

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS  
INTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS  
“LUIS ENRIQUE TERRAZAS SILES”  
ÁREA DE FARMACOLOGÍA**



**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD MODULADORA  
DE EXTRACTOS DE *Chenopodium quinoa* Willd.  
SOBRE MEDIADORES INFLAMATORIOS PRESENTES EN  
OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Tesis para optar al grado de *Magíster Scientiarum* en Ciencias

Biológicas y Biomédicas, Mención Farmacología

**Postulante: Lic. Virginia Veliz Apaza**

LA PAZ-BOLIVIA

2021

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS**  
**INTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS**  
**“LUIS ENRIQUE TERRAZAS SILES”**  
**ÁREA DE FARMACOLOGÍA**



**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD MODULADORA**  
**DE EXTRACTOS DE *Chenopodium quinoa* Willd.**  
**SOBRE MEDIADORES INFLAMATORIOS PRESENTES EN**  
**OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Tesis para optar al grado de *Magíster Scientiarum* en Ciencias  
Biológicas y Biomédicas, Mención Farmacología

**Postulante: Lic. Virginia Veliz Apaza**

Tutores: Eduardo Gonzales Dávalos, PhD.  
Silvia Zambrana Santander, M. Sc.

LA PAZ-BOLIVIA

2021

*Dedicado a:*

*Mis padres, Pánfilo y Matilda*

*Mis hermanos, Amado, Miguel y Rocio*

*Mi sobrina Camila*

*Mis amigas, Eliana, Lizeth y Andrea*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por iluminar mi camino, ser mi soporte en todo momento y ayudarme a concluir esta etapa de gran esfuerzo que comprendió esta Maestría.

Al universo, por haber conspirado en el desarrollo de mis habilidades como profesional y como persona, haciéndome consiente de mis fortalezas y debilidades en pro de la mejora constante.

A mis padres y hermanos, porque sin su apoyo y confianza la culminación de esta tesis no hubiera sido posible.

A mis tutores Eduardo Gonzales Dávalos y Silvia Zambrana por permitirme realizar mi tesis en el área de Farmacología, por el apoyo y la dirección en esta tesis.

A los doctores Rolando Sánchez y Oscar Cárdenas, por haber sembrado en mí el interés de realizar investigación, por su apoyo y confianza durante mis primeros pasos en la investigación y porque sus consejos siempre me ayudaron a mejorar.

A la doctora Ximena Taborga, por confiar en mí, brindarme su amistad y darme su apoyo incondicional en todo momento, por llegar a mí con palabras de mucho apoyo y reflexión.

A los miembros del Área de Farmacología del instituto de Investigaciones Fármaco-Bioquímicas, porque de alguna u otra manera han tenido que ver con el desarrollo de esta tesis.

A los doctores Pilar Gutiérrez y Ricardo Grados, por su amabilidad y colaboración oportuna siempre que la solicite.

A Mabel Canaviri, Deysi Mamani, Orlando Mamani y Marcelina Quispe, por su gran amistad, su colaboración y porque su compañía hizo amena mi estadía en el laboratorio.

A Eliana, Lizeth y Andrea, por su gran amistad.

A la Agencia Sueca de Cooperación para el Desarrollo (ASDI) y el Departamento de Investigación postgrado e Interacción Social (DIPGIS), por haber auspiciado la Maestría en Ciencias Biológicas y Biomédicas mediante el proyecto “Diabetes, nuevas terapias”, dentro del cual se realizó esta tesis.

## RESUMEN

Evidencia científica indica que la obesidad está ligada a un bajo grado de inflamación crónica en el tejido adiposo asociado a un desbalance de las secreciones adipocitarias, el cual promueve resistencia a la insulina y otros trastornos metabólicos asociados a la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Este estudio evaluó el efecto de los extractos acuosos e hidroetanólicos de dos variantes de *Chenopodium quinoa* Willd. (C. quinoa) en mediadores inflamatorio característicos de la DMT2. La actividad antiinflamatoria de C. quinoa fue evaluada mediante la producción de citoquinas proinflamatorias (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) y mediadores lipídicos (PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>) en macrófagos peritoneales murinos con y sin previa activación con tioglicolato respectivamente, y en ambos ensayos también se evaluó la producción de óxido nítrico como estudio preliminar. Los extractos más prometedores (HYOH-PT y AQU-PT) fueron evaluados sobre la captación de glucosa en adipocitos murinos primarios. En adición, el extracto HYOH-PT fue suplementado en la dieta de ratones sanos para evaluar primeramente su efecto sobre los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol total, y segundo para evaluar su efecto sobre la expresión génica de adipoquinas en el tejido adiposo epididimal. Los resultados muestran que los extractos hidroetanólicos de las dos variantes de C. quinoa tienen una fuerte inhibición sobre la producción de óxido nítrico, IL-6, PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>, mientras que la captación de glucosa no fue modificada por todos los extractos evaluados. Los niveles de triglicéridos, el peso corporal de los ratones así como el peso del tejido adiposo tienden a disminuir tras el tratamiento con la dieta suplementada con HYOH-PT. Por otra parte, la expresión génica de Leptina aumenta significativamente, mientras que la expresión de IL-6 es disminuida tras la suplementación con HYOH-PT. Basado en nuestros hallazgos se concluye que C. quinoa presenta actividad antiinflamatoria y un potencial efecto antiobesidad para ser empleado como un tratamiento coadyuvante para tratar los trastornos metabólicos asociados a la DMT2.

Palabras claves: Diabetes Mellitus tipo 2, Inflamación, Adipoquinas, *Chenopodium quinoa* Willd.

## ABSTRACT

Scientific evidence indicates that obesity is linked to a low degree of chronic inflammation in adipose tissue associated with an imbalance of adipocyte secretions, which promotes insulin resistance and other metabolic disorders associated with diabetes mellitus type 2 (DMT2). This study evaluated the effect of the aqueous and hydroethanolic extracts of two variants of *Chenopodium quinoa* Willd. (*C. quinoa*) on characteristic inflammatory mediators of DMT2. The anti-inflammatory activity of *C. quinoa* was evaluated by the production of proinflammatory cytokines (IL-6 and TNF- $\alpha$ ) and lipid mediators (PGE2 and LTC4) in murine peritoneal macrophages with and without prior activation with thioglycollate respectively, and also the production of nitric oxide was evaluated as a preliminary study in both tests. The most promising extracts (HYOH-PT and AQU-PT) were evaluated on glucose uptake in primary murine adipocytes. In addition, the HYOH-PT extract was supplemented in the diet of healthy mice to evaluate first the effect on plasma levels of glucose, triglycerides and total cholesterol, and second to evaluate the effect on adipokine gene expression in epididymal adipose tissue. The results show that the hydroethanolic extracts of the two variants of *C. quinoa* have strong inhibition of the nitric oxide production, IL-6, PGE2 and LTC4, while the glucose uptake was not modified by all extracts evaluated. The triglycerides levels, the mice body weight as well as the adipose tissue weight tend to decrease after treatment with the diet supplemented with HYOH-PT. On the other hand, the Leptin gene expression increased significantly, while the expression of IL-6 decreased after supplementation with HYOH-PT. Based on our findings, we concluded that *C. quinoa* has anti-inflammatory activity and a potential anti-obesity effect to be used as a coadjuvant treatment to treat the metabolic disorders associated with DM T2.

Key words: Diabetes Mellitus type 2, Inflammation, Adipokines, *Chenopodium quinoa* Willd.

## ABREVIATURAS

<b>5-LO</b>	Enzima 5-lipoxigenasa
<b>AA</b>	Ácido araquidónico
<b>AdipoR1</b>	Receptor 1 de adiponectina
<b>AGE</b>	Angiotensinógeno
<b>Akt</b>	Proteína cinasa B
<b>AMPc</b>	Adenosin monofosfato cíclico
<b>AMPK</b>	Proteína quinasa activada por AMP
<b>AQU-LP</b>	Extracto acuoso de la quinua recolectada en el departamento de La Paz
<b>AQU-PT</b>	Extracto acuoso de la quinua recolectada en el departamento de Potosí
<b>AS160</b>	Sustrato de Akt de 160 KDa
<b>Bad</b>	Proteína proapoptótica de la subfamilia BH3
<b>Bcl-2</b>	Proteína antiapoptótica de la subfamilia Bcl-2
<b>BLT-1</b>	Leukotrieno B4 receptor 1
<b>BSA</b>	Albumina sérica bovina
<b>c FLA<sub>2</sub><math>\alpha</math></b>	Fosfolipasa citosolica inducible
<b>C. quinoa</b>	<i>Chenopodium quinoa Willd.</i>
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenasa inducible
<b>CRP</b>	Proteína C reactiva
<b>CSF</b>	Factor estimulante de colonias
<b>CT</b>	Colesterol total
<b>Dex</b>	Dexametazona
<b>DMT2</b>	Diabetes Mellitus Tipo 2
<b>DNAc.</b>	Copia del ácido desoxirribonucleico
<b>ELISA</b>	Ensayo Inmuno Enzimático Ligado a Enzimas
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintasa endotelial
<b>ERK</b>	Quinasas reguladas por señales extracelulares
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>FLA<sub>2</sub></b>	Fosfolipasa A <sub>2</sub>
<b>FLAP</b>	Proteína activadora de la 5-lipoxigenasa
<b>FOXO</b>	Factor de transcripción (familia forkhead)

