



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Perfil neurofarmacológico del brócoli en modelos
experimentales en roedores**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

OMAR GUADARRAMA ENRÍQUEZ



MÉXICO, D.F.

AÑO 2016



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dra. María Isabel Aguilar Laurents

VOCAL: Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

SECRETARIO: Dra. María Eva González Trujano

1er. SUPLENTE: M. en C. Alejandro Ortiz Osornio

2° SUPLENTE: Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales de la Dirección de Investigación en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”

Investigación realizada gracias a los apoyos de los proyectos:

CONACYT 226454

CNIC-R-2015-785-098

CYTED RED CORNUCOPIA

Asesora del tema:

Dra. María Eva González Trujano

Sustentante:

Omar Guadarrama Enríquez

*"Al fin y al cabo, somos lo que hacemos para cambiar lo que
somos."*

— Eduardo Galeano

Agradecimientos

Al pueblo de México que con sus contribuciones pagó mi estancia en la Universidad Nacional, en el Instituto Nacional de Psiquiatría y también la beca de titulación obtenida a través de la Secretaría de Educación Pública. Gracias por tanto, perdón por tan poco.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir mi formación académica y personal en las aulas de la Escuela Nacional Preparatoria y de la Facultad de Química, también agradezco a los profesores con vocación que motivaron mi interés por las asignaturas que me impartieron.

Con admiración doy gracias a la Dra. Eva González Trujano por permitirme trabajar con ella y su equipo en el Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales, en la dirección de Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

A los doctores Lupita Ángeles y Fernando Brindis por su ayuda, consejos, acotaciones y anécdotas farmacognósicas, sin dejar de lado las de la vida.

A la Dra. Ana Laura Martínez Martínez por su apoyo y orientación en parte de mi estancia en el laboratorio, además por su buen trato en todo momento.

A la maestra Gimena Pérez Ortega por su amistad y por compartir su conocimiento etnobiológico conmigo.

A mis compañeros del Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales: Maricela, Florencia, Adriana, Nieves, Claret, Frida, Azucena, Estrella, Daniel, Pedro, Beto, Lalo por su ayuda y orientación en el trabajo de laboratorio, así como por los buenos momentos que pasé ahí.

Dedicatorias

Al que abre los corazones a la fe y el conocimiento (١٩),
a mi mamá por ser parte fundamental de mis logros,
a mis abuelitos por todo el apoyo que me han brindado,
a mis tíos y primos que siempre han estado conmigo,
a los hermanos que la vida me permitió elegir: mis amigos de FA, P9
(Cuarteros, Sexteros y anexas), FQ [Grupo 14, Plan Leve y demás] y a los que
conocí en otras circunstancias de la vida.

¡Gracias por todo!

Los quiero

ÍNDICE

	Página
ABREVIATURAS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
I. MARCO TEÓRICO	1
1. SALUD MENTAL	1
2. ANSIEDAD	1
2.1 Incidencia de ansiedad en México y el mundo	1
2.2 Definición de ansiedad	2
2.3 Clasificación de ansiedad	3
2.4 Neuroquímica de la ansiedad	3
2.5 Fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad y efectos adversos	5
2.5.1 Efectos adversos de los ansiolíticos	6
3. DEPRESIÓN	7
3.1 Incidencia de depresión en México y el mundo	7
3.2 Definición de depresión	7
3.3 Clasificación de la depresión	8
3.4 Neuroquímica de la depresión	9
3.5 Fármacos utilizados en el tratamiento de la depresión	10
3.5.1 Efectos adversos de los antidepresivos	11
3.5.2 Depresión y dolor	11
4. DOLOR	12
4.1 Clasificación del dolor	12
4.2 Dolor inflamatorio	14
4.2.1 Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)	17
4.2.2 Mecanismo de acción de los AINEs	17
4.2.3 Efectos adversos de los AINEs	18
5. NUTRICIÓN Y SALUD	18
5.1 <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> Plenck	18
5.2 Fitoquímica	19
5.3 Glucosinolatos como posibles metabolitos	20
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22

7.	HIPÓTESIS	23
8.	OBJETIVOS GENERALES	23
8.1	Objetivos particulares	23
9.	MATERIAL Y MÉTODOS	24
9.1	Equipo	24
9.2	Reactivos y fármacos	24
9.3	Animales	25
9.4	Preparación de extractos	25
9.5	Evaluación farmacológica	25
9.5.1	Modelo de campo abierto	26
9.5.2	Modelo de exploración en cilindro	26
9.5.3	Modelo del tablero con orificios	27
9.5.4	Modelo de cruz elevada	28
9.5.5	Potenciación del sueño inducido con pentobarbital sódico (PBS)	28
9.5.6	Inducción de convulsiones tónico-clónicas con pentilentetrazol (PTZ)	29
9.5.7	Modelo de depresión	29
9.5.8	Nocicepción inducida con formalina al 1%	31
9.5.9	Daño gástrico	31
10.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
11.	RESULTADOS	32
11.1	Efecto tipo ansiolítico-sedante	32
11.2	Efecto sobre la potenciación de la hipnosis	35
11.3	Efecto en las convulsiones tónico-clónicas con PTZ	36
11.4	Efecto tipo antidepresivo	37
11.5	Efecto antinociceptivo	38
11.5.1	Protección del daño gástrico	39
12.	DISCUSIÓN	40
13.	CONCLUSIONES	46
14.	PERSPECTIVAS	46
15.	REFERENCIAS	47
	ANEXO A	54

ABREVIATURAS

5-HT	5-hidroxitriptamina
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ANDEVA	Análisis de varianza
CIE-10	Clasificación Internacional de Enfermedades 10 ^a edición
cm	Centímetro
CO₂	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenasa
DSM-5	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales 5a edición (por sus siglas en inglés, Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders, 5 th edition)
ENEP	Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica
EtOH	Etanólico
g	Gramo
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
h	Hora
IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (por sus siglas en inglés, International Association for the Study of Pain)
i.p.	Intraperitoneal
IL	Interleucina
IMAO	Inhibidor de la monoaminoxidasa
K⁺	Ión potasio

kg	Kilogramo
L	Litro
mg	Miligramo
min	Minutos
MIP	Proteína inflamatoria del macrófago (por sus siglas en inglés, Macrophage Inflammatory Protein)
mL	Mililitro
μL	Microlitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
p.o.	Vía esofágica (del latín “ <i>per os</i> ”)
PBS	Pentobarbital sódico
PGE₂	Prostaglandina E ₂
pH	$-\log[H^+]$
PTZ	Pentilentetrazol
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
SSI	Solución salina isotónica
SW	Swiss Webster
T.A.	Temperatura ambiente
TXA₂	Tromboxano A ₂
var.	Variedad

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Síntomas que afectan el plano físico, psicológico y conductual en la ansiedad.	2
Tabla 2. Síntomas de la depresión: componentes biológicos y emocionales.	8
Tabla 3. Disfunciones que sugieren dolor neuropático.	14
Tabla 4. Ejemplos de los grupos químicos de glucosinolatos.	21
Tabla 5. Glucosinolatos del género <i>Brassica</i> clasificados por grupos químicos.	21

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Clasificación fisiopatológica del dolor.	12
Figura 2. Células y mediadores que participan en la acción inflamatoria aguda.	16
Figura 3. Mecanismo de acción de AINEs ordinarios y específicos de la COX-2.	17
Figura 4. <i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> .	19
Figura 5. Estructura común de los glucosinolatos.	20
Figura 6. Hidrólisis de glucosinolatos.	22
Figura 7. Transiciones del ratón en el campo abierto.	26
Figura 8. Comportamiento en la exploración en cilindro de vidrio.	27
Figura 9. Modelo del tablero con orificios.	27
Figura 10. Modelo de cruz elevada.	28
Figura 11. Potenciación de la hipnosis con PBS.	29
Figura 12. Crisis generalizada y tónica inducidas con PTZ.	29
Figura 13. Modelo de nado forzado.	30
Figura 14. Evaluación de la actividad ambuladora en campo abierto.	32
Figura 15. Evaluación de la actividad exploradora en cilindro.	33
Figura 16. Evaluación de la actividad exploradora en el tablero con orificios.	34
Figura 17. Evaluación de la actividad exploradora en la cruz elevada.	34
Figura 18. Evaluación de la potenciación de la hipnosis inducida con PBS (42 mg/kg, i.p.) (Latencia de sedación e hipnosis).	35
Figura 19. Evaluación de la potenciación de la hipnosis inducida con PBS (42 mg/kg, i.p.) (Duración de hipnosis).	35

Figura 20. Evaluación de la actividad anticonvulsiva en las crisis inducidas con PTZ (90 mg/kg, i.p.) (Latencia a la mioclonia y crisis generalizada).	36
Figura 21. Evaluación de la actividad anticonvulsiva en las crisis inducidas con PTZ (90 mg/kg, i.p.) (Latencia a crisis tónica).	36
Figura 22. Evaluación de la actividad tipo antidepresiva en la inmovilidad (A) y nado (B) inducidos en la prueba de nado forzado.	37
Figura 23. Evaluación de la actividad antinociceptiva en la prueba de formalina al 1 % en ratas.	38
Figura 24. Estómagos disecados para evaluar el daño gástrico después de la prueba de la nocicepción inducida con formalina al 1 %.	39

PERFIL NEUROFARMACOLÓGICO DEL BRÓCOLI EN MODELOS EXPERIMENTALES EN ROEDORES

RESUMEN

Las especies de la familia Brassicaceae son de importancia económica ya que incluyen plantas utilizadas como vegetales, fuentes de aceites y condimentos. El género *Brassica* perteneciente a la familia antes mencionada, es de interés agrícola ya que algunas de sus especies son consumidas en altas cantidades en el mundo y son importantes para la nutrición humana. Desde la década de los 90's del siglo XX, los alimentos cuyo consumo en cantidades específicas y mayores a las obtenidas y requeridas en la nutrición y que producen efectos benéficos a la salud son llamados nutraceuticos. Se ha publicado que especies del género *Brassica* poseen glucosinolatos e isotiocianatos, compuestos reportados por sus efectos como anticancerígenos, tranquilizantes, antidepresivos, analgésicos y gastroprotectores.

Brassica oleracea L. var. *italica* Plenck, o brócoli, es uno de los vegetales de mayor consumo en el mundo. México es considerado uno de los países con mayor producción, siendo el estado de Guanajuato el mayor exportador de este vegetal. De lo anterior, es motivo de interés para este proyecto realizar la evaluación de la actividad biológica de *B. oleracea* utilizando modelos experimentales para dar evidencia de sus posibles efectos y beneficios a nivel de afecciones del sistema nervioso central (SNC), tales como: tipo ansiolítica, sedante, anticonvulsiva y antidepresiva, así como antinociceptiva en roedores. Para ello, se estudiaron extractos orgánicos y acuosos obtenidos por maceración o liofilizados de brócoli en diferentes estadios: semilla, brote y vegetal maduro. Los modelos utilizados para evaluar la actividad tipo ansiolítica-sedante del brócoli fueron: campo abierto, tablero con orificios, cilindro de vidrio y cruz elevada; así como el sinergismo con otro depresor a manera de analizar la interacción medicamento-planta denominado potenciación de la hipnosis inducida con pentobarbital sódico. Respecto a la actividad anticonvulsiva se evaluó con un

modelo químico de inducción de crisis convulsivas con un antagonista alostérico de GABA. Para evaluar la actividad tipo antidepresiva se utilizó la prueba de nado forzado. Finalmente, la prueba de formalina como un modelo de nocicepción e inflamación se aplicó para evaluar la actividad antinociceptiva y considerando que los efectos adversos de algunos analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos implica la presencia de daño gástrico también se examinó siendo que se le atribuye propiedad gastroprotectora a especies de este género. Los resultados obtenidos confirman el potencial del brócoli por sus propiedades como ansiolítico-no sedante, antidepresivo, antinociceptivo y gastroprotector.

I. MARCO TEÓRICO

1. SALUD MENTAL

La salud mental es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un estado de bienestar en el cual el individuo es consciente de sus propias capacidades, puede afrontar las tensiones normales de la vida, puede trabajar de forma productiva y es capaz de contribuir a su comunidad. Es precisamente la OMS, quien informó en el año 2004, que el 13 % de la carga de morbilidad mundial se debe a trastornos mentales, esto equivale a unos 350 millones de personas en el mundo. En México, la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP) publicada en 2003 reveló que los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo son los más prevalentes entre la población con el 6.5 % y 4.8 %, respectivamente (Medina-Mora *et al.*, 2005).

2. ANSIEDAD

2.1 Incidencia de ansiedad en México y el mundo

Estudios establecen que los desórdenes de ansiedad son habituales entre la población; junto con los desórdenes afectivos y el abuso de sustancias son los trastornos mentales más comunes. El trastorno de ansiedad es de mayor incidencia en mujeres (2:1) que en hombres y la tasa de prevalencia de esta enfermedad en la población está en el intervalo de 13.6 % a 28.6 %. La ENEP expuso en el 2003 que los trastornos de ansiedad fueron el grupo con mayor número de casos en México, siendo la fobia específica el trastorno de ansiedad más prevalente con el 4 % (Medina-Mora *et al.*, 2005) principalmente en adolescentes (Benjet *et al.*, 2009). Mientras que con la edad la prevalencia de la ansiedad generalizada predomina (Medina-Mora *et al.*, 2003). Se sabe además que en el 80% y 90 % de los casos, los trastornos de ansiedad se desarrollan antes de los 35 años (Michael *et al.*, 2007).

2.2 Definición de ansiedad

La ansiedad es una emoción fundamental que se conservó durante la evolución del hombre. En la interacción con parámetros cognitivos, la ansiedad regula el comportamiento en seres humanos y otros animales, por lo que esta reacción adaptativa prepara al individuo para escapar cuando es confrontado con situaciones de peligro. Por tanto, la ansiedad también puede definirse como la anticipación a un daño o desgracia futuros, acompañada de un sentimiento desagradable y/o síntomas somáticos de tensión. Es una señal de alerta que advierte sobre un peligro inminente y permite a la persona adoptar las medidas necesarias para enfrentarse a una amenaza (Grupo de Trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria, 2008; OMS, 2015). Sin embargo, las variantes patológicas de la ansiedad pueden afectar la vida cotidiana de las personas, es decir que se asocian con enfermedades psiquiátricas prevalentes al sobrepasar la capacidad adaptativa de la persona provocando un malestar significativo con síntomas que afectan al plano físico, psicológico y conductual (Ohl, 2005) (Tabla 1):

Tabla 1. Síntomas que afectan el plano físico, psicológico y conductual en la ansiedad.

Síntomas físicos	Síntomas psicológicos y conductuales
<ul style="list-style-type: none">• Vegetativos: sudoración, sequedad de boca, mareo e inestabilidad• Neuromusculares: temblor, tensión muscular, cefaleas y parestesia• Cardiovasculares: palpitaciones, taquicardias y dolor precordial• Respiratorio: disnea• Digestivos: náuseas, vómitos, dispepsia, diarrea, estreñimiento, aerofagia y meteorismo• Genitourinarios: micción y pérdida de la libido	<ul style="list-style-type: none">• Preocupación y aprensión• Sensación de agobio• Miedo a perder el control, volverse loco y sensación de muerte inminente• Dificultad de concentración y quejas de pérdida de memoria• Irritabilidad, inquietud y desasosiego• Conductas de evitación de situaciones determinadas• Inhibición o bloqueo psicomotor• Obsesiones o compulsiones

Tomada del grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria, 2008

2.3 Clasificación de ansiedad

Los criterios clínicos para determinar trastornos de ansiedad fueron obtenidos de las clasificaciones de la OMS en la 10ª edición de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) y de la Asociación Estadunidense de Psiquiatría en la 5ª edición de su manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-5). El DSM-5 enumera doce trastornos de ansiedad y la CIE-10 agrupa a la ansiedad en trastornos relacionados con el estrés y somatomorfos (trastornos neuróticos) que comprenden:

- **Crisis de angustia (ataque de pánico)** que se caracteriza por la aparición súbita de síntomas de aprensión, miedo pavoroso o terror, acompañados habitualmente de sensación de muerte inminente. Durante estas crisis también aparecen síntomas como falta de aliento, palpitaciones, opresión o malestar torácico, sensación de atragantamiento o asfixia y miedo a perder el control.
- **Fobia específica** se caracteriza por la presencia de ansiedad clínicamente significativa como respuesta a la exposición a situaciones u objetos específicos temidos, lo que suele dar lugar a comportamientos de evitación.
- **Trastorno obsesivo-compulsivo** que tiene como característica obsesiones (que causan ansiedad y malestar significativos) y/o compulsiones (cuyo propósito es neutralizar dicha ansiedad).
- **Trastorno por estrés postraumático** se caracteriza por la re-experimentación de acontecimientos altamente traumáticos, síntomas debidos al aumento de la activación y comportamiento de evitación de los estímulos relacionados con el trauma.
- **Trastorno de ansiedad generalizada** existe la presencia de ansiedad y preocupaciones de carácter excesivo y persistente durante al menos 6 meses.

2.4 Neuroquímica de la ansiedad

La neuroquímica de la ansiedad se ha centrado en el estudio de serotonina y noradrenalina, así como del complejo receptor tipo A del ácido γ -aminobutírico (GABA_A)-benzodicepinas. El interés en los sistemas serotoninérgicos,

noradrenérgicos y GABAérgicos, se originan a partir de la eficacia clínica de los compuestos que afectan en el tratamiento de los estados de ansiedad (Sandford *et al.*, 2000).

Sistema noradrenérgico.- El tema central de la teoría noradrenérgica de la ansiedad es que el aumento de la liberación de noradrenalina y sus metabolitos conduce al trastorno de ansiedad. Algunos de los puntos que sustentan esta teoría son (Sandford *et al.*, 2000):

1. Los efectos ansiogénicos de fármacos que aumentan la disponibilidad noradrenérgica, como las anfetaminas y el tratamiento inicial con imipramina.
2. El papel central de la noradrenalina en el *locus coeruleus* en el control del estrés y la ansiedad.
3. Las propiedades ansiogénica y ansiolítica de fármacos noradrenérgicos selectivos de acción central. Los agonistas a receptores β_2 -adrenérgicos se han utilizado para inducir ansiedad. Eso ha llevado a especular que los receptores β -adrenérgicos son hipersensibles en pacientes con pánico.

Sistema serotoninérgico.- Existe también la teoría en la cual se atribuye la ansiedad al sistema de serotonina, pero la evidencia es confusa, incluye los resultados de estudios y la efectividad clínica bien establecida de fármacos serotoninérgicos en el tratamiento de la ansiedad. Los dos principales sistemas serotoninérgicos en el cerebro son el núcleo medio de rafé y núcleo dorsal de rafé. Se cree que el fallo de esos subsistemas es responsable de diferentes enfermedades, entre ellas los estados de ansiedad y depresión. Se ha propuesto que la región media de rafé es importante en la modulación del miedo y ansiedad anticipada y el núcleo dorsal en la modulación de procesos cognitivos (por ejemplo: el miedo condicionado). Existen trabajos en los que la exposición a dosis única de serotonina es ansiogénica en pacientes con trastornos de pánico y obsesivo-compulsivo; y en pacientes normales en dosis altas también produce ansiedad (Sandford *et al.*, 2000).

Sistema GABAérgico.- El ácido γ -aminobutírico (GABA) es la principal vía de transmisión inhibitoria en el SNC. Las neuronas GABAérgicas se encuentran en la zona corticolímbica, esta región participa en la modulación de los estados de ansiedad, en el que ejercen una influencia inhibitoria sobre la liberación de neurotransmisores mediadores de ésta, en particular la noradrenalina y serotonina; aunque el grado de reducción monoaminérgica asociado a las propiedades de los agentes GABAérgicos sigue siendo controvertido (Millan y Brocco, 2003). La hipótesis de influencia de este neurotransmisor en los trastornos de ansiedad es el efecto ansiolítico que ejercen las benzodiacepinas, la cual sirve para validar la acción terapéutica de posibles agentes ansiolíticos observada en experimentos.

