



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO NEUROFARMACOLÓGICO DE LA SEMILLA DE *B. EXCELSA* Y SU INFLUENCIA EN EL METABOLISMO DE LÍPIDOS EN RATONES**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**OSWALDO FRAUSTO GONZÁLEZ**



**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., marzo 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: JESÚS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

**VOCAL:** Profesor: MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO

**SECRETARIO:** Profesor: MARLENE OSIRIS CARREÓN AGUILAR

**1er. SUPLENTE:** Profesor: FRANCISCA MORAYNA GUTIÉRREZ LUNA

**2º SUPLENTE:** Profesor: ERIKA ALEJANDRA CABRERA REYES

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA DE PRODUCTOS NATURALES DEL INSTITUTO  
NACIONAL DE PSIQUIATRÍA RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN DEL INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**ASESOR DEL TEMA:**

**DRA. MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**DRA. CLAUDIA JANET BAUTISTA CARBAJAL**

**SUSTENTANTE:**

**OSWALDO FRAUSTO GONZÁLEZ**

“El elefante muerto deja sus colmillos; el tigre,  
su piel, y el hombre, su nombre”

Anónimo

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México que ha dado mucho durante estos 8 años de formación académica dentro de sus planteles en la Escuela Nacional Preparatoria 8 Miguel E. Shultz y en la Facultad de Química.

Al Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz y al Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por abrirme sus puertas para la realización de mi proyecto de investigación.

A los proyectos CONACyT 226454/256448 y NC17073.0 por el financiamiento para la realización de mi trabajo de investigación y a la beca CONACyT No. 27720.

“Si he visto más lejos que otros, es poniéndose de pie  
sobre los hombros de gigantes”

Isaac Newton

## ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	8
ÍNDICE DE TABLAS .....	10
ÍNDICE DE FIGURAS .....	11
RESUMEN .....	14
I. MARCO TEÓRICO .....	16
1.1 Sobrepeso y obesidad.....	16
1.1.1 Generalidades .....	16
1.1.2 Epidemiología.....	17
1.2 Comorbilidad .....	18
1.2.1 El Sistema Nervioso Central (SNC) en el sobrepeso y la obesidad... 19	
1.2.2 Alteraciones en la función reproductiva debido al sobrepeso y la obesidad .....	21
1.3 Terapéutica para el sobrepeso y la obesidad.....	22
1.3.1 La herbolaria como alternativa para el control del peso corporal .....	25
1.4 ¿Es la semilla de <i>B. excelsa</i> una alternativa para tratar el sobrepeso y la obesidad? .....	25
1.4.1 Antecedentes.....	25
1.4.2 Fitoquímica de la semilla de <i>B. excelsa</i> .....	26
1.4.3 Usos y efectos biológicos de la semilla de <i>B. excelsa</i> .....	28
1.4.4 Efectos adversos del uso de la semilla de <i>B. excelsa</i> .....	29
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	33
III. HIPÓTESIS .....	33
IV. OBJETIVOS .....	33
4.1 Objetivo general.....	33
4.2 Objetivos particulares.....	34

V.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
5.1	Modelo biológico .....	34
5.2	Reactivos y fármacos .....	35
5.3	Preparación del extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i> (SBHX) ...	35
5.4	Diseño experimental.....	36
5.5	Determinación de la dosis letal media (DL <sub>50</sub> ) del extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i> .....	38
5.6	Evaluación del perfil neurofarmacológico del extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i> .....	39
5.6.1	Efecto tipo ansiolítico en las pruebas de campo abierto, tablero con orificios y cruz elevada.....	39
5.6.2	Potenciación del efecto sedante-hipnótico inducido por pentobarbital sódico .....	40
5.6.3	Efecto tipo analgésico en la prueba de la formalina .....	40
5.6.4	Efecto en las convulsiones tónico-clónicas inducidas con PTZ.....	41
5.7	Medición de peso corporal e ingesta de agua y alimento.....	41
5.8	Obtención y procesamiento de las muestras biológicas.....	42
5.9	Análisis histológico del tejido adiposo gonadal, testicular y hepático .....	42
5.9.1	Medición del área del adipocito .....	43
5.9.2	Medición de los túbulos seminíferos.....	43
5.10	Determinación del perfil bioquímico en hígado, epidídimo y testículo .....	44
5.10.1	Extracción de lípidos.....	44
5.10.2	Determinación de colesterol total.....	45
5.10.3	Determinación de triacilglicéridos .....	45
5.11	Análisis estadístico.....	46
VI.	RESULTADOS .....	47

6.1	Rendimiento de los extractos .....	47
6.2	Efecto de tipo ansiolítico de SBHX.....	47
6.2.1	Prueba de campo abierto .....	47
6.2.2	Tablero con orificios.....	48
6.2.3	Cruz elevada.....	49
6.3	Efecto sedante-hipnótico de SBHX en presencia de pentobarbital sódico	50
6.4	Efecto tipo analgésico de SBHX en las fases neurogénica e inflamatoria	51
6.5	Efecto de SBHX en las convulsiones inducidas por PTZ .....	53
6.6	Influencia de SBHX sobre el peso y consumo de agua y alimento .....	53
6.7	Efecto del SBHX en el tejido adiposo gonadal .....	54
6.8	Efecto de SBHX en el tejido testicular .....	56
6.9	Efecto de SBHX en el tejido hepático.....	57
6.10	Efecto de SBHX sobre el perfil bioquímico.....	58
6.10.1	Triacilglicéridos .....	58
6.10.2	Colesterol .....	59
VII.	DISCUSIÓN.....	60
VIII.	CONCLUSIÓN.....	70
IX.	PERSPECTIVAS .....	70
X.	REFERENCIAS .....	71
	ANEXOS .....	80
	PUBLICACIONES .....	81

## ABREVIATURAS

4-AAP	4-aminoantipirina
ACAT	Acil-CoA:colesterol aciltransferasa
AG	Ácidos grasos
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
ANADEVA	Análisis de varianza
CE	Colesterol esterasa
CHOL	Colesterol
CIFOR	Center for International Forestry Research
c-LDL	Colesterol de baja densidad
CO	Colesterol oxidasa
DHBS	Ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico
DL <sub>50</sub>	Dosis letal media
DZP	Diacepam
EEM o EE	Error estándar
EHNA	Enfermedad hepática no alcohólica
ENSANUT	Encuesta nacional de salud y nutrición
ETX	Etosuximida
FDA	Food and Drug Administration
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GABA <sub>A</sub>	Receptor de GABA-A
GK	Glicerol cinasa
GPO	Glicerofosfato oxidasa
H&E	Hematoxilina y eosina
HPO	Peroxidasa de rábano
i.p.	Intraperitoneal
IMC	Índice de masa corporal
LPL	Lipoproteinlipasa
NX	Naloxona

OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
OMS	Organización Mundial de Salud
PBS	Pentobarbital sódico
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
PTZ	Pentilentetrazol
SBEtOH	Extracto etanólico de la semilla de <i>B. excelsa</i>
SBHX	Extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i>
SEAS	Sociedad Española para el Estudio de la Ansiedad y el Estrés
SNC	Sistema nervioso central
SREBP	Sterol regulatory element-binding protein
SW	Swiss Webster
TG	Triacilglicéridos
TRM	Tramadol
VH	Vehículo
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i> Fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad y los efectos adversos asociados a su uso a largo plazo. ....	24
<i>Tabla 2.</i> Comparación de las diferentes semillas conocidas como Semilla de Brasil utilizadas como adelgazante.....	32
<i>Tabla 3.</i> Rendimiento de los extractos de la semilla de <i>B. excelsa</i> obtenidos mediante maceración en solventes orgánicos. ....	47
<i>Tabla 4.</i> Interacción sedante e hipnótica entre el pentobarbital sódico (PBS) y el extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i> (SBHX) en ratones.....	50
<i>Tabla 5.</i> Efecto del SBHX en las crisis convulsivas clónico-tónicas inducidas con PTZ (80 mg/Kg, i.p.) en ratones.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Factores de riesgo asociados al sobrepeso y la obesidad. ....	17
<i>Figura 2.</i> Porcentaje combinado de sobrepeso y obesidad en la población mexicana (A) y por género (B). ....	18
<i>Figura 3.</i> Principales comorbilidades asociadas al sobrepeso y la obesidad. ....	19
<i>Figura 4.</i> Colectores de nueces de Perú. ....	26
<i>Figura 5.</i> Ácidos grasos más abundantes de la semilla <i>Bertholletia excelsa</i> . ....	27
<i>Figura 6.</i> Compuestos orgánicos presentes en el aceite de la semilla <i>Bertholletia excelsa</i> . ....	28
<i>Figura 7.</i> Número de publicaciones al buscar el término “ <i>Bertholletia excelsa</i> ” y “ <i>Bertholletia excelsa</i> and obesity” en diferentes bases de datos. ....	29
<i>Figura 8.</i> A) <i>Bertholletia excelsa</i> Humb. & Bonpl. B) <i>Aleurites moluccanus</i> L.; C) <i>Thevetia peruviana</i> P., D) <i>Anacardium occidentale</i> L. ....	30
<i>Figura 9.</i> Árbol de la semilla de Brasil ( <i>Bertholletia excelsa</i> ). Foto de Marco Simola for Center for International Forestry Research (CIFOR). Flor, hojas y semilla. ....	31
<i>Figura 10.</i> Método de extracción de la semilla de <i>Bertholletia excelsa</i> . ....	36
<i>Figura 11.</i> Composición nutricional de la dieta utilizada para los grupos de ratones. ....	37
<i>Figura 12.</i> Diseño experimental para la evaluación farmacológica y bioquímica de SBHX. ....	38
<i>Figura 13.</i> Desarrollo experimental de la evaluación farmacológica del efecto tipo ansiolítico del extracto hexánico de la semilla de <i>B. excelsa</i> en ratones. ....	39
<i>Figura 14.</i> Actividad exploradora de ratones administrados con diferentes dosis de SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH) en la prueba de campo abierto. Letras minúsculas diferentes denotan diferencias significativas. ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. #p<0.05, t-student. ....	48
<i>Figura 15.</i> Evaluación de la actividad exploradora de ratones administrados con diferentes dosis del SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH) observados en el tablero con orificios. Letras minúsculas diferentes denotan diferencias significativas. ....	

ANADEVA seguida de la prueba de Tukey. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. #p<0.05, t-student. ....	48
<i>Figura 16.</i> Evaluación de la actividad de tipo ansiolítica en la prueba de cruz elevada. <b>A)</b> Permanencia en brazos abiertos (s) y <b>B)</b> número de entradas y salidas en ratones administrados con diferente dosis de SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH). Letras minúscula diferentes denotan significancia. ANADEVA seguida de la prueba de Tukey. #p<0.05, t-student en machos. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. #p<0.05, t-student. ....	49
<i>Figura 17.</i> Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto hexánico de <i>B. excelsa</i> (SBHX 100, 300 y 1000 mg/Kg, i.p.) en comparación con el vehículo (VH) y el fármaco de referencia tramadol (TRM), así como en presencia del antagonista opioide naloxona (NX). Los datos se presentan como la media ± EEM, n=6.....	51
<i>Figura 18.</i> Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto hexánico de <i>B. excelsa</i> (SBHX 100, 300 y 1000 mg/Kg, i.p.) en comparación con el vehículo (VH) y el fármaco de referencia tramadol (TRM 17.2 mg/Kg), así como en presencia del antagonista opioide naloxona (NX) <b>(A)</b> . En la fase neurogénica <b>(B)</b> y en la fase inflamatoria <b>(C)</b> . Los datos se presentan como la media ± EEM, n=6. *p<0.05, ANADEVA seguida de la prueba de Dunnett. ....	52
<i>Figura 19.</i> Peso corporal <b>(A)</b> , ingesta de alimento <b>(B)</b> y agua <b>(C)</b> de ratones administrados con vehículo (VH) y diferente dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Los datos se expresan como la media ± EEM, n=5. *p<0.05, ANADEVA seguida de la prueba de Dunnett. ....	54
<i>Figura 20.</i> Peso del epidídimo (g) <b>(A)</b> , porcentaje de grasa en el epidídimo (%) <b>(B)</b> , área del adipocito (x1000 µm <sup>2</sup> ). Los datos se expresan como la mediana de un campo de adipocitos obtenido a partir de 5 microfotografías por ratón (n=5) <b>(C)</b> . Fotos representativas de los epidídimos después de ser extraídos <b>(D)</b> . Microfotografías representativas del tejido adiposo gonadal tomadas en microscopio de campo claro con aumento de 40x <b>(E)</b> . Vehículo (VH) y dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa. p<0.05, ANADEVA seguida de la prueba de Tukey. ....	55

<i>Figura 21.</i> Frecuencia acumulada de la grasa gonadal de ratones macho administrados con vehículo (VH) y diferente dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg). .....	56
<i>Figura 22.</i> Peso del testículo ( <b>A</b> ); porcentaje de grasa en el testículo determinada por el método de Folch ( <b>B</b> ); área del túbulo seminífero ( $\times 1000 \mu\text{m}^2$ ) de corte transversal ( <b>C</b> ); número de túbulos por campo, 25 campos observados por tratamiento ( <b>D</b> ); microfotografías representativas de túbulos seminíferos tomadas en microscopio de campo claro con aumento de 40x ( <b>E</b> ). Vehículo (VH) y SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Se expresa media $\pm$ EE, n=5. Letras minúsculas diferentes denotan diferencia significativa. $p < 0.05$ , ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. .....	57
<i>Figura 23.</i> Peso y contenido de grasa del hígado de los ratones administrados con distintas dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg) y grupo vehículo (VH). .....	58
<i>Figura 24.</i> Triacilglicéridos (g/g de tejido) en epidídimo ( <b>A</b> ), testículo ( <b>B</b> ) e hígado ( <b>C</b> ) de ratones administrados con SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.) durante 40 días y vehículo (VH). Las letras diferentes denotan diferencia significativa. $p < 0.05$ , ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. ....	58
<i>Figura 25.</i> Colesterol (g/g de tejido) en epidídimo ( <b>A</b> ), testículo ( <b>B</b> ) e hígado ( <b>C</b> ) de ratones administrados con SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.) durante 40 días y vehículo (VH). Las letras minúsculas diferentes denotan diferencia significativa. $p < 0.05$ , ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. ....	59
<i>Figura 26.</i> Esquema de los mecanismos moleculares por los que los ácidos grasos (AG) n-3 reducen los triglicéridos circulantes. Imagen tomada de Ros (2007). ....	68
<i>Figura 27.</i> Niveles de acción de los fitoesteroles en la absorción, reesterificación y eflujo del colesterol. Imagen tomada de Valenzuela & Ronco (2004). ....	69
<i>Anexo 1.</i> Principales componentes de SBHX identificados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	80

## RESUMEN

El sobrepeso y la obesidad son parte de los principales y actuales problemas de salud en México. Debido a la limitada eficacia y seguridad de los fármacos que existen para tratar este problema, la población tiene poco apego y busca alternativas para disminuir su masa corporal y evitar las enfermedades asociadas al sobrepeso y la obesidad, entre ellas las del sistema nervioso central (SNC) y el reproductivo. *Bertholletia excelsa*, conocida comúnmente como “semilla de Brasil”, es una alternativa natural de uso frecuente. En general, las personas afirman que es útil para controlar su peso corporal y que además disminuye la ansiedad y las ganas de comer impulsivamente. Sin embargo, esta semilla no cuenta con suficientes investigaciones preclínicas y/o clínicas que sustenten su eficacia y seguridad. De lo anterior, es de interés para este proyecto obtener evidencia farmacológica de la actividad tipo ansiolítica del extracto hexánico de *B. excelsa* (SBHX) y sus efectos en el peso corporal, así como su influencia en el aparato reproductor masculino (epidídimo y testículo) y en el metabolismo de lípidos en ratones. Por lo que para su desarrollo se usaron ratones de la cepa SW con 25-30 g de peso corporal, los cuales fueron alimentados con una dieta estándar (Purina 5001) y agua rica en carbohidratos (sacarosa al 34%) como dieta hipercalórica. El diseño experimental constó de 5 grupos con  $n \geq 5$  animales, como sigue: vehículo, fármaco de referencia y diferentes dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p). La administración inicial fue aguda y 30 min después se evaluó el efecto tipo ansiolítico en las pruebas de campo abierto, tablero con orificios y cruz elevada. Adicionalmente se realizaron las pruebas de potenciación del efecto sedante-hipnótico inducido con pentobarbital sódico (PBS), del efecto nociceptivo inducido con formalina al 1% y de las convulsiones tónico-clónicas inducidas con pentilentetrazol (PTZ). Posteriormente se continuó con una administración crónica usando las mismas dosis para determinar el peso, así como la ingesta de agua y alimento, cada 5 días durante 40 días. Finalmente, los tejidos de testículo, epidídimo e hígado se extrajeron para la determinación de peso y contenido de grasa, triglicéridos y colesterol, así como el análisis histológico. Los resultados indican que SBHX produce efectos de tipo ansiolítico, sedante y analgésico y disminuye significativamente el peso de los

ratones en la dosis de 100 y 300 mg/Kg, sin alterar el consumo de agua y alimento. Cambios en lípidos y en el peso de los ratones se asociaron con disminución en el tejido adiposo gonadal. La exploración de la toxicidad aguda permitió el cálculo de la dosis letal media >2000 mg ubicándola en la clasificación de toxicidad mínima. Por lo anterior se concluye que constituyentes de naturaleza no polar de la semilla *B. excelsa* producen efectos depresores en el SNC y disminución del peso corporal dando evidencia del potencial de este producto natural para tratar el sobrepeso y la obesidad, y reforzando el uso que se le da de manera comercial como alternativa natural para este problema de salud mundial, sin que de manera aguda o crónica se observara algún efecto tóxico.

## **I. MARCO TEÓRICO**

### **I.1 Sobrepeso y obesidad**

#### **I.1.1 Generalidades**

Hoy en día la obesidad representa uno de los problemas de salud más graves a nivel mundial. Ésta se define como un desbalance energético que da como resultado un aumento exacerbado del peso corporal que conlleva a alteraciones fisiológicas e incluso a la muerte. Según la OMS, el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. La obesidad tiene además un gran impacto a nivel psicológico, social, económico, político y educativo de tal manera que su tratamiento debe hacerse de manera multidisciplinaria para contrarrestar las complicaciones derivadas de ella (Dhurandhar & Keith, 2014; Volery *et al.*, 2015).

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y gastadas, aunque también existen factores genéticos y ambientales que interactúan entre sí, haciendo de esta enfermedad un problema de salud complejo (*Figura 1*) (Casazza *et al.*, 2015). En México y en el resto del mundo prevalece un aumento en la ingesta de alimentos ricos en grasa, sal y azúcar, pero pobres en proteínas, vitaminas y minerales. El estilo de vida con los modos de desplazamiento y la creciente urbanización promueven menor actividad física y aumentan el sedentarismo (Daza, 2002).



Figura 1. Factores de riesgo asociados al sobrepeso y la obesidad. Imágenes tomadas de Google.

### I.1.2 Epidemiología

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en México (ENSANUT) reporta la tasa de crecimiento cada seis años en donde se ve un incremento constante de la prevalencia en la población adulta de México (*Figura 2.A*); el sobrepeso es más alto en hombres que en mujeres, mientras que con respecto a la obesidad resulta lo contrario. En tanto que la suma combinada es más alta para las mujeres en todos los años evaluados (*Figura 2.B*). Del año 1980 a la fecha, el número de casos en nuestro país se triplicó, lo que refleja proporciones alarmantes, ya que 7 de cada 10 adultos lo padecen. Estas encuestas hacen incuestionable el aumento insidioso de esta enfermedad (Ávila *et al.*, 2016) y han permitido concluir que el daño en estos

pacientes no solo es en la talla, sino que también existe un desgaste emocional, psicológico y físico que pueden desencadenar efectos dañinos en el SNC de las personas.

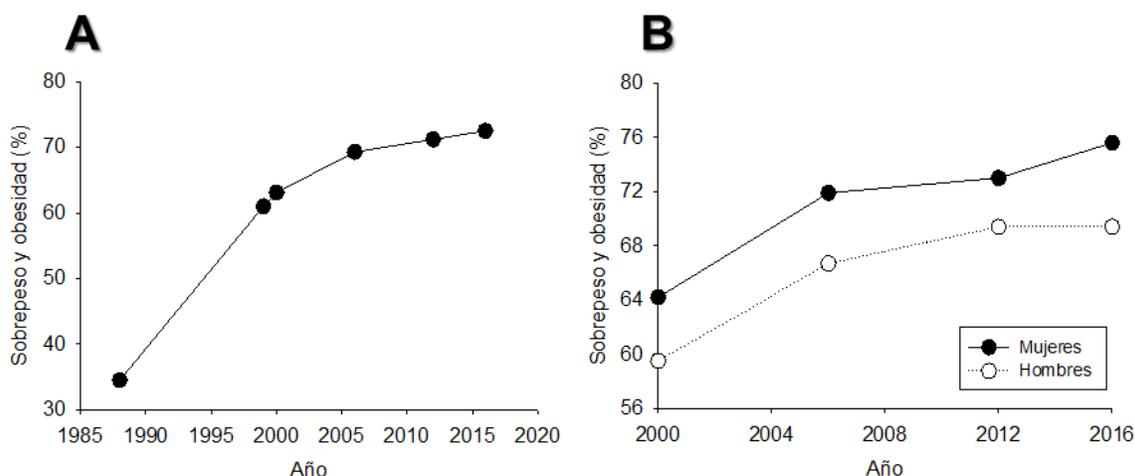


Figura 2. Porcentaje combinado de sobrepeso y obesidad en la población mexicana (A) y por género (B). Fuente: Encuestas Nacionales (Frausto-González *et al.*, 2019).

## I.2 Comorbilidad

Algunas complicaciones del sobrepeso y la obesidad son el padecer alteraciones metabólicas, tales como: inflamación, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, esteatosis hepática, dislipidemia, así como afecciones hepáticas no alcohólicas, diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular, los cuales son característicos del síndrome metabólico (De Ferranti & Mozaffarian, 2009). Así como alteraciones en el sistema óseo, ya sea en las articulaciones o la llamada osteoartritis, modificaciones en la función del sistema reproductivo como hipogonadismo e infertilidad, apnea obstructiva del sueño, estrés urinario, incontinencia, ser causa de cáncer como el gastrointestinal, entre otros (López-Alarcón *et al.*, 2014). Finalmente, puede ser fuente de trastornos psicológicos y psiquiátricos asociados con estrés, tales como la ansiedad, la depresión, o desórdenes de la alimentación como el atracón (Bersh, 2006).