<b>GLUT-4</b>	Transportador de glucosa-4
<b>GOD-POD</b>	Método de determinación de D-glucosa basado en la acción combinada de glucosa oxidasa (GOD) y peroxidasa (POD)
<b>GPDH</b>	Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa
<b>GSK3B</b>	Glucógeno sintasa quinasa 3 $\beta$
<b>HDF</b>	Dieta alta en grasa
<b>HDL-C</b>	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
<b>HMW</b>	Alto peso molecular
<b>HYOH-LP</b>	Extracto hidroetanólico de la quinua recolectada en el departamento de La Paz
<b>HYOH-PT</b>	Extracto hidroetanólico de la quinua recolectada en el departamento de Potosí
<b>I.Ca</b>	Ionóforo de Calcio
<b>ICAM-1</b>	Molécula de Adhesión Intercelular 1
<b>IKK- <math>\beta</math></b>	Quinasa I Kappa B
<b>I<math>\kappa</math><math>\beta</math></b>	Proteína inhibidora del FNF- $\kappa$ $\beta$
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina 1 $\beta$
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>Indo</b>	Indometacina
<b>iNOS</b>	Óxido nítrico sintasa inducible
<b>iNOS</b>	Óxido nítrico sintasa inducible
<b>IR</b>	Receptor de la insulina
<b>IRS</b>	Sustratos del receptor de la insulina
<b>IRS-1</b>	Sustrato del receptor de la insulina-1
<b>JNK</b>	Quinasa c-Jun N-terminal
<b>KRPH</b>	Medio de cultivo Krebs Ringer-Phosphate Heps
<b>LMW</b>	Bajo peso molecular
<b>LNK</b>	Linfocitos natural killer
<b>LPL</b>	Lipoproteína lipasa
<b>LPS</b>	Lipopolisacarido
<b>LTA4</b>	Leucotrieno A <sub>4</sub>
<b>LTB4</b>	Leucotrieno B <sub>4</sub>
<b>LTC4</b>	Leucotrieno C <sub>4</sub>
<b>LTD4</b>	Leucotrieno D <sub>4</sub>
<b>LTE4</b>	Leucotrieno E <sub>4</sub>
<b>LTs</b>	Leucotrienos



<b>M1</b>	Macrófagos tipo 1 (pro-inflamatorio)
<b>M2</b>	Macrófagos tipo 2 (perfil anti-inflamatorio)
<b>MAPK</b>	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
<b>MCP1</b>	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
<b>MCP-1</b>	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
<b>MCP2</b>	Proteína quimiotáctica de monocitos 2
<b>MMW</b>	Mediano peso molecular
<b>MTT</b>	Sal de tetrazolio, Bromuro de 3 (4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolio
<b>NF-k<math>\beta</math></b>	Factor nuclear kappa beta
<b>nNOS</b>	Óxido nítrico sintasa neuronal
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Óxido nítrico sintasa
<b>ObRb</b>	Receptor de leptina
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PAI-1</b>	Inhibidor del activador del plasminógeno-1
<b>PBS</b>	Tampón salino fosfato
<b>PdK1</b>	Cinasa dependiente de PI3-K
<b>PGE<sub>2</sub></b>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
<b>PGH<sub>2</sub></b>	Prostaglandina H <sub>2</sub>
<b>PGs</b>	Prostaglandinas
<b>PI3K</b>	Fosfatidilinositol 3-cinasa
<b>PTGER</b>	Receptor de prostaglandina E <sub>2</sub>
<b>PTGER3</b>	Receptor de PGE <sub>2</sub> tipo 3
<b>PTP</b>	Proteína tirosina fosfatasa
<b>qPCR</b>	PCR cuantitativo
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>RNA<sub>m</sub></b>	ARN mensajero
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>RPMI 1640</b>	Medio de cultivo "Roswell Park Memorial Institute"
<b>RT-PCR</b>	PCR reverso- transcriptasa
<b>SFB</b>	Suero fetal bobino
<b>SOCS3</b>	Supresor de la señalización de citoquinas 3
<b>STAT3</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción 3
<b>STAT5</b>	Transductor de señal y activador de la transcripción 5
<b>SU</b>	Sulfonilureas
<b>TAB</b>	Tejido adiposo blanco

<b>TACE</b>	Enzima convertidora de TNF- $\alpha$
<b>TAM</b>	Tejido adiposo marrón
<b>TAS</b>	Tejido adiposo subcutáneo
<b>TAV</b>	Tejido adiposo visceral
<b>TG</b>	Triglicéridos
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>UCP-1</b>	Uncoupling Protein-1
<b>VCAM-1</b>	Molécula de adhesión celular vascular 1
<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	Hormona estimulante de los melanocitos $\alpha$

---

## ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.....	17
2. Objetivos.....	19
2.1. Objetivo General.....	19
2.2. Objetivos específicos.....	19
3. Marco teórico.....	20
3.1. Diabetes Mellitus tipo 2. ....	20
3.2. Regulación de los niveles de glucosa sanguínea.....	21
3.2.1. Mecanismo de acción de la insulina.....	21
3.3. Resistencia a la insulina.....	22
3.4. Tejido adiposo .....	24
3.5. Tejido adiposo, obesidad, inflamación y Diabetes tipo 2.....	25
3.6. Adipoquinas, relación entre obesidad, inflamación y diabetes.....	26
3.6.1. Leptina. ....	27
3.6.2. Adiponectina. ....	28
3.6.3. Resistina.....	30
3.6.4. Factor de necrosis tumoral- $\alpha$ .....	30
3.6.5. Interleucina 6 .....	32
3.7. Infiltración de macrófagos en tejido adiposo.....	34
3.8. Mediadores inflamatorios producidos por macrófagos y su relación con la diabetes mellitus tipo 2.....	36
3.8.1. Prostaglandinas. ....	36
3.8.2. Leucotrienos.....	38
3.8.3. Óxido nítrico.....	40
3.9. Tratamiento de la diabetes.....	41
3.10. <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.....	43
3.10.1. Propiedades nutricionales.....	45
3.10.2. Propiedades farmacológicas.....	47

---

<b>4. Diseño metodológico.....</b>	<b>51</b>
<b>5. Metodología.....</b>	<b>52</b>
5.1. Colección del material vegetal. ....	52
5.2. Preparación de extractos.....	52
5.3. Animales de experimentación. ....	53
5.4. Aislamiento de macrófagos murinos.....	53
5.5. Estimulación de macrófagos con LPS.....	53
5.6. Cuantificación de óxido nítrico.....	54
5.7. Cuantificación de citoquinas pro-inflamatorias.....	54
5.8. Estimulación de macrófagos con Ionóforo de calcio.....	55
5.9. Cuantificación de PGE <sub>2</sub> y LTC <sub>4</sub> . ....	55
5.10. Ensayo de viabilidad celular. ....	56
5.11. Aislamiento de adipocitos murinos. ....	57
5.12. Captación de glucosa en adipocitos primarios. ....	57
5.13. Tratamiento subcrónico de ratones suplementados con C. quinoa y evaluación de la expresión génica de adipoquinas. ....	58
5.14. Extracción de RNA total. ....	58
5.15. Síntesis de DNA copia. ....	59
5.16. Expresión génica y PCR cuantitativo. ....	60
5.17. Análisis estadístico. ....	61
<b>6. Resultados. ....</b>	<b>61</b>
6.1. Las dosis evaluadas de los extractos de C. quinoa no presentan efecto citotóxico en cultivos primarios de macrófagos peritoneales murinos. ....	61
6.2. La producción de óxido nítrico se ve disminuida en presencia los extractos de C. quinoa. ....	64
6.3. Los extractos de C. quinoa presentan tendencia a disminuir la producción de citoquinas pro-inflamatorias. ....	68
6.4. Los extractos de C. quinoa presentan tendencia a disminuir la expresión génica de IL-6. ....	71
6.5. Los extractos de C. quinoa inhiben la producción de PGE <sub>2</sub> y LTC <sub>4</sub> en macrófagos estimulados con Ionóforo de calcio.....	73
6.6. Los extractos de C. quinoa no estimulan la captación de glucosa en adipocitos murinos primarios. ....	77

---

---

<b>6.7. Los parámetros sanguíneos en ratones alimentados con el extracto HYOH-PT no son alterados. ....</b>	<b>79</b>
<b>6.8. La expresión de adipoquinas es modificada por el extracto HYOL-PT. ....</b>	<b>80</b>
<b>7. Discusión.....</b>	<b>82</b>
<b>8. Conclusiones. ....</b>	<b>90</b>
<b>9. Referencias bibliográficas: .....</b>	<b>91</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>117</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. El tejido adiposo en la patogénesis de la diabetes tipo 2.....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 2. Infiltración de macrófagos dentro el tejido adiposo. ....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 3 Cultivo de <i>Chenopodium quinoa willd.</i> (Vega-Gálvez et al., 2010) .....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 4 Diseño metodológico.....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 5 Viabilidad celular de macrófagos posterior a la estimulación con LPS mas diferentes concentraciones de los extractos de <i>C. quinoa.</i> ....</b>	<b>62</b>
<b>Figura 6 Viabilidad celular de macrófagos después de la estimulación con I.Ca más diferentes concentraciones de los extractos de <i>C. quinoa.</i> ....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 7. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos estimulados con LPS. ....</b>	<b>64</b>
<b>Figura 8. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos estimulados con LPS. ....</b>	<b>65</b>
<b>Figura 9. Efecto de los extractos HYOL-PT y AQU-PT sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con I.Ca. ....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 10 Efecto de los extractos HYOL-LP y AQU-LP sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con I.Ca. ....</b>	<b>67</b>
<b>Figura 11. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS.....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 12. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS.....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 13. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de TNF-<math>\alpha</math> en macrófagos murinos estimulados con LPS. ....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 14. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de TNF-<math>\alpha</math> en macrófagos murinos estimulados con LPS. ....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 15. Efecto de los extractos de <i>C. quinoa</i> sobre los niveles de expresión génica de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS. ....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 16. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 17. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.....</b>	<b>75</b>
<b>Figura 18. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de LTC<sub>4</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.....</b>	<b>76</b>
<b>Figura 19. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de LTC<sub>4</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.....</b>	<b>77</b>

---

<b>Figura 20. Efecto de los extractos de C. quinoa sobre la captación de glucosa en adipocitos murinos.....</b>	<b>78</b>
<b>Figura 21. Crecimiento y niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol total de los ratones tratados con el extracto HYOH-PT.....</b>	<b>80</b>
<b>Figura 22. Niveles de expresión génica de adipoquinas provenientes de tejido epididimal de ratones tratados con HYOL-PT.....</b>	<b>81</b>

---

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición promedio aproximada de los granos de quinua en comparación con otros cereales (g /100 g de materia seca).....	46
<b>Tabla 2.</b> Concentraciones de vitaminas en granos de quinua y otros cereales (mg /100 g).....	47
<b>Tabla 3.</b> Secuencia de primer empleados para análisis de expresión génica mediante amplificación por qPCR. ....	60
<b>Tabla 4.</b> Peso de órganos de los animales tratados con el extracto HYOL-PT. ....	80



---

## 1. Introducción

Actualmente, la Diabetes tipo 2 se ha convertido en un importante problema de salud a nivel mundial debido a su alta prevalencia en la población en general (Leonor Guariguata, Whiting, Weil, & Unwin, 2011; Shaw, Sicree, & Zimmet, 2010). La diabetes ha aumentado considerablemente en los últimos años y se estima un incremento a 591.9 millones para el año 2035 (L. Guariguata et al., 2014). Recientes estudios han demostrado que uno de los mecanismos responsables del desarrollo de la diabetes y sus complicaciones está relacionado con factores inflamatorios en la resistencia a la insulina inducida por la obesidad, por lo que el aumento de tejido adiposo es un factor clave en el desarrollo de la resistencia a insulina. (Fasshauer & Blüher, 2015; Mraz & Haluzik, 2014). Ante la evidencia de que un desbalance en la producción de las secreciones adipocitarias juega un rol importante en el desarrollo de la diabetes tipo 2 y sus complicaciones, su regulación se constituye en un blanco potencial de nuevas alternativas terapéuticas (Bruun et al., 2003; Fasshauer & Blüher, 2015).

