



**Casa abierta al tiempo**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD IZTAPALAPA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**"TRATAMIENTO CON METFORMINA Y tBHQ EN CONJUNTO CON UN RÉGIMEN DE EJERCICIO PREVIENE LA OBESIDAD-OSTEOSARCOPÉNICA EN RATAS HEMBRA DE MEDIANA EDAD"**

**TESIS**

Para obtener el grado de:  
Doctor en Biología Experimental

Toledo Pérez Rafael  
2153803931

[Toledorafael65@gmail.com](mailto:Toledorafael65@gmail.com)

Orcid:0000-0002-3585-6402  
Maestro en Biología Experimental

**Codirectores:**

Dra. Mina Königsberg Fainstein  
Dr. Armando Luna López

**Asesora:**

Dra. Norma Edith López DíazGuerrero

**Jurado:**

**PRESIDENTA:** Dra. Norma Edith López Díaz Guerrero

**SECRETARIA:** Dra. Miriam Teresa López Teros

**VOCAL:** Dra. Graciela Gavia García

**VOCAL:** Dra. Verónica Salas Venegas

Iztapalapa, Ciudad de México, a 26 del mes de septiembre de 2024

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

El Programa de Doctorado en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001482, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IDPTNNN0020.

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 702630

### **Miembros de jurado**

El jurado designado por la Comisión Académica del posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la Tesis titulada: “**Tratamiento con Metformina y tBHQ en conjunto con un régimen de ejercicio previene la Obesidad-osteosarcopénica en ratas hembra de mediana edad.**”

### **Sinodales**

#### **Presidente**

#### **Secretario**

#### **Dra. Norma Edith López Díaz Guerrero**

Profesora Titular de Carrera Nivel C de Tiempo Completo, Departamento de Ciencias de la Salud División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

#### **Vocal**

#### **Dra. Miriam Teresa López Teros**

Investigadora en Ciencias Médicas de la Coordinación de Nutrición, Departamento de Nutrición Aplicada y Educación Nutricional, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

#### **Vocal**

#### **Dra. Graciela Gavia García**

Profesora de Asignatura A. Carrera de Medicina. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.

#### **Dra. Verónica Salas Venegas**

Profesor Asistente, Departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

**Comité tutorial:**

**Co-directora: Dra. Mina Konigsberg Fainstein**

Departamento de Ciencias de la Salud  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana  
Correo: [mkf@xanum.uam.mx](mailto:mkf@xanum.uam.mx) Tel: 58044732

**Co-director: Dr. Armando Luna López**

Laboratorio de envejecimiento y estrés oxidante  
Instituto Nacional de Geriátría  
Correo: [allbioexp@yahoo.com](mailto:allbioexp@yahoo.com) Tel: 5525194307

**Asesora: Dra. Norma Edith López Díaz Guerrero**

Departamento de Ciencias de la Salud  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana  
Correo: [norm@xanum.uam.mx](mailto:norm@xanum.uam.mx) Tel: 5524937625

## **Agradecimientos**

Primero que gana quisiera agradecer a **Dios** por la vida que me regalo y la oportunidad de seguirla disfrutando día a día.

A mis **Padres** agradecerles todo el apoyo que me han brindado, desde el simple hecho de apoyarme en mis pasatiempos, hasta darme palabras de aliento para concluir este posgrado que hoy estoy culminando, nunca terminare de agradecerles todas las muestras de cariño y atención que han tenido conmigo, Muchas gracias, **Ma**, por todo el amor que me tienes, la dedicación, esfuerzo y sacrificio que hiciste para apoyarnos en cualquier proyecto que quise emprender, tanto en el ámbito académico, profesional y labora, gracias por ser un excelente ejemplo para mí, gracias por eso jalones de orejas y esos regaños porque gracias a eso soy lo que soy ahora. Muchas gracias **Pa**, por tus buenos consejos y apoyo incondicional, por ser ese centro de prudencia y sabiduría con la cual puedo contar cuando requiero un consejo fríamente pensado, gracias por estar al pendiente de mi, a pesar de la distancia y el poco tiempo que tengo para ustedes siempre buscabas un tiempito para una llamada o un mensaje. Gracias por haber formado a la persona que soy hoy, gracias, infinitas gracias.

Muchas gracias **Alva**, no terminaría de agradecerte las veces que me has apoyado y has estado al tanto de mí, siempre estuviste ahí cuando te lo pedí, moviendo cielo mar y tierra para ayudarme, seres la mejor hermana que podría merecer, has cumplido con creces tu papel de hermana mayor siendo un gran ejemplo de superación y admiración, gracias por tantos momentos de diversión y risas, te quiero mucho.

Muchas gracias **Dra. Mina** por abrirme las puertas de su laboratorio desde el antiguo S-251 y ahora en el W-208, gracias por todas las asesorías brindadas desde la Licenciatura al querer ir al “camino del bien” como usted siempre me decía, gracias por apoyarme durante las huelgas y paros cuando le toco cuidar a mis animales en el bioterio, gracias por buscar la manera en que no parara el proyecto incluso sin edificio uste busco la manera, buscando un rincito en el AT, de visita en el Instituto de nutrición o incluso en pandemia, permitirme entrar a continuar con experimentos pendientes que tenía, muchas gracias por toda la paciencia que tuvo conmigo para la culminación de este proyecto. De todo corazón muchas gracias.

Muchas gracias **Dr. Armando** por tanto apoyo recibido de su parte, todo el tiempo esfuerzo y entusiasmo que usted plasmo en este proyecto, por enseñarme desde 0 como se debe trabajar correctamente en el laboratorio, gracias por todas sus críticas constructivas, porque cualquiera puede criticar, pero usted tiene esa vocación de corregir para mejorar, enseñándome a ser critico y objetivo con resultados ya sean míos o de un tercero, muchas gracias por toda la paciencia que tuvo para la culminación de este proyecto.

Muchas Gracias **Dra. Norma** por sus acertadas opiniones para la mejora y culminación de este proyecto, gracias por sus buenos consejos y anécdotas que nos contaba, siempre haciendo el ambiente del laboratorio más relajado, gracias por todas las atenciones de invitarnos un bocadillo o un refresco después de una jornada larga de experimentos.

Muchas gracias a mis compañeros del **Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular**, muchas gracias al Buen **Gibrán** por todo el apoyo y consejos durante mi formación desde licenciatura, muchas gracias a **Sandra Lizbeth** por aconsejarme y escucharme en momentos de crisis tanto en el ámbito académico como personal, Muchas gracias a **Pedro**, por todas las pláticas inspiradoras y momentos de risa y diversión durante las largas jornadas de trabajo, muchas gracias a **David** por los buenos momentos en el bioterio como en el laboratorio, siempre eran momentos de risas y diversión cuando me tocaba trabajar contigo, Muchas gracias a **Paola** por todo el apoyo emocional y académico que recibí, tus enseñanzas y consejos para la culminación de este proyecto, muchas gracias a **Betty** por tu disponibilidad y apoyo en cada uno de los parámetros que se me ocurriera medir, sin importar la hora o el día, nunca decías que no, incluso llegabas antes que todos nosotros para que salieran bien las cosas, muchas gracias a **Roberto** por tus buenos consejos y sugerencias, en la manera de abordar el enfoque del proyecto, además agradecerte los momentos tan amenos que pasamos durante todo nuestro tiempo de formación, como decías siempre “Si quieres te ayudo, no terminarás antes”, muchas gracias a **Vero** por todo el apoyo durante algunos procesos de este proyecto y por las pláticas que teníamos en el bioterio, haciendo más amenos el cambio de camas de las ratas y finalmente muchas gracias a **Samael** por tus buenos consejos y ayuda en los análisis multivariados, no estabas tan equivocado al aconsejar que viera el problema desde otro enfoque.

Muchas gracias a la **Dra Elena Zambrano** por enseñarme y aconsejarme para la implementación de la dieta HFD, así como también prestarnos ingredientes de dicha dieta durante la huelga ya que no podíamos entrar a preparar mas alimento.

Muchas gracias al **Dr. Carlos Sánchez Garibay** por permitirme trabajar en su laboratorio durante el periodo de pandemia, así como también tener toda la disponibilidad para trabajar las preparaciones para los cortes histológicos, ya que eran jornadas largas de 12 horas al día.

Muchas gracias a los Doctores que conforman el **comité del posgrado en Biología Experimental** y al **jurado evaluador** de este proyecto, muchas gracias por sus observaciones para mejorar la calidad de este trabajo contribuyendo a una mejor formación académica de mi persona.

Muchas gracias al **Dr. Luis Enrique Gómez Quiroz** por sus buenos consejos y acertadas criticas hacia mi proyecto, gracias por todo su tiempo y por compartir ese gran conocimiento que tiene.

Y finalmente quisiera agradecer a una persona muy especial, te conocí ya hace más de 10 años y quien hubiera pensado que un simple hola y un par de miradas hubieran sido suficiente para cautivarme desde el primer momento. Verte superarte todos los días, ser tan apasionada y entregada en lo que haces, escucharte platicar con tus colegas, hicieron que me enamorara de ti. Me impulsas todos los días a ser mejor, para ti, para mí, para nosotros..., muchas gracias por todas tus palabras de apoyo, por todas las atenciones que tienes conmigo, si fue un día pesado siempre me recibes con un abrazo, un beso y una enorme sonrisa de la cual sigo enamorado, Gracias por todo lo que me has apoyado, nunca terminare de demostrarte lo agradecido que estoy contigo, como me dijiste hace poco espero llegar a “viejitos y seguir amándonos con la misma intensidad”, Te amo **Cintha**, gracias por tantas historias, tantas experiencias, momentos buenos, momentos no tan buenos, simplemente gracias.

## Resumen

La obesidad-osteosarcopenica (OSO) se presenta cuando ocurre una pérdida de la densidad ósea (osteoporosis), masa y fuerza musculares (sarcopenia), este conjunto con un aumento en la proporción de tejido adiposo (obesidad). La OSO provoca una serie de comorbilidades; siendo la disminución de la actividad física, pérdida de la movilidad, entre otros. Su origen es multifactorial, siendo de los principales factores contribuyentes al deterioro musculoesquelético, el sedentarismo, mala nutrición, factores hormonales y ambientales, inflamación relacionada con el exceso de tejido adiposo y la infiltración dentro del músculo. Esto evidentemente, repercute al desencadenar estrés oxidante, con lo cual se presenta un desequilibrio homeostático del organismo. Existen varias propuestas de tratamientos para retrasar la aparición de OSO; entre los que destaca el ejercicio físico moderado, esto debido a que aumenta la cantidad y calidad de las fibras musculares, remineraliza los huesos y disminuye el tejido adiposo. Recientemente surgen diferentes líneas de investigación; las cuales han demostrado que la combinación del ejercicio ligero y la administración de metformina retarda la aparición de la sarcopenia, mediante la disminución del tejido adiposo y la regulación del estado redox. Adicionalmente, se ha confirmado que el tert-butilhidroquinona (tBHQ), que al ser un antioxidante potencial, modula y previene el daño por estrés oxidante. Por lo que para contrarrestar los daños producidos por la obesidad sobre el tejido muscular y la densidad mineral ósea, el objetivo de este trabajo es realizar diferentes intervenciones, incluyendo la combinación de una rutina de ejercicio tipo Fartlek, en conjunto con la administración de metformina y tBHQ, en un modelo de ratas hembras (*Rattus norvegicus*) de mediana edad de la cepa Wistar, donde inicialmente se utilizaron 84 hembras de 21 días de nacidas de aproximadamente 40 grs, las cuales a los 9 meses presentaron OSO, esto generado por la ingesta de una dieta hipercalórica. Los resultados demostraron que el triple tratamiento “ejercicio-metformina-tBHQ”, aumento la masa y fuerza muscular, disminuyendo el peso corporal, el índice de masa corporal, así como el porcentaje de

grasa, mejora el estado redox y, en consecuencia, logra aumentar la supervivencia y calidad de vida los animales.

### **Abstract**

Obesity-osteosarcopenic (OSO) occurs when there is a loss of bone density (osteoporosis), muscle mass and strength (sarcopenia), this combination with an increase in the proportion of adipose tissue (obesity). OSO causes a number of comorbidities; being the decrease in physical activity, loss of mobility, among others. Its origin is multifactorial, being one of the main contributing factors to musculoskeletal deterioration, sedentary lifestyle, poor nutrition, hormonal and environmental factors, inflammation related to excess adipose tissue and infiltration within the muscle. This obviously has an impact by triggering oxidative stress, which presents a homeostatic imbalance of the body. There are several treatment proposals to delay the onset of OSO; among which moderate physical exercise stands out, this because it increases the quantity and quality of muscle fibers, remineralizes bones and decreases adipose tissue. Recently, different lines of research have emerged; which have shown that the combination of light exercise and the administration of metformin delays the onset of sarcopenia, by reducing adipose tissue and regulating the redox state. Additionally, tert-butylhydroquinone (tBHQ), which is a potential antioxidant, has been confirmed to modulate and prevent oxidative stress damage. Therefore, to counteract the damage caused by obesity on muscle tissue and bone mineral density, the objective of this work is to carry out different interventions, including the combination of a Fartlek-type exercise routine, in conjunction with the administration of metformin and tBHQ, in a model of middle-aged female rats (*Rattus norvegicus*) of the Wistar strain. where initially 84 females of 21 days of birth of approximately 40 grams were used, which at 9 months presented OSO, this generated by the intake of a hypercaloric diet. The results showed that the triple treatment "exercise-metformin-tBHQ", increased muscle mass and strength, decreasing body weight, body mass index, as well as fat percentage, improves the redox state and, consequently, manages to increase the survival and quality of life of the animals.

## Índice

Miembros de jurado.....	III
Comité tutorial:.....	IV
Agradecimientos.....	V
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
1.-Introducción.....	1
1.1.- Datos Demográficos: Obesidad y Sobrepeso.....	1
1.2.-Crecimiento y desarrollo humano: generalidades .....	2
1.3.- Población adulta .....	3
1.4.- Niños menores de 5 años .....	3
1.5.- Sarcopenia. ....	5
1.6.- Sistema músculo-esquelético .....	7
1.7.-Obesidad osteosarcopénica.....	9
1.8.-Especies reactivas de oxígeno y enzimas antioxidantes .....	10
1.9.- tBHQ.....	13
1.10.- Metformina.....	14
1.11.- Ejercicio .....	15
1.12.-Inflamación .....	16
1.13.-Hormesis .....	18
2.- Pregunta de investigación. ....	20
3.-Hipótesis .....	20
4.- Objetivo general .....	20
5.- Objetivos Particulares .....	20
6.- Material y método.....	21
6.1.- Condiciones Animales.....	21
6.2.- Establecimiento de los Grupos Dieta estándar, Grupo Alta en Grasa y Grupos con tratamiento.....	22

6.3.- Dietas (Dieta Estándar y Dieta Alta en Grasa) .....	24
6.4.- Tratamiento con MTF y tBHQ. ....	25
6.5.- Rutina de ejercicio. ....	25
6.6.- Parámetros morfométricos.....	27
6.7.- Parámetros Bioquímicos.....	28
6.8.- Determinación de la composición corporal (DXA).....	28
6.9.- Determinación de fuerza de agarre.....	29
6.10.- Citoarquitectura del tejido muscular y hepático.....	29
6.11.- Determinación de Estado Redox (Cociente GSH/GSSG).....	31
6.12.- Determinación de los niveles de adiponectina.....	33
6.13. Análisis estadístico.....	33
7.Resultados .....	34
7.1.- Establecimiento del modelo de obesidad osteo-sarcopénica (OSO) generada por dieta alta en grasa (HFD).....	34
7.1.1.- Determinación de los parámetros morfométricos en los grupos de dieta estándar (SD) y dieta alta en grasa (HFD).....	34
7.1.2.- Composición corporal y fuerza de agarre de las extremidades delanteras de los grupos SD y HFD.....	36
7.1.3.- Consumo de alimento y agua en los grupos SD y HFD.....	40
7.1.4.- Determinación de parámetros bioquímicos en ambos tipos de dietas.....	42
7.2.- Tratamientos horméticos para revertir la obesidad osteosarcopénica.....	43
7.2.1. Parámetros morfométricos de grupos HFD con diversas intervenciones.....	44
7.2.2. Composición corporal y Fuerza de agarre de las extremidades anteriores en los grupos de HFD bajo las distintas intervenciones.....	46
7.2.3.- Histología muscular y hepática de los grupos tratados con HFD.....	49
7.2.4.- Consumo de alimento y agua de grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.....	53
7.2.5.- Parámetros bioquímicos, de grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.....	54
7.2.6. Supervivencia animal (Curvas de Kaplan-Meier).....	54
7.2.7 Determinación del estado redox de los grupos HFD con diferentes intervenciones.....	56
7.2.8 Niveles de adiponectina sérica en grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.....	57
8.-Discusión.....	58
9.- Conclusiones.....	66

10.- Referencias.....68

## **1.-Introducción**

### **1.1.- Datos Demográficos: Obesidad y Sobrepeso**

En la actualidad la incidencia y prevalencia de la obesidad a nivel mundial es uno de los principales problemas de salud pública esto relacionado, con el envejecimiento, Por lo que aumentara la demanda de atención primaria de salud y de atención a largo plazo. El sobrepeso y la obesidad son afecciones crónicas mundiales, de las cuales se generan múltiples enfermedades derivadas de este binomio desde metabólicamente, cardiológicamente, osteológicas, neurológicas etc (OMS, 2024; GDB, 2019; Okunogbe., 2022).

De acuerdo con los datos y cifras de la OMS 2024, en el año 2022, una de cada ocho personas a nivel mundial eran obsesas. Desde 1990, la obesidad se ha duplicado exponencialmente con creces entre los adultos de todo el mundo, y se ha cuadruplicado entre los adolescentes. Para el 2022, aproximadamente más de 2500 millones de adultos (18 años o más) presentaron sobrepeso y el 16% eran obesos. Sin embargo, estos datos no solo se han visto reflejados en adultos jóvenes, maduros y seniles. En el 2022, 37 millones de niños menores de 5 años padecían sobrepeso. Más de 390 millones de niños y adolescente de 5 – 19 años demostraron sobrepeso, de los cuales 160 millones eran ya obesos (OMS, 2024; GDB, 2019; Okunogbe., 2022).

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) (Barqura, S., 2012). en México, del 2012, el 32.4% de la población adulta (mayor de 18 años) presentaba algún grado de obesidad. En el caso particular de los hombres, se observó menor porcentaje de obesidad, siendo 26.8% y para las mujeres de 37.5% De

acuerdo con la World Obesity Federation, para el 2019, el 13 % de los adultos a nivel mundial presentaban obesidad, el 39% poeía sobrepeso y cinco millones de personas fallecieron a causa de efectos colaterales o propios de la obesidad (World Obesity Federation, 2022)

Los datos evaluados en el 2022 por ENSANUT (Campos-Nonato, 2023), para obesidad y sobrepeso, publicaron un aumento considerable, donde la media nacional de personas con algún grado de obesidad fue de 36.9%, siendo 4.5% mayor que en 2012, para el caso de los hombres y caso de las mujeres en 2022 el 41% presentaban algún grado de obesidad siendo 3.5% mayor que el año 2012 (Barqura, S, 2012).

De manera particular, la prevalencia de sarcopenia en la Ciudad de México (CDMX) es del 10% (Rosas-García, 2021) muy similar a los datos obtenidos por Espinel, (2018), en donde encontraron que la prevalencia de la sarcopenia fue del 9.90%, siendo de estos el 72.7% mujeres y el 27.3% correspondía a hombres

## **1.2.-Crecimiento y desarrollo humano: generalidades**

Durante el desarrollo del ser humano, como es bien sabido, ocurren cambios en la composición corporal, los cuales comienzan a partir de los 20 años y hacen que vaya aumentando el tejido adiposo llegando hasta un 60% de aumento a los 80 años de edad (Ramírez-García, 2017, Tardif, 2014).

El índice de masa corporal (IMC) es la relación entre el peso y la talla, este índice se calcula dividiendo el peso (Kg) de una persona entre la talla indicado en metros al cuadrado ( $\text{kg/m}^2$ ). Este índice es un marcador indirecto de la grasa,

existiendo mediciones adicionales, como el perímetro de la cintura, el cual pueden ayudar a diagnosticar la obesidad. (OMS, 2024; GDB, 2019; Okunogbe., *et al*, 2022).

Las categorías del IMC según la OMS para definir la obesidad varían, en función de la edad y el género, para lactantes, niños y adolescentes.

### **1.3.- Población adulta**

En el caso de los adultos, la OMS define el sobrepeso y la obesidad así:

- sobrepeso: IMC igual o superior a 25; y
- obesidad: IMC igual o superior a 30.

En el caso de los niños, debe tenerse en cuenta la edad al definir el sobrepeso y la obesidad:

### **1.4.- Niños menores de 5 años**

En el caso de los niños menores de 5 años:

- el sobrepeso es un peso para la estatura superior a dos desviaciones típicas por encima de la mediana de los patrones de crecimiento infantil de la OMS; y
- la obesidad es un peso para la estatura superior a tres desviaciones típicas por encima de la mediana de los patrones de crecimiento infantil de la OMS.

Durante el proceso de obesidad ocurre una redistribución de los depósitos de grasa, pasando de la zona abdominal, a otras zonas y órganos del cuerpo. Como lo son grasa en hígado o esteatosis hepática, aterosclerosis y esteatosis pancreática e infiltrados en el músculo esquelético (Kob, R., *et al.*, 2015).

