativa de la forma fosforilada de Akt1/2/3 en hembras con DE sin y con tratamiento de sulpirida. Se normalizaron los niveles de Akt total y Akt fosforilada contra la proteína vinculina. DE-S₃₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 30 mg/kg en DE, DO-S₁₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg en DO, DO-S₂₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 20 mg/kg en DO. n= 5 para machos y hembras en DE y DE-S₃₀, n=6 para machos y hembras en DO-S₁₀ y DO-S₂₀, n=12 para machos y hembras en DO. *p <0.05. **p<0.01. Prueba t Student con corrección de Welch.

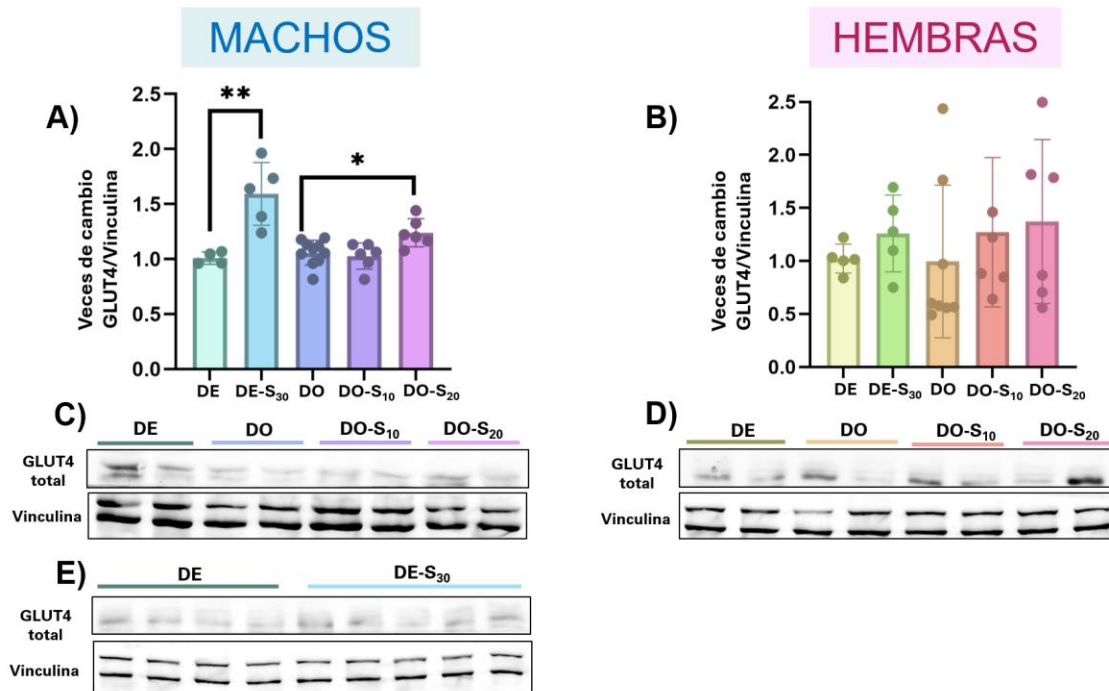


Figura 10. La sulpirida aumenta los niveles del transportador GLUT4 en el músculo esquelético de machos bajo una DE y una DO, pero no en hembras. Niveles del transportador GLUT4 en A) machos y en B) hembras. Western blot representativo de la expresión relativa de GLUT4 en C) machos y en D) hembras. Los niveles de GLUT4 se normalizaron contra la proteína vinculina. DE-S₃₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 30 mg/kg en DE, DO-S₁₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg en DO, DO-S₂₀: tratamiento con sulpirida a la dosis de 20 mg/kg en DO. n= 5 para machos y hembras en DE y DE-S₃₀, n=6 para machos y hembras en DO-S₁₀ y DO-S₂₀, n=12 para machos y hembras en DO. *p < 0.05. **p < 0.01. Prueba t Student con corrección de Welch.

8. Discusión

La búsqueda de tratamientos para combatir las complicaciones metabólicas que ocurren derivadas de la obesidad y el sobrepeso es de gran interés en la actualidad debido a la alta prevalencia de estas condiciones a nivel mundial (el 40% de la población padece de sobrepeso y obesidad, World Obesity Federation, 2023). En este trabajo proponemos el uso del antagonista dopaminérgico D2, sulpirida, para disminuir la glucemia, ya que se ha demostrado (Vázquez-Carrillo et al., 2024) que posee efectos antihiper glucemiantes en machos con y sin obesidad, por lo que el propósito de esta investigación consistió en determinar la dosis efectiva que disminuye la glucemia en ratones macho y hembra, así como indagar sobre el mecanismo subyacente responsable de la disminución de los niveles de glucosa en el músculo esquelético.

En esta investigación, se empleó el modelo de inducción de obesidad mediante la alimentación de los ratones con una dieta obesogénica, que en este caso fue una dieta alta en grasa (60% de las kcal provienen de grasas saturadas). La diferencia más importante entre los grupos en una DE y DO, además del incremento de peso, consistió en un incremento significativo de la glucemia después de 4 semanas a partir del cambio de dieta, ya que con la DO se observaron niveles cercanos a los 200 mg/dL en machos y a 170 mg/dL en hembras, mientras que con la dieta estándar se observaron niveles de 143 mg/dL en machos y 125 mg/dL en hembras, todo esto en postprandio. El incremento de la glucemia se atribuye a diversos factores asociados a la DO, particularmente, porque provoca una disminución en la captación de glucosa estimulada por la insulina, especialmente en el músculo esquelético y el tejido adiposo. Además, se ha observado un aumento en la producción hepática de glucosa, conocida como gluconeogénesis, todo esto se debe al desarrollo de la resistencia a la insulina (Wilkes et al., 1998).

Con el fin de reducir los niveles de glucosa se suministró sulpirida a los animales alimentados con los dos tipos de dieta durante 30 días. Por un lado, se observó que la sulpirida tuvo efectos en los animales alimentados con DE solamente en condiciones de postprandio, para los machos las dosis de 10 y 30 mg/kg mostraron reducir la glucemia (se observan tendencias con la dosis de 20 mg/kg), y en el caso de las hembras la dosis de 5 mg/kg logró disminuir la glucemia, lo que muestra un dimorfismo sexual en la dosis efectiva de la sulpirida.

Por otra parte, en ratones alimentados con una DO, se observó que la dosis efectiva que reduce los niveles de glucosa tanto en ayuno como en postprandio es la de 20 mg/kg en machos, que es una

dosis menor a la ya reportada con anterioridad por Vázquez-Carrillo. La reducción de la glucemia es tal, que llegan a tener niveles similares a los animales alimentados en DE sin tratamiento con sulpirida (Apéndice A).

Ahora bien, la sulpirida también demostró tener un efecto en hembras bajo una DO, pero la eficacia del tratamiento parece depender del porcentaje de ganancia de peso. Mientras que en hembras con una ganancia de peso $<50\%$ de su peso inicial, la sulpirida no mostró tener algún efecto ni en ayuno ni en postprandio, en hembras con una ganancia de peso $>50\%$ la sulpirida fue efectiva en ayuno y a una dosis de 10 mg/kg (y hubo una tendencia similar en el periodo postprandial). Al igual que en los machos, al disminuir la glucemia se llega a niveles comparables a los presentados por hembras en DE sin tratamiento con sulpirida, pero solo en condiciones de ayuno y no de postprandio (Apéndice A).

En este momento es complicado definir la razón por la cual la sulpirida solo tienen eficacia en las hembras con mayor aumento de peso, pero es importante destacar que, mientras que no existen diferencias en la glucemia entre las hembras que ganan mas o menos peso (Apéndice B), aquellas con mayor ganancia de peso mostraron mayor porcentaje de tejido adiposo visceral, a comparación de aquellas con un menor porcentaje de ganancia de peso (Apéndice C3), esto en el caso de las hembras en DO sin tratamiento. Por otro lado, en el caso de las hembras tratadas con 10 mg/kg de sulpirida, esta diferencia entre el porcentaje de tejido adiposo visceral desaparece, a pesar de que aún existe una diferencia en la ganancia de peso (Apéndice C2 y C4); sin embargo este análisis se realizó con tres sujetos experimentales en el grupo tratado con sulpirida y debería repetirse con una muestra más grande. Además, debido a lo reportado por Vázquez-Carrillo (2024), en donde la sulpirida actúa a nivel del tejido adiposo visceral, aumentando la expresión del transportador GLUT4 y del receptor de insulina, creemos que en las hembras tratadas con la dosis efectiva de 10 mg/kg, y que tuvieron mayor aumento de peso, incrementa la respuesta del tejido adiposo visceral al tratamiento con sulpirida, teniendo como consecuencia una mayor sensibilidad a la insulina.

Una posible explicación de la disminución de la glucemia debido al tratamiento con sulpirida, tanto en machos como en hembras, era una disminución en la ingesta de alimento en los animales, pero esto no ocurre, ya que como se observó en la figura 3, los machos y hembras en DO tratados, consumieron en promedio las mismas calorías por día durante las 8 semanas experimentales a

comparación de aquellos que no recibieron el tratamiento con sulpirida, siendo la excepción la dosis de 5 mg/kg, que parece aumentar la ingesta calórica tanto en machos como en hembras.

Con respecto a esta última observación, el fenómeno de estimulación de la ingesta ya se ha reportado con otros antipsicóticos clásicos como clorpromazina y haloperidol (a bajas dosis) con los cuales se ha mostrado un aumento de neuropéptido Y, así como con antipsicóticos de nueva generación como olanzapina, clozapina y risperidona (Kaur & Kulkarni, 2002). Este efecto se le atribuye a la interacción de estos fármacos con múltiples receptores, ya que además de bloquear a D2R, bloquean a D1R, D4R, receptores de serotonina como 5-HT₁, 5-HT₂, receptores α_1 y α_2 adrenérgicos y receptores de histamina (Kaur & Kulkarni, 2002). Se atribuye el aumento de la ingesta al bloqueo de los receptores D1, ya que al administrar el agonista SKF 38393 fue posible revertir la hiperfagia inducida por clozapina (Kaur & Kulkarni, 2002). En el caso de la sulpirida, únicamente se ha registrado que induce un aumento de la ingesta a dosis bajas, Kaur y Kulkarni en 2002 reportan que la dosis de 10 mg/kg aumenta la ingesta en las 3 horas posteriores a la administración, sin embargo, con las dosis de 20 y 40 mg/kg no observaron este comportamiento, en nuestro caso este comportamiento se observó a una dosis menor de 5 mg/kg (Figura 9).