A pesar de que en la actualidad se cuenta con varias alternativas para el tratamiento de la diabetes mediante la administración de hipoglicemiantes, secretagogos e insulina, muchos de estos tratamientos no presentan eficacia a largo plazo (Bjornstad & Eckel, 2018); razón por la cual se vienen investigando nuevas estrategias para el tratamiento de la enfermedad y sus complicaciones.

Asimismo, el hombre encuentra en el reino vegetal muchas fuentes alimenticias que contienen componentes bioactivos, los cuales aportan mejoras sustanciales a su salud ayudando a prevenir o tratar sus enfermedades (Pérez-Leonard & Heidy, 2006). En este sentido, varias especies vegetales entre plantas medicinales y plantas alimenticias, han sido evaluadas para identificar su actividad anti-inflamatoria y anti-diabética (Gushiken et al., 2016).

*Chenopodium quinoa* Willd (C. quinoa) comúnmente llamado quinua, es una planta originaria del altiplano de Bolivia y Perú. Sus semillas forman parte de la alimentación básica de las comunidades andinas de Bolivia los cuales se emplean para la elaboración de sopas, harinas y jugos entre otros tipos de meriendas secas. La quinua presenta un alto valor nutricional y tiene una alta adaptabilidad de cultivo en diferentes condiciones agroecológicas

---

(Filho et al., 2017; Reguera et al., 2018); por estas características, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), ha reconocido a la quinua como un cultivo con capacidad de contribuir con la seguridad alimentaria mundial, declarándose el 2013 como año internacional de la quinua (FAO, 2011).

En adición al aporte nutritivo que brindan las semillas de quinua, varios estudios han reportado que este grano ancestral presenta una potente actividad antioxidante e inmunoreguladora (Yao, Shi, & Ren, 2014; Yao, Yang, Shi, & Ren, 2014). Así mismo, estudios de compuestos aislados y/o fraccionados de las semillas de *C. quinoa* han demostrado poseer un efecto anti-inflamatorio (Hu et al., 2017; G. Ren, Zhu, & Shi, 2017; Yao, Shi, et al., 2014). Otros efectos benéficos en la salud que presenta la quinua abarcan desde la regulación de lípidos y glucosa sérica (Abellán Ruiz et al., 2017) hasta una probable actividad anti-obesidad (A.S. Foucault et al., 2014).

Ante esta evidencia científica de actividad anti-inflamatoria y protectora contra la obesidad que presentan los granos de quinua, el presente trabajo pretende dar respaldo científico a la actividad moduladora de los extractos de *C. quinoa* sobre mediadores pro-inflamatorios presentes en la obesidad y diabetes mellitus tipo 2, de tal manera que contribuya al tratamiento coadyuvante de la diabetes.

---

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre mediadores inflamatorios presentes en obesidad y diabetes de tipo 2 en modelos de cultivos primarios de macrófagos y adipocitos murinos.

### 2.2. Objetivos específicos

1. Determinar la actividad anti-inflamatoria de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. en macrófagos peritoneales murinos, mediante la cuantificación de Óxido nítrico.
2. Determinar la actividad anti-inflamatoria de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. en macrófagos peritoneales murinos, mediante la cuantificación de citoquinas pro-inflamatorias.
3. Evaluar el efecto de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre la producción de prostaglandinas y leucotrienos en macrófagos peritoneales murinos.
4. Evaluar el efecto de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre la captación de glucosa en adipocitos primarios de tejido adiposo epididimal murino.
5. Evaluar el efecto de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol total, en ratones alimentados con una dieta suplementada con el extracto.
6. Determinar la actividad de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre la producción de adipoquinas secretadas por el tejido adiposo en ratones alimentados con una dieta suplementados con el extracto.

---

### 3. Marco teórico

#### 3.1. Diabetes Mellitus tipo 2.

La diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) es una de las principales enfermedades no transmisibles denominada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la epidemia del siglo XXI, habiéndose constituido un importante problema de salud a nivel mundial debido a la alta morbilidad ocasionada por las complicaciones microvasculares (retinopatía, neuropatía y nefropatía) y macrovasculares (ataque cardíaco, accidente cerebrovascular y enfermedad vascular periférica) (Leonor Guariguata et al., 2011; Shaw et al., 2010).

El número de personas con diabetes se ha incrementado considerablemente a nivel mundial. Hasta el año 2013 se había estimado que 381,8 millones de personas adultas de 219 países desarrollarían diabetes, incidencia que aumentaría hasta 591.9 millones para el año 2035 (L. Guariguata et al., 2014). Sin embargo, las expectativas sobre la incidencia global de la diabetes se han incrementado en los últimos años y se espera que aumente a 642 millones para el año 2040 (Ogurtsova et al., 2017). En Bolivia, la diabetes es la principal causa de mortalidad entre las enfermedades crónicas no-comunicables; según los datos que publicaron el Instituto Nacional de Estadística (INE) y el Ministerio de Salud, revelaron que en el año 2016 se registraron 118.757 casos de diabetes tipo 2, siendo los departamentos de Santa Cruz, La Paz y Cochabamba los que presentan mayor número de casos debido a la prevalencia de sobrepeso, obesidad y el sedentarismo (Instituto Nacional de Estadística, 2017; Ministerio de Salud, 2017)

La DMT2 es un trastorno endocrino metabólico caracterizado por niveles elevados de glucosa en sangre (hiperglucemia) acompañados de una producción excesiva de orina compensada por la sensación de sed y el incremento de la ingesta de fluidos, visión borrosa, letárgica y cambios en el metabolismo energético (Y. Lin & Sun, 2010). Este conjunto de trastornos metabólicos se debe a una disfunción de las células  $\beta$ -pancreáticas, deterioro en la acción de la insulina y/o disminución de la secreción de insulina (Das Kunar & Elbein C., 2006; D. Patel, Sk, Kumar, & Hemalatha, 2012). A pesar de que la predisposición genética es causa del 80% de susceptibilidad para desarrollar la enfermedad (Henquin et al., 2011), está demostrado también que la obesidad crónica promueve el desarrollo de la resistencia a

---

la insulina y como consecuencia diabetes, que es causada por un desbalance en la secreción de diferentes hormonas y citoquinas que son producidas por el tejido adiposo, especialmente en la región abdominal y alrededor de los órganos internos (Shoelson, Lee, & Goldfine, 2006). Uno de los mecanismos responsables del desarrollo de la diabetes y sus complicaciones se debe a factores inflamatorios en la resistencia a la insulina inducida por la obesidad, por lo que el aumento de tejido adiposo es clave en el desarrollo de la resistencia a insulina (Deiuliis et al., 2011; Mraz & Haluzik, 2014).

### **3.2.Regulación de los niveles de glucosa sanguínea.**

La insulina es una hormona peptídica de 5.8 KDa secretada por las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos y es una de las principales hormonas que regula los niveles sanguíneos de glucosa, la insulina estimula la captación de glucosa de la sangre al interior de las células y favorece el almacenamiento de la misma en células del musculo esquelético, tejido adiposo e hígado inhibiendo a la vez su producción (Lin & Sun, 2010). La insulina regula la producción de glucosa hepática a través de múltiples mecanismos. Cuando esta hormona se une a su receptor hepático, desencadena señales intracelulares que dan lugar a la inhibición de la formación de glucosa suprimiendo la glucogenólisis y gluconeogénesis (Edgerton et al., 2001; Ramnanan et al., 2010) y suprime también la secreción del glucagón (Edgerton et al., 2006; Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008; Titchenell et al., 2016). Además, la insulina puede reducir la liberación de ácidos grasos libres y glicerol circulantes como resultado de la inhibición de la lipólisis (Lewis, Vranic, Harley, & Giacca, 1997; Titchenell et al., 2016) reduciendo así, la producción de glucosa hepática (Edgerton et al., 2017). Es así que, la mayoría de las acciones de la insulina están destinadas a la regulación del metabolismo energético aunque también se conoce de algunos efectos mitogénicos (Bastard et al., 2006; Saltiel & Kahn, 2001).

#### **3.2.1. Mecanismo de acción de la insulina.**

El receptor de la insulina (IR) es una glicoproteína tetramérica que pertenece a la subfamilia de receptores de tirosina cinasa, está compuesto por dos subunidades  $\alpha$  extracelulares y dos subunidades  $\beta$  transmembranales con actividad intrínseca de tirosina cinasa que autofosforilan residuos específicos de tirosina cuando la insulina se une a la subunidad  $\alpha$  de

este receptor (Ward, Lawrence, Streltsov, Adams, & McKern, 2007; Whites, 2003; Whites & Kahn, 1994), esta autofosforilación promueve la activación de este último para iniciar una cascada de señalización activando la vía de las cinasas activadas por mitógeno (MAP cinasas) y la vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K). Mientras que la vía de las MAP cinasas regula la síntesis de proteínas y los efectos mitogénicos de la insulina, la vía de la PI3K es el principal mecanismo por el que la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo de la glucosa y lípidos, regulando la mayoría de los efectos asociados al metabolismo energético. (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008; Whites, 2003).