En el caso de la sarcopenia, esta ha sido asociada a cambios metabólicos, inmovilidad, disfunción mitocondrial, estrés oxidante e inflamación sistémica, que

evidentemente contribuyen a déficit musculares relacionados con la edad (Sepulveda-Loyola, W. *et al* 2019),

La obesidad también se asocia con cambios endocrinos, debido a que, al incrementar el número de depósitos de grasa, se produce una mayor cantidad de adipocinas proinflamatorias. conocida como un estado inflamatorio crónico de bajo grado, que se caracteriza por una secreción continua de citosinas a bajos niveles. Entre las hormonas y moléculas se encuentra la leptina, hormona que promueve la reducción de la ingesta energética con lo cual envía señales endocrinas al cerebro a partir de la vía “lipostato hipotalámico”, enviando una señal de que el tejido adiposo es suficiente (Simón, E., & Del Barro, A. 2002)

Otra hormona secretada por los adipocitos es la adiponectina, cuya función es la reducción de la ingesta y aumento del gasto energético, además estimula la beta oxidación, aumenta el metabolismo de la glucosa y tiene funciones anti-inflamatorias, esto es porque se reducen los niveles de citocinas proinflamatorias, como son el Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 6 (IL-6) y Factor Nuclear Kappa B (NF- $\kappa$ B) y aumenta los niveles de citocinas antiinflamatorias (Choi, H., *et al.*, 2020, Tilg, H. & Moschen, A.R., 2006). Como es bien sabido, la obesidad trae consigo la citotoxicidad a células y órganos aledaños. Se sabe que un exceso de lípidos puede generar procesos apoptóticos en órganos como el corazón, hígado y páncreas; así como, la muerte de células progenitoras del músculo, tales como células satelitales (Van Herpen, N.A, & Schrauwen-Hinderling, V., *et al.*, 2008, Vettor, *et al.*, R., *et al.*, 2009). Es por ello, que la obesidad este asociada con un estado funcional deteriorado,

mala calidad de vida, altos índices de morbilidad y una creciente mortalidad independiente de la edad (Rosas- Carrasco, O., *et al.*, 2012).

### **1.5.- Sarcopenia.**

Además del aumento del porcentaje de grasa durante el desarrollo y crecimiento de los seres vivos, también ocurre una pérdida de la masa y de las fibras musculares, a este desbalance se le conoce como sarcopenia. La cual se ha reportado que inicia aproximadamente a partir de los 30 años a los 60 años de edad. Existe una pérdida entre un 30 a un 50% de la masa muscular aproximadamente en ese periodo (Ramírez – García, E., *et al.*, 2017).

El paso de la edad adulta a la vejez se asocia a cambios profundos en la composición corporal. De los cambios más evidentes en la vejez, se destaca la sarcopenia, que es una condición multifactorial, definida por los Drs Evans. W. & y Campbell W., en 1993. Uno de los cambios más destacados es la pérdida de la masa muscular esquelética relacionada con la edad, que se traduce a una disminución de la fuerza y la capacidad aeróbica; por lo tanto, de la capacidad funcional. Esta pérdida progresiva aumenta la fragilidad del paciente, es decir, junto con la pérdida de la masa muscular, en donde al mismo tiempo ocurre una pérdida de la fuerza, alteraciones en la marcha y pérdida de la una autonomía fisiológica o funcional, trayendo consigo una mala calidad de vida y un incremento en el riesgo de morbilidad y subsecuentemente de mortalidad (Kim, M. Y., *et al.*, 2013). (Liguon, L., *et al*, 2018), así mismo la definición operativa de la sarcopenia según el Grupo de Trabajo Europeo sobre Sarcopenia en Personas Mayores dice que la sarcopenia es un trastorno progresivo y sistémico del

músculo esquelético tomando en cuenta la función muscular, lo cual trae consigo resultados adversos, como son caídas, fracturas, discapacidad física y finalmente la mortalidad (Cruz-Jentoft, 2019).

La relevancia de este padecimiento es, la dependencia de muchos factores humorales, hormonales, estilo de vida, nutrición, así como pérdida de unidades motora. Aunado a esto, también se reconoce que la sarcopenia está influenciada por el ambiente inflamatorio y el estrés oxidante (Pokrywka, A., *et al* 2014). Los factores de riesgo cardiovascular (es decir, obesidad, diabetes, hipertensión y aterosclerosis), se encuentran asociados con la vía inflamatoria mediada por IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8 y el aumento de la senescencia celular. Además, la calcificación vascular está vinculada a una trans-diferenciación osteoblástica impulsada por SASP de las células senescentes musculares lisas (Chandrasekaran A., *et al* 2017; Liguon, L., *et al*, 2018).

El estrés oxidante es un desequilibrio entre las especies oxidantes y antioxidantes. Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS / RNS) son producidas por varios procesos endógenos y exógenos, y sus efectos negativos son neutralizados por las defensas antioxidantes (Liguon, L., *et al*, 2018). Estas especies reactivas, son los segundos mensajeros para el factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) en el músculo esquelético, activando el Factor Nuclear-KB (NF-kB), que induce directa e indirectamente la inflamación sistémica, esta inflamación produce la apoptosis celular en el músculo, que se asocia con el catabolismo muscular, disminuyendo tanto la masa muscular como la fuerza. Esta debilidad muscular se produce a través de dos mecanismos principales: pérdida acelerada de proteínas y disfunción contráctil (Sepulveda-Loya, W., *et al* 2019). En particular, la asociación entre

MMP-1 y ERO y la importancia de estas interacciones han sido ampliamente establecidas en la etiología de enfermedades degenerativas. MMP-1, separa los componentes estructurales del tejido conectivo y colágeno tipo I, II, Y II, se detecta solo en niveles bajos en condiciones fisiológicas, pero puede ser anormalmente alto en varias patologías asociadas con la edad (Chandrasekaran A., *et al*, 2017; Jin, K., 2010; Finkel, T. 2015).

### **1.6.- Sistema músculo-esquelético**

El sistema músculo esquelético, está compuesto por haces de fibras musculares multinucleadas. Cada miofibra está formada por la fusión de mioblastos mononucleares. El sistema musculo esquelético adulto tiene su propia población de células madre, es decir, células madre satélite muscular (MuSC) (Yamakawa, H., *et al* 2020).

Se ha descrito ampliamente que conforme se incrementa la edad la densidad ósea comienza a disminuir. Se estima que a partir de los 30 años tanto en hombres como mujeres comienza a aparecer los principios de osteopenia. Esta pérdida de densidad ósea se acelera tras la menopausia en mujeres. Como resultado de ello, los huesos se vuelven más frágiles y más propensos a las fracturas, especialmente en la vejez. Las fracturas osteoporóticas cobran mayor relevancia en los adultos mayores debido a la mortalidad y morbilidad que generan, siendo fundamentalmente dos factores: la fragilidad del hueso y el traumatismo (Liguon, L., *et al*, 2018).

Tanto la pérdida de masa ósea, al aumentar la fragilidad del hueso, como la muscular, al facilitar las caídas, contribuirían al desarrollo de las fracturas. Por otra

parte, la masa corporal magra también disminuye entre los 35 y los 70 años, sobre todo debido a la pérdida de masa muscular esquelética y a la progresiva disminución del número y el tamaño de las fibras musculares.

La pérdida de hueso afecta tanto al hueso trabecular (esqueleto axial) como al cortical (esqueleto apendicular), lo que produce un adelgazamiento de las trabéculas y la perforación y pérdida de conectividad de estas en el primer caso, y la disminución del grosor de la cortical y el aumento de su porosidad en el segundo.

El mantenimiento de la masa ósea exige que la cantidad de hueso destruida por los osteoclastos y la formada por los osteoblastos sean iguales. Cuando en cada unidad se forma menos hueso del que se destruye (balance negativo), la masa ósea disminuye (Riancho, J.A., et al 2005).

En el hueso cortical, demasiado grueso para ser perforado por los osteoclastos, el fenómeno sólo llega a afectar al endostio, en el que los osteoclastos pueden atravesar el sistema de Havers y alcanzar la médula ósea. Si el fenómeno es suficientemente intenso, la acumulación de múltiples perforaciones puede dar lugar a lo que se denomina trabeculación del endostio (Yamakawa, H., et al 2020).

En el hueso cortical, demasiado grueso para ser perforado por los osteoclastos, el fenómeno sólo llega a afectar al endostio, en el que los osteoclastos pueden atravesar el sistema de Havers y alcanzar la médula ósea. Si el fenómeno es suficientemente intenso, la acumulación de múltiples perforaciones puede dar lugar a lo que se denomina trabeculación del endostio. El déficit de vitamina K podría contribuir a aumentar la pérdida de hueso al reducirse sus efectos sobre la

carboxilación de algunas proteínas de la matriz ósea como la osteocalcina (Olmos-Martínes, J.M., Martínez-García, J., González-Macías, J. 2007)

### **1.7.-Obesidad osteosarcopénica.**

La obesidad osteosarcopénica (OSO) es un fenómeno que se caracteriza por un aumento del tejido adiposo, una pérdida de la masa ósea (osteopenia u osteoporosis) y la pérdida de masa muscular (sarcopenia) en conjunto con la pérdida de fuerza (dinapenia) (Ramírez et al., 2017, Szlejf et al., 2017). Un estudio realizado en la Ciudad de México (CDMX), reportó que de 434 mujeres mayores de 50 años, el 33.7% presentaba sarcopenia, 72.6% obesidad y el 77.8% tenía algún grado de osteopenia u osteoporosis; mientras que el 19% de las mujeres presentaban las tres condiciones al mismo tiempo (OSO) (Szlejf et al., 2017). Se sabe que el desarrollo de la OSO es multifactorial, ya que depende de una mala nutrición, generalmente una baja ingesta de proteína y una alta cantidad de carbohidratos y lípidos; además de un estilo de vida sedentario con poca o nula actividad física, factores ambientales, procesos inflamatorios y estrés oxidante (Stefanaki et al., 2016).

Se reconoce que tanto el estrés oxidante como la inflamación promovidos por el exceso de tejido adiposo, generan inflamación crónica de bajo grado debido a la liberación constante de citocinas como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-6 (IL-6) y la proteína C reactiva. El exceso de tejido adiposo combinado con un ambiente proinflamatorio produce un bajo recambio en las

proteínas musculares debido a una disminución de la síntesis de proteínas y un aumento en el daño a proteínas miofibrilares y finalmente la degradación de las mismas (Steves et al., 2017).

### **1.8.-Especies reactivas de oxígeno y enzimas antioxidantes**

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son una familia de biomoléculas que contienen oxígeno, son altamente oxidantes, y son generados de manera endógena y exógena. De manera exógena pueden ser generados por luz UV, radiación, drogas y citotóxicos entre otros. De manera endógena por enzimas como la xantina oxidasa, el citocromo p-450, los peroxisomas y las NAPH oxidasas, pero la mayor producción de ERO provienen de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria específicamente en el complejo I y III (Venkataraman et al., 2013; Halliwell et al., 2006).

Entre las ERO más importantes se encuentra el radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que en presencia de metales de transición como Fe y Cu, puede generar el radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ) es lo que se conoce como la reacción de Fenton (Bae et al., 1997).

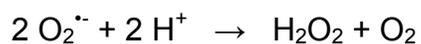
La mitocondria es el organelo celular encargado de generar ATP a través de la fosforilación oxidativa, la cual se lleva a cabo en la membrana interna mitocondrial gracias a la función de cinco complejos enzimáticos inter membranales: 1.- Complejo I (NADH oxidoreductasa); 2.- Complejo II (Succinato deshidrogenasa); 3.- Complejo III (citocromo bc1); 4.- Complejo IV (citocromo c oxidasa); 5.- Complejo V (ATP sintasa);

y dos moléculas acarreadoras de electrones: la coenzima Q (ubiquinona) y el citocromo C.

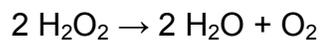
En la cadena respiratoria se puede producir fuga de electrones cuando un electrón es secuestrado por un O<sub>2</sub> singulete en lugar de pasar al siguiente aceptor dentro de la cadena, Los sitios con mayor producción de ERO son el complejo I y el complejo III por lo que durante la generación de ATP es inevitable la producción de ERO (Martin et al., 2010).

Existen diferentes moléculas que le ayudan a las células y a los tejidos a lidiar contra de los efectos nocivos de las ERO y en conjunto, forman parte del sistema antioxidante. Como parte del sistema antioxidante endógeno de los organismos se encuentran las enzimas superóxido dismutasas (SOD), el glutatión peroxidadas (GPx) y la catalasa (CAT), entre otras. Mientras que los sistemas no enzimáticos involucran a las vitaminas C y E, carotenoides (vitamina A), flavonoides y al glutatión (GSH) (Lilley et al., 2014).

Las enzimas antioxidantes son proteínas que regulan la concentración de ERO. Como se mencionó anteriormente, entre las principales enzimas las SOD, tiene como propósito dismutar dos moléculas O<sub>2</sub><sup>•-</sup> y reducir las a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



La CAT se encarga de transformar dos moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a agua.



Y por último la GPx también se encarga de reducir al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a agua, pero utilizando como cofactor al glutatión (GSH), el cual es un antioxidante no enzimático muy abundante en la célula.



Se sabe que a pesar de que la CAT y la GPx catalizan la misma reacción, su actividad depende de la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en la célula, ya que en condiciones donde el  $\text{H}_2\text{O}_2$  se encuentre en concentración mayores, la CAT tendrá mayor actividad que la GPx, por el contrario, cuando el  $\text{H}_2\text{O}_2$  se encuentre en bajas concentraciones, la enzima con mayor actividad será la GPx (Lilley et al., 2014, Venkataraman et al., 2013).

En condiciones normales, los niveles de ERO se encuentran regulados por los antioxidantes, manteniéndose así, el estado redox en la célula y la homeostasis de los organismos. Cuando ocurre un desequilibrio significativo, por una elevada producción de ERO o una deficiente activación de antioxidantes, el organismo se encuentra en un ambiente pro oxidante y las ERO pueden generar daño a biomoléculas como proteínas, los ácidos grasos y el ADN, a esto se le conoce como estrés oxidante (Linnane et al., 2006; Dalton et al., 1999).

Actualmente existen diversas terapias tanto farmacológicas como no farmacológicas, que han sido utilizadas para evitar y revertir la OSO, algunos fármacos como la metformina o el antioxidante sintético llamado tert-butilhidroquinona (tBHQ); han sido considerados como posibles terapias farmacológicas, mientras que el ejercicio y una buena alimentación, siguen siendo consideradas como las mejores terapias de tipo no farmacológicas.

## 1.9.- tBHQ

El tBHQ es una molécula con capacidad antioxidante, cuya actividad biológica consiste en aumentar la actividad y defensa antioxidante, así como también la supervivencia celular (Alarcón et al., 2014, Silva et al., 2017, Li et al., 2014, Tasset et al., 2010, Namet al., 2013, Posadas et al., 2020).

Uno de los efectos más estudiados del tBHQ es la activación de la defensa antioxidante mediada por la vía de señalización Factor Nuclear Eritroide 2 (Nrf2)(Alarcón et al., 2014, Silva et al., 2017, Posadas et al., 2020), además, otra parte de los efectos protectores se basan en la activación de la vía de detoxificación y supervivencia que culmina con el factor de transcripción Factor Nuclear Kappa B (NFkB) (Silva et al., 2017, Posadas et al., 2020). Nrf2 también aumenta la autofagia, promoviendo la síntesis de proteínas del autofagosoma como La cadena Ligera 3 (LC3) (LI et al., 2014).

El tBHQ se ha empleado para prevenir la obesidad de ratones sometidos a una dieta alta en grasas (HFD) ya que reduce el peso, disminuyendo tejido adiposo. Uno de los mecanismos por el cual se genera esta disminución es la activación de la acil-coenzima A oxidasa-1 (ACOX1), una enzima implicada en la beta-oxidación de ácidos grasos (Nam et al., 2013). Así mismo en experimentos *in vitro*, tanto en hepatocitos como en mioblastos, se ha utilizado el tBHQ como tratamiento protector contra los efectos citotóxicos del ácido palmítico (Li et al., 2014, Posadas et al., 2020).

Por otro lado, existen reportes que altas dosis de tBHQ o su administración durante un tiempo prolongado inducen daño hepático (Nam et al., 2013,) y muerte celular por apoptosis (Eskandani et al., 2014).

## 1.10.- Metformina

La metformina (MTF) es un medicamento que pertenece a la familia de las biguanidas que se ha utilizado por más de 60 años para tratar la diabetes tipo II (Kulkarni et al., 2020, Wessels et al., 2014). Se conocen varios mecanismos de acción de la MTF, entre los que destacan la inhibición de la gluconeogénesis, específicamente de dos enzimas de esta vía, la gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa y la fructosa 1-6 bifosfato (Valencia et al., 2017, Jung et al., 2017).

Otro mecanismo propuesto, es la Inhibición del complejo I de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, lo cual trae consigo un decremento en los niveles de ATP (Russell et al., 2010, Valencia et al., 2017, Wessels et al., 2014). Al haber niveles bajos de Adenosín Trifosfato (ATP) se activa la Proteína Cinasa activada por AMP (AMPK), cuya función es el incremento de la glucólisis y la beta-oxidación, además se sabe que puede activar la autofagia mediante la inhibición de Diana de Rapamicina en células de mamíferos (mTOR) (Montalvo et al., 2013, Kalender et al., 2010, Valencia et al., 2017, Jung et al., 2017).

Por último, uno de los reportes más interesantes es que la MTF incrementa tanto la longevidad como la esperanza de vida en ratones sin ninguna otra intervención, todo esto debido a un mejoramiento de la sensibilidad de la insulina, disminución de los niveles de colesterol y lipoproteínas de baja densidad, así como la activación de AMPK y de la defensa antioxidante (Montalvo et al., 2013).

Actualmente, se ha administrado MTF tanto en modelos animales a una concentración de 250 mg/kg de peso diario por 3 meses, como en pacientes diabéticos una dosis diría de 500 mg 3 veces al día, en donde se ha observado una ganancia en

la cantidad de masa muscular, así como también una disminución de tejido adiposo, los resultados de estas investigaciones la han propuesto como buena candidata para revertir la obesidad sarcopénica (Valencia et al., 2017, Jung et al., 2017, Senesiet al., 2016). Previamente, un estudio realizado por nuestro grupo de trabajo, demostró que la MTF mejora la fuerza y la masa muscular en ratas hembra envejecidas (Hernández et al., 2019).

### **1.11.- Ejercicio**

El ejercicio es esencial para mantener y mejorar la función del músculo esquelético, lo cual es un factor importante para mejorar la salud y prevenir las enfermedades relacionadas al envejecimiento. (Xia et al., 2023). Por otro lado, en cuanto a las intervenciones no farmacológicas, se sabe que el ejercicio aeróbico mejora la función endotelial ya que ayuda a una mejor captación de oxígeno y nutrientes dentro de la célula, además aumenta la fuerza muscular el tamaño y número de fibras musculares y por último remineraliza los huesos (Fritzen et al., 2020, Montero et al., 2013, Li et al., 2018). Entre las diversas rutinas de entrenamiento, el ejercicio tipo Fartlek destaca del resto ya que se consigue el mismo gasto energético en un menor tiempo en comparación con una rutina aeróbica de baja intensidad, además de no ser tan intensa. Este entrenamiento aeróbico consiste en cambiar el ritmo sobre un determinado intervalo de tiempo (Kumar et al., 2015, Badu et al., 2014). Cuando el ritmo aumenta, el paciente puede llegar a alcanzar un gasto máximo de oxígeno entre 70% y 50%, y durante el periodo de descanso entre cada incremento del ritmo ocurre un gasto de oxígeno entre 40 y 30% (Cofré et al., 2016). En cuanto a las rutinas que

incluyen cambios en la intensidad se sabe que tienen un mayor gasto energético en un periodo más corto, lo cual hace una rutina ideal para aquellos pacientes que no disponen de mucho tiempo para realizar actividad física (Kumar et al., 2015, Cofré et al., 2016).

### **1.12.-Inflamación**

El sistema inmunológico está compuesto por un diversos factores celulares y moleculares que proveen a los organismos mecanismos de protección contra diversos agentes endógenos y exógenos que pueden poner en riesgo las condiciones de salud. Una de las principales líneas de defensa del sistema inmunológico es la respuesta inflamatoria, la cual tiene como función principal reclutar a las células competentes del sistema inmune, a las zonas donde se ha expuesto a sustancias potencialmente dañinas u organismos patógenos. El reconocimiento de las moléculas extrañas (antígenos) es el principio de la respuesta inmune que culmina en la eliminación del antígeno y el inicio de la señalización relacionada con la reparación del tejido dañado. La respuesta inflamatoria es un mecanismo celular altamente regulado en el cual intervienen diferentes citocinas y quimiocinas con el objetivo de contrarrestar la invasión de los patógenos y la reparación del tejido (Hatada., et al., 2000). La respuesta inflamatoria es de corta duración y una vez que el patógeno es eliminado la respuesta se detiene. No obstante, se ha observado que la respuesta inmunológica disminuye durante el envejecimiento. Esto puede deberse a la disminución de la capacidad de regeneración de tejidos del organismo, que se ha asociado con una

disminución del nicho de células madre (Rando et al., 2006). La falta de capacidad para reemplazar el tejido dañado también puede deberse en parte a la incapacidad de un sistema inmunológico envejecido para coordinar adecuadamente una respuesta protectora.

Durante el envejecimiento se ha observado un incremento en el daño a diversas moléculas, lo que genera un incremento en la respuesta inflamatoria, la cual se convierte en crónica de bajo grado al carecer de una respuesta regulatoria adecuada y que se ha asociado al proceso de envejecimiento. Se cree que este aumento de citocinas proinflamatorias en los adultos mayores está implicado en enfermedades crónicas degenerativas como son la obesidad, hipertensión arterial, osteoartritis, enfermedades cardiocerebrovasculares incluso cáncer. La tendencia general a la falta de una respuesta inmunológica adecuada puede predisponer a los adultos mayores a sufrir mayores daños (Michaud et al., 2013; Franceschi et al., 2000).