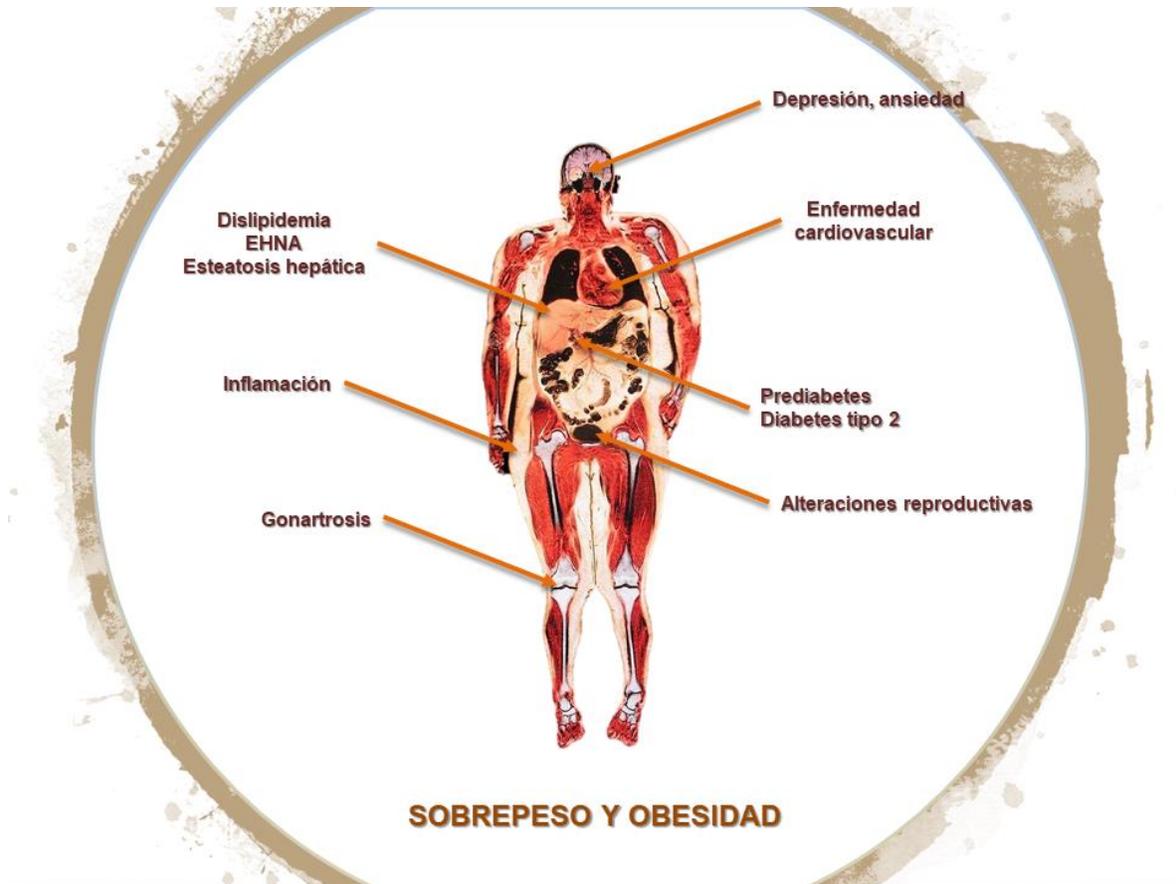


Figura 3. Principales comorbilidades asociadas al sobrepeso y la obesidad. Imagen modificada de <https://goo.gl/VBDkEj>. EHNA: enfermedad hepática no alcohólica.

### I.2.1 El Sistema Nervioso Central (SNC) en el sobrepeso y la obesidad

Una de las comorbilidades más asociada con estas afecciones es la ansiedad, que puede definirse como una anticipación de un daño o desgracia futuros, acompañada de un sentimiento de disforia (desagradable) y/o de síntomas somáticos de tensión (Pichot *et al.*, 1995). Es una señal de alerta que advierte sobre un peligro inminente y permite a la persona que adopte las medidas necesarias para enfrentarse a una amenaza. Si ésta sobrepasa cierta intensidad o supera la capacidad adaptativa de la persona es cuando se convierte en patológica, provocando malestar significativo con síntomas que afectan tanto al plano físico, como al psicológico y el conductual (Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el manejo de pacientes con trastornos de ansiedad en atención primaria, 2008).

A nivel fisiológico, la ansiedad se caracteriza por la activación de diferentes sistemas, principalmente el Sistema Nervioso Autónomo y el Sistema Nervioso Motor, aunque también se activan otros, como el SNC, el Sistema Endocrino, o el Sistema Inmune. De todos los cambios que se producen, el individuo sólo percibe algunos cambios en respuestas tales como la tasa cardíaca, tasa respiratoria, sudoración, temperatura periférica, tensión muscular, sensaciones gástricas, etc. La persistencia de estos cambios fisiológicos puede acarrear una serie de desórdenes psicofisiológicos transitorios, tales como dolores de cabeza, insomnio, disfunción eréctil, contracturas musculares, disfunciones gástricas, etc. (SEAS, 2011).

Distintos estudios de investigación clínica han asociado una estrecha relación entre la obesidad y la ansiedad, en las que los pacientes con obesidad presentan niveles de ansiedad y depresión (Atlantis *et al.*, 2009). Las dietas ricas en grasas refinadas y azúcares son un importante contribuyente al desarrollo de la obesidad, y sus efectos. Al inducir dietas hipercalóricas sobre la función cerebral pueden contribuir a la alta prevalencia de trastornos de ansiedad en personas con obesidad (Baker *et al.*, 2017). Las personas con obesidad tienen mayor dificultad para cambiar hábitos y estilo de vida, además son susceptibles a presentar problemas psicológicos y psiquiátricos, los cuales son fuente de estrés, frustración y trastornos de alimentación; conllevando a mayor ganancia de peso y mermando la realización de sus metas (Scott *et al.*, 2008). Estas personas tienden a ser desempleadas y propensas a fumar y consumir bebidas alcohólicas, a tener una vida sedentaria, poco apoyo emocional y con un auto concepto pobre con respecto a su salud (Seijas & Feuchtmann, 2018).

Lo anterior ha permitido analizar que el fracaso a los diferentes tratamientos y alternativas que se tienen, probablemente se deban a estos cambios en la conducta. Ríos-Martínez *et al.* (2008) comparó los niveles de ansiedad, depresión y la calidad de vida que perciben los pacientes con obesidad encontrando que sí existen niveles altos de todos estos parámetros con respecto a las personas con normo peso, además demostró que las mujeres tenían mayor grado de estos índices respecto a los hombres. En relación con este mismo estudio las mujeres revelaron tener menor

satisfacción con su peso y menor gusto en el ambiente laboral dado a su condición (Ríos-Martínez *et al.*, 2008).

Por otro lado, la epilepsia y el dolor pueden ser comorbilidad del sobrepeso y obesidad resultando un gran problema para el paciente, pues disminuye aún más su calidad de vida en comparación con aquellos que solo padecen sobrepeso u obesidad (Baxendale *et al.*, 2015; Narouze & Souzdanitski, 2015a). La correlación entre estas condiciones médicas y la enfermedad psiquiátrica sugiere la presencia de un proceso inflamatorio subyacente generalizado que afecta al cerebro entre otros órganos (Najjar *et al.*, 2013). Con respecto al dolor, como el músculo esquelético crónico, neuropático, lumbar, cefalea, fibromialgia/dolor crónico generalizado y abdominal (Okifuji & Hare, 2015), entre otros. Estos pueden ser por un lado, un motivador que propicie la pérdida de peso por parte del paciente y por otro pudiese ser más bien una importante barrera que imposibilite al paciente llevar un tratamiento adecuado para el sobrepeso u obesidad (Cooper *et al.*, 2018). Existe evidencia que muestra que la reducción de peso puede aliviar el dolor y disminuir el deterioro funcional relacionado con éste (Narouze & Souzdanitski, 2015b).

Lo anterior demuestra la relación estrecha entre sobrepeso/obesidad y comorbilidad relacionada con el SNC que padecen las personas. Por lo que ésta no se debe ver solamente como un problema de ingestión de comida con avidez y en cantidad excesiva para generar una solución eficaz (Chiprut *et al.*, 2001).

### **I.2.2 Alteraciones en la función reproductiva debido al sobrepeso y la obesidad**

La función reproductiva alterada por el sobrepeso y la obesidad se ha comprobado en distintos estudios donde se ha concluido que el hecho de presentar sobrepeso y obesidad aumenta el riesgo de infertilidad en varones y la disminución de la calidad espermática, así como cambios morfométricos del túbulo seminífero, entre otros (Rodríguez-González *et al.*, 2015). Estas alteraciones se han asociado con un desequilibrio en el eje hipotálamo-hipófisis-testículo, incremento en la liberación de

hormonas derivadas de tejido adiposo que pueden tener efecto sobre la espermatogénesis y la función espermática, aumento de adipocinas proinflamatorias e incremento en la temperatura escrotal debido a la mayor cantidad de grasa en la zona genital, así como la generación de especies reactivas como parte del estrés oxidante (Martini *et al.*, 2012). La pérdida de peso natural es opción para pacientes con obesidad y ha mostrado resultados prometedores en la restauración de la fertilidad y los perfiles hormonales normales. Aunque de los fármacos utilizados para la pérdida de peso no existen estudios sobre su influencia en la función reproductiva, éstos pueden tener un efecto indirecto sobre la fertilidad masculina por el hecho de ayudar a reducir el peso, normalizando así la relación de los parámetros bioquímicos y disminuyendo los efectos dañinos sobre el tejido adiposo (El Salam, 2018).

### **I.3 Terapéutica para el sobrepeso y la obesidad**

El tratamiento para el sobrepeso y la obesidad tiene como principal objetivo el mejorar la calidad de vida del paciente a través del descenso de peso y su mantenimiento a largo plazo (Díaz, 2005). A partir de esto, se deriva que el tratamiento de base para el sobrepeso u obesidad consiste en el apego a un cambio en el estilo de vida, la implementación de una dieta hipocalórica, realización de ejercicio físico constante y cambios en la conducta para que se tenga éxito (Zhang *et al.*, 2014) .

La farmacoterapia solo está indicada como un coadyuvante en la pérdida de peso y es necesario considerarla para aquellos pacientes que hayan tenido fracaso en los cambios del estilo de vida o en aquellos que cumplan lo siguiente:

- ✓ Tener un índice de masa corporal (IMC)  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup> para quienes no presentan comorbilidades; o bien
- ✓ Para los pacientes que tienen una o varias comorbilidades y que presenten un IMC  $\geq 27$  Kg/m<sup>2</sup>.

En el tratamiento farmacológico se deben considerar los factores etiológicos, la respuesta terapéutica (efectos farmacológicos y colaterales), dosis apropiadas, interacciones farmacológicas, contraindicaciones médicas o psiquiátricas y, de suma importancia verificar la aprobación por los organismos competentes y garantizar una eficacia a largo plazo que demuestren una pérdida de peso de al menos 5% en 1 año (Haslam, 2016). Además de que los efectos adversos representen un riesgo menor que el de la propia enfermedad (Carrasco *et al.*, 2009).

Diferentes reportes y guías clínicas han clasificado a los fármacos utilizados actualmente para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en tres mecanismos de acción (*Tabla 1*) (Garvey *et al.*, 2016).

- Anorexigénicos o sacietógenos. Disminuyen la ingesta de alimentos o aumentan la saciedad, respectivamente.
- Termogénicos. Promueven el gasto energético y la oxidación de lípidos.
- Inhibidores de lipasas. Limitan la absorción intestinal de grasas.

Los efectos relacionados con el tratamiento farmacológico para el sobrepeso y la obesidad más frecuentes son los gastrointestinales (náusea, vómito, diarrea, esteatorrea); además taquicardia, insomnio, inquietud, cefalea, alteraciones en el estado de ánimo (ansiedad, depresión), aumento de ideas suicidas, alteraciones hematológicas, daño pancreático, entre otros. Estos pueden ser factores para que el paciente tenga poca adherencia terapéutica a su tratamiento, además de que los efectos en la pérdida de peso son a largo plazo, por lo que los pacientes muchas veces recurren a tratamientos no farmacológicos como la herbolaria por el hecho de ser de origen natural.

Tabla 1. Fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad y los efectos adversos asociados a su uso a largo plazo.\*

Fármaco	Mecanismo de acción	Efecto farmacológico	Efectos adversos
Orlistat	Inhibidor de lipasas pancreáticas	Disminución de la absorción de grasas	- Esteatorrea - Urgencia fecal - Incontinencia - Flatulencias - Espasmos - Cefalea
Lorcaserina	Agonista de 5-HT <sub>2C</sub>	Anorexígeno	- Cefalea - Náusea - Mareo - Fatiga - Xerostomía - Sequedad ocular - Estreñimiento - Diarrea - Dolor de espalda - Hiperprolactinemia - Nasofaringitis
Fentermina / Topiramato	Simpaticomimético / modulador de GABA	Incremento del gasto energético/anorexígeno (Hernández-Bastida, 2015)	- Cefalea - Parestesia - Insomnio - Estreñimiento - Ansiedad - Depresión - Mareo - Náusea
Naltrexona / Bupripión	Antagonista opioide / inhibidor de la recaptura de NE y DA	Anorexígeno	- Náusea - Cefalea - Insomnio - Vómito - Estreñimiento - Diarrea - Ansiedad
Liraglutida	Agonista de GLP-1	Anorexígeno y retrasa vaciamiento gástrico (Mehta <i>et al.</i> , 2017)	- Náusea - Vómito - Diarrea - Estreñimiento - Cefalea - Dispepsia - Taquicardia

\*Información extraída y modificada del "AAACE/ACE algorithm for the medical care of patients with obesity" de American Association of Clinical Endocrinologists, 2016.

### **I.3.1 La herbolaria como alternativa para el control del peso corporal**

La herbolaria es quizás el método más antiguo para tratar las afecciones del ser humano, y en parte la medicina moderna ha partido de la adaptación de estos conocimientos empíricos para llegar a lo que se conoce ahora (Rodríguez-Fragoso *et al.*, 2008). De hecho, hoy en día existen gran variedad de productos herbolarios que se consideran útiles para la disminución de peso. Entre los productos de medicina herbolaria más populares se encuentran el extracto de té verde, té Oolong, *Garcinia-atovidiris* (Liu *et al.*, 2017), y también algunas semillas y nueces como las de girasol, la chía (Tavares-Toscano *et al.*, 2014), entre otras, que también se usan para la pérdida de peso (Alonso-Castro *et al.*, 2015; Mohammadifard *et al.*, 2015), incluyendo la semilla de *B. excelsa* (Alonso-Castro *et al.*, 2019). Todos estos productos herbolarios han estado a prueba ya que pocos estudios han mostrado que pueden o no ser efectivos en el control del peso, y en algunos casos hasta se ha dudado en si pueden o no ser aplicados a la población en general (Nieman *et al.*, 2009; Alonso-Castro *et al.*, 2015).

## **I.4 ¿Es la semilla de *B. excelsa* una alternativa para tratar el sobrepeso y la obesidad?**

### **I.4.1 Antecedentes**

La semilla de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (*Figura 4*), conocida comúnmente como Semilla de Brasil, es originaria de la Selva Amazónica. Su distribución se extiende a Bolivia, Brasil, Perú, sudeste de Colombia, Guayana y sur de Venezuela (Mori & Prance, 1990). A pesar de su ubicación al sur de América, también es reconocida en diversas partes del mundo por las diferentes propiedades y aplicaciones que tiene a nivel alimenticio y farmacéutico (Ribeiro *et al.*, 2014). El género fue nombrado en honor del famoso químico C.L. Berthollet (1748-1822), un contemporáneo de Humboldt y Bonpland (Mori & Prance, 1990; Zuidema, 2003). En el siglo XX comenzó a comercializarse después de su descripción por los botánicos

Humboldt y Bonpland en 1807. Actualmente, la venta de la semilla es parte de un mercado internacional que exporta anualmente un valor de US\$ 2.5 billones, de los cuales sólo 1.5% le pertenece específicamente a la semilla de *B. excelsa* (Zuidema, 2003).



Figura 4. Colectores de nueces de Perú. Foto: Marco Simola, Center for International Forestry Research (CIFOR) (Frausto-González *et al.*, 2018).

#### **I.4.2 Fitoquímica de la semilla de *B. excelsa***

Hasta el momento se sabe que la semilla de *B. excelsa* es una buena fuente de nutrientes, tales como proteínas, fibra y diferentes minerales, como el magnesio, el calcio, el hierro, el potasio, el zinc, el cobre y el fósforo (Moodley *et al.*, 2007; Yang, 2009). Además, contiene también vitaminas como la tiamina, la niacina, la vitamina B6 y la vitamina E. Cerca del 70% del peso de la semilla corresponde a lípidos (Yang, 2009) convirtiéndola en una de las semillas comestibles con mayor contenido en grasas insaturadas estando por debajo del coco y por arriba del cacahuete (Ryan *et al.*, 2006). En general, los ácidos grasos más abundantes son el linoleico (18:2  $\omega$ -6), el oleico (18:1  $\omega$ -9), el palmítico (16:0) y el esteárico (18:0) (Figura 5); en menor cantidad se encuentran el araquídico (20:0), el erúcico (22:1  $\omega$ -9), el palmitoleico (16:1  $\omega$ -7), el margárico (17:0), el gadoleico (20:1  $\omega$ -11), el  $\alpha$ -linolénico (18:3  $\omega$ -3), el behénico (22:0) y el mirístico (14:0).

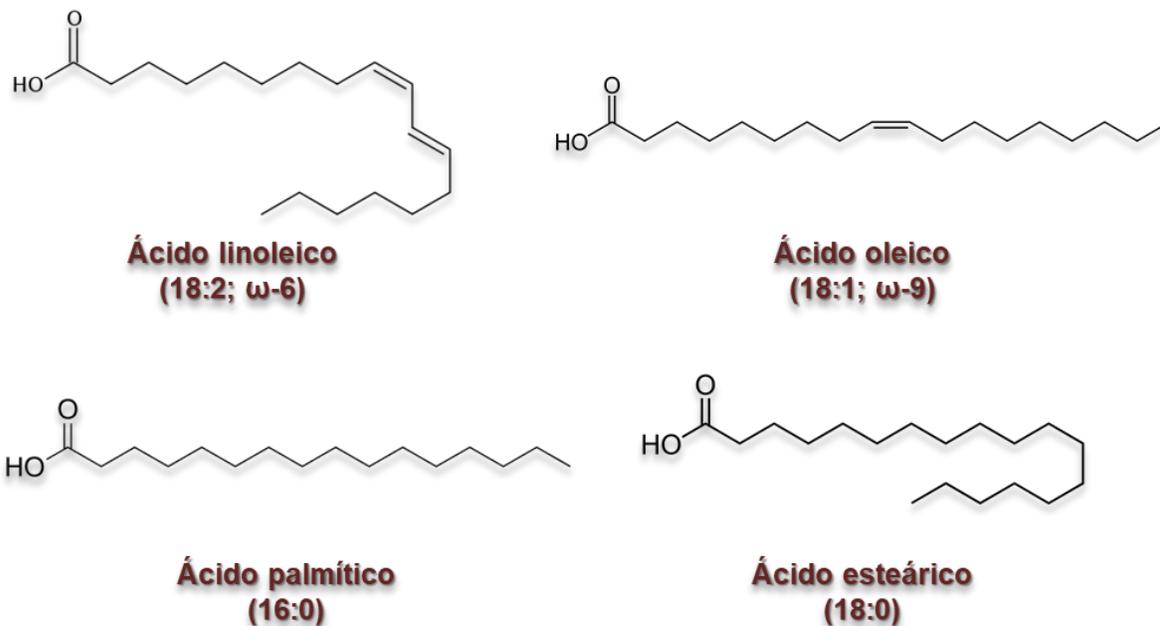


Figura 5. Ácidos grasos más abundantes de la semilla *Bertholletia excelsa* (Yang, 2009).

Con respecto a otros compuestos se han identificado tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol y  $\delta$ -tocoferol), escualeno,  $\beta$ -sitosterol, campesterol y estigmasterol (Figura 6) (Peña Muñiz *et al.*, 2015; Gomes & Torres, 2016). Además, contiene compuestos fenólicos (Callisaya-A. & Alvarado-K., 2016) en concentraciones muy parecidas al piñón y la cantidad de flavonoides es similar a la avellana. Otro componente abundante es el selenio (Chang *et al.*, 1995; Vonderheide *et al.*, 2002; Thomson *et al.*, 2008), un mineral esencial para el organismo. Éste es importante para mantener el buen funcionamiento del sistema inmune y la glándula tiroides (Stockler-Pinto *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2015; Silva-Junior *et al.*, 2017). Además, participa como cofactor para algunas enzimas antioxidantes y es considerado como un posible agente anticancerígeno (Patrick, 2004; Yang, 2009). Se considera que existe una relación entre la vitamina E (Meydani, 1992), antioxidantes y el selenio en modelos animales de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Scott, 1970; Levander *et al.*, 1973).

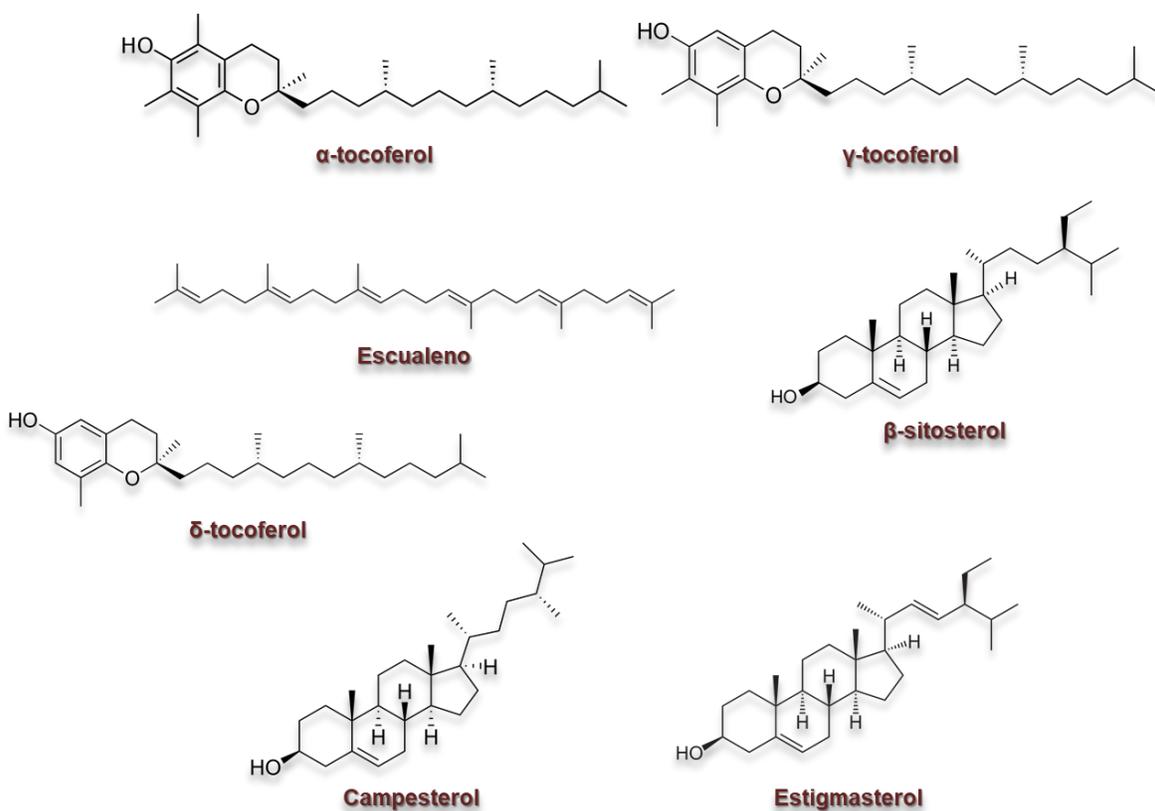


Figura 6. Compuestos orgánicos presentes en el aceite de la semilla *Bertholletia excelsa* (Yang, 2009).