2.5 Fármacos utilizados en el tratamiento de la ansiedad

El tratamiento de la ansiedad consiste en terapia psicológica evitando la administración de fármacos. En caso de ser necesario el uso fármacos, los principales grupos utilizados son los ansiolíticos e hipnóticos, a continuación se mencionan algunos de los más utilizados (Argyropoulos *et al.*, 2000):

- **Benzodiacepinas.** Es el grupo de fármacos más importante utilizado como ansiolíticos e hipnóticos. Actúan uniéndose a una subunidad reguladora alostérica del receptor GABA_A, potenciando el efecto inhibitorio de GABA. Los efectos ansiolíticos son mediados por los receptores GABA_A que contienen la subunidad α_2 , mientras que la sedación se debe a los que contienen la subunidad α_1 (Rudolph y Möhler, 2008).
- **Agonistas 5-HT_{1A}.** La buspirona es un agonista del receptor 5-HT_{1A}, es ansiolítico pero carece de un efecto sedante apreciable. Otros ejemplos son la ipsapirona y gespirona.
- **β -bloqueadores.** Se utilizan para tratar algunas formas de ansiedad cuando los síntomas físicos son importantes, su eficacia depende más del bloqueo de respuestas simpáticas periféricas que de sus efectos centrales. Por ejemplo: propranolol.

- **Barbitúricos.** Prácticamente abandonado a favor de las benzodiazepinas y sólo usados en anestesia y tratamiento de la epilepsia. Algunos barbitúricos son: el pentobarbital, fenobarbital y tiopental.
- **Zolpidem.** Es un hipnótico que actúa de la misma forma que las benzodiazepinas, aunque son distintos desde la perspectiva química, pero carece de actividad ansiolítica apreciable.

A menudo se utilizan para tratar los trastornos por ansiedad otros tipos de medicamentos (antidepresivos y antipsicóticos) en combinación con los fármacos de la lista anterior. Algunos de los más utilizados son (Rang *et al.*, 2008; Argyropoulos *et al.*, 2000):

- **Antidepresivos tricíclicos.** Estos fármacos han resultado útiles en el combate de ataques de pánico y en trastorno de ansiedad generalizada.
- **Inhibidores de la monoaminoxidasa e inhibidores reversibles de la monoaminoxidasa A.** Se ha observado que estos fármacos son efectivos en el tratamiento de fobia social y trastornos de pánico.
- **Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina.** Son fármacos que han sido eficaces en el tratamiento del trastorno obsesivo compulsivo y de ansiedad generalizada.

2.5.1 Efectos adversos de los ansiolíticos

La reacción adversa a un medicamento es definida por la OMS y la Norma Oficial Mexicana NOM-220-SSA1-2012 como la respuesta a un fármaco que es nociva y no intencionada y que tiene lugar cuando éste se administra en dosis utilizadas normalmente en seres humanos para la profilaxis, diagnóstico o tratamiento de una enfermedad, o para la modificación de una función fisiológica.

Los efectos adversos atribuidos a benzodiazepinas son: sensación de sueño prolongado sin depresión grave de las funciones respiratoria y cardiovascular, pero en combinación con otro depresor del SNC puede inhibir la función respiratoria llegando a ser mortal. También pueden producir somnolencia, confusión, amnesia y trastornos de la coordinación. Pueden también causar

tolerancia y dependencia (Rang *et al.*, 2008). Los efectos adversos de otros fármacos son similares pero la tolerancia es menos pronunciada en el caso de los barbitúricos, que se sabe causan taquifilaxia (Zapantis *et al.*, 2005).

3. DEPRESIÓN

3.1 Incidencia de la depresión en México y el mundo

Otra afección del SNC es la depresión, la cual se ha convertido en uno de los trastornos mentales más frecuentes entre la población y ha sido reconocida como un problema de salud pública. Se estima que en México los trastornos neuropsiquiátricos ocupan el quinto lugar como carga de enfermedad. Cuatro de las diez enfermedades que producen discapacidad son de tipo neuropsiquiátricas y entre ellas está presente la depresión. Existen estudios donde se ha tomado en cuenta la discapacidad e incapacidad relacionada con este trastorno y han mostrado el impacto y la trascendencia del mismo, ocupando en la actualidad el cuarto lugar entre las enfermedades que llevan a la discapacidad y se pronostica que para el año 2020 será la segunda causa de morbilidad (Caraveo-Anduaga *et al.*, 1999). Hay estudios que muestran que el 7.8 % de la población adulta de entre 18 y 65 años presenta episodios de depresión, con una tasa de 2.5 mujeres por cada varón (Medina-Mora *et al.*, 2003; Benjet *et al.*, 2004).

3.2 Definición de depresión

En el 2012, la OMS definió a la depresión como un trastorno mental que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, trastornos del sueño o apetito, sensación de cansancio y falta de concentración; pudiendo hacerse crónica o recurrente en el desempeño de las actividades cotidianas. Se estima que más de la mitad de los afectados en todo el mundo no reciben tratamiento, ya sea por falta de recursos y personal sanitario capacitados, así como la estigmatización de trastornos mentales y evaluación clínica inexacta. La carga mundial de depresión y otros trastornos mentales está en aumento. Los

síntomas de la depresión abarcan componentes emocionales y biológicos (Tabla 2).

Tabla 2. Síntomas de la depresión: componentes biológicos y emocionales

Síntomas biológicos	Síntomas emocionales
<ul style="list-style-type: none"> • Pensamiento y acción lentos • Pérdida de la libido • Trastornos del sueño y pérdida del apetito 	<ul style="list-style-type: none"> • Desdicha, apatía y pesimismo • Baja autoestima: sentimientos de culpa, insuficiencia y fealdad • Indecisión, pérdida de la motivación

Tomada de OMS, 2012

3.3 Clasificación de la depresión

Causales.- Existen dos causales de depresión que la clasifican en exógena y endógena. La depresión exógena ó reactiva obedece a una causa externa generalmente bien definida (pérdida parental, monetaria ó de estado social, así como por enfermedad, entre otras). El estrés es un factor importante para que el estado depresivo reactivo se genere, y no puede separarse de los cambios biológicos, por lo que se infiere que en este tipo de depresión depende la cantidad de estímulos ambientales estresores, así como los sustratos biológicos que determinan las alteraciones en la función cerebral. La depresión endógena es un trastorno biológico que no tiene causa externa manifiesta (Guadarrama, Escobar y Zhang, 2006).

Episodios depresivos.- La CIE-10 clasifica a los episodios depresivos dependiendo del número y la intensidad de los síntomas, clasificándolos como leves, moderados o graves. La depresión leve puede oscilar en un cuadro que limita con la normalidad y la grave o psicótica es acompañada de alucinaciones e ideas delirantes. Una distinción fundamental es la establecida entre la depresión en personas con y sin antecedentes de episodios maníacos. Ambos tipos de depresión pueden ser crónicos o pueden reaparecer, especialmente cuando no son tratados (OMS, 2015).

Síndromes depresivos.- Existen dos tipos distintos de síndrome depresivo: la *depresión unipolar*, en la que las oscilaciones del estado de ánimo se producen

siempre en la misma dirección, y el *trastorno bipolar*, en la que la depresión alterna con la manía; siendo la diferencia entre el trastorno depresivo y el bipolar que en el trastorno bipolar hay la aparición de manías o hipomanías en el algún momento de la enfermedad (Bowden, 2005).

Depresión unipolar.- Estos trastornos incluyen el trastorno mayor de depresión y el distímico. El diagnóstico del trastorno depresivo mayor requiere de uno o más episodios de depresión mayor con al menos un intervalo de dos meses entre ellos. El trastorno distímico se distingue por la cronicidad, gravedad y persistencia de los síntomas en al menos dos años (Bowden, 2005).

Trastorno bipolar.- Se han dividido en bipolar I y bipolar II. El trastorno bipolar I se caracteriza por la presencia de una historia de episodios maniacos, con o sin episodios depresivos mayores. El trastorno bipolar II se caracteriza por uno o más episodios depresivos mayores y al menos un episodio hipomaniaco (Bowden, 2005).

3.4 Neuroquímica de la depresión

Existe evidencia que indica que los niveles anormales de los neurotransmisores serotonina, noradrenalina y dopamina podrían ser factores importantes en la fisiopatología de la depresión (Guadarrama, Escobar y Zhang, 2006). La principal teoría bioquímica acerca de la depresión es la hipótesis monoaminérgica, propuesta por Schildkraut en 1965 (Rang *et al.*, 2008):

Teoría monoaminérgica.- Según esta teoría, la depresión se debe a una deficiencia funcional de los trasmisores monoaminérgicos en determinadas regiones del encéfalo, mientras que la manía es consecuencia de un exceso funcional. La teoría afirma que la depresión se debe a una deficiencia funcional de la transmisión de noradrenalina o serotonina o ambas. La teoría está basada en la capacidad de los antidepresivos conocidos (tricíclicos e inhibidores de la monoaminoxidasa) para facilitar la transmisión monoaminérgica y de los fármacos del tipo reserpina para producir depresión. Esos datos a favor de la teoría monoaminérgica no son concluyentes, ya que existen incongruencias, entre ellas

están el efecto potenciador de la transmisión monoaminérgica de la cocaína y anfetaminas, pero no tiene efecto antidepresivo, así como la existencia de antidepresivos que son clínicamente eficaces, pero no potencian la transmisión monoaminérgica (Manji, Drevets y Charney, 2001; Hillhouse y Porter, 2015).

3.5 Fármacos utilizados en el tratamiento de la depresión

Los antidepresivos disponibles se dividen en estas categorías:

- **Inhibidores de la captación de monoaminas.-** Estos son conocidos como bloqueadores, estos fármacos inhiben la recaptación mediada por transportadores plasmáticos de monoaminas desde la sinapsis hacia la neurona presináptica, llevando al incremento de las concentraciones extracelulares del neurotransmisor y por lo tanto un aumento en la neurotransmisión (Iversen, 2006).
 - **Inhibidores no selectivos de la recaptación (noradrenalina/serotonina)**
 - Antidepresivos tricíclicos.- Su efecto principal consiste en el bloqueo de la captación de aminas por las terminaciones nerviosas mediante una competición por el lugar de unión de la proteína transportadora. Casi todos inhiben por igual la captación de noradrenalina y de serotonina por sinaptosomas encefálicos. Algunos fármacos tricíclicos son: imipramina, clomipramina, amitriptilina y nortriptilina (Rang *et al.*, 2008).
 - **Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.-** Los fármacos que inhiben la recaptación de serotonina comprenden fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, citalopram y sertralina. Actualmente son los más utilizados en el tratamiento de la depresión (Rang *et al.*, 2008).
 - **Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina.-** Algunos fármacos que inhiben la recaptación de noradrenalina son maprotilina y reboxetina (Rang *et al.*, 2008).
- **Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO).-** Los primeros fármacos en utilizarse clínicamente como antidepresivos fueron los IMAO, aunque no son muy específicos en cuanto a su acción, pero producen un aumento rápido y mantenido del contenido encefálico de serotonina, noradrenalina y dopamina,

con mayor afectación de la serotonina y menor de la dopamina. Los principales fármacos son: fenelcina, tranilcipromina e iproniacida (Rang *et al.*, 2008; Hillhouse y Porter, 2015).

3.5.1 Efectos adversos de los antidepresivos

En pacientes con depresión durante los primeros días del tratamiento, así como en personas no deprimidas, los antidepresivos tricíclicos producen sedación, confusión y pérdida de la coordinación motora. Para el caso de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina los efectos adversos son náuseas, anorexia, insomnio, pérdida de la libido y anorgasmia. Los IMAO pueden producir hipotensión, aumento de peso por incremento del apetito, xerostomía y visión borrosa (Chabria, 2006; Rang *et al.*, 2008).

3.5.2 Depresión y dolor

La depresión no solo afecta el cerebro y la conducta. La depresión se ha relacionado con otros problemas de salud, entre ellos, el dolor crónico que dura varias semanas, meses e incluso años. Generalmente no se alivia con medicamentos comunes para el dolor. El dolor crónico puede tener diferentes causas, como una lesión o infección temporal o una enfermedad de largo plazo. Pero algunos dolores crónicos no tienen una causa aparente. Al igual que la depresión, el dolor crónico puede causar problemas con el sueño y las actividades diarias, lo que reduce su calidad de vida. Un trastorno que se ha demostrado que se desarrolla junto con la depresión es la fibromialgia. La fibromialgia es un síndrome que se caracteriza por dolor crónico generalizado del músculo esquelético con una exagerada hipersensibilidad, así como de rigidez, en asociación con la fatiga y falta de sueño (Staud, 2006; Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Musculoesqueléticas y de la Piel, 2014). Las personas con fibromialgia son más propensas que la población general a padecer depresión y otras enfermedades mentales. Los estudios demuestran que la depresión y la fibromialgia comparten factores de riesgo y tratamientos. Los pacientes con fibromialgia también pueden experimentar otros síntomas de enfermedad,

incluyendo ansiedad, depresión, disminución de la motivación y discognición (Schweinhardt, Sauro y Bushnell, 2008).

4. DOLOR

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, por sus siglas en inglés) definió al dolor en el año 1979 como la experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a una lesión tisular presente o potencial, o que se describe en términos de dicha lesión (Loeser y Treede, 2008).

El dolor no se define exclusivamente como una percepción nociceptiva, sino que constituye una experiencia subjetiva integrada por un conjunto de pensamientos, sensaciones y conductas. Incluir la emoción desagradable da entrada a un conjunto de sentimientos entre los que se encuentran el sufrimiento, la ansiedad, la depresión y la desesperación (Muriel, 2008).

4.1. Clasificación del dolor

La clasificación de dolor es útil para guiar la evaluación y el tratamiento de éste. Hay muchas maneras de clasificar el dolor y éstas pueden superponerse. La clasificación de dolor más utilizada es la fisiopatológica, que divide al dolor en las categorías que se muestran en la Figura 1 (OMS, 2012):

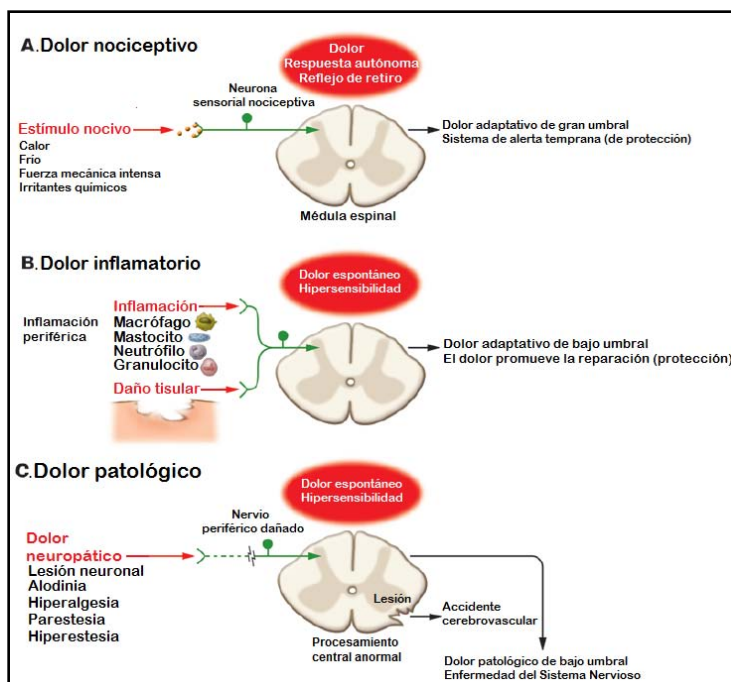


Figura 1. Clasificación fisiopatológica del dolor: A. Nociceptivo; B. Inflamatorio; C. Patológico. Modificada de Woolf, 2010.

- **Dolor nociceptivo:** respuesta normal al daño o lesión de los tejidos y aparece cuando se activan los receptores específicos del dolor denominados nociceptores. Los nociceptores pueden responder a estímulos de temperatura, mecánicos y químicos, a la falta de oxígeno, destrucción tisular o inflamación. El dolor nociceptivo se clasifica dependiendo de la localización de los nociceptores activados en (Gutiérrez y Valenzuela, 2007; OMS, 2012):
 - Dolor somático: causado por la activación de nociceptores presentes en tejidos superficiales (piel, mucosas, etc.) o profundos (huesos, articulaciones, etc.), resultado de la lesión y/o inflamación de un tejido que causa la liberación de sustancias mediadoras por las células. Generalmente es de inicio reciente y bien localizado (Gutiérrez y Valenzuela, 2007; OMS, 2012).
 - Dolor visceral: es causado por la activación de los nociceptores localizados en los órganos internos encerrados en cavidades (órganos torácicos y abdominales). Los nociceptores encontrados en las paredes de estos órganos se encuentran en menor número y cuando se estimulan producen sensaciones poco localizadas y difusas, que pueden ser referidas a sitios lejanos de lugar de la lesión. La activación de los nociceptores puede deberse a infecciones, distensión por líquidos o gases, estiramiento, compresión, así como isquemias, necrosis e inflamación (Gutiérrez y Valenzuela, 2007; OMS, 2012).
- **Dolor neuropático:** es el dolor descrito como quemazón, hormigueo o punción irradiada que surge como consecuencia de una lesión o enfermedad que afecta al sistema somato-sensorial. La lesión puede ser causada por el daño estructural o disfunción de neuronas del SNC o sistema nervioso periférico (SNP), debido a afecciones metabólicas, traumáticas, infecciosas, isquémicas, tóxicas, inmunitarias, entre otras. Puede ser periférico (consecuencia de lesiones o enfermedades que afecten a los nervios periféricos, ganglios de raíces dorsales o raíces dorsales) o central (consecuencia de enfermedades que afecten al SNC). El dolor neuropático se asocia a disfunción sensorial,

algunas disfunciones se definen en la Tabla 3 (Loeser y Treede, 2008; OMS, 2012):

Tabla 3. Disfunciones sensoriales que sugieren dolor neuropático.

Disfunción sensorial	Definición
Alodinia	Dolor debido a estímulos que normalmente no provocan dolor.
Hiperalgnesia	Aumento de la respuesta dolorosa a un estímulo normalmente doloroso.
Hipoalgnesia	Disminución de la respuesta dolorosa a un estímulo normalmente doloroso.
Parestesia	Sensación anormal, como hormigueo, picor o adormecimiento, a un estímulo que normalmente no es desagradable.
Hiperestesia	Aumento de la sensibilidad a la estimulación.
Hipoestesia	Disminución de la sensibilidad a la estimulación.

Tomada de OMS, 2012

- **Dolor inflamatorio:** es el resultado de la activación y sensibilización de la vía del dolor nociceptivo por una variedad de mediadores liberados en el sitio de la inflamación del tejido. Los mediadores que principalmente han sido implicados son citocinas pro-inflamatorias tales como IL-1- α , IL-1- β , IL-6 y TNF- α , quimiocinas, especies reactivas de oxígeno, aminas vasoactivas, entre otros (Woolf, 2010).

4.2 Dolor inflamatorio

El proceso inflamatorio es una respuesta fisiológica a las lesiones tisulares que da protección temprana al restringir el daño de los tejidos al sitio afectado. Los signos clásicos de la inflamación fueron descritos por Paracelso hace casi 2000 años y estos son: tumefacción (tumor), enrojecimiento (rubor), calor, dolor y pérdida de la función (Kindt, Goldsby y Osborne, 2007).