El tejido adiposo ha sido tradicionalmente considerado como un tejido inerte, con la exclusiva función de almacenar y liberar la energía. Sin embargo, en los últimos años el tejido adiposo se ha relacionado con otras funciones fisiológicas entre las que destacan la secreción de insulina, la ingesta de alimentos y la inflamación en respuesta a diversos factores ambientales y metabólicos, estas respuestas son mediadas por diversas citocinas pro-inflamatorias (Frasca y Bomberg, 2020). en modelos humanos y de roedores con obesidad se ha observado un desequilibrio en el crecimiento y el tamaño de los adipocitos, donde el tejido adiposo muestra hipertrofia en comparación con el tejido vascular circundante. Este desequilibrio produce hipoxia en la región del tejido adiposo, apoptosis, liberación de quimiocinas y reclutamiento de

células inflamatorias. Este proceso inicia una inflamación local, que luego conduce a una inflamación sistémica, lo que se ha relacionado con el desarrollo de una diversidad de problemas sistémicos en pacientes con obesidad (Khan et al., 2020).

El envejecimiento provoca un aumento del porcentaje de grasa corporal y un cambio en la distribución del tejido adiposo, desde las capas subcutáneas a las capas viscerales. El envejecimiento incrementa el número de células senescentes y altera el fenotipo de las células preadipocíticas, lo que resulta en una secreción elevada de citocinas proinflamatorias, que en consecuencia contribuyen a la inflamación sistémica (Khan et al., 2020). Lo anterior cobra una relevancia interesante en una población mundial en la que se ha observado un incremento en la obesidad, el sedentarismo y una dieta alta en grasas y carbohidratos, que por supuesto también afecta a los adultos mayores.

### **1.13.-Hormesis**

La hormesis es una estrategia evolutiva que han desarrollado los organismos, órganos y células, para contrarrestar el estrés ambiental y metabólico en el que se desarrollan a lo largo de su vida. El fenómeno hormético se caracteriza principalmente por presentar una respuesta bifásica que generalmente es dosis dependiente. A bajas dosis, la respuesta es estimuladora y a altas dosis la respuesta es inhibitoria. La respuesta biológica ante un estímulo hormético tiene efecto en una diversidad de procesos fisiológicos celulares entre los que destacan la proliferación y crecimiento celular, la inhibición de la muerte celular por apoptosis, el incremento en la respuesta antioxidante y la disminución de la inflamación (Calabrese, et al., 2023).

Existe una diversidad de estímulos físicos, químicos, farmacológicos y fisiológicos que pueden inducir una respuesta hormética. El ejercicio es considerado un inductor de la respuesta hormética, ya que durante su realización se incrementan los niveles de ERO, los cuales participan de una manera preponderante en la regulación de diversos genes involucrados en la respuesta adaptativa de los individuos, en donde se incrementa la expresión de genes que participan en el mantenimiento y reparación del tejido muscular, la biogénesis mitocondrial y la respuesta antioxidante (Xia et al., 2023). La MTF como se ha mencionado anteriormente, es un fármaco que tiene múltiples efectos benéficos sobre la salud. Algunos reportes han mostrado que la MTF puede tener un efecto hormético, ya que a dosis bajas puede inducir la biogénesis mitocondrial en un mecanismo que incluye la activación de AMPK y la inhibición del complejo I, lo que tiene como consecuencia una disminución en la producción del radical superóxido  $O_2^{\bullet-}$  y con ello, una reducción en el estrés oxidante, lo que se asocia con un efecto benéfico para la salud (Emelyanova et al., 2021). Nuestro grupo de investigación ha reportado que compuestos como tBHQ son capaces de inducir la respuesta hormética antioxidante en un mecanismo que implica la activación del factor de transcripción Nrf2. En este trabajo demostramos que el pre-acondicionamiento con tBHQ en mioblastos de la línea L6 es capaz de modular el estado redox celular, incrementando la respuesta antioxidante, este tratamiento reduce la lipotoxicidad del ácido palmítico (Posadas et al., 2020). La evidencia anterior, muestra que los tratamientos horméticos son una excelente propuesta para contrarrestar los efectos dañinos que presentan los individuos con obesidad.

## **2.- Pregunta de investigación.**

¿Podrá el ejercicio tipo Fartlek individualmente o en combinación con la MTF y tBHQ evitar y/o revertir los daños asociados a la obesidad osteosarcopénica?

## **3.-Hipótesis**

Se sabe que el ejercicio moderado retarda la pérdida progresiva de músculo esquelético y que algunas moléculas como el tBHQ inducen la activación de vías de respuesta antioxidante y de supervivencia, mientras que el tratamiento con MTF mejora la funcionalidad muscular y activa la respuesta antioxidante, por lo que se esperaría que el ejercicio en conjunto con MTF y tBHQ evite la pérdida de músculo, disminuya la grasa corporal, mejore el estado redox y en consecuencia revierta la obesidad osteosarcopénica.

## **4.- Objetivo general**

Determinar si el tratamiento de ejercicio, MTF y tBHQ y sus combinaciones logran prevenir la pérdida de músculo, hueso y fuerza, así como disminuir la grasa corporal y mejorar el estado redox en un modelo de obesidad osteosarcopénica inducido con dieta alta en grasa.

## **5.- Objetivos Particulares**

Generar un modelo experimental con obesidad osteosarcopénica mediante el uso de una dieta alta en grasa (HFD) y sedentarismo.

Determinar la composición corporal (pérdida de músculo, hueso y el aumento de grasa) en ratas de 14 meses con los tratamientos de MTF, tBHQ y ejercicio.

Determinar la fuerza de agarre a los 14 meses bajo las distintas intervenciones.

Evaluar el perfil bioquímico y los parámetros clínicos hematológicos asociados al metabolismo bajo las distintas intervenciones.

Determinar la estructura e integridad de los tejidos susceptibles a daños por la OSO como son el hígado y músculo.

Evaluar el estado redox en sangre y músculo de ratas de 15 meses bajo las distintas intervenciones.

Determinar el nivel de inflamación en sangre y músculo de ratas de 15 meses bajo las distintas intervenciones.

## **6.- Material y método**

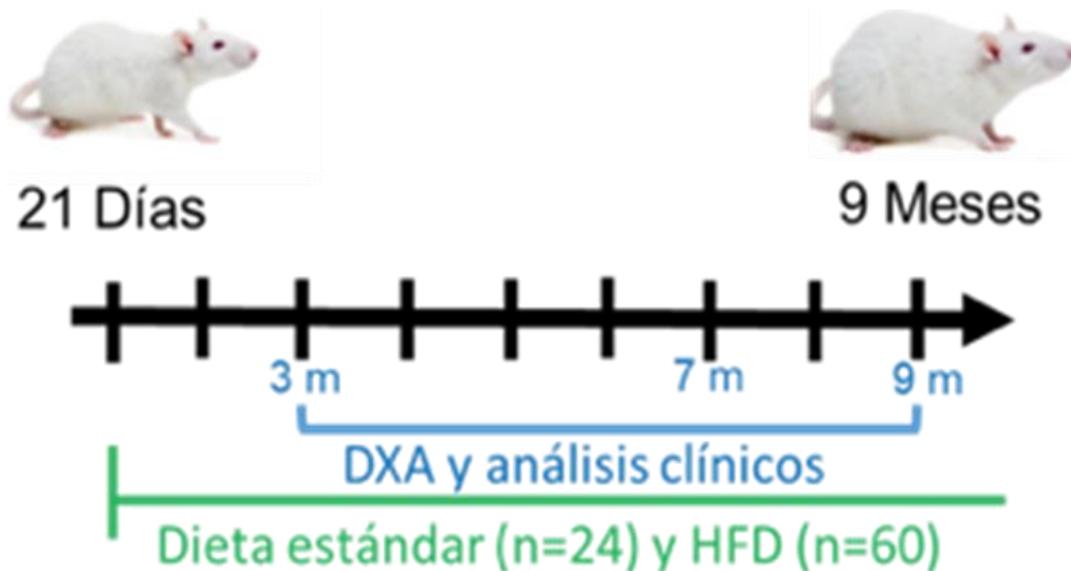
### **6.1.- Condiciones Animales.**

Para el estudio se utilizaron 84 ratas hembra de la cepa Wistar, las cuales fueron provistas por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, siendo de una colonia cerrada criada y mantenida en dicho bioterio. Los ejemplares fueron mantenidos bajo las siguientes condiciones: cuatro animales fueron colocados por caja de acrílico de 43 x 53 x 20 cm, sometidas a ciclo invertido de luz oscuridad (12 horas de luz y 12 horas de obscuridad), manteniendo una temperatura en promedio de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , con agua y alimento *ad libitum* (Dieta estándar (Abene BDL-7100) y Dieta Alta en grasa) Cabe recalcar que todos los procedimientos realizados en los ejemplares fueron llevados a cabo bajo la normativa establecida por la Guía de los Institutos Nacionales de la salud para el cuidado y uso de animales de laboratorio (GINSCUAL, 2011), los principios de la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999 que

establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y finalmente los dispuesto en la NOM-087-ECOL-1995 en materia de disposición de residuos animales.

## 6.2.- Establecimiento de los Grupos Dieta estándar, Grupo Alta en Grasa y Grupos con tratamiento.

A los 21 días de edad, (día de destete), las 84 ratas fueron distribuidas en dos grupos: Dieta estándar (SD) (n=24) y grupo de Dieta Alta en Grasa (HFD) (n=60). A los 3, 7 y 9 meses se les realizaron pruebas de composición corporal como más adelante se describe y análisis clínicos hematológicos para determinar alteraciones metabólicas.



**Figura A:** Conformación grupos Dieta Estándar (SD) y Dieta Alta en Grasa (HFD) para la generación del modelo de Obesidad Osteo-Sarcopénica (OSO), así como la temporalidad en la cual se realizaron los estudios para la caracterización de la OSO generada por Dieta Alta en grasa

A partir de los 9 meses, seis grupos fueron generados a partir del grupo HFD como se describe en la siguiente tabla.

Num.	Grupo (Nomenclatura)	Tratamiento	n
1	HFD – SED	Dieta alta en grasa sedentarias	12
2	HFD – SED + MTF	Dieta alta en grasa sedentarias con tratamiento de metformina	6
3	HFD – SED + tBHQ	Dieta alta en grasa sedentarias con tratamiento de tBHQ	6
4	HFD – SED + MTF+ tBHQ	Dieta alta en grasa sedentarias con tratamiento de metformina y tBHQ	9
5	HFD – EX	Dieta alta con régimen de ejercicio tipo Fartlek	12
6	HFD – EX + MTF+ tBHQ	Dieta alta con régimen de ejercicio tipo Fartlek y tratamiento de metformina y tBHQ (Triple Tratamiento)	12

**Tabla A:** Generación de los grupos de HFD con sus respectivos tratamientos, así como el número de animales (n=) que se emplearon.

Los seis grupos fueron inicialmente conformados por 12 animales a excepción de los grupos: **2)** HFD – SED + MTF, **3)** HFD – SED + tBHQ y **4)** HFD – SED + MTF+ tBHQ, debido a que no todos los animales alcanzaron los 300 gramos a los 9 meses (edad en la cual se conformaron los grupos con tratamiento), dado que pesos menores a 300 gramos representaron un criterio de exclusión, siendo dos veces la desviación estándar del promedio del peso de las ratas del grupo de HFD.

### 6.3.- Dietas (Dieta Estándar y Dieta Alta en Grasa)

La Dieta Estándar (SD) fue proveída por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, la cual consistía en una dieta comercial de la marca Abene BDL-7100 cuyo contenido nutricional y calórico se expresa en la **Tabla B**.

La Dieta Alta en Grasa (HFD) fue preparada y basada en los protocolos descritos por (Bautista et al., 2017), la cual consiste en una dieta obeso génica compuesta con 23.5% de proteína, 20% de grasa animal (40% de grasa saturada), 5% de aceite vegetal (60.7% grasa polinsaturada, 24.3% grasa monoinsaturada, 15% grasa saturada y 0% de colesterol), 20.2% de polisacáridos, 20.2% de monosacáridos, 5% de fibra vegetal, 5% de minerales y 1% de vitaminas (% p/p), cuyo contenido nutricional y calórico se expresa en la **tabla B**.

<b>Macronutriente</b>	<b>Dieta Estándar (SD)</b>	<b>Dieta Alta en Grasa (HFD)</b>
<b>Proteína</b>	23%	23.5%
<b>Grasa</b>	4.5%	25%
<b>Fibra</b>	6%	5%

**Tabla B:** Tabla comparativa de macronutrientes y aporte calórico por gramo de alimento de la Dieta Estándar y Dieta Alta en Grasa utilizada para la generación del modelo de OSO

<b>Carbohidratos</b>	46.5%	40.4%
<b>Aporte calórico</b>	3.2 kcal/gr	4.9 Kcal/gr

#### 6.4.- Tratamiento con MTF y tBHQ.

Ambos tratamientos fueron administrados intermitentemente (siete días por mes, a partir del mes diez y hasta el mes quince que finalizó el experimento). La MTF fue preparada diluyendo MTF de la marca PiSA® en MTF en solución de la marca Silanes® hasta alcanzar una concentración de 388 mg/mL, de esta solución se administró oralmente a una dosis de 250 mg/kg de peso corporal al día (Jung et al., 2017, Senesi et al., 2016), como se ilustra en la **figura B**.

Por otro lado, el tBHQ de la marca Sigma Aldrich ® se preparó disolviéndolo en aceite vegetal (usado en la dieta) hasta alcanzar una concentración de 100 mg/mL, dicha solución fue administrada oralmente proporcionando una dosis de 10 mg/kg de peso corporal al día (Nam et al., 2013), como se ilustra en la **figura B**.

#### 6.5.- Rutina de ejercicio.

El ejercicio aeróbico tipo Fartlek es un tipo de rutina caracterizado por cambios en la velocidad de desplazamiento en diferentes intervalos de tiempo, alternando incremento y disminución de la velocidad de desplazamiento. Los animales tuvieron un proceso de adaptación a la caminadora (Treadmill control LE8710 PANLAB HARVARD APPARATUS) y a la rutina a partir del noveno mes , la cual que se explica más detalladamente en la **tabla C**.

<b>Semana</b>	<b>Velocidad</b>	<b>Tiempo</b>
<b>1</b>	0 cm/s	10 minutos
<b>2</b>	12 cm/s	20 minutos
<b>3</b>	12 cm/s	30 minutos
<b>4</b>	25 cm/s	30 minutos

**Tabla C:** Tabla del proceso de adaptación a la caminadora y a la rutina tipo Fartlek, en donde las velocidades y los tiempos se incrementaba por semana.

La rutina de ejercicio tipo Fartlek fue realizada desde el mes diez y hasta el mes quince que finalizó el experimento, con una sesión de entrenamiento de 30 minutos, entrenando cinco días a la semana, como se ilustra en la **Figura B**. La rutina tipo Fartlek consistió en 10 minutos de calentamiento a baja velocidad (25 cm/s), los siguientes 10 minutos consistieron en un ejercicio moderado (50 cm/s) y finalmente los últimos 10 minutos se redujo la velocidad a 25 cm/s (ejercicio ligero).

**Figura B:** Temporalidad de los tratamientos de Metformina y tBHQ, así como la rutina de ejercicio. Todos los tratamientos comenzaron a los 10 meses en donde se les administraban vía oral MTF 250 mg/kg y tBHQ10 mg/kg, en conjunto con la rutina de ejercicio tipo Fartlek hasta los 15 meses cuando concluyó el experimento. Durante todo el experimento no fue cambiada la dieta para cada uno los grupos.

#### **6.6.- Parámetros morfométricos.**

Los ejemplares fueron pesado y medidos mensualmente, aunque en las gráficas se representan solo los meses 3, 7, 9 y 14 meses, ya que en esos meses se hicieron las determinaciones para la composición corporal. El peso, expresado en gramos, así como la longitud naso-rectal, expresada en cm, fue utilizada para determinar el índice de masa corporal (IMC) y el índice de Lee.

Para determinar el IMC y el índice de Lee, se utilizó la longitud naso-rectal en conjunto con el peso del animal, el IMC se calculó dividiendo el peso del animal expresado en kilogramos entre la longitud naso rectal expresada en metros al cuadrado ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ). El índice de Lee se determinó usando la raíz cúbica del peso

expresado en gramos, dividido entre la longitud naso rectal expresada en cm ( $\sqrt[3]{\text{g/cm}}$ ). A pesar de que el IMC es un parámetro necesario para diagnosticar obesidad en humanos, también es comúnmente utilizado para describir la obesidad en modelos animales, mientras que el índice de Lee es usado exclusivamente para diagnosticar obesidad en modelos animales pequeños, donde los autores establecen que los animales con un índice de Lee mayor a 0.30 son considerados animales obesos (Suarez et al., 2015).

#### **6.7.- Parámetros Bioquímicos.**

Los parámetros bioquímicos fueron determinados en los mismos tiempos que los parámetros morfométricos, a los 3, 9 y 14 meses de edad. Para la obtención de la sangre los animales fueron puestos en ayuno durante 8 horas en su periodo de luz (descanso) para evitar ser estresados, se obtuvieron 200  $\mu\text{L}$  de sangre proveniente de la vena caudal aproximadamente a 1 cm de la base de la cola, la muestra de sangre fue analizada inmediatamente para determinar glucosa, colesterol total, Lipoproteína de Alta Densidad (HD), triglicéridos, creatinina, AST, ALT y GGT, empleando en el analizador de química seca SPOTCHEM EZ analyzer (SP-4430) (Hernández et al., 2019).

#### **6.8.- Determinación de la composición corporal (DXA).**

Se determinó la composición corporal de los animales analizando: la grasa corporal, la densidad ósea mineral y la masa magra (sin hueso) mediante el uso de Absorciometría de doble emisión de rayos X (DXA), el equipo consistió en un escáner Discovery QDR Series, Hologic® Discovery USA (Hernández et al., 2019), a los 3, 7, 9

y 14 meses. Antes de cada determinación el equipo se calibró utilizando un modelo de rata previamente estandarizado (Hologic Rat Step Phantom P/N 010-0758). Las ratas fueron anestesiadas 30 minutos antes de cada determinación, utilizando un coctel de Ketamina/Xilacina a una concentración de 43% de Ketamina, 43% de solución salina y 14% de Xilacina, administrado vía intraperitoneal 1  $\mu$ L/g de peso corporal a cada ejemplar.

#### **6.9.- Determinación de fuerza de agarre.**

La fuerza de agarre fue evaluada a los 3, 7, 9 y 14 meses de edad, basándose en los trabajos de Hernández et al., 2019 y Haulcomb et al., 2017, con algunas adecuaciones. Se utilizó un dinamómetro digital de la Marca Rhino BAC-20 (PKCh) el cual fue colocado en posición vertical acoplado a una reja de metal con 1 cm de separación entre cada cuadrícula de metal. Los animales fueron colocados en posición vertical uno a uno en la reja de metal, posteriormente fueron jalados de la cola en el mismo plano vertical. Se registró la máxima tensión aplicada antes que el animal soltara el agarre y se tomó como la máxima fuerza de agarre, este procedimiento se repitió 3 veces por animal y los valores fueron normalizados con el peso individual y expresados en N/Kg.

#### **6.10.- Citoarquitectura del tejido muscular y hepático.**

Se practicó eutanasia por decapitación a los 15 meses de edad y se disectó el músculo gastrocnemio el cual se encuentra en la extremidad trasera, en la parte posterior y es el músculo más superficial, por otro lado también se hicieron laminillas de Hígado. Una proporción de ellos fueron destinados para evaluar la estructura e

integridad usando la técnica de tinción de Hematoxilina/Eosina (H&E). Los tejidos fueron fijados con formalina neutra al 4% (Solución de PBS y 4% de formaldehído) y conservados en refrigeración a 4 °C, los tejidos fueron posteriormente procesados en un Procesador Automático de Tejidos “Leica TP1020” y embebidos en bloques de parafina, usando un centro de inclusión “Leica EG 1160”, los bloques e tejido embebidos fueron colocados en congelación toda la noche a -20°C, al día siguiente fueron cortados en el plano transversal en un Microtomo Leica RM 2125RT, obteniendo cortes de 3 µm para ambos tejidos, los cortes fueron recuperados y desparafinados en un horno a 100°C por 15 minutos, para su posterior tinción, utilizando un tren de tinción pasando por xilol, diferentes concentraciones de etanol, agua destilada, Hematoxilina de Harris, alcohol ácido al 5%, 5% de agua amoniacal y Eosina Amarillenta, para finalizar las laminillas fueron lavadas en etanol y xilol, e incluidas en resina sintética y se les colocó a cada laminilla un porta objeto (Silva, 2020). Cada una de las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 horas, para su posterior análisis de citoarquitectura e integridad usando un microscopio Carl Zeiss Primo Star Image Analyzer Alemania acoplado a una cámara Zeiss Axicam ERc 5S. Para la interpretación y análisis de las laminillas se prestó mayor énfasis en las porciones del perimio y regiones centrales en el caso del músculo y el parénquima del hígado, las cuales son regiones muy afectadas durante el desarrollo de la OSO.

### **6.11.- Determinación de Estado Redox (Cociente GSH/GSSG).**

Para la determinación de la concentración de glutatión reducido (GSH) y Glutatión Oxidado (GSSG) se utilizó la técnica de Cromatografía Líquida De Alta Resolución (HPLC) de fase reversa, en el músculo gastrocnemio y en sangre provenientes de los ejemplares a los 15 meses, se siguió el protocolo de Hernández et al., 2019, con algunas modificaciones en la metodología, en donde 50 µL de sangre total fue lisada con 200 µL de Buffer de Lisis (10% de ácido clorhídrico/ 1mM BPDS) a 4°C mediante agitación mecánica en vortex, durante 10 minutos, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 5000 xg por 10 minutos a 4°C para obtener el sobrenadante (Porción proteica), el sobrenadante fue recuperado y alicuotado para su posterior análisis en el HPLC. Por otro lado, se tomó 200 mg de músculo gastrocnemio y se homogenizó con 800 µL Buffer de Lisis previamente descrito, el tejido fue homogenizado mecánicamente utilizando un homogeneizador de tejidos de la marca OMNI International “OMNI TISSUE HOMOGENIZER (TH)” por 5 minutos en cama de hielo, el homogenizado se centrifugó a 5000 xg por 10 minutos a 4 °C, se recuperó el sobrenadante y se alícuotó para sus análisis en el HPLC. Se tomaron 50 µL de ambos tejidos para ser inyectados y analizados en el HPLC.