Para indagar en el mecanismo por el cuál la sulpirida disminuye los niveles de glucosa, decidimos investigar su efecto en músculo esquelético, debido a que este tejido es esencial para mantener la homeostasis de la glucosa, contribuyendo aproximadamente con el 80% de la captura de glucosa postprandial, tanto de manera dependiente como independiente de insulina (Hulett et al., 2023). Adicionalmente, como en nuestro equipo de laboratorio se observaron mayores niveles de glucógeno en el músculo esquelético de machos con obesidad tratados con sulpirida (Vázquez-Carrillo et al., 2024), decidimos indagar en la vía de síntesis del glucógeno.

Del 70 al 90% de la glucosa proveniente de los alimentos se incorpora en el músculo esquelético en forma de glucógeno, esto gracias a la acción de la insulina, pero cuando las reservas se han reabastecido, la habilidad que tiene la insulina de promover el transporte de glucosa se reduce, por ello se requiere de periodos en los cuales el glucógeno se utilice, para mantener la sensibilidad a la insulina, esta descomposición del glucógeno, nuevamente a glucosa, ocurre con la contracción muscular (por ejemplo durante la actividad física) (Jensen & Lai, 2009).

La síntesis de glucógeno ocurre gracias a la actividad de la enzima GS, donde su actividad es regulada mediante fosforilación y activación alostérica, estímulos como la insulina, adrenalina, el

mismo contenido de glucógeno y el ejercicio regulan su actividad al influir en su estado de fosforilación o la concentración de activadores alostéricos (Jensen & Lai, 2009). Todos estos factores implican que la regulación de su actividad es compleja, en el caso de la insulina, provoca de manera indirecta la desfosforilación de GS en Ser^{641,645,649} al activar a la proteína fosfatasa 1 que lleva a cabo la desfosforilación, y además la insulina inhibe a la cinasa GSK-3 (responsable de la fosforilación de GS); por su parte, la adrenalina incrementa la fosforilación en Ser⁷, Ser¹⁰ y Ser^{641,645,649}. Estudios mutacionales han confirmado que las fosforilaciones en Ser⁷, Ser¹⁰ y Ser^{641,645,649} son reguladores clave en su actividad (Halse et al., 2001; Jensen & Lai, 2009).

Adicionalmente, la actividad de la GS también puede ser estimulada de forma independiente al estado de fosforilación, esto es, con el aumento del transporte de glucosa, que a su entrada se fosforila a G6P y actúa como regulador alostérico de GS. La importancia de su papel se demostró en un estudio por Bouskila y colaboradores en 2010, en donde se reemplazaron residuos de arginina por alanina (GS^{R582A/R582A}) en la GS generando una enzima insensible a la activación por parte de G6P, encontrando que la tasa de síntesis de glucógeno tuvo una reducción en un 70% en estos ratones, además de una disminución en un 50% de la concentración total de glucógeno. A pesar de que aún podía ser desfosforilada por acción de la insulina, la actividad residual de síntesis no era suficiente, por lo que se propone que la insulina promueve la acumulación de glucógeno principalmente mediante activación alostérica por parte de G6P, y esta activación aumenta con la desfosforilación de la enzima mediante una inactivación de GSK3, lo que permite realizar cambios precisos a las propiedades cinéticas de la enzima para detectar pequeños cambios en los niveles de G6P que facilitarían un flujo de glucosa sostenido (Bouskila et al., 2010). Finalmente, un alto contenido de glucógeno reduce la actividad de la GS, siendo un regulador más potente en comparación con la insulina, ya que se ha observado que es incapaz de activar a la GS en músculos con alto contenido de glucógeno, cuya capacidad total en un adulto es de 350 a aproximadamente 700 g (Jensen et al., 2006; Jensen & Lai, 2009; Knuiman et al., 2015).

Con esto, los niveles de fosforilación de la GS encontrados en el presente trabajo se podrían explicar de la siguiente manera, los menores niveles de fosforilación observados en machos en DO sin tratamiento se podrían explicar por mayores niveles de insulina, ya reportado por Vázquez-Carrillo (2024), y el tratamiento con sulpirida en ratones obesos disminuye los niveles de insulina, por lo cual los niveles de fosforilación también se verían reducidos. Además, un mayor nivel de

fosforilación en los ratones obesos tratados con sulpirida, hasta llegar a ser comparables a los ratones alimentados con DE, sugiere un aumento en la síntesis de glucógeno, y un mayor nivel de glucógeno se asocia a mayor fosforilación en Ser⁷ y Ser⁶⁴¹ (Jensen & Lai, 2009; Kolnes et al., 2015; Lai et al., 2007). Además, se ha visto que la disminución en la actividad fraccional de la enzima en músculos con alto contenido de glucógeno no se debe a un incremento en la actividad de GSK3 (es decir aumento en el nivel de fosforilación), si no a una disminución en la actividad de PP-1 lo que podría explicar por que los niveles de fosforilación de los ratones obesos tratados con sulpirida son mayores a los de ratones obesos sin tratamiento, pero a su vez son similares al nivel de fosforilación de los ratones en dieta estándar y no mayores a estos (lo que sugeriría una “mayor inactivación” con el tratamiento) (Jensen & Lai, 2009).

Otra explicación para el aumento de la fosforilación en ratones macho obesos tratados con sulpirida deriva de analizar la vía de señalización del receptor D2, este inhibe a la adenilato ciclasa y por ende a la PKA (proteína cinasa), pero al ser la sulpirida un antagonista del receptor, esto traería como consecuencia una activación de esta vía, por lo tanto una mayor actividad de PKA que fosforila a la glucógeno sintasa (Kolnes et al., 2015). Ahora bien, no sabemos si este efecto se debe a que la sulpirida está actuando a nivel central o directamente en el músculo, la revisión en la literatura sobre la acción directa de la DA, y sus agonistas/antagonistas, en el músculo esquelético es escasa, y la presencia del receptor D2 no se ha reportado explícitamente en este tejido. Hasta el momento, la información descrita en músculo esquelético acerca del efecto de la DA sugiere que actúa a través de D1R y/o D5R. Un estudio de Reichart y colaboradores en 2011 describen que la incubación del músculo tibialis anterior y gastrocnemio con el agonista D1R/D5R, SKF 81297, incrementan los niveles de AMPc, lo cual reduce la pérdida de masa muscular (atrofia) que fue inducida por el enyesado, además de incrementar la masa de aquellos músculos sin atrofia (Reichart et al., 2011). Además, se describe que la incubación de músculo esquelético con DA incrementa la captura de glucosa, aunque le atribuye este efecto a un mecanismo mediado por receptores D1 (Tavares et al., 2021). Por otro lado, se conoce que el sistema dopaminérgico nigroestriatal en el cerebro regula los movimientos voluntarios, al disminuir el tono muscular al actuar a bajas concentraciones en receptores D1 y durante los movimientos voluntarios, la estimulación de receptores D2 con mayores concentraciones de DA inducen la contracción muscular (Korchounov, 2008). Con todo lo anterior, es necesario confirmar la presencia del receptor D2 en músculo

esquelético para definir si el efecto de la sulpirida es a través de un efecto directo o indirecto en este tejido.

Los mayores niveles de glucógeno muscular en ratones obesos tratados con sulpirida, reportados por Vázquez-Carrillo, se podrían relacionar a que existe un mayor transporte de glucosa (asociados a la mayor expresión del transportador GLUT4), con esto, los niveles de G6P aumentarían permitiendo la activación de la enzima GS, independiente de su nivel de fosforilación, al activar alostéricamente a la GS.

Este aumento en los niveles del transportador GLUT4, en ratones macho con y sin obesidad podría llevar a un incremento en el transporte de glucosa que explicaría la disminución en la glucemia. Se conoce que una característica clínica importante en individuos que sufren de diabetes es una reducción en el transporte de glucosa desde la sangre a los tejidos, ocasionado por alteraciones en el transporte de glucosa estimulada por insulina hacia el músculo y adipocitos, y aunque se ha visto que el nivel de GLUT4 se ve reducido en un 50% en tejido adiposo de humanos con diabetes tipo 2, no se ha visto una reducción en músculo esquelético (como en el presente trabajo) a menos que haya una severa resistencia a la insulina (Klip et al., 2019), pero si existe una disminución en la translocación a la membrana desde las vesículas citoplasmáticas que lo contienen. Entonces, ¿el aumento que se observa de GLUT4 en el músculo esquelético de los machos tratados con sulpirida es suficiente para favorecer el transporte de glucosa a este tejido?, como evidencia de ello Atkinson y colaboradores en 2013 evaluaron los efectos de sobreexpresar GLUT4 en ratones alimentados con dieta alta en grasa y DE, estos ratones (hGLUT4) contenían de 2 a 3 veces más transportador (Atkinson et al., 2013). Como era de esperarse los ratones no transgénicos sometidos a una dieta alta en grasa tuvieron una elevación en los niveles de glucosa después de 8 semanas con la dieta, y a pesar de que también se elevaron en los ratones hGLUT4, eran significativamente menores a los no transgénicos, de la misma manera, los niveles de insulina en ayuno de ratones hGLUT4 eran menores y como consecuencia el valor de HOMA-IR; esta mejora en la homeostasis de glucosa se le atribuye a la sobreexpresión de GLUT4 en musculo esquelético y tejido adiposo pardo (Atkinson et al., 2013).

Los cambios en el estado de fosforilación de Akt en machos podrían estar relacionados con la cascada de señalización del receptor D2; se ha demostrado que la activación del receptor induce la formación de un complejo que involucra a β -arrestina 2, Akt, proteína fosfatasa 2A (PP2A), que

provoca la activación de Akt (agonistas de D1 o D2 incrementan los niveles de fosforilación en Thr308 en cultivos neuronales), además racloprida, otro antagonista de D2R, inactiva a Akt (Bibb, 2005; Perrine et al., 2008). Las implicaciones de esta desfosforilación en el metabolismo de la glucosa en respuesta al tratamiento a sulpirida deberían de estudiarse a profundidad.