### 1.4.3 Usos y efectos biológicos de la semilla de *B. excelsa*

A la semilla de *B. excelsa* se le atribuyen diversos efectos biológicos y nutricionales (Cardoso *et al.*, 2017). Destaca el uso del aceite como nutricional para preparar alimentos y como antioxidante (Callisaya & Alvarado, 2016). Cosmético en acondicionadores para el cabello y en cremas para la piel (Augustyn *et al.*, 2014). Terapéutico para prevenir algunos problemas inflamatorios (Yang, 2009), atenuar daños renales (Anselmo *et al.*, 2018), en afecciones cardiacas (Kris-Etherton *et al.*, 2001) como la hipertensión; ello, en parte asociado al aumento en la biodisponibilidad de óxido nítrico (Huguenin *et al.*, 2015a; Huguenin *et al.*, 2015b). Disminuye el riesgo de padecer algunos tipos de cáncer (González & Salas-Salvado, 2006), tal como el colorrectal (Hu *et al.*, 2016). En 2014 se describió que el aceite es efectivo para inhibir el crecimiento y la producción de aflatoxinas por *Aspergillus*

*parasiticus*, lo cual marca alternativas para utilizar compuestos naturales para controlar el crecimiento de hongos en los cultivos de productos vegetales de consumo humano (Martins *et al.*, 2014).

#### I.4.4 Efectos adversos del uso de la semilla de *B. excelsa*

De acuerdo con la exploración en distintas bases de datos, las publicaciones referidas a *B. excelsa* y obesidad son escasas (Figura 7), la mayoría están relacionadas con el aceite que se extrae de su semilla y algunas hacen referencia a la posible toxicidad que se puede tener por influencia del contenido de selenio (Mazokopakis & Lontiris, 2018). Al igual que otros alimentos, la posibilidad de reacciones alérgicas o complicaciones en el sistema digestivo como dolor abdominal, náuseas, vómito y diarrea no son la excepción (Hesse, 1955; Senna *et al.*, 2005; Bansal *et al.*, 2007).

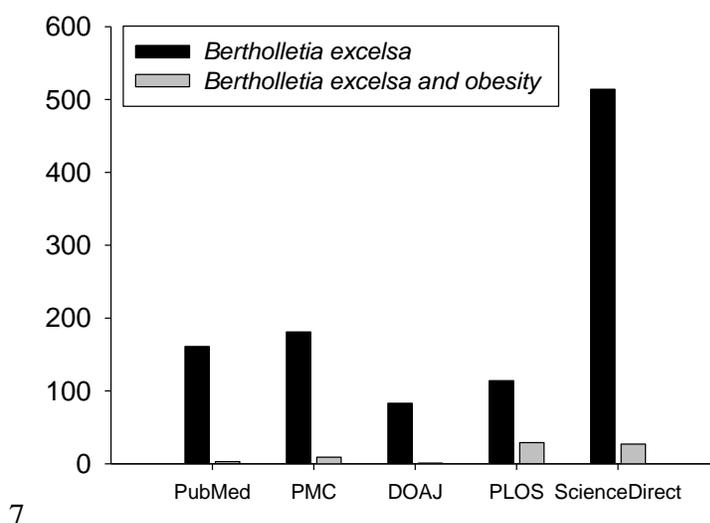


Figura 7. Número de publicaciones al buscar el término “*Bertholletia excelsa*” y “*Bertholletia excelsa and obesity*” en diferentes bases de datos (Frausto-González *et al.*, 2018).

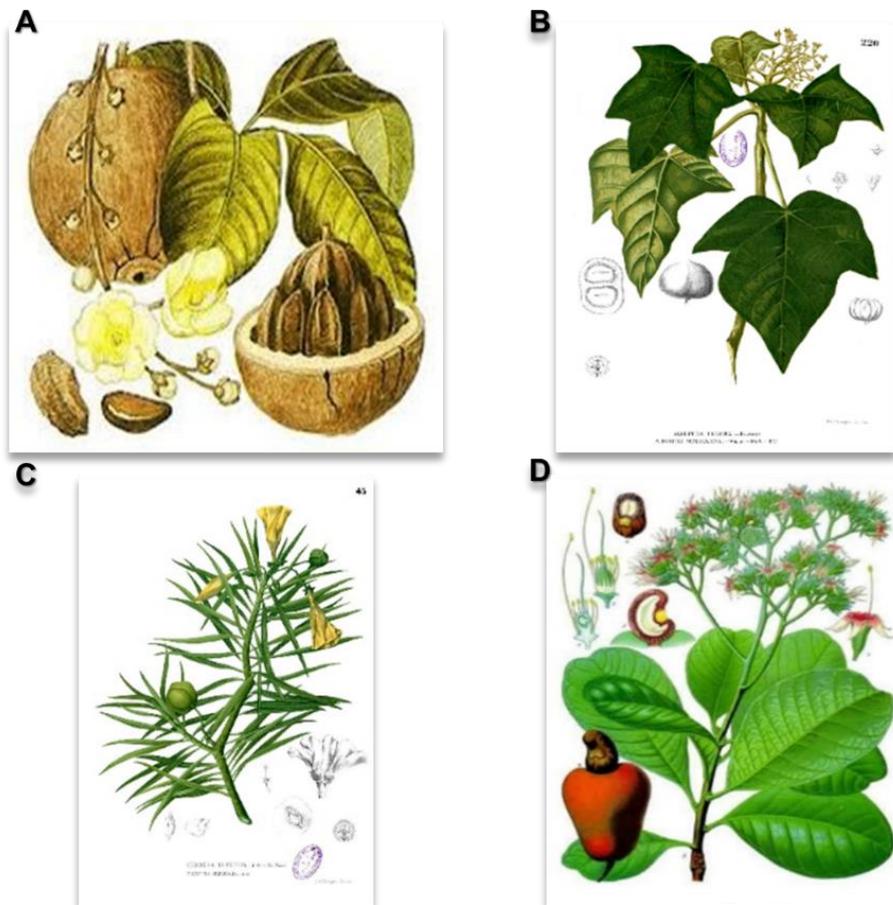
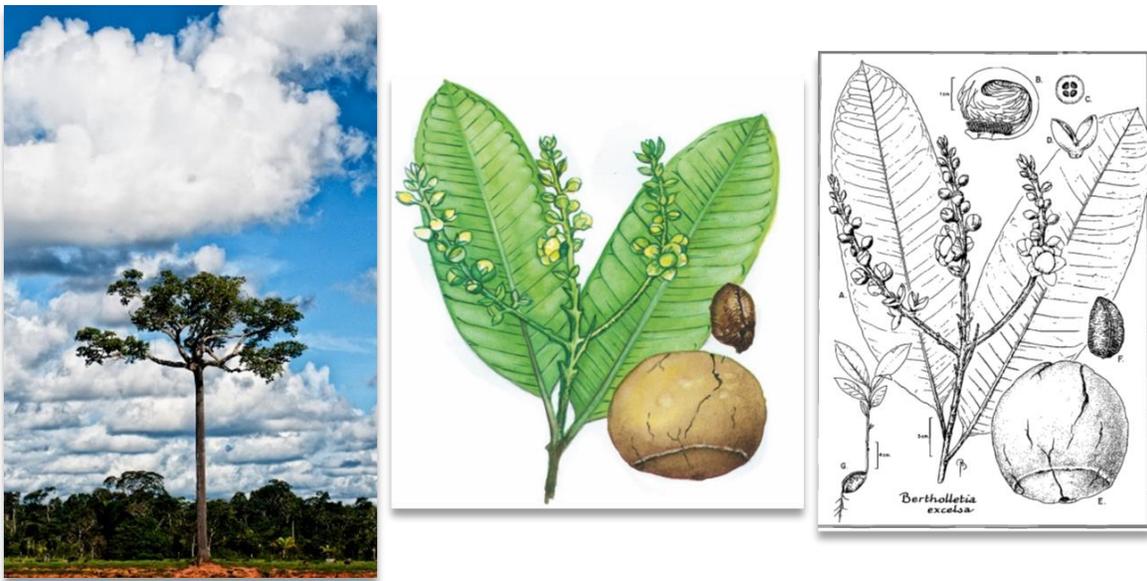


Figura 8. A) *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. B) *Aleurites moluccanus* L.; C) *Thevetia peruviana* P., D) *Anacardium occidentale* L. Imágenes recuperadas de Google (Frausto-González *et al.*, 2018).

Si bien no hay evidencias de la seguridad o toxicidad del uso de la semilla de *B. excelsa* para el sobrepeso y la obesidad, algunos casos clínicos mencionan que el consumo deliberado de ésta para bajar de peso puede ser de riesgo para la salud. El hecho es que existe información sobre la toxicidad producida por otras semillas que se comercializan para bajar de peso y son nombradas indistintamente como semilla de Brasil, sin que la gente sepa distinguir entre la especie original y las que generan efectos cardiotoxicos, entre otros. De entre las llamadas semillas de Brasil se encuentran: A) *B. excelsa* Humb. & Bonpl., B) *Aleurites moluccanus* L. (Candle nut) (Orellana-Cuéllar *et al.*, 2014; Ubeda *et al.*, 2017), C) *Thevetia peruviana* P. (Codo de fraile) (De la Rosa-Torres *et al.*, 2005; Aguilar-García & Maycotte-Luna,

2013), D) *Anacardium occidentale* L. (nuez de la India comestible) (Lafont & Portacio, 2011). *T. peruviana* o Codo de fraile es una de las que poseen potencial toxicidad y son de riesgo para la salud sin que se conozca su potencial utilidad para el sobrepeso o la obesidad (*Figura 8*).

Por lo anterior se enfatiza que es importante conocer las características botánicas de las especies, situación que es difícil ya que no siempre se venden como el fruto completo sino como pequeñas hojuelas, ello impide la adecuada identificación del producto. Habrá que conocer que el árbol de la semilla de Brasil tiene una altura de 40 a 60 m, puede llegar a vivir cerca de 600 años (*Figura 9*, panel izquierdo). Éste se caracteriza por tener ramas lisas con hojas simples y alternas cuyas flores constan de seis pétalos de color amarillo pálido a blanco. Los frutos son redondos, a menudo de forma y tamaño variado (*Figura 9*, panel central y derecho), y cada fruto posee de 10 a 25 semillas de 3.5-5 x 2 cm aproximadamente (*Figura 9*, panel central y derecho) (Mori & Prance, 1990; Zuidema, 2003; Augustyn *et al.*, 2014).



*Figura 9.* Árbol de la semilla de Brasil (*Bertholletia excelsa*). Foto de Marco Simola for Center for International Forestry Research (CIFOR). Flor, hojas y semilla (Mori and Prance, 1990; Frausto-González *et al.*, 2018).

La *tabla 2* sintetiza información sobre los usos atribuidos a diferentes especies denominadas semilla de Brasil, sus compuestos bioactivos identificados y las evidencias farmacológicas y toxicológicas reportadas.

*Tabla 2.* Comparación de las diferentes semillas conocidas como Semilla de Brasil utilizadas como adelgazante (Frausto-González *et al.*, 2018).

Semilla	Usos medicinales*	Compuestos	Farmacología	Toxicología
<b><i>Aleurites moluccana</i> L.</b>  (Orellana-Cuéllar <i>et al.</i> , 2014; Ubeda <i>et al.</i> , 2017)	Reducción de peso y obesidad, así como de la acidez, Antigripal, Astringente, Purgante, Hipercolesterolemia, ictiotóxico	Diterpenos como ésteres de forbol Trazas de toxoalbúminas	No hay diferencias en masa corporal ni en grasa visceral en un estudio con ratas. Hipolipemiente en ratas No hay datos que sustenten su uso en humanos.	Diarrea Bradycardia Desmayos Náuseas y vómito Mareo Epistaxis, hemorragia glomerular y daño hepático en ratas. Apatía, apertura ocular disminuida, reflejos disminuidos, piloerección y caída de pelaje en ratas. Posible muerte
<b><i>Thevetia peruviana</i> (Persoon) K. Schum</b>  (De la Rosa-Torres <i>et al.</i> , 2005; Aguilar-García & Luna, 2013)	Laxante, Febrífugo, Emético, Purgativo	Glucósidos cardotónicos flavonoides triterpenos esteroides ácido cianhídrico ácidos grasos (oleico, palmítico, linoleico, esteárico, araquídico)	Efectos inotrópicos positivos Actividad antibacteriana (aceite)	Cardiotoxicidad, desequilibrio hidroelectrolítico, convulsiones, muerte
<b><i>Anacardium occidentale</i> L.</b>  (Lafont & Portacio, 2011)	Aperitivo, Diurético, Antihelmíntico	Compuestos fenólicos Ácidos grasos (oleico, linoleico, palmítico, esteárico) $\alpha$ -pineno levoepicatequina Ácido anacárdico y derivados Anacardeína B-sitosterol Campesterol	Actividad depresora central y antibacteriana antiinflamatorio Actividades molusquecida e hipoglucemiante Antihipertensivo	El cardol es cáustico y vesicante
<b><i>Bertholletia excelsa</i> Humb. &amp; Bonpl.</b>	Adelgazante y como tratamiento en cáncer	Ácidos grasos (linoleico, oleico, palmítico, esteárico), Selenio, Vitamina E, Compuestos fenólicos, Flavonoides, Tocoferoles, Fitosteroles,	No existe como tal evidencia como adelgazante, pero modifica el perfil de lípidos y la función de la microvasculatura Previene enfermedades cardiovasculares y posee actividad antioxidante	No existen datos de toxicidad

\*Usos tradicionales que se utilizan en la población.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido al incremento acelerado de casos de sobrepeso y obesidad en México y a las pocas opciones de tratamiento farmacológico que se tienen; el investigar nuevas alternativas de terapéutica resulta ser imperante. Si bien la semilla *B. excelsa* podría ser de potencial uso para tratar el sobrepeso y la obesidad, ya que se dice que no sólo disminuye la masa corporal, sino que además genera efectos tranquilizantes que evitan que la gente coma compulsivamente; la limitante en su uso es que no existen estudios científicos preclínicos o clínicos bien establecidos que avalen la eficacia y seguridad de su uso, por lo cual es de interés para este proyecto obtener evidencia neurofarmacológica de la actividad del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa*, sus efectos en el peso corporal y su influencia en el metabolismo de lípidos en ratones, ya que es importante demostrar e investigar las controversias generadas alrededor de estos productos para evaluar los efectos terapéuticos sobre los efectos tóxicos o no deseados.

## III. HIPÓTESIS

El extracto hexánico de *B. excelsa* produce efectos sobre el SNC y disminuye el peso en ratones mediado por su acción en el metabolismo de lípidos en hígado, testículo y epidídimo.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto neurofarmacológico de la semilla de *B. excelsa* y su influencia en el metabolismo de lípidos en ratones.

## 4.2 Objetivos particulares

- Obtener el extracto hexánico de la semilla *B. excelsa* (SBHX).
- Evaluar el perfil neurofarmacológico del SBHX en las pruebas de potenciación del efecto sedante-hipnótico inducido con pentobarbital sódico (PBS), del efecto nociceptivo inducido con formalina y de las convulsiones tónico-clónicas inducidas con pentilentetrazol (PTZ), así como la actividad tipo ansiolítica en las pruebas de campo abierto, tablero con orificios y cruz elevada en ratones macho de la cepa SW.
- Medir el incremento del peso corporal en un curso temporal de al menos 40 días en ratones machos SW con dieta hipercalórica.
- Determinar si hay una asociación en la ingesta de agua y de alimento sobre el peso corporal durante la administración del SBHX en ratones macho de la cepa SW.
- Evaluar los efectos bioquímicos del SBHX sobre los valores de lípidos, triacilglicéridos y colesterol en hígado, epidídimo y testículo en ratones SW.
- Analizar los efectos de SBHX sobre la morfología del epidídimo y del testículo, así como su contenido de grasa.
- Determinar la influencia de SBHX sobre los lípidos al evaluar el área de los adipocitos del tejido adiposo gonadal y sobre el área de los túbulos seminíferos de corte transversal en ratones macho SW.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### V.1 Modelo biológico

Ratones macho y hembra de la cepa Swiss-Webster (SW) con peso corporal entre 25 y 30 g mantenidos a una temperatura controlada de  $22 \pm 1$  °C, con ciclos de luz/oscuridad de 12 h fueron utilizados en grupos de 5-8 animales. Los experimentos realizados siguieron las especificaciones de uso, manejo y cuidado de animales de laboratorio contenidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-062-ZOO-1999 y las observadas por el Comité de Ética Institucional (NC17073.0).

## V.2 Reactivos y fármacos

Diazepam (DZP) (Psicopharma<sup>®</sup>), Etosuximida (ETX) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), Pentobarbital sódico (PBS) (Sedalpharma<sup>®</sup>), Pentilentetrazol (PTZ) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), tramadol (Grünenthal México, S.A. de C.V.), extracto hexánico de semilla de *B. excelsa* (SBHX) (SdB, Guadalajara), Hexano (High Purity de México, S.A. de C.V.), alcohol etílico absoluto (DECON laboratorios<sup>®</sup> y REPROQUIFIN<sup>®</sup>), Solución salina isotónica 0.9%, Tween 80, Paraformaldehído (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) preparado al 4%, Formaldehído (JT Baker<sup>®</sup>) preparado al 10%, Xileno (FISHER SCIENTIFIC<sup>®</sup>), Parafina para histología (Leica BIOSYSTEMS<sup>®</sup>), Poli-L-lisina (Sigma), hematoxilina (Thermo Scientific™ Shandon™), eosina (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), cloroformo:metanol preparada 2:1, solución salina 0.7%, tritón en isopropanol preparado 10%, reactivo CHOL (RANDOX<sup>®</sup>), y reactivo TG (RANDOX<sup>®</sup>).

## V.3 Preparación del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa* (SBHX)

Para la preparación de los extractos de la semilla de *B. excelsa* se hizo una maceración de tres lotes diferentes. El extracto hexánico (SBHX) se preparó con 3 extracciones de 25 mL de hexano cada una y se dejaron a evaporación para obtener un aceite traslúcido. El extracto etanólico (SBEtOH) se llevó a cabo con 3 extracciones de 25 mL de etanol absoluto cada una y se dejaron evaporar para obtener cristales de color café claro. Cada extracto se pesó y se relacionó con la masa total de la semilla para obtener el rendimiento de cada uno (*Figura 10*). El SBEtOH se reservó para futuros estudios.

$$\text{Rendimiento (\%)} = 100(M/T)$$

M = masa del extracto (g)

T = masa total de la semilla (g)

## Extractos de la Semilla de Brasil

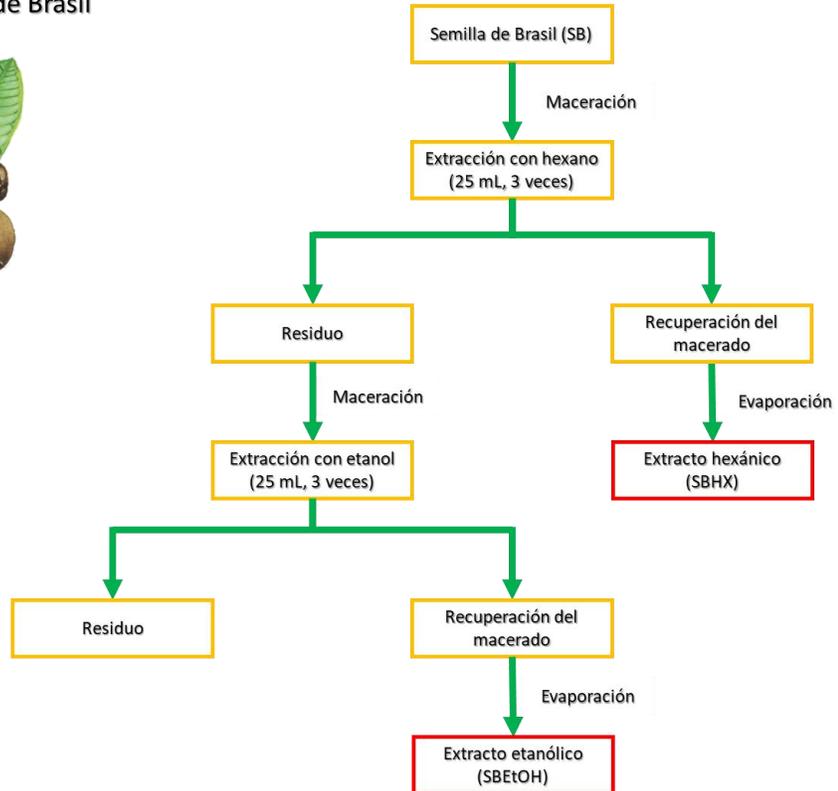


Figura 10. Método de extracción de la semilla de *Bertholletia excelsa*.

### V.4 Diseño experimental

Cuatro grupos de ratones macho se formaron como sigue: 1 grupo control (VH, tween 80 al 0.2-0.5% en solución salina 0.9%) y 3 administrados con diferentes dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/kg, i.p.). Para las pruebas farmacológicas se adicionó un grupo control positivo administrado vía i.p. con el fármaco de referencia.

Durante el desarrollo del modelo biológico, los ratones consumieron alimento comercial LabDiet® Rodent 5001 formulado con 5%<sub>m/m</sub> de grasa vegetal y contenido energético de 3.36 Kcal/g. Adicionalmente, los 4 grupos bebieron agua de manera voluntaria (*ad libitum*) la que consistió en sacarosa al 34%<sub>m/v</sub>. (Figura 11).

Adicionalmente, 2 grupos de ratones hembra se evaluaron como: 1 grupo control y 1 grupo tratado con SBHX (300 mg/Kg, i.p.) para comparar su respuesta neurofarmacológica.