Para el análisis se utilizó un equipo de la Marca “Waters” que consistía en una bomba binaria “Waters 1525 Binary HPLC Pump” (Waters, Miami, FL, USA) acoplada a un detector de UV/Visible calibrado a 210nm “Waters 2489 UV/visible detector”, para la separación de la muestra la fase estacionaria consistió en una columna “Zorbax Eclipse XDB-C18 Column” de 4.6 x 250 mm con 5 µm de partícula y una fase móvil compuesta de 1% de acetonitrilo y 99% de Buffer De Fosfato Monobásico (20mM de

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) a un pH de 2.7. Durante la corrida de cromatografía se utilizó un gradiente (Flujo variable) el cual consistía un incremento en el flujo y un incremento en la proporción de acetonitrilo, el cual se describe en la **Tabla D**.

Tiempo	Flujo	Fase móvil
0-5 min	1 mL/min	1% acetonitrilo y 99% de Buffer de Fosfatos
5-8 min	1.1 mL/min	10% acetonitrilo y 90% de Buffer de Fosfatos
8-10 min	1 mL/min	1% acetonitrilo y 99% de Buffer de Fosfatos
Tiempo	Flujo	Fase móvil
0-5 min	1 mL/min	1% acetonitrilo y 99% de Buffer de Fosfatos
5-8 min	1.1 mL/min	10% acetonitrilo y 90% de Buffer de Fosfatos
8-10 min	1 mL/min	1% acetonitrilo y 99% de Buffer de Fosfatos

<sup>F</sup> **Tabla D:** Condiciones a las cuales se determinó la concentración de GSH y GSSG

ara la determinación de la concentración de GSH y GSSG se evaluaron las áreas bajo la curva de los cromatogramas y se compararon con las curvas de calibración, las cuales

fueron establecidas, utilizando estándares de GSH y GSSG a concentraciones de 5, 10, 25, 50, 100, 200 y 400  $\mu\text{M}$ .

#### **6.12.- Determinación de los niveles de adiponectina.**

Los niveles serológicos de adiponectina fueron analizados en las ratas tratadas bajo los distintos tratamientos a los 15 meses. Para la determinación de la concentración de adiponectina se utilizaron 2  $\mu\text{L}$  de suero el cual fue diluido 1:800 y de esa dilución se tomaron 50  $\mu\text{L}$  de cada muestra. Para este ensayo se utilizó un kit comercial de la marca Abcam “ab108784-Adiponectin Rat Elisa Kit” USA.

#### **6.13. Análisis estadístico.**

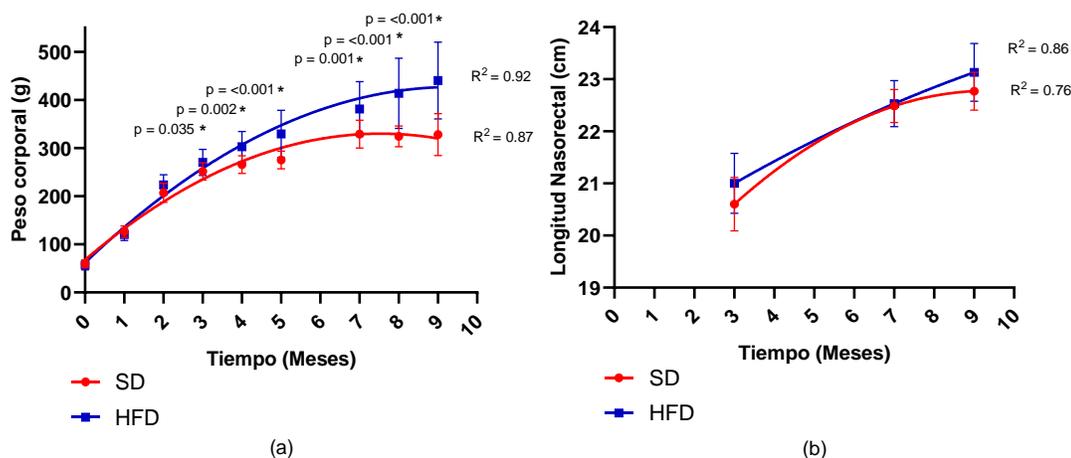
Para la presentación de todos los resultados se determinó y graficó el promedio incluyendo la desviación estándar ( $\pm$ ) de cada uno de los grupos de estudio. En el caso de las curvas de crecimiento poblacional se determinaron utilizando una correlación polinomial. Para la determinación de la diferencia estadística entre grupos se utilizó una prueba de ANOVA seguida de una prueba post hoc Holm-Sidak; para la construcción de las gráficas y el análisis estadístico se utilizó la paquetería de GraphPad prism 8.0. Para determinar la diferencia estadística se utilizó un grado de significancia de  $p < 0.05$ .

## 7.Resultados

### 7.1.- Establecimiento del modelo de obesidad osteo-sarcopénica (OSO) generada por dieta alta en grasa (HFD).

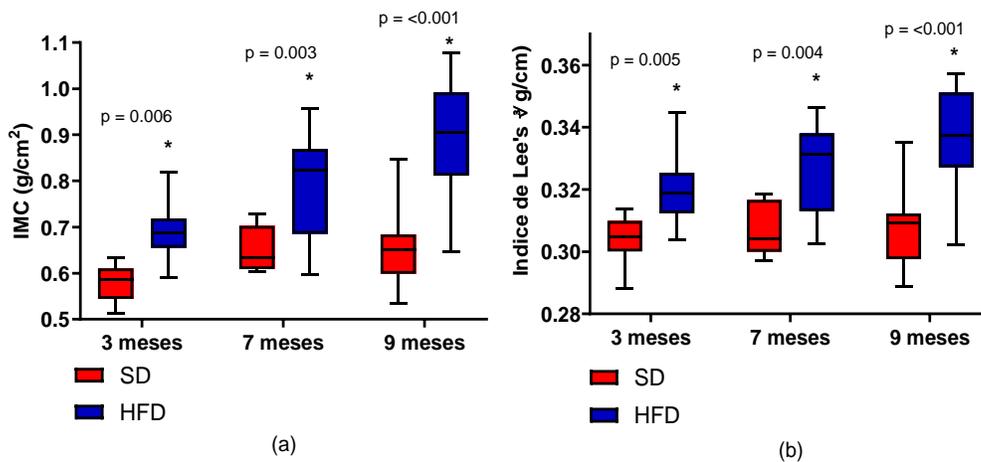
#### 7.1.1.- Determinación de los parámetros morfométricos en los grupos de dieta estándar (SD) y dieta alta en grasa (HFD).

El establecimiento de la OSO en el modelo de ratas sometidas a HFD fue determinado comparando los pesos del grupo experimental contra los pesos del grupo SD. En la figura 1(a) se muestra la curva de crecimiento polinomial del peso corporal determinado en diferentes temporalidades en los grupos alimentados con SD y HFD, la gráfica comienza desde los 21 días hasta los 9 meses de edad. A los 3 meses de edad existe una diferencia estadística significativa en donde el grupo HFD es 7% más pesado que el grupo SD ( $p = 0.035$ ) y esta diferencia se duplica a los 4 meses, en donde el grupo HFD es 14% más pesado comparado con el grupo SD ( $p = 0.002$ ), finalmente esa diferencia se vuelve más notoria a los 9 meses donde el grupo HFD es 34% más pesado que el grupo SD ( $p = <0.001$ ). En la figura 1(b) se muestra la longitud naso-rectal de ambos grupos a los 3, 7 y 9 meses de edad. Los resultados demuestran que ambos grupos aumentan su longitud naso rectal a lo largo del tiempo (10% de la longitud), pero no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos comparándolos a los 3, 7 y 9 meses, lo cual indica que ambos grupos aumentan la longitud en la misma proporción independiente a la dieta.



**Figura 1. Peso corporal y longitud naso rectal de SD y HFD.** El peso (a) y la longitud (b) se evaluaron en ratas alimentadas con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD). Las curvas de crecimiento se establecieron mediante un ajuste exponencial ( $R^2$ ). Las diferencias significativas entre los grupos con respecto a la HFD se marcan con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak, SD n = 24, HFD n = 60, \*  $p < 0.05$ .

En la figura 2(a) se observa que a partir de los 3 meses de edad, el grupo de ratas alimentadas con HFD aumentaron su IMC 20% en relación con el grupo de SD ( $p = 0.006$ ). Al evaluar el IMC de los grupos HFD a los 7 meses de edad, el incremento fue de 23% ( $p = 0.003$ ) y a los 9 meses corresponde a un 37% ( $p = <0.001$ ) de aumento con respecto al grupo SD. Al evaluar el índice de Lee a los 3, 7 y 9 meses de edad (Figura 2(b)) el grupo de HFD a los 3 meses presenta un aumento de 2% con respecto al grupo SD ( $p = 0.005$ ), al evaluar el resto de los meses se observó una diferencia mayor a lo largo del tiempo, donde a los 9 meses el grupo HFD presenta un índice mayor, 7% que el grupo SD ( $p = <0.001$ ). Cabe destacar que aquellos animales con un índice de Lee mayor a 0.30 son considerados animales obesos, en este caso el grupo de HFD presentaba un índice de (0.319) a los 3 meses y a los 9 meses este índice aumentaba hasta (0.337) lo cual indica que el grupo de HFD puede considerarse obeso desde los 3 meses.

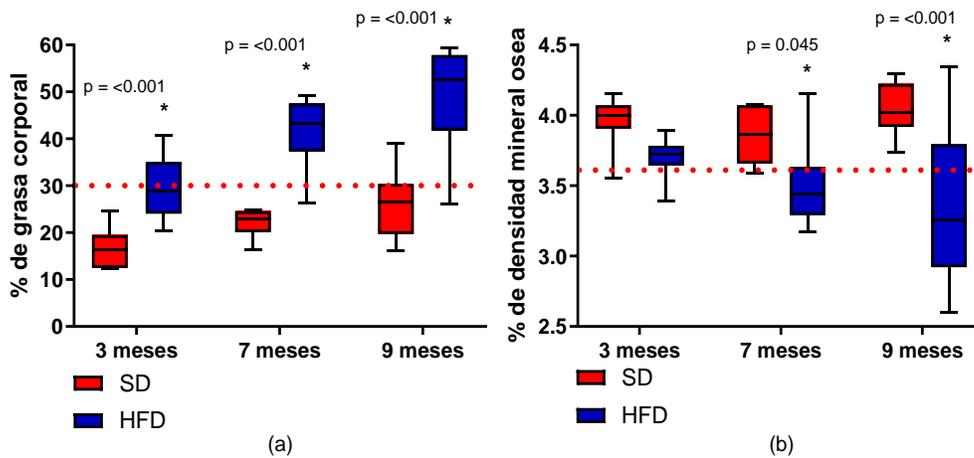


**Figura 2. IMC e índice de Lee de SD y HFD.** El IMC (a) y el índice de Lee (b) se graficaron como media y desviación estándar. Los datos se evaluaron en ratas alimentadas con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD). Las diferencias significativas entre los grupos con respecto a la HFD se marcan con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak  $n = 10$ ,  $*p < 0.05$ .

### 7.1.2.- Composición corporal y fuerza de agarre de las extremidades delanteras de los grupos SD y HFD.

En la figura 3(a) se grafica la grasa corporal determinada mediante el uso del DXA, se puede observar que a los 3 meses el grupo con HFD presentó un promedio de 29% de grasa corporal, siendo un 13% mayor que el grupo SD ( $p = <0.001$ ). Al evaluar el porcentaje de grasa a los 7 meses, el grupo de HFD presentó 41% de grasa corporal lo que significa un una diferencia del 19% con respecto al grupo SD ( $p = <0.001$ ), por último a los 9 meses, las ratas del grupo HFD presentaron 48% de grasa corporal, lo que representa un 23% más grasa en comparación con los animales del grupo SD ( $p = <0.001$ ). Además, se compararon los porcentajes de grasa con los puntos de cohorte establecidos por Ríos, 2019 y Collins, 2016, donde determinan que aquellos animales con un porcentaje de grasa corporal mayor a 30% o más se consideran como animales obesos. Tomando en cuenta el punto de cohorte de 30%, a

partir de los 7 meses edad el grupo de HFD puede ser considerado como obeso, por otro lado, los animales con dieta SD, no presentaron obesidad en ninguno de las tres edades evaluadas. Otro parámetro evaluado por el DXA fue la densidad mineral ósea, en donde a partir de los 7 meses el grupo HFD presenta una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los animales bajo dieta SD, debido a que al ser evaluados durante el tercer mes presentaban un porcentaje de 3.9% y 3.7% (Grupo de SD y HFD respectivamente). Esta diferencia aumenta a partir de los 7 meses, en donde el grupo HFD presenta un porcentaje de densidad mineral ósea de 3.4% un 0.4% menor que el grupo de SD ( $p = 0.045$ ). A los 9 meses de edad, los animales sometidos a HFD disminuyeron a un promedio de 3.3% de densidad mineral ósea, lo que se refleja en un 0.7% menor cantidad de hueso con respecto a los animales bajo SD ( $p = <0.001$ ). De igual manera se tomaron en cuenta los criterios para determinar los puntos de cohorte (Giknis, 2008), en donde porcentajes de densidad mineral ósea menores a 2.5 desviaciones estándar en relación con el valor del promedio de una rata joven alimentadas con SD. Al tomar en cuenta esos criterios se obtuvo el valor del punto de corte el cual fue 3.56% y aquellos porcentajes menores eran considerados como animales con osteoporosis, en el caso de los animales con HFD a partir de los 7 meses presentaron un porcentaje de densidad mineral ósea menor al punto de cohorte lo que nos sugiere que a partir de los 7 meses presentaban osteoporosis, mientras que el grupo de SD en ninguna de las 3 edades valuadas presentó valores menores a 3.56%.

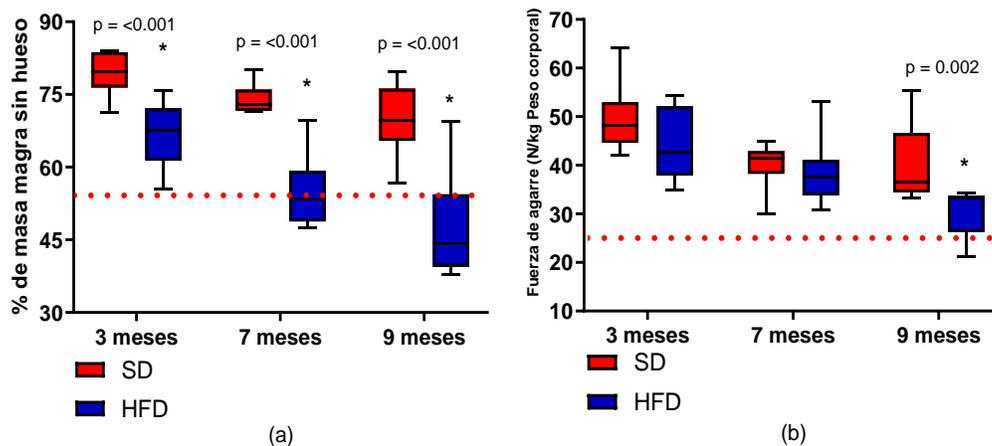


**Figura 3. Grasa corporal y densidad mineral ósea de SD y HFD.** Porcentaje de grasa (a) y hueso (b) graficando como media y desviación estándar. Los datos se evaluaron en ratas alimentados con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD) como se describe en la sección de metodología. La línea punteada representa el punto de cohorte, grasa: establecido en 30%, hueso: establecido con los valores medios de rata adulta joven a los 9 meses menos dos desviaciones estándar y media. Las diferencias significativas entre los grupos con respecto a la HFD se marcan con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak,  $n = 10$ ,  $*p < 0.05$ .

El último valor que puede determinar indirectamente el DXA es la masa grasa total sin hueso, la cual se calcula restando los valores de masa magra total menos los valores de hueso, el cual se puede tomar como un valor representativo de la cantidad de músculo que presenta cada ejemplar. En la figura 4(a) se observa que a los 3 meses disminuye el porcentaje de masa muscular del grupo HFD (66.6% de músculo), siendo un 13% menor que la masa magra de los animales sometidos a SD ( $p = <0.001$ ). Este descenso de masa muscular se mantiene a lo largo del tiempo en ambos grupos pero es más drástico en el grupo HFD en donde a los 7 meses presenta 54.8% de masa magra, siendo un 19% menor que el grupo SD ( $p = <0.001$ ). A los 9 meses de edad, los animales sometidos a HFD presentaron un porcentaje de masa magra de un 47.84%, lo cual significa un 22.8% menor cantidad de masa magra que los animales sometidos a SD ( $p = <0.001$ ). Al igual que el hueso y la grasa corporal, se

determinaron puntos de cohorte para determinar la sarcopenia bajo los parámetros establecidos por (Mena, 2021), en donde aquellas ratas con un porcentaje de masa magra menor a dos desviaciones estándar con respecto al promedio de la masa magra de ratas adultas de 9 meses, con esos parámetros se determinó que el punto de cohorte se encontraba en 55.6% y aquellos animales con un porcentaje menor eran considerados organismos pre-sarcopéenicos, ya que se requiere disminución de la fuerza y masa muscular para diagnosticar la sarcopenia. En el caso de los animales alimentados con HFD ocurrió una pérdida significativa de masa muscular a los 7 y 9 meses lo cual permite sugerir que presentan un estado pre-sarcopéenico desde los 7 meses de edad, mientras que el grupo de animales con SD no perdió masa magra durante los 3 periodos de edad evaluados.

Como se mencionó previamente, para diagnosticar la sarcopenia se requiere de la disminución de masa muscular y de fuerza, por eso a los 3, 7 y 9 meses se determinó la fuerza de agarre como variable para diagnosticar la pérdida de fuerza (dinapenia). En la figura 4(b) se grafica la fuerza de agarre en los 3 periodos de edad antes mencionados. A los 3 y 7 meses no se encontró una disminución de fuerza estadísticamente significativa del grupo HFD con respecto al grupo SD; sin embargo, al evaluar la fuerza de agarre a los 9 meses, el grupo HFD mostró una disminución de un 35% con respecto al grupo SD ( $p = 0.002$ ). Los promedios fueron comparados con los puntos de cohorte para diagnosticar dinapenia, en donde se determinó que el valor del punto de cohorte era de 24.7 N, ninguno de los grupos de dieta en ninguna edad evaluada presentaron una disminución menor al valor del punto de cohorte, siendo el promedio del grupo HFD a los 9 meses el valor más bajo (30N).



**Figura 4: Masa magra sin hueso y fuerza de agarre de SD y HFD.** Masa magra sin hueso (a) y fuerza de agarre (b) graficados como media y desviación estándar. Los datos se evaluaron en ratas alimentadas con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD) como se describe en la metodología. La línea punteada representa el punto de cohorte, la masa magra y fuerza: establecida con los valores medios de rata adulta joven a los 9 meses menos dos desviaciones estándar. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD se marcan con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak,  $n = 10$ ,  $*p < 0.05$ .

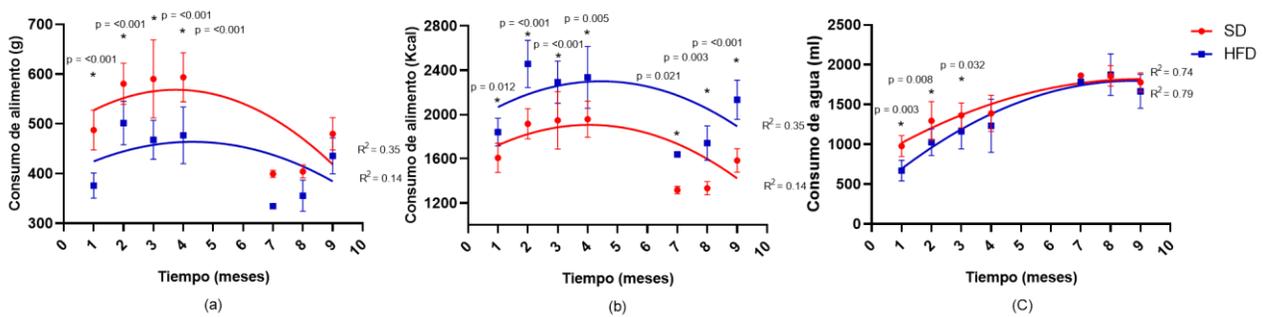
### 7.1.3.- Consumo de alimento y agua en los grupos SD y HFD.

El consumo de alimento se determinó por semana y posteriormente se hizo un promedio mensual (Figura Suplementaria 1a.) En la figura se observa que durante el primer mes, el grupo de animales con SD, consumió más alimento (30%) comparado con el grupo HFD ( $p = <0.001$ ), esta diferencia se conservó a lo largo del tiempo siendo 15% mayor en el segundo mes, 26% mayor al tercer mes y 24% mayor al cuarto mes ( $p = <0.001$ ), posterior al cuarto mes, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos. Por otro lado, también se determinó el consumo de Kcal mensuales, que se calculó multiplicando los gramos de dieta consumida por el aporte calórico por gramo de cada dieta. Los resultados arrojaron que el grupo de animales sometidos a HFD consumió una mayor cantidad de Kcal durante los primeros nueve meses del modelo, en donde en el primer mes el grupo de

HFD consumió mayor cantidad de kcal siendo un 14% más que el grupo SD ( $p = 0.012$ ), en el mes dos aumentó el consumo siendo 28% mayor con respecto al grupo SD ( $p = 0.001$ ), en el mes tres de igual forma el consumo fue mayor en grupo HFD con respecto a SD siendo 17% mayor ( $p = 0.001$ ), este consumo se mantuvo hasta el noveno mes, donde el grupo con HFD consumió un 34% más Kcal en comparación con los animales con SD ( $p = <0.001$ ).