Minutos después del daño tisular, el diámetro de los vasos sanguíneos aumenta (vasodilatación) y ello tiene como consecuencia aumento del volumen de sangre en la zona afectada y reducción de su flujo. El aumento del volumen sanguíneo calienta el tejido en cuestión y lo torna rojo, el aumento de la permeabilidad vascular ocasiona fuga de líquido desde los vasos sanguíneos; el

resultado es la acumulación de líquido (edema) en el tejido y en algunos casos, extravasación de leucocitos que contribuyen a la tumefacción y el enrojecimiento del área afectada. El daño tisular provoca el vaciado del medio intracelular, incrementando la concentración del ión potasio (K^+) y de enzimas plasmáticas mediadoras como la bradicinina y fibrinopéptidos, que inducen vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Cabe señalar que el incremento de K^+ extracelular contribuye a la despolarización de los nociceptores y al incremento de su actividad eléctrica tanto basal como evocada por estímulos nocivos al punto que, los estímulos no nocivos también son capaces de superar los umbrales de descarga con reclutamiento de neuronas adyacentes. Algunos cambios vasculares se deben a los efectos indirectos de las anafilatoxinas C3a y C5a del complemento, las cuales inducen la degranulación de los mastocitos que se encuentran en el sitio, liberando histamina. La histamina, un mediador potente de la inflamación, produce vasodilatación y contracción del músculo liso. Las plaquetas liberan serotonina que al igual que los otros factores quimiotácticos antes mencionados, así como prostaglandinas del grupo E, conforman la llamada sopa inflamatoria. Las prostaglandinas también pueden contribuir a la vasodilatación y al aumento de la permeabilidad vascular que acompañan a la reacción inflamatoria aguda. Los neutrófilos se adhieren a las células endoteliales y emigran desde la sangre hacia los espacios tisulares unas cuantas horas después del inicio de los cambios vasculares, la liberación de mediadores contribuye a la reacción inflamatoria. Entre los mediadores se incluyen a las proteínas inflamatorias de los macrófagos (MIP-1 α y MIP-1 β), quimiocinas que atraen los macrófagos al sitio de la inflamación. Entre otros componentes de la sopa inflamatoria se encuentran las interleucinas generadas en una secuencia que se inicia con la IL1 β y el TNF- α , y se continúa con la IL-6. Estos factores reducen el umbral de descarga en el aferente primario tanto para estímulos mecánicos como químicos sentando las bases para su sensibilización. Los macrófagos tisulares activados secretan las interleucinas IL-1, IL-6 y TNF- α que inducen cambios locales y generales que se observan en la inflamación. Las citocinas antes mencionadas actúan a nivel local y promueven la coagulación y un

incremento de la permeabilidad vascular. Tanto TFN- α como IL-1 inducen el aumento de expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales. Aumentan los aminoácidos excitadores como el glutamato, péptidos de la vía nociceptiva como la sustancia P e inducen a la ciclooxigenasa 2 (COX-2) con el consecuente incremento en los niveles de prostaglandinas, especialmente la E2 (PGE₂) a través de la vía del ácido araquidónico. Los fragmentos de membrana fosfolipídica generados por la lesión tisular y sobre los cuales actúa la fosfolipasa A₂ que se encuentra en el citosol, producen ácido araquidónico libre que es convertido en endoperóxidos mediante la actividad de la COX e hidroxiperoxidasa hacia dos vías diferentes, por un lado los prostanoides como la PGE₂ y prostaciclina y por el otro, la vía del tromboxano A₂ (TXA₂). Una vez sintetizadas estas sustancias en el medio intracelular son liberados al medio extracelular por difusión facilitada. Existe quimiotaxis gracias a la liberación de estas sustancias y los macrófagos arriban a este lugar después de 5 h del comienzo de la reacción inflamatoria. La reacción inflamatoria local se acompaña de fiebre, aumento de hidrocortisona, elevación de cantidad de leucocitos y elaboración de gran cantidad de proteínas de fase aguda. Los macrófagos aumentan la liberación de mediadores y citocinas proinflamatorias (Eblen-Zajjur, 2005; Kindt, Goldsby y Osborne, 2007) (Figura 2).

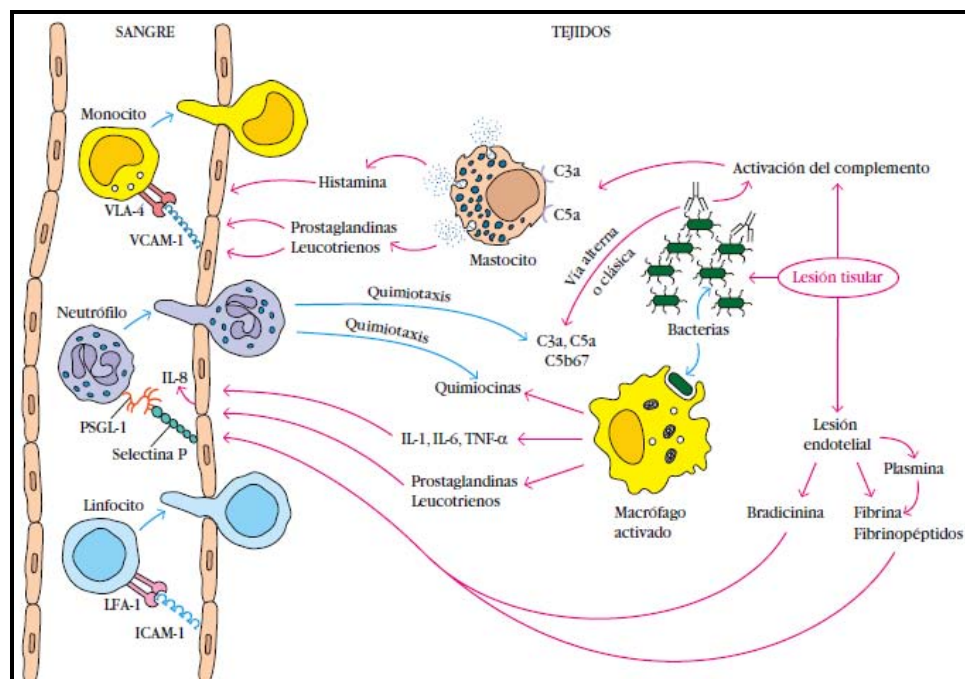


Figura 2. Células y mediadores que participan en la acción inflamatoria aguda. Tomada de Kindt, Goldsby y Osborne, 2007.

4.2.1 Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)

Existen diversas modalidades terapéuticas para reducir las reacciones inflamatorias prolongadas y por tanto las complicaciones que las acompañan, entre ellas están los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) (Kindt, Goldsby y Osborne, 2007; Rang *et al.*, 2008). Los tres efectos terapéuticos principales de los AINEs son: antiinflamatorio, que modifica la reacción inflamatoria; analgésico que produce alivio de determinados tipos de dolor (especialmente del dolor inflamatorio); y antipirético que disminuye la fiebre (Rang *et al.*, 2008).

4.2.2 Mecanismo de acción de los AINEs

El mecanismo principal por el que estos fármacos ejercen sus efectos anti-inflamatorios es la inhibición de la vía de la COX que produce prostaglandinas y tromboxanos a partir de ácido araquidónico. El descenso de la producción de prostaglandinas limita el aumento de la permeabilidad vascular y la quimiotaxis de los neutrófilos en la reacción inflamatoria. La vía de la COX es mediada principalmente por dos enzimas: COX-1 y COX-2 (Kindt, Goldsby y Osborne 2007).

La COX-1 se expresa de manera constitutiva en la mayoría de las células y es la principal fuente de prostaglandinas necesarias para las funciones fisiológicas, como la hemostasia, la protección celular gástrica y renal, entre otras. La COX-2 es inducida por estímulos inflamatorios, tales como citocinas, promotores de tumores y es la fuente más importante para la síntesis de prostaglandinas que contribuyen al dolor y la inflamación. Como resultado, se cree que la inhibición de la COX-2 media, en parte, la acción terapéutica de los AINEs, mientras que la inhibición simultánea de la COX-1 explica en gran medida, pero no exclusivamente, los efectos adversos no deseados en el tracto gastrointestinal que complican la terapia crónica con AINEs (Grosser, Smyth y FitzGerald, 2011).
Figura 3.

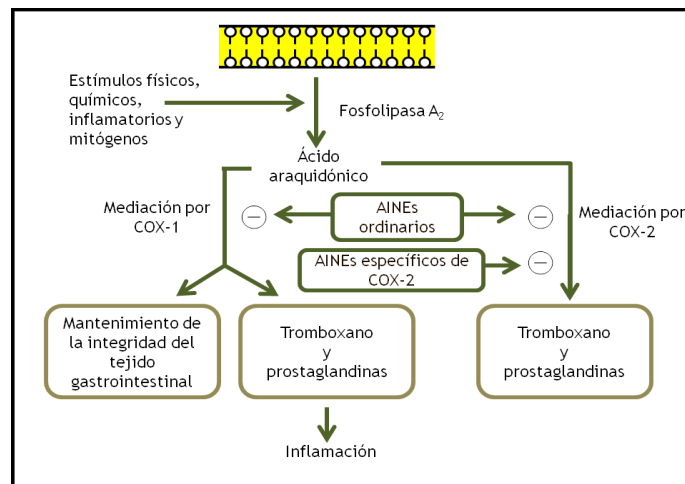


Figura 3. Mecanismo de acción de los AINEs ordinarios y específicos de la COX-2.
Modificada de Kindt, Goldsby y Osborne, 2007.

4.2.3 Efectos adversos de los AINEs

Si bien estos fármacos fueron creados para aliviar síntomas de dolor e inflamación, se ha observado que estos fármacos producen en mayor o menor medida efectos secundarios como: irritación gástrica (molestias leves a úlcera), alteración hemodinámica renal; inhibición de plaquetas y se ha observado que el uso de inhibidores específicos para la COX-2 han mostrado un incremento inaceptable de efectos secundarios cardiovasculares, los efectos secundarios anteriores limitan la duración de su empleo (Hawkey, 2001; Kindt, Goldsby y Osborne 2007; Rang *et al.*, 2008).

5. NUTRICIÓN Y SALUD

Las terapias alternativas son altamente utilizadas por los pacientes con la finalidad de tratar la ansiedad, depresión o el dolor, especialmente la medicina herbolaria (Kessler *et al.*, 2001; Colla *et al.*, 2012). De hecho, la propia composición química de los alimentos en ocasiones es aplicable para un uso terapéutico (Toledo y Burlingame, 2006), entre ellos está recurrir a la dieta con especies vegetales específicas, algunas veces restringiendo algunas, que son fuente valiosa de fibra, antioxidantes, vitaminas, anticoagulantes. En cantidades específicas, éstas pueden usarse como “alimento-medicamento” o bien como los llamados nutracéuticos que corresponden a cantidades mayores a las obtenidas en una dieta normal con la finalidad de contrarrestar la deficiencia de vitaminas y corregir procesos patológicos (Moreno *et al.*, 2006; Linares *et al.*, 2008).

5.1 *Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck

En el caso específico de la *B. oleracea* L. var. *italica* Plenck, es una crucífera que pertenece a la familia Brassicaceae, familia del reino vegetal que tiene cerca de 330 géneros y 3500 especies, que crecen en todos los continentes salvo la Antártida. Esta familia es de importancia económica porque incluye géneros de

plantas de cultivo que son utilizadas como vegetales (*Brassica*, *Nasturtium*, *Raphanus*), fuentes de aceites (*Brassica*) y condimentos (*Armoracia*, *Brassica*, *Eutrema*, *Sinapsis*) (Fahey, Zalcmann y Talalay, 2001; Taiyan *et al.*, 2001). El género *Brassica* está conformado por casi 40 especies que están distribuidas en la región del Mediterráneo, en el suroeste de Europa y el noroeste de África. Cabe destacar que es uno de los seis géneros de especies con importancia agrícola, ya que son consumidos en altas cantidades en el mundo y es importante en la nutrición humana (Cartea *et al.*, 2008). Muchas especies de este género son plantas de cosecha, puesto que se utilizan para la alimentación, por ejemplo: *B. juncea* (mostaza india), *B. rapa* (nabo), *B. oleracea* var. *botrytis* (coliflor), *B. oleracea* var. *gemmifera* (col de Bruselas), *B. oleracea* var. *italica* (brócoli), entre otras (Taiyan *et al.*, 2001).

De manera particular, el vegetal *B. oleracea* L. var. *italica* Plenck, o brócoli, posee cabezas florales comestibles, carnosas, de color verde, dispuestas en agrupamientos que nacen de un tallo grueso y cilíndrico carnoso, cabe destacar que al madurar las inflorescencias verdes producen flores amarillas (Figura 4) (Buck 1956; Taiyan *et al.*, 2001).



Figura 4. *Brassica oleracea* var. *italica* (a) vegetal maduro y (b) Flores. Tomadas de Biologic Library (BioLib.cz), 2008.

5.2 Fitoquímica

El brócoli posee propiedades nutritivas y terapéuticas por sus constituyentes, entre ellos las vitaminas y minerales. Los estudios de composición química de este vegetal indican que contiene (Moreno *et al.*, 2006; Koh *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2014):

- Minerales esenciales.- Calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, zinc, fósforo y azufre.
- Vitaminas.- Tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido ascórbico (C), fitomenadiona (K).
- Flavonoides.- Canferol, quercetina, isorramnetina
 - Glucosinolatos que pueden estar sustituidos por radicales alifáticos, alqueno, aromáticos e indólicos; productos de hidrólisis de glucosinolatos como: isotiocianatos, nitrilos, tiocianatos.

5.3 Glucosinolatos como posibles metabolitos activos

Los glucosinolatos son el mayor grupo de compuestos contenidos en plantas de la familia Brassicaceae, que son en gran parte responsables de los sabores amargos y picantes de las crucíferas (Fahey, Zalcmann y Talalay, 2001; Cartea *et al.*, 2008). Éstos son una familia heterogénea de moléculas que se caracterizan por una estructura básica similar que contiene un grupo oxima sulfonado unido mediante un enlace sulfuro a una β -D-glucopiranososa, y una cadena lateral derivada de diferentes aminoácidos (Moreno *et al.*, 2006; Natella *et al.*, 2014) (Figura 5).

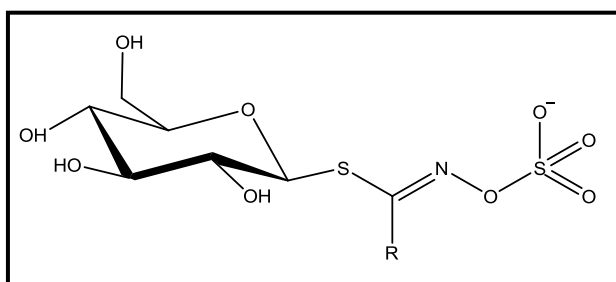
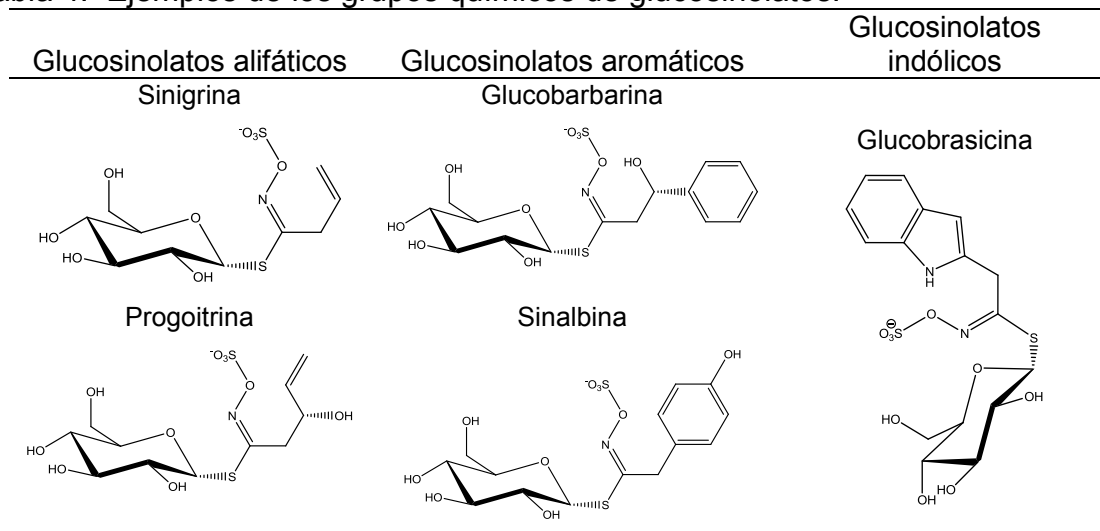


Figura 5. Estructura común de los glucosinolatos. Modificada de Moreno *et al.*, 2006.

Los glucosinolatos se agrupan químicamente en tres clases: alifáticos, indólicos y aromáticos, dependiendo si el aminoácido precursor es metionina, triptófano o un aminoácido aromático (tirosina o fenilalanina) (Tabla 4). Los más importantes encontrados en los vegetales del género *Brassica* son los derivados de metionina (Padilla *et al.*, 2007).

Tabla 4. Ejemplos de los grupos químicos de glucosinolatos.



Modificado de Natella *et al.*, 2014

De los 120 diferentes glucosinolatos que fueron elucidados hasta 2001, 18 se han encontrado en especies del género *Brassica* (ver Tabla 5).

Tabla 5. Glucosinolatos del género *Brassica* clasificados por grupos químicos.

Alifático			Aromático	
Contiene azufre	Ramificado	Alqueno	Arilo	Indol
Glucorafenina		Gluconapina		
Glucorafanina	Glucoputranjivina	Progoitrina	(Gluco)sinalbina	Glucobrasicina
Glucoalisina		(Gluco)napoleiferina		
Glucoiberina				
Glucoerucina	Glucojiabutina	Glucobrasicanapina	Gluconasturtiina	Neoglucobrasicina
Glucoberteroina				
Glucoiberiverina		Sinigrina		

Modificado de Fahey, Zalcmann y Talalay, 2001

En todas las plantas que producen glucosinolatos existe una enzima denominada mirosinasa, ésta es una enzima β -tioglucosidasa característica en vegetales de la familia Brassicaceae, la cual está físicamente separada de los glucosinolatos por tejidos y si existe alguna ruptura celular en el vegetal se libera produciendo la hidrólisis de los glucosinolatos en varios productos bioactivos, tales como: isotiocianatos, nitrilos, tiocianatos, epitionitrilos y oxazolidinas (Figura 6), ello dependerá del pH del medio, sustrato, nivel de actividad de la mirosinasa, etc.

(Padilla *et al.*, 2007; Oliviero *et al.*, 2014). Algunos de estos pueden producir algunos beneficios a la salud y algunos otros pueden ser perjudiciales (Cartea *et al.*, 2008).

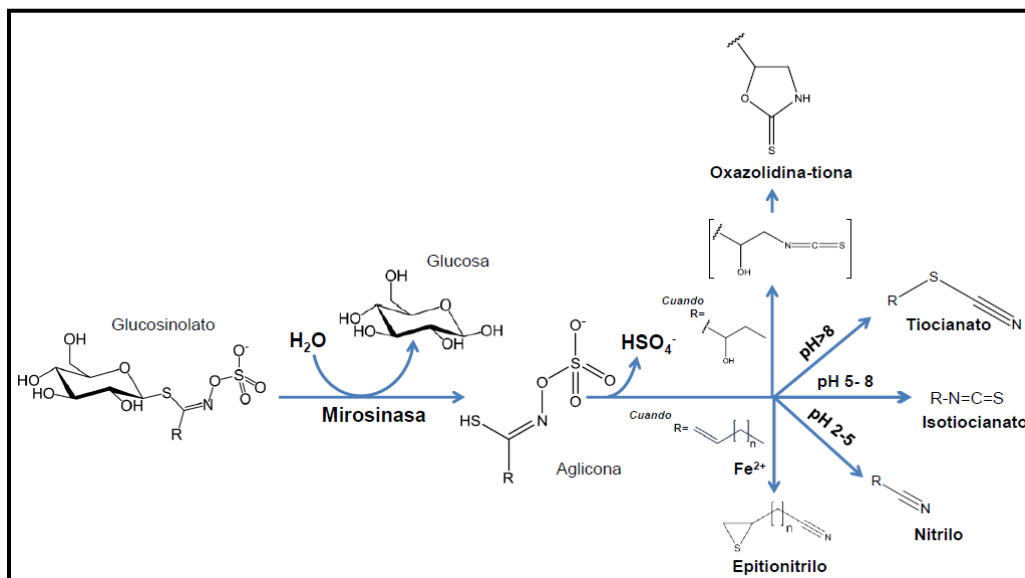


Figura 6. Hidrólisis de glucosinolatos. Modificada de Rincón Pérez, 2014.

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

B. oleracea var. *italica* (brócoli) es una especie agrícola importante porque muchas de sus variedades son de alto consumo en el mundo, siendo esto un factor importante en los estudios de nutrición humana (Cartea *et al.*, 2008). En diversas publicaciones se ha encontrado que vegetales del género *Brassica* poseen glucosinolatos e isotiocianatos; estos compuestos han sido probados y se han reportado efectos anticancerígenos, tranquilizadores, antidepresivos, analgésicos y gastroprotectores (Moreno *et al.*, 2006; Lemos *et al.*, 2011; Bosetti *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2013; Thakur *et al.*, 2014). En el año 2011, el Servicio Nacional Agrícola de los Estados Unidos de América en su informe anual menciona que México es uno de los países con mayor producción y exportación de brócoli, lo que permite suponer que es una especie que no representa una limitante en su disposición para realizar la investigación de los posibles efectos sobre el SNC y los compuestos con actividad biológica responsables que lleven al desarrollo de fitomedicamentos. De lo anterior, el objetivo general de este proyecto de tesis fue

evaluar los efectos neurofarmacológicos de extractos de *B. oleracea* var. *italica* utilizando modelos conductuales en roedores.