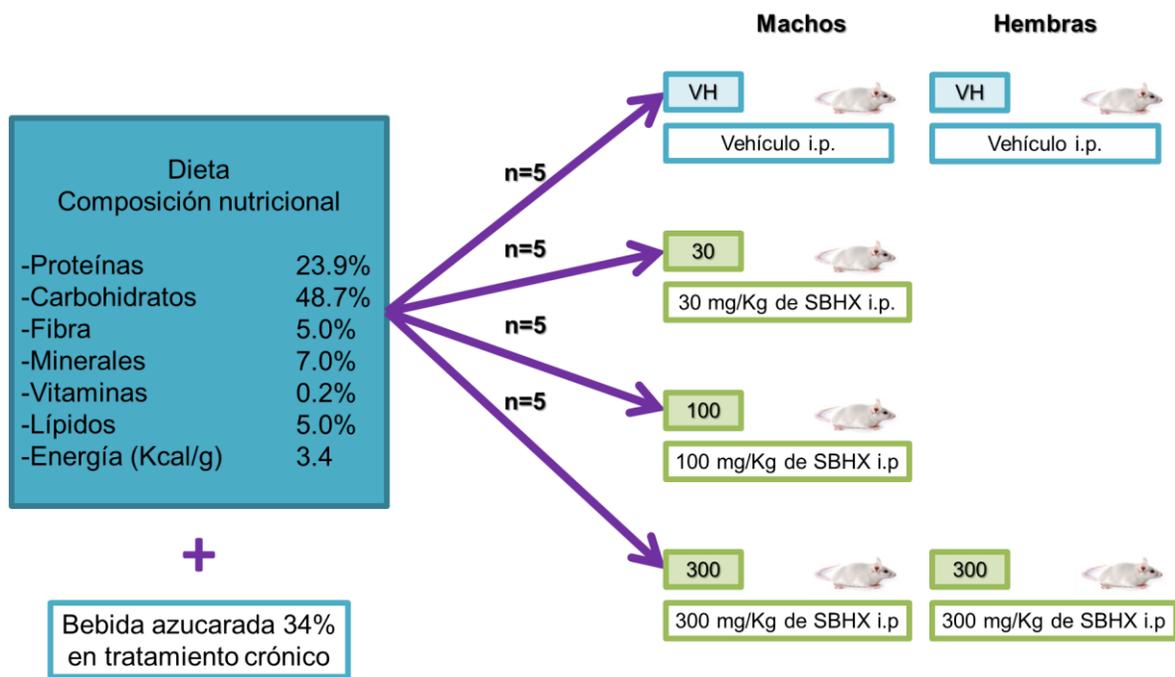


Figura 11. Composición nutricional de la dieta utilizada para los grupos de ratones.

Inicialmente se determinó la dosis letal 50 de SBHX. Posteriormente se realizó la evaluación del perfil neurofarmacológico evaluando los efectos de tipo ansiolítico, sedante-hipnótico, antinociceptivo y en las convulsiones tónico-clónicas inducidas con pentilentetrazol (PTZ). Al finalizar las pruebas del efecto tipo ansiolítico se continuó con la administración crónica mediante el registro del peso, la ingesta de agua y de alimento cada 5 días durante 40 días. Finalmente, los tejidos de testículo, epidídimo e hígado se extrajeron para la determinación de su peso y contenido de grasa, triacilglicéridos y colesterol, así como para el análisis histológico.

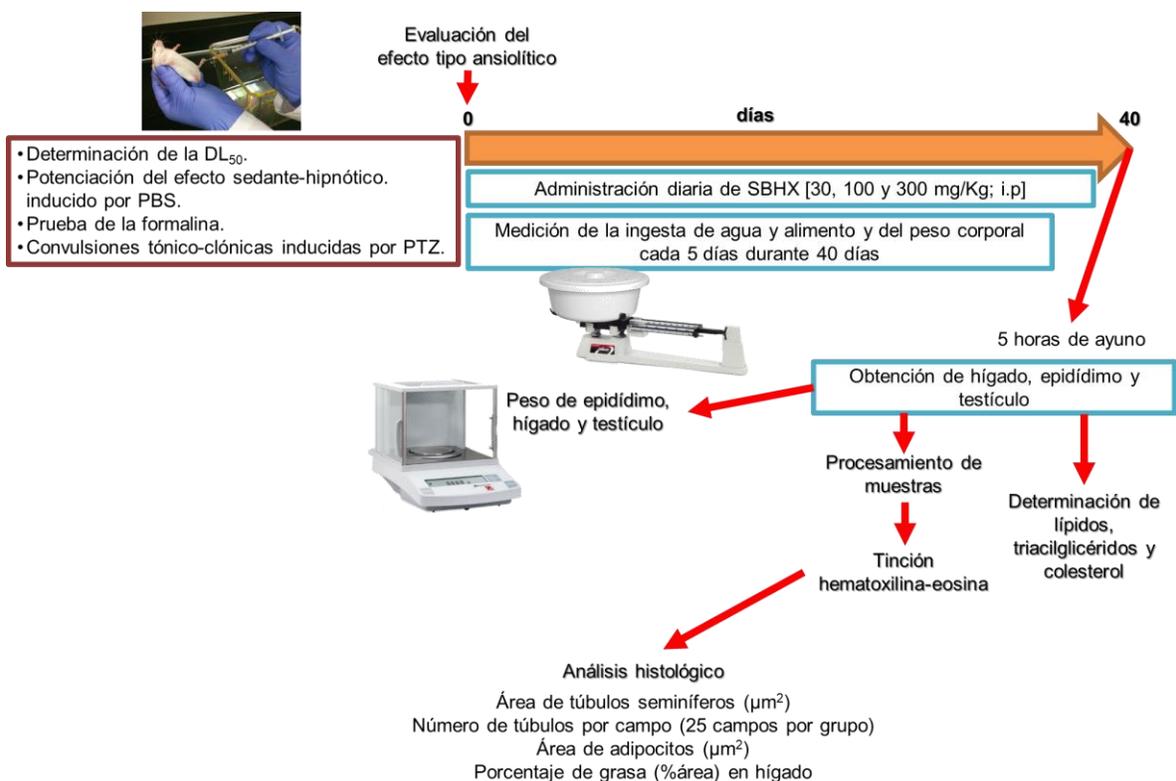


Figura 12. Diseño experimental para la evaluación farmacológica y bioquímica de SBHX.

## V.5 Determinación de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa*

Antes de las pruebas farmacológicas se evaluó la DL<sub>50</sub>, vía i.p. Para ello se empleó el método de Lorke (1983) modificado por la norma de OECD (2001). El cálculo corresponde a  $DL_{50} = \sqrt{(A)(B)}$ , donde A es la dosis más alta administrada en la que se observó 100% de mortalidad, mientras que la B es la dosis mínima en la que no hubo muerte (0% mortalidad). Una vez que los ratones fueron administrados, se mantuvieron en observación durante 14 días, registrando su peso y el último día se hizo un análisis macroscópico de los órganos. La dosis más alta que se empleó fue la de 2000 mg/kg siendo ésta permitida por los comités de ética y recomendada por la OECD a diferencia de la reportada por Lorke (1983) como 5000 mg/kg (Lorke, 1983; OECD, 2001).

## V.6 Evaluación del perfil neurofarmacológico del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa*

### V.6.1 Efecto tipo ansiolítico en las pruebas de campo abierto, tablero con orificios y cruz elevada

Grupos de cinco ratones macho recibieron administración aguda (volumen de administración de 0.1 mL por cada 10 g de peso) vía intraperitoneal (i.p.) de las dosis de 30, 100 y 300 mg/Kg de SBHX, fármaco de referencia diazepam (DZP) (1 mg/Kg, i.p.) y el grupo vehículo (VH) (solución salina isotónica (0.9%) + tween 80 al 0.2-0.5%). Treinta minutos después de la administración, los ratones fueron evaluados en secuencia en las pruebas conductuales de exploración como sigue: campo abierto por 2 minutos, tablero con orificios por 3 minutos y cruz elevada por 5 minutos (Martínez *et al.*, 2006).

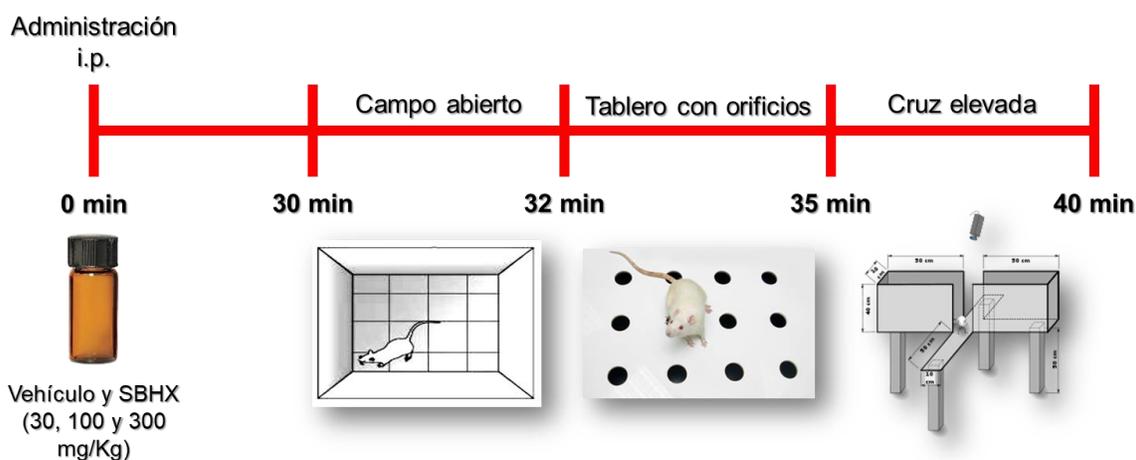


Figura 13. Desarrollo experimental de la evaluación farmacológica del efecto tipo ansiolítico del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa* en ratones.

### **V.6.2 Potenciación del efecto sedante-hipnótico inducido por pentobarbital sódico**

Esta prueba consiste en administrar a los roedores una dosis de 42 mg/kg de PBS (González-Trujano *et al.*, 1998). Previamente, los animales recibieron los tratamientos (SBHX 3 y 10 mg/Kg, i.p.), el fármaco de referencia (DZP 1 mg/kg, i.p.) o el vehículo, y 30 min después se administró el PBS para enseguida registrar la latencia a la incoordinación motora o fase de sedación, la latencia a la pérdida del reflejo del enderezamiento o fase de hipnosis y, la duración de la hipnosis o tiempo desde que inicia la pérdida del reflejo de enderezamiento y su recuperación (López-Rubalcava *et al.*, 2006).

### **V.6.3 Efecto tipo analgésico en la prueba de la formalina**

Esta prueba se asocia con un modelo de dolor nociceptivo que permite registrar la conducta nociceptiva en dos fases. Una temprana y breve que refiere actividad a nivel SNC. La otra persistente y tardía que permite observar la actividad periférico-central y refiere dolor asociado a inflamación. Lo anterior a través del registro del número de sacudidas y tiempo invertido en lamer la extremidad que recibe un estímulo nocivo inducido con 20  $\mu$ L de formalina al 1% intraplantar (Martínez-González *et al.*, 2017; Hunskaar *et al.*, 1985). Los datos se grafican en un curso temporal que posteriormente se describe como área bajo la curva para el análisis entre grupos control (vehículo o analgésico de referencia) y tratamiento (dosis del SBHX) administrados vía i.p. 30 min antes de la inducción nociceptiva. El fármaco tramadol fue utilizado como analgésico de referencia.

#### **V.6.4 Efecto en las convulsiones tónico-clónicas inducidas con PTZ**

Treinta min después de la administración de los tratamientos antes mencionados, los ratones recibieron la inyección de 80 mg/kg, i.p. de PTZ para la inducción de convulsiones (Swinyard *et al.*, 1989). Para esta prueba se registró la latencia al primer mioclonus, a la crisis convulsiva generalizada, a la crisis tónica y, finalmente muerte por la toxicidad del PTZ. Si no se presentaba alguna de estas al término de 30 min, los animales se consideraban protegidos (Cárdenas-Rodríguez *et al.*, 2014). El antiepiléptico ETX y DZP fueron utilizados como fármacos de referencia.

#### **V.7 Medición de peso corporal e ingesta de agua y alimento**

La medición del peso corporal y la ingesta de agua y alimento de los ratones evaluados se registró individualmente por día registrando los promedios cada 5 días durante 40 días, comenzando como día cero o basal el día que se realizó la evaluación del efecto tipo ansiolítico. Para la medición del peso corporal, los ratones fueron pesados en una balanza granataria OHAUS® con capacidad de 610 g y sensibilidad de 0.05 g. Con respecto a la ingesta de alimento y de agua, una cantidad de agua y de alimento fijo se les colocó y se registró diariamente al día siguiente midiendo la cantidad restante de agua y alimento, y reponiendo la cantidad consumida. Para calcular el consumo de agua y de alimento se utilizó la siguiente fórmula:

$$I_{\text{agua}} = (B_{\text{agua}} - R_{\text{agua}}) \text{ mL}$$

$$I_{\text{alimento}} = (B_{\text{alimento}} - R_{\text{alimento}}) \text{ g}$$

B: cantidad de alimento o agua fijo un día antes de la determinación.

R: cantidad de agua o de alimento restante al día de la determinación.

## **V.8 Obtención y procesamiento de las muestras biológicas**

Al cabo de 40 días de administración diaria de SBHX, los ratones se dejaron en ayuno por 5 horas y entonces se les practicó la eutanasia mediante sobredosis de pentobarbital (0.4 mL/ratón, i.p). Seguido de esto, se les realizó una incisión abdominal para la extracción del hígado, epidídimo y testículo. Cada tejido se pesó en una balanza analítica BP 310S SARTORIUS® (cap. máx = 320 g; sensibilidad = 0.001 g) y enseguida fue refrigerado a una temperatura de -20°C para su procesamiento histológico.

Para la histología de los tejidos se realizó un corte en el lóbulo inferior derecho del hígado para obtener una muestra de 5x5 mm. En el caso del epidídimo y del testículo se ocupó el derecho. Posteriormente se colocaron en un casete y se almacenaron en un frasco con paraformaldehído al 4% o formaldehído al 10% durante 24 h para su fijado. El testículo y epidídimo izquierdo, al igual que el restante de hígado se reservaron para la determinación de lípidos, triacilglicéridos y colesterol. Los tejidos fijados se deshidrataron con soluciones crecientes de etanol (50, 75, 95 y 100%) y después fueron puestos en xilol, posteriormente se incluyeron en parafina histológica y se formaron los bloques que fueron cortados con microtomo Leica® (RM2125 RTS) en secciones de 5 µm de grosor. Cada sección cortada se colocó en laminillas previamente tratadas con poli-L-lisina.

## **V.9 Análisis histológico del tejido adiposo gonadal, testicular y hepático**

Las muestras colocadas previamente en laminillas se ubicaron en racks y fueron llevadas al horno durante 20 min a una temperatura de 60°C para ser desparafinadas. Después se continuó su desparafinado colocándolas en xileno tres veces por 10 min cada una. Enseguida se colocaron en etanol a diferentes concentraciones, comenzando con etanol al 100% tres veces por 5 min cada una,

después por etanol al 95% dos veces por 3 min cada una, etanol al 70% por 3 min y terminando con etanol al 50% por 3 min. Posteriormente, fueron teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) y se reservaron para su análisis morfométrico (Rodríguez-González *et al.*, 2015).

### **V.9.1 Medición del área del adipocito**

Cinco campos del tejido adiposo gonadal correspondientes a un ratón fueron capturados aleatoriamente para cada grupo utilizando un microscopio óptico de campo claro y procesados con el programa Leica Q 500W para obtener un total de 25 microfotografías de cada grupo con un aumento de 40X. La medición del área del adipocito se llevó a cabo con el software AxioVision SE64, versión 4.9.1, delimitando los bordes de cada adipocito y cuantificando las áreas en  $\mu\text{m}^2$  (Ibáñez *et al.*, 2018). Finalmente, la distribución relativa de la población de adipocitos en el tejido adiposo gonadal fue determinada para ser graficada utilizando el software Excel 365.

### **V.9.2 Medición de los túbulos seminíferos**

Cinco campos de tejido testicular correspondientes a un ratón fueron capturados aleatoriamente para cada grupo utilizando un microscopio óptico de campo claro y procesados con el programa Leica Q 500W. Fueron obtenidas un total de 25 microfotografías de cada grupo con un aumento de 40X. Para la medición del área de los túbulos seminíferos se consideraron aquellos que se mostraban redondos y de corte transversa. Esta medición se llevó a cabo con el software AxioVision SE64, versión 4.9.1, delimitando los bordes de cada túbulo seminífero y cuantificando las áreas en  $\mu\text{m}^2$  (Rodríguez-González *et al.*, 2015).

## V.10 Determinación del perfil bioquímico en hígado, epidídimo y testículo

### V.10.1 Extracción de lípidos

Para la extracción de lípidos se empleó el método de Folch modificado, el cual se fundamenta en un método gravimétrico con una extracción previa en dos fases (Folch *et al.*, 1957). En un tubo de 16 X 120 se colocaron 100 mg de tejido y se adicionaron 5.4 mL de cloroformo-metanol en relación (2:1) y 1.8 mL de solución salina al 0.7%, seguido de esto se homogeneizaron con vórtex y se centrifugaron a 1500 rpm durante 15 min. Al término de la centrifugación se desechó la fase acuosa y se recolectó la fase orgánica en un tubo de 16 X 120 mm previamente puesto a peso constante en un horno a 60°C y pesado. La fase orgánica se dejó a evaporación durante 48 h dentro de una campana de extracción. Al finalizar este tiempo, los tubos fueron pesados en la balanza analítica BP 310S SARTORIUS® (cap. máx = 320 g; sensibilidad = 0.001 g). El cálculo para determinar el contenido de lípidos fue el siguiente:

$$\text{Cantidad de lípidos (\%)} = 100(M - N)/T$$

M: masa del tubo con grasa (g)

N: masa del tubo limpio, seco y a peso constante (g)

T: masa del tejido muestra (g)

### **V.10.2 Determinación de colesterol total**

Para la determinación de colesterol (CHOL), de manera preliminar se realizó el tratamiento de los lípidos extraídos de cada tejido, a los cuales se le adicionaron 500 µL de tritón en isopropanol al 10%. Posteriormente se utilizó un método de punto final a tiempo fijo empleando el reactivo CHOL (RANDOX®) que se compone de 4-aminoantipirina (4-AAP) 0.28 mM, fenol 8.06 mM, colesterol esterasa (CE) 211 UI/L, colesterol oxidasa (CO) 216 UI/L, peroxidasa 6.667 UI/L., entre otras sustancias no reactivas pero necesarias para el funcionamiento óptimo del sistema de reacción. Este reactivo fue dispensado en tubos de 12 X 75 mm a los cuales se les añadió el estándar de CHOL, así como las diferentes muestras de cada tejido por duplicado en una proporción de 1 parte de muestra por cada 100 partes de reactivo y se dejaron incubar durante 10 min a 20-25°C. Enseguida se tomaron 200 µL de cada muestra, incluyendo el estándar y el blanco de reactivo, y se pusieron por duplicado en una placa de 96 pozos. La lectura se efectuó en el lector de placas Multiskan 352 para determinar un cambio de absorbancia a una longitud de onda de 546 nm. Una vez obtenidos los valores del equipo, los cálculos necesarios se realizaron para tomar en cuenta las diluciones empleadas, los datos se expresan como la concentración en gramos de CHOL por cada gramo de tejido (g/g de tejido) (Torre-Villalvazo *et al.*, 2008).

### **V.10.3 Determinación de triacilglicéridos**

La determinación de triacilglicéridos (TG) se llevó a cabo empleando la solución de lípidos utilizada para la determinación de CHOL (apartado 1.5.4.2) y el reactivo TG (RANDOX®) empleando el método de punto final a tiempo fijo. Este reactivo se compone de: lipasa 68 U/L, ATP 2.56 mM, glicerol cinasa (GK) 4 KUI/L, glicerofosfato oxidasa (GPO) 1.1 KUI/L, 4-AAP 0.71 mM, ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico (DHBS) 1.56 mM, peroxidasa de rábano (HPO) 9KUI/L, entre otras sustancias no reactivas pero necesarias para el sistema de reacción. Este reactivo fue dispensado en tubos de 12 X 75 mm a los cuales se les añadió el estándar de TG, así como las diferentes muestras de cada tejido por duplicado en

una proporción de 1 parte de muestra por cada 100 partes de reactivo y se dejaron incubarse durante 10 min a 20-25°C. Al término de la incubación se tomaron alícuotas de 200 µL de cada tubo de reacción y se colocaron en una placa de 96 pozos para ser leída en el lector de placas Multiskan 352 para determinar un cambio de absorbancia a una longitud de onda de 546 nm. Una vez obtenidos los valores del equipo, los cálculos necesarios se realizaron para tomar en cuenta las diluciones empleadas, los datos se expresan como la concentración en gramos de TG por cada gramo de tejido (g/g de tejido).

### **V.11 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se expresan como la media  $\pm$  error estándar (EE). El análisis estadístico se realizó con el software *SigmaPlot*, versión 11.0 y *SigmaStat*, versión 3.5, utilizando un intervalo de confianza del 95%. Las pruebas estadísticas fueron ANADEVIA de una y dos vías, dependiendo del número de factores, seguida de la prueba post-hoc de Tukey o de Dunnett, así como la prueba t-student para datos no pareados.

## VI. RESULTADOS

### VI.1 Rendimiento de los extractos

El rendimiento del SBHX fue en promedio 56%, mientras que se obtuvo un 12% para el SBEtOH.

*Tabla 3.* Rendimiento de los extractos de la semilla de *B. excelsa* obtenidos mediante maceración en solventes orgánicos.

Masa total de semilla (mg)	SBEtOH	SBHX
	rendimiento (%)	
1602.0	9.2	51.5
1601.8	8.2	53.8
1093.8	13.8	61.7
1627.5	15.7	61.0

SBHX: Extracto hexánico de *B. excelsa*. SBEtOH: Extracto etanólico de *B. Excelsa*.

### VI.2 Efecto de tipo ansiolítico de SBHX

#### VI.2.1 Prueba de campo abierto

Se observó que la exploración disminuyó en el grupo que recibió la dosis de 30 mg/Kg respecto al control ( $p < 0.01$ ) (*Figura 14*). Al comparar esta respuesta en las hembras (300 mg/Kg) se observó disminución significativa vs el grupo VH, así como menor exploración en comparación con los machos.

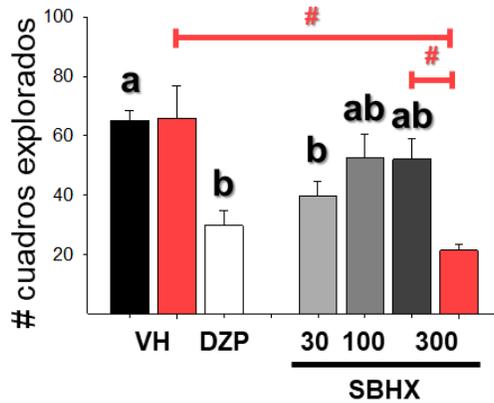


Figura 14. Actividad exploradora de ratones administrados con diferentes dosis de SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH) en la prueba de campo abierto. Letras minúsculas diferentes denotan diferencias significativas. ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. # $p < 0.05$ , t-student.

### VI.2.2 Tablero con orificios

De manera similar, en la prueba de tablero con orificios en ratones administrados con las diferentes dosis de SBHX mostró diferencia significativa en todas las dosis de los tratamientos ( $p < 0.05$ ) en comparación con el VH (Figura 15). El tratamiento en hembras también produjo diferencia significativa comparada con el VH y con el grupo 300 mg/Kg en los machos.