Por su parte, como en hembras los niveles de glucógeno no han sido determinados, podemos inferir que el tratamiento con sulpirida al inducir menores niveles de fosforilación (en hembras alimentadas con DE y DO) lleva a una activación de la enzima, asimismo se observan mayores niveles de fosforilación en hembras con obesidad en comparación con hembras en DE, lo que sugiere una inactivación de la enzima. Otra forma en la que la sulpirida podría ayudar a mejorar el metabolismo de las hembras es a través de disminuir el nivel de fosforilación de ERK 1/2 y por lo tanto su grado de activación (Shaul & Seger, 2007). Esto es debido a que se ha vinculado a la sobreactivación de esta cinasa con el desarrollo de resistencia a la insulina asociada a la obesidad y diabetes tipo 2. En apoyo a esto, Ozaki y colaboradores en 2016 analizaron el efecto de los inhibidores de ERK, PD184352 y PD0325901, en ratones deficientes para el receptor de leptina *db/db* y ratones alimentados con dieta alta en grasa de la cepa KK^{AY}, ambos modelos de obesidad y diabetes, encontraron que en ambas cepas el tratamiento con los inhibidores durante 15 días disminuye los niveles de glucosa en ayuno, además de que mejora el desempeño en las pruebas de tolerancia a la glucosa y a la insulina (sin cambios en el peso corporal o consumo de alimento), por otro lado, la actividad de ERK estaba incrementada en el tejido adiposo visceral de estos ratones, lo que se asocia con una desregulación en la expresión de adiponectina (a la baja) y esto se normaliza con el tratamiento (Ozaki et al., 2016). Además, en un estudio por Jager y colaboradores en 2010, se investigó el papel de ERK en la resistencia a la insulina asociada a obesidad, para ello se generaron ratones knockout de ERK1 con fondo genético *ob/ob*, estos ratones *ob/ob* ERK1^{-/-} en donde la obesidad no se vio afectada por la mutación, mostraron menores niveles de glucosa, mejoró su tolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina a comparación de los ratones *ob/ob*, estos resultados se correlacionaron con un aumento del doble en la tasa de transporte de glucosa en el músculo esquelético (demostrado mediante una aumento en la utilización de glucosa durante una pinza hiperinsulinémica-euglucémica) y en tejido adiposo (en donde también hubo una disminución de la producción de citocinas inflamatorias) (Jager et al., 2011). A pesar de que en nuestro modelo experimental, la sulpirida no suprime en su totalidad la actividad de las cinasas ERK1/2, una reducción en su fosforilación indica que en el músculo esquelético de las hembras, la

disminución en la actividad podría promover un mayor transporte de glucosa y esto mejore el metabolismo.

Es interesante observar que la sulpirida presenta mejor desempeño en condiciones de postprandio, ya que funciona en los dos tipos de dieta en esta condición, una explicación podría ser que en ayuno, los mecanismos de glucogenólisis y después gluconeogénesis desencadenadas por el glucagón en el hígado sobrepasan el efecto de la sulpirida, ya que es necesario tener glucosa disponible para su captura a nivel sistémico (Alsahli & Gerich, 2016).

Desde la inclusión de hembras en modelos experimentales y mujeres en ensayos clínicos es claro que el sexo es un factor importante en las diferencias que existen en la fisiología/patofisiología, incidencia de enfermedades y la manera en la que se manifiesta (signos y síntomas), además, influye en como responden a tratamientos farmacológicos (Mauvais-Jarvis, 2018). En el caso del presente trabajo, las diferencias comienzan en los niveles de glucosa, en el caso de los animales en DE la glucemia es mayor en machos en ayuno (machos: 158 mg/dL vs hembras: 141 mg/dL, $p=0.044$, Apéndice D1), esta diferencia en los niveles de glucosa se conserva en condiciones postprandiales en ratones alimentados con DE (machos: 143 mg/dL vs hembras: 125 mg/dL, $p=0.006$, Apéndice D2). El comportamiento que existe ante el cambio de dieta es que a pesar de que los machos tuvieron en promedio mayor incremento de peso a comparación de las hembras (61% y 48% respectivamente), no existen diferencias significativas en este parámetro ($p=0.063$, Apéndice E1), y con respecto a la glucemia en ayuno, claramente existe un dimorfismo sexual en respuesta al cambio de dieta (machos: 191 mg/dL vs hembras: 166 mg/dL, $p=0.009$, Apéndice E2), aunque es interesante que esto no sucede en condiciones de postprandio (machos: 166 mg/dL vs hembras: 158 mg/dL, $p=0.147$) (Apéndice E3).

Se ha reportado un mayor incremento de peso en machos ante una dieta alta en grasa y alta en grasa/alta en sacarosa (Hulett et al., 2023; Oraha et al., 2022). En el estudio de Hulett y colaboradores se analizó el comportamiento ante la dieta, mediante secuenciación de RNA del músculo gastrocnemio, en las hembras se expresan vías de almacenamiento de nutrientes, mientras que en machos hay mayor activación de vías relacionadas a la inflamación con la dieta alta en grasa y sacarosa, lo que podría explicar la respuesta más agravada de los machos hacia la dieta (Hulett et al., 2023).

Además, Orahá y colaboradores en 2022, monitorearon a ratones C57BL/6J para investigar los cambios que ocurren después de un periodo de 5 semanas en DO (en este caso el contenido de grasa era del 23%). Después de este periodo, los machos aumentaron de peso debido a un incremento de la masa de tejido adiposo (251%), en el caso de las hembras, tenían un peso similar a las hembras en dieta estándar, esto porque mostraban menor incremento en masa de tejido adiposo (143%) en comparación a los machos, mientras que ambos sexos tuvieron una disminución de la masa magra. Estas diferencias no se debieron a una menor ingesta calórica, de hecho, las hembras tuvieron una mayor ingesta calórica sobre todo en la fase oscura, en contraste, los machos disminuyeron la ingesta calórica con el tiempo. Entonces, para buscar una explicación de la resistencia a la dieta se determinó el gasto energético, observándose en las hembras un mayor gasto energético, esto se debe a que tienen mayor tiempo de locomoción durante la fase de luz y oscuridad, asimismo existió una diferencia en el tiempo que pasaban dormidos, mientras que los machos incrementaron el tiempo de sueño durante la fase oscura, las hembras no modificaron este parámetro con la dieta. Otro aspecto que pudo haber influido en la resistencia a la dieta en hembras es el hecho que las hembras disminuyeron su coeficiente respiratorio durante la fase oscura en comparación de los machos, lo que sugiere que tienen la capacidad de utilizar la grasa como fuente de energía y por ello no se almacena en tejido adiposo como en los machos, es importante destacar que este parámetro es similar cuando son alimentados con una DE (Orahá et al., 2022).

Es claro que existe un dimorfismo sexual metabólico, ya que hay aspectos con predominancia masculina como por ejemplo mayor masa muscular esquelética, adiposidad visceral, grasa ectópica, oxidación de glucosa durante el ejercicio, y mayores niveles de glucosa en ayuno; en cambio en las hembras existe mayor tejido adiposo, adiposidad subcutánea, niveles circulantes de FFA, almacenamiento de FFA durante el reposo, oxidación de FFA durante el ejercicio (se reporta que las mujeres utilizan del 25 al 50% menos del glucógeno muscular durante el ejercicio moderado), además de mayores niveles de glucosa en las pruebas de tolerancia a la glucosa oral (lo que asocian a una menor masa muscular), y mayores niveles de contenido de lípidos intramiocelulares, lo que llevaría a pensar que estos factores ponen en riesgo de padecer una mayor resistencia a la insulina a los individuos del sexo femenino. Sin embargo, las mujeres muestran mayor sensibilidad a la insulina, los estudios en humanos y animales demuestran que los estrógenos protegen a las mujeres de desarrollar diabetes tipo 2 (Mauvais-Jarvis, 2018; Tramunt et al., 2020). En la población sedentaria, los estrógenos reducen la utilización de carbohidratos en mujeres,

cambiando el metabolismo hacia los lípidos, mediante la oxidación de FFA, debido a que el tipo predominante de fibras musculares en mujeres es del tipo I, que es oxidativo, y esto podría explicar porque oxidan más grasa que los hombres, mientras que el metabolismo de los hombres se orilla hacia la glucólisis, aunque aún no se tiene definido si las mujeres hacen uso del contenido de lípidos intramiocelulares durante el ejercicio. Otra diferencia entre sexos, es que las mujeres indican ser más sensibles a los efectos lipolíticos de las catecolaminas, ya que mientras que en los hombres el ejercicio moderado activa receptores adrenérgicos β_1 (estimulan la lipólisis) así como receptores α_2 (inhiben la lipólisis), en mujeres solo los receptores β_1 son activados (Cano et al., 2022).

Estas diferencias metabólicas podrían explicar el dimorfismo en los niveles de fosforilación de la GS, en donde en hembras la fosforilación disminuye, indicando un mayor nivel de actividad de la enzima con respecto a las hembras obesas sin tratamiento, entonces se favorece el almacenamiento de glucosa, mientras que en el caso de los machos, se ve un aumento en los niveles del transportador GLUT4, estas diferencias se atribuyen al dimorfismo sexual en el sustrato energético primario, por ejemplo la captura de lípidos es mayor en hembras que en machos en músculo esquelético, y los triglicéridos son una fuente importante de energía para la mitocondria, ya que pueden ser degradados por la lipoproteína lipasa a ácidos grasos y glicerol para que puedan ser oxidados y obtener energía (Hulett et al., 2023), lo que le permitiría a las hembras utilizar otras fuentes de energía además de la glucosa y por lo tanto el mecanismo de aumento de GLUT4 no ocurre en hembras tratadas con sulpirida. Por otro lado, existe un dimorfismo sexual en el tipo de fibra muscular predominante, por ejemplo en mujeres se ha encontrado que el músculo vasto lateral (perteneciente al cuádriceps) tiene mayor número de fibras tipo I (oxidativas) en comparación con hombres en un 27-35%, mientras que la proporción de fibras IIA, IIX (ambas glucolíticas) son mayores en hombres (Lundsgaard & Kiens, 2014), y se ha mostrado que la captura de glucosa estimulada por insulina es mayor en estas fibras tipo I, además existe una correlación entre la proporción de fibras tipo I y la sensibilidad a la insulina (Albers et al., 2014), esto explicaría porque las hembras manifiestan menores niveles de glucosa, en DE y DO, y posiblemente porque la sulpirida no incrementa los niveles de GLUT4, ya que el transporte de glucosa ya se ve favorecido en hembras.