7. HIPÓTESIS

Si los extractos de *B. oleracea* var. *italica* generan efectos depresores en el SNC, entonces producirán efectos de tipo ansiolítico, sedante, anticonvulsivo y/o antinociceptivo en modelos experimentales en roedores.

8. OBJETIVOS GENERALES

Evaluar los efectos neurofarmacológicos de *Brassica oleracea* var. *italica* utilizando modelos conductuales en roedores.

8.1 Objetivos particulares

Evaluar el efecto ansiolítico y/o sedante de extractos de *B. oleracea* en el modelo de campo abierto, tablero con orificios, cilindro de exploración y cruz elevada en ratones.

Evaluar la interacción medicamentosa de extractos de *B. oleracea* como depresores del SNC en el modelo de potenciación de la hipnosis con pentobarbital sódico.

Analizar el efecto como antidepresivo de los extractos de *B. oleracea* en el modelo de nado forzado en ratones.

Valorar el efecto anticonvulsivo de extractos de *B. oleracea* en el modelo de crisis inducidas con pentilentetrazol en ratones.

Determinar el efecto antinociceptivo y anti-inflamatorio de extractos de *B. oleracea* en el modelo de formalina y en el daño gástrico en ratas.

9. MATERIAL Y MÉTODOS

9.1 Equipo

- Balanza analítica Sartorius BL210S
- Balanza para pesado de animales Ohaus 700/800 Series
- Cajas de acrílico (27 cm × 18 cm × 16 cm) y (23 cm × 40 cm × 20 cm)
- Tanque de vidrio de 13 cm de diámetro × 25 cm de altura
- Cilindro de vidrio de 12 cm de diámetro × 18 cm de altura
- Cilindro de metacrilato de 21 cm de diámetro × 31 cm de altura
- Tablero de madera cubierto por acrílico con 16 orificios de 3 cm de diámetro
- Cruz elevada de madera
 - Cada brazo abierto 55 cm largo × 5 cm ancho
 - Dos brazos cerrados de 25 cm largo × 5 cm ancho × 16 cm alto
 - Altura 40 cm del nivel del piso.
- Tablero con orificios de madera
- Cronómetros
- Jeringas de 1, 10, 20 mL
- Pinzas de disección
- Cánulas metálicas para administración en ratón y rata

9.2 Reactivos y fármacos

- Pentobarbital sódico (Sedalpharma[®])
- Pentilentetrazol (Sigma-Aldrich[®])
- Solución salina isotónica 0.9 %
- Formaldehído (JT Baker[®])
- Tween 80
- Indometacina (Sigma-Aldrich[®])
- Imipramina (Sigma-Aldrich[®])
- Diazepam (Psicofarma[®])
- Etosuximida (Sigma-Aldrich[®])
- Subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol[®])
- Liofilizados de semillas, brotes y vegetal maduro de brócoli (CEBAS-CSIC: Murcia, España)
- Extracto etanólico de liofilizado de vegetal maduro.

9.3 Animales

Ratas macho de la cepa Wistar y ratones hembra y macho de la cepa SW Taconic, con peso corporal entre 200-250 g y 25-30 g, respectivamente, fueron mantenidos a temperatura controlada de 22 ± 1 °C, sometidos a ciclos de luz/oscuridad de 12 h y con libre acceso al agua y alimento (*ad libitum*). Los animales utilizados en los ensayos cuya administración fue esofágica estuvieron en ayuno por al menos 12 h con libre acceso a agua. Los experimentos realizados siguieron las especificaciones de uso, manejo y cuidado de animales de laboratorio contenidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y las observadas por el Comité de Ética Institucional.

9.4 Preparación de los extractos

Los liofilizados de semillas, brotes y vegetal maduro de brócoli (donativo del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del CEBAS-CSIC de Murcia, España), así como el extracto etanólico de vegetal maduro fueron resuspendidos en agua a temperatura ambiente o a 70 °C el mismo día de la administración. Las administraciones fueron vía intraperitoneal (i.p.) y/o esofágica (p.o.) en un volumen de 0.1 mL/10 o 100 g de peso corporal ratón o rata, según el caso.

9.5 Evaluación farmacológica

El uso de los animales ha sido fundamental para el desarrollo de la investigación biológica y biomédica. A través de éstos, los científicos han descubierto maneras de sanar enfermedades y prolongar la vida humana. Los resultados de investigaciones con modelos animales proporcionan información necesaria y a corto plazo debido a que sus ciclos vitales son más cortos. En este proyecto de tesis se utilizaron varios modelos de conducta en roedores para conocer los efectos de *B. oleracea* sobre el SNC. En estos modelos, la respuesta a medir se basa en la suposición de que la conducta inducida en los animales es comparable

a alguna(s) de la(s) observada(s) en la patológica en seres humanos (Ohl, 2005). Los roedores se manipularon al menos un día antes de realizar las evaluaciones neurofarmacológicas. Los animales se colocaron al azar en grupos, sin remplazo, de no menos de 6 individuos. Los modelos utilizados después de transcurridos 30 min de la administración de los tratamientos (vehículo, extractos y fármacos de referencia) fueron los relacionados con ansiedad, sedación, depresión, nocicepción y crisis convulsivas, los cuales se describen con más detalle a continuación:

9.5.1 Modelo de campo abierto.- Hall (1934) describió el modelo de campo abierto para evaluar la actividad ambulatoria. Los ratones se colocaron individualmente en una caja de acrílico (27 cm × 18 cm × 16 cm), cuyo interior está dividido en 12 rectángulos (6 cm × 6.5 cm). El número de rectángulos explorados por cada ratón se registró en un intervalo de 2 min. La disminución en el número de cuadros explorados o cruzamientos es tomada como referencia de efecto sedante en el roedor (Prut y Belzung, 2003; Oliva *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2006) (Figura 7).

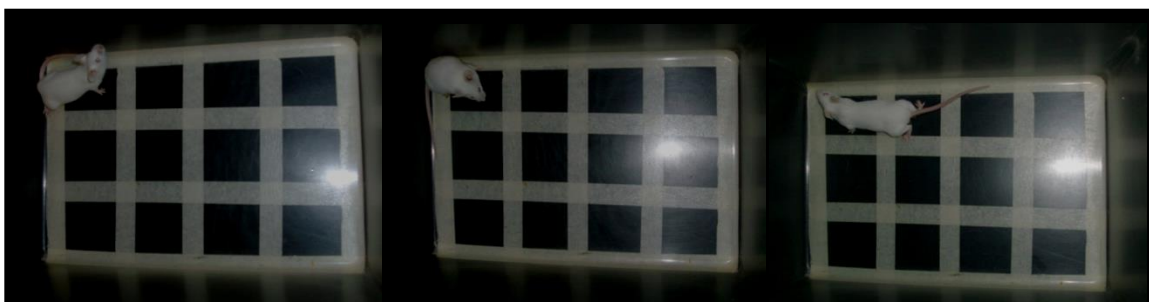


Figura 7. Transiciones del ratón en el campo abierto.

9.5.2 Modelo de exploración en cilindro.- El modelo de exploración en cilindro fue descrito por Hiller y Zetler (1996), se utiliza para corroborar la actividad tranquilizante de un fármaco en roedores. El ensayo consiste en colocar al roedor en el interior de un cilindro de vidrio por 5 min y contar los levantamientos de los ratones realizados sobre sus extremidades posteriores apoyando ambas extremidades anteriores en la pared del cilindro, la disminución de los

levantamientos es interpretada como actividad ansiolítico-sedante (Hiller y Zetler, 1996; Oliva *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2006) (Figura 8).

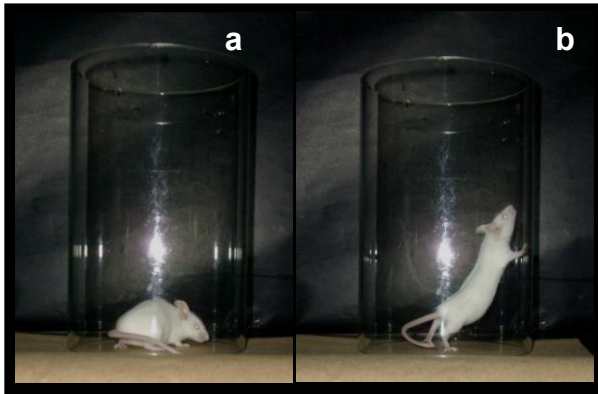


Figura 8. Comportamiento en la exploración en cilindro de vidrio: a) ausencia de movimiento en el cilindro, b) levantamiento en el cilindro.

9.5.3 Modelo del tablero con orificios.- Esta prueba conductual fue descrita por Boissier y Simon (1962) como un método para medir la respuesta de un animal a un entorno desconocido. Al terminar la prueba del campo abierto, los ratones fueron colocados individualmente sobre la superficie de un cubo de madera (24 cm × 24 cm × 20 cm) perforada con 16 agujeros de 3 cm de diámetro con distribución igualitaria entre sí y delimitada por paredes de acrílico de 20 cm de alto. El número de veces que el ratón introduce la cabeza en alguno de los orificios “*head dipping*” se registró durante 3 min. La disminución de la exploración de orificios con respecto al control es indicativa de efecto ansiolítico (Martínez *et al.*, 2006; Pérez-Ortega *et al.*, 2008; Aguirre-Hernández *et al.*, 2010) (Figura 9).

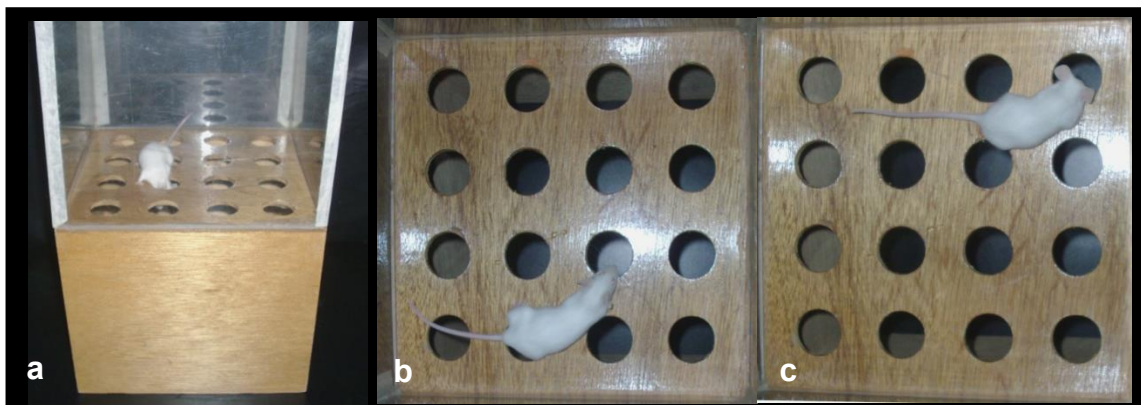


Figura 9. Modelo del tablero con orificios: fotografía del tablero con orificios mientras el ratón realiza “*head dipping*” (a y c). Exploración del ratón en el tablero con orificios sin conducta de “*head dipping*” (b).

9.5.4 Modelo de cruz elevada.- La cruz elevada es un modelo conductual de exploración descrito por File y cols., (1985). El modelo combina la exploración con la aversión de los roedores a permanecer en espacios abiertos o elevados. La prueba consistió en colocar al roedor en la intersección de la cruz elevada y la conducta de exploración en brazos abiertos o cerrados se evaluó por 5 min. Un aumento significativo en el tiempo que los ratones permanecieron en los brazos abiertos y el número de entradas a éstos en comparación con los animales que recibieron vehículo se considera como un efecto ansiolítico (Figura 10) (Walf y Frye, 2007).

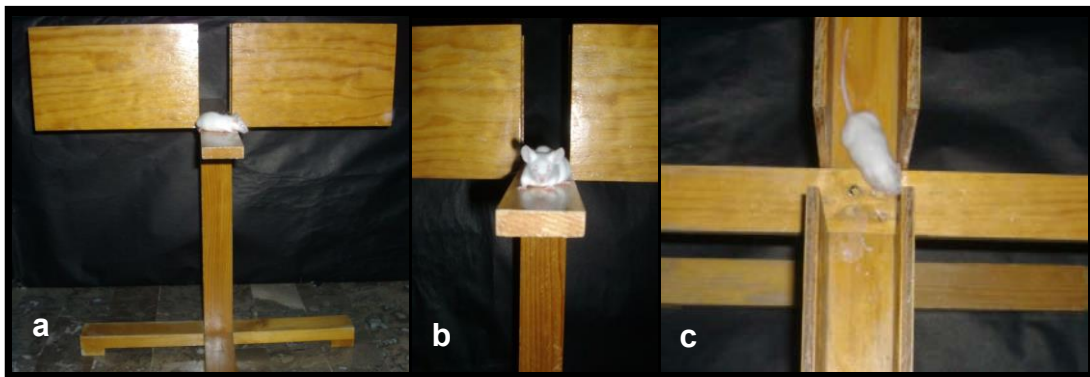


Figura 10. Modelo de cruz elevada: exploración de ratón en el brazo abierto de la cruz elevada (a y b); salida del ratón del brazo cerrado de la cruz elevada (c).

9.5.5 Potenciación del sueño inducido con pentobarbital sódico (PBS).- Consistió en la administración de PBS a la dosis de 42 mg/kg i.p., 40 min después de la administración de los tratamientos. Se registró la latencia a la incoordinación motora (sedación), enseguida la latencia a la pérdida del reflejo de enderezamiento (hipnosis) y finalmente, el tiempo en que se recupera de la pérdida del reflejo de enderezamiento (hipnosis). Si las latencias de sedación e hipnosis disminuyen o la duración de la hipnosis aumenta, es indicador de un sinergismo de potenciación de la acción depresora de los fármacos involucrados (González-Trujano *et al.*, 1998) (Figura 11).



Figura 11. Potenciación de la hipnosis con PBS. Conducta de pérdida del reflejo de enderezamiento que indica el inicio de la hipnosis (a); ratón completamente relajado, con esta conducta permite evaluar la duración de la hipnosis (b)

9.5.6 Inducción de convulsiones tónico-clónicas con pentilentetrazol (PTZ).-

Considerando que los extractos de *B. oleracea* producen efectos depresores del SNC se evaluó su eficacia para reducir la severidad de las convulsiones tónico-clónicas inducidas con PTZ, un antagonista alostérico del aminoácido inhibidor ácido γ -aminobutírico (GABA). Después de transcurridos 30 min de la administración de los tratamientos, los animales recibieron PTZ (80 mg/kg i.p.) para inducir crisis de tipo tónico-clónico; inmediatamente después de la administración del PTZ, los ratones se observaron en una caja de acrílico con cama delgada de aserrín y se registraron las latencias a la primer mioclonia, crisis generalizada y crisis tónica o muerte (Dhir, 2012). Los compuestos que modifican el umbral de las crisis convulsivas al retardar la crisis o la severidad y número de las mismas se consideró como actividad anticonvulsiva (Figura 12).

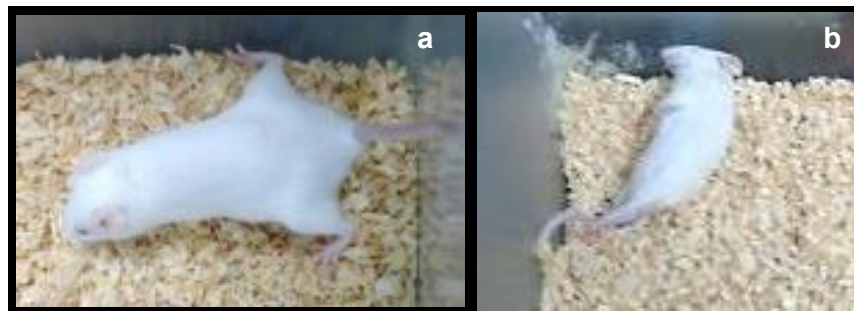


Figura 12. Crisis generalizada (a) y tónica (b) inducidas con PTZ

9.5.7 Modelo de depresión.- Los requisitos mínimos para un modelo animal de depresión válido son: (i) los síntomas presentados en el modelo son análogos a los presentados en la enfermedad humana, (ii) los cambios de comportamiento deben poder monitorearse objetivamente, (iii) producir cambios de comportamiento que se pueden invertir mediante el tratamiento eficaz en seres

humanos y (iv) reproducible. El modelo de nado forzado es uno de los más utilizados como de primera elección en la búsqueda de fármacos con actividad antidepresiva (Deussing, 2006).

Nado forzado.- La prueba de nado forzado fue propuesta por Porsolt y colaboradores (1977). En este modelo, los ratones fueron expuestos individualmente a un pre-nado de 15 min en tanques de vidrio con 1.7 L de agua, a temperatura de 22 ± 1 °C. Al día siguiente los animales fueron puestos en la prueba de campo abierto para observar su actividad ambulatoria, enseguida se administraron los tratamientos (i. SSI 0.9 % p.o., ii. suspensión de liofilizado de vegetal maduro de brócoli (100 mg/kg), p.o., iii. imipramina (25 mg/kg, fármaco de referencia), p.o. ó el extracto etanólico de brócoli (100 mg/kg), i.p.) y se dejaron transcurrir 30 min. Entonces, los animales fueron observados en el modelo de campo abierto para registrar su actividad ambuladora y en seguida se expusieron a un nado de 5 min durante el cual fueron filmados para después ser secados y sacrificados. El estudio de las conductas videograbadas se realizó analizando el tiempo de nado, escalamiento, inmovilidad y buceo. La disminución de la inmovilidad es interpretada como un efecto tipo antidepresivo, ya que en el animal hay un incremento de la motivación para salir del tanque de agua (Rodríguez-Landa y M-Contreras, 2000) (Figura 13).

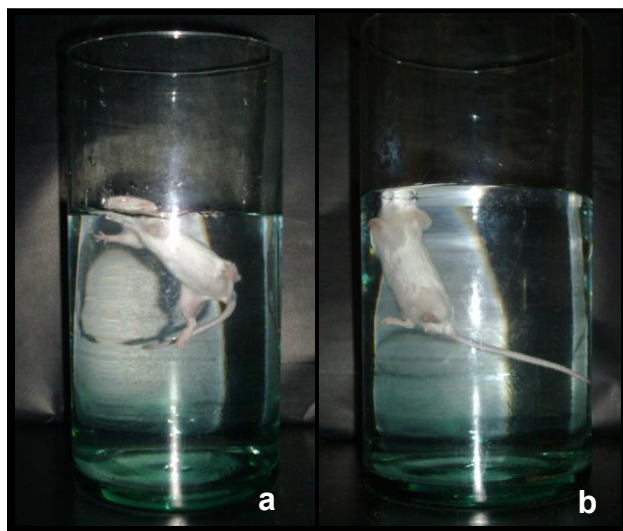


Figura 13. Modelo de nado forzado. Conducta de nado (a) e inmovilidad (b).

9.5.8 Nocicepción inducida con formalina al 1 %.- Ratas de la cepa Wistar se manipularon con 24 h de anticipación para su adaptación al medio. Las ratas estuvieron de manera individual dentro de cilindros de acrílico rodeado con espejos para facilitar la visión de la conducta desde todos los ángulos del evaluador. Los animales fueron colocados al azar en grupos de no menos de 6 sujetos cada uno y fueron administrados con: i) SSI 0.9 % por vía esofágica; ii) suspensión de liofilizados de semillas, brotes o vegetal maduro de brócoli (100 y 1000 mg/kg, p.o.); iii) indometacina (20 mg/kg, p.o. e i.p.) ó extracto etanólico de brócoli (100 mg/kg, i.p.). Después de transcurridos 30 min, la nocicepción se indujo localmente con 50 µL de formalina al 1 % vía intradérmica en la extremidad posterior derecha, enseguida las ratas se regresaron al cilindro de acrílico para evaluar la conducta nociceptiva expresada con número de sacudidas y/o tiempo de lamida de la extremidad inyectada en intervalos de 1 min cada 5 min por 1 h. Se reportan dos fases de nocicepción: la neurogénica en los primeros 0-10 min y la inflamatoria de los 10-60 min. La disminución significativa de cualquiera de las fases se interpreta como efecto antinociceptivo (Tjølsen *et al.*, 1992; González-Ramírez *et al.*, 2012).