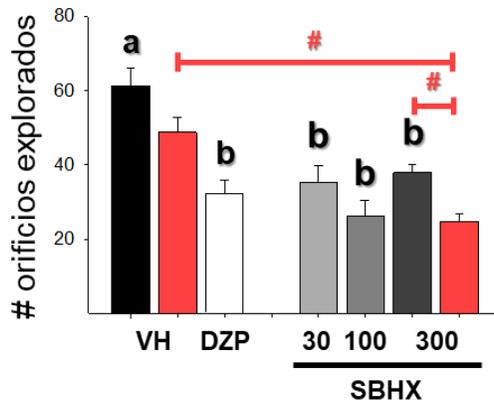


Figura 15. Evaluación de la actividad exploradora de ratones administrados con diferentes dosis del SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH) observados en el tablero con orificios. Letras minúsculas diferentes denotan diferencias significativas. ANADEVa seguida de la prueba de Tukey. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. # $p < 0.05$ , t-student.

### VI.2.3 Cruz elevada

En la prueba de cruz elevada hubo respuesta significativa ( $p < 0.05$ ) al incrementar la permanencia en brazos abiertos, principalmente con la dosis de 300 mg/Kg (Figura 16.A). El análisis del número de cruces entre brazos en la dosis de 300 mg/Kg se mantuvo igual que el VH y solamente la dosis de 30 mg/Kg redujo significativamente los cruces ( $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo VH (Figura 16.B). Los ratones hembras administradas con SBHX (300 mg/Kg) mostraron incremento significativo en la permanencia en brazos abiertos al ser comparadas con su grupo control, sin presentar diferencias con el grupo 300 mg/Kg en machos ( $p < 0.051$ ). El número de cruces entre brazos disminuyó en este grupo y hubo diferencias significativas con los controles.

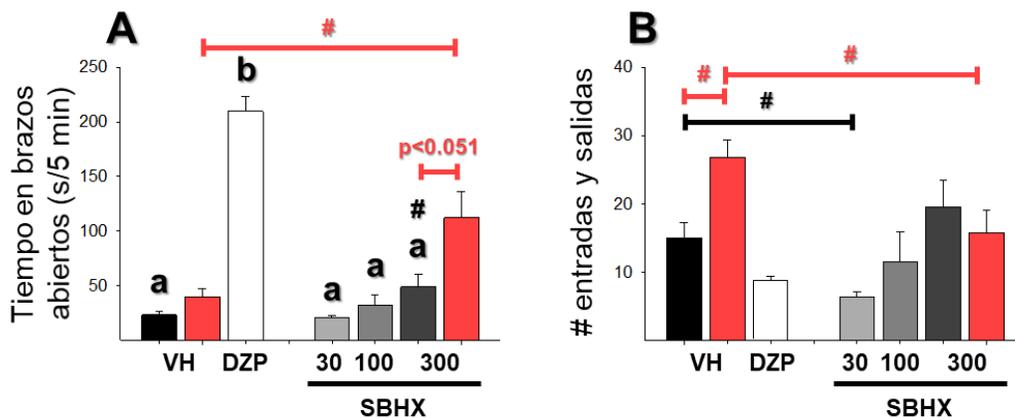


Figura 16. Evaluación de la actividad de tipo ansiolítica en la prueba de cruz elevada. **A)** Permanencia en brazos abiertos (s) y **B)** número de entradas y salidas en ratones administrados con diferente dosis de SBHX vía i.p. y grupo vehículo (VH). Letras minúsculas diferentes denotan significancia. ANADEVA seguida de la prueba de Tukey. # $p < 0.05$ , t-student en machos. Barras en rojo identifican a grupos de hembras. # $p < 0.05$ , t-student.

### VI.3 Efecto sedante-hipnótico de SBHX en presencia de pentobarbital sódico

Los ratones administrados con SBHX (3 y 10 mg/Kg) no cambiaron la latencia de sedación y de hipnosis. La duración de la hipnosis en SBHX para ambas dosis se vio aumentada significativamente con respecto al grupo VH y se comportó de manera similar al DZP utilizado como fármaco de referencia (*Tabla 4*).

*Tabla 4.* Interacción sedante e hipnótica entre el pentobarbital sódico (PBS) y el extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa* (SBHX) en ratones.

Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Latencia (min)		Duración de hipnosis (min)
		Sedación	Hipnosis	
PBS + VH	-	1.22 ± 0.04	3.19 ± 0.21	17.92 ± 4.19
PBS + DZP	1	0.95 ± 0.03 <sup>#</sup>	2.97 ± 0.29	51.94 ± 6.09*
	3	1.23 ± 0.14	3.32 ± 0.25	64.32 ± 6.47*
PBS + SBHX				
	10	1.05 ± 0.09	2.65 ± 0.22	74.04 ± 17.91*

\*p<0.05, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett. <sup>#</sup>p<0.05, t-student.

PBS: pentobarbital sódico. VH: vehículo. DZP: diacepam. SBHX: extracto hexánico de *B. excelsa*.

#### VI.4 Efecto tipo analgésico de SBHX en las fases neurogénica e inflamatoria

En las curvas de curso temporal que representan la respuesta tipo dolorosa se observó que hubo una disminución tanto a nivel central en la fase neurogénica entre el minuto 3 al 5 y, posteriormente en la fase inflamatoria a partir del minuto 10 en los grupos tratados con SBHX y el fármaco de referencia. Este efecto se incrementó en presencia del antagonista a receptores de tipo opioide (Naloxona, 1 mg/Kg, i.p.) (Figura 17).

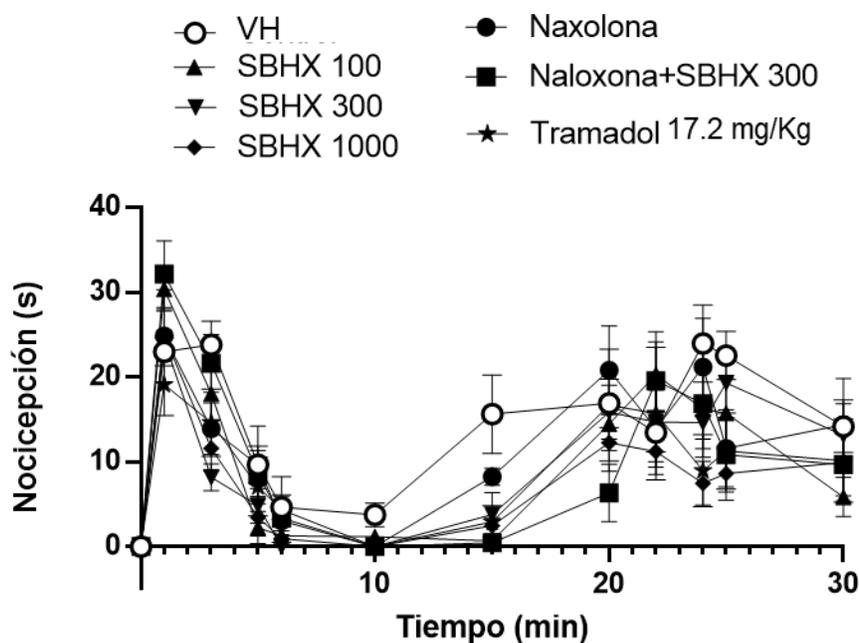
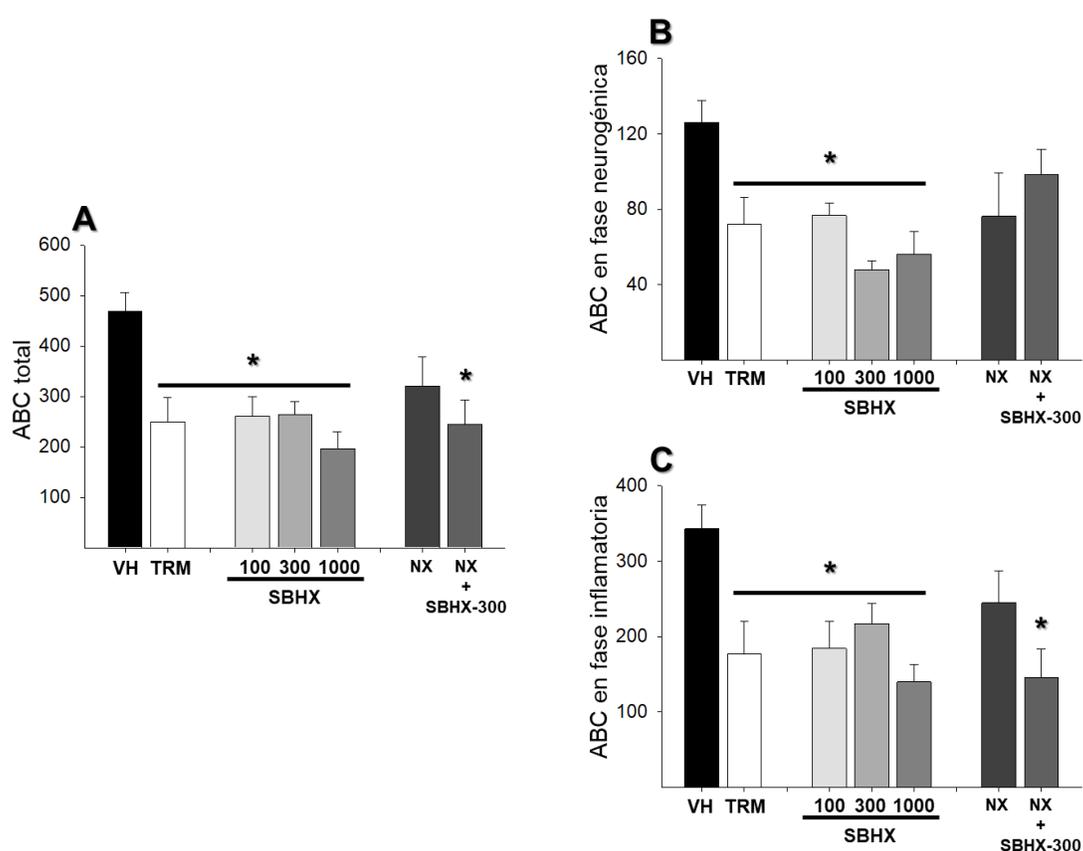


Figura 17. Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto hexánico de *B. excelsa* (SBHX 100, 300 y 1000 mg/Kg, i.p.) en comparación con el vehículo (VH) y el fármaco de referencia tramadol (TRM), así como en presencia del antagonista opioide naloxona (NX). Los datos se presentan como la media  $\pm$  EEM, n=6.

La descripción del área bajo la curva obtenida de los cursos temporales anteriores permitió observar las respuestas en la fase neurogénica e inflamatoria donde se observó una disminución en la respuesta dolorosa desde la dosis de 100 mg/Kg de SBHX tanto a nivel central como periférica con respecto al VH (*Figura 18.A*). La combinación del antagonista y el SBHX de 300 mg/Kg evitó el efecto antinociceptivo en la fase neurogénica (*Figura 18.B*), pero no en la fase inflamatoria (*Figura 18.C*).



*Figura 18.* Evaluación del efecto antinociceptivo del extracto hexánico de *B. excelsa* (SBHX 100, 300 y 1000 mg/Kg, i.p.) en comparación con el vehículo (VH) y el fármaco de referencia tramadol (TRM 17.2 mg/Kg), así como en presencia del antagonista opioide naloxona (NX) (**A**). En la fase neurogénica (**B**) y en la fase inflamatoria (**C**). Los datos se presentan como la media  $\pm$  EEM, n=6. \*p<0.05, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett.

## VI.5 Efecto de SBHX en las convulsiones inducidas por PTZ

El agente convulsivante PTZ produjo mioclonias ( $0.89 \pm 0.03$  min), crisis convulsiva generalizada ( $1.12 \pm 0.05$  min) y no se alcanzó el umbral para la presencia de crisis tónicas en el grupo control (VH) durante el tiempo de evaluación ( $30.00 \pm 0.00$  min). Los fármacos de referencia (ETX y DZP) retardaron significativamente la latencia al inicio de estas conductas y el tiempo entre la presencia de la primer mioclonia y la crisis generalizada también se incrementó ( $5.58 \pm 0.93$  min y  $5.60 \pm 2.15$  min) comparado con el VH ( $0.23 \pm 0.03$  min). Las diferentes dosis de SBHX no retardaron ni previnieron ninguna de las crisis convulsivas inducidas por PTZ. Por el contrario, éstas facilitaron la presencia de la crisis tónica aumentando la toxicidad del PTZ en cuanto a mortalidad (*Tabla 5*).

*Tabla 5.* Efecto del SBHX en las crisis convulsivas clónico-tónicas inducidas con PTZ (80 mg/Kg, i.p.) en ratones.

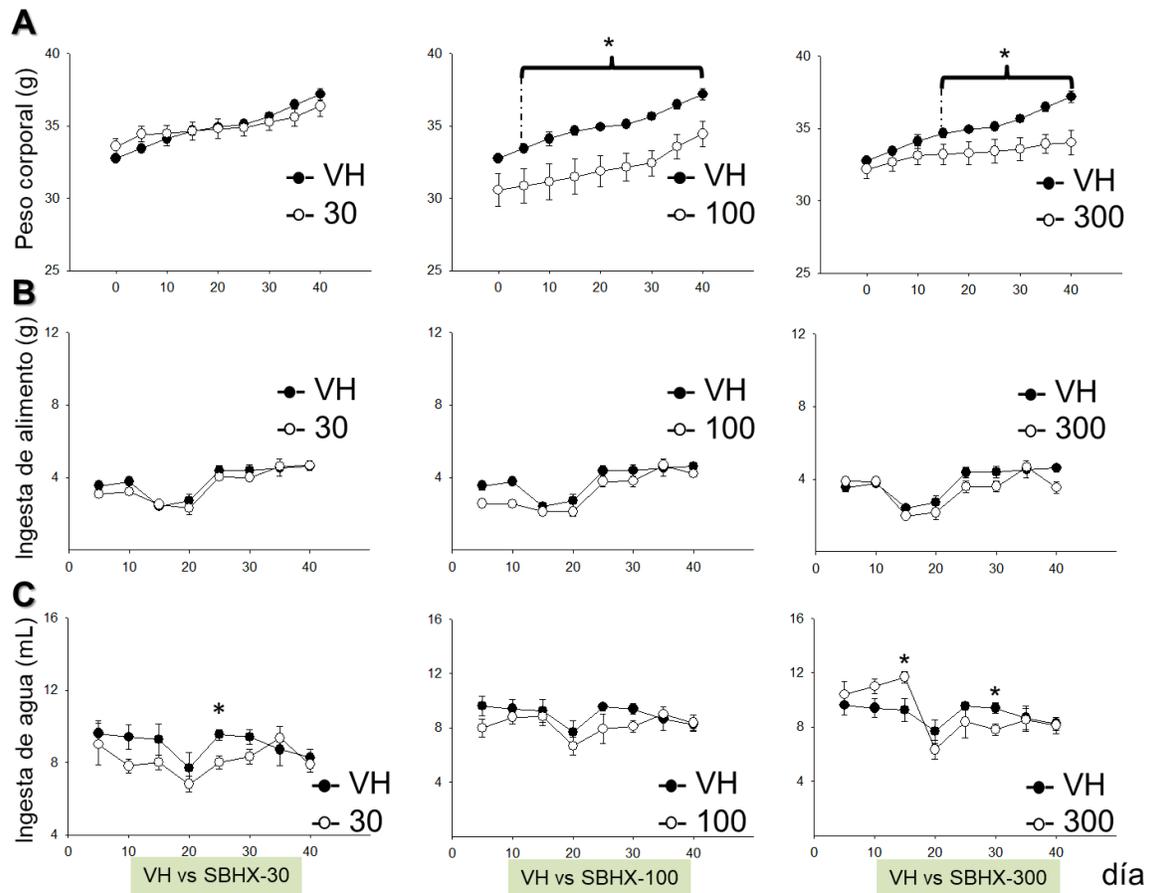
Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Latencia al inicio (min)			Tiempo entre crisis (min)		Mortalidad (%)
		Mioclonia	Generalizada	Tónica	M-G	G-T	
VH	-	$0.89 \pm 0.03$	$1.12 \pm 0.05$	$30.00 \pm 0.00$	$0.23 \pm 0.03$	-	0
DZP	1	$1.85 \pm 0.28^{\#}$	$18.68 \pm 5.09^*$	$30.00 \pm 0.00$	$5.58 \pm 0.93^*$	-	0
ETX	150	$6.60 \pm 1.38^*$	$30.00 \pm 0.00^{\#}$	$30.00 \pm 0.00^{\#}$	-	-	0
	30	$0.83 \pm 0.04$	$1.46 \pm 0.44$	$12.80 \pm 5.65^*$	$0.63 \pm 0.41$	$6.92 \pm 4.45$	40
SBHX	100	$0.86 \pm 0.06$	$1.11 \pm 0.15$	$15.58 \pm 4.69^{\#}$	$0.25 \pm 0.09$	$7.42 \pm 1.43$	33
	300	$0.89 \pm 0.07$	$1.24 \pm 0.13$	$18.12 \pm 5.44^{ns}$	$0.34 \pm 0.11$	$4.9 \pm 1.72$	50

Media  $\pm$  EEM. \* $p < 0.05$ , ANADEVVA seguida de la prueba de Dunnett.  $\#p < 0.05$ , t-Student. M-G: mioclonia-generalizada, G-T: generalizada-tónica.

## VI.6 Influencia de SBHX sobre el peso y consumo de agua y alimento

Los ratones administrados durante 40 días con SBHX, vía i.p, en las dosis de 100 y 300 mg/Kg disminuyeron su peso corporal con respecto al grupo VH, a partir del día

5 y 15, respectivamente (*Figura 19.A*). No se observaron cambios en la ingesta de alimento entre el VH y los tratamientos (*Figura 19.B*). Sin embargo, se obtuvieron diferencias significativas en la ingesta de agua en los días 15 y 30 para el grupo que recibió 300 mg/kg, y en el día 25 para el grupo 30 mg/kg (*Figura 19.C*).



*Figura 19.* Peso corporal (A), ingesta de alimento (B) y agua (C) de ratones administrados con vehículo (VH) y diferente dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EEM, n=5. \* $p < 0.05$ , ANADEVA seguida de la prueba de Dunnett.

## VI.7 Efecto del SBHX en el tejido adiposo gonadal

Los resultados del tejido adiposo gonadal de los tratamientos con SBHX (*Figura 20.D*) mostraron reducción en el peso en los tres grupos comparados con el VH ( $p < 0.05$ ) (*Figura 20.A*). Además, se redujo el porcentaje de grasa (%) en los grupos

100 y 300 con respecto al VH ( $p < 0.001$ ) (Figura 20.B) y el área del adipocito ( $\mu\text{m}^2$ ) también disminuyó con todos los tratamientos vs VH ( $p < 0.005$ ) (Figuras 20.C y 20.E).

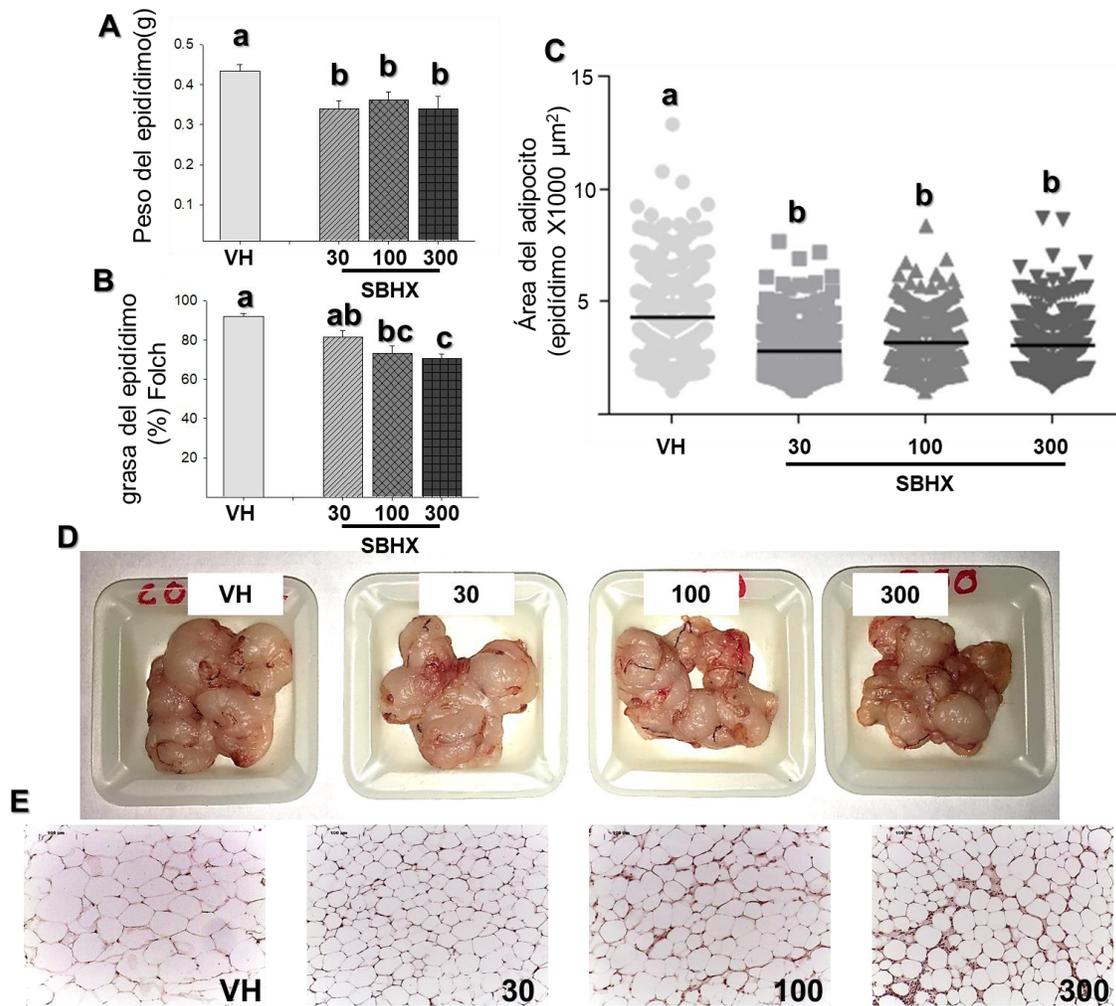


Figura 20. Peso del epidídimo (g) (A), porcentaje de grasa en el epidídimo (%) (B), área del adipocito ( $\times 1000 \mu\text{m}^2$ ). Los datos se expresan como la mediana de un campo de adipocitos obtenido a partir de 5 microfotografías por ratón ( $n=5$ ) (C). Fotos representativas de los epidídimos después de ser extraídos (D). Microfotografías representativas del tejido adiposo gonadal tomadas en microscopio de campo claro con aumento de 40x (E). Vehículo (VH) y dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa.  $p < 0.05$ , ANADEVIA seguida de la prueba de Tukey.

En cuanto a la distribución acumulada de la población de adipocitos del tejido adiposo gonadal (Figura 21) se encontró un desplazamiento hacia la izquierda de los grupos tratados con SBHX.