La activación del IR promueve la translocación de sustratos del receptor de la insulina (IRS) para que estas puedan ser fosforiladas y así estimular su unión a la subunidad reguladora de Fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3-K) conduciendo a la activación de este último para reclutar a la cinasa dependiente de PI3-K como PdK1 y AKT a la membrana plasmática (Y. Lin & Sun, 2010; Sah, Singh, Choudhary, & Kumar, 2016). Posteriormente, PdK1 activa a AKT mediante fosforilación, AKT activada fosforila varias proteínas como glucógeno sintasa quinasa 3 $\beta$  (GSK3B) (activa y dirige la síntesis de glucógeno en el hígado), AS160 (promueve translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana citoplasmática), el heterómero BAD·BCL2 (antiapoptótico), y factores de transcripción FOXO (regulación de la expresión génica) (Taguchi & White, 2008).

### **3.3.Resistencia a la insulina.**

La resistencia a la insulina es un estado patológico en el que las células que generalmente responden a la insulina dejan de hacerlo (Ramírez Alvarado & Sánchez Roitz, 2012). Esta condición se manifiesta generalmente por una disminución en el transporte de glucosa inducido por la insulina en células del tejido adiposo y tejido muscular, aumento en la producción de glucosa hepática, aumento de la lipólisis de triglicéridos en tejido adiposo y alteraciones en el metabolismo de lípidos en tejido adiposo y hepático (Bhattacharya, Dey, & Roy, 2007; Chawla, Nguyen, & Goh, 2011) que resultan en hiperinsulinemia, hiperglucemia e hiperlipidemia (Shulman, 2000). Estas condiciones son los primeros y más consistentes hallazgos en pacientes con DMT2 y personas obesas (Musí & Goodyear, 2006). Además, la resistencia a la insulina se asocia frecuentemente con un número importante de

---

enfermedades como la hipertensión, infecciones crónicas y enfermedades de tipo cardiovascular (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

Los mecanismos moleculares por los que se genera resistencia a la insulina son múltiples e incluyen una deficiente señalización de la insulina debido a mutaciones o modificaciones postraduccionales del receptor de insulina o de moléculas efectoras camino abajo (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008). En otras situaciones existen alteraciones en la unión de la insulina a su receptor o en las proteínas de señalización debido a fosforilaciones y desfosforilaciones inadecuadas de las proteínas involucradas en la señalización como Akt y PI3K entre otras, las cuales pueden afectar la acción de la insulina resultando en resistencia a la insulina (Wheatcroft, Williams, Shah, & Kearney, 2003).

Por otro lado, en 1998 se propusieron que los mecanismos involucrados en la respuesta de fase aguda y la activación del sistema innato pueden ser la base de la fisiopatología de muchas de las características de la DMT2, en los que se incluye la intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, disminución de la secreción de la insulina, dislipidemia, hipertensión, aterosclerosis y obesidad central (Pickup & Crook, 1998). Desde entonces, esta hipótesis ha sido muy apoyada por un gran número de estudios que han demostrado que los niveles plasmáticos de muchos marcadores inflamatorios son predictivos para el desarrollo eventual de diabetes (Chen, 2006). Varios estudios han demostrado el rol de citoquinas pro-inflamatorias y estrés endoplasmático como causante de la resistencia a la insulina a través de la activación de serina quinazas como quinasa c-Jun N-terminal (JNK) y quinasa I Kappa  $\beta$  (IKK- $\beta$ ) que promueve fosforilación de IRS-1 a sitios serina (serina 302 y serina 307) que regulan negativamente la señalización de la insulina (Ropelle et al., 2010). Además, IKK- $\beta$  fosforila a la proteína I $\kappa$ B que inhibe la translocación del Factor nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$ B), I $\kappa$ B es fosforilada en respuesta a citoquinas pro-inflamatorias y es degradada en el proteasoma para luego liberar a NF- $\kappa$ B y promover la expresión de varios genes que están involucrados en la inducción de resistencia a la insulina (Sah et al., 2016)

El tejido muscular y tejido adiposo son los principales responsables de la captación de glucosa estimulado por la insulina, alteraciones en estos tejidos juegan un rol importante en la homeostasis de la glucosa en pacientes con DMT2 (Björnholm & Zierath, 2005), además,

---

el tejido adiposo tiene un rol principal en el desarrollo de la resistencia a la insulina debido a un desbalance en la producción de adipocinas que presentan diversos roles en la fisiología normal y en los procesos patológicos que serán explicados más adelante.

### **3.4. Tejido adiposo**

En el organismo existen dos tipos de tejido adiposo; Tejido adiposo marrón (TAM) y tejido adiposo blanco (TAB). El TAM se encarga de la termogénesis corporal como consecuencia de sus niveles elevados de la proteína Uncoupling Protein-1 (UCP-1) dentro de sus mitocondrias que cortocircuita el acoplamiento de la cadena respiratoria a la ATP sintasa, permitiendo así la producción de calor que tiene lugar particularmente en pequeños animales y neonatos (Cannon & Nedergaard, 2004; Esteve Ràfols, 2014). Por otro lado, el TAB es un reservorio energético y se encarga del almacenamiento de lípidos en forma de triglicéridos durante la ingesta excesiva y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo (Esteve Ràfols, 2014). Sin embargo, en las últimas décadas el TAB ha sido descrito como un órgano endocrino altamente heterogéneo que desempeña un papel importante en el metabolismo energético (Booth, Magnuson, Fouts, & Foster, 2016; Galic, Oakhill, & Steinberg, 2010; Prins, 2002).

Con el descubrimiento de la Leptina en 1994 el tejido adiposo es considerado como un órgano endocrino (Adamczak & Wiecek, 2013; Y. Zhang et al., 1994), y en la actualidad se conoce numerosas moléculas bioactivas sintetizadas y secretadas por los adipocitos con actividad autocrina, paracrina y endocrina en diferentes órganos y tejidos como el hígado, el músculo esquelético, páncreas o corazón en la que se incluyen algunas citoquinas pero que en conjunto se denominan como adipocinas (Lehr et al., 2012; Romacho, Elsen, Röhrborn, & Eckel, 2014). Las mismas que están estrechamente ligadas a la homeostasis y regulación del metabolismo energético (Romacho et al., 2014; Smitka & Marosová, 2015). Pero además, el estroma del tejido adiposo está formado por preadipocitos, células endoteliales, fibroblastos, y varios tipos de células inmunitarias como macrófagos, células dendríticas, linfocitos T, entre otros (Coelho, Oliveira, & Fernandes, 2013; Rajan & Longhi, 2016), los cuales le atribuyen una actividad biológica compleja con capacidad de cambiar sus características estructuras, celulares y moleculares en función a las condiciones fisiológicas y patológicas



que afectan su funcionalidad, término conocido como plasticidad (Y. H. Lee, Mottillo, & Granneman, 2014; Pellegrinelli, Carobbio, & Vidal-Puig, 2016). Esta plasticidad del tejido adiposo nos permite comprender la diferencia estructural (densidad vascular e inervación) y la diferencia entre los perfiles de expresión de adipoquinas y por ende, las diferencias funcionales y metabólicas que se aprecian entre el tejido adiposo subcutáneo (TAS) y el tejido adiposo visceral (TAV) (Badimon & Cubedo, 2017; Booth et al., 2016). Siendo este último el TAB más perjudicial debido a que presenta un perfil inflamatorio agudo más alto que el TAS y que está asociado con el incremento de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular, aterosclerosis, diabetes tipo 2 y otras enfermedades crónicas (Fantuzzi, 2005; Maury & Brichard, 2010).

### **3.5. Tejido adiposo, obesidad, inflamación y Diabetes tipo 2.**

La obesidad es un estado patológico caracterizado por un excesivo almacenamiento de grasa corporal que se traduce en un aumento de peso y está determinado por un índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 30 Kg/m<sup>2</sup>, siendo este un indicador de deterioro de la salud por su asociación con varias enfermedades metabólicas que incluye resistencia a la insulina, DMT2, hipertensión, dislipidemia, hígado graso no alcohólico y enfermedad cardiovascular (Hotamisligil & Ebru, 2008). La causa de la acumulación de lípidos es la diferenciación de los preadipocitos a adipocitos, en el que se aprecia una desregulación de los factores de transcripción de este proceso, donde se hace énfasis en la actividad del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma gama (PPAR $\gamma$ ), el cual es un factor proadipogénico crítico. Estudios han demostrado que la isoforma PPAR $\gamma$ 2, pero no PPAR $\gamma$ 1, afecta profundamente la adipogénesis (D. Ren, Collingwood, Rebar, Wolffe, & Camp, 2002) y que el aumento significativo de PPAR $\gamma$ 2 solo se aprecia en individuos con obesidad mórbida (Sewter, Blows, Considine, Vidal-Puig, & O'Rahilly, 2002). La adipogénesis prolongada conduce a hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos (De Ferranti & Mozaffarian, 2008), lo cual incrementa la expresión de enzimas oxidantes, como NADPH oxidasa, generándose especies reactivas de oxígeno (ROS) que conducen al estrés oxidativo (O.-H. Lee et al., 2009). En este sentido, recientes estudios han sido desarrollados para identificar la actividad anti-obesidad de productos naturales con el fin de disminuir la acumulación de lípidos y la generación de ROS (S. Il Choi et al., 2018; H. K. Kim et al., 2017).

---

Por otro lado, el progreso patológico de la resistencia a la insulina, DMT2, hígado graso no alcohólico y enfermedades cardiovasculares, se ha relacionado fuertemente con la inflamación crónica del TAB inducida por la obesidad que resulta en concentraciones elevadas de marcadores inflamatorios circulantes (Exley, Hand, O'Shea, & Lynch, 2014; Pradhan, 2007).