9.5.9 Daño gástrico.- Terminada la prueba de nocicepción, los animales fueron sacrificados dentro de una cámara de CO₂. Los estómagos se disecaron y llenaron con 10 mL de formaldehído al 10 % para la fijación de un posible daño gástrico. Pasados 10 min, los estómagos fueron abiertos por la curvatura mayor y enjuagados con agua para eliminar su contenido, ser escaneados y facilitar la observación y medición de las posibles lesiones gástricas. La metodología anterior también se realizó en animales que fueron tratados con los extractos de brócoli y con subsalicilato de bismuto (17.5 mg/mL p.o.). Se dejaron transcurrir 30 min y se les indujo daño gástrico con 1 mL de etanol absoluto por 1 h (Tanaka, *et al.*, 1997; González-Ramírez *et al.*, 2012; Cristians *et al.*, 2013).

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como el promedio \pm error estándar de la media y se analizaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) de una vía seguido de la comparación de las medias contra grupo control con la prueba de Dunnett. También se analizaron datos mediante ANDEVA de una vía seguido de la prueba de Student-Newman-Keuls. La diferencia significativa se consideró para una $P < 0.05$. Para el análisis se utilizó el programa de cómputo GraphPad Prism (GraphPad Software, 2007).

11. RESULTADOS

11.1 Efecto tipo ansiolítico-sedante

La actividad ambuladora de los ratones administrados vía esofágica con liofilizados de brócoli o vía intraperitoneal con el extracto etanólico no se modificó en la condición de una dosis de 100 mg/kg. En contraste, el fármaco de referencia diazepam a la dosis de 1 mg/kg i.p. produjo disminución significativa en el número de cuadros explorados en la prueba de campo abierto (Figura 14).

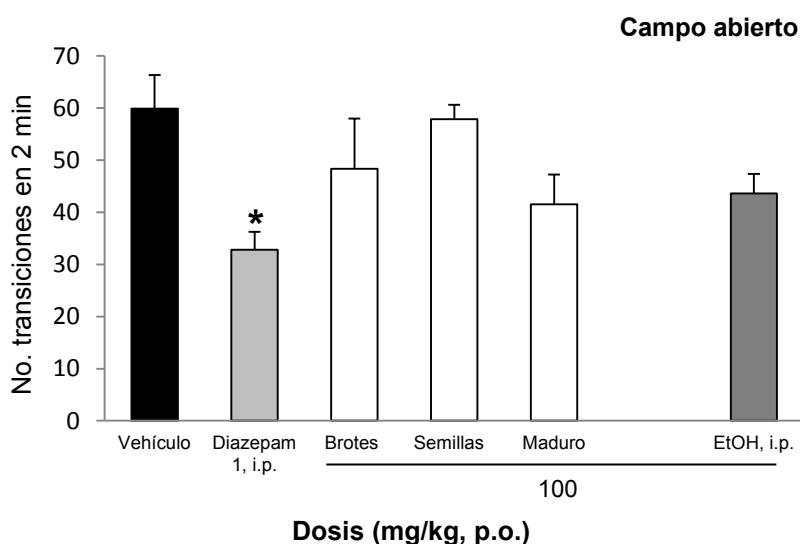


Figura 14. Evaluación de la actividad ambuladora en campo abierto. Los ratones recibieron la administración del fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.), liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. * $P < 0.05$ indica diferencia significativa vs vehículo.

Respuesta similar se observó en la prueba del cilindro de vidrio, donde la exploración de los ratones en forma de levantamientos sólo se modifica en los ratones que recibieron el fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg). Aún cuando los ratones tratados con los extractos se ven más tranquilos, la conducta no es significativamente diferente de los que recibieron vehículo (Figura 15).

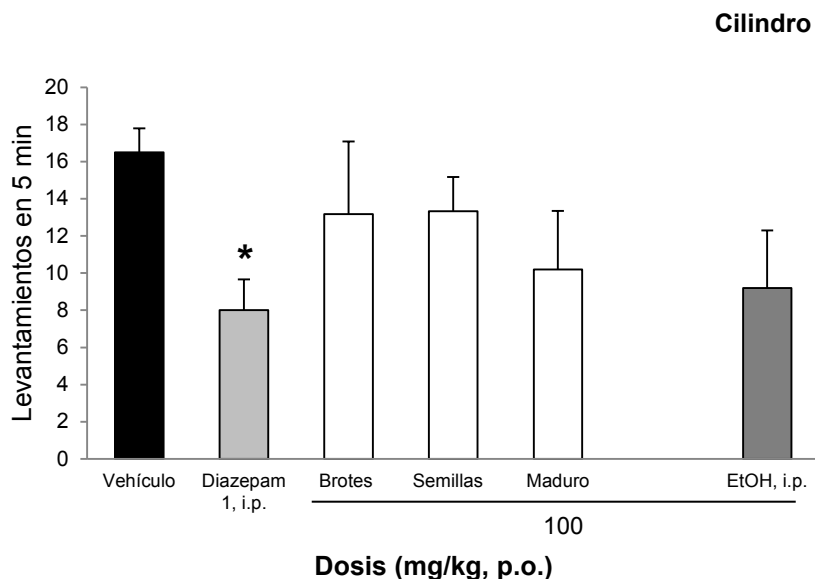


Figura 15. Evaluación de la actividad exploradora en cilindro. Los ratones recibieron la administración del fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.) los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio ± error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo.

En contraste a lo observado en el modelo de campo abierto y al cilindro de exploración, en la prueba de tablero con orificios se observó que los liofilizados producen efecto ansiolítico a la dosis de 100 mg/kg, brotes y vegetal maduro, en comparación con el grupo vehículo al mostrar una diferencia significativa similar a la observada por la presencia de diazepam (1 mg/kg), fármaco de referencia. Los extractos de semillas y el extracto etanólico de vegetal maduro mostraron cambios respecto al grupo vehículo (Figura 16).

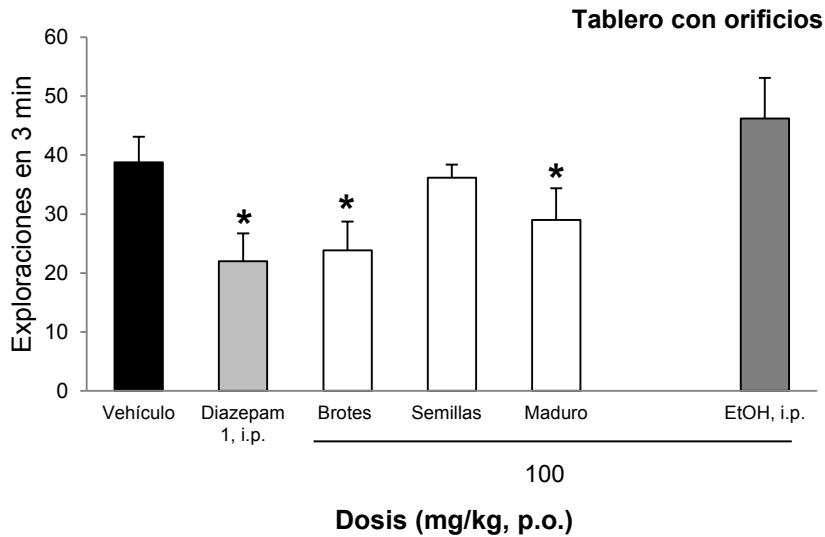


Figura 16. Evaluación de la actividad exploradora en tablero con orificios. Los ratones recibieron la administración del fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.), de los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. * $P < 0.05$ indica diferencia significativa vs vehículo.

Finalmente, en la prueba de la cruz elevada se pudo corroborar una conducta tipo ansiolítica al obtener un aumento significativo en el tiempo de exploración de los ratones en los brazos abiertos, tanto para los administrados con el fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.), como con los tratados con los liofilizados y el extracto etanólico de *B. oleracea* (100 mg/kg, p.o. e i.p., respectivamente) (Figura 17).

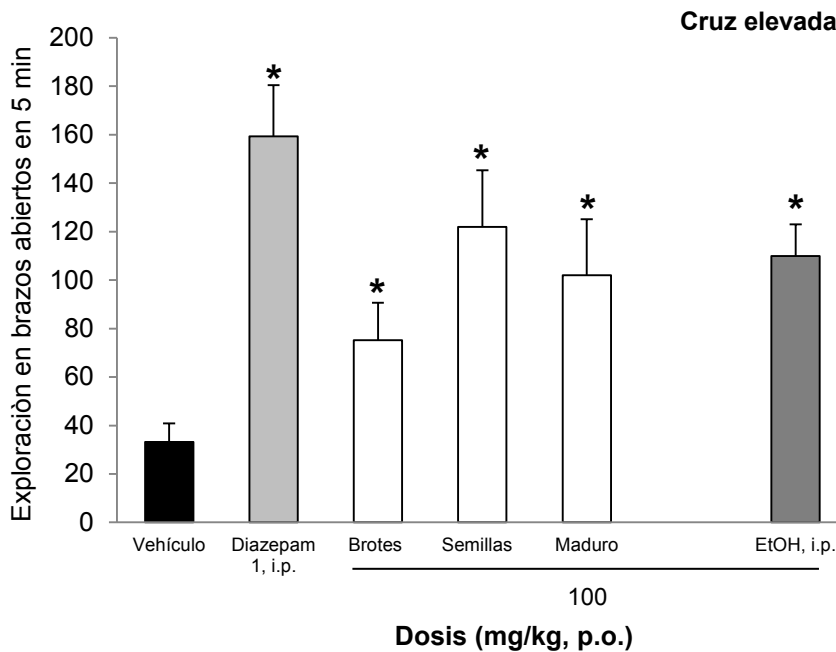


Figura 17. Evaluación de la actividad exploradora en cruz elevada. Los ratones fueron administrados con el fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.), los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. * $P < 0.05$ indica diferencia significativa vs vehículo.

11.2 Efecto sobre la potenciación de la hipnosis

Los liofilizados y el extracto etanólico de *B. oleracea* en presencia del sedante-hipnótico pentobarbital sódico produjeron disminución significativa en la latencia a la incoordinación motora de los ratones (sedación), sin cambios en la latencia a la pérdida del reflejo de enderezamiento (hipnosis) (Figura 18) similar a lo observado en la interacción con el fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.).

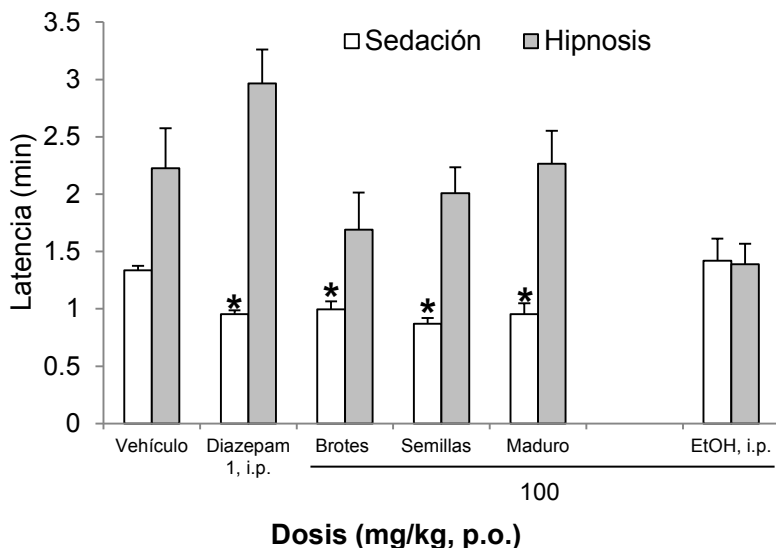


Figura 18. Evaluación de la potenciación de la hipnosis con pentobarbital sódico (42 mg/kg, i.p.). Los ratones recibieron la administración del fármaco de referencia diazepam (1 mg/kg i.p.), los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg, p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo.

En lo que respecta a la potenciación de la hipnosis, la presencia del fármaco de referencia y de todos los extractos generó aumento significativo, el cual de manera general fue mayor con los extractos acuosos que con el extracto etanólico (Figura 19).

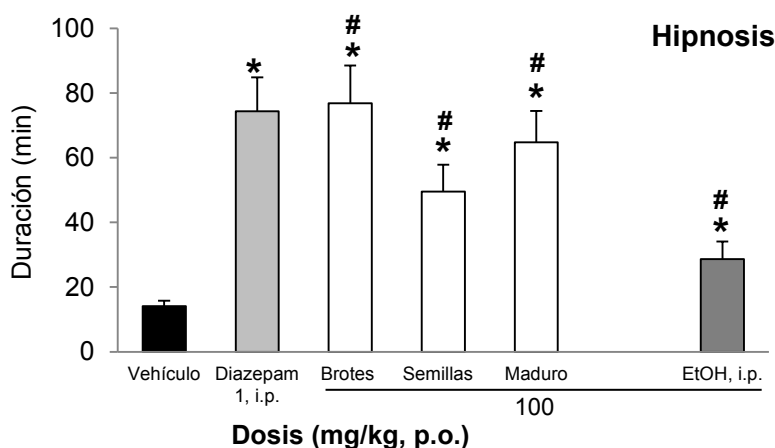


Figura 19. Evaluación de la potenciación de la hipnosis inducida con pentobarbital sódico (42 mg/kg, i.p.). Los ratones recibieron la administración de diazepam (1 mg/kg i.p.), los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg, p.o.) y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo. #P<0.05 ANDEVA de una vía seguido de la prueba Student-Newman-Keuls.

11.3 Efecto en las convulsiones tónico-clónicas con PTZ

Solo el extracto etanólico de brócoli (100 mg/kg, i.p.) produjo aumento en la latencia a la crisis generalizada y previno la muerte de los ratones por la toxicidad aguda producida por el antagonista GABAérgico (Fig. 16 y 17). En forma similar, el fármaco de referencia etosuximida (100 mg/kg, i.p.) aumentó las latencias a las crisis tipo mioclonia, generalizada (Fig. 20) y a la tónica (Figura 21).

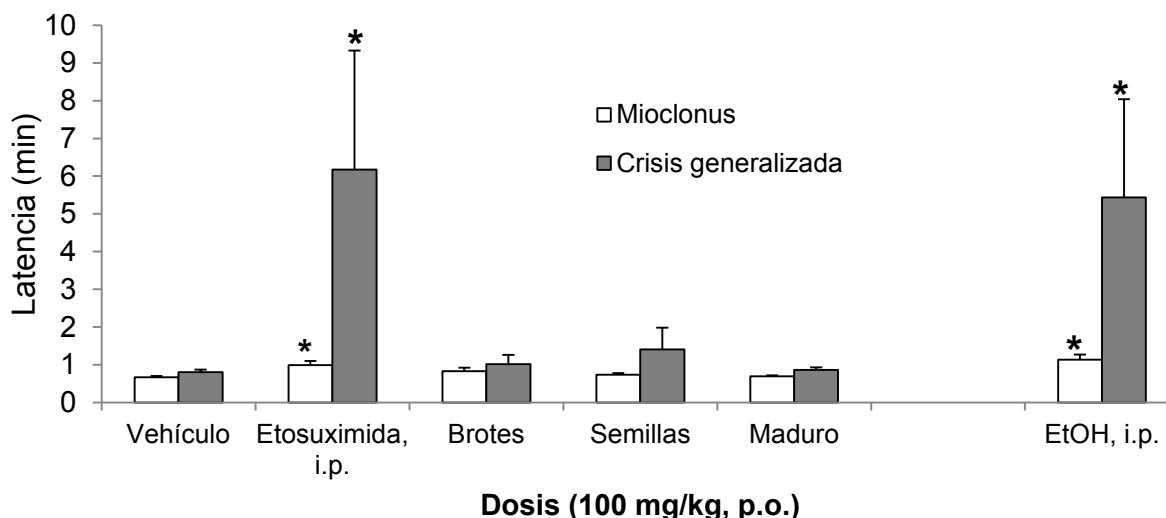


Figura 20. Evaluación de la latencia al mioclonus o crisis generalizada en la actividad anticonvulsiva inducida con PTZ (90 mg/kg, i.p.). Los ratones recibieron la administración de los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.), el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) o el fármaco de referencia etosuximida (100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo.

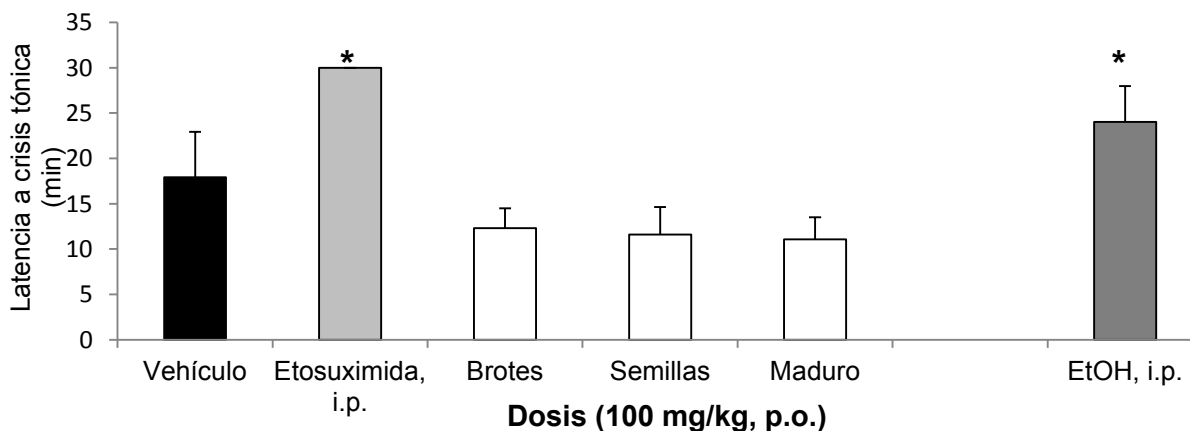


Figura 21. Evaluación de la latencia a la crisis tónica inducida con PTZ (90 mg/kg, i.p.). Los ratones recibieron la administración de los liofilizados de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.), el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) o el fármaco de referencia etosuximida (100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo.

11.4 Efecto tipo antidepresivo

En la evaluación de las conductas tipo depresivas (nado e inmovilidad), el extracto etanólico produjo disminución significativa en la inmovilidad a costa de un aumento en la conducta de nado, esto fue similar a lo observado con el fármaco de referencia imipramina (25 mg/kg, p.o.) (Figura 22A). Cabe señalar que el extracto acuoso de vegetal maduro también mostró significancia en el aumento de nado en comparación con el grupo vehículo (Figura 22B).

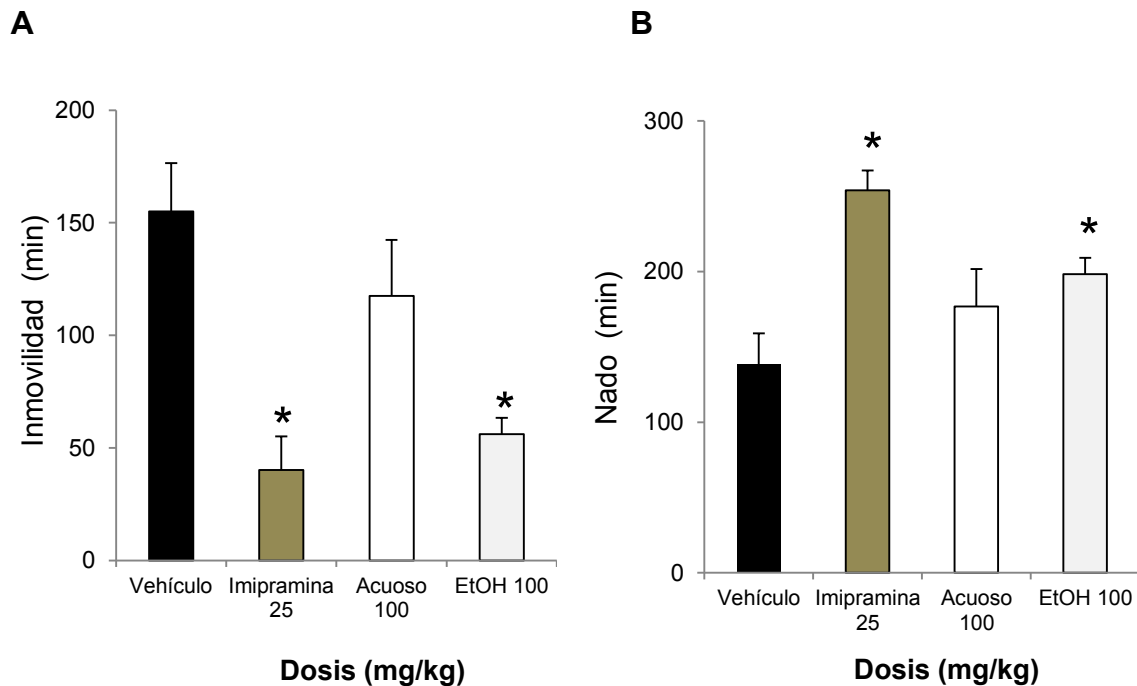


Figura 22. Evaluación de la actividad tipo antidepresiva en la prueba de nado forzado, inmovilidad (A) y nado (B). Los ratones se administraron con el liofilizado de vegetal maduro de *B. oleracea* (100 mg/kg p.o.), el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) o el fármaco de referencia imipramina (25 mg/kg) resuspendidos en medio acuoso en comparación con el grupo que recibió el vehículo. Promedio \pm error estándar de la media. *P<0.05 indica diferencia significativa vs vehículo.