Existe también dimorfismo sexual en la dosis efectiva de sulpirida, ya que tanto en DE como en DO la dosis es menor en hembras que en machos. También en humanos se han reportado diferencias

en la respuesta a antipsicóticos, donde las mujeres necesitan menores dosis para tener efecto, debido a que se ha demostrado que la biodisponibilidad de antipsicóticos es mayor en mujeres debido a diferencias intrínsecas por el sexo en la eliminación de los fármacos, como en el volumen de distribución, excreción y metabolismo de fármacos (que es más rápido en hombres) (Lange et al., 2017). Además, hay mayor riesgo de presentar efectos secundarios en mujeres si se tratan con la misma dosis que en hombres (como hiperprolactinemia, efectos motores como parkinsonismo, hematológicos, incremento de IMC) (Lange et al., 2017; Margari et al., 2015; Pu et al., 2020).

Tanto en roedores como en humanos se han observado alteraciones en el sistema dopaminérgico en cerebro con la exposición a una dieta alta en grasa; entre los cambios se encuentra una regulación negativa del transportador de dopamina DAT, este regula la concentración de dopamina en la hendidura sináptica, al mediar la recaptura de dopamina en las terminales presinápticas, por lo que una disminución en este llevaría a un incremento en la concentración y tiempo que pasaría la dopamina actuando en sus receptores, por ejemplo en el núcleo caudado/putamen dorsocaudal y ventromedial y núcleo accumbens se han encontrado, mediante autoradiografía, mayores niveles del receptor D2 después de 20 días de alimentación en dieta alta en grasa, mientras que la expresión de DAT fue menor en estas mismas zonas, encontrando una correlación positiva entre el peso final y la densidad de receptor D2, así como con los niveles de leptina, y una relación negativa entre el DAT y estos dos parámetros (South & Huang, 2008). En otro estudio por Kang y colaboradores en 2023, se analizó el cambio en la expresión de genes relacionados al sistema dopaminérgico con la exposición crónica a dieta alta en grasa, encontraron que los niveles de ARNm de COMT, receptor D1R y DAT eran menores en la región ventral tegmental (VTA), corteza prefrontal y núcleo accumbens, mientras que los niveles de D2R y TH en corteza prefrontal y núcleo accumbens no presentaron cambios (Kang et al., 2023).

En nuestro modelo experimental, cuando se comienza el tratamiento con sulpirida los ratones ya han estado 4 semanas en la dieta alta en grasa, podemos inferir una situación similar en la que los ratones en DO tengan mayor densidad de receptores D2, como en la exposición corta, y por lo tanto la dosis efectiva de sulpirida sea mayor que en ratones en DE, o que los niveles de dopamina sean mayores debido a una menor expresión de COMT, una de las enzimas que degrada a la dopamina, y esto provoque que sea necesaria una mayor dosis de sulpirida, sin embargo, también se ha

reportado que en personas con obesidad crónica el índice de masa corporal esta inversamente relacionado a los niveles del receptor D2 en el estriado (South & Huang, 2008; Wang et al., 2001). Además, no es de nuestro conocimiento que se haya estudiado el cambio en los niveles del receptor D2 en tejidos fuera del sistema nervioso central con la exposición a una dieta alta en grasa o en condiciones de obesidad, por lo que sería necesario explorar como la dieta alta en grasa afecta la expresión del receptor D2 en tejidos como el músculo esquelético y/o tejido adiposo, páncreas, etc., y como esto se relaciona con la dosis efectiva de sulpirida.

El comportamiento ante la dieta y tratamiento con sulpirida que mostraron las hembras debe analizarse a mayor detalle, se observa que a pesar de tener una diferencia en el aumento de peso (Apéndice C1), no existen diferencias en los niveles de glucosa dentro del mismo grupo de hembras en DO sin tratamiento en condiciones de ayuno y postprandio (Apéndice B) y este comportamiento se repite en todas las dosis de sulpirida (Apéndice B), sin embargo, sería necesario aumentar la muestra para verificar si no existen diferencias en la glucemia debido al aumento de peso en hembras.

9. Conclusión

Los hallazgos del presente trabajo demuestran que la sulpirida ejerce un efecto antihiper glucemiante importante, lo que la convierte en una posible herramienta terapéutica. Se propone que a dosis bajas, la sulpirida actúa principalmente a nivel periférico en órganos y tejidos metabólicos, como es el músculo esquelético, en donde mejora la captura de glucosa (aumento de GLUT4) y permite su almacenaje en forma de glucógeno al activar alostéricamente y mediante desfosforilación a la GS, además de inactivar vías de señalización involucradas en el desarrollo de resistencia a la insulina (ERK 1/2).

Condición		Dieta estándar		Dieta obesogénica		
		Glucosa				
	Sulpirida	Machos	Hembras	Machos	Hembras < 50%	Hembras > 50%
Ayuno	0 mg/kg					
	5 mg/kg					
	10 mg/kg					↓
	20 mg/kg			↓		
	30 mg/kg			↓		
Postprandio	0 mg/kg					
	5 mg/kg		↓			
	10 mg/kg	↓				↓
	20 mg/kg			↓		
	30 mg/kg	↓				

Efecto de la sulpirida en proteínas importantes en el metabolismo de la glucosa en músculo esquelético.

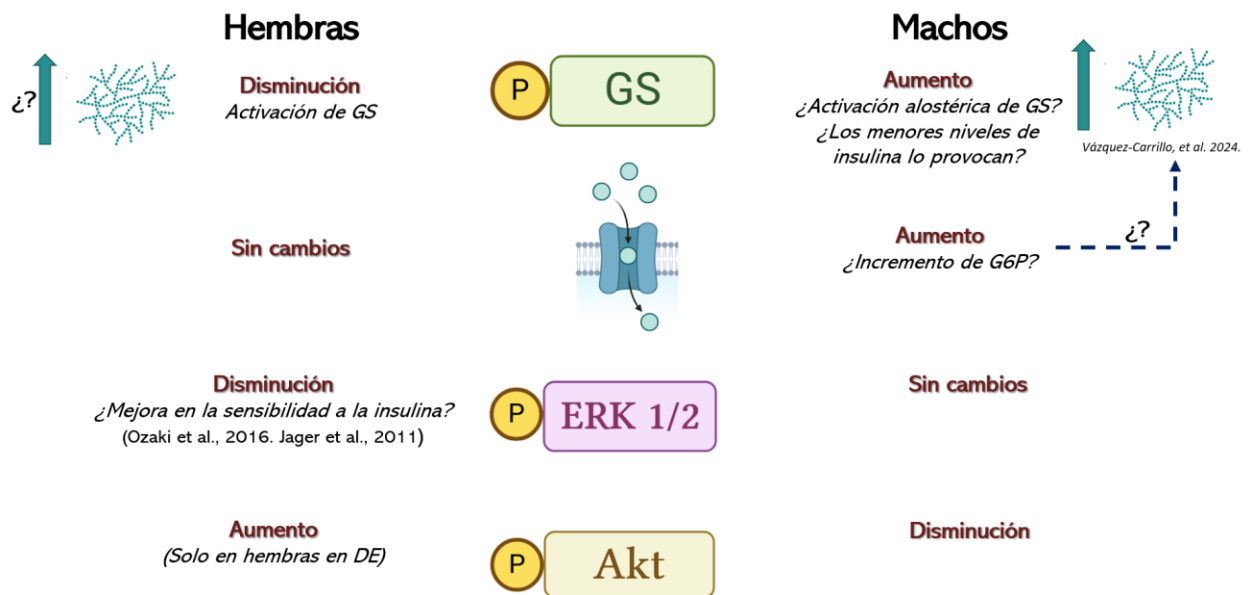


Figura 11. Efectividad del tratamiento con sulpirida durante 30 días (arriba) y mecanismo propuesto para el efecto antihiperglucemiante de la sulpirida (abajo). Creado en biorender.com

10. Perspectivas

Es importante esclarecer el mecanismo por el cuál la sulpirida reduce la glucemia en condiciones de obesidad, se propone seguir explorando el efecto en músculo esquelético, por ejemplo, en la actividad motora de este, porque se ha descrito que la dopamina facilita la transmisión neuromuscular al activar motoneuronas somáticas (Schwarz & Peever, 2011). Sería interesante analizar si la sulpirida de manera indirecta afecta la amplitud o frecuencia de la contracción muscular, debido a que habría mayor disponibilidad de DA (al antagonizar D2R) para que esta se una a los receptores D1, lo que aumentaría la captura de glucosa independiente de insulina al inducir la translocación de GLUT4 a la membrana (Merz & Thurmond, 2020). Asimismo sería interesante determinar si existen cambios en el tipo de fibra muscular en la dosis de sulpirida efectiva, ya que se ha observado una disminución en la proporción de fibras tipo I en situaciones de resistencia a la insulina, como en síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo 2 (Albers et al., 2014). Además, con otros antipsicóticos se ha reportado que hay cambio en la expresión de genes asociados a cambios en el tipo de fibra muscular, en este caso, la olanzapina causa episodios de hiperglucemia, provoca cambios de un tipo I a tipo II, pero al tener la sulpirida un efecto positivo en la glucemia podría ocurrir un mecanismo inverso (Lynch et al., 2015).

En este modelo de inducción de obesidad hay un aumento en el índice HOMA-IR, lo cual indica resistencia a la insulina y el tratamiento con sulpirida lo disminuye (Vázquez-Carrillo et al., 2024). Por ello, debe profundizarse el efecto de la sulpirida en otros órganos metabólicos que se ven afectados, como el páncreas, en el cual se ve disminuida la supervivencia de las células β , y la dopamina se ha visto implicada en un impacto negativo en la supervivencia de estas células, a través de D2R (Sakano et al., 2016), por lo que sería de utilidad analizar si la sulpirida participa en promover la supervivencia de estas células en condiciones de obesidad. Otro aspecto en el que podría tener influencia la sulpirida es al activar algún paso de la vía de señalización de insulina o aumentar la expresión de su receptor, ya que se ha observado que al activar el receptor D3 la expresión del receptor de insulina a nivel de ARNm y proteína disminuyen (Huang et al., 2011), y a pesar de que la sulpirida posee mayor afinidad hacia el receptor D2, también puede unirse a este receptor dopaminérgico y antagonizarlo (Jaworski et al., 2001).