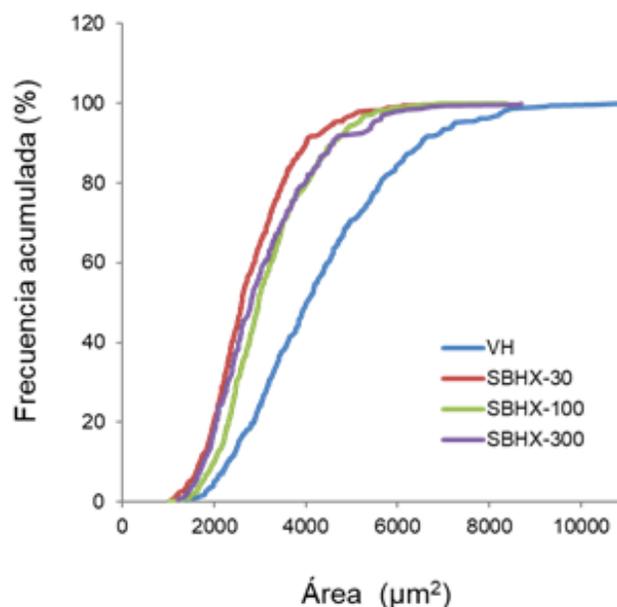


Figura 21. Frecuencia acumulada de la grasa gonadal de ratones macho administrados con vehículo (VH) y diferente dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg).

## VI.8 Efecto de SBHX en el tejido testicular

El peso del testículo no presentó cambios entre el grupo VH y los tratamientos con SBHX (Figura 22.A). El contenido de grasa (%) disminuyó en los grupos 30 ( $p < 0.01$ ) y 300 mg/kg ( $p < 0.001$ ) con respecto al VH (Figura 22.B). El área de los túbulos seminíferos del grupo con 100 mg/kg fue menor vs VH ( $p < 0.01$ ) (Figuras 22.C y 22.E) sin presentarse cambios en el número de túbulos por campo (Figura 22.D).

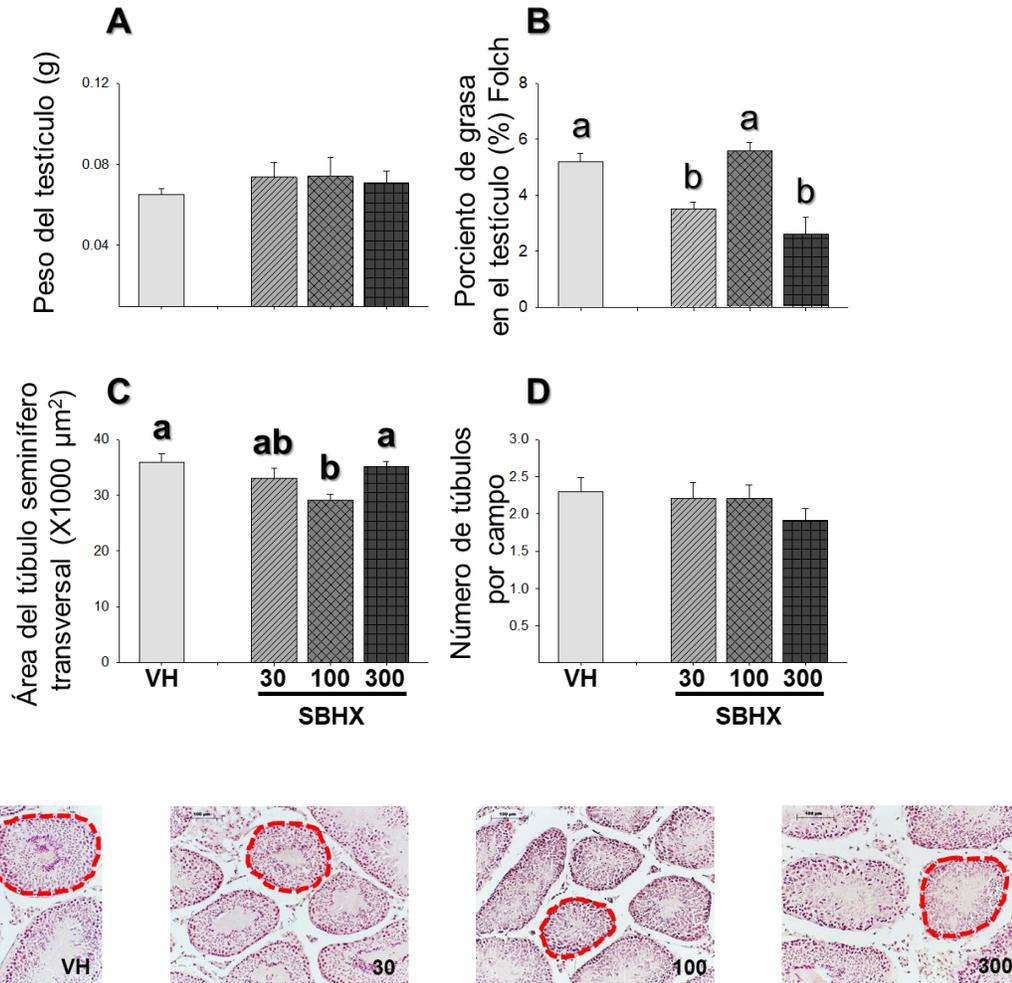


Figura 22. Peso del testículo (A); porcentaje de grasa en el testículo determinada por el método de Folch (B); área del túbulo seminífero ( $\times 1000 \mu\text{m}^2$ ) de corte transversal (C); número de túbulos por campo, 25 campos observados por tratamiento (D); microfotografías representativas de túbulos seminíferos tomadas en microscopio de campo claro con aumento de 40x (E). Vehículo (VH) y SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.). Se expresa media  $\pm$  EE,  $n=5$ . Letras minúsculas diferentes denotan diferencia significativa.  $p<0.05$ , ANADEVa seguida de la prueba de Tukey.

## VI.9 Efecto de SBHX en el tejido hepático

En el análisis correspondiente al hígado de los ratones que recibieron una administración diaria de SBHX en distinta dosis se observó que el peso del hígado se mantiene sin cambios en comparación con el grupo VH (Figura 23.A). Del mismo modo, el contenido de grasa (%) no presentó cambios en ninguna dosis al compararla con el grupo VH (Figura 23.B).

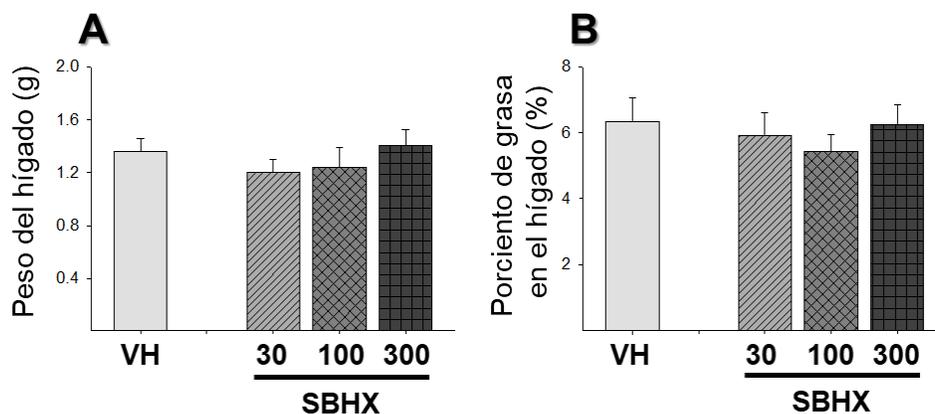


Figura 23. Peso y contenido de grasa del hígado de los ratones administrados con distintas dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg) y grupo vehículo (VH).

## VI.10 Efecto de SBHX sobre el perfil bioquímico

### VI.10.1 Triacilglicéridos

La cantidad de TGs determinados en epidídimo (Figura 24.A) y en hígado (Figura 24.C) disminuyeron significativamente en la dosis de 300 y de 30 mg/Kg, respectivamente respecto al VH. El contenido de TGs en el testículo no tuvo cambios significativos en las distintas dosis de SBHX comparadas con VH (Figura 24.B).

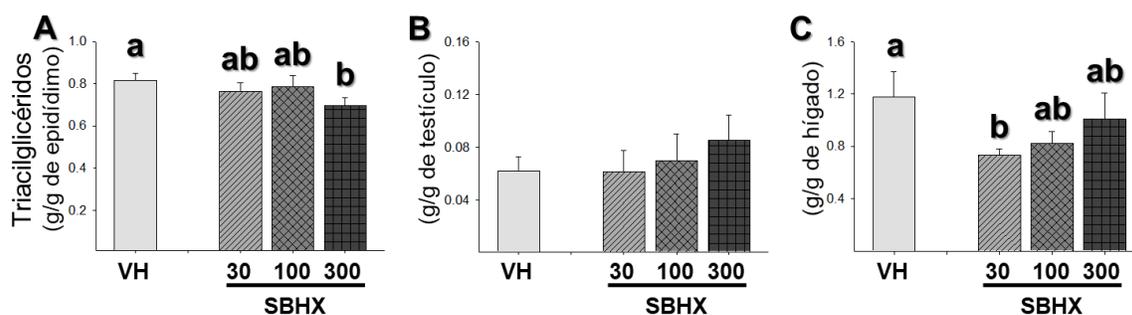
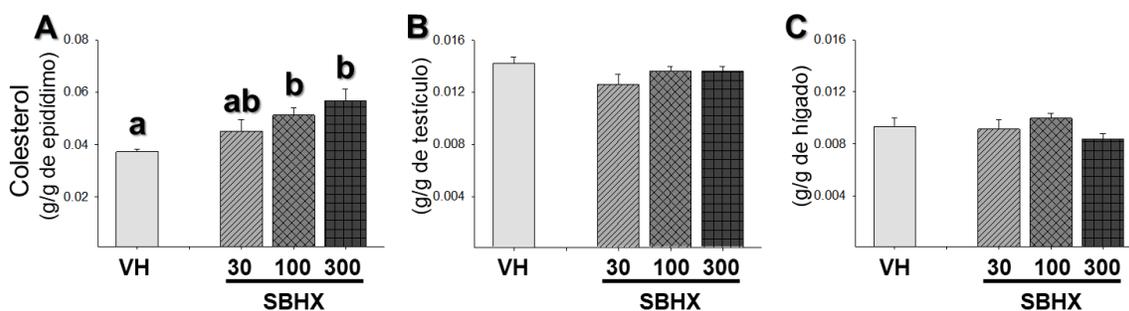


Figura 24. Triacilglicéridos (g/g de tejido) en epidídimo (A), testículo (B) e hígado (C) de ratones administrados con SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.) durante 40 días y vehículo (VH). Las letras diferentes denotan diferencia significativa.  $p < 0.05$ , ANADEVA seguida de la prueba de Tukey.

## VI.10.2 Colesterol

El CHOL determinado en hígado (*Figura 25.C*) y testículo (*Figura 25.B*) no mostró diferencias significativas en los grupos administrados con las distintas dosis de SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg) al ser comparadas con el grupo VH. En cambio, el CHOL presente en epidídimo (*Figura 25.A*) aumentó significativamente en las dosis de 100 y 300 mg/Kg con respecto al VH ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ , respectivamente).



*Figura 25.* Colesterol (g/g de tejido) en epidídimo (A), testículo (B) e hígado (C) de ratones administrados con SBHX (30, 100 y 300 mg/Kg, i.p.) durante 40 días y vehículo (VH). Las letras minúsculas diferentes denotan diferencia significativa.  $p < 0.05$ , ANADEVa seguida de la prueba de Tukey.

## VII. DISCUSIÓN

En este proyecto se evaluó el perfil neurofarmacológico de la semilla *B. excelsa* con la finalidad de conocer sus efectos benéficos y/o adversos sobre el SNC. En general, es una semilla a la que se le atribuyen diversos efectos biológicos y nutricionales (Yang, 2009; Cardoso *et al.*, 2017). En México, esta semilla se ha consumido en gran demanda como remedio para bajar de peso y resulta interesante el hecho de que las personas afirman que al consumirla les genera tranquilidad y les reduce las ganas de comer de manera compulsiva, además de disminuir su talla y peso. Sin embargo, datos preclínicos o clínicos que corroboren estos hechos son escasos en la literatura científica.

Por lo anterior, en este trabajo de tesis se obtienen evidencias de la eficacia de esta semilla sobre la conducta tipo ansiedad en donde al ser un posible depresor del SNC se exploró de manera preliminar su actividad como analgésico y/o anticonvulsivo en un perfil neurofarmacológico. Además, sus efectos sobre la pérdida de peso y su influencia en el metabolismo de lípidos se exploraron en ratones con dieta hipercalórica. Adicionalmente se evaluó su posible toxicidad mediante administración aguda y crónica; así como sus efectos en el hígado, testículo y tejido adiposo gonadal, ya que se ha reportado que el sobrepeso y la obesidad se relacionan con alteraciones en el SNC y en padecimientos del sistema reproductivo (Arteaga, 2012).

Al conocer que las semillas son en general de consistencia grasa se inició con la preparación de un extracto de naturaleza no polar como el hexánico, el cual permite la extracción de componentes no polares o ácidos grasos que son en su mayoría principales en la composición de la semilla en estudio. De esta manera, el SBHX se pudo administrar a los ratones para conocer sus efectos. El rendimiento promedio que se obtuvo del extracto no polar fue del 57%, mientras que también se obtuvo un extracto polar cuyo rendimiento fue del 12%. Cabe señalar que estos valores variaron en función del número de extracciones realizadas con el disolvente hexano, ya que en el primer lote procesado solo se hicieron dos extracciones con el

disolvente, mientras que en otros lotes se realizaron 3 extracciones. Con respecto al rendimiento del aceite, Yang (2009) menciona que el contenido explorado en esta especie está entre el 60-70%, el cual fue equivalente a lo obtenido en nuestro estudio.

La evaluación de la toxicidad aguda como DL<sub>50</sub> indicó un valor mayor a 2000 mg/Kg clasificándola como nivel 5 o de toxicidad mínima (OECD, 2001). A partir de este dato, el SBHX se consideró para la evaluación neurofarmacológica probando diferentes dosis en los animales. Esto con el fin de evidenciar su potencial efecto depresor del SNC. Posteriormente se trabajó con los animales en una administración crónica que al finalizar permitió la obtención de los tejidos de interés y su procesamiento para la determinación del perfil bioquímico de lípidos.

El dato obtenido sobre la toxicidad aguda es importante, ya que *Bertholletia excelsa* se confunde con otras semillas denominadas también “semilla de Brasil” de las que sí se ha reportado toxicidad, tales como *Thevetia peruviana* (Aguilar-García & Maycotte-Luna, 2013; González-Stuart & Ortiz Rivera, 2018) que de acuerdo con un estudio de toxicidad oral aguda de esta semilla en ratones se obtuvo una DL<sub>50</sub> de 447 mg/Kg, además de producir taquipnea, hipotermia severa, relajación muscular, convulsiones generalizadas y muerte (Martínez-Enríquez *et al.*, 2002) y *Aleurites moluccanus* (Orellana-Cuéllar *et al.*, 2014).

De los tres ensayos para evaluar efecto tipo ansiolítico, la prueba de campo abierto nos permitió evaluar la actividad exploradora de los ratones como conducta tipo ansiedad. Nuestros datos mostraron significancia no dependiente de las dosis de SBHX. Cabe señalar que la respuesta fue más homogénea cuando se evaluó en hembras en comparación con la respuesta en machos. Esto es importante en el sentido de que se sabe que la incidencia de la ansiedad es mayor en mujeres en comparación con los hombres en una proporción de 2 a 1 (Caraveo-Anduaga *et al.*, 1999). Para reforzar el efecto tipo ansiolítico del SBHX se realizó además la prueba del tablero con orificios, en la cual se confirmó disminución significativa en el número de orificios explorados, y por lo tanto una actividad tranquilizante en los ratones.

Finalmente se incluyó el ensayo de la prueba de cruz elevada, en ésta se obtuvo que los ratones que recibieron el SBHX presentaron tendencia a pasar más tiempo en los brazos abiertos. Esta última prueba se reconoce como una herramienta ideal para la evaluación de sustancias con actividad ansiolítica, donde se utilizan ya sea ratones o ratas que debido a su naturaleza exploradora les permite decidir por permanecer y preferir los lugares cerrados a los espacios abiertos y elevados que se representan en el plus-maze o cruz elevada. Para demostrar si la conducta ansiolítica se asocia con sedación, en esta prueba se registró también el número de cruces entre brazos abiertos y cerrados que realizan los roedores. Si este valor es pequeño en comparación con el control, entonces refiere sedación. Por el contrario, un roedor con efecto ansiolítico explorará más ambos brazos, tanto cerrados como abiertos, y permanecerá preferentemente en los abiertos (Lister, 1987). En nuestro estudio hubo un aumento significativo en el tiempo de permanencia en brazos abiertos confirmando un efecto ansiolítico y, por otro lado, el número de cruces entre brazos disminuyó de manera significativa para la dosis de 30 mg/Kg sugiriendo su posible efecto sedante que se evitó al aumentar la dosis.

Para complementar el espectro depresor del SNC del SBHX, en este perfil neurofarmacológico se realizaron pruebas de sedación, nociceptiva y de crisis convulsivas. Con ellos se confirmó efecto de tipo tranquilizante y además analgésico en el dolor nociceptivo inducido en la prueba de la formalina, el cual fue significativo desde la dosis de 100 mg/Kg, tanto a nivel central en la fase neurogénica como a nivel periférico en la fase inflamatoria. La presencia de NX como antagonista de receptores inhibitorios de tipo opioide previno la respuesta tipo analgésica del extracto en la fase neurogénica sugiriendo la participación de éstos en el efecto central de SBHX.

Adicionalmente, la administración del SBHX en combinación con un agente convulsivante como el PTZ (bloqueador del sitio alostérico del receptor GABA<sub>A</sub>) promovió la facilitación sobre las crisis tónicas inducidas por este antagonista no competitivo del principal aminoácido inhibidor del SNC (Swinyard *et al.*, 1989). Lo anterior en conjunto indica que efectivamente hay componentes de *B. excelsa* que

actúan a nivel del SNC con efectos inhibidores, en parte asociados al sistema de neurotransmisión GABAérgica y de opioides. Respecto al sistema GABAérgico, la combinación de SBHX (3 y 10 mg/kg) con el sedante-hipnótico pentobarbital sódico promovió la potenciación de la duración de la hipnosis en los ratones reforzando su interacción en el receptor GABA<sub>A</sub>. se sabe que sustancias que actúan como agonistas alostéricos del receptor GABA pueden potenciar las acción depresora de este aminoácido inhibidor (Sieghart, 2015).

Si bien es cierto que los datos observados en modelos experimentales no se pueden extrapolar en su totalidad a lo que sucede en los humanos, éstos son una herramienta fundamental para comprender diferentes procesos fisiopatológicos que pueden padecer los humanos, así como en la búsqueda de nuevos fármacos comparando su eficacia y presencia de los efectos adversos con los ya comercializados. En este sentido, se busca asociar conductas propias de la biología animal que responden de forma similar como conducta análoga en el ser humano. Tal ha sido el caso para estudios sobre el miedo y la ansiedad (Rohra & Qazi, 2008). Por lo que se asume que en los humanos la ansiedad es equivalente a la respuesta de miedo en los animales (Cruz-Morales *et al.*, 2003). Así como la respuesta ante un estímulo nocivo como el dolor o la generación de actividad paroxística como sucede en las convulsiones.

El hallazgo sobre el efecto ansiolítico de *B. excelsa* es relevante de considerar para el tratamiento del sobrepeso y obesidad por dos importantes razones: la primera basada en que el sobrepeso y obesidad constituye un síndrome con una alta prevalencia de comorbilidad psiquiátrica tal como los trastornos de ansiedad, depresión, conductas adictivas, trastornos de alimentación, entre otros. Es considerada como uno de los principales “estigmas sociales” que desencadena en alteraciones psicológicas que aumentan *per se* la ansiedad, afectando la calidad de vida del individuo (Seijas & Feuchtmann, 2018). Se ha reportado que existe un aumento de aproximadamente un 25% de probabilidad de desarrollar trastornos del estado del ánimo y ansiedad en personas con sobrepeso y obesidad, asociado

también a la gravedad de la enfermedad que crece a la par del IMC (Scott *et al.*, 2008; Baker *et al.*, 2017).

En segundo término, los medicamentos aprobados para el sobrepeso y obesidad se enfocan principalmente a la pérdida de peso y de acuerdo con Londoño-Lemos (2012) menciona que: “*el doctor Jason Halford, líder en obesidad y apetito de la Universidad de Liverpool precisa que los fabricantes de medicamentos anti-obesidad se enfocan sobre todo en la pérdida de peso como su principal objetivo y no toman en cuenta los factores motivacionales y comportamientos mentales que comúnmente causan la obesidad*” (Londoño-Lemos, 2012). Muchos medicamentos tienen como efecto adverso la propiedad de ser algunas veces ansiogénicos, por ejemplo: fentermina/topiramato y naltrexona/bupropión (Garvey *et al.*, 2016), aumentando aún más la probabilidad de presentarse esta comorbilidad y con ello la interacción medicamentosa que complica el tratamiento.

Como se había planteado anteriormente, los modelos experimentales en animales tratan de considerar tanto los efectos fisiopatológicos que existen en un padecimiento en el humano mediante las conductas de los animales, estableciendo así bases para una mayor confiabilidad en la eficacia y seguridad de los fármacos. Por lo que el efecto tipo ansiolítico de la semilla de *B. excelsa* podría servir como adyuvante en el tratamiento del sobrepeso y la obesidad. No obstante, ya que en los resultados se observó significancia estadística en la potenciación del sueño inducido con el sedante-hipnótico pentobarbital sódico, es importante no combinar alternativas de terapéutica que, si bien por una parte podrían aumentar la propiedad tranquilizante, por otra parte, podrían potenciar los efectos depresores del SNC generando posible toxicidad en su combinación con otros depresores.

Con respecto a los efectos producidos con la administración repetida del SBHX sobre el peso corporal y la ingesta de agua y alimento se encontró que reducción en el peso corporal sin que exista alteración en la ingesta de agua y de alimento. Es importante recordar que la bebida rica en carbohidratos se utilizó en el diseño experimental para generar el aumento de peso. Lo anterior basados en que se sabe que los niveles altos de sacarosa promueven, a partir de la fructosa la producción

de triacilglicerol y por ende el aumento en los niveles de ácidos grasos (Ayala *et al.*, 2008). Con lo anterior, se obtuvo que los ratones que recibieron el VH estuvieron por arriba del peso corporal de los tratados con SBHX sugiriendo un efecto positivo de la semilla de *B. excelsa* sobre la movilización de lípidos para la pérdida de peso.

Se ha reportado que la pérdida de peso en pacientes con sobrepeso y obesidad es eficaz no sólo para disminuir el exceso de grasa sino que también mejora las comorbilidades asociadas a ella, ya que por ejemplo, la pérdida modesta de peso puede mejorar el control glucémico, reducir la presión arterial, y reducir los niveles de CHOL, además de aumentar la longevidad en individuos con obesidad (Goldstein, 1992). Al observar la disminución en la ganancia de peso que produce la semilla de *B. excelsa* se tuvo el interés de evaluar también sus efectos sobre la grasa del sistema reproductivo (tejido adiposo gonadal y testículo) y la función del hígado, por ser el principal tejido implicado en el metabolismo de lípidos. De manera interesante, el tejido adiposo gonadal presentó cambios tanto a nivel celular como en sus parámetros bioquímicos, destacando que la disminución de peso estuvo asociada a la pérdida de grasa y de TG que se correlaciona con la disminución del tamaño de los adipocitos en estos tejidos.