De igual manera se registró el consumo de agua para así poder evaluar alteraciones en el metabolismo (polidipsia). Los valores se graficaron en la Figura Suplementaria 1c, y se observa un mayor consumo de agua en el grupo SD. Durante el primer mes un 46% mayor consumo ( $p = 0.003$ ), en el segundo mes el grupo SD consumió 26% más de agua ( $p = 0.008$ ) y en el tercer mes hubo una disminución diferencial porcentual, en donde el grupo SD consumió 17% más que los animales alimentados con HFD ( $p = 0.008$ ). Por su parte a partir del cuarto mes no se aprecian diferencias estadísticas significativas. Estos resultados nos indican que el consumo de alimento expresado en Kcal es mayor en el grupo HFD en todos los meses en comparación con el grupo de dieta estándar, a diferencia con el consumo de agua en donde los primeros tres meses es mayor en el grupo SD pero esta diferencia se pierde

en el cuarto mes.



**Figura Suplementaria 1: Consumo de alimento y agua.** Consumo de alimento expresado en g (a) o Kcal (b), y consumo de agua (c), representado como media y desviación estándar evaluados en ratas alimentadas con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD). Las curvas de crecimiento se establecieron mediante un ajuste exponencial ( $R^2$ ). Las diferencias estadísticas significativas entre grupos con respecto al grupo HFD se marcaron con \* El valor de probabilidad exacto se indica en el gráfico (Las comparaciones se establecieron mediante el uso de ANOVA y una prueba post hoc de Holm-Sidak  $n = 24$ ,  $DFH n = 60$ , \* $p < 0,05$ )

#### 7.1.4.- Determinación de parámetros bioquímicos en ambos tipos de dietas.

Se evaluaron las enzimas transaminasas como marcadores de daño hepático, en particular la aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y gama-glutamil transpeptidasa (GGT). Así como otros marcados hematológicos para determinar alteraciones en el metabolismo como triglicéridos, creatinina y glucosa, a los 3 meses y 9 meses. Los valores se presentan en la tabla 1. Algunos parámetros como HDL disminuyeron a los meses 3 y 9 meses, mientras que ALT disminuyó solo a los 9 meses, otros parámetros como triglicéridos aumentaron a los 9 meses en el grupo HFD, pero ninguno de esos parámetros estaba fuera de los rangos reportados por Giknis, 2008, siendo rangos propios de la cepa utilizada en diversos rangos de edad.

	Grupos				p
	SD 3 M	HFD 3 M	SD 9 M	HFD 9 M	
AST (U/L)	30.20 ± 8.58	36.6 ± 5.03	41.8 ± 3.49	50.6.0 ± 9.76	
ALT (U/L)	11.8 ± 2.49	11.0 ± 1.73	20.4 ± 3.71	13.6 ± 4.5 A	A = 0.009
GGT (U/L)	12.2 ± 1.78	11.0 ± 1.73	14.0 ± 4.06	11 ± 1.41	
Colesterol	60.2 ± 11.9	50.6 ± 1.51	73.8 ± 8.22	58.8 ± 12.52	
HDL mg/dL	18.0 ± 5	10.2 ± 0.83 A	23.8 ± 4.49	13.4 ± 4.21 B	A = 0.007 B=0.001
Triglicéridos mg/dL	51 ± 6.63	35.2 ± 15.5	46.8 ± 8.25	92.2 ± 17.94 A	A = <0.001
Creatinina mg/dL	0.28 ± 0.04	0.38 ± 0.16	0.28 ± 0.10	0.28 ± 0.13	
Glucosa mg/dL	107.8 ± 8.31	104.8 ± 13.29	94.4 ± 10.33	102 ± 10.44	

Tabla 1. muestra la media y la desviación estándar de GOT, GPT, GGT, colesterol, HDL, triglicéridos, creatinina y glucosa determinada en ratas alimentadas con dieta estándar (SD) y dieta alta en grasas (HFD). Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD se marcan con \*. Se indica el valor exacto de probabilidad. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak n = 10, \*p < 0.05.

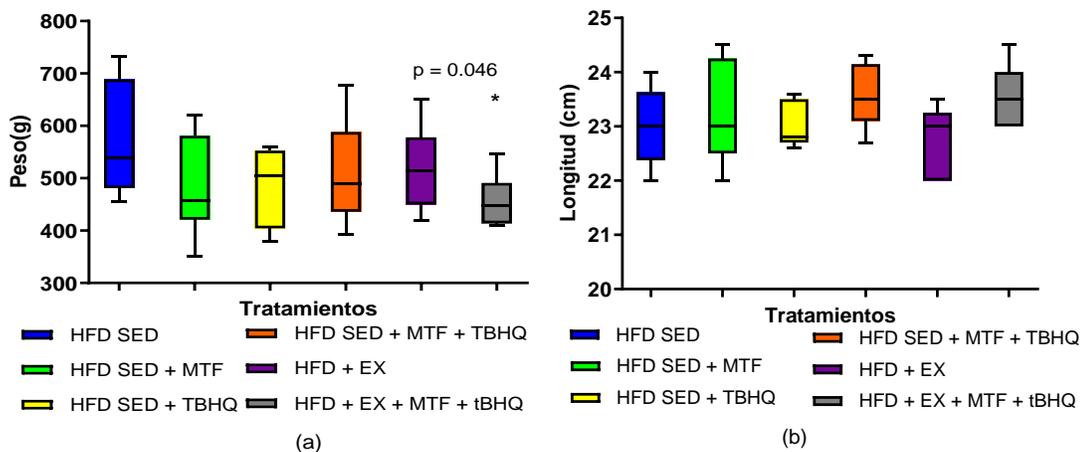
## 7.2.- Tratamientos horméticos para revertir la obesidad osteosarcopénica.

El consumo de HFD durante 9 meses efectivamente genera un modelo de obesidad-osteosarcopenica, representado por el aumento de la grasa corporal, la disminución en el porcentaje de músculo y hueso desde los 7 meses, aunque la disminución de fuerza solo se encontró a partir de los 9 meses.

A los 9 meses, el grupo de ratas con HFD fue dividido aleatoriamente en 6 grupos nuevos, los cuales fueron sometidos a los distintos tratamientos, como se mencionó anteriormente en la sección de material y método. Se excluyeron a las ratas que pesaban menos de 300 g. Los tratamientos se efectuaron desde los diez hasta los quince meses de edad, momento en el que se eutanasiaron los animales; los tejidos fueron diseccionados y almacenados a -80°C hasta su procesamiento. De igual forma se evaluaron las variables previamente mencionadas en todos los grupos incluyendo SD y HFD.

### 7.2.1. Parámetros morfométricos de grupos HFD con diversas intervenciones.

En la figura 5(a) se grafica el peso corporal registrado en cada uno de los 6 grupos de HFD posterior a las distintas intervenciones a los 14 meses de edad. Los resultados mostraron una disminución del peso corporal en todos los tratamientos, aunque solo el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (triple tratamiento) presentó diferencia estadística significativa comparándolo con el grupo HFD – SED, 24% de disminución en el peso corporal ( $p = 0.046$ ). No se encontraron diferencias en el tamaño de los ejemplares (longitud naso rectal) bajo ninguna intervención, Figura 5(b).



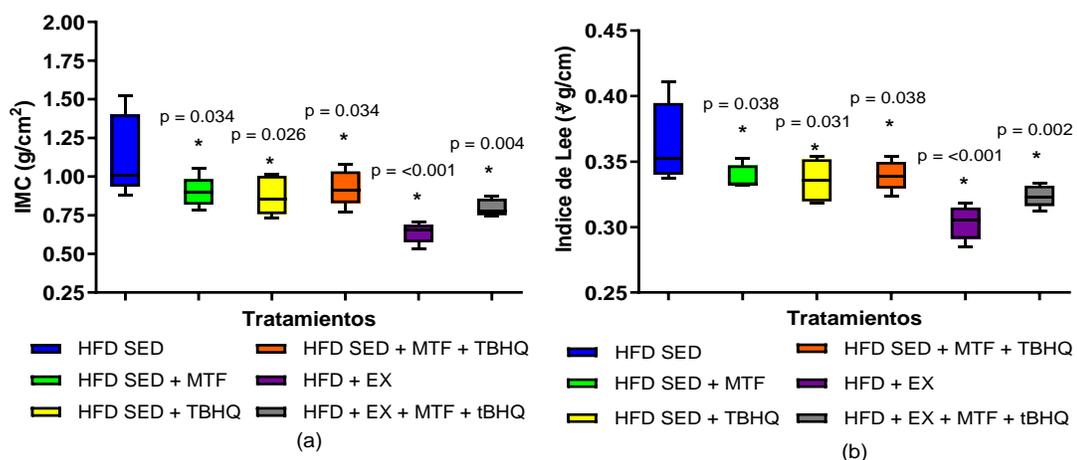
**Figura 5: Peso corporal y longitud nasorrectal de los grupos HFD y sus tratamientos. Peso (a) y longitud (b) graficados como media y desviación estándar.** Los datos fueron evaluados en ratas (HFD) y los respectivos tratamientos a los 14 meses de edad como se describe anteriormente. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD-SED se marcan con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc Holm-Sidak post hoc. Peso corporal: HFD-SED n = 8, HFD-SED + MTF n = 5, HFD-SED + tBHQ n = 4, HFD-SED + MTF + tBHQ n = 11, HFD + EX n = 11, HFD + EX + MTF + tBHQ n = 8, longitud n = 5, \* $p < 0.05$ .

En la figura 6(a) se presenta el IMC, el cual disminuyó después de todas las intervenciones, comenzando por el grupo HFD – SED + MTF que tuvo una disminución del 24% en su IMC ( $p = 0.034$ ), seguido del grupo HFD – SED + tBHQ el cual disminuyó el IMC en un 28% ( $p = 0.026$ ), mientras que el grupo de HFD – SED + MTF

+ tBHQ, disminuyó un 21% el IMC ( $p = 0.034$ ) con el respecto al grupo HFD sin tratamiento. Por otro lado, el grupo con tratamiento de ejercicio HFD + EX disminuyó 76% ( $p = <0.001$ ) y por último, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (triple tratamiento) redujo el IMC en un 41% ( $p = 0.004$ ).

Así mismo, todos los tratamientos lograron disminuir el índice de Lee, Figura 6(b). El grupo HFD – SED + MTF tuvo una disminución del 6% ( $p = 0.038$ ), el HFD – SED + tBHQ disminuyó 8% ( $p = 0.031$ ), el grupo de HFD – SED + MTF + tBHQ, disminuyó 7% ( $p = 0.038$ ), el grupo con tratamiento de ejercicio HFD + EX disminuyó 20% ( $p = <0.001$ ) y, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (triple tratamiento) redujo el índice de Lee en un 16% ( $p = 0.002$ ).

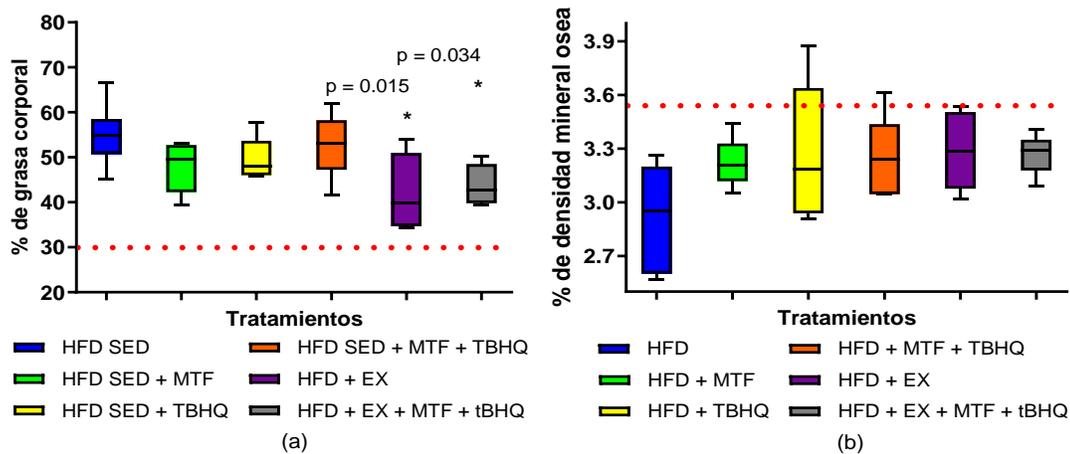
El índice de Lee permite determinar si un animal es obeso cuando los valores son mayores a 0.30, y, a pesar que todos los tratamientos logran disminuir el índice de Lee, los valores aún siguieron siendo muy elevados por lo consiguiente se siguen considerando como animales obesos.



**Figura 6: IMC e índice de Lee de los grupos HFD y sus tratamientos.** El IMC (a) y el índice de Lee (b) graficados como media y desviación estándar evaluadas en ratas con HFD y los tratamientos respectivos a los 14 meses de edad. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak  $n = 5$ ,  $*p < 0.05$ .

### **7.2.2. Composición corporal y Fuerza de agarre de las extremidades anteriores en los grupos de HFD bajo las distintas intervenciones.**

Se determinó la composición corporal de los 6 grupos HFD bajo las distintas intervenciones a los 14 meses. Al evaluar el porcentaje de grasa corporal, en la figura 7 se observa una disminución estadísticamente significativa en los grupos que incluyeron entrenamiento tipo Fartlek, reduciendo el porcentaje de grasa corporal. El grupo HFD + EX presentó un 42.2% de grasa corporal, lo que significa una disminución del 12% en comparación con el grupo HFD – SED ( $p = 0.015$ ). Por otro lado, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (triple tratamiento) tuvo 43.8% de grasa corporal, lo que representa una disminución del 11% ( $p = 0.015$ ). A pesar de que se logró reducir el porcentaje de grasa corporal, los tratamientos que incluían ejercicio no lograron disminuir el porcentaje de grasa menor al 30%, el cual es el punto de cohorte para ser considerados como animales obesos establecido por Rios en 2019 y Collins en 2016; por lo tanto, los animales de todos los tratamientos continuaron siendo animales obesos. En la figura 7(b) se grafica la densidad mineral ósea, observándose un ligero aumento de porcentaje de hueso en todos los tratamientos, sin embargo, este no fue estadísticamente significativo, por lo que ninguno de los tratamientos logró revertir el estado osteoporótico.

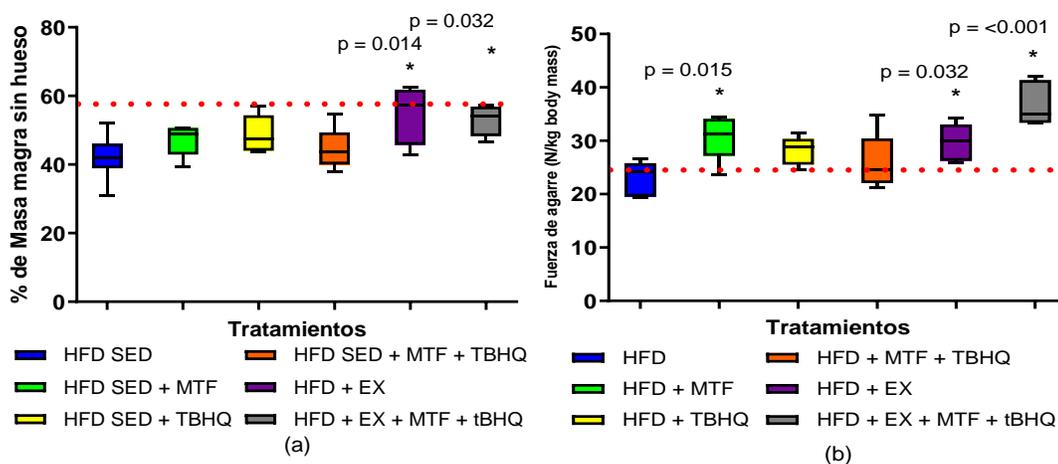


**Figura 7: Grasa corporal y densidad mineral ósea de los grupos HFD y sus tratamientos.** La grasa corporal (a) y la densidad mineral ósea (b) se determinaron en ratas con HFD y los tratamientos respectivos a los 14 meses de edad. La línea punteada representa el punto de cohorte, grasa: establecido en 30%, hueso: establecido con los valores medios de rata adulta joven a los 9 meses menos dos desviaciones estándar y media. Las diferencias significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak  $n = 5 * p < 0.05$ .

Al evaluar el porcentaje de masa magra sin hueso, se observó que solo los tratamientos que incluyeron a la rutina de ejercicio lograron aumentar el porcentaje de masa magra comparados con el grupo HFD sin intervención. En la Figura 8(a) se observa que el grupo HFD + EX presentó un porcentaje de masa magra de un 54.2%, lo cual es 12% más que el grupo HFD sin intervención ( $p = 0.014$ ). Por otro lado, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (triple tratamiento) presentó 52.9% de masa magra sin hueso, siendo 10% mayor en comparación con el grupo HFD – SED ( $p = 0.014$ ). Un dato importante por desatacar es que al comparar los porcentajes de masa magra del grupo de HFD a los 9 meses (55.6%), con los tratamientos que incluyeron ejercicio, se lograron mantener los niveles de masa magra 6 meses más en comparación con el resto de los grupos.

A la par se evaluó la fuerza de agarre para diagnosticar si los tratamientos con el régimen de ejercicio lograban revertir la sarcopenia. En la figura 8(b) se grafica la fuerza de agarre evaluada, se observa que el grupo HFD - SED + MTF aumentó 7% la fuerza a los 14 meses con respecto al grupo sedentario sin intervención ( $p = 0.015$ ). También hubo un incremento de la fuerza de agarre en los grupos que incluían ejercicio tipo Fartlek, HFD + EX, siendo de 9% ( $p = 0.032$ ) y en el caso de HFD + EX + MTF + tBHQ la fuerza aumento 13% ( $p = <0.001$ ) con respecto al grupo HFD sin intervención.

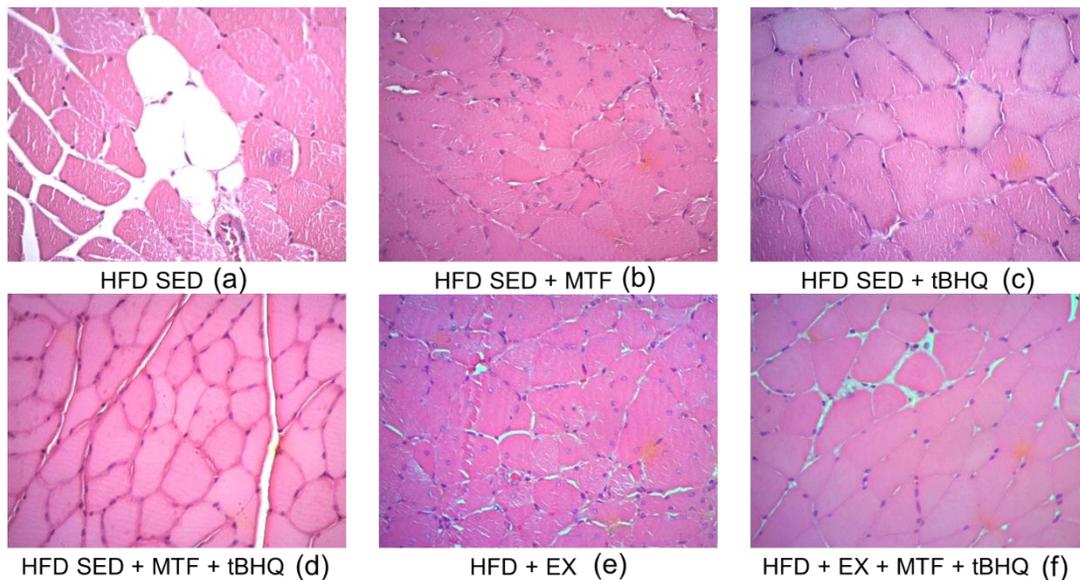
En este caso también se usaron los puntos de cohorte previamente determinados (24.7N) utilizando la metodología de Mena, 2021, en todos los casos, a excepción del grupo HFD sin intervención, los tratamientos logran mantener la fuerza hasta superar el punto de cohorte, lo que sugiere que todos los tratamientos mantuvieron la fuerza otros 6 meses.



**Figura 8: Masa magra sin hueso y fuerza de agarre de los grupos HFD y sus tratamientos.** Se determinaron la masa magra (a) y fuerza de agarre (b) en ratas con HFD y los tratamientos respectivos a los 14 meses de edad. La línea punteada representa el punto de cohorte (Mena,2021) Masa magra y fuerza: establecida con los valores medios de rata adulta joven a los 9 meses menos dos desviaciones estándar. Las diferencias significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak  $n = 5$ .  $*p < 0.05$ .