Por otro lado, el tejido adiposo es importante en el control de la glucemia y la sensibilidad a la insulina (Rosen & Spiegelman, 2006), se ha reportado que el receptor D2 aumenta su expresión en

tejido adiposo subcutáneo y esto se correlaciona de forma positiva con la obesidad e hiperglucemia, lo que sugiere que podría estar implicado en el desarrollo de resistencia a la insulina o es una consecuencia de ella (Vranic et al., 2023). Adicionalmente, los agonistas de D2R como bromocriptina inhiben la lipólisis en roedores, por lo que antagonizar estos receptores con sulpirida podría tener efectos benéficos en el metabolismo de este tejido, para esto, se debería estudiar si aumenta las vías catabólicas y/o disminuye las vías anabólicas. En cuanto a otro tipo de tejido adiposo, investigaciones sobre el papel de la DA a través de D2R proponen que su activación reduce la termogénesis del tejido adiposo café (Brizuela et al., 2019). Por otro lado, proponemos que la sulpirida podría estar actuando de manera indirecta al permitir que la dopamina tenga mayor disponibilidad de unirse a otros receptores como es el D1, porque se ha observado que a través de este receptor, la DA produce una reducción en el contenido lipídico in vitro, por su parte, ratones obesos tratados con un agonista de D1R muestran reducción en el tamaño de adipocitos, además de una activación de la vía lipolítica AMPc/PKA/HSL, y la vía AMPc/PKA/P38 MAPK/PGC-1 α /UCP-1 que induce el browning o pardeamiento de tejido adiposo blanco (Yu et al., 2022).

11. Referencias

- 1) Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2012). *FICHA TECNICA SULPIRIDA KERN PHARMA 50 mg CAPSULAS EFG*. https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/73195/FT_73195.html
- 2) Albers, P. H., Pedersen, A. J. T., Birk, J. B., Kristensen, D. E., Vind, B. F., Baba, O., Nøhr, J., Højlund, K., & Wojtaszewski, J. F. P. (2014). Human Muscle Fiber Type-Specific Insulin Signaling: Impact of Obesity and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 64(2), 485–497. <https://doi.org/10.2337/db14-0590>
- 3) Alsahli, M., & Gerich, J. E. (2016). Normal Glucose Homeostasis. En L. Poretsky (Ed.), *Principles of Diabetes Mellitus* (pp. 1–20). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20797-1_2-1
- 4) Amenta, F., Ricci, A., Tayebati, S. K., & Zaccheo, D. (2001). The peripheral dopaminergic system: Morphological analysis, functional and clinical applications. *Italian journal of anatomy and embryology*, 107(3), 145–167. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12437142/>
- 5) Aronoff, S. L., Berkowitz, K., Shreiner, B., & Want, L. (2004). Glucose Metabolism and Regulation: Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes Spectrum*, 17(3), 183–190. <https://doi.org/10.2337/diaspect.17.3.183>
- 6) Aslanoglou, D., Bertera, S., Sánchez-Soto, M., Benjamin Free, R., Lee, J., Zong, W., Xue, X., Shrestha, S., Brissova, M., Logan, R. W., Wollheim, C. B., Trucco, M., Yechoor, V. K., Sibley, D. R., Bottino, R., & Freyberg, Z. (2021). Dopamine regulates pancreatic glucagon and insulin secretion via adrenergic and dopaminergic receptors. *Translational Psychiatry*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01171-z>
- 7) Atkinson, B. J., Griesel, B. A., King, C. D., Josey, M. A., & Olson, A. L. (2013). Moderate GLUT4 Overexpression Improves Insulin Sensitivity and Fasting Triglyceridemia in High-Fat Diet-Fed Transgenic Mice. *Diabetes*, 62(7), 2249–2258. <https://doi.org/10.2337/db12-1146>
- 8) Bibb, J. A. (2005). Decoding Dopamine Signaling. *Cell*, 122(2), 153–155. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.07.011>
- 9) Bich, L., Mossio, M., & Soto, A. M. (2020). Glycemia Regulation: From Feedback Loops to Organizational Closure. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00069>
- 10) Blüher, M. (2019). Obesity: Global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- 11) Borchering, D. C., Hugo, E. R., Idelman, G., Silva, A. D., Richtand, N. W., Loftus, J., & Ben-Jonathan, N. (2011). Dopamine Receptors in Human Adipocytes: Expression and Functions. *PLOS ONE*, 6(9), e25537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025537>
- 12) Bouskila, M., Hunter, R. W., Ibrahim, A. F. M., Delattre, L., Pegg, M., Diepen, J. A. van, Voshol, P. J., Jensen, J., & Sakamoto, K. (2010). Allosteric Regulation of Glycogen Synthase Controls Glycogen Synthesis in Muscle. *Cell Metabolism*, 12(5), 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.10.006>
- 13) Boyd, K. N., & Mailman, R. B. (2012). Dopamine receptor signaling and current and future antipsychotic drugs. *Handbook of experimental pharmacology*, 212, 53–86. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25761-2_3
- 14) Brizuela, M., Antipov, A., Blessing, W. W., & Ootsuka, Y. (2019). Activating dopamine D2 receptors reduces brown adipose tissue thermogenesis induced by psychological stress and by activation of the lateral habenula. *Scientific Reports*, 9(1), 19512. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56125-3>
- 15) Campos-Nonato, I., Galván-Valencia, Ó., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., & Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: Resultados de la Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65, s238–s247. <https://doi.org/10.21149/14809>
- 16) Cano, A., Ventura, L., Martínez, G., Cugusi, L., Caria, M., Deriu, F., & Manca, A. (2022). Analysis of sex-based differences in energy substrate utilization during moderate-intensity aerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 122(1), 29–70. <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04802-5>
- 17) Chadt, A., & Al-Hasani, H. (2020). Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 472(9), 1273–1298. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02417-x>
- 18) de Donato, A., Buonincontri, V., Borriello, G., Martinelli, G., & Mone, P. (2022). The Dopamine System: Insights between Kidney and Brain. *Kidney and Blood Pressure Research*, 47(8), 493–505. <https://doi.org/10.1159/000522132>
- 19) Dienel, G. A. (2019). Brain Glucose Metabolism: Integration of Energetics with Function. *Physiological Reviews*, 99(1), 949–1045. <https://doi.org/10.1152/physrev.00062.2017>
- 20) Dos Santos Pereira, J. N., Tadjerpisheh, S., Abed, M. A., Saadatmand, A. R., Weksler, B., Romero, I. A., Couraud, P.-O., Brockmöller, J., & Tzvetkov, M. V. (2014). The Poorly Membrane Permeable Antipsychotic

- Drugs Amisulpride and Sulpiride Are Substrates of the Organic Cation Transporters from the SLC22 Family. *The AAPS Journal*, 16(6), 1247–1258. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9649-9>
- 21) Farino, Z. J., Morgenstern, T. J., Maffei, A., Quick, M., De Solis, A. J., Wiriyasermkul, P., Freyberg, R. J., Aslanoglou, D., Sorisio, D., Inbar, B. P., Free, R. B., Donthamsetti, P., Mosharov, E. V., Kellendonk, C., Schwartz, G. J., Sibley, D. R., Schmauss, C., Zeltser, L. M., Moore, H., ... Freyberg, Z. (2020). New roles for dopamine D2 and D3 receptors in pancreatic beta cell insulin secretion. *Molecular Psychiatry*, 25(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0344-6>
 - 22) Ferreira, S. R. G., Macotela, Y., Velloso, L. A., & Mori, M. A. (2024). Determinants of obesity in Latin America. *Nature Metabolism*, 6(3), 409–432. <https://doi.org/10.1038/s42255-024-00977-1>
 - 23) Halse, R., Bonavaud, S. M., Armstrong, J. L., McCormack, J. G., & Yeaman, S. J. (2001). Control of Glycogen Synthesis by Glucose, Glycogen, and Insulin in Cultured Human Muscle Cells. *Diabetes*, 50(4), 720–726. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.4.720>
 - 24) Harris, R. C., & Zhang, M.-Z. (2012). Dopamine, the Kidney, and Hypertension. *Current hypertension reports*, 14(2), 138–143. <https://doi.org/10.1007/s11906-012-0253-z>
 - 25) Huang, H., Han, Y., Wang, X., Chen, C., Yu, C., He, D., Wang, H., Zhou, L., Asico, L. D., Jose, P. A., & Zeng, C. (2011). Inhibitory effect of the D(3) dopamine receptor on insulin receptor expression and function in vascular smooth muscle cells. *American Journal of Hypertension*, 24(6), 654–660. <https://doi.org/10.1038/ajh.2011.41>
 - 26) Hulett, N. A., Knaub, L. A., Hull, S. E., Pott, G. B., Peelor, R., Miller, B. F., Shankar, K., Rudolph, M. C., Reusch, J. E. B., & Scalzo, R. L. (2023). Sex Differences in the Skeletal Muscle Response to a High Fat, High Sucrose Diet in Rats. *Nutrients*, 15(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/nu15204438>
 - 27) Ikeda, H., Yonemochi, N., Mikami, R., Abe, M., Kawamura, M., Natsume, R., Sakimura, K., Waddington, J. L., & Kamei, J. (2020). Central dopamine D2 receptors regulate plasma glucose levels in mice through autonomic nerves. *Scientific Reports*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79292-0>
 - 28) Jager, J., Corcelle, V., Grémeaux, T., Laurent, K., Waget, A., Pagès, G., Binétruy, B., Le Marchand-Brustel, Y., Burcelin, R., Bost, F., & Tanti, J. F. (2011). Deficiency in the extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1) protects leptin-deficient mice from insulin resistance without affecting obesity. *Diabetologia*, 54(1), 180–189. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1944-0>
 - 29) Jäger, S., Handschin, C., St.-Pierre, J., & Spiegelman, B. M. (2007). AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1 α . *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(29), 12017–12022. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705070104>
 - 30) Jaworski, J. N., Gonzales, R. A., & Randall, P. K. (2001). Effect of dopamine D2/D3 receptor antagonist sulpiride on amphetamine-induced changes in striatal extracellular dopamine. *European Journal of Pharmacology*, 418(3), 201–206. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)00936-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)00936-0)
 - 31) Jensen, J., Jebens, E., Brennesvik, E. O., Ruzzin, J., Soos, M. A., Engebretsen, E. M. L., O’Rahilly, S., & Whitehead, J. P. (2006). Muscle glycogen inharmoniously regulates glycogen synthase activity, glucose uptake, and proximal insulin signaling. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 290(1), E154–E162. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00330.2005>
 - 32) Jensen, J., & Lai, Y.-C. (2009). Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 115(1), 13–21. <https://doi.org/10.1080/13813450902778171>
 - 33) Kang, J., Park, M., Oh, C.-M., & Kim, T. (2023). High-fat diet-induced dopaminergic dysregulation induces REM sleep fragmentation and ADHD-like behaviors. *Psychiatry Research*, 327, 115412. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2023.115412>
 - 34) Kaur, G., & Kulkarni, S. K. (2002). Studies on modulation of feeding behavior by atypical antipsychotics in female mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26(2), 277–285. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(01\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(01)00266-4)
 - 35) Klip, A., McGraw, T. E., & James, D. E. (2019). Thirty sweet years of GLUT4. *Journal of Biological Chemistry*, 294(30), 11369–11381. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.008351>
 - 36) Knuiman, P., Hopman, M. T. E., & Mensink, M. (2015). Glycogen availability and skeletal muscle adaptations with endurance and resistance exercise. *Nutrition & Metabolism*, 12(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0055-9>
 - 37) Kolnes, A. J., Birk, J. B., Eilertsen, E., Stuenæs, J. T., Wojtaszewski, J. F. P., & Jensen, J. (2015). Epinephrine-stimulated glycogen breakdown activates glycogen synthase and increases insulin-stimulated glucose uptake in epitrochlearis muscles. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 308(3), E231–E240. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00282.2014>