11.5 Efecto antinociceptivo

En el modelo de nocicepción inducida con formalina se observó que ninguno de los liofilizados preparados a temperatura ambiente o en solución a 70 °C presentaron actividad antinociceptiva; en contraste, el extracto etanólico (100 mg/kg, i.p.) disminuyó el área bajo la curva de la conducta nociceptiva tanto en la condición de temperatura ambiente como a 70 °C con una intensidad similar a la observada con el fármaco de referencia indometacina (20 mg/kg, p.o.) (Figura 23).

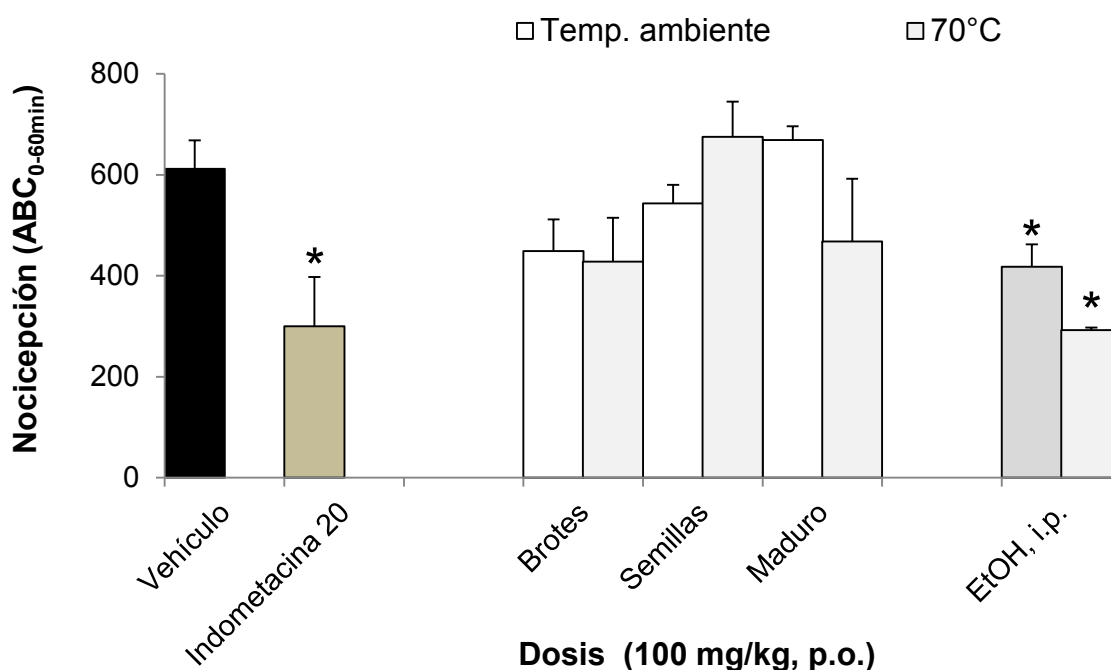


Figura 23. Evaluación de la actividad antinociceptiva en la prueba de formalina al 1 % en ratas. Las ratas recibieron los liofilizados de *B. oleracea* y el extracto etanólico (EtOH, 100 mg/kg i.p.) resuspendidos en medio acuoso a temperatura ambiente o a 70 °C en comparación con el grupo que recibió el vehículo (SSI o tween 80 al 0.2 % en solución salina). El fármaco de referencia fue indometacina (20 mg/kg, p.o.). Promedio \pm error estándar de la media. * $P < 0.05$ indica diferencia significativa vs vehículo.

11.5.1 Protección del daño gástrico

En este estudio se observó que los estómagos disecados de animales que recibieron los liofilizados de *B. oleracea* preparados en solución a temperatura ambiente no solo no afectaron la mucosa gástrica, sino que además la protegieron en la inducción de daño con etanol absoluto (Fig. 24). Lo anterior en comparación con los animales que recibieron administración del vehículo o el fármaco antiinflamatorio no esteroideo de referencia, indometacina (20 mg/kg p.o.). En el tratamiento con liofilizados de *B. oleracea* en suspensión a 70 °C, la mucosa se vio más conservada e incluso mejorada en comparación con los grupos vehículo, indometacina (20 mg/kg p.o.). A su vez, el fármaco de referencia subsalicilato de bismuto (17.5 mg/mL p.o.) produjo protección gástrica parcial, observándose erosión en la superficie muscular.

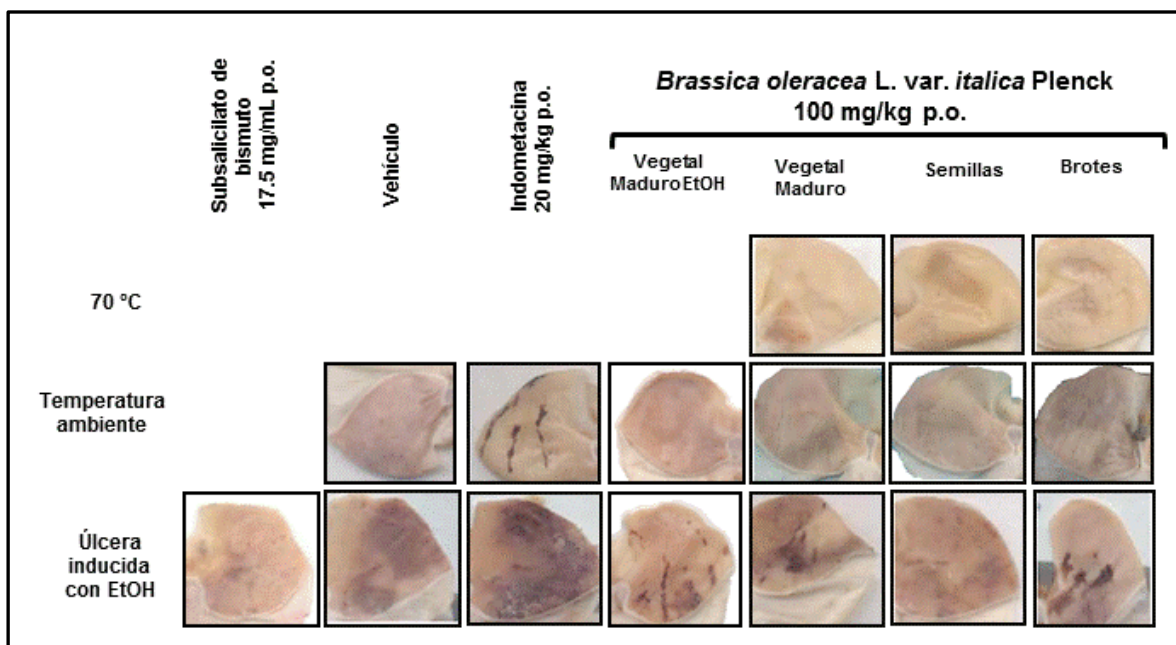


Figura 24. Estómagos disecados para evaluar el daño gástrico después de la prueba de la nocicepción inducida con formalina al 1 %. Se observan estómagos de ratas que recibieron la administración de los liofilizados solos o en la inducción de úlceras gástricas con etanol absoluto (1 mL/1 h) en comparación con el vehículo e indometacina (20 mg/kg, p.o.).

12. DISCUSIÓN

Brassica sp. es uno de los géneros vegetales pertenecientes a la familia Brassicaceae que tienen potencial de uso terapéutico, en estudios preclínicos se ha demostrado que los vegetales de este género poseen moléculas que producen efectos de tipo antidepresivos, ansiolíticos, anticancerígenos y gastroprotectores (Bosetti *et al.*, 2012), así como para la disminución de verrugas, como anti-inflamatorio y en la artritis (Bosetti *et al.*, 2012; Gallupo *et al.*, 2014). Las moléculas a las que se les atribuyen esas actividades son los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis (Lemos *et al.*, 2011; Bosetti *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2013; Thakur *et al.*, 2014).

En este proyecto se decidió realizar el perfil neurofarmacológico de extractos de brócoli, con el fin de determinar sus efectos en el SNC utilizando modelos en roedores para dar evidencia de su potencial uso en la terapéutica de afecciones del SNC. La actividad farmacológica del brócoli se exploró en diferentes estados de madurez del material vegetal: semilla, brotes y vegetal maduro, ello debido a que se sabe que en cada uno de estos estadios se encuentran diferentes cantidades de los metabolitos secundarios (Piñol y Palazón, 1993).

Los bioensayos utilizados fueron modelos de conducta, los cuales cumplen con lo propuesto por McArthur y Borsini (2006), en los cuales se somete al animal a estrés ambiental produciendo respuestas de tipo ansiedad y depresivas. Dichos modelos además siguen los criterios de modelos conductuales de Ohl (2005), que indica que los tratamientos farmacológicos conocidos en humanos deben inducir efecto comparable en el modelo animal y las respuestas o síntomas en pacientes deben ser similares a las observadas en el modelo animal. Si bien es cierto que un modelo animal no reproduce toda una patología del humano, se ha considerado como una herramienta en la exploración de síntomas y marcadores de daño en comparación con fármacos de referencia usados en la clínica para determinar la eficacia de nuevas alternativas de tratamiento.

Los experimentos se iniciaron con la prueba de campo abierto con la finalidad de conocer la actividad ambulatoria de los ratones, lo cual permite

evaluar si su respuesta conductual de exploración en asociación con las respuestas observadas en los demás modelos muestra un efecto tranquilizante o depresor del SNC asociado a actividad ansiolítica o ansiolítica-sedante, ya que cuando los ratones reducen significativamente su actividad ambuladora se sugiere que se presenta actividad sedante (Prut y Belzung, 2003). Al no observar que los animales disminuyeran significativamente las transiciones en el campo abierto sugiere que los tratamientos no se asocian con sedación. Este modelo y otros son sensibles a fármacos de tipo benzodiazepinas y agonistas del receptor 5-HT_{1A} (Prut y Belzung, 2003), por ello se utilizó como fármaco de referencia al diazepam, ansiolítico reconocido en su acción clínica por su mecanismo de acción GABAérgico. La respuesta no sedante observada en el modelo de campo abierto se corroboró con las del modelo de cilindro de vidrio, donde tampoco se observó diferencia en la actividad exploradora de los animales con tratamiento, ya que se ha reportado que la disminución de la exploración permite identificar fármacos tranquilizantes y/o sedantes (González-Trujano y cols, 2006).

Enseguida de las evaluaciones en el campo abierto y el cilindro, se realizó el ensayo del tablero con orificios, en el cual se observó la disminución significativa de la exploración de los orificios en el tablero cuando los ratones se trataron con brotes y vegetal maduro de brócoli. La respuesta presentada es indicativa de efecto tipo ansiolítico (Martínez *et al.*, 2006; Pérez-Ortega *et al.*, 2008; Aguirre-Hernández *et al.*, 2010). Cabe señalar que existe controversia en los reportes para este modelo, ya que hay estudios en los que al administrar diazepam como fármaco ansiolítico, reportan el aumento de la actividad exploratoria a las dosis de 2 y 1.5 mg/kg vía i.p. (Mendonça *et al.*, 2009; Jindal, Mahesh y Kumar, 2013) y en otros estudios se ha reportado que con el mismo fármaco a las dosis de 0.1, 0.3 y 1 mg/kg vía i.p., se produce disminución en la actividad de “*head-dipping*”, ello indica que las respuestas ansiolíticas del diazepam son dependientes de la dosis y este último reporte está de acuerdo con nuestros resultados. Takeda y cols. (1998) proponen que la disminución en el comportamiento de exploración se debe incluso al nivel de estrés de los animales. Para corroborar el efecto ansiolítico de los tratamientos con brócoli, en este

proyecto se utilizó además el modelo de exploración de “*plus maze*”, el cual es quizás el más utilizado, validado y sensible en la búsqueda de tratamientos de tipo ansiolítico (Walf y Frye, 2007; Koob y Zimmer, 2012). Con estos datos se corroboró que los animales que recibieron los tratamientos con semilla, brotes, vegetal maduro, así como el extracto etanólico aumentan el tiempo de exploración en los brazos abiertos de la cruz elevada reforzando su efecto tipo ansiolítico. Estudios de la literatura (Kumar y cols., 2013) reportan que la especie *B. juncea* produce efecto de tipo ansiolítico en animales a los que se les induce un estado tipo diabetes. Los resultados de nuestro estudio con *B. oleracea* soportan que el género *Brassica* posee especies con actividad depresora sobre el SNC.

Para continuar con el perfil neurofarmacológico, después de observar que los tratamientos producen efectos depresores sobre el SNC como ansiolíticos, se analizó su posible interacción con un depresor conocido como pentobarbital sódico, donde se observó que efectivamente los efectos sedantes-hipnóticos de este fármaco se potencian en presencia de los liofilizados y el extracto etanólico de brócoli como se ha reportado para otras sustancias (Muñoz-Cuevas, 2011). En la consideración de que su actividad depresora involucre la posible inhibición neuronal de tipo GABAérgico, se pensó en la posibilidad de que estos tratamientos fueran eficaces para reducir la actividad convulsiva inducida con un antagonista GABAérgico como el PTZ (Ospina *et al.*, 2013; Yuen y Trocóniz, 2015), sin embargo se observó que al menos bajo las condiciones evaluadas en nuestro proyecto sólo produce el efecto tranquilizante de tipo ansiolítico y no así efecto anticonvulsivo, como el que presentaron los animales administrados con el fármaco de referencia etosuximida. En el futuro podrían probarse otras dosis y condiciones para valorar su potencial en este tipo de alteración del SNC.

En las alteraciones del SNC como la ansiedad, también se ha involucrado a la depresión; a veces incluso en una estrecha relación (Pini *et al.*, 2003; Collimore y Rector, 2014). En este proyecto se incluyó por tanto la prueba de nado forzado la cual permite evaluar conductas de tipo depresivo por la desesperanza que se genera en el ratón ante una situación que le imposibilita escapar (Rodríguez-Landa y M-Contreras, 2000). Lo obtenido en la prueba fue

que el brócoli produce efectos de tipo antidepresivo al aumentar el tiempo de nado y disminuir la inmovilidad en una forma similar a lo observado con imipramina, fármaco antidepresivo de referencia (López-Muñoz *et al.*, 2008). En la literatura se reporta que la especie *B. juncea* L. produce efectos de tipo antidepresivo en animales con hiperglucemia (Kumar y cols, 2014), nuestros resultados refuerzan que especies de *Brassica* producen este efecto incluso en ratones normoglucémicas. Kumar y cols. (2013) reportaron que los efectos de *B. juncea* L. se deben a que posee flavonoides como la isorramnetina y la rutina, los cuales se ha demostrado reducen los síntomas de depresión, este efecto fue registrado en la patente de Chatterjee y cols (2005); pero también se ha encontrado que *Lepidium meyenii* Walpers, “maca”, que es miembro de la familia Brassicaceae, posee glucosinatos a los que se les atribuye la respuesta favorable ante situaciones de estrés, depresión y ansiedad (López-Fando *et al.*, 2004; Gonzales *et al.*, 2014).

Existen enfermedades que integran una serie de síntomas entre los que se involucran la ansiedad, la depresión, las alteraciones del sueño y el dolor, tal es el caso de la afección del SNC denominada fibromialgia, en la que se reportan mayoritariamente los síntomas de depresión en la presencia de dolor crónico (Staud, 2006). Respecto a estas asociaciones, fue de interés analizar si el extracto acuoso y/u orgánico de *B. oleracea* presentan actividad antinociceptiva. Para ello, se utilizó la prueba de nocicepción inducida con formalina en ratas, la cual ofrece como ventajas que con ella se puede identificar actividad antinociceptiva central y también aquella asociada a inflamación. En este modelo se observó que los tratamientos con el extracto acuoso de brotes, semillas y vegetal maduro de brócoli a temperatura ambiente y 70 °C, en dosis de 100 y 1000 mg/kg no produjeron efecto antinociceptivo, pero sí en el caso del extracto etanólico a temperatura ambiente y 70 °C con la dosis aguda de 100 mg/kg, vía i.p., el cual fue significativo y similar al producido por el AINE indometacina. Aunque cabe señalar que en el padecimiento de fibromialgia no son funcionales los analgésicos del grupo AINEs, este resultado sugiere que será interesante evaluar dicho extracto en un modelo propiamente de fibromialgia con la finalidad de conocer si es útil para atenuar varios de los síntomas que se presentan en este

padecimiento. De otra forma, para aumentar el potencial de algunos fármacos también se puede pensar en la administración combinada con otros fármacos para aumentar la eficacia en este padecimiento de difícil tratamiento (Hartman *et al.*, 2006).

Se ha encontrado que de las crucíferas, el brócoli es el que mayor cantidad de glucosinolatos posee, entre ellos los sulforafanos e isotiocianatos derivados de la glucorafanina. También se ha reportado que los productos de la hidrólisis de los glucosinolatos son glucoiberina, sinigrina y progoitrina (Cartea *et al.*, 2008). Tanto los glucosinolatos como isotiocianatos son moléculas bioactivas, que poseen actividad quimioprotectora que disminuye el riesgo de desarrollar distintos tipos de cáncer y también se ha encontrado actividad antioxidante, motivo por el cual los glucosinolatos, isotiocianatos y la enzima mirosinasa se han convertido en objeto de estudio en los últimos años (Moreno *et al.*, 2006; Bosetti *et al.*, 2012; Oliviero *et al.*, 2014). Respecto a usar en este estudio un extracto en la condición de temperatura a 70 °C, que como se muestra mejoró el efecto antinociceptivo del extracto etanólico de *B. oleracea*, se utilizó con la finalidad de inactivar a la enzima mirosinasa, la cual se sabe que hidroliza los glucosinolatos a sus productos azufrados; pero a temperaturas mayores a 70 °C esta enzima es desnaturalizada y entonces se inhibe la hidrólisis de los glucosinolatos. De lo anterior, con este método se esperaría tener en mayor proporción la concentración de glucosinolatos que de productos de hidrólisis (Moreno *et al.*, 2006; Padilla *et al.*, 2007; Oliviero *et al.*, 2014). Lo anteriormente expuesto y nuestros resultados permiten sugerir que el efecto antinociceptivo involucra tanto la acción de los glucosinolatos como de los isotiocianatos de *B. oleracea*. Este efecto antiinflamatorio ha sido previamente reportado por Mazzon y cols. en 2014 donde se observó que la glucomoringina, isotiocianato producido por *Moringa oleifera*, tiene la capacidad de ejercer efectos antioxidantes y antiinflamatorios en células en proceso apoptótico, ya que disminuyen los factores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral (TFN- α) e interleucina 10 (IL-10). Existen también glucosinolatos indólicos y aromáticos que se han modificado para realizar derivados, éstos al ser probados en líneas celulares de monocitos humanos inmaduros (modelo de leucemia) inhibieron la

secreción del TNF- α , concluyendo potenciales efectos antiinflamatorios sobre las células (Vo *et al.*, 2013, 2014). Por lo tanto, *B. oleracea* posee propiedades tanto antinociceptivas como anti-inflamatorias.