Si bien no se realizaron estudios fitoquímicos en esta etapa del estudio, es importante mencionar que ya se han descrito la naturaleza y composición de éstos en la literatura. Por lo anterior, los efectos sobre la conducta y los cambios bioquímicos que se encontraron tras la administración de SBHX en los ratones se podrían asociar a los diferentes componentes que contiene la semilla *B. excelsa* como se explica a continuación.

Con respecto al efecto tipo ansiolítico observado, se ha reportado que ácidos grasos promueven la reducción de los comportamientos de tipo ansiedad en ratas jóvenes asociado en parte al mecanismo molecular del receptor GABA<sub>A</sub> (Bernal-Morales *et al.*, 2017). En particular, el SBHX contiene terpenos como  $\beta$ -sitosterol, el cual se ha probado de manera individual demostrando su efecto tipo ansiolítico (Aguirre-Hernández *et al.*, 2007).

Recientemente, la asociación de obesidad con respuestas de tipo ansiolítico se reportó en ratones INK-ATTAC. En este estudio se eliminaron las células senescentes que expresan p16Ink4a en cerebros de estos ratones como lo observado en los medicamentos senolíticos dasatinib y quercetina. Se encontró que la obesidad provoca acumulación de células gliales senescentes en la proximidad del ventrículo lateral. Estas células presentaron mayor cantidad de grasa en ratones con obesidad y al eliminarse dichas células se restauró la neurogénesis y se inhibió el comportamiento relacionado con la ansiedad. Se concluyó que las células senescentes son contribuyentes a la ansiedad inducida por la obesidad y que los senolíticos podrían ser una nueva vía terapéutica con potencial para tratar los trastornos neuropsiquiátricos (Ogrodnik *et al.*, 2019).

En cuanto a nuestro estudio, la reducción de la grasa influyó la disminución en el peso corporal. Se ha reportado que el ácido linoleico (18:2  $\omega$ -6) es el ácido graso polinsaturado más abundante (43%) en la semilla de *B. excelsa* (Yang, 2009) y comprobado en este trabajo (*Anexo 1*), el cual proporciona a este aceite algunas características dietéticas interesantes (Chunhieng *et al.*, 2008). Éste en conjunto con sus isómeros produce efectos como anti-inflamatorio, anti-carcinogénico y estimulador del sistema inmune (Viladomiu *et al.*, 2016). En cuanto al problema que nos enfocamos del sobrepeso y la obesidad, el ácido linoleico se ha asociado con una acción reductora sobre la grasa corporal, ya que se considera que disminuye la incorporación de lípidos en diferentes tejidos, en especial, el adiposo (Shen *et al.*, 2013). En este sentido, se ha reportado la inhibición de la proliferación y el retardo en la agrupación de células adiposas (3T3-L1) debido a la reducción de los niveles del PPAR $\gamma$ -2, un receptor nuclear que regula la formación del tejido adiposo (Kliwer *et al.*, 1997; Wahli *et al.*, 1999).

En el caso de la vitamina E y los compuestos fenólicos que contiene la semilla de *B. excelsa*, éstos le dan un valor como antioxidante y se ha demostrado que disminuyen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares debido a la inhibición de la oxidación del CHOL de baja densidad (c-LDL) (Meydani, 2000a; Meydani, 2000b; Yang, 2009). Además, la vitamina E protege a lipoproteínas, ácidos

grasos poliinsaturados, membranas celulares e intracelulares de los daños que pueden sufrir (Raederstorff *et al.*, 2015) evitando así el estrés oxidante, el cual juega un papel importante en la patogenia del sobrepeso y obesidad. Se sabe que el estrés oxidante puede aumentar la deposición de preadipocitos, la diferenciación de los adipocitos y el tamaño de los adipocitos maduros (Manna & Jain, 2015). El contenido de ácido linoleico y los tocoferoles contenidos en el SBHX podrían participar en conjunto para evitar el estrés oxidante y regular los niveles de adipocitos.

Se sabe que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) inhiben la lipogénesis mediante la disminución de la cantidad de factores de transcripción (por ej. SREBP-1c activa) que regulan la síntesis de AG, TG y fosfolípidos (Yahagi *et al.*, 1999; Shimano, 2000). Además, los AGPI  $\omega$ -3 también participan aumentando la expresión de PPAR- $\alpha$  favoreciendo oxidación de AG y estimulando la actividad de lipoproteínlipasa (LPL) que desencadena una mayor depuración de VLDL, así como una disminución en la producción de VLDL que da como resultado la reducción de los TG (*Figura 26*) (Ros, 2007). De acuerdo con lo observado en nuestros resultados con el SBHX, es posible que en la reducción en la masa de adipocitos se encuentren participando parte de estos mecanismos que será interesante explorar en futuros estudios.

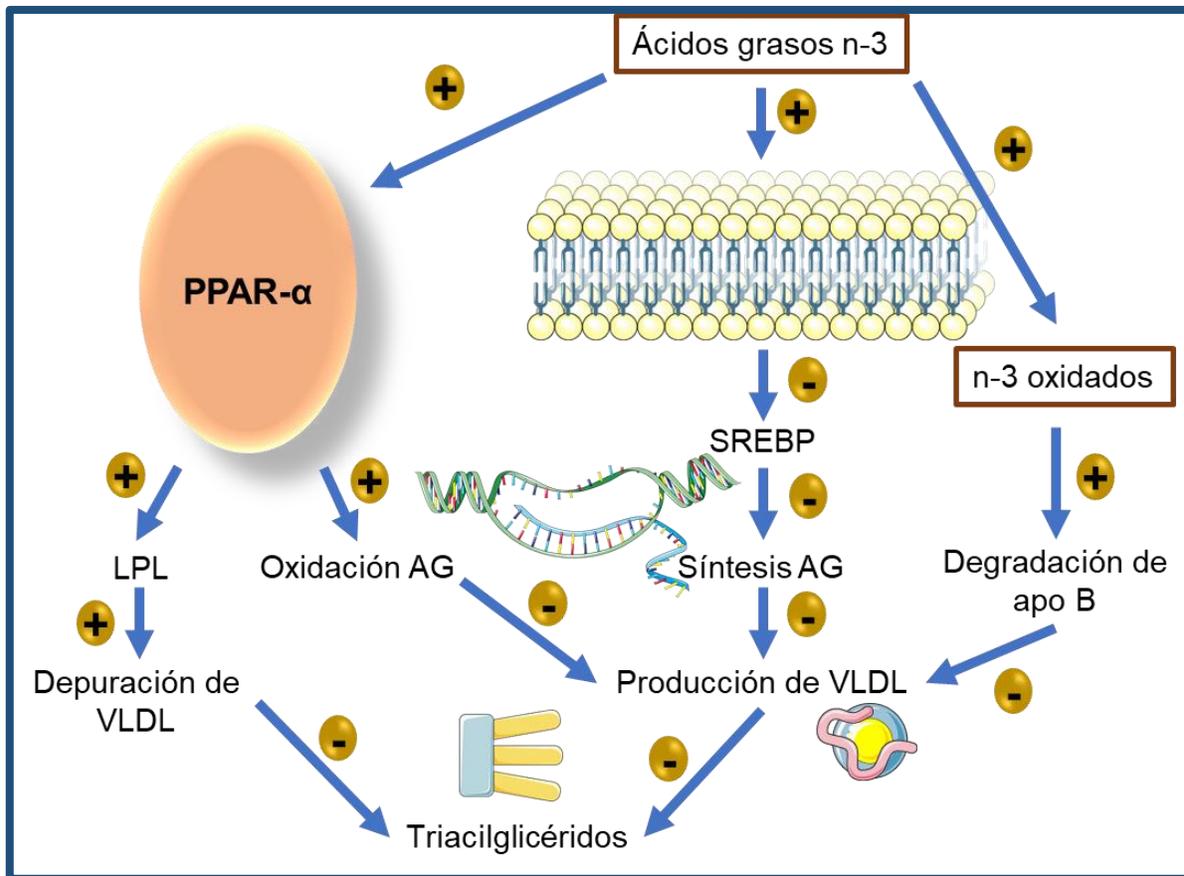


Figura 26. Esquema de los mecanismos moleculares por los que los ácidos grasos (AG) n-3 reducen los triglicéridos circulantes. Imagen tomada de Ros (2007).

Por su parte los fitoesteroles están asociados a un efecto reductor de CHOL mediante 3 mecanismos complementarios. El primero evita la absorción del CHOL dietético debida a la competencia de los fitoesteroles por ser absorbidos a nivel intestinal; el segundo inhibe la acil-CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT) por lo que el CHOL no puede ser esterificado para ser almacenado y por último, aumenta el eflujo de CHOL no esterificado hacia el intestino mediante la estimulación del transportador ABC (Figura 27) (Valenzuela & Ronco, 2004). En este sentido, los resultados obtenidos en el tejido gonadal con respecto al aumento de CHOL podrían ser apoyados y explicados en parte por estos mecanismos.

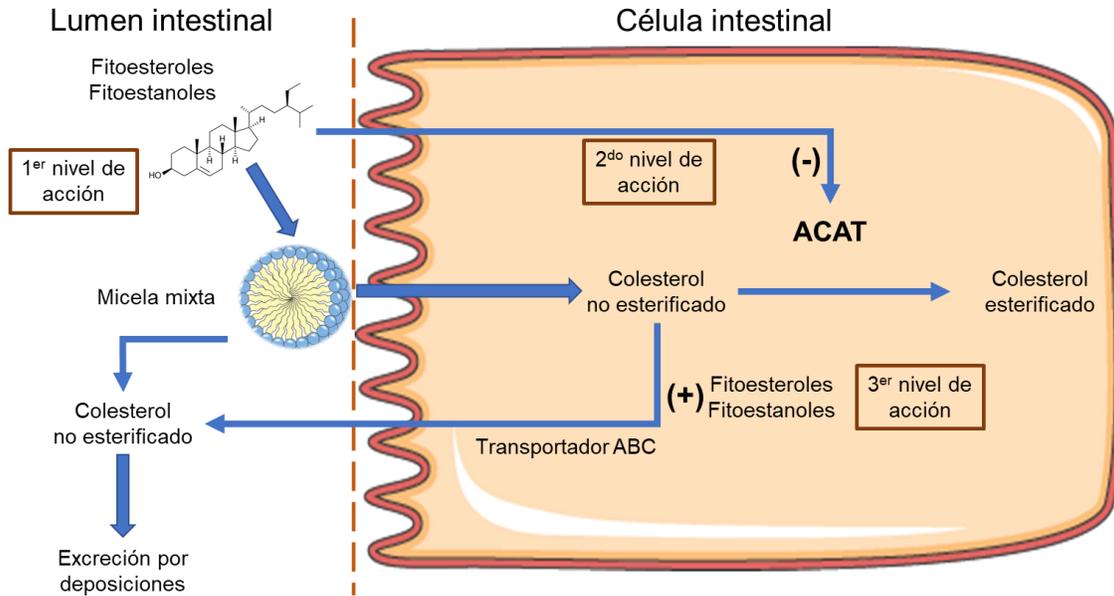


Figura 27. Niveles de acción de los fitoesteroles en la absorción, esterificación y eflujo del colesterol. Imagen modificada de Valenzuela & Ronco (2004).

Es importante mencionar que nuestros resultados asociados a la alteración en el metabolismo de lípidos de la semilla de *B. excelsa* también se relacionan con estudios clínicos; por ejemplo, una investigación en mujeres brasileñas adolescentes obesas (n=17) reportó que el consumo de esta semilla mejoró el perfil de lípidos y la función de la microvasculatura asociada a su alto nivel de ácidos grasos insaturados y otras posibles sustancias bioactivas (Maranhao *et al.*, 2011). Otro estudio reportó que también mejora el perfil lipídico en voluntarios sanos al consumir altas cantidades (20-50 g) de la semilla *B. excelsa* en una sola dosis sin presentarse modificaciones en los parámetros bioquímicos de la función hepática y renal (Colpo *et al.*, 2014). En un estudio controlado de pacientes con hipercolesterolemia que consumieron harina desengrasada de la semilla de *B. excelsa* mostró una reducción del CHOL sérico (Carvalho *et al.*, 2015).

## VIII. CONCLUSIÓN

El perfil neurofarmacológico del extracto hexánico de la semilla de *B. excelsa* muestra que ésta produce efectos de tipo ansiolítico, sedante y analgésico y disminuye el peso de ratones asociado a la pérdida de grasa sin modificar su ingesta de alimento y agua en dieta hipercalórica. Lo anterior da evidencia de los efectos atribuidos a la semilla de *B. excelsa* para su consumo humano en el control del sobrepeso. No se observaron efectos de toxicidad en ninguna de las dosis evaluadas, aunque si se observó que potenció el efecto hipnótico del pentobarbital y facilitó las crisis tónicas en presencia del agente convulsivo pentilentetrazol. Por lo que es necesario realizar aún más estudios sobre su eficacia y seguridad, así como el establecer regulación en su uso.

## IX. PERSPECTIVAS

Partiendo de los resultados obtenidos de este trabajo se proponen los siguientes estudios para su seguimiento:

- ✦ Analizar los componentes de SBHX e identificar aquellos que tengan acción biológica para su posterior aislamiento y dilucidación, así como la búsqueda del mecanismo de acción tales como la expresión de SREBP-1c, PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$  y LPL asociados al metabolismo de lípidos.
- ✦ Evaluar los efectos de SBHX sobre modelos con obesidad en ratones
- ✦ Evaluar los efectos de los componentes del extracto polar de *B. excelsa*.

## X. REFERENCIAS

- Aguilar-García, C. R., Maycotte Luna, Z. (2013). Intoxicación por *Thevetia peruviana* (hueso o codo de fraile). Presentación de un caso. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int*, **27**(4): 245-248.
- Aguirre-Hernández, E., Rosas-Acevedo, H., Soto-Hernández, M., Martínez, A. L., Moreno, J., González-Trujano, M. E. (2007). Bioactivity-guided isolation of beta-sitosterol and some fatty acids as active compounds in the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* var. *mexicana*. *Planta Med*, **73**(11): 1148-1155.
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Zapata-Morales, J. R., Carranza-Álvarez, C. (2015). Plants used in the traditional medicine of Mesoamerica (Mexico and Central America) and the Caribbean for the treatment of obesity. *J Ethnopharmacol*, **175**: 335-345.
- Alonso-Castro, A. J., Ruiz-Padilla, A. J., Ramírez-Morales, M. A., Alcocer-García, S. G., Ruiz-Noa, Y., Ibarra-Reynoso, L. R., Solorio-Alvarado, C. R., Zapata-Morales, J. R., Mendoza-Macias, C. L., Deveze-Álvarez, M. A., Alba-Betancourt, C. (2019). Self-treatment with herbal products for weight-loss among overweight and obese subjects from central Mexico. *J Ethnopharmacol*, **234**: 21-26.
- Anselmo, N. A., Paskakulis, L. C., Garcias, R. C., Botelho, F. F. R., Toledo, G. Q., Cury, M. F. R., Carvalho, N. Z., Mendes, G. E. F., Iembo, T., Bizotto, T. S. G., Cury, P. M., Chies, A. B., Carlos, C. P. (2018). Prior intake of Brazil nuts attenuates renal injury induced by ischemia and reperfusion. *J Bras Nefrol*, **40**(1): 10-17.
- Arteaga, A. (2012). Overweight and obesity as an universal health problem. *Rev Med Clin Condes*, **23**(2): 145-153.
- Atlantis, E., Goldney, R. D., Wittert, G. A. (2009). Obesity and depression or anxiety. *BMJ*, **339**: b3868.
- Augustyn, A., Bauer, P., Duignan, B., Eldridge, A., Gregersen, E., Luebering, J. E., McKenna, A., Petruzzello, M., Rafferty, J. P., Ray, M., Rogers, K., Tikkanen, A., Wallenfeldt, J., Zeidan, A., Zelazko, A. (2014). Brazil nut. *Encyclopaedia Britannica*.
- Ávila, M. H., Dommarco, J. R., Levy, T. S., Nasu, L. C., Acosta, L. M. G., Pineda, E. B. G., Martínez, M. R., Gómez-Humarán, I. M., Hernández, P. S., Hernández, S. V., Gutiérrez, J. P., Arcos, M. A. Á., López, E. R. M., Domínguez, J. M., López, D. E. G. (2016). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016*. Secretaria de Salud, México.
- Ayala, I., Cámara, P., Fernández-Pardo, J., Flores, I., Cascales, A. I., Gutiérrez, C., Valdés, M., Castells, M. T., García Pérez, B. (2008). Experimental animal models of fatty liver disease and metabolic syndrome. *An Vet Murcia*, **24**: 5-16.
- Baker, K. D., Loughman, A., Spencer, S. J., Reichelt, A. C. (2017). The impact of obesity and hypercaloric diet consumption on anxiety and emotional behavior across the lifespan. *Neurosci Biobehav Rev*, **83**: 173-182.

- Bansal, A. S., Chee, R., Nagendran, V., Warner, A., Hayman, G. (2007). Dangerous liaison: sexually transmitted allergic reaction to Brazil nuts. *J Investig Allergol Clin Immunol*, **17**(3): 189-191.
- Baxendale, S., McGrath, K., Donnachie, E., Wintle, S., Thompson, P., Heaney, D. (2015). The role of obesity in cognitive dysfunction in people with epilepsy. *Epilepsy Behav*, **45**: 187-190.
- Bernal-Morales, B., Cueto-Escobedo, J., Guillen-Ruiz, G., Rodriguez-Landa, J. F., Contreras, C. M. (2017). A fatty acids mixture reduces anxiety-like behaviors in infant rats mediated by GABA<sub>A</sub> receptors. *Biomed Res Int*, **2017**: 8798546.
- Bersh, S. (2006). La obesidad: aspectos psicológicos y conductuales. *Rev Colomb Psiquiatr*, **35**(4): 537-546.
- Callisaya-A., J. C., Alvarado-K., J. A. (2016). Total phenol contents and antioxidant capacity of *Bertholletia excelsa*, amazonian almonds from Bolivia. *Bolivian Journal of Chemistry*, **33**(1): 34-42.
- Caraveo-Anduaga, J. J., Colmenares, E., Saldívar, G. J. (1999). Psychiatric morbidity in Mexico City: prevalence and comorbidity during life time. *Salud Mental*, **22**(Esp): 62-67.
- Cárdenas-Rodríguez, N., González-Trujano, M. E., Aguirre-Hernández, E., Ruíz-García, M., Sampieri, A., Coballase-Urrutia, E., Carmona-Aparicio, L. (2014). Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var. *mexicana* and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. *Oxid Med Cell Longev*, **2014**: 329172.
- Cardoso, B. R., Duarte, G. B. S., Reis, B. Z., Cozzolino, S. M. F. (2017). Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Res Int*, **100**(Pt 2): 9-18.
- Carrasco, N. F., Manrique, M., de la Maza, M. P., Moreno, M., Albala, C., Garcia, J., Diaz, J., Liberman, C. (2009). Statement about the medical and surgical treatment of overweight and obesity. *Rev Med Chil*, **137**(7): 972-981.
- Carvalho, R. F., Huguenin, G. V., Luiz, R. R., Moreira, A. S., Oliveira, G. M., Rosa, G. (2015). Intake of partially defatted Brazil nut flour reduces serum cholesterol in hypercholesterolemic patients: a randomized controlled trial. *Nutr J*, **14**: 59.
- Casazza, K., Brown, A., Astrup, A., Bertz, F., Baum, C., Brown, M. B., Dawson, J., Durant, N., Dutton, G., Fields, D. A., Fontaine, K. R., Heymsfield, S., Levitsky, D., Mehta, T., Menachemi, N., Newby, P. K., Pate, R., Raynor, H., Rolls, B. J., Sen, B., Smith, D. L., Jr., Thomas, D., Wansink, B., Allison, D. B. (2015). Weighing the evidence of common beliefs in obesity research. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **55**(14): 2014-2053.
- Colpo, E., Dalton, D. A. V. C., Reetz, L. G., Duarte, M. M., Farias, I. L., Meinerz, D. F., Mariano, D. O., Vendrusculo, R. G., Boligon, A. A., Dalla Corte, C. L., Wagner, R., Athayde, M. L., da Rocha, J. B. (2014). Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. *Nutrition*, **30**(4): 459-465.
- Cooper, L., Eells, L., Ryan, C., Martin, D. (2018). Perceptions of adults with overweight/obesity and chronic musculoskeletal pain: An interpretative phenomenological analysis. *J Clin Nurs*, **27**(5-6): 776-786.

- Cruz-Morales, S. E., González-Reyes, M. R., Gómez-Romero, J., Arriaga, J. C. (2003). Modelos de ansiedad. *Rev Mex Anál Conducta* **28**(1): 93-105.
- Chang, J. C., Gutenmann, W. H., Reid, C. M., Lisk, D. J. (1995). Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. *Chemosphere*, **30**(4): 801-802.
- Chiprut, R., Castellanos-Urdaibay, A., Sánchez-Hernández, C., Martínez-García, D., Elena-Cortez, M., Chiprut, R., Del Conde Ovadia, P. (2001). Obesity in the 21st century. Progress in etiopathogenesis and treatment. *Gac Med Mex*, **137**(4): 323-334.
- Chunhieng, T., Hafidi, A., Pioch, D., Brochier, J., Montet, D. (2008). Detailed study of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil micro-compounds: phospholipids, tocopherols and sterols. *J Braz Chem Soc*, **19**(7): 1374-1380.
- Daza, C. H. (2002). La obesidad: un desorden metabólico de alto riesgo para la salud. *Colomb Med*, **33**(2): 72-80.
- De Ferranti, S., Mozaffarian, D. (2009). La tormenta perfecta: obesidad, disfunción del adipocito y consecuencias metabólicas. *Clin Chem*, **34**(2): 95-108.
- De la Rosa Torres, C., López, D. J. P., Martínez, M. E. T., Vizcaíno, R. L. M. (2005). Estudio fitoquímico preliminar y actividad biológica de los extractos de hojas, cortezas y semillas de *Thevetia peruviana* (Persoon) K. Schum. *Rev Dugandia, Ciencias Básicas, Uniatlántico*, **1**(1): 119-127.
- Dhurandhar, E. J., Keith, S. W. (2014). The aetiology of obesity beyond eating more and exercising less. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, **28**(4): 533-544.
- Díaz, M. (2005). Presente y futuro del tratamiento farmacológico de la obesidad. *Rev Argent Cardiol*, **73**(2): 137-144.
- El Salam, M. A. A. (2018). Obesity, an enemy of male fertility: A mini review. *Oman Med J*, **33**(1): 3-6.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, **226**(1): 497-509.
- Frausto-González, O., Narváez-González, F., Bautista, C. J., González-Trujano, M. E. (2018). La semilla de *Bertholletia excelsa*: Riesgo o beneficio como opción terapéutica para el sobrepeso y la obesidad. *Rev Latinoam Quim*, **46**(2-3): 1-16.
- Garvey, W. T., Mechanick, J. I., Brett, E. M., Garber, A. J., Hurley, D. L., Jastreboff, A. M., Nadolsky, K., Pessah-Pollack, R., Plodkowski, R. (2016). American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Comprehensive Clinical Practice Guidelines For Medical Care Of Patients With Obesity. *Endocr Pract*, **22**(Suppl 3): 1-203.
- Goldstein, D. J. (1992). Beneficial health effects of modest weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord*, **16**(6): 397-415.
- Gomes, S., Torres, A. G. (2016). Optimized extraction of polyphenolic antioxidant compounds from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake and evaluation of the polyphenol profile by HPLC. *J Sci Food Agric*, **96**(8): 2805-2814.
- Gonzalez-Stuart, A., Ortiz Rivera, J. (2018). Yellow oleander seed, or "codo de fraile" (*Thevetia spp.*): a review of its potential toxicity as a purported weight-loss supplement. *J Diet Suppl*, **15**(3): 352-364.