- 38) Korchounov, A. M. (2008). Role of D1 and D2 receptors in the regulation of voluntary movements. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 146(1), 14–17. <https://doi.org/10.1007/s10517-008-0197-0>
- 39) Lai, Y.-C., Stuenkel, J. T., Kuo, C.-H., & Jensen, Jørgen. (2007, septiembre 11). Glycogen content and contraction regulate glycogen synthase phosphorylation and affinity for UDP-glucose in rat skeletal muscles | American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00113.2007>
- 40) Lange, B., Mueller, J. K., Leweke, F. M., & Bumb, J. M. (2017). How gender affects the pharmacotherapeutic approach to treating psychosis – a systematic review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18(4), 351–362. <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1288722>
- 41) Lobstein, T., Powis, J., & Jackson-Leach, R. (2024). *World Obesity Atlas 2024* (World Obesity Atlas 2024). World Obesity Federation. <https://data.worldobesity.org/publications/WOF-Obesity-Atlas-v7.pdf>
- 42) Lundsgaard, A.-M., & Kiens, B. (2014). Gender differences in skeletal muscle substrate metabolism—Molecular mechanisms and insulin sensitivity. *Frontiers in Endocrinology*, 5, 195. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00195>
- 43) Lynch, C. J., Xu, Y., Hajnal, A., Salzberg, A. C., & Kawasawa, Y. I. (2015). RNA sequencing reveals a slow to fast muscle fiber type transition after olanzapine infusion in rats. *PloS One*, 10(4), e0123966. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123966>
- 44) Macotela, Y., Ruiz-Herrera, X., Vázquez-Carrillo, D. I., Ramírez-Hernandez, G., Martínez de la Escalera, G., & Clapp, C. (2022). The beneficial metabolic actions of prolactin. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.1001703>
- 45) Mansi, C., Savarino, V., Vigneri, S., Perilli, D., Melga, P., Sciabà, L., De Martini, D., & Mela, G. S. (1995). Gastrokinetic effects of levosulpiride in dyspeptic patients with diabetic gastroparesis. *The American Journal of Gastroenterology*, 90(11), 1989–1993.
- 46) Margari, L., Matera, E., Petruzzelli, M. G., Simone, M., Lamanna, A. L., Pastore, A., Palmieri, V. O., & Margari, F. (2015). Prolactin variations during risperidone therapy in a sample of drug-naïve children and adolescents. *International Clinical Psychopharmacology*, 30(2), 103. <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000063>
- 47) Mauri, M. C., Bravin, S., Bitetto, A., Rudelli, R., & Invernizzi, G. (1996). A Risk-Benefit Assessment of Sulpiride in the Treatment of Schizophrenia: *Drug Safety*, 14(5), 288–298. <https://doi.org/10.2165/00002018-199614050-00003>
- 48) Mauvais-Jarvis, F. (2018). Gender differences in glucose homeostasis and diabetes. *Physiology & behavior*, 187, 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.08.016>
- 49) McKeage, K., & Plosker, G. L. (2004). Amisulpride: A review of its use in the management of schizophrenia. *CNS Drugs*, 18(13), 933–956. <https://doi.org/10.2165/00023210-200418130-00007>
- 50) Merz, K. E., & Thurmond, D. C. (2020). Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. *Comprehensive Physiology*, 10(3), 785–809. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190029>
- 51) Mirzadeh, Z., Faber, C. L., & Schwartz, M. W. (2022). Central Nervous System Control of Glucose Homeostasis: A Therapeutic Target for Type 2 Diabetes? *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 62(1), 55–84. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-052220-010446>
- 52) News, N. (2021, febrero 16). Dopamine Is Key to the Mystery of Metabolic Dysfunction in Psychiatric Patients. *Neuroscience News*. <https://neurosciencenews.com/dopamine-metabolism-mental-health-17782/>
- 53) Oraha, J., Enriquez, R. F., Herzog, H., & Lee, N. J. (2022). Sex-specific changes in metabolism during the transition from chow to high-fat diet feeding are abolished in response to dieting in C57BL/6J mice. *International Journal of Obesity*, 46(10), 1749–1758. <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01174-4>
- 54) Osinga, T., Links, T., Dullaart, R., Pacak, K., Horst-Schrivers, A., Kerstens, M., & Kema, I. (2017). Emerging role of dopamine in neovascularization of pheochromocytoma and paraganglioma. *The FASEB Journal*, 31(6), 2226–2240. <https://doi.org/10.1096/fj.201601131R>
- 55) Ozaki, K.-I., Awazu, M., Tamiya, M., Iwasaki, Y., Harada, A., Kugisaki, S., Tanimura, S., & Kohno, M. (2016). Targeting the ERK signaling pathway as a potential treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 310(8), E643–E651. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00445.2015>
- 56) Ozery, M., & Wadhwa, R. (2024). Bromocriptine. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555948/>
- 57) Perrine, S. A., Miller, J. S., & Unterwald, E. M. (2008). Cocaine regulates protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 activity in selective regions of rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 107(2), 570–577. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05632.x>

- 58) Pillinger, T., McCutcheon, R. A., Vano, L., Mizuno, Y., Arumham, A., Hindley, G., Beck, K., Natesan, S., Efthimiou, O., Cipriani, A., & Howes, O. D. (2020). Comparative effects of 18 antipsychotics on metabolic function in patients with schizophrenia, predictors of metabolic dysregulation, and association with psychopathology: A systematic review and network meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*, 7(1), 64–77. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(19\)30416-X](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30416-X)
- 59) *Prescription Medications to Treat Overweight & Obesity—NIDDK*. (2023). National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. <https://www.niddk.nih.gov/health-information/weight-management/prescription-medications-treat-overweight-obesity>
- 60) PROFECO. (2022). *Di no a la obesidad, pero sí al ejercicio*. <http://www.gob.mx/profeco/documentos/di-no-a-la-obesidad-pero-si-al-ejercicio?state=published>
- 61) Pu, C., Huang, B., Zhou, T., Cheng, Z., Wang, Y., Shi, C., & Yu, X. (2020). Gender Differences in the First-Year Antipsychotic Treatment for Chinese First-Episode Schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 16, 3145–3152. <https://doi.org/10.2147/NDT.S280719>
- 62) Reichart, D. L., Hinkle, R. T., Lefever, F. R., Dolan, E. T., Dietrich, J. A., Sibley, D. R., & Isfort, R. J. (2011). Activation of the dopamine 1 and dopamine 5 receptors increase skeletal muscle mass and force production under non-atrophying and atrophying conditions. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 12(1), 27. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-12-27>
- 63) Roix, J. J., DeCrescenzo, G. A., Cheung, P. H., Ciallella, J. R., Sulpice, T., Saha, S., & Halse, R. (2012). Effect of the antipsychotic agent amisulpride on glucose lowering and insulin secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 14(4), 329–334. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01529.x>
- 64) Rosen, E. D., & Spiegelman, B. M. (2006). Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 444(7121), 847–853. <https://doi.org/10.1038/nature05483>
- 65) Rubí, B., & Maechler, P. (2010). Minireview: New Roles for Peripheral Dopamine on Metabolic Control and Tumor Growth: Let's Seek the Balance. *Endocrinology*, 151(12), 5570–5581. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0745>
- 66) Sakano, D., Choi, S., Kataoka, M., Shiraki, N., Uesugi, M., Kume, K., & Kume, S. (2016). Dopamine D2 Receptor-Mediated Regulation of Pancreatic β Cell Mass. *Stem Cell Reports*, 7(1), 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.05.015>
- 67) Saller, C. F., & Kreamer, L. D. (1991). Glucose concentrations in brain and blood: Regulation by dopamine receptor subtypes. *Brain Research*, 546(2), 235–240. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91487-L](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91487-L)
- 68) Schneider, Caroline, Rasband, Wayne, & Eliceiri, Kevin. (2012, junio). *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis | Nature Methods*. <https://www.nature.com/articles/nmeth.2089>
- 69) Schwarz, P. B., & Peever, J. H. (2011). Dopamine triggers skeletal muscle tone by activating D1-like receptors on somatic motoneurons. *Journal of Neurophysiology*, 106(3), 1299–1309. <https://doi.org/10.1152/jn.00230.2011>
- 70) Shamah-Levy, T., Gaona-Pineda, E. B., Cuevas-Nasu, L., Morales-Ruan, C., Valenzuela-Bravo, D. G., Méndez-Gómez Humaran, I., & Ávila-Arcos, M. A. (2023). Prevalencias de sobrepeso y obesidad en población escolar y adolescente de México. *Ensanut Continua 2020-2022. Salud Pública de México*, 65, s218–s224. <https://doi.org/10.21149/14762>
- 71) Shaul, Y. D., & Seger, R. (2007). The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1773(8), 1213–1226. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.10.005>
- 72) South, T., & Huang, X.-F. (2008). High-Fat Diet Exposure Increases Dopamine D2 Receptor and Decreases Dopamine Transporter Receptor Binding Density in the Nucleus Accumbens and Caudate Putamen of Mice. *Neurochemical Research*, 33(3), 598–605. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9483-x>
- 73) Talchai, C., Xuan, S., Lin, H. V., Sussel, L., & Accili, D. (2012). Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure. *Cell*, 150(6), 1223–1234. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.029>
- 74) Tavares, G., Martins, Fatima. O., Melo, Bernardete. F., Matafome, P., & Conde, Silvia. V. (2021). Peripheral Dopamine Directly Acts on Insulin-Sensitive Tissues to Regulate Insulin Signaling and Metabolic Function. *Frontiers in Pharmacology*, 12: 713418 <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.713418>
- 75) Tramunt, B., Smati, S., Grandgeorge, N., Lenfant, F., Arnal, J.-F., Montagner, A., & Gourdy, P. (2020). Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*, 63(3), 453–461. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05040-3>
- 76) Uefune, F., Aonishi, T., Kitaguchi, T., Takahashi, H., Seino, S., Sakano, D., & Kume, S. (2022). Dopamine Negatively Regulates Insulin Secretion Through Activation of D1-D2 Receptor Heteromer. *Diabetes*, 71(9), 1946–1961. <https://doi.org/10.2337/db21-0644>