### 7.2.3.- Histología muscular y hepática de los grupos tratados con HFD.

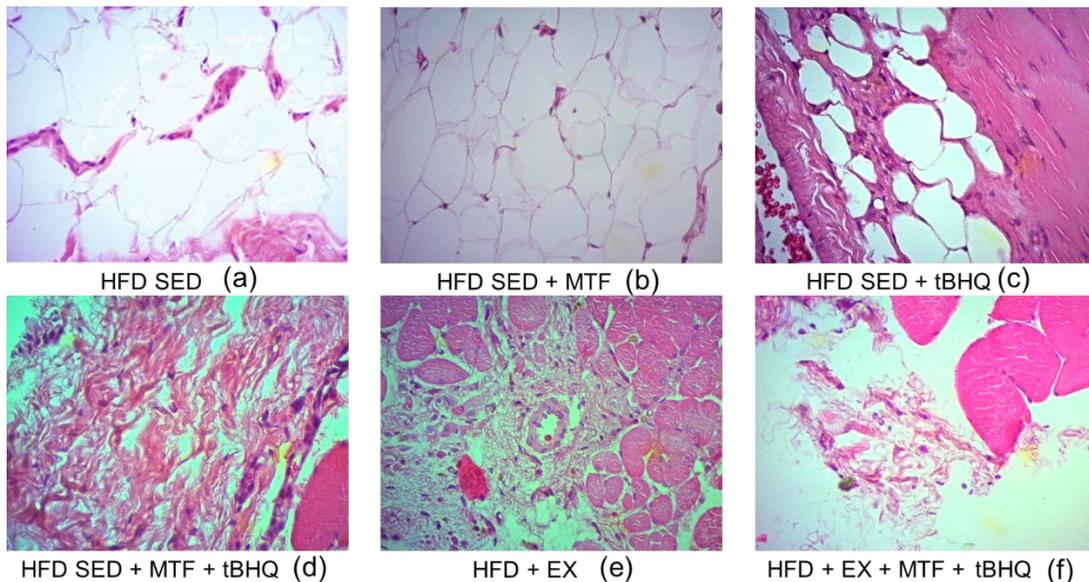
En la figura 9 se muestran micrografías representativas de cortes histológicos de gastrocnemio de ratas sometidas a HFD y distintos tratamientos a los 15 meses de edad. Los cortes histológicos fueron teñidos con la técnica de H&E. La micrografía 9(a) muestra el gastrocnemio del grupo HFD sin intervención, en el cual se aprecia pérdida de la continuidad de los fascículos, la separación de las fibras musculares, un aumento en la cantidad de endomisio y tejido adiposo intramuscular. El tamaño de los adipocitos varía, siendo la mayoría de tamaño mediano, de aproximadamente 25  $\mu\text{m}$ . También se logran apreciar infiltrados inflamatorios entre las fibras musculares, lo que sugiere procesos inflamatorios dentro del músculo. Para los grupos HFD + SED + MTF (figura9(b)), HFD + SED + tBHQ (figura9(c)), HFD + SED + MTF + tBHQ (figura9(d)), las fibras musculares presentan una mejor distribución, los fascículos se encuentran más definidos, y los espacios entre fibras musculares se redujeron, por otro lado aún se logran apreciar infiltrados inflamatorios. Finalmente, en los tejidos de los grupos que realizaron la rutina de ejercicio HFD + EX (figura9(e)) y HFD + EX + MTF + tBHQ (figura9(f)), se logran apreciar uniones estrechas entre las fibras musculares, además, resulta difícil distinguir los espacios entre fascículos, a pesar de la mejoría en la disposición aún se observa la presencia de infiltrados inflamatorios. Sería importante señalar en la figura los adipocitos y los infiltrados.



**Figura 9: Histología del gastrocnemio de los grupos HFD y sus tratamientos.** Se muestra los cortes transversales de gastrocnemio teñido con H&E diferenciando la estructura y disposición de las fibras musculares obtenidas en las ratas HFD después de las diferentes intervenciones a los 15 meses de edad. Las micrografías tienen un aumento de 40x. n = 3.

Además de las regiones centrales, también se evaluaron regiones perimetrales como el epimisio, donde se logran apreciar diferentes tipos celulares y diferentes tipos de tejido conectivo. En la figura 10 se presentan diferentes micrografías de la porción de epimisio del gastrocnemio, en el grupo HFD sin intervenciones, figura 10 (a), se observaron adipocitos grandes en abundancia de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ , en su mayoría con forma poliédrica, en la periferia de los fascículos también se observa tejido conectivo denso. En los cortes del grupo HFD - EX + MTF (figura10(b)), se redujo el diámetro y número de células adipocíticas, pero también se observa tejido conectivo denso. Esta misma cito arquitectura se conservó en HFD - SED + MTF + tBHQ (figura10(d)) y el grupo HFD - SED + tBHQ (figura10(c)), donde hubo una reducción del diámetro de los adipocitos (aproximadamente 30  $\mu\text{m}$ ), así como una

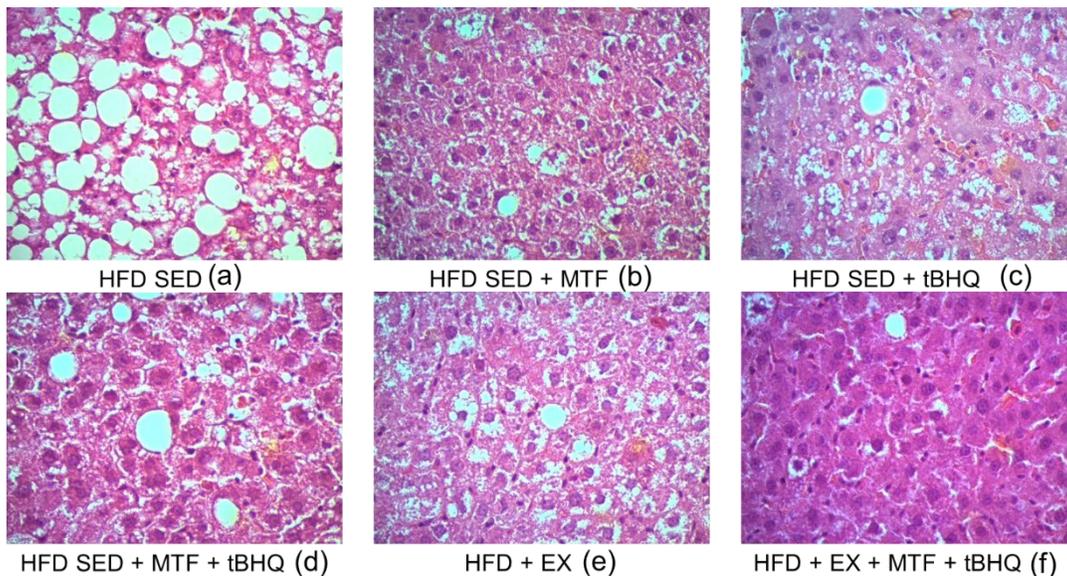
mayor distribución de tejido conectivo denso en comparación con el grupo de HFD sin intervenciones. Por último, los cortes de los grupos de HFD – EX (figura10(e)) y HFD + EX + MTF + tBHQ (figura10(f)), presentaron una menor cantidad de adipocitos, aunque el grupo de HFD – EX (figura10(e)) presentó una mayor proporción de tejido conectivo denso, así como infiltrados entre los fascículos musculares. Otra diferencia con el triple tratamiento fue que este tratamiento presentó regiones con tejido conectivo laxo, lo cual indica una mejora en la estructura del músculo.



**Figura 10: Histología del epimisio del gastrocnemio de los de los grupos HFD y sus tratamientos.** Imágenes representativas que muestran secciones transversales del epimisio del gastrocnemio teñido con H&E para diferenciar el tipo de célula y la disposición tisular. El gastrocnemio se obtuvo en las ratas con HFD después de las diferentes intervenciones a los 15 meses de edad. Las micrografías tienen un aumento de 40x. n = 3.

El hígado es uno de los órganos más importantes para el metabolismo de los lípidos, y era de esperarse, que fuera uno de los órganos más afectados por la dieta alta en grasa. De manera que en el grupo HFD sin intervenciones (figura11(a)), se observan gotas lipídicas de tamaños importantes, entre 10 a 30  $\mu\text{m}$ , las cuales se

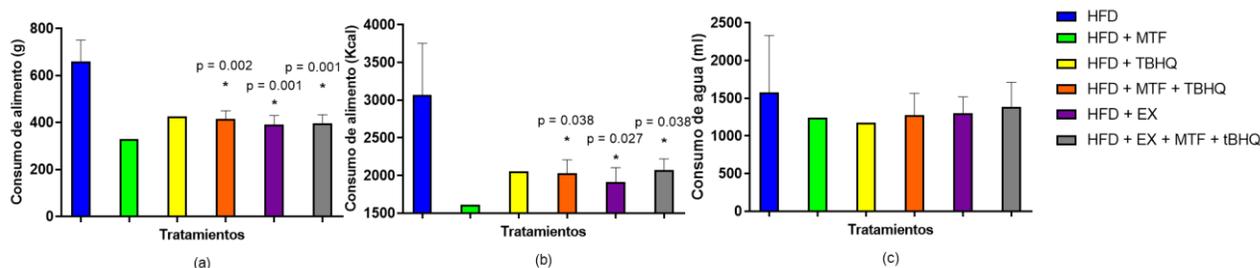
encontraban en al menos 70% de la laminilla. Los adipocitos perdieron su arquitectura columnar, y en toda la laminilla no fue posible distinguir los centros vena lobulillar, además que se observan monocitos y linfocitos, todas estas características sugieren una condición de esteatosis hepática no alcohólica. En los grupos HFD – SED + MTF (figura11(b)), HFD - SED + tBHQ (figura11(c)), HFD - SED + MTF + tBHQ (figura11(d)), HFD + EX (figura11(e)), se aprecia una disminución considerable en el número y tamaño de las gotas lipídicas, ya que en general solo 20 a 30% de la superficie de la laminilla mantiene los infiltrados inflamatorios. Por último, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ (figura11(f)), fue el grupo que presentó mayor cambio, con una disminución mayor en el número de adipocitos, donde solo se apreciaron de dos a tres gotas lipídicas por laminilla, pero aún se logra distinguir infiltrados en todos las laminillas



**Figura 11: Histología hepática de los de los grupos HFD y sus tratamientos.** Se muestra los cortes transversales de hígados teñidos con H&E y se diferencian la estructura y los infiltrados. El gastrocnemio se obtuvo en las ratas con HFD después de las diferentes intervenciones a los 15 meses de edad. Las micrografías tienen un aumento de 40x. n = 3.

## 7.2.4.- Consumo de alimento y agua de grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.

El registro del consumo de alimento y agua se muestra en la Figura Suplementaria 2, en donde se registró el consumo de alimento a los 14 meses. Se observa que los tratamientos HFD -SED + MTF + tBHQ, HFD + EX, HFD + EX + MTF + tBHQ presentaron una diferencia estadística significativa con respecto al grupo HFD sin intervención siendo del 58% ( $p = 0.002$ ), 68% ( $p = <0.001$ ) y 65% ( $p = <0.001$ ) menores, respectivamente. No se logró realizar el análisis estadístico para los grupos tratados con MTF y tBHQ ya que no se contaba con el número suficiente de animales para el análisis. Al expresar el consumo de alimento en Kcal, se observó el mismo comportamiento encontrado antes, en donde los grupos HFD -SED + MTF + tBHQ presentaron una diferencia del 50% ( $p = 0.038$ ), el grupo HFD + EX presentó una diferencia del 59% ( $p = 0.027$ ) y finalmente el triple tratamiento HFD + EX + MTF + tBHQ del 47% ( $p = 0.038$ ). En la evaluación del consumo de agua a los 14 meses no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa.



**Figura Suplementaria 2. Consumo de alimentos y agua.** El consumo de alimentos expresado en g (a) o Kcal (b), y el consumo de agua (c), se determinaron en ratas HFD y los respectivos tratamientos metformina (MTF), tBHQ y ejercicio (EX), y sus combinaciones. Las diferencias estadísticas significativas entre grupos con respecto al DFH se marcaron con \*. El valor de probabilidad exacto se indica en el gráfico (Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un HFD post hoc de Holm-Sidak n= 8, HFD + MTF n=5, HFD + tBHQ n=4, HFD + MTF + tBHQ n=11 , HFD + EX n=11, HFD + EX + MTF + tBHQ n=8 \* p < 0,05).

## 7.2.5.- Parámetros bioquímicos, de grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.

Se evaluaron los parámetros bioquímicos a los 14 meses bajo los distintos tratamientos, los resultados fueron registrados en la tabla 2, donde se muestra que ninguno de los parámetros evaluados presentó diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo HFD- SED o distinto a los rangos establecidos por el laboratorio de parámetros clínicos de ratas wistar, Giknis, 2008. Estos resultados demuestran que los animales alimentados con dieta HFD no presentaron alteraciones metabólicas, ya que ningún tratamiento superó los parámetros previamente reportados.

	Tratamientos (14 meses)						p
	HFD	HFD + Met	HFD + tBHQ	HFD + Met + tBHQ	HFD + EX	HFD + EX + Met + tBHQ	
AST (U/L)	49.4 ± 8.90	58.80 ± 18.83	66.60 ± 32.12	63.40 ± 22.63	54.6 ± 18.58	58.6 ± 24.24	
ALT (U/L)	15.20 ± 5.26	13.80 ± 4.49	13.80 ± 5.02	11.80 ± 3.03	10.6 ± 1.34	14.6 ± 7.40	
GGT (U/L)	29.60 ± 16.47	17.80 ± 12.03	33.20 ± 36.26	13.00 ± 3.11	10.4 ± 0.89	24.2 ± 23.84	
Colesterol	60.2 ± 22.21	74.00 ± 9.30	78.20 ± 8.92	63.4 ± 11.33	63.0 ± 5.74	62.4 ± 12.68	
HDL mg/dL	14.0 ± 6.51	15.00 ± 4.69	14.20 ± 5.26	14.20 ± 2.86	14.2 ± 1.28	13.6 ± 4.93	
Triglicéridos mg/dL	45.45 ± 21.62	48.40 ± 28.89	69.80 ± 12.26	66 ± 30.46	49.6 ± 27.58	42.6 ± 16.56	
Creatinina mg/dL	0.7 ± 0.31	0.32 ± 0.16	0.32 ± 0.21	0.48 ± 0.51	0.26 ± 0.08	0.36 ± 0.15	
Glucosa mg/dL	101.8 ± 7.82	95.20 ± 22.1	85.20 ± 18.16	106.6 ± 6.46	93.2 ± 13.72	106.2 ± 6.68	

La tabla muestra la media y la desviación estándar de ALT, AST, GGT, colesterol, HDL, triglicéridos, creatinina y glucosa que se determinaron en ratas con HFD y los respectivos tratamientos a los 14 meses de edad. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc de Holm-Sidak n = 5. \*p < 0.05

## 7.2.6. Supervivencia animal (Curvas de Kaplan-Meier).

Se registró y graficó el porcentaje de supervivencia de cada uno de los tratamientos, expresándolos en una curva de Kaplan-Meier. En ella se observa que el tratamiento de HFD + SED obtuvo una tasa de supervivencia del 25% a los 15 meses,

lo que quiere decir que por cada 10 animales solo sobrevivieron 2. Mientras que grupo con ejercicio tipo Fartlek, HFD + EX, incrementó la supervivencia hasta 58.3%, lo que representa un incremento de 33.3%. Los grupos HFD - SED + MTF, HFD - SED + tBHQ y HFD - SED + MTF + tBHQ presentaron un porcentaje de supervivencia de 66.66%, siendo esto un 41.6% mayor al grupo de HFD sin intervenciones. Finalmente, el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ, obtuvo un porcentaje de supervivencia de 77.7%, siendo 52.7% mayor que el grupo de HFD sedentario.

Los resultados indican que todos los tratamientos lograron incrementar el porcentaje de supervivencia de las ratas sometidas a la dieta alta en grasa, sin embargo, el grupo que tuvo la mayor supervivencia, triplicó la supervivencia comparada con el grupo HFD-SED. Algunas de las causas de muerte que se registraron fueron la muerte por complicaciones con la anestesia (6%); el 8% de los animales tuvieron que ser sacrificados por desnutrición, el 43% fue sacrificado por presentar tumores de glándulas mamarias y el 43% restante, se desconoce la causa de muerte, ya que fueron halladas sin vida en las cajas. Dentro de los ejemplares que presentaron tumores, el 62.5% pertenencia a grupo HFD sin intervenciones, y 37.5% pertenencia a los grupos con tratamientos.

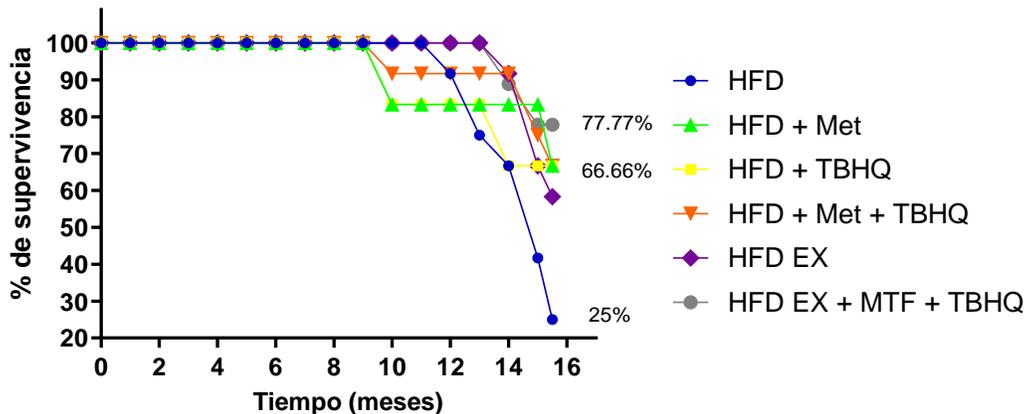
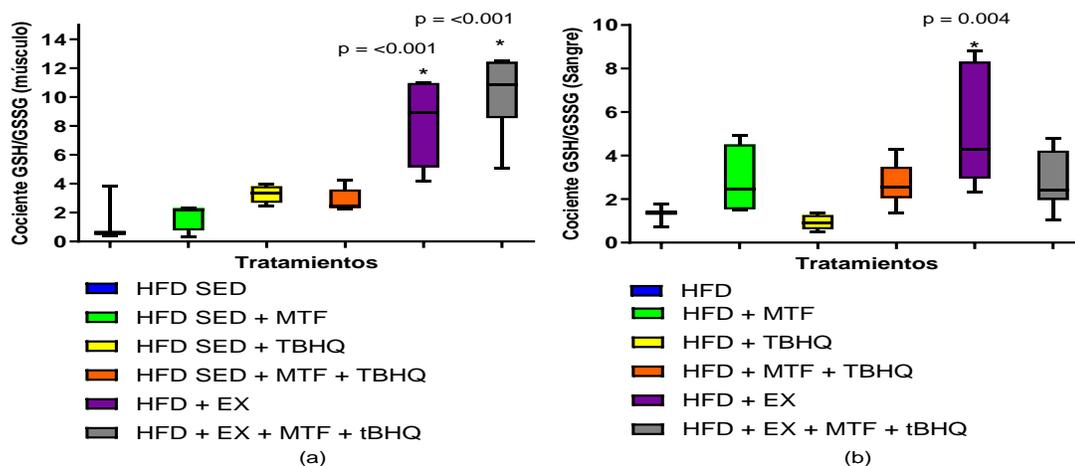


Figura 12: Curva de Kaplan Meier de los grupos HFD y sus tratamientos. Porcentaje de supervivencia de las ratas HFD y los tratamientos respectivos. Número inicial de animales = 81

### 7.2.7 Determinación del estado redox de los grupos HFD con diferentes intervenciones.

Se evaluó el estado redox en el músculo gastrocnemio y en la sangre de los animales a los 15 meses de edad, bajo los distintos regímenes de tratamiento. En la figura 13(a) se expresa el cociente GSH/GSSG del músculo, normalizado entre mg de proteína. Los grupos HFD – SED + MTF y HFD - SED + tBHQ y el HFD - SED + MTF + tBHQ, no modificaron el estado redox, por otro lado los grupos que incluían un régimen de ejercicio, mejoraron su estado redox, hasta cinco veces, mientras que el grupo HFD + EX lo hizo seis veces para el grupo HFD + EX + MTF + tBHQ ambos grupos con ( $p = <0.001$ ). Por otro lado, al evaluar el estado redox en sangre periférica, figura 13(b), solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el grupo HFD + EX, teniendo un aumento de 4 veces con respecto al grupo HFD SED ( $p = 0.004$ ), lo cual confirma que el régimen de ejercicio puede modular el estado redox mejorándolo, tanto en músculo como en sangre total.

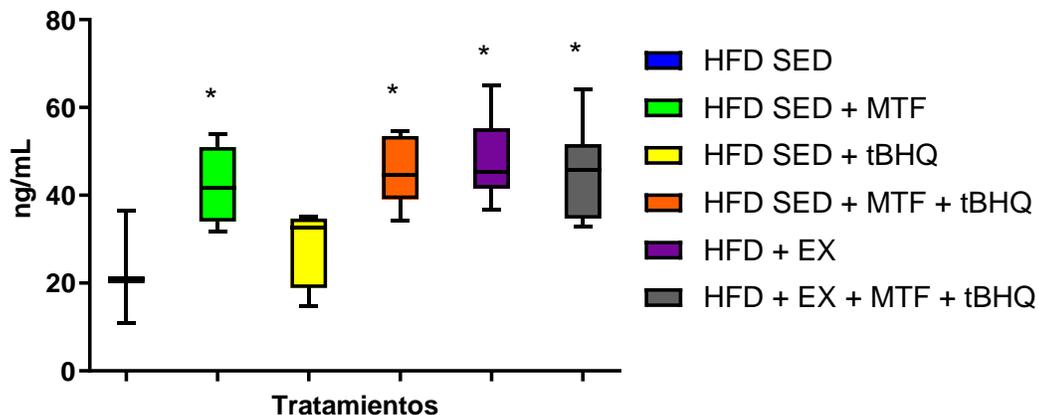


**Figura 13: Cociente GSH/GSSG de los grupos HFD y sus tratamientos.** La proporción de glutatión reducido (GSH) y glutatión oxidado (GSSG) se determinó mediante HPLC utilizando el músculo gastrocnemio (a) y la sangre total (b) obtenida de ratas con HFD y los tratamientos respectivos a los 15 meses de edad. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc Holm-Sidak HFD n = 3, HFD + MTF n = 4, HFD + tBHQ n = 4, HFD + MTF + tBHQ n = 8, HFD + EX n = 7, HFD + EX + MTF + tBHQ n = 7. \* $p < 0.05$ .