Debido a que los efectos de los fármacos analgésicos y anti-inflamatorios se han asociado a daño gástrico, los estómagos de las ratas se aprovecharon para ser observados después de la evaluación antinociceptiva con el fin de analizar posible daño gástrico, el cual no se presentó en los animales con el tratamiento de los liofilizados o el extracto etanólico pero sí en las ratas tratadas con el fármaco de referencia indometacina, con lo que se corrobora el efecto adverso más reportado para este tipo de fármacos como agentes causantes de lesiones gástricas (Traversa *et al.*, 1995; García-Rodríguez y Hernández-Díaz, 2004). En cuanto a los extractos de brócoli, no se encontraron lesiones ulcerosas, por tanto se decidió observar si producían gastroprotección; para ello se trataron a las ratas con los extractos y se indujo daño gástrico con un etanol absoluto (1 mL/1 h) y se observó que en condiciones de resuspensión a temperatura ambiente y en solución a 70°C se preserva la mucosa, siendo mejor a 70 °C. El subsalicilato de bismuto, protegió parcialmente de las lesiones al estómago. En general, las lesiones gástricas disminuyeron en área de lesión en comparación de las lesiones del control y con indometacina. Se ha propuesto que los efectos del etanol están asociados con la formación de especies reactivas de oxígeno, lo que produce un desequilibrio entre procesos oxidantes y antioxidantes en la célula, resultando los daños en el plexo vascular al romper vasos sanguíneos, exfoliación del epitelio gástrico, erosión de la mucosa gástrica, entre otros (Lemos *et al.*, 2011). Faloni de Andrade y cols. (2011) reportaron actividad gastroprotectora del extracto etanólico de la especie *B. oleracea* var. *acephala*, lo cual se refuerza con el efecto gastroprotector obtenido para la especie de *B. oleracea* var. *italica* estudiada en este proyecto.

13. CONCLUSIONES

La especie *Brassica oleracea* var. *italica* produce efectos de tipo ansiolítico no sedante, antidepresivo, antinociceptivo y gastroprotector en roedores reforzando las propiedades neurofarmacológicas de algunas especies del género *Brassica*.

Los efectos depresores de *B. oleracea* var. *italica* pueden potenciar el efecto de otro depresor del SNC como el pentobarbital sódico lo que sugiere que se debe tener cautela en la combinación alimento-fármaco de la misma acción terapéutica.

14. PERSPECTIVAS

Tomando como antecedente los resultados de este proyecto, se proponen como estudios de continuación a futuro:

- Elucidar las moléculas activas mediante el fraccionamiento del extracto etanólico de *Brassica oleracea* var. *italica*
- Determinar si los glucosinolatos o isotiocianatos aislados al menos en fracciones son responsables de alguna o todas las actividades evaluadas.
- Identificar el mecanismo de acción de las moléculas activas del extracto etanólico de vegetal maduro o extracto acuoso de vegetal maduro, semillas y brotes de brócoli.

15. REFERENCIAS

- Aguirre-Hernández E, González-Trujano ME, Martínez AL, Moreno J, Kite G, Terrazas T y Soto-Hernández M. 2010. HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia americana* var. *mexicana*. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 91-97.
- Argyropoulos SV, Sandford JJ y Nutt DJ. 2000. The psychobiology of anxiolytic drugs Part 2: pharmacological treatments of anxiety. *Pharmacology & Therapeutics* 88, 214-227.
- Asociación Estadunidense de Psiquiatría. 2013. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5 5th ed. *Depressive Disorders & Anxiety disorders*. Section II.
- Benjet C, Borges G, Medina-Mora ME, Fleiz-Bautista C y Zambrano-Ruiz J. 2004. La depresión con inicio temprano: prevalencia, curso natural y latencia para buscar tratamiento. *Salud Pública de México* 46, 417-424.
- Benjet C, Borges G, Medina-Mora ME, Méndez E, Fleiz C, Rojas E y Cruz C. 2009. Diferencias de sexo en la prevalencia y severidad de trastornos psiquiátricos en adolescentes de la Ciudad de México. *Salud Mental* 31, 155-163
- Boissier JR y Simon P. 1962. La reaction d'exploration chez la souris. *Therapie* 17, 1225-1232.
- Bosetti C, Filomeno M, Riso P, Polesel J, Levi Fm Talamini R, Montella M, Negri E, Franceschi S y La Vecchia C. 2012. Cruciferous vegetables and cancer risk in a network of case-control studies. *Annals of Oncology* 23, 2198-2203.
- Bowden CL. 2005. A different depression: clinical distinctions between bipolar and unipolar depression. *Journal of Affective Disorders* 84, 117-125.
- Buck PA. 1956. Origin and taxonomy of broccoli. *Economic Botany* 10, 250-253.
- Caraveo-Anduaga J, Colmenares E y Saldívar G. 1999. Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos depresivos. *Salud Mental* 22, 7-17.
- Cartea ME, Velasco P, Obregón S, Padilla G y de Haro A. 2008. Seasonal variation in glucosinolate content in *Brassica oleracea* crops grown in northwestern Spain. *Phytochemistry* 69, 403-410.
- Chabria SB. 2006. Rhabdomyolysis: a manifestation of cyclobenzaprine toxicity. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 1, 1-2.
- Chatterjee SS, Nöldner M y Schötz K. 2005. Use of rutin and isorhamnetin for treating depressive states and depression and other emotion disorders. *Biopianta Arzneimittel*. EP1599211.
- Colla ARS, Machado DG, Bettio LEB, Colla G, Magina MDA, Brighente IMC y Rodrigues ALS. 2012. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) in the tail suspension test in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 143, 720-731.
- Collimore KC y Rector NA. 2014. Treatment of anxiety disorders with comorbid depression: a survey of expert CBT clinicians. *Cognitive and Behavioral Practice* 21, 485-493.

- Cristians S, Bye R, Navarrete A y Mata R. 2013. Gastroprotective effect of *Hintonia latiflora* and *Hintonia standleyana* aqueous extracts and compounds. *Journal of Ethnopharmacology* 145, 530-533.
- Deussing JM. 2006. Animal models of depression. *Drug Discovery Today: Disease Models* 3, 375-383.
- Dhir A. 2012. Pentylene-tetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience* 9.37, 9.37.1-9.37.12.
- Eblen-Zajjur A. 2005. Neurofisiología de la nocicepción. *Gaceta Médica de Caracas* 113, 466-473.
- Fahey JW, Zalcmann AT y Talalay P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among. *Phytochemistry* 56, 5-51.
- Galuppo M, Giacoppo S, De Nicola GR, Iori R, Navarra M, Lombardo GE, Bramanti P y Mazzon E. 2014. Antiinflammatory activity of glucomoringin isothiocyanate in a mouse model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Fitoterapia* 95, 160-174.
- García-Rodríguez LA y Hernández-Díaz S. 2004. Risk of uncomplicated peptic ulcer among users of aspirin and nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American Journal of Epidemiology* 159, 23-31.
- Gonzales GF, Villaorduña L, Gasco M, Rubio J y Gonzales C. 2014. Maca (*Lepidium meyenii* WALP), una revisión sobre sus propiedades biológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 31, 100-110.
- González-Ramírez A, González-Trujano ME, Pellicer F y López-Muñoz FJ. 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the *Agastache mexicana* extracts by using several experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 700-705.
- González-Trujano ME, Navarrete A, Reyes B y Hong E. 1998. Some pharmaceutical effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice. *Phytotherapy Research* 12, 600-602.
- González-Trujano ME, Martínez AL, Reyes-Ramírez A, Reyes-Trejo B y Navarrete A. 2006. Palmitone isolated from *Annona diversifolia* induces an anxiolytic-like effect in mice. *Planta Medica* 72, 703-707.
- Grosser T, Smyth E y FitzGerald GA. 2011. Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic agents; pharmacotherapy of gout. En: Laurence Brunton L, Chabner B, Knollman B (Eds.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Mc Graw Hill: Colombia, 959-992.
- Grupo de Trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria. Madrid: Plan Nacional para el SNS del MSC. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Agencia Laín Entralgo. Comunidad de Madrid; 2008. *Guías de Práctica Clínica en el SNS: UETS N° 2006/10*, 19- 21.
- Guadarrama L, Escobar A y Zhang L. 2006. Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM* 49, 66-72.
- Gutiérrez AM y Valenzuela EL. 2007. *Guías sobre manejo farmacológico de dolor*. Universidad del Rosario: Colombia, 11-13.

- Hall CS. 1934. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology* 18, 385-403.
- Hansen SL, Sperling BB y Sánchez C. 2004. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABA_A receptor ligands in pentylenetetrazole-kindled mice. *Progress in Neuro-Pharmacology & Biological Psychiatry* 28, 105-113.
- Hartman JM, Berger A, Baker K, Bolle J, Handel D, Mannes A, Pereira D, St Germain D, Ronsabille D, Sonbolian N, Torvik S, Calis KA, Phillips TM, Cizza G y P.O.W.E.R (Premenopausal, Osteoporosis, Women, Alendronate, Depression) Study Group. 2006. Quality of life and pain in premenopausal women with major depressive disorder: the POWER Study. *Health and Quality of Life Outcomes* 4, 1-8.
- Hawkey CJ. 2001. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 15, 801-820.
- Hiller KO y Zetler G. 1996. Neuropharmacological studies on ethanol extracts of *Valeriana officinalis* L.: behavioural and anticonvulsant properties. *Phytotherapy Research* 10, 146.
- Hillhouse TM y Porter JH. 2015. A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 23, 1-21
- Iversen L. 2006. Neurotransmitter transporters and their impact and the development of psychopharmacology. *British Journal of Pharmacology* 147, 82-88.
- Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Musculoesqueléticas y de la Piel. 2014. (Web). Questions and answers about fibromyalgia. http://www.niams.nih.gov/Health_Info/Fibromyalgia/default.asp (Enlace revisado el 26 de febrero de 2015).
- Jindal A, Mahesh R y Kumar B. 2013. Anxiolytic-like effect of linezolid in experimental mouse models of anxiety. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 40, 47-53.
- Kessler RC, Soukup J, Davis RB, Foster DF, Wilkey SA, Van Rompay MI y Eisenberg DM. 2001. The use of complementary and alternative therapies to treat anxiety and depression in the United States. *The American Journal of Psychiatry* 158, 289-294.
- Kindt TJ, Goldsby RA y Osborne BA. 2007. *Inmunología de Kuby* 6a edición. Mc Graw Hill: México, 340-348
- Koh E, Wimalasiri KMS, Chassy AW y Mitchell AE. 2009. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis* 22, 637-643.
- Koob GF y Zimmer A. 2012. Animal models of psychiatric disorders. *Handbook of Psychiatric Disorders* 106, 140-143
- Kumar V, Thakur AK y Chatterjee SS. 2013. Anxiolytic-like activity of leaf extract of traditionally used Indian-Mustard (*Brassica juncea*) in diabetic rodents. *International Journal of Traditional Medicine* 3, 613-622.
- Lemos M, Santin JR, Klein Júnior LC, Niero R y Faloni de Andrade S. 2011. Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in different animal models. *Journal of Ethnopharmacology* 138, 503-507.

- Linares E, Bye R, Rosa-Ramírez D y Pereda-Miranda R. 2008. El camote. *Biodiversitas* 81, 11-15.
- Loeser JD y Treede RD. 2008. The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology. *Pain* 137, 473-477
- López-Fando A, Gómez-Serranillos MP, Iglesias I, Lock O, Upamayta UP y Carretero ME. 2004. *Lepidium peruvianum* Chacon Restores homeostasis impaired by restraint stress. *Phytotherapy Research* 18, 471-474.
- López-Muñoz F, Assion HJ, Álamo C, García-García P y Fangmann P. 2008. La introducción clínica de la iproniazida y la imipramina: medio siglo de terapéutica antidepresiva. *Anales de Psiquiatría* 24, 56-70.
- Manji HK, Drevets WC y Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7, 541-547.
- Martínez AL, Domínguez F, Orozco S, Chávez M, Salgado H, González M y González-Trujano ME. 2006. Neuropharmacological effects of an ethanol extract of the *Magnolia dealbata* Zucc. leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 106, 250-255.
- McArthur R y Borsini F. 2006. Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 84, 436-452.
- Medina-Mora ME, Borges G, Lara Muñoz C, Benjet C, Blanco Jaimes J, Fleiz Bautista C, Villatoro Velázquez J, Rojas Guiot E, Zambrano Ruíz J, Casanova Rodas L y Aguilar-Gaxiola S. 2003. Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental* 26, 1-16.
- Medina-Mora ME, Borges G, Lara C, Benjet C, Blanco J, Fleiz C, Villatoro J, Rojas E y Zambrano J. 2005. Prevalence, service use, and demographic correlates of 12-month DSM-IV psychiatric disorders in Mexico: results from the Mexican National Comorbidity Survey. *Psychological Medicine* 35, 1773-1783.
- Mendonça Netto S, Warela RWB, Fachine MF, Queiroga MN y Quintans-Júnior LJ. 2009. Anxiolytic-like effect of *Rauvolfia ligustrina* Willd. Ex Roem. & Schult., Acocynaceae, in the elevated plus-maze and hole-board tests. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19, 888-892.
- Michael T, Zetsch U y Margraf J. 2007. Epidemiology of anxiety disorders. *Psychiatry* 6, 136-142.
- Millan MJ y Brocco M. 2003. The Vogel conflict test: procedural aspects, γ -aminobutyric acid, glutamate and monoamines. *European Journal of Pharmacology* 463, 70-71.
- Moreno DA, Carvajal M, López-Berenguer C y García-Viguera C. 2006. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1508-1522.
- Muñoz-Cuevas JH. 2011. Sinergia y adición en anestesiología. *Revista Mexicana de Anestesiología* 34, en suplemento *Farmacología en anestesia* 1. 195-199.
- Muriel C. 2008. *Dolor crónico Módulo 1*. Arán Ediciones, S.L.: México. p. 18-23
- Natella F, Maldini M, Leoni G y Scaccini C. 2014. Glucosinolates redox activities: can they act as antioxidants? *Food Chemistry* 149, 226-232.

- Ohi F. 2005. Animal models of anxiety. *Anxiety and Anxiolytic Drugs* 169, 35-69.
- Oliva I, González-Trujano ME, Arrieta J, Enciso-Rodríguez R y Navarrete A. 2004. Neuropharmacological profile of hydroalcohol extract of *Valeriana edulis* ssp. *procera* roots in mice. *Phytotherapy Research* 18, 290-296.
- Oliviero T, Verkerk R, Van Boekel MAJS y Dekker M. 2014. Effect of water content and temperature on inactivation kinetics of myrosinase in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Food Chemistry* 163, 197-201.
- Organización Mundial de la Salud. 2003. *Comités de farmacoterapia, Guía práctica*. OMS: Francia, 65.
- Organización Mundial de la Salud. 2012. *Directrices de la OMS sobre el tratamiento farmacológico del dolor persistente en niños con enfermedades médicas*. WHO: Suiza, 18-22
- Organización Mundial de la Salud. 2012. (Web) Mental health. Depression. Disponible en: http://www.who.int/mental_health/management/depression/en/ (Enlace revisado el 13 de agosto de 2015).
- Organización Mundial de la Salud. 2014. (Web) Mental health: a state of well-being. Disponible en: http://www.who.int/features/factfiles/mental_health/es/ (Enlace revisado el 13 de agosto de 2015).
- Organización Mundial de la Salud. 2015. (Web) International statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision Version: 2015. Disponible en: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2015/en/> (Enlace revisado el 13 de agosto de 2015).
- Ospina J, Rincón J y Guerrero M. 2013. Perfil neurofarmacológico de la fracción butanólica de las hojas de *Cecropia peltata* L. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 42, 244-259.
- Padilla G, Carrea ME, Velasco P, de Haro A y Ordás A. 2007. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*. *Phytochemistry* 68, 536-545.
- Park S, Arasu MV, Jiang N, Choi SH, Lim YP, Park JT, Al-Dhabi ND y Kim SJ. 2014. Metabolite profiling of phenolics, anthocyanins and flavonols in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Industrial Crops and Products* 60, 8-14.
- Pellow S, Choin P, File SE y Briley M. 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 14, 149-167.
- Pérez-Ortega G, Guevara-Fefer P, Chávez M, Herrera J, Martínez A, Martínez AL y González-Trujano ME. 2008. Sedative and anxiolytic efficacy of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences used traditionally by communities of State of Michoacan, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 461-468.
- Prut L y Belzung C. 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 463, 3-33.
- Pini S, Amador XF, Dell'Osso L, Baldini Rossi N, Cassano P, Savino M y Cassano GB. 2003. Treatment of depression with comorbid anxiety disorders: differential efficacy of paroxetine versus moclobemide. *International Clinical Psychopharmacology* 18, 15-21.

- Piñol M T y Palazón J. 1993. Metabolismo secundario. En: *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Azcon-Bieto J y Talón M (eds) Editorial Interamericana Mc Graw Hill. España. 581.
- Porsolt RD, Pichon ML y Jalife M. 1977. Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment. *Nature* 266, 730-732.
- Prut L y Belzung C. 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 463, 3-33.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM y Flower RJ. 2008. *Rang y Dale Farmacología* 6a ed. Elsevier S.L.: Madrid, 557-558.
- Rincón Pérez A. 2014. Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. *Alimentos Hoy*, Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 22, 64-80.
- Rodríguez-Landa JF y M-Contreras. 2000. Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Archivos de Neurociencias (Méx)* 5, 74-83.
- Rudolph U y Möhler H. 2006. GABA-based therapeutic approaches: GABA_A receptor subtype functions subtype functions. *Current Opinion in Pharmacology* 6, 18-23.
- Sandford JJ, Argyropoulos SV y Nutt DJ. 2000. The psychobiology of anxiolytic drugs Part 1: basic neurobiology. *Pharmacology & Therapeutics* 88, 197-212.
- Schweinhardt P, Sauro KM y Bushnell MC. Fibromyalgia: a disorder of the brain? *The neuroscientist* 24, 415-421.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. México
- Secretaría de Salud. 2013. Norma Oficial Mexicana NOM-220-SSA1-2012, *Instalación y operación de la farmacovigilancia*. México, 7
- Servicio Nacional de Estadísticas Agrícolas. 2008. (Web) Broccoli and cauliflower: U.S. Import-eligible countries. Disponible en: http://www.ers.usda.gov/datafiles/Phytosanitary_Regulation/Individual_Commodity_Files/Vegetables/veg-broccolicauliflower.xls (Enlace revisado el 30 de enero de 2015).
- Staud R. 2006. Biology and therapy of fibromyalgia: pain in fibromyalgia syndrome. *Arthritis Research & Therapy* 8, 1-4.
- Taiyan Z, Lianli L, Guaung Y y Al-Shehbaz I. 2001. Brassicaceae (Cruciferae). *Flora of China* 8, 20.
- Takeda H, Tsuji M y Matsumiya T. 1998. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *European Journal of Pharmacology* 350, 21-29.
- Tanaka S, Guth PH, Carryl OR y Kautnitz JD. 1997. Cytoprotective effect of bismuth subsalicylate in indomethacin-treated rats is associated with enhanced mucus bismuth concentration. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 11, 605-612.

- Thakur AK, Chatterjee SS y Kumar V. 2014. Antidepressant-like effects of *Brassica juncea* L. leaves in diabetic rodents. *Indian Journal of Experimental Biology*, 613-622.
- Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH y Hole K. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 51, 5-17.
- Toledo Á y Burlingame B. 2006. Biodiversity and nutrition: a common path toward global food security and sustainable development. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 477-483.
- Traversa G, Walker AM, Menniti F, Caffari B, Capurso L, Dezi A, Koch M, Maggini M, Spila S y Raschetti R. 1995. Gastroduodenal toxicity of different nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Epidemiology* 6, 49-54.
- Vo QV, Trenerry C, Rochfort S, Wadeson J, Leyton C y Hughes AB. 2013. Synthesis and activity of aromatic glucosinolates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21, 5945-5954.
- Vo QV, Trenerry C, Rochfort S, Wadeson J, Leyton C y Hughes AB. 2014. Synthesis and anti-inflammatory activity of indole glucosinolates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22, 856-864.
- Walf AA y Frye CA. 2007. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols* 2, 322-328.
- Woolf CJ. 2010. What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation* 120, 3742-3744
- Yuen ESM y Trocóniz IF. 2015. Can pentylenetetrazole and maximal electroshock rodent seizure models quantitatively predict antiepileptic efficacy in humans? *Seizure* 24, 21-27.
- Zapantis A y Leung S. 2005. Tolerance and withdrawal issues sedation. *Critical care nursing clinics of North America* 17, 211-223.
- Zicha O, Hrb J, Mañas M y Novák J. 2014. Biological Library (BioLib.cz). Disponible en: <http://www.biolib.cz/en/image/id8000/> (Enlace revisado el 13 de agosto de 2015).