Una sobrenutrición causa una expansión patológica del tejido adiposo, donde los adipocitos hipertróficos disfuncionales liberan citoquinas pro-inflamatorias tales como: factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (Liu et al., 2016; Wang et al., 2013), ácidos grasos pro-inflamatorios (Nguyen et al., 2007) y quimioquinas como la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP1/MCP2) entre otros (Kanda et al., 2006), los cuales alteran el número y fenotipo de los leucocitos residentes del tejido adiposo promoviendo y perpetuando un ambiente inflamatorio y la disfunción del TAB (Exley et al., 2014).

Con la hipertrofia y la hiperplasia de los adipocitos en la obesidad, también se presenta un desbalance en la producción de otro tipo de adipoquinas que constituyen una parte importante del “eje adipo-insular” de naturaleza bidireccional, tal es el caso de la leptina, adiponectina y resistina, cuyo desbalance en su producción puede contribuir a la insuficiencia funcional de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos y por tanto conducir a la diabetes tipo 2, mecanismos que serán explicados en detalle a continuación.

### **3.6. Adipoquinas, relación entre obesidad, inflamación y diabetes.**

El tejido adiposo produce una gran cantidad de adipoquinas implicadas en el metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como en la regulación de la inflamación. Una alteración en la expresión de estos factores inducidos por la obesidad, contribuye a la progresión de varias enfermedades crónicas como consecuencia de reacciones inmunitarias disfuncionales (Molica, Morel, Kwak, Rohner-Jeanraud, & Steffens, 2015).

---

### 3.6.1. Leptina.

El gen de la leptina fue identificado por primera vez en 1994 mediante la clonación de genes posicionales de ratones ob / ob (Y. Zhang et al., 1994), esta hormona de 16 kDa es producida principalmente por el TAB cuyo primordial efecto biológico ocurre en el sistema nervioso central con el control de la ingesta de alimentos, producción y gasto de energía (Yu & Kim, 2012).

La leptina es transportada en el plasma hasta el hipotálamo donde se une a su receptor ObRb de las neuronas en el núcleo arqueado del hipotálamo, activando la vía de señalización STAT3, STAT5 y ERK (Barrios-Correa, Estrada, & Contreras, 2018) que da como resultado la producción de neuropéptidos anorexígenos en el que se incluye la hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  ( $\alpha$ -MSH) que activa las vías catabólicas, reduciendo la ingesta de alimentos y aumentando el gasto energético. (Huszar et al., 1997; Ibars et al., 2017; Yu & Kim, 2012). Una disrupción en la vía de señalización de ObRb-STAT3 induce obesidad severa en modelos de animales (Bates et al., 2003), además de inducir resistencia hepática a la insulina asociada a un incremento de la ingesta de alimentos (Buettner, Poci, Muse, Etgen, & Myers, 2006). Así también, la disrupción de la vía de señalización ERK resulta en un incremento de la ingesta de alimentos que induce obesidad con un fenotipo diabético, así como resistencia a la insulina (Krajewska et al., 2008).

Adicionalmente a los efectos sobre el balance energético, la leptina también está involucrada en la regulación del metabolismo de lípidos y glucosa en tejidos periféricos (J. Lin et al., 2003; Nogueiras, Wilson, Rohner-Jeanrenaud, & Tschöp, 2008). De hecho, la administración intra-cerebroventricular de leptina ha mostrado un incremento significativo de la sensibilidad a la insulina, utilización de la glucosa y mayor captación de glucosa en tejidos periféricos incluyendo el TAM (Gaspar et al., 2018; Minokoshi, Shahidul Haque, & Shimazu, 1998). Es así que, el tratamiento de la hiperfagia y la obesidad con la administración de leptina en personas y animales deficientes de esta hormona o su receptor, han mostrado una disminución de la ingesta de alimentos y pérdida de peso (Pelleymounter et al., 1995; Williamson et al., 2005). Sin embargo, la mayoría de personas obesas y pacientes con DMT2, presentan elevados niveles plasmáticos de leptina asociado a un aumento de la respuesta pro-

inflamatoria (Molica et al., 2015; Peelman et al., 2004), lo cual implica resistencia a la leptina antes de una deficiente producción de la misma, razón por la cual el tratamiento con leptina en estas personas no estimula la pérdida de peso ni mejora la acción de la insulina (Ambrosini, Nath, Sierra-Honigmann, & Flores-Riveros, 2002; Mittendorfer et al., 2011; Moon et al., 2011; Paz-Filho, Mastronardi, & Licinio, 2015)

Los mecanismos de resistencia a la leptina en sujetos obesos abarcan desde un transporte de leptina deficiente hacia el cerebro, debido a elevadas concentraciones plasmáticas de citoquinas pro-inflamatorias y ácidos grasos libres (Münzberg, 2010; Zhou & Rui, 2013), hasta un deterioro de la señalización de la leptina vía STAT3 ocasionado por la señalización de las citoquinas pro-inflamatorias, proteína tirosina fosfatasa (PTP), quinasa I-kappa B (IKK), factor nuclear-kappa B (NF-κB) y quinasa c-Jun (JNK). Todos estos mecanismos e incluido el estrés del retículo endoplasmático y la autofagia deficiente, contribuyen al deterioro de la señalización de leptina en el hipotálamo que resulta en un aumento del peso corporal y de obesidad. (Münzberg, 2010; Rosado, Monteiro, Chaia, & Lago, 2006; Sáinz, Barrenetxe, Moreno-Aliaga, & Martínez, 2015; X. Zhang et al., 2009).

### **3.6.2. Adiponectina.**

La adiponectina es una hormona de 30 kDa codificada en el cromosoma 3, locus 3q27, un área relacionada a la susceptibilidad de padecer diabetes (Vionnet et al., 2000). Esta hormona es sintetizada y secretada por los adipocitos de tres diferentes formas: una forma básica trimérica de bajo peso molecular (LMW), hexámeros de mediano peso molecular (MMW) y oligómeros de 4 a 6 trímeros de alto peso molecular (HMW) conocida como adiponectina globular. Todas estas formas de adiponectina se encuentran en el plasma y hay evidencias de que cada tipo posee diferente efecto biológico (Hada et al., 2007; Pajvani et al., 2003). Otros estudios demostraron que la forma trimérica de la adiponectina y no así el hexámero de HMW puede activar AMPK ( Proteína quinasa activada por AMP ) en el musculo esquelético (Tsao et al., 2003). Por otro lado, los complejos oligoméricos de adiponectina han mostrado un mejor efecto inhibitor de la producción de glucosa hepática (Pajvani et al., 2004). Además, en el año 2005 se propuso que la distribución de los complejos oligoméricos y no así de la

---

cantidad absoluta de adiponectina, determina la sensibilidad a la insulina (Trujillo & Scherer, 2005).

La adiponectina es una adipoquina que exhibe actividad anti-diabética, anti-inflamatoria y anti-aterogénica. Estudios han demostrado que la adiponectina incrementa la translocación del transportador de glucosa-4 (GLUT-4) (Ceddia et al., 2005) e incrementa la oxidación de ácidos grasos (Fruebis, 2001), lo cual mejora la captación de glucosa e incrementa el gasto energético en el músculo esquelético. Pero además, la sobreexpresión del receptor 1 de adiponectina (AdipoR1) amplifica la sensibilidad a la insulina de forma local (S. A. Patel et al., 2012). En el hígado la adiponectina disminuye la expresión de enzimas gluconeogénicas, disminuyendo así los niveles de glucosa sanguínea in vivo (Yamauchi et al., 2002). Otro efecto positivo de esta adipoquina es preservar la masa de células  $\beta$ , incrementando la proliferación celular e inhibiendo la apoptosis (Dunmore & Brown, 2013). En adición a estos efectos positivos, la adiponectina también puede actuar de manera autocrina estimulando la captación de glucosa en los adipocitos y antagonizando el efecto inhibitorio de TNF- $\alpha$  sobre la captación de glucosa en los mismos (X. Wu et al., 2003). Así también, suprime la producción inducida por TNF- $\alpha$  de citoquinas pro-inflamatorias y moléculas de adhesión celular incluyendo IL-8 (Kobashi et al., 2005). No obstante, TNF- $\alpha$  e IL-6 son potentes inhibidores de la expresión y secreción de adiponectina en biopsias de TAB humano y células en cultivo (Bruun et al., 2003; Fasshauer et al., 2003), lo cual sugiere que TNF- $\alpha$  e IL-6 pueden ejercer una inhibición autocrina-paracrina de la liberación de adiponectina, contribuyendo así a la resistencia a la insulina inducida por la inflamación (Fasshauer & Blüher, 2015; Sánchez Muñoz, García Macedo, Alarcón Aguilar, & Cruz, 2005).

Los adipocitos hipertróficos producen una menor cantidad de adiponectina. De hecho, las personas obesas y pacientes con DMT2 muestran una disminución de los niveles plasmáticos de adiponectina, por lo que esta adipoquina juega un rol central en el desarrollo de la obesidad, resistencia a la insulina, DMT2 y enfermedades cardiovasculares entre otros (Achari & Jain, 2017)

---

### 3.6.3. Resistina.

Esta adipoquina fue denominada resistina tras su observación de elevados niveles plasmáticos en ratones obesos, lo cual sugiere que induce resistencia a la insulina (Steppan & Lazar, 2004). La inmuno-neutralización de resistina ha mostrado una reducción de la hiperglucemia y resistencia a la insulina en ratones obesos inducidos con una dieta alta en grasa. En contraste, la administración de resistina recombinante ha mostrado un deterioro en la acción de la insulina y la tolerancia a la glucosa en ratones sanos (Koerner, Kratzsch, & Kiess, 2005). La resistina también incrementa la expresión de MCP-1 y moléculas de adhesión celular como VCAM-1 e ICAM-1 en células endoteliales, un proceso clave en la formación de lesiones ateroscleróticas (Kawanami et al., 2004; Verma et al., 2003). Aunque el rol fisiológico de la resistina en humanos no está bien definida, existe la hipótesis de que esta adipoquina es un marcador para establecer relación entre obesidad y DMT2, así como el desarrollo de aterosclerosis debido a que esta adipoquina estaría asociada con un proceso de inflamación vascular (H. Y. Choi et al., 2011) y el deterioro de la función vascular (Ramirez et al., 2018).