### 7.2.8 Niveles de adiponectina sérica en grupos tratados con HFD y sus respectivas intervenciones.

La figura 14 muestra la evaluación de los niveles de adiponectina en el suero de ratas sometidas a HFD y a diversos tratamientos a los 15 meses. El grupo HFD- SED presentó niveles de adiponectina de 22.7 ng/mL, mientras que los grupos tratados con MTF, HFD - SED + MTF aumentaron los niveles de adiponectina a 42.23 ng/mL, lo que significa 1.85 veces mayores niveles de adiponectina en comparación con el grupo HFD sin intervenciones. En el grupo HFD - SED + tBHQ, no se encontraron diferencias estadísticas significativas y el grupo HFD – SED, en el caso de HFD - SED + MTF + tBHQ aumentó los niveles de adiponectina hasta 45.47 ng/mL, lo que significa que los niveles de adiponectina se duplicaron ( $p = 0.005$ ). Finalmente, los grupos que incluían un régimen de ejercicio tipo Fartlek, duplicaron sus niveles de adiponectina, en

el caso de HFD + EX se elevaron hasta 47.62 ng/mL, lo cual es 2.09 veces los niveles del grupo HFD-SED ( $p = 0.004$ ) y para el caso de HFD + EX + MTF + tBHQ los niveles aumentaron hasta 46.27 ng/mL, lo cual es 2.08 veces mayor que los niveles de HFD sin tratamiento ( $p = 0.005$ )



**Figura 14: Niveles de adiponectina de los grupos HFD y sus tratamientos.** Los niveles séricos de adiponectina en ratas con HFD y los tratamientos respectivos a los 15 meses de edad se determinaron como se describe en materiales y métodos. Las diferencias estadísticas significativas entre los grupos con respecto a la HFD están marcadas con \*. El valor exacto de probabilidad se indica en el gráfico. Las comparaciones se establecieron utilizando ANOVA y un post hoc Holm-Sidak HFD  $n = 3$ , HFD + MTF  $n = 4$ , HFD + tBHQ  $n = 4$ , HFD + MTF + tBHQ  $n = 8$ , HFD + EX  $n = 7$ , HFD + EX + MTF + tBHQ  $n = 7$ . \* $p < 0.05$ .

## 8.-Discusión.

La obesidad osteosarcopénica (OSO) es un fenómeno reconocido como una patología combinada (Szeif et al., 2017) y es por ello que su estudio ha cobrado gran importancia. Se sabe que la OSO afecta alrededor del 32% (Ramírez et al., 2017) de la población de personas adultas mayores; por lo tanto, la OSO es más grave que cada una de las patologías que lo componen por si solas (Szeif et al., 2017 Ramírez et al., 2017). En 2017, se reportó que el 19% de las mujeres mexicanas de edad avanzada

padecían OSO (Ramírez et al., 2017). Mientras que a nivel mundial, la prevalencia de OSO en mujeres es del 11% (Kolbaşı, 2020).

En la actualidad, se han utilizado múltiples modelos animales para estudiar OSO, con diferentes dietas, estilo de vida sedentario (Jung et al., 2017, Nam et al., 2013) e incluso restricción hormonal (Ezzat et al., 2017). Sin embargo, casi todos estos modelos fueron realizados en animales jóvenes, y muy pocos emplearon terapias de intervención para revertir o retrasar la OSO.

En este trabajo se estableció un modelo OSO utilizando ratas hembra de la cepa Wistar alimentadas con una dieta HFD. La HFD promovió el aumento de grasa y la pérdida de masa muscular a partir de los 3 meses, la pérdida ósea a partir de los 7 meses y la pérdida de fuerza a partir de los 9 meses, lo que confirma el fenotipo OSO.

Cabe mencionar que existen pocos estudios sobre obesidad en animales de edad avanzada, en particular utilizando HFD por un periodo largo de suplementación. En nuestro estudio se administró HFD a partir del destete y hasta el final del experimento a los 15 meses de edad, cuando las ratas se consideraron de mediana edad.

Las diferentes intervenciones realizadas comenzaron a los 10 meses de edad, ya que se estableció la OSO en 9 meses. Los tratamientos incluyeron un cambio en los hábitos físicos (ejercicio Fartlek) y la administración de tBHQ y/o MTF durante 5 meses, lo que permitió a los animales ser evaluados longitudinalmente durante y después de los tratamientos. Cabe destacar que las intervenciones farmacológicas se administraron únicamente 7 días/mes de 10 a 15 meses de edad para obtener un efecto hormético.

El peso reportado para los animales HFD a los 4 meses (300 g) concuerda con los resultados reportados por otros autores (Suarez et al., 2015; Cárdenas et al., 2018), lo que indica que nuestros animales se mantuvieron en excelentes condiciones para generar el modelo de obesidad. El caso de los animales con SD, que pesaban 250 g, también coincidió con lo descrito por los informes técnicos de Harlan para animales de laboratorio (Klein et al., 2012), lo que demuestra que la dieta SD no altera el peso según los reportes para ratas de laboratorio con dieta estándar. Entre las intervenciones utilizadas para prevenir o revertir la OSO, destaca el cambio de dieta y el ejercicio regular (García et al., 2018). Sin embargo, se sabe que modificar la dieta es un desafío en el caso de los pacientes humanos, porque en muchos casos no genera adherencia en el paciente, y tienden a volver a su dieta anterior (Gibson et al., 2017). Por lo tanto, la rutina de ejercicio se ha convertido en una intervención más aceptable. Se ha estudiado este tipo de entrenamiento para prevenir la OSO, si se utiliza la combinación de ejercicios aeróbicos, y ejercicios de fuerza, ejercicios aeróbicos de alta intensidad y ejercicios aeróbicos con cambios de ritmo (HIIT y Fartlek). Los dos últimos han mostrado mejores resultados ya que combinan el ritmo con los cambios que promueven un estado continuo de estrés, que impacta en la frecuencia cardíaca que se mantiene varios minutos después de haber bajado la velocidad (Frietzen et al., 2020, Sun et al., 2018; Gómez et al., 2019).

Aunque existen informes de que MTF y tBHQ individualmente pueden disminuir el peso del organismo (Nam et al., 2013, Jung et al., 2017), esto no sucedió en nuestro estudio. Quizás este efecto no se observe en los organismos de edad más avanzada, a diferencia de los organismos jóvenes. Sólo los animales sometidos al triple

tratamiento perdieron peso. Curiosamente, las ratas sometidas a las intervenciones que incluyeron ejercicio disminuyeron su porcentaje de grasa a los 14 meses de edad, aunque se sabe que los tratamientos inducen la pérdida de grasa (Fritzen et al., 2020; Nam et al., 2013, Jung et al., 2017) principalmente por activación de AMPK, que depende de la relación AMP/ATP. Por otro lado, se sabe que MTF inhibe el complejo I de la cadena de transporte de electrones mitocondriales, de manera dependiente de la dosis (Barzilai et al., 2016) disminuyendo así la producción de ATP y activando AMPK. Li y colaboradores (2019) informaron que tBHQ activa directamente a AMPK, aunque el mecanismo exacto aún no está claro, se sabe que el ejercicio puede aumentar la actividad de AMPK promoviendo el catabolismo molecular de la glucosa y de los ácidos grasos (Fritzen et al., 2020). Todos los tratamientos directamente involucrados con el catabolismo de los lípidos mediante la activación de la enzimas beta-oxidación, como es el caso del tBHQ, implican la activación de ACOX1 (Fritzen et al., 2020, Nam et al., 2013; Gómez et al., 2019). Además, el ejercicio es el mecanismo más estudiado relacionado con la degradación de lípidos ya que favorece el catabolismo lipídico debido a la activación de varias enzimas como mLPL, una lipasa conocida por aumentar su actividad 80% cuando las personas realizan un régimen de ejercicio moderado (Lundsgaard et al., 2019). Por otro lado, el ejercicio también favorece el transporte de lípidos dentro de la célula; las concentraciones de CD36 aumentan, y varias proteínas asociadas con este proceso, como las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP), que internalizan a los ácidos grasos también aumentan. Una vez dentro de la célula, los ácidos se activan mediante la síntesis de Acil-CoA (ACS), lo que permite su uso en el metabolismo o su almacenamiento. Además, el ejercicio

también se ha relacionado con el aumento de la síntesis de carnitina (CPT1), permitiendo que los ácidos grasos entren en las mitocondrias, donde se lleva a cabo la beta-oxidación (Fritzen et al., 2020). En el caso de la masa muscular y la fuerza de agarre, los tratamientos que incluyeron ejercicio lograron recuperar la masa muscular en al menos un 10%, incluso si los animales no alcanzaron un porcentaje de masa muscular aceptable, no debe considerarse un estadio pre-sarcopénico ya que depende también de la pérdida de fuerza.

A pesar de que se ha informado que la MTF activa la proliferación de las células musculares y la diferenciación (Jung et al., 2017, Senesi et al., 2016; Fritzen et al., 2020), el tratamiento hormético con MTF no logró inducir una diferencia estadística en la ganancia de masa muscular. Al analizar la fuerza de agarre se puede observar que los tratamientos de ejercicio mejoraron significativamente la fuerza de los animales, hasta el punto de que ya no se les consideraba dinapénicos. Estos resultados coinciden con un estudio anterior (Hernández et al., 2019), donde los animales viejos recuperaron fuerza, pero no masa muscular después del tratamiento con MTF y ejercicio. Curiosamente, se realizaron tratamientos con MTF de corta duración (6 frente a 12 meses) encontrando mayores beneficios en los tratamientos cortos.

Un hallazgo significativo fue la supervivencia de los animales en cada uno de los seis grupos de intervención durante la HFD. Sorprendentemente, el grupo con mayor tasa de supervivencia fue el triple tratamiento. Este efecto podría estar asociado con la pérdida de la grasa corporal y la disminución de la inflamación, que ya estos factores se han propuesto como factores determinantes en la longevidad del organismo. Se ha sugerido que la pérdida de grasa corporal conlleva un aumento en la esperanza de

vida en adultos con obesidad (Schafer et al., 2019). Curiosamente, una gran cantidad de los animales sometidos a la dieta HFD sin ninguna intervención, desarrollaron tumores en las glándulas mamarias, por lo que hubo que sacrificarlos. El desarrollo de tumores fue 1.66 veces mayor en los animales sedentarios alimentados con HFD en comparación con los animales HFD que hicieron ejercicio o fueron sometido a uno de los tratamientos. Esto es consistente con algunos informes en los que se ha determinado que la obesidad es un importante factor de riesgo para varios tipos de cáncer, incluido el cáncer de mama, resultando en un mayor riesgo, así como en morbilidad y mortalidad. Mayores niveles de citocinas inflamatorias durante la obesidad activan las vías proliferativas, como la infiltración de los macrófagos, la angiogénesis y la activación de vías anti apoptóticas (Bevinakoppamath et al., 2021; Drygalski et al., 2011). El tejido adiposo genera una inflamación crónica de bajo grado, que también contribuye al aumento del estrés oxidante (Kulkarni et al., 2020; Hernández et al., 2019). Se sabe que tanto el ejercicio como la MTF, reducen el tejido adiposo y en consecuencia disminuyen el estado inflamatorio y el estrés oxidante, y estos últimos tienen un vínculo con un aumento en la esperanza de vida (Fritzen et al., 2020, Montero et al., 2013; Miller et al., 2020). Acerca de los efectos benéficos generados por el tratamiento con MTF, se determinó que ratones sometidos a HFD y MTF, disminuyeron el peso en comparación con ratones sin tratamiento; también ocurrió una disminución de los niveles sanguíneos de glucosa e insulina, transaminasas (ALT y AST), así como la infiltración del tejido adiposo a órganos como el hígado y el páncreas. Sin embargo, en ese estudio, la MTF no logró modificar el colesterol total y los niveles de triglicéridos.

Algunos estudios realizados en pacientes de edad avanzada reportaron que la MTF regulaba los niveles de colesterol y LDL, así como también la pérdida de peso, ya sea que los pacientes presentaran diabetes o no, por ello se recomendó el uso de MTF para pacientes con sobrepeso y personas en riesgo de diabetes (Valencia et al., 2017). Por otro lado, tBHQ ha demostrado ser una molécula que previene el daño a los tejidos y células frente a agentes tóxicos en el cerebro (Silva et al., 2017), en el hígado (Li et al., 2014) e incluso en el células precursoras de músculo (Posadas et al., 2020) al promover la activación de la defensa antioxidante a través del factor de transcripción Nrf2 (Silva et al., 2017). En este trabajo no se evaluó a Nrf2, pero sí se observó un cambio en el estado redox, específicamente en los niveles de GSH y GSSG, lo que podría sugerir que este factor de transcripción, Nrf2, podría estar participando en el resultado benéfico.

La adiponectina es una adipocitoquina responsable de promover beta oxidación de ácidos grasos y metabolismo de la glucosa. Esta molécula es secretada por los adipocitos y algunos otros tipos de células, como son los miocitos cardíacos y musculares (Achari, 2017). La adiponectina también ha sido relacionada como un modulador de la respuesta antiinflamatoria ya que disminuye los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-6 y NF- $\kappa$ B, además de promover la síntesis de citocinas antiinflamatorias como la IL-10 (Choi et al., 2020). Nuestros resultados mostraron que todos los tratamientos, excepto tBHQ, aumentan los niveles de adiponectina. Esto es muy interesante porque los niveles altos de adiponectina están relacionados con la oxidación de ácidos grasos y la disminución del estado inflamatorio. Siendo la pérdida de grasa corporal una variable constante en todos los tratamientos que incluían un régimen de ejercicio. Esto

con cuerda con otros estudios donde la suplementación con adiponectina redujo el perfil proinflamatorio y también el peso corporal, por mejorar el metabolismo de la glucosa y la beta oxidación (Achari et al., 2017).

El entrenamiento físico constante juega un papel vital en el mantenimiento de la buena salud y la condición física. Bajo un régimen de ejercicio se sabe que el metabolismo de los músculos aumenta debido a la alta utilización de glucosa (Fritzen et al., 2020). El ejercicio tipo Fartlek generalmente se estudia en jóvenes y deportistas con entrenamiento previo; sin embargo, este régimen de ejercicio resultó ser una alternativa adecuada para prevenir la OSO en Ratas Wistar hembras de mediana edad. Este tipo de ejercicio combina ejercicio de resistencia con un período de mayor demanda energética, generando mayor cantidad de gasto energético sin convertirse en un entrenamiento de alta intensidad y permitiendo que las ratas viejas completen la rutina. Por lo tanto, también podría ser una rutina adecuada para personas mayores. Otro efecto conocido del ejercicio es mejorar la sensibilidad a la insulina, reduciendo la grasa corporal y aumentando la masa muscular. Este último trae consigo un aumento de los transportadores de membrana de glucosa (Glut 4), mejorando captación de glucosa en el músculo y disminuyendo los niveles de glucosa libre en sangre (Fritzen et al., 2020). Nuestros resultados mostraron que el ejercicio es esencial para la preservación muscular y la pérdida de grasa cuando se genera obesidad por HFD. Esta intervención evitó la pérdida masa muscular comparado con los animales HFD-SED a los 9 meses de edad donde presentaban 47.8% de músculo. Después de 5 meses de ser sometidos al triple tratamiento (14 meses de edad), aumentaron su masa muscular al 52.9%. Las ratas que sólo realizaron ejercicio (HFD-EX) aumentaron

su masa muscular a 54.2% pero con un porcentaje de supervivencia 10% menor que el grupo de tratamiento triple. Aunque no tuvieron tanto éxito, los tratamientos donde sólo se utilizaron MTF y tBHQ también demostraron ser adecuados como intervenciones para mejorar los efectos adversos del sedentarismo y la dieta hipercalórica. Como se mencionó anteriormente, la pérdida de grasa corporal podría estar relacionada con la activación de las vías catabólicas de los ácidos grasos y activación de AMPK. La AMPK no fue evaluada aquí, sin embargo, se ha reportado que todos los tratamientos activan AMPK, promoviendo el catabolismo de lípidos y glucosa. En consecuencia, se aumenta la pérdida de grasa y esta podría estar relacionada con un aumento en la esperanza de vida. Siendo el triple tratamiento el que disminuye la mayor cantidad de grasa corporal y aumenta en mayor medida la esperanza de vida. La reducción del consumo de alimentos también puede estar implicada en la pérdida de grasa corporal, y como se mencionó anteriormente, la rutina de ejercicio y el tratamiento MTF y tBHQ redujeron el consumo de alimentos, generando un proceso similar a la restricción calórica, donde las células consumen la energía almacenada en los triglicéridos o glucógeno. Este proceso también podría ser sinérgico contribuyendo a la pérdida de grasa corporal.

### **9.- Conclusiones**

Las ratas sometidas a HFD durante 9 meses presentaron obesidad osteporótica, proponiendo y demostrando que puede ser utilizado para estudiar la OSA en ratas hembra de mediana edad. En cuanto a los resultados del tratamiento con MTF, se conservó la fuerza y mantuvo la tasa de supervivencia en las ratas en el

modelo OSO. Por otro lado, el ejercicio tipo Fartlek ya sea solo, o combinado con MTF y tBHQ, conservó la masa muscular y la fuerza, reguló el estado redox, aumentó el porcentaje de supervivencia, de igual forma disminuyó el IMC, el índice de Lee, la grasa corporal y reguló positivamente el perfil proinflamatorio.

Con estos resultados sugerimos que la rutina Fartlek y el triple tratamiento pueden ser intervenciones exitosas para prevenir la aparición de la OSO a mediana edad, debido a todo los efectos antiinflamatorios, reguladores metabólicos y agentes antioxidantes. Haciendo énfasis en la rutina de ejercicio tipo Fartlek, es uno de los factores que más sobresalen en el triple tratamiento, ya que con estos resultados resultó ser efectiva por sí sola, así como en conjunto con la suplementación de MTF y tBHQ. Es interesante pensar en intervenciones más prolongadas y en distinta temporalidad, ya que los mecanismos de los organismos envejecidos no responden de igual manera, incluso utilizar ese factor de edad para lograr decidir que tratamiento es más efectivo a edades avanzadas donde la respuesta a estímulos disminuye. Además, sería viable realizar este tipo de intervenciones en humanos, debido a que la rutina tipo Fartlek puede ser programada y ajustada a la condición física de los individuos, siempre y cuando se respete que debe de empezar como caminata ligera y después aumente a ejercicio moderado, además de que se podría suplementar a los pacientes con OSO ya que la metformina se usa como coadyuvante de algunas patologías y el tBHQ se utiliza comúnmente en la industria alimenticia desde hace mucho tiempo.

## 10.- Referencias.

- Achari, A. E., & Jain, S. K. (2017). Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1321. <https://doi.org/10.3390/ijms18061321>
- Aguirre-Rueda, D.E, (2020). El efecto agudo sobre niveles de glucemia en adultos mayores con el Entrenamiento Interválico de Alta Intensidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 39(2). ISSN 1561-3011
- Babu, M. S., & Kumar, P. P. S. P. (2014). Effect of continuous running fartlek and interval training on speed and coordination among male soccer players. Introduction Aerobic Physical work out are done with oxygen. Use of oxygen in the body metabolic or energy generating process to perform th, 1(1), 33-41. [www.aripd.org/jpesm](http://www.aripd.org/jpesm)
- Barbat-Artigas, S., Plouffe, S., Pion, C. H., & Aubertin-Leheudre, M. (2013). Toward a sex-specific relationship between muscle strength and appendicular lean body mass index. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 4(2), 137–144. <https://doi.org/10.1007/s13539-012-0100-8>
- Barqura, S., Campos- Nonato, I., Hernandez- Barrera, L., Pedroza, A., Barriguete, A. (2012) En: Encuesta Nacional Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. 1ed. 2012, Ciudad de México, México. ISBN 978-607-511-037-0
- Barzilai, N., Crandall, J. P., Kritchevsky, S. B., & Espeland, M. A. (2016). Metformin as a Tool to Target Aging. *Cell metabolism*, 23(6), 1060–1065. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.011>
- Bautista, C. J., Rodríguez-González, G. L., Morales, A., Lomas-Soria, C., Cruz-Pérez, F., Reyes-Castro, L. A., & Zambrano, E. (2017). Maternal obesity in the rat

impairs male offspring aging of the testicular antioxidant defence system. *Reproduction, fertility, and development*, 29(10), 1950–1957. <https://doi.org/10.1071/RD16277>

- Bevinakoppamath, S., Saleh Ahmed, A. M., Ramachandra, S. C., Vishwanath, P., & Prashant, A. (2021). Chemopreventive and Anticancer Property of Selenoproteins in Obese Breast Cancer. *Frontiers in pharmacology*, 12, 618172. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.618172>
- Calabrese E. J. (2013). Hormetic mechanisms. *Critical reviews in toxicology*, 43(7), 580–606. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.808172>
- Campos-Nonato, I., Galván- Valemcia, O., Hernandez-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: resultados de la ENSANUT 2022. *Salud Publica Mex.* 2023;65(supl 1): S238-S247. <https://doi.org/10.21149/14809>
- Cárdenas-Pérez, R. E., Fuentes-Mera, L., de la Garza, A. L., Torre-Villalvazo, I., Reyes-Castro, L. A., Rodriguez-Rocha, H., García-García, A., Corona-Castillo, J. C., Tovar, A. R., Zambrano, E., Ortiz-Lopez, R., Saville, J., Fuller, M., & Camacho, A. (2018). Maternal overnutrition by hypercaloric diets programs hypothalamic mitochondrial fusion and metabolic dysfunction in rat male offspring. *Nutrition & metabolism*, 15, 38. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0279-6>
- [Chandrasekaran](#), A., [Sosa Idelchik](#), M.P., and Meléndez [J.](#) A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol.* 2017 Apr; 11: 91–102. doi: [10.1016/j.redox.2016.11.005](https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.005)

- Choi, H. M., Doss, H. M., & Kim, K. S. (2020). Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1219. <https://doi.org/10.3390/ijms21041219>
- Cofré-Bolados, Cristian, Sánchez-Aguilera, Pablo, Zafra-Santos, Edson, & Espinoza-Salinas, Alexis. (2016). Entrenamiento aeróbico de alta intensidad: Historia y fisiología clínica del ejercicio. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 48(3), 275-284. <https://doi.org/10.18273/revsal.v48n3-2016001>
- Collins, K. H., Hart, D. A., Reimer, R. A., Seerattan, R. A., Waters-Banker, C., Sibole, S. C., & Herzog, W. (2016). High-fat high-sucrose diet leads to dynamic structural and inflammatory alterations in the rat vastus lateralis muscle. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 34(12), 2069–2078. <https://doi.org/10.1002/jor.23230>
- Cruz-Jentoft, A. J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., ... & Zamboni, M. (2019). Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and ageing*, 48(1), 16-31. <https://doi.org/10.1093/ageing/afz046>
- Emelyanova, L., Bai, X., Yan, Y., Bosnjak, Z. J., Kress, D., Warner, C., Kroboth, S., Rudic, T., Kaushik, S., Stoeckl, E., Ross, G. R., Rizvi, F., Tajik, A. J., & Jahangir, A. (2021). Biphasic effect of metformin on human cardiac energetics. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*, 229, 5–23. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.10.002>
- Espinel-Bermúdez, M. C., Sánchez-García, S., García-Peña, C., Trujillo, X., Huerta-Viera, M., Granados-García, V., Hernández-González, S., & Arias-Merino, E. D.