- González-Trujano, M. E., Navarrete, A., Reyes, B., Hong, E. (1998). Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice. *Phytother Res*, **12**: 600-602.
- González, C. A., Salas-Salvado, J. (2006). The potential of nuts in the prevention of cancer. *Br J Nutr*, **96**(Suppl 2): 87-94.
- Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica para el manejo de pacientes con trastornos de ansiedad en atención primaria. Madrid: Plan Nacional para el SNS del MSC. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Agencia Laín Entralgo. Comunidad de Madrid; 2008. Guías de Práctica Clínica en el SNS: UETS N° 2006/10.
- Haslam, D. (2016). Weight management in obesity - past and present. *Int J Clin Pract*, **70**(3): 206-217.
- Hernández-Bastida, A. (2015). Fentermina y topiramato contra fentermina más placebo en pacientes con sobrepeso u obesidad clase I o II. *Med Int Mex*, **31**(2): 125-136.
- Hesse, P. G. (1955). Urticaria permagna and anaphylactic shock after eating Brazil nuts. *Dermatol Wochenschr*, **132**(51): 1323-1326.
- Hu, Y., McIntosh, G. H., Le Leu, R. K., Somashekar, R., Meng, X. Q., Gopalsamy, G., Bambaca, L., McKinnon, R. A., Young, G. P. (2016). Supplementation with Brazil nuts and green tea extract regulates targeted biomarkers related to colorectal cancer risk in humans. *Br J Nutr*, **116**(11): 1901-1911.
- Huguenin, G. V., Moreira, A. S., Siant'Pierre, T. D., Goncalves, R. A., Rosa, G., Oliveira, G. M., Luiz, R. R., Tibirica, E. (2015a). Effects of dietary supplementation with brazil nuts on microvascular endothelial function in hypertensive and dyslipidemic patients: a randomized crossover placebo-controlled trial. *Microcirculation*, **22**(8): 687-699.
- Huguenin, G. V., Oliveira, G. M., Moreira, A. S., Saint'Pierre, T. D., Goncalves, R. A., Pinheiro-Mulder, A. R., Teodoro, A. J., Luiz, R. R., Rosa, G. (2015b). Improvement of antioxidant status after Brazil nut intake in hypertensive and dyslipidemic subjects. *Nutr J*, **14**(1): 54-59.
- Hunskar, S., Fasmer, O. B., Hole, K. (1985). Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods*, **14**(1): 69-76.
- Ibañez, C. A., Vázquez-Martínez, M., León-Contreras, J. C., Reyes-Castro, L. A., Rodríguez-González, G. L., Bautista, C. J., Nathanielsz, P. W., Zambrano, E. (2018). Different statistical approaches to characterization of adipocyte size in offspring of obese rats: effects of maternal or offspring exercise intervention. *Front Physiol*, **9**: 1571.
- Kliwer, S. A., Sundseth, S. S., Jones, S. A., Brown, P. J., Wisely, G. B., Koble, C. S., Devchand, P., Wahli, W., Willson, T. M., Lenhard, J. M., Lehmann, J. M. (1997). Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**(9): 4318-4323.
- Kris-Etherton, P. M., Zhao, G., Binkoski, A. E., Coval, S. M., Etherton, T. D. (2001). The effects of nuts on coronary heart disease risk. *Nutr Rev*, **59**(4): 103-111.
- Lafont, J. J., Portacio, A. A. (2011). Extracción y caracterización fisicoquímica del aceite de la semilla (almendra) del marañón (*Anacardium occidentale* L). *Información tecnológica*, **22**(1): 51-58.

- Levander, O. A., Morris, V. C., Higgs, D. J., Varma, R. N. (1973). Nutritional interrelationships among vitamin E, selenium, antioxidants and ethyl alcohol in the rat. *J Nutr*, **103**(4): 536-542.
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*, **92**(2): 180-185.
- Liu, Y., Sun, M., Yao, H., Gao, R. (2017). Herbal medicine for the treatment of obesity: an overview of scientific evidence from 2007 to 2017. *Evid Based Complement Alternat Med*, **2017**: 8943059.
- Londoño-Lemos, M. E. (2012). Tratamiento farmacológico contra la obesidad. *Rev Colomb Cienc Quím Farm*, **41**(2): 217-261.
- López-Alarcón, M., Perichart-Perera, O., Flores-Huerta, S., Inda-Icaza, P., Rodríguez-Cruz, M., Armenta-Álvarez, A., Bram-Falcón, M. T., Mayorga-Ochoa, M. (2014). Excessive refined carbohydrates and scarce micronutrients intakes increase inflammatory mediators and insulin resistance in prepubertal and pubertal obese children independently of obesity. *Mediators Inflamm*, **2014**(1): 849031.
- López-Rubalcava, C., Piña-Medina, B., Estrada-Reyes, R., Heinze, G., Martínez-Vázquez, M. (2006). Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimola* in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Sci*, **78**: 730-737.
- Lorke, D. (1983). A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol*, **54**(4): 275-287.
- Manna, P., Jain, S. K. (2015). Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metab Syndr Relat Disord*, **13**(10): 423-444.
- Maranhao, P. A., Kraemer-Aguiar, L. G., de Oliveira, C. L., Kuschnir, M. C., Vieira, Y. R., Souza, M. G., Koury, J. C., Bouskela, E. (2011). Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Nutr Metab (Lond)*, **8**(1): 32.
- Martínez-González, C. L., Martínez, L., Martínez-Ortiz, E. J., González-Trujano, M. E., Deciga-Campos, M., Ventura-Martínez, R., Díaz-Reval, I. (2017). *Moringa oleifera*, a species with potential analgesic and anti-inflammatory activities. *Biomed Pharmacother*, **87**: 482-488.
- Martínez, A. L., Domínguez, F., Orozco, S., Chávez, M., Salgado, H., González, M., González-Trujano, M. E. (2006). Neuropharmacological effects of an ethanol extract of the *Magnolia dealbata* Zucc. leaves in mice. *J Ethnopharmacol*, **106**(2): 250-255.
- Martínez-Enríquez, M. E., Moreno-Ruiz, L. A., Luna-Rosas, M., Magos-Guerrero, G. A., Aguilar-Contreras, A., Campos-Sepúlveda, A. E. (2002). Acute toxicity of *Thevetia peruviana* in rodents. *Proc West Pharmacol Soc*, **45**: 131-133.
- Martini, A. C., Molina, R. I., Ruiz, R. D., Fiol de Cuneo, M. (2012). Obesity and male fertility. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, **69**(2): 102-110.
- Martins, C. P., Gomes, O. A., Martins, M. L., de Carvalho, L. D., de Souza, J. G., Da Fonseca, F. G., dos Santos, R. G., Andrade, M. S., Zani, C. L., de Souza-Fagundes, E. M., Barbosa-Stancioli, E. F. (2014). A reduction of viral mRNA, proteins and induction of altered morphogenesis reveals the anti-HTLV-1

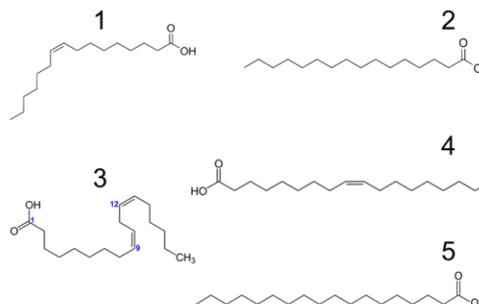
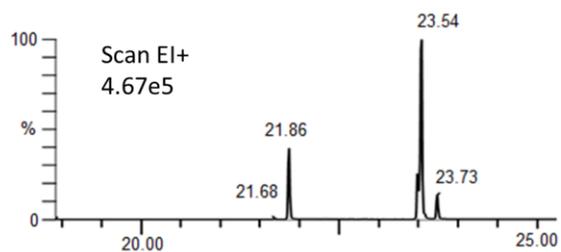
- activity of the labdane-diterpene myriadenolide in vitro. *BMC Microbiol*, **14**: 331.
- Mazokopakis, E. E., Liontiris, M. I. (2018). Commentary: health concerns of brazil nut consumption. *J Altern Complement Med*, **24**(1): 3-6.
- Mehta, A., Marso, S. P., Neeland, I. J. (2017). Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence. *Obes Sci Pract*, **3**(1): 3-14.
- Meydani, M. (1992). Modulation of the platelet thromboxane A2 and aortic prostacyclin synthesis by dietary selenium and vitamin E. *Biol Trace Elem Res*, **33**: 79-86.
- Meydani, M. (2000a). Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr*, **71**(6 Suppl): 1665S-8S; discussion 1674S-5S.
- Meydani, M. (2000b). Vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr Rev*, **58**(9): 278-281.
- Mohammadifard, N., Yazdekhesti, N., Stangl, G. I., Sarrafzadegan, N. (2015). Inverse association between the frequency of nut consumption and obesity among Iranian population: Isfahan Healthy Heart Program. *Eur J Nutr*, **54**(6): 925-931.
- Moodley, R., Kindness, A., Jonnalagadda, S. B. (2007). Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa. *J Environ Sci Health B*, **42**(5): 585-591.
- Mori, S. A., Prance, G. T. (1990). Taxonomy, ecology, and economic botany of the brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). *Adv Econ Bot.*, **8**(1): 130-150.
- Najjar, S., Pearlman, D. M., Alper, K., Najjar, A., Devinsky, O. (2013). Neuroinflammation and psychiatric illness. *J Neuroinflammation*, **10**: 43.
- Narouze, S., Souzdalnitski, D. (2015a). Obesity and chronic pain: opportunities for better patient care. *Pain Manag*, **5**(4): 217-219.
- Narouze, S., Souzdalnitski, D. (2015b). Obesity and chronic pain: systematic review of prevalence and implications for pain practice. *Reg Anesth Pain Med*, **40**(2): 91-111.
- Nieman, D. C., Cayea, E. J., Austin, M. D., Henson, D. A., McAnulty, S. R., Jin, F. (2009). Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. *Nutr Res*, **29**(6): 414-418.
- OECD (2001). Guideline no. 420: Acute oral toxicity class method. *Guidelines for testing of chemicals*. Paris.
- Ogrodnik, M., Zhu, Y., Langhi, L. G., Tchkonja, T., Krüger, P., Fielder, E., ..., Podgorni, O. (2019). Obesity-induced cellular senescence drives anxiety and impairs neurogenesis. *Cell metab* **29**: 1-17.
- Okifuji, A., Hare, B. D. (2015). The association between chronic pain and obesity. *J Pain Res*, **8**: 399-408.
- Orellana-Cuéllar, L. R., Jara, M. M., Morán, I. D. M., Mantarí, A. M. O., Benavente, L. A. C., Vergara, E. L. A., ..., Ospino, A. A. V. (2014). Toxicidad aguda de *Aleurites moluccana* por via oral en ratas Sprague-Dawley. *Ciencia e Investigación Medico Estudiantil Latinoamericana*, **19**(1): 4-9.

- Patrick, L. (2004). Selenium biochemistry and cancer: a review of the literature. *Altern Med Rev*, **9**(3): 239-258.
- Peña-Muñiz, M. A., Ferreira Dos Santos, M. N., da Costa, C. E., Morais, L., Lamarao, M. L., Ribeiro-Costa, R. M., Silva-Junior, J. O. (2015). Physicochemical characterization, fatty acid composition, and thermal analysis of *Bertholletia excelsa* HBK oil. *Pharmacogn Mag*, **11**(41): 147-151.
- Pichot, P., López-Ibor-Aliño, J. J., Valdés Miyar, M. (1995). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales: DSM IV*, 4ta. Barcelona, España. 894.
- Raederstorff, D., Wyss, A., Calder, P. C., Weber, P., Eggersdorfer, M. (2015). Vitamin E function and requirements in relation to PUFA. *Br J Nutr*, **114**(8): 1113-1122.
- Ribeiro, M. B., Jerozolimski, A., de Robert, P., Salles, N. V., Kayapo, B., Pimentel, T. P., Magnusson, W. E. (2014). Anthropogenic landscape in southeastern Amazonia: contemporary impacts of low-intensity harvesting and dispersal of Brazil nuts by the Kayapo Indigenous people. *PLoS One*, **9**(7): e102187.
- Ríos-Martínez, B. P., Rangel-Rodríguez, G. A., Álvarez-Cordero, R., Castillo-González, F. A., Ramírez-Wiella, G., Pantoja-Millán, J. P., Macías-Valadez, B. Y., Arrieta-Maturino, E. M., Ruiz-Ochoa, K. (2008). Ansiedad, depresión y calidad de vida en el paciente obeso. *Acta Med Grupo Ángeles*, **6**(4): 147-153.
- Rodriguez-Fragoso, L., Reyes-Esparza, J., Burchiel, S. W., Herrera-Ruiz, D., Torres, E. (2008). Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol*, **227**(1): 125-135.
- Rodriguez-González, G. L., Vega, C. C., Boeck, L., Vazquez, M., Bautista, C. J., Reyes-Castro, L. A., Saldana, O., Lovera, D., Nathanielsz, P. W., Zambrano, E. (2015). Maternal obesity and overnutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility. *Int J Obes (Lond)*, **39**(4): 549-556.
- Rohra, D. K., Qazi, Y. (2008). Reliability of Rodent Models. In: P.M., C. *Sourcebook of Models for Biomedical Research*.
- Ros, E. (2007). Role of omega-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia. *Med Clin Monogr*, **8**(2): 15-19.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire, A. R., O'Brien, N. M. (2006). Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *Int J Food Sci Nutr*, **57**(3-4): 219-228.
- Scott, K. M., McGee, M. A., Wells, J. E., Oakley-Browne, M. A. (2008). Obesity and mental disorders in the adult general population. *J Psychosom Res*, **64**(1): 97-105.
- Scott, M. L. (1970). Nutritional and metabolic interrelationships involving vitamin E, selenium and cystine in the chicken. *Int Z Vitaminforsch*, **40**(3): 334-343.
- SEAS. 2011. Ansiedad. Madrid, España: Sociedad Española para el Estudio de la Ansiedad y el Estrés.
- Seijas, D., Feuchtmann, C. (2018). Obesidad: factores psiquiátricos y psicológicos. *Ars Medica Revista de Ciencias Médicas*, **26**(1): 6.
- Senna, G., Bonadonna, P., Crivellaro, M., Schiappoli, M., Passalacqua, G. (2005). Anaphylaxis due to Brazil nut skin testing in a walnut-allergic subject. *J Investig Allergol Clin Immunol*, **15**(3): 225-227.

- Shen, W., Chuang, C. C., Martínez, K., Reid, T., Brown, J. M., Xi, L., Hixson, L., Hopkins, R., Starnes, J., McIntosh, M. (2013). Conjugated linoleic acid reduces adiposity and increases markers of browning and inflammation in white adipose tissue of mice. *J Lipid Res*, **54**(4): 909-922.
- Shimano, H. (2000). Sterol regulatory element-binding protein-1 as a dominant transcription factor for gene regulation of lipogenic enzymes in the liver. *Trends Cardiovasc Med*, **10**(7): 275-278.
- Sieghart, W. (2015). Allosteric modulation of GABA<sub>A</sub> receptors via multiple drug-binding sites. *Adv Pharmacol*, **72**: 53-96.
- Silva-Junior, E. C., Wadt, L. H. O., Silva, K. E., Lima, R. M. B., Batista, K. D., Guedes, M. C., Carvalho, G. S., Carvalho, T. S., Reis, A. R., Lopes, G., Guilherme, L. R. G. (2017). Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. *Chemosphere*, **188**(1): 650-658.
- Stockler-Pinto, M. B., Carrero, J. J., De Carvalho-Cardoso-Weide, L., Franciscato-Cozzolino, S. M., Mafra, D. (2015). Effect of selenium supplementation via brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Hbk) on thyroid hormones levels in hemodialysis patients: a pilot study. *Nutr Hosp*, **32**(4): 1808-1812.
- Swinyard, E. A., Woodhead, J. H., White, H. S., Franklin, M. R. (1989). General principles: experimental selection, quantification and evaluation of anticonvulsants. *In: Levy, R., Mattson, R., Meldrum, B., Penry, J. K. & Dreifuss, F. E. Antiepileptic Drugs*. New York.
- Tavares-Toscano, L., Tavares-Toscano, L., Leite-Tavares, R., da Oliveira-Silva, C. S., Silva, A. S. (2014). Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values. *Nutr Hosp*, **31**(3): 1176-1182.
- Thomson, C. D., Chisholm, A., McLachlan, S. K., Campbell, J. M. (2008). Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. *Am J Clin Nutr*, **87**(2): 379-384.
- Torre-Villalvazo, I., Tovar, A. R., Ramos-Barragán, V. E., Cerbón-Cervantes, M. A., Torres, N. (2008). Soy protein ameliorates metabolic abnormalities in liver and adipose tissue of rats fed a high fat diet. *J Nutr*, **138**(3): 462-468.
- Ubeda, L. C. C., Araújo, A. C., Barbalho, S. M., dos Santos-Bueno, P. C., Guiguer, É. L., de Sousa, M. D. S. S., Prando, M. (2017). Effects of the seeds of *Aleurites moluccana* on the metabolic profile of Wistar rats. *The Pharma Innovation*, **6**(1, Part B): 98.
- Valenzuela, A., Ronco, A. M. (2004). Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Rev Chil Nutr*, **31**: 161-169.
- Viladomiu, M., Hontecillas, R., Bassaganya-Riera, J. (2016). Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *Eur J Pharmacol*, **785**: 87-95.
- Volery, M., Bonnemain, A., Latino, A., Ourrad, N., Perroud, A. (2015). [Obesity psychological treatment: beyond cognitive and behavioral therapy]. *Rev Med Suisse*, **11**(467): 704-708.
- Vonderheide, A. P., Wrobel, K., Kannamkumarath, S. S., B'Hymer, C., Montes-Bayón, M., Ponce De León, C., Caruso, J. A. (2002). Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. *J Agric Food Chem*, **50**(20): 5722-5728.

- Wahli, W., Devchand, P. R., A, I. J., Desvergne, B. (1999). Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents regulate gene expression through direct binding to peroxisome proliferator-activated receptors. *Adv Exp Med Biol*, **447**: 199-209.
- Yahagi, N., Shimano, H., Hasty, A. H., Amemiya-Kudo, M., Okazaki, H., Tamura, Y., Iizuka, Y., Shionoiri, F., Ohashi, K., Osuga, J., Harada, K., Gotoda, T., Nagai, R., Ishibashi, S., Yamada, N. (1999). A crucial role of sterol regulatory element-binding protein-1 in the regulation of lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem*, **274**(50): 35840-35844.
- Yang, J. (2009). Brazil nuts and associated health benefits: A review. *LWT-Food Science and Technology*, **42**(10): 1573-1580.
- Zhang, Y., Liu, J., Yao, J., Ji, G., Qian, L., Wang, J., Zhang, G., Tian, J., Nie, Y., Zhang, Y. E., Gold, M. S., Liu, Y. (2014). Obesity: pathophysiology and intervention. *Nutrients*, **6**(11): 5153-5183.
- Zuidema, P. A. (2003). *Ecología y manejo del árbol de Castaña (Bertholletia excelsa)*, 1. Países Bajos. 118.

## ANEXO



#	t. ret. (min)	Altura	Área	Área %	Norm %	Nombre común (ácido)
1	21.684	8,633,335	304,551.4	0.123	0.14	Ácido palmitoleico
2	21.864	1,733,362,176	47,217,220.0	19.023	21.42	Ácido palmítico
3	23.485	1,072,250,240	24,294,802.0	9.788	11.02	Ácido linoleico
4	23.537	4,376,094,720	132,174,528.0	53.250	59.97	Ácido oleico
5	23.732	571,715,712	16,402,386.0	6.608	7.44	Ácido esteárico

Anexo 1. Principales componentes de SBHX identificados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. t. ret.: tiempo de retención, norm: normalizada.

## PUBLICACIONES

# LA SEMILLA DE *Bertholletia excelsa*: RIESGO O BENEFICIO COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA EL SOBREPESO Y LA OBESIDAD

OSWALDO FRAUSTO-GONZÁLEZ<sup>a,b,c</sup>, FERNANDO NARVÁEZ-GONZÁLEZ<sup>d</sup>, CLAUDIA J. BAUTISTA<sup>a</sup>,  
MARÍA EVA GONZÁLEZ-TRUJANO<sup>a\*</sup>

---

### ABSTRACT

Overweight and obesity are currently one of the most important public health challenges. Its incidence increases becoming a global epidemic with complications that diminish the quality of life of people who suffer it. In Mexico, more than 70% of adult population is overweight; however, its treatment is limited. The low efficacy and safety in available treatment generates little attachment of the patients, who resort to other easily accessible alternatives to reduce their weight and avoid the complications and adverse effects. *Bertholletia excelsa*, known as Brazil seed, is used as a natural product to control weight and reduce anxiety or desire to eat impulsively. Despite the benefits verbally reported by users, little has been described in scientific literature about its properties to treat this health problem. The objective of the present review is to give general information about *B. excelsa* reporting its chemical composition, uses and biological effects, and the possible risks and benefits in their consumption. Although it is a natural product, it does not have studies to support its safe recommendation for health. The above is added to the lack of specificity in the use of the term seed of Brazil, which is applied to recognized toxic species.

**Keywords:** overweight, obesity, Brazil nut, *Bertholletia excelsa*.

### RESUMEN

El sobrepeso y la obesidad son actualmente un reto importante de la Salud Pública. Su incidencia aumenta convirtiéndose en una epidemia mundial con complicaciones que disminuyen la calidad de vida de las personas. En México, más del 70% de la

<sup>a</sup>Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales. Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Calz. México-Xochimilco 101, Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370. Ciudad de México, México.

<sup>b</sup>Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15, Sección XVI, Tlalpan, 14000. Ciudad de México, México.

<sup>c</sup>Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria Coyoacán, 04510. Ciudad de México, México.

<sup>d</sup>Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria Coyoacán, 04510. Ciudad de México, México.

\*Autor de correspondencia: María Eva González-Trujano. Laboratorio de Neurofarmacología de Productos Naturales. Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Calz. México-Xochimilco 101, Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370. Ciudad de México, México. Tel. (52) 55-4160-5084. email: evag@imp.edu.mx.