La resistina ha demostrado ser una adipoquina pro-inflamatoria y su aumento afecta directamente a la intensificación de la inflamación y en vista de que la obesidad inducida por la dieta conduce a la inflamación en el tejido adiposo e hígado, se ha sugerido que la resistina, producida principalmente por macrófagos, contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina (Park & Ahima, 2013). De hecho, la resistina puede estimular la producción de citoquinas pro-inflamatorias en monocitos humanos tras la activación de NF- $\kappa$ B (S. Lee et al., 2014). Razón por la cual esta adipoquina está muy relacionada con el desarrollo de DMT2, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (Kocot et al., 2017; Ramirez et al., 2018).

### 3.6.4. Factor de necrosis tumoral- $\alpha$

El factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) es una citoquina multifuncional sintetizada como un monómero transmembrana de 26 kDa que puede experimentar un clivaje proteolítico por la enzima convertidora de TNF- $\alpha$  (TACE) para obtener un producto soluble que está implicado en múltiples efectos locales y sistémicos (Black et al., 1997; Kriegler, Perez, DeFay, Albert, & Lu, 1988). TNF- $\alpha$  actúa sobre los leucocitos y el endotelio para inducir inflamación aguda,

---

y al igual que la Interleucina  $-1\beta$  (IL- $1\beta$ ) el TNF- $\alpha$  induce la expresión de la Interleucina-6 (IL-6) en los leucocitos y otros tipos celulares. Además, TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  e IL-6 median los efectos sistémicos protectores de la inflamación, como la inducción de fiebre, la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado y el aumento de la producción de leucocitos en la médula ósea. En adición a estos efectos, TNF- $\alpha$  también puede regular la diferenciación y proliferación celular, la apoptosis (Perez et al., 1990) y el metabolismo energético (H. Xu, Sethi, & Hotamisligil, 1999). Aunque el TNF- $\alpha$  es producido principalmente por los macrófagos, linfocitos natural killer (LNK) y linfocitos T, en la última década también se ha demostrado su producción por el tejido adiposo (Ramírez Alvarado & Sánchez Roitz, 2012). Pero además, los altos niveles circulantes de esta citoquina en la obesidad se han asociado con la resistencia a la insulina, DM2, trombosis, aterosclerosis y reducción de la función cardíaca.

Se ha descrito que la estimulación de TNF- $\alpha$  en cultivos de adipocitos humanos disminuye la expresión del RNAm del transportador de glucosa GLUT4 (Hauner, Petruschke, Russ, Rohrig, & Eckel, 1995) y en posteriores estudios se ha demostrado que TNF- $\alpha$  inhibe al sustrato del receptor de la insulina-1 (IRS-1) disminuyendo así, la señalización intracelular del receptor de insulina en adipocitos (Fernández-Veledo, Vila-Bedmar, Nieto-Vazquez, & Lorenzo, 2009), en células HepG2 (Gupta, Varma, & Khandelwal, 2007) y en células del músculo esquelético en humanos (K Bouzakri, Koistinen, & Zierath, 2005; Karim Bouzakri & Zierath, 2007). Además, existe evidencia de que los niveles séricos de TNF- $\alpha$  se correlacionan positivamente con los niveles séricos de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), triglicéridos (TG) y colesterol total (CT) y negativamente con el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) (Jovinge et al., 1998). Tanto la hipertrigliceridemia como los bajos niveles de HDL-C pueden ser producto de que TNF- $\alpha$  inhibe la actividad de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) (Fried & Zechner, 1989; Hauner et al., 1995) y disminuye la síntesis de las proteínas que forman parte estructural de las HDL (Haas et al., 2003; H. Song et al., 1998). Adicionalmente, algunos estudios han reportado que TNF- $\alpha$  ejerce efectos directos sobre las células  $\beta$ -pancreáticas inhibiendo la secreción de insulina (H. E. Kim et al., 2008) e induciendo la expresión de amilina (Cai et al., 2011), la cual es acumulada en forma de amiloide que ocasiona eventualmente la destrucción de células  $\beta$ -pancreáticas, siendo este

---

un factor potencial para el desarrollo de DMT2 (Westermarck, Andersson, & Westermarck, 2011).

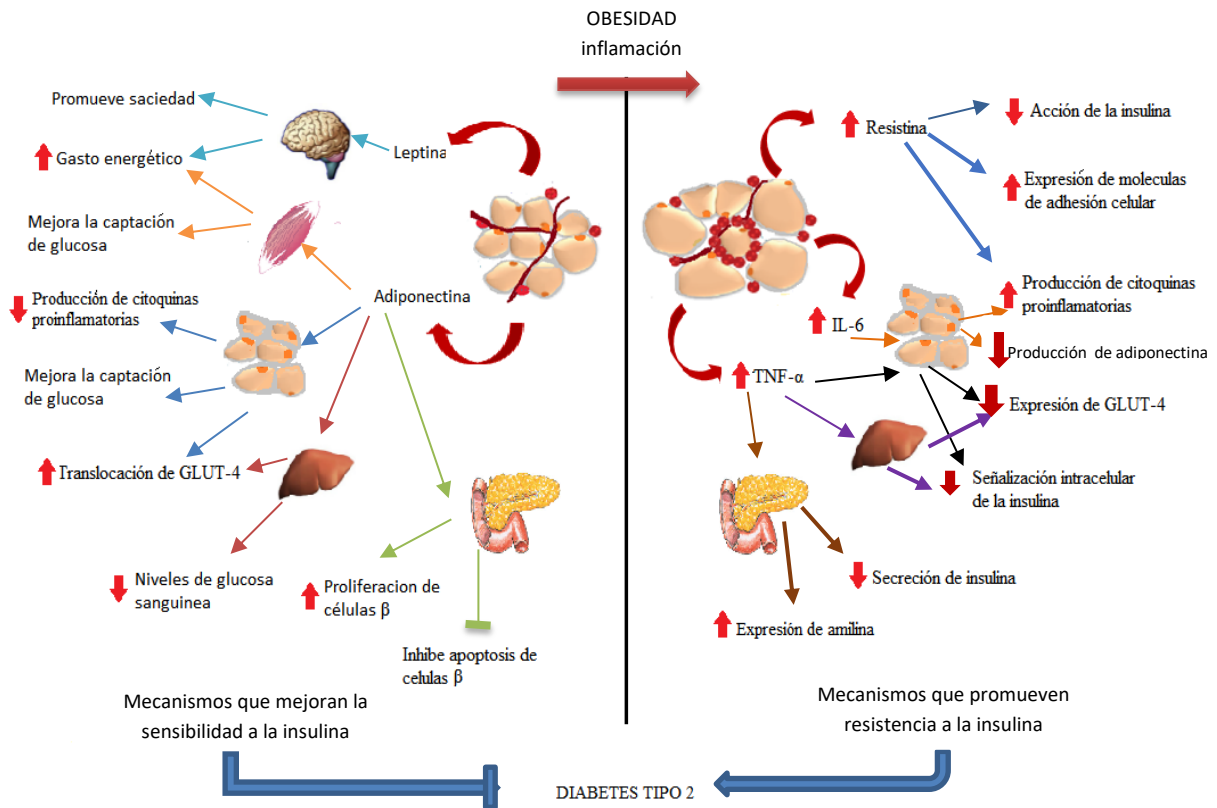
### **3.6.5. Interleucina 6**

La interleucina 6 (IL-6) es una citoquina producida por diversas células del sistema inmune en el que se incluyen los adipocitos. De hecho, el 30% de los niveles plasmáticos de IL-6 durante una inflamación aguda son producidos por el TAB (Mohamed et al., 1997), siendo las células del estroma vascular del tejido adiposo las mayores productoras de esta citoquina en comparación con los adipocitos maduros (Fain, Madan, Hiler, Cheema, & Bahouth, 2004). La IL-6 es una citoquina multifuncional y presenta similares efectos sistémicos a los de TNF- $\alpha$ . Además, sus niveles plasmáticos elevados se han correlacionado positivamente con el índice de masa corporal (BMI) en pacientes con DMT2 (Pickup, Chusney, Thomas, & Burt, 2000), por lo que están relacionados con obesidad, resistencia a la insulina y DMT2.

Estudios han demostrado que IL-6 inhibe la señalización de la insulina estimulando la expresión de SOCS3 que a su vez afecta a la expresión del receptor de insulina y la fosforilación de IRS-1 en hepatocitos (Senn, Klover, Nowak, & Mooney, 2002; Senn et al., 2003) y adipocitos (Rotter, Nagaev, & Smith, 2003), efectos que están estrechamente relacionados con la resistencia a la insulina (Bastard et al., 2006). Pero además, los altos niveles plasmáticos de proteína C reactiva (CRP) inducidos por IL-6 en los hepatocitos, ha sido recientemente reconocido como un marcador de riesgo para las complicaciones cardiovasculares (W. Xu, Tian, & Zhou, 2018).

En la figura 1 se muestran los mecanismos involucrados en el desarrollo de la patogénesis de la diabetes tipo 2, ocasionado por un desbalance en la producción de adipoquinas inducido por la obesidad.





**Figura 1. El tejido adiposo en la patogénesis de la diabetes tipo 2.** La secreción de leptina y adiponectina por el tejido adiposo, estimulan varios mecanismos que mejoran la sensibilización a la insulina en tejidos diana, la leptina estimula la secreción de neuropéptidos anorexígenos en el hipotálamo para reducir la ingesta de alimentos promoviendo saciedad además de incrementar el gasto energético. La adiponectina también estimula el gasto energético y mejora la captación de glucosa en el tejido muscular, adiposo e hígado, inhibe la apoptosis de células β-pancreáticas y estimula su proliferación, regulando de esta manera los niveles de glucosa sanguínea. Adicionalmente, la adiponectina estimula la producción de insulina y disminuye la producción de citoquinas proinflamatorias. Por otro lado, durante la obesidad se produce un desbalance en la producción de adipoquinas promoviéndose un ambiente proinflamatorio, la mayor secreción de resistina, IL-6 y TNF-α, disminuyen la acción de la insulina en tejidos diana y disminuyen la producción de adiponectina. IL-6 y TNF-α disminuyen la expresión del transportador de glucosa GLUT-4 y disminuyen la señalización intracelular de la insulina en tejido adiposo e hígado. Así también, la disminución en la secreción de la insulina y la expresión de amilina en células β-pancreáticas esta inducida por TNF-α. A medida que aumenta el tejido adiposo, la secreción de estas citoquinas proinflamatorias se incrementa mientras que los niveles de adiponectina disminuyen, ocasionando resistencia a la insulina y promoviendo la diabetes tipo 2.

---

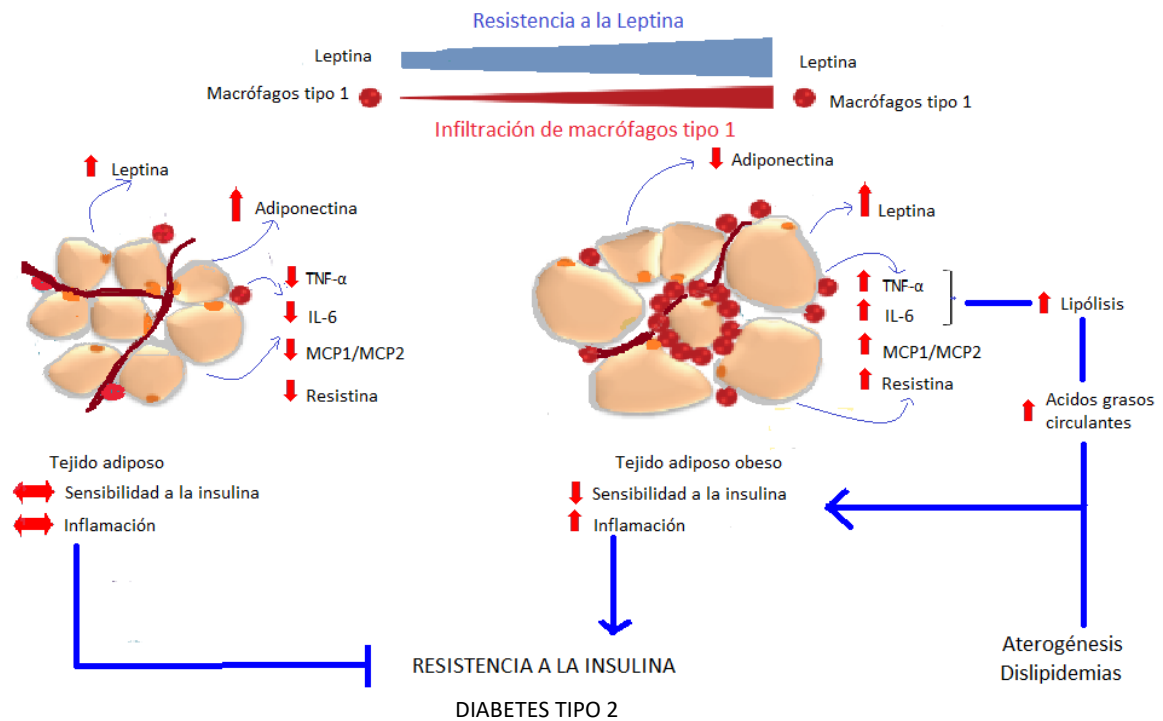
### **3.7. Infiltración de macrófagos en tejido adiposo.**

Como se indicó anteriormente, el incremento del tejido adiposo asociado a la obesidad ha mostrado una relación positiva con un bajo grado de respuesta inflamatoria, en el que se aprecia una alteración en la secreción de adipoquinas con un aumento en la secreción de mediadores inflamatorios en el que se incluyen la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), factor estimulante de colonias (CSF) y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (Neels & Olefsky, 2006). Sin embargo, la mayor producción de estos mediadores está dado por las células que forman parte del estroma vascular del tejido adiposo como: pre-adipocitos, células endoteliales, fibroblastos, leucocitos y macrófagos, siendo estos últimos los responsables de la inflamación crónica observada en obesidad (Sartipy & Loskutoff, 2003; Weisberg et al., 2003). Por tanto, la homeostasis vascular también juega un importante rol en el incremento del tejido adiposo. De hecho, la sobreexpresión de MCP-1, angiotensinógeno (AGE), y PAI-1 por el TAB, están relacionados con el reclutamiento de monocitos circulantes, hipertensión y deterioro del sistema fibrinolítico respectivamente (Sánchez Muñoz et al., 2005). Aumentando así, el riesgo de resistencia a la insulina, DMT2 y enfermedad cardiovascular (Molica et al., 2015).

Normalmente los macrófagos residentes del tejido adiposo se caracterizan por tener un incremento de la capacidad de reparación del tejido y angiogénesis, además de presentar un perfil anti-inflamatorio por lo que estas células están descritas comúnmente como macrófagos de tipo 2 (M2) (Gordon & Taylor, 2005). Sin embargo, en recientes estudios se ha demostrado que la expansión del tejido adiposo promueve la infiltración de macrófagos tipo 1 (M1) que presentan un perfil pro-inflamatorio incrementando la producción de TNF- $\alpha$ , IL-6 y óxido nítrico entre otros mediadores pro-inflamatorios que bloquean la acción de la insulina tanto en los adipocitos como en tejidos periféricos promoviendo resistencia a la insulina (Lumeng, Bodzin, & Saltiel, 2007; Mantovani et al., 2004).

Además de la infiltración de M1 mediada por la sobreexpresión de MCP-1 en adipocitos hipertróficos, también se ha observado la polarización de M2 residentes a un fenotipo pro-inflamatorio M1 en ratones obesos inducidos por dieta (Fujisaka et al., 2009), efecto que también está acompañado de un aumento de la infiltración de linfocitos T CD8<sup>+</sup> los cuales

activan y potencian la expresión de IL-6 y TNF- $\alpha$  en adipocitos de ratón, mientras que la depleción de estas células T CD8<sup>+</sup> revierte el estado pro-inflamatorio (Makki, Froguel, & Wolowczuk, 2013; Nishimura et al., 2009). Adicionalmente, en otros estudios se ha podido observar la infiltración de otras células del sistema inmune en al tejido adiposo (por ejemplo neutrófilos, eosinofilos, linfocitos TCD4<sup>+</sup>) que tendrían relación con el progreso del estado inflamatorio y resistencia a la insulina (Deiuliis et al., 2011; D. Wu et al., 2011; L. Wu et al., 2012) (Fig. 2).



**Figura 2. Infiltración de macrófagos dentro el tejido adiposo.** Con el aumento del tejido adiposo, se presenta un desbalance de las secreciones adipocitarias, promoviéndose un aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-1 $\beta$  Y TNF- $\alpha$  que ocasionan la activación de macrófagos residentes del tejido adiposo y el aumento en las secreciones de citoquinas proinflamatorias y quimioattractantes como MCP1/MCP2 que incrementarían la infiltración de macrófagos tipo 1 prolongando de esta manera el estado inflamatorio. Por otra lado, la producción de adiponectina que promueve la sensibilidad a la insulina se ve disminuida, mientras que la funcionalidad de la leptina (la hormona encargada de la sensación de saciedad) se ve comprometida por lo que la producción de esta hormona se incrementa, mostrando indicios de resistencia a la leptina. Este estado de inflamación crónica es acompañado de un aumento en la lipólisis y por ende una mayor concentración de ácidos grasos circulantes que disminuyen la sensibilidad a la insulina en tejidos dianas provocando

---

eventualmente resistencia a la insulina y otras complicaciones cardiovasculares que acompañan a la diabetes tipo 2.

Con todo el conocimiento que se ha desarrollado en los últimos años sobre la funcionalidad del tejido adiposo, podemos inferir que el tejido adiposo es un órgano altamente activo que integra las funciones metabólicas, endocrinas e inmunes, cuya interacción está altamente regulada. Sin embargo, la sobrenutrición provoca alteraciones de las secreciones de adipocinas que resulta en la polarización del fenotipo de las células inmunológicas que conducen a un estado inflamatorio (Mraz & Haluzik, 2014), donde los macrófagos tienen un papel protagónico debido a su alta capacidad de producir varios mediadores inflamatorios que promueven y preservan el estado de inflamación crónica presente en varias enfermedades metabólicas.

### **3.8. Mediadores inflamatorios producidos por macrófagos y su relación con la diabetes mellitus tipo 2.**

En vista de que los macrófagos tienen un papel crucial en la exacerbación del proceso inflamatorio, es importante tomar en cuenta que estas células producen una gran variedad de moléculas que regulan todo el proceso inflamatorio. Por tal razón, en los últimos años se ha estudiado la relación de algunas moléculas pro-inflamatorias con el desarrollo de la resistencia a la insulina y DMT2. En este sentido, solo se hará énfasis en los mediadores pro-inflamatorios de interés para este estudio.

#### **3.8.1. Prostaglandinas.**

Las prostaglandinas (PGs) son mediadores de origen lipídico con actividad autocrina y paracrina, son producidos por casi todas las células de nuestro cuerpo a partir del ácido araquidónico (AA), el cual es liberado de las membranas por la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub> (FLA<sub>2</sub>). Aunque existen varios tipos de FLA<sub>2</sub>, solo la fosfolipasa citosólica inducible (c FLA<sub>2</sub>α) juega un papel importante en la inflamación (Six & Dennis, 2000), debido a que su expresión se incrementa con la activación del factor de transcripción nuclear kappa β (NF-κβ). Posteriormente, el ácido araquidónico liberado es modificada por la enzima

---

ciclooxigenasa (COX) para la producción de prostaglandinas o por la enzima 5-lipoxigenasa para la producción de leucotrienos (Funk, 2001).

Actualmente se conocen tres isoformas de COX, que incluye dos formas constitutivas, COX-1 y COX-3, y una isoforma inducible COX-2. Sin embargo, en contraste con las demás células de mamífero, la COX-2 se expresa de forma constitutiva y dominante en células  $\beta$  de islotes pancreáticos (Sorli et al., 1998), cuya expresión es inducida por IL-1 $\beta$  acompañado de una mayor activación del NF-kB (Smith, DeWitt, & Garavito, 2000). El producto final de la ciclooxigenasa es un endoperóxido (PGH<sub>2</sub>) que por la acción de isomerasas es transformado en prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> y PGD<sub>2</sub>). La enzima microsomal PGE sintasa es la responsable por la síntesis de prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>), cuyo efecto principal es incrementar la vasodilatación para permitir la extravasación de leucocitos al sitio de inflamación además de inducir fiebre. Así también, las PGs ayudan a regular la producción de anti-cuerpos y de interleuquinas (Rojas M. et al., 2012). Debido a su importancia en la inflamación, en los últimos años se han realizado varios estudios que intentan demostrar una relación de la PGE<sub>2</sub> y las enzimas que intervienen en su síntesis con la secreción de insulina y DMT2.

Existe indicios de que PGE<sub>2</sub> modula negativamente la secreción de insulina estimulada por glucosa en células  $\beta$ -clonadas e islotes pancreáticos aislados (Metz, Robertson, & Fujimoto, 1981; Tran, Gleason, Poitout, & Robertson, 1999). De hecho, la inhibición selectiva de COX-2 atenúa el desarrollo de diabetes en modelos de ratones diabéticos inducidos con estreptozotocina, además de disminuir la inhibición de la secreción de insulina causada por citoquinas (Tabatabaie, Waldon, Jacob, Floyd, & Kotake, 2000). Por otro lado, las células  $\beta$ -pancreáticas requieren un contenido óptimo de insulina almacenada dentro de vesículas para permitir la secreción instantánea de insulina después de la ingesta de alimentos, y para ello existe un proceso regulado entre la biosíntesis y la degradación intracelular de insulina mediado por criofagia inducida por IL-1 $\beta$  (Landstram, Andersson, & Borg, 1991; Southern, Schulster, & Green, 1990). El hecho de que la disminución de la producción de óxido nítrico y PGE<sub>2</sub>, disminuyó en casi un 50% la degradación de insulina intracelular en células  $\beta$ -pancreáticas, sugiere que la degradación significativa de la insulina intracelular puede

---

depender de la actividad de la COX-2 posiblemente estimulado por el óxido nítrico endógeno (Sandberg & Borg, 2006).

PGE<sub>2</sub> ejerce su función tras su unión con el receptor de prostaglandina (PTGER) del cual existen cuatro tipos (PTGER1-4), pero solo PTGER3 tiene actividad post-receptor que resulta en la disminución de AMPc (Negishi, Sugimoto, & Narumiya, 1995). PGE<sub>2</sub> puede inducir disfunción de las células β- pancreáticas a través de la activación de PTGER3 que induce la expresión del gen *Ptger3*, la inhibición de la generación de AMPc intracelular y la regulación positiva de la actividad de FOXO mediante la supresión de la vía de señalización PI3K / Akt (Meng et al., 2006); una vía fundamental que regula el transporte de glucosa, síntesis y secreción de insulina entre otros.

Por último, otro estudio demostró que el bloqueo de PTGER3 aumentó la proliferación de células β-pancreáticas humanas y de islotes de ratones jóvenes. De hecho, el bloqueo de PTGER3 en combinación con la activación de PTGER4 mejoró la proliferación de las células β-pancreáticas humanas, pero no de ratón. Adicionalmente, el bloqueo de PTGER3 o la activación de PTGER4 aumentaron la supervivencia de las células β en presencia de citoquinas (Carboneau et al., 2017). Todos estos estudios nos muestran indicios de que PGE<sub>2</sub>, COX-2 y los receptores PTGER3 y PTGER4 tienen un rol importante en la funcionalidad y supervivencia de las células β-pancreáticas. Por lo tanto, un ambiente pro-inflamatorio característico de la obesidad donde los niveles de PGE<sub>2</sub> están elevados, podría contribuir al desarrollo de la DMT2.

### **3.8.2. Leucotrienos.**

Los leucotrienos (LTs) son otro tipo de mediadores lipídicos derivados del AA producidos por la enzima 5-lipoxigenasa (5-LO) que produce un intermediario inestable LTA<sub>4</sub>, el cual es hidrolizado y da lugar a la formación del leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), o este puede conjugarse con glutatión reducido por la enzima leucotrieno C4 sintasa para producir LTC<sub>4</sub>. El LTC<sub>4</sub> liberado se convierte en LTD<sub>4</sub>, que sufre una conversión a LTE<sub>4</sub> por hidrólisis secuencial de aminoácidos (Funk, 2001; Peters-Golden & Henderson, 2007). A diferencia de las PGs, los LTs son producidos principalmente por células pro-inflamatorias como macrófagos, neutrófilos, eusinófilos y mastocitos. Los LTs son vasodilatadores y potentes mediadores

---

pro-inflamatorios que regulan varios aspectos de la inmunidad innata y adaptativa, regulando la producción de citoquinas, migración celular, diferenciación y proliferación celular (Peters-Golden & Henderson, 2007).

Desde que la diabetes ha sido relacionada con un estado pro-inflamatorio en el tejido adiposo y resistencia a la insulina, se han realizado varias investigaciones que muestran un vínculo entre la vía de 5-LO y la producción de leucotrienos con el desarrollo de la diabetes y enfermedades cardiovasculares.

LTB<sub>4</sub> es un potente quimioattractante y activador de leucocitos, promueve la generación de macrófagos M1, inhibe la diferenciación de linfocitos T reguladores (LT reg) y estimula la diferenciación de linfocitos TH17 (Costa et al., 2010; Harizi & Gualde, 2002; Prinz et al., 2005), efectos que condicionan un estado pro-inflamatorio. Así también, la expresión del gen ALOX5AP que codifica la proteína activadora de la 5-lipoxigenasa (FLAP) así como 5-LO se encuentran aumentados en el tejido adiposo subcutáneo de personas obesas y son reducidos con la pérdida de peso, siendo la sobreexpresión de ALOX5AP un indicador asociado a resistencia a la insulina (Kaaman et al., 2006). Además, la inhibición de FLAP reduce significativamente el tamaño de las lesiones ateroscleróticas y el contenido de células T en el sitio (Bäck, Sultan, Ovchinnikova, & Hansson, 2007).

Otro estudio demostró que la expresión de FLAP y los niveles de LTB<sub>4</sub> se encuentran elevados en tejido adiposo de ratones obesos en comparación con los ratones normales. Así mismo, la sobreexpresión de FLAP en el tejido adiposo muestra una relación positiva con la infiltración de macrófagos (Horrillo et al., 2010). Además, la incubación de tejido adiposo con productos de 5-LO resulta en la activación de NF-κB y la secreción aumentada de adipoquinas pro-inflamatorias tales como MCP-1, IL-6 y TNF-α (Horrillo et al., 2010; Martínez-Clemente, Clària, & Titos, 2011).

Por otro lado, la vía de la 5-lipoxigenasa también desempeña un papel importante en el aumento de la inflamación en el tejido hepático y es un factor patogénico en la enfermedad de hígado graso no alcohólico inducido por la obesidad (Li et al., 2015; Martínez-Clemente et al., 2011).

Los ratones que son deficientes para la enzima 5-LO o del receptor de LTB<sub>4</sub> (BLT-1), exhiben una disminución de la infiltración de macrófagos y células T en el AT de ratones obesos inducidos por una dieta alta en grasa (HFD) y están parcialmente protegidos de la resistencia a la insulina inducida por HFD y la inflamación en el tejido adiposo y el hígado (Mothe-Satney et al., 2012). La supresión total de BLT-1 induce una disminución en la acumulación de triglicéridos hepáticos y previene la pérdida de señalización de la insulina inducida por la grasa en el hígado y el musculo esquelético (Li et al., 2015; Spite et al., 2011). La suplementación del inhibidor de 5-LO (Zileuton) en ratones alimentados con HFD, también reduce la infiltración de macrófagos y células T dentro del tejido adiposo, el cual se acompaña con una disminución de la resistencia a la insulina (Mothe-Satney et al., 2012; Neels, 2013). Todos estos hallazgos indican que la vía de 5-LO y sus productos tienen gran importancia en el desarrollo de resistencia a la insulina, DMT2, aterosclerosis y enfermedad del hígado graso no alcohólico inducido por obesidad, razón por la que la inhibición de los LTs y/o sus receptores puede ser un target terapéutico para el desarrollo de nuevas terapias que induzcan la sensibilización a la insulina y reduzcan el estado pro-inflamatorio característico de estas patologías (Filgueiras, Serezani, & Jancar, 2015; Ying et al., 2017).

### **3.8.3. Óxido nítrico.**

El óxido nítrico (NO) es un mediador pleiotrópico de la inflamación de apenas 30 Da. Es sintetizado por las células endoteliales, macrófagos y grupos neuronales específicos del cerebro. El NO es sintetizado a partir de la L-arginina y oxígeno molecular, catalizado por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) (Knowles & Moncada, 1994), de la cual existen tres tipos: óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) y la inducible (iNOS o NOS2) (Stuehr, 1999). La eNOS desempeña un papel importante en la función vascular, mantiene los vasos sanguíneos dilatados, controla la presión arterial y tiene muchos otros efectos vasoprotectores y antiateroscleróticos. Por otro lado, iNOS se expresa en respuesta a LPS, citoquinas pro-inflamatorias u otros mediadores de la inflamación que provoca, aumento de la vasodilatación, la permeabilidad vascular y la quimiotaxis (Forstermann & Sessa, 2011).



Existe evidencia de que las citoquinas y el LPS afectan el transporte de glucosa y la acción de la insulina al inducir la expresión de iNOS y la producción de NO en las células musculares esqueléticas (Bédard, Marcotte, & Marette, 1997). La inducción crónica de iNOS puede causar resistencia a la insulina en el músculo esquelético, ratones deficientes de iNOS están protegidos de la