- 77) Vázquez-Carrillo, D. I., Ocampo-Ruiz, A. L., Báez-Meza, A., Hernández, G. R., Adán-Castro, E., García-Rodrigo, J. F., Dena-Beltrán, J. L., Ríos, E. A. de los, Sánchez-Martínez, M. K., Ortiz, M. G., Escalera, G. M. de la, Clapp, C., & Macotela, Y. (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>
- 78) Vranic, M., Ahmed, F., Kristófi, R., Hetty, S., Mokhtari, D., Svensson, M. K., Eriksson, J. W., & Pereira, M. J. (2023). Subcutaneous adipose tissue dopamine D2 receptor is increased in prediabetes and T2D. *Endocrine*, 83(2), 378–391. <https://doi.org/10.1007/s12020-023-03525-1>
- 79) Wagstaff, A. J., Fitton, A., & Benfield, P. (1994). Sulpiride. *CNS Drugs*, 2(4), 313–333. <https://doi.org/10.2165/00023210-199402040-00007>
- 80) Wallace, C. W., & Fordahl, S. C. (2022). 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*, 35(2), 236–251. <https://doi.org/10.1017/S0954422421000196>
- 81) Wang, G.-J., Volkow, N. D., Logan, J., Pappas, N. R., Wong, C. T., Zhu, W., Netusll, N., & Fowler, J. S. (2001). Brain dopamine and obesity. *The Lancet*, 357(9253), 354–357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03643-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03643-6)
- 82) Whiteman, E. L., Cho, H., & Birnbaum, M. J. (2002). Role of Akt/protein kinase B in metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 13(10), 444–451. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(02\)00662-8](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(02)00662-8)
- 83) WHO. (2024). *Obesity and overweight*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- 84) Wilkes, J., Bonen, A., & Bell, R. (1998). *A modified high-fat diet induces insulin resistance in rat skeletal muscle but not adipocytes*. 275(4), E679–E686. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1998.275.4.E679>
- 85) World Obesity Federation. (2023). *World Obesity Atlas 2023*. World Obesity Federation. <https://www.worldobesity.org/resources/resource-library/world-obesity-atlas-2023>
- 86) Yu, J., Zhu, J., Deng, J., Shen, J., Du, F., Wu, X., Chen, Y., Li, M., Wen, Q., Xiao, Z., & Zhao, Y. (2022). Dopamine receptor D1 signaling stimulates lipolysis and browning of white adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 588, 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.12.040>

12. Lista de figuras y tablas

<i>Figura 1. Regulación dopaminérgica de la secreción hormonal pancreática.</i>	<i>15</i>
<i>Figura 2. La sulpirida no induce cambios en la ganancia de peso corporal en hembras bajo una DE y DO, en machos en DE y DO aumenta la ganancia de peso con la dosis de 5 mg/kg.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 3. Sulpirida aumenta la ingesta calórica durante las 8 semanas experimentales en ratones bajo DO administrados con la dosis de 5 mg/kg.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 4. La sulpirida disminuye la glucemia en machos y hembras bajo una DE durante el postprandio, y durante el ayuno y postprandio en ratones bajo una DO.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 5. Glucemia en ratones después de 4 semanas de alimentación con dieta estándar u obesogénica y antes del tratamiento con sulpirida.</i>	<i>42</i>
<i>Figura 6. Efecto de la sulpirida en los niveles de glucosa de hembras separadas de acuerdo con el porcentaje de ganancia de peso final.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 7. La sulpirida normaliza los niveles de fosforilación de la enzima glucógeno sintasa muscular en machos y hembras.</i>	<i>44</i>
<i>Figura 8. La sulpirida normaliza los niveles de fosforilación de ERK 1/2 en el músculo esquelético de hembras con obesidad.</i>	<i>45</i>
<i>Figura 9. La sulpirida disminuye los niveles de fosforilación de Akt en el músculo esquelético de machos bajo una DO, pero no en hembras.</i>	<i>47</i>
<i>Figura 10. La sulpirida aumenta los niveles del transportador GLUT4 en el músculo esquelético de machos bajo una DE y una DO, pero no en hembras.</i>	<i>48</i>
<i>Figura 11. Efectividad del tratamiento con sulpirida durante 30 días (arriba) y mecanismo propuesto para el efecto antihiper glucemiante de la sulpirida (abajo).</i>	<i>61</i>

13. Apéndice

A. Niveles de glucosa de ratones en DO con la dosis de sulpirida que fue efectiva en comparación de los ratones en DE.

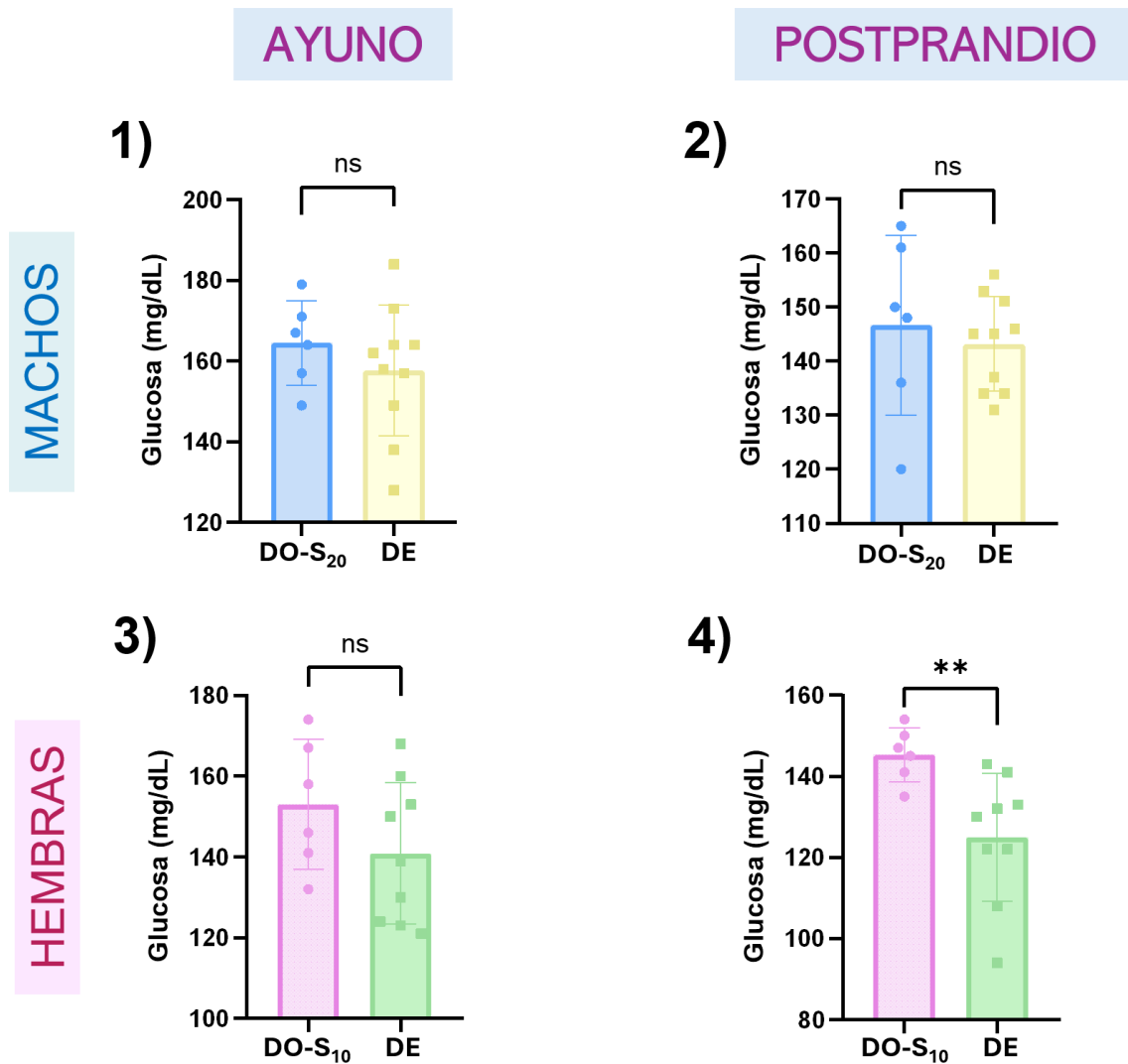


Figura A. La sulpirida disminuye los niveles de glucosa en ratones con obesidad a niveles comparables a los observados en DE, con excepción de las hembras en postprandio. 1) Glucosa en ayuno de machos en DO con la dosis de sulpirida de 20 mg/kg y machos en DE. 2) Glucosa en postprandio de machos en DO con la dosis de sulpirida de 20 mg/kg y machos en DE. 3) Glucosa en ayuno de hembras en DO con la dosis de sulpirida de 10 mg/kg y hembras en DE. 4) Glucosa en postprandio de hembras en DO con la dosis de sulpirida de 10 mg/kg y hembras en DE.