Anexo A Productos Naturales

El metabolismo, es una serie de reacciones químicas que ocurren tanto en el reino vegetal como en el animal. En ambos reinos, los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos son moléculas indispensables ya que la mayor parte del carbono, nitrógeno, así como la energía son transformados en moléculas comunes a todas las células, siendo por tanto necesarias para el funcionamiento de los organismos.

En el reino vegetal, el metabolismo se divide en dos grupos: el primario y el secundario; siendo en el metabolismo primario donde se sintetizan los compuestos indispensables para su supervivencia (Pace, 2001). A diferencia de otros organismos, las plantas destinan a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas (denominadas metabolitos secundarios) una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía, éstas aparentemente no ejercen una función directa en los procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación o síntesis de nutrientes (Ávalos y Pérez-Urria, 2009) (Fig. 1). Los metabolitos secundarios difieren de los metabolitos primarios en que presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir que su producción está limitada a una determinada familia, género o incluso a algunas especies. Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales (Ávalos y Pérez-Urria, 2009) las cuales además son aprovechadas por el humano por sus beneficios en la salud, tales como: hesperidina/diosmina (Daflon[®]), quercetina (QG5[®]), paclitaxel (Taxol[®]), lovastatina (Mevacor[®]), entre otros.

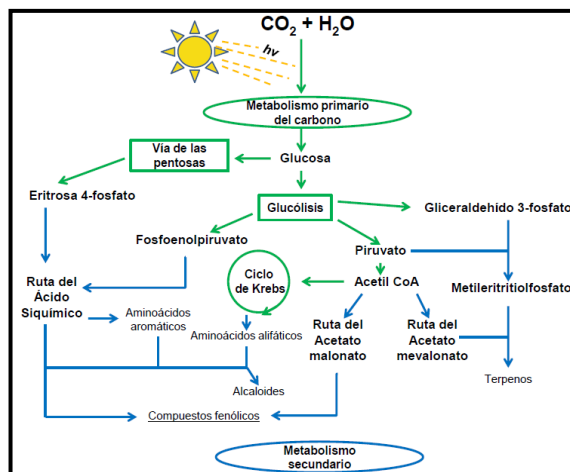


Figura 1. Relación de metabolismo primario y secundario en las plantas Modificado de Ávalos y Pérez-Urria, 2009

Los metabolitos secundarios son comúnmente clasificados en cuatro clases, siendo los glucósidos las moléculas de interés en esta tesis (Ávalos y Pérez-Urria, 2009):

- *Terpenos*. Hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- *Compuestos fenólicos*. Cumarinas, flavonoides, lignanos y taninos.
- *Alcaloides*. Alcaloides genuinos, pseudoalcaloides y protoalcaloides.
- *Glucósidos*. Glucósidos cardiogénicos y cianogénicos, saponinas y glucosinolatos.

Glucósidos

Su nombre hace referencia al enlace glucosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. No obstante, en este apartado se han considerado a los glucosinolatos debido a que el azúcar se condensa con otra molécula, aunque en este caso se refiere a un grupo tiol (Ávalos y Pérez-Urria, 2009; Variyar *et al.*, 2014).

Glucosinolatos

Estos compuestos representan una familia química de gran tamaño que son en gran parte responsables del valor nutracéutico y farmacológico del género *Brassica* (Variyar *et al.*, 2014).

Los glucosinolatos son metabolitos secundarios encontrados particularmente en las crucíferas y tienen la función de proteger a estos vegetales de rumiantes mediante la hidrólisis que produce moléculas volátiles de sabor amargo y picante. Éstos son también llamados tioglucósidos, S-glucósidos en los que la glicona es una β -D-tioglucosa y la aglicona es una oxima sulfatada, la cual posee un radical que hace la diferencia entre los diversos glucósidos. Los diferentes radicales que pueden encontrarse son de tipo alifático, aromático e indólico, ya que dependen de la naturaleza química de los aminoácidos que los originan (Variyar *et al.*, 2014).

Biosíntesis de glucosinolatos

La biosíntesis de glucosinolatos ha sido estudiada, pero no se han resuelto completamente todas las reacciones que se producen, así como las enzimas que las catalizan. La ruta de síntesis básicamente se desarrolla en tres etapas: (1) elongación de la cadena del aminoácido precursor seleccionado (principalmente metionina) por adición de grupos metileno, (2) formación del núcleo de la estructura del glucosinolato por reconfiguración de la fracción de aminoácido, así como la glucosilación de la molécula y (3) la modificación secundaria del aminoácido de la cadena lateral por reacciones de hidroxilación, metilación, oxidación o insaturación (Variyar *et al.*, 2014).

La reacción general de formación de los glucosinolatos (Fig. 2) inicia con un α -aminoácido, cabe destacar que pueden ser aminoácidos alifáticos, bencílicos e indólicos, como la metiotina, la tirosina y el triptófano, respectivamente. El aminoácido en presencia de O_2 y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (abreviada $NADP^+$ en su forma oxidada y $NADPH$ en su forma reducida) es N -hidroxilado y después descarboxilado, teniendo una aldoxima como producto. Posteriormente, la molécula recibe un tiolato mediante el ataque nucleofílico y se convierte en una imina (ácido tihidroxímico). La enzima uridina difosfato glucosa (UDPG) cataliza una reacción de S -glucosilación en el hidroximato produciendo el desulfoglucosinolato que en presencia de la 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS), que es una sulfotransferasa, cataliza la transferencia del grupo sulfato para obtener el glucosinolato como producto final (Dewick, 2002).

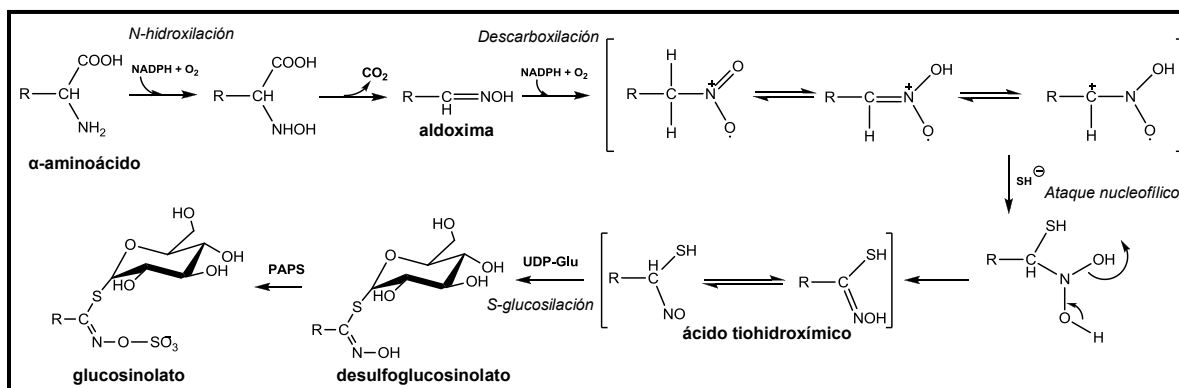


Figura 2. Reacción general de formación de glucosinolatos. Modificada de Fahey *et al.*, 2001.

A continuación se presentan tres ejemplos de la formación de glucosinolatos:

Glucosinato alifático

Los derivados de metiotina son los ejemplos más comunes en presentar elongaciones como se observa en la figura 3. Estas elongaciones son producidas por la desaminación del aminoácido, después se efectúa una reacción de condensación del grupo acetil de la acetilCoA catalizada por la 2-(ω -metiltioalquil) malato sintasa (MAMS). El producto intermediario es convertido en un isómero y luego oxidado y descarboxilado. La reacción final es una transaminación produciendo un derivado del aminoácido listo para formar el núcleo del glucosinolato. La reacción anterior puede integrar hasta nueve carbonos más con la repetición de la condensación catalizada por la MAMS (Falk *et al.*, 2004).

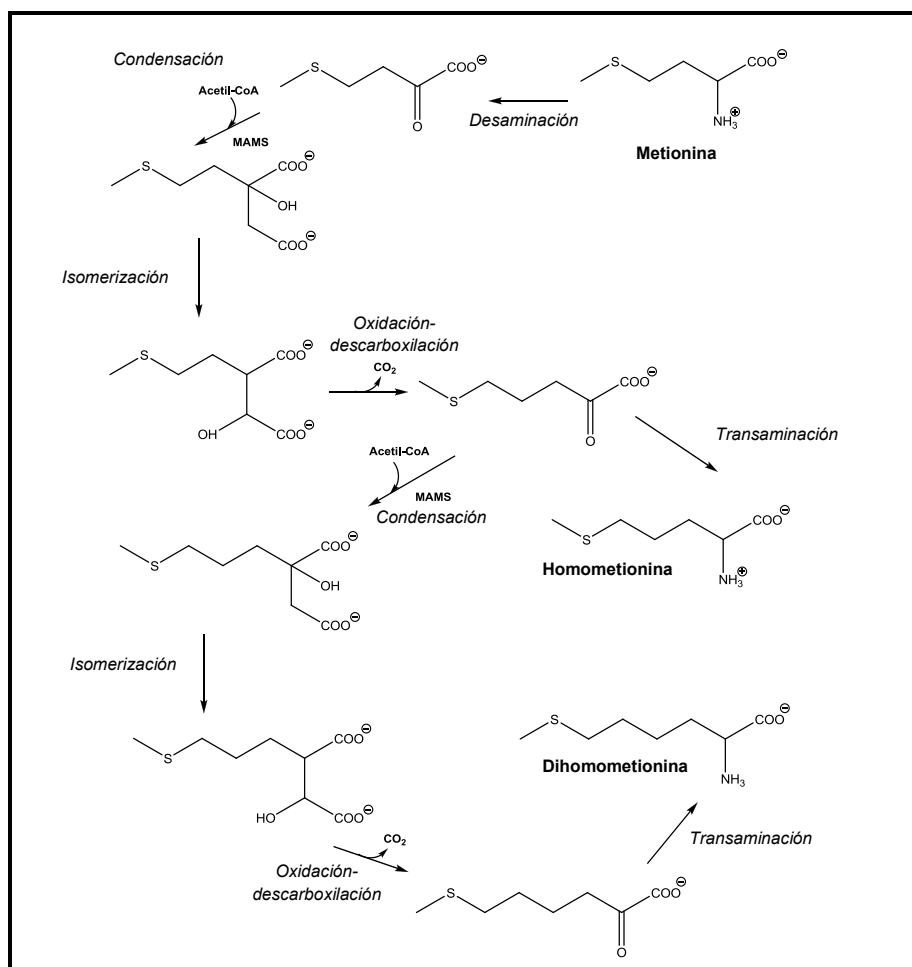


Figura 3. Elongación de la cadena de metionina. Formación de homometionina y dihomometionina. Modificado de Falk *et al.*, 2004 y Dewick, 2002.

Después de la elongación de la cadena, continúa la formación de los glucosinolatos. A continuación se muestran las reacciones efectuadas desde la molécula de homometionina hasta el glucosinolato sinigrina (Dewick, 2002) (Fig. 4).

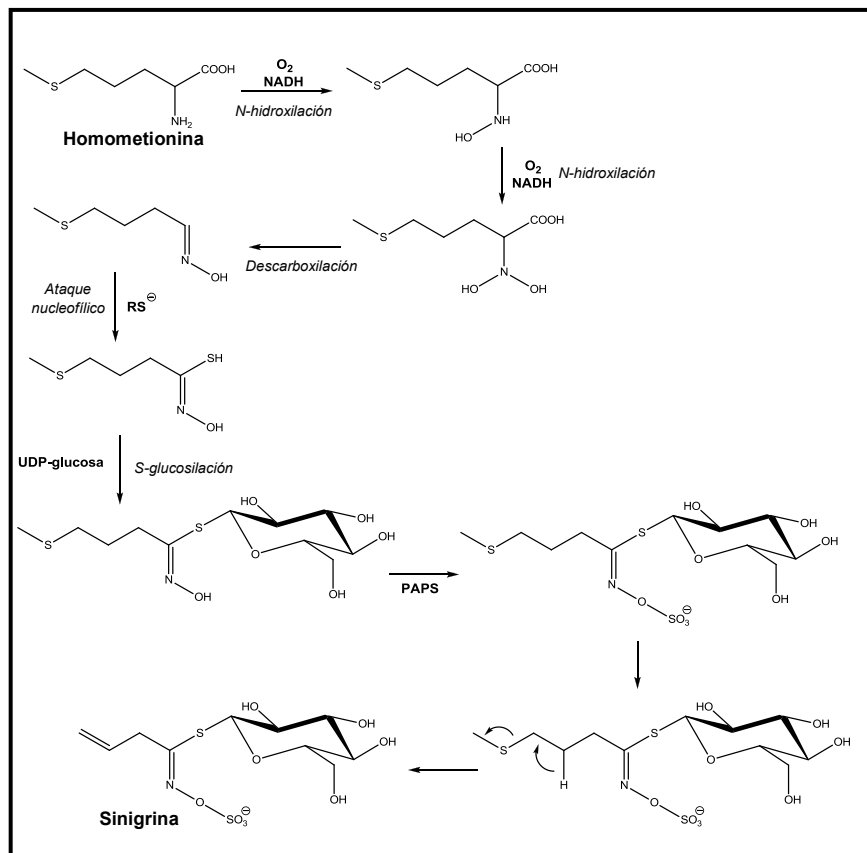


Figura 4. Formación del glucosinolato sinigrina. Modificado de Dewick, 2002.

Glucosinolatos bencílicos

La mayoría de los glucosinolatos bencílicos se derivan de los aminoácidos fenilalanina y tirosina. Las reacciones necesarias para los glucosinolatos derivados de cada uno de los aminoácidos antes mencionados se ilustran a continuación con la sinalbina y el bencilglucosinolato (Fig. 5):

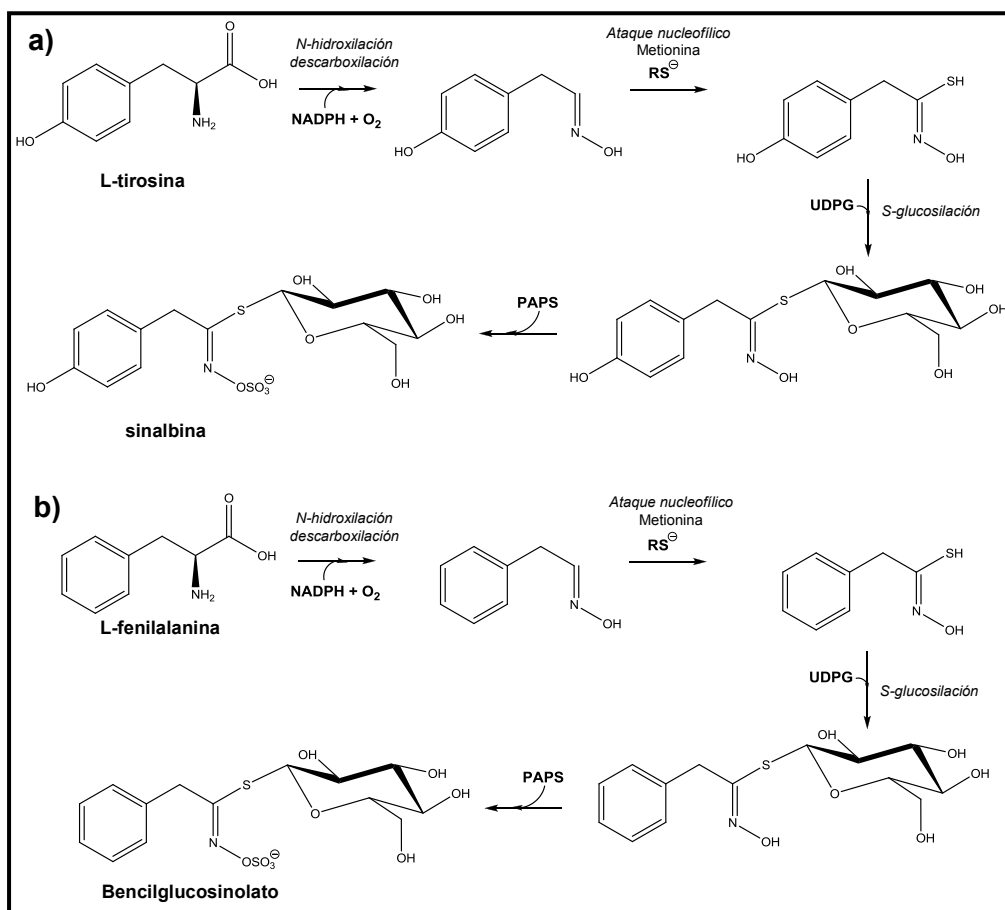


Figura 5. Formación de los glucosinolatos bencílicos: a) sinalbina y b) bencilglucosinolato. Modificado de Dewick, 2002.

Glucosinolatos indólicos

Los glucosinolatos indólicos son derivados del aminoácido triptófano, las reacciones de formación de un glucosinolato de este tipo se esquematiza a continuación con el ejemplo de la glucobrasicina (Fig. 6).

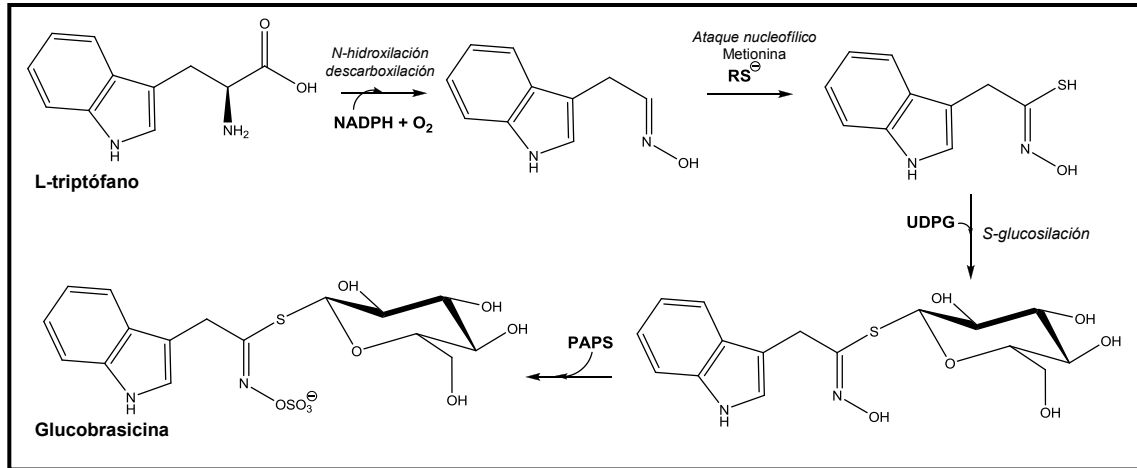


Figura 6. Formación del glucosinolato indólico glucobrasicina. Modificado de Dewick, 2002.

REFERENCIAS

- Ávalos A y Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)* 2, 120-122.
- Dewick PM. 2002. *Medicinal Natural Products* 2nd edition. John Wiley & Sons, Ltd: Inglaterra, 457-460.
- Fahey JW, Zalcmann AT y Talalay P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56, 5 – 51.
- Falk KL, Vogel C, Textor S, Bartram S, Hick A, Pickett JA y Gershemzon J. 2004. Glucosinolate biosynthesis: demonstration and characterization of the condensing enzyme of the chain elongation cycle in *Eruca sativa*. *Phytochemistry* 65, 1073-1084.
- Pace NR. 2001. The universal nature of biochemistry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 38, 805-808.
- Variyar PS, Banerjee A, Akkarakaran JJ y Suprasanna P. 2014. Role of glucosinolates in plant stress tolerance. *Emerging Technologies and Management of Crops Stress Tolerance* 1, 271-292.