(2018). Factores asociados a sarcopenia en adultos mayores mexicanos: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 [Associated factors with sarcopenia among Mexican elderly: 2012 National Health and Nutrition Survey]. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 56(Suppl 1), S46–S53. ISSN: 0443-5117; ISSN: 2448-5667

- Evans, W. J., & Campbell, W. W. (1993). Sarcopenia and age-related changes in body composition and functional capacity. *The Journal of nutrition*, 123(2 Suppl), 465–468. [https://doi.org/10.1093/jn/123.suppl\\_2.465](https://doi.org/10.1093/jn/123.suppl_2.465)
- Ezzat-Zadeh, Z., Kim, J. S., Chase, P. B., & Arjmandi, B. H. (2017). The Cooccurrence of Obesity, Osteoporosis, and Sarcopenia in the Ovariectomized Rat: A Study for Modeling Osteosarcopenic Obesity in Rodents. *Journal of aging research*, 2017, 1454103. <https://doi.org/10.1155/2017/1454103>
- Finkel T. (2015). The metabolic regulation of aging. *Nature medicine*, 21(12), 1416–1423. <https://doi.org/10.1038/nm.3998>
- Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., Ottaviani, E., & De Benedictis, G. (2000). Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 908, 244–254. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>
- Frasca, D., & Blomberg, B. B. (2020). Adipose tissue, immune aging, and cellular senescence. *Seminars in immunopathology*, 42(5), 573–587. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00812-1>

- Fritzen, A. M., Lundsgaard, A. M., & Kiens, B. (2020). Tuning fatty acid oxidation in skeletal muscle with dietary fat and exercise. *Nature reviews. Endocrinology*, 16(12), 683–696. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0405-1>
- García-González, Ana Isabel; Axtle-Serrano, Zoraida; López-Teros, Miriam; Szlejf, Claudia; Martínez-Ruiz, Adrián; Rosas-Carrasco, Oscar. Intervenciones clínicas en obesidad osteosarcopénica: alimentación, actividad física y psicológica\* Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, vol. 56, 1, 2018 Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457754907017> ISSN: 0443-5117 y ISSN: 24485667.
- Gavia-García, G., Rosas-Trejo, M. D. L. Á., García-Mendoza, E., Toledo-Pérez, R., Königsberg, M., Nájera-Medina, O., ... & González-Torres, M. C. (2018). t-BHQ protects against oxidative damage and maintains the antioxidant response in malnourished rats. Dose-response, 16(3), DOI:1559325818796304.
- GBD 2019 Risk Factors Collaborators (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)*, 396(10258), 1223–1249. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2)
- Ghadge, A. A., Khaire, A. A., & Kuvalekar, A. A. (2018). Adiponectin: A potential therapeutic target for metabolic syndrome. *Cytokine & growth factor reviews*, 39, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.cytofr.2018.01.004>

- Improve Adherence to Dietary Weight Loss Interventions in Research and Real-World Settings. *Behavioral sciences (Basel, Switzerland)*, 7(3), 44. <https://doi.org/10.3390/bs7030044>
- Giknis, M. L. A., & Clifford, C. (2008). Clinical laboratory parameters for Cri: WI (Han) rats. *Accel Drug Dev*, 1-14. URL: 781-222-6000
- Guimarães, M. S. A., Dos Santos, C. A., da Silva Castro, J., Juvanhol, L. L., Rezende, F. A. C., Martinho, K. O., & Ribeiro, A. Q. (2021). Prevalence, diagnostic criteria, and factors associated with sarcopenic obesity in older adults from a low middle income country: a systematic review. *Clinical nutrition ESPEN*, 41, 94-103. DOI: [10.1016/j.clnesp.2020.11.004](https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.11.004).
- Haulcomb, M. M., Meadows, R. M., Miller, W. M., McMillan, K. P., Hilsmeier, M. J., Wang, X., Beaulieu, W. T., Dickinson, S. L., Brown, T. J., Sanders, V. M., & Jones, K. J. (2017). Locomotor analysis identifies early compensatory changes during disease progression and subgroup classification in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neural regeneration research*, 12(10), 1664–1679. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.217346>
- Hernández-Álvarez, D., Mena-Montes, B., Toledo-Pérez, R., Pedraza-Vázquez, G., López-Cervantes, S. P., Morales-Salazar, A., Hernández-Cruz, E., Lazzarini-Lechuga, R., Vázquez-Cárdenas, R. R., Vilchis-DeLaRosa, S., Posadas-Rodríguez, P., Santín-Márquez, R., Rosas-Carrasco, O., Ibañez-Contreras, A., Alarcón-Aguilar, A., López-Díazguerrero, N. E., Luna-López, A., & Königsberg, M. (2019). Long-Term Moderate Exercise Combined with Metformin Treatment Induces an Hormetic Response

That Prevents Strength and Muscle Mass Loss in Old Female Wistar Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 3428543. <https://doi.org/10.1155/2019/3428543>

- Jin K. (2010). Modern Biological Theories of Aging. *Aging and disease*, 1(2), 72–74. PMID: [PMC2995895](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2995895/)
- Jung, H. W., Kang, A. N., Kang, S. Y., Park, Y. K., & Song, M. Y. (2017). The Root Extract of *Pueraria lobata* and Its Main Compound, Puerarin, Prevent Obesity by Increasing the Energy Metabolism in Skeletal Muscle. *Nutrients*, 9(1), 33. <https://doi.org/10.3390/nu9010033>
- Khan, S., Chan, Y. T., Revelo, X. S., & Winer, D. A. (2020). The Immune Landscape of Visceral Adipose Tissue During Obesity and Aging. *Frontiers in endocrinology*, 11, 267. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00267>
- Kim, M. Y., Boo, S., Yoo, M., Lee, J., & Kang, N. R. (2017). Impact of chronic kidney disease among Korean adults with chronic obstructive pulmonary disease. *International urology and nephrology*, 49(7), 1225–1232. <https://doi.org/10.1007/s11255-017-1572-4>
- Klein, H. J., Mickelson, B., & Wineinger, A. (2012). Tarifa de Precios. Modelos de Investigación y Servicios. Indianapolis. Harlan Laboratories Models, SL. <https://doi.org/10.30554/archmed.18.1.1997.2018>.
- Kob, R., Bollheimer, L. C., Bertsch, T., Fellner, C., Djukic, M., Sieber, C. C., & Fischer, B. E. (2015). Sarcopenic obesity: molecular clues to a better understanding of its pathogenesis?. *Biogerontology*, 16(1), 15–29. <https://doi.org/10.1007/s10522-014-9539-7>

- Kolbaşı, E. N., & Demirdağ, F. (2020). Prevalence of osteosarcopenic obesity in community-dwelling older adults: a cross-sectional retrospective study. *Archives of osteoporosis*, 15(1), 166. <https://doi.org/10.1007/s11657-020-00829-x>
- Kulkarni, A. S., Gubbi, S., & Barzilai, N. (2020). Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell metabolism*, 32(1), 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.04.001>
- Kumar, P. (2015). Effect of fartlek training for developing endurance ability among athletes. *International Journal of Physical Education, Sports and Health*, 2(2), 291-293. P-ISSN: 2394-1685; E-ISSN: 2394-1693
- Li, F. H., Sun, L., Zhu, M., Li, T., Gao, H. E., Wu, D. S., Zhu, L., Duan, R., & Liu, T. C. (2018). Beneficial alterations in body composition, physical performance, oxidative stress, inflammatory markers, and adipocytokines induced by long-term high-intensity interval training in an aged rat model. *Experimental gerontology*, 113, 150–162. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.10.006>
- Li, S., Li, J., Shen, C., Zhang, X., Sun, S., Cho, M., Sun, C., & Song, Z. (2014). tert-Butylhydroquinone (tBHQ) protects hepatocytes against lipotoxicity via inducing autophagy independently of Nrf2 activation. *Biochimica et biophysica acta*, 1841(1), 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2013.09.004>
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>

- López-Díaz Guerrero, N. E., González Puertos, V. Y., Hernández-Bautista, R. J., Alarcón-Aguilar, A., Luna-López, A., & Königsberg Fainstein, M. (2013). Hormesis: lo que no mata, fortalece [Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger]. *Gaceta medica de Mexico*, 149(4), 438–447. PMID: **23999636**
- Lundsgaard, A. M., Holm, J. B., Sjøberg, K. A., Bojsen-Møller, K. N., Myrmet, L. S., Fjære, E., Jensen, B. A. H., Nicolaisen, T. S., Hingst, J. R., Hansen, S. L., Doll, S., Geyer, P. E., Deshmukh, A. S., Holst, J. J., Madsen, L., Kristiansen, K., Wojtaszewski, J. F. P., Richter, E. A., & Kiens, B. (2019). Mechanisms Preserving Insulin Action during High Dietary Fat Intake. *Cell metabolism*, 29(1), 50–63.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.08.022>
- Maltais, M. L., Desroches, J., & Dionne, I. J. (2009). Changes in muscle mass and strength after menopause. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 9(4), 186-97. PMID: **19949277**
- Mena-Montes, B., Hernández-Álvarez, D., Pedraza-Vázquez, G., Toledo-Pérez, R., Librado-Osorio, R., García-Álvarez, J. A., Alarcón-Aguilar, A., Lazzarini-Lechuga, R., Rosas-Carrasco, O., Königsberg, M., López-Díazguerrero, N. E., & Luna-López, A. (2021). Low-Intensity Exercise Routine for a Long Period of Time Prevents Osteosarcopenic Obesity in Sedentary Old Female Rats, by Decreasing Inflammation and Oxidative Stress and Increasing GDF-11. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 5526665. <https://doi.org/10.1155/2021/5526665>
- Michaud, M., Balardy, L., Moulis, G., Gaudin, C., Peyrot, C., Vellas, B., Cesari, M., & Nourhashemi, F. (2013). Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases.

*Journal of the American Medical Directors Association*, 14(12), 877–882.

<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.05.009>

- Miller, B. F., & Thyfault, J. P. (2020). Exercise-Pharmacology Interactions: Metformin, Statins, and Healthspan. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 35(5), 338–347.

<https://doi.org/10.1152/physiol.00013.2020>

- Montero-Fernández, N., & Serra-Rexach, J. A. (2013). Role of exercise on sarcopenia in the elderly. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 49(1), 131-143. PMID: **23575207**

- Nam, K. W., Kim, Y. H., Kwon, H. J., Rhee, S. K., Kim, W. J., & Han, M. D. (2013). Tert-butylhydroquinone reduces lipid accumulation in C57BL/6 mice with lower body weight gain. *Archives of pharmacal research*, 36(7), 897–904.

<https://doi.org/10.1007/s12272-013-0109-3>

- Okunogbe, A., Nugent, R., Spencer, G., Powis, J., Ralston, J., & Wilding, J. (2022). Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for 161 countries. *BMJ global health*, 7(9), e009773. [https://doi.org/10.1136/bmjgh-2022-](https://doi.org/10.1136/bmjgh-2022-009773)

[009773](https://doi.org/10.1136/bmjgh-2022-009773)

- Olmos-Martínez, J.M., Martínez-García J., Macias Gonzalez J. (2007). Envejecimiento músculo-esquelético. *Revista Española de Enfermedades metabólicas*

Óseas. Vol 16, Issue 1 1-7. [https://doi.org/10.1016/S1132-8460\(07\)73495-5](https://doi.org/10.1016/S1132-8460(07)73495-5)

- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2024. Notas descriptivas: Obesidad y sobrepeso. © 2024OMS.

- Ormsbee, M. J., Prado, C. M., Ilich, J. Z., Purcell, S., Siervo, M., Folsom, A., & Panton, L. (2014). Osteosarcopenic obesity: the role of bone, muscle, and fat on health. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 5(3), 183–192. <https://doi.org/10.1007/s13539-014-0146-x>
- Posadas-Rodríguez, P., Posadas-Rodríguez, N. E., González-Puertos, V. Y., Toledo-Pérez, R., Ventura-Gallegos, J. L., Zentella, A., Gómez-Quiroz, L. E., Königsberg, M., & Luna-López, A. (2020). tBHQ Induces a Hormetic Response That Protects L6 Myoblasts against the Toxic Effect of Palmitate. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 3123268. <https://doi.org/10.1155/2020/3123268>.
- Pokrywka, A., Cholbinski, P., Kaliszewski, P., Kowalczyk, K., Konczak, D., & Zembron-Lacny, A. (2014). Metabolic modulators of the exercise response: doping control analysis of an agonist of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  (GW501516) and 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR). *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 65(4), 469–476. PMID: **25179079**.
- Ramírez-García, E., Moreno-Tamayo, K., Briseño-Fabian, S., & Sánchez-García, S. (2017). Sarcopenia and sarcopenic obesity in older community-dwelling adults with favorable health conditions. *J Aging Res Clin Pract*, 6, 143-148. <http://dx.doi.org/10.14283/jarcp.2017.17>
- Rando T. A. (2006). Stem cells, ageing and the quest for immortality. *Nature*, 441(7097), 1080–1086. <https://doi.org/10.1038/nature04958>

- Riancho, J.A., Zarrabeita, M.T., Valero. C., Sañudo, C., Hernandez, J.L, Amado, J.A., Zarrabeitia, A., González- Macías, J. (2005). Aromatase gene and osteoporosis: relationship of ten polymorphic loci with bone mineral density. *Bone*. Vol 36, Issue 5, 917-925. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.01.004>
- Rios, J. L., Bomhof, M. R., Reimer, R. A., Hart, D. A., Collins, K. H., & Herzog, W. (2019). Protective effect of prebiotic and exercise intervention on knee health in a rat model of diet-induced obesity. *Scientific reports*, 9(1), 3893. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40601-x>.
- Rocha, J. S., Ogando, B. M., Reis, V. M., Matos e Avila, W. R., Carneiro, A. G., Gabriel, R. E., & Moreira, M. H. (2012). Impacto de um programa de exercício físico na adiposidade e na condição muscular de mulheres pós-menopáusicas [Impact of an exercise program in adiposity and muscular condition of postmenopausal women]. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*, 34(9), 414–419. <https://doi.org/10.1590/s0100-72032012000900005>
- Rosas-Carrasco, O., Juarez-Cedillo, T., Ruiz-Arregui, L., Garcia Pena, C., Vargas-Alarcon, G., & Sánchez-García, S. (2012). Overweight and obesity as markers for the evaluation of disease risk in older adults. *The journal of nutrition, health & aging*, 16(1), 14–20. <https://doi.org/10.1007/s12603-012-0001-8>
- Schafer, M. J., Mazula, D. L., Brown, A. K., White, T. A., Atkinson, E., Pearsall, V. M., Aversa, Z., Verzosa, G. C., Smith, L. A., Matveyenko, A., Miller, J. D., & LeBrasseur,

N. K. (2019). Late-life time-restricted feeding and exercise differentially alter healthspan in obesity. *Aging cell*, 18(4), e12966. <https://doi.org/10.1111/acer.12966>

- Senesi, P., Montesano, A., Luzi, L., Codella, R., Benedini, S., & Terruzzi, I. (2016). Metformin Treatment Prevents Sedentariness Related Damages in Mice. *Journal of diabetes research*, 2016, 8274689. <https://doi.org/10.1155/2016/8274689>
- Silva-Palacios, A., Colín-González, A. L., López-Cervantes, S. P., Zazueta, C., Luna-López, A., Santamaría, A., & Königsberg, M. (2017). Tert-butylhydroquinone preconditioning exerts dual effects in old female rats exposed to 3-nitropropionic acid. *Redox biology*, 12, 610–624. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.029>
- Silva-Palacios, A., Ostolga-Chavarría, M., Sánchez-Garibay, C., Rojas-Morales, P., Galván-Arzate, S., Buelna-Chontal, M., Pavón, N., Pedraza-Chaverrí, J., Königsberg, M., & Zazueta, C. (2019). Sulforaphane protects from myocardial ischemia-reperfusion damage through the balanced activation of Nrf2/AhR. *Free radical biology & medicine*, 143, 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.012>
- Simón, E., & Del Barrio, A. S. (2002). Leptina y obesidad [Leptin and obesity]. *Anales del sistema sanitario de Navarra*, 25 Suppl 1, 53–64. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0814>
- Stefanaki, C., Peppas, M., Boschiero, D., & Chrousos, G. P. (2016). Healthy overweight/obese youth: early osteosarcopenic obesity features. *European journal of clinical investigation*, 46(9), 767–778. <https://doi.org/10.1111/eci.12659>
- Steves, C. J., Bird, S., Williams, F. M., & Spector, T. D. (2016). The Microbiome and Musculoskeletal Conditions of Aging: A Review of Evidence for Impact and Potential

Therapeutics. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 31(2), 261–269.  
<https://doi.org/10.1002/jbmr.2765>

- Suárez Román, Gipsis, Perera Calderín, Alfredo, Clapés Hernández, Sonia, Fernández Romero, Tammy, & Egaña Morales, Esteban. (2013). Estandarización de un modelo para inducir obesidad en ratas. *MediSur*, 11(5), 569-573. Recuperado en 13 de septiembre de 2024, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2013000500014&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2013000500014&lng=es&tlng=es)
- Szlejf, C., Parra-Rodríguez, L., & Rosas-Carrasco, O. (2017). Osteosarcopenic Obesity: Prevalence and Relation With Frailty and Physical Performance in Middle-Aged and Older Women. *Journal of the American Medical Directors Association*, 18(8), 733.e1–733.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2017.02.023>
- Tardif, N., Salles, J., Guillet, C., Tordjman, J., Reggio, S., Landrier, J. F., Giraudet, C., Patrac, V., Bertrand-Michel, J., Migne, C., Collin, M. L., Chardigny, J. M., Boirie, Y., & Walrand, S. (2014). Muscle ectopic fat deposition contributes to anabolic resistance in obese sarcopenic old rats through eIF2 $\alpha$  activation. *Aging cell*, 13(6), 1001–1011. <https://doi.org/10.1111/accel.12263>
- Tilg, H., & Moschen, A. R. (2006). Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature reviews. Immunology*, 6(10), 772–783. <https://doi.org/10.1038/nri1937>

- Valencia, W. M., Palacio, A., Tamariz, L., & Florez, H. (2017). Metformin and ageing: improving ageing outcomes beyond glycaemic control. *Diabetologia*, *60*(9), 1630–1638. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4349-5>
- Van Herpen, N. A., & Schrauwen-Hinderling, V. B. (2008). Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity. *Physiology & behavior*, *94*(2), 231–241. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.049>
- Vettor, R., Milan, G., Franzin, C., Sanna, M., De Coppi, P., Rizzuto, R., & Federspil, G. (2009). The origin of intermuscular adipose tissue and its pathophysiological implications. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, *297*(5), E987–E998. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00229.2009>
- von Drygalski, A., Tran, T. B., Messer, K., Pu, M., Corringham, S., Nelson, C., & Ball, E. D. (2011). Obesity is an independent predictor of poor survival in metastatic breast cancer: retrospective analysis of a patient cohort whose treatment included high-dose chemotherapy and autologous stem cell support. *International journal of breast cancer*, *2011*, 523276. <https://doi.org/10.4061/2011/523276>
- World Obesity Federation. The economic impact of overweight & obesity in 2020 and 2060, 2nd ed with Estimates for 161 Countries. World Obesity Federation, 2022 [citado marzo 3, 2023]. Disponible en: <https://data.worldobesity.org/publications/WOF-Economic-Impacts-2-V2.pdf>
- Xia, Q., Casas-Martinez, J. C., Zarzuela, E., Muñoz, J., Miranda-Vizuetete, A., Goljanek-Whysall, K., & McDonagh, B. (2023). Peroxiredoxin 2 is required for the redox

mediated adaptation to exercise. *Redox biology*, 60, 102631.

<https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102631>

- Yamakawa, H., Kusumoto, D., Hashimoto, H., & Yuasa, S. (2020). Stem Cell Aging in Skeletal Muscle Regeneration and Disease. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1830. <https://doi.org/10.3390/ijms21051830>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00157

Matrícula: 2153803931

Tratamiento con metformina y TBHQ en conjunto con un régimen de ejercicio previene la obesidad osteosarcopénica en ratas hembra de mediana edad.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 26 del mes de septiembre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. NORMA EDITH LOPEZ DIAZ GUERRERO
- DRA. GRACIELA GAVIA GARCIA
- DRA. VERONICA SALAS VENEGAS
- DRA. MIRIAM TERESA LOPEZ TEROS

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

DE: RAFAEL TOLEDO PEREZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

## APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



RAFAEL TOLEDO PEREZ  
ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALVA CARRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. NORMA EDITH LOPEZ DIAZ GUERRERO

VOCAL

DRA. GRACIELA GAVIA GARCIA

VOCAL

DRA. VERONICA SALAS VENEGAS

SECRETARIA

DRA. MIRIAM TERESA LOPEZ TEROS