B. Valores promedio de glucosa en condiciones de ayuno y postprandio de hembras en DO al final del periodo experimental, separadas por el porcentaje de ganancia de peso final.

Grupo	Ayuno (mg/dL)		Diferencia/ Valor p	Postprandio (mg/dL)		Diferencia/ Valor p
Control	<50%	159	14.17	<50%	151.5	12.83
	>50%	173.2	p=0.0505	>50%	164.3	p=0.1684
5 mg/kg	<50%	154.3	3.67	<50%	143	10.3
	>50%	150.7	p=0.862	>50%	153.3	p=0.5737
10 mg/kg	<50%	160.7	15.3	<50%	145.3	0
	>50%	145.3	p=0.293	>50%	145.3	p>0.999
20 mg/kg	<50%	142.3	23	<50%	137.7	11
	>50%	165.3	p=0.404	>50%	148.7	p=0.385
30 mg/kg	<50%	158.7	3	<50%	146	18.33
	>50%	161.7	p= 0.776	>50%	164.3	p=0.302

C. Comparación en el peso y niveles de glucosa entre hembras en DO sin tratamiento, separadas por el porcentaje de ganancia de peso final al final del periodo experimental.

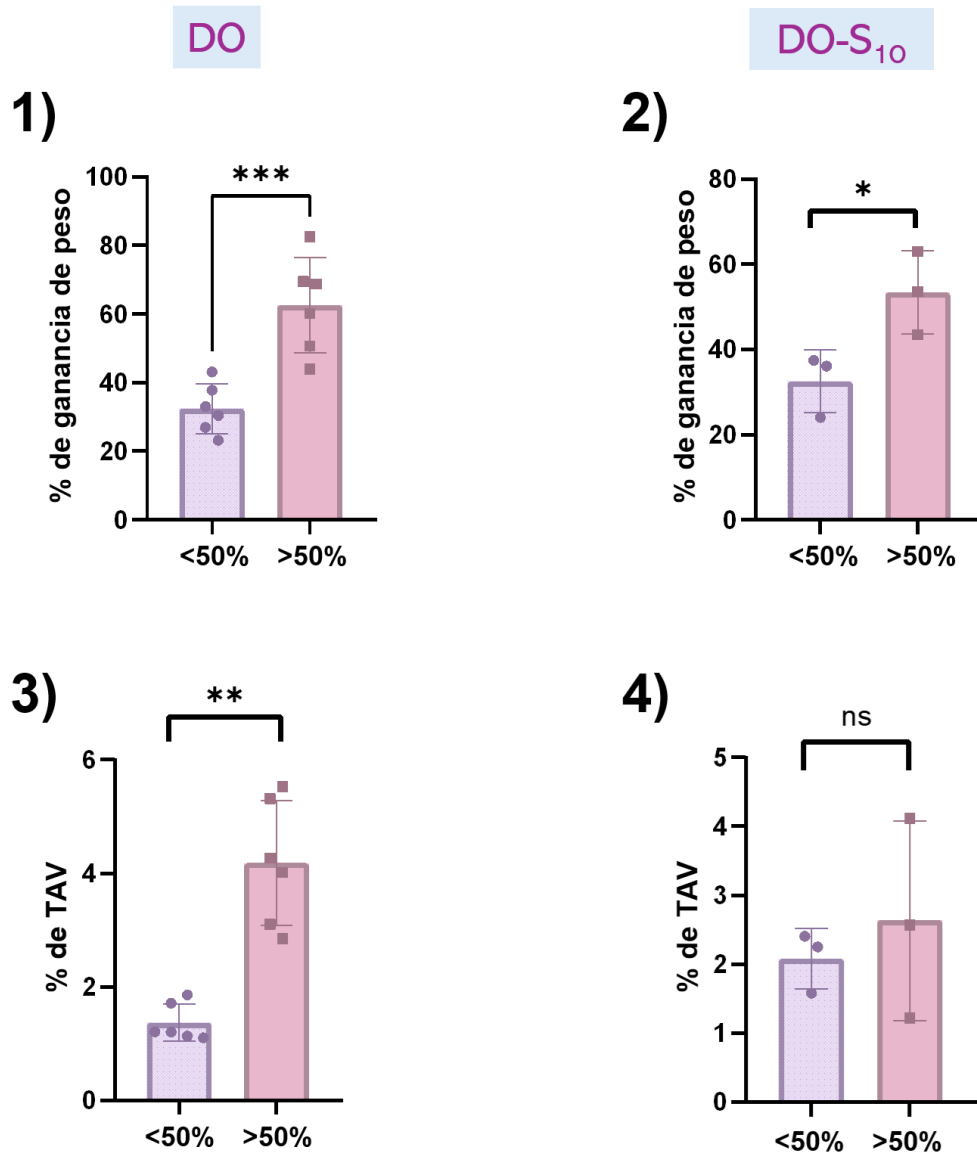


Figura C. La sulpirida solo funciona en aquellas hembras con un mayor aumento de peso, estas hembras también muestran un mayor porcentaje de tejido adiposo visceral. 1) Porcentaje de ganancia de peso en hembras bajo DO sin tratamiento con sulpirida. 2) Porcentaje de ganancia de peso en hembras bajo DO en tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg. 3) Porcentaje de peso corporal que corresponde al tejido adiposo visceral en hembras bajo DO sin tratamiento con sulpirida. 4) Porcentaje de peso corporal que corresponde al tejido adiposo visceral en hembras bajo DO en tratamiento con sulpirida a la dosis de 10 mg/kg.

D. Comparación en los niveles de glucosa de ratones alimentados con dieta estándar y sin tratamiento bajo condiciones de ayuno y postprandio.

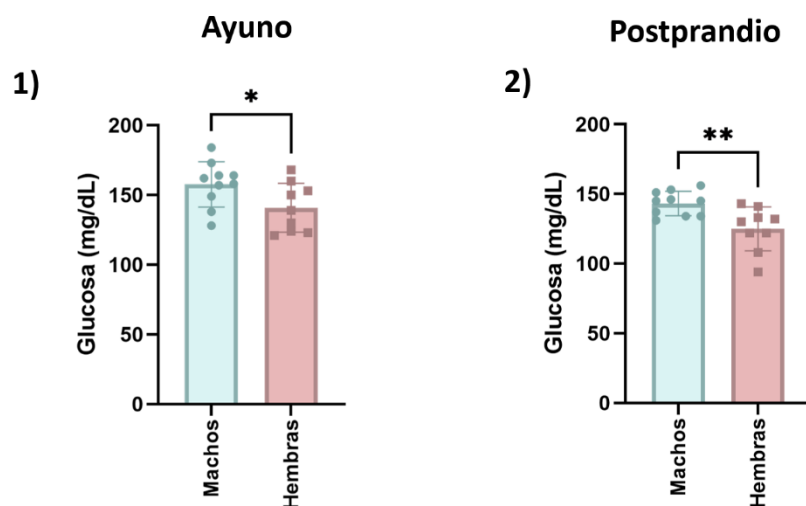


Figura D. Las hembras en DE presentan una menor glucemia a comparación de machos en DE bajo condiciones de ayuno y postprandio. 1) Niveles de glucosa en ayuno de ratones en DE. 2) Niveles de glucosa de ratones en DE en postprandio.

E. Comparación en el peso y niveles de glucosa entre machos y hembras alimentados con dieta obesogénica y sin tratamiento al final de las 8 semanas experimentales.

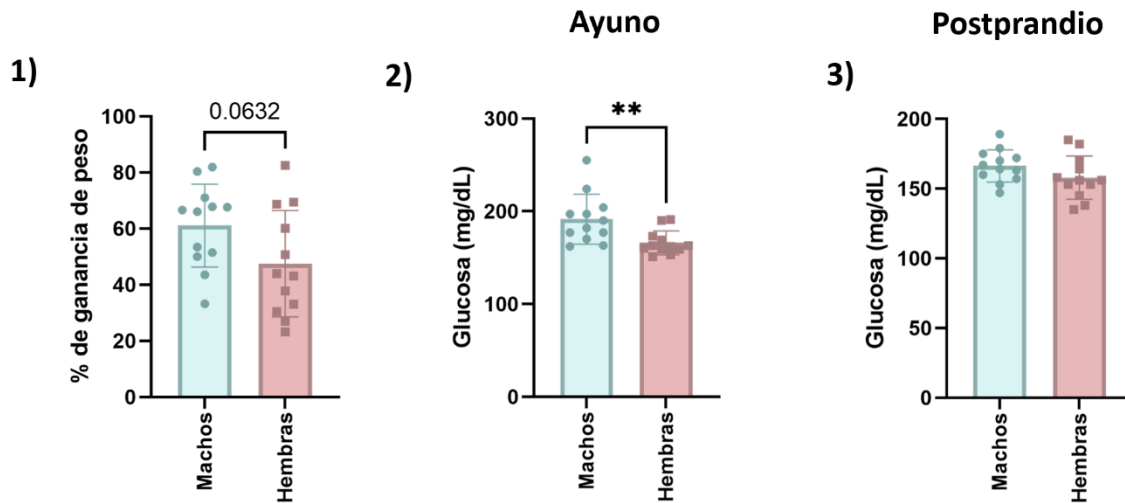


Figura E. Las hembras en DO muestran menor glucemia en ayuno, pero no en postprandio, a comparación de los machos en DO. 1) Porcentaje de ganancia de peso en ratones bajo una DO. 2) Niveles de glucosa en ayuno de ratones en DO. 3) Niveles de glucosa en postprandio de ratones en DO.

F. Porcentaje de ganancia de peso en hembras y machos alimentados con DE o DO al final de las 8 semanas experimentales.

Machos DE	% de aumento de peso	Hembras DE	% de aumento de peso
Control	9.6	Control	10.8
5 mg/kg	14.3*	5 mg/kg	14.3
10 mg/kg	8.9	10 mg/kg	13.1
20 mg/kg	12.9	20 mg/kg	10.2
30 mg/kg	11.3	30 mg/kg	14.4
Machos DO	% de aumento de peso	Hembras DO	% de aumento de peso
Control	61.1	Control	47.5
5 mg/kg	76.4*	5 mg/kg	48.2
10 mg/kg	71.2	10 mg/kg	42.9
20 mg/kg	55.8	20 mg/kg	38.2
30 mg/kg	66.0	30 mg/kg	43.9

*p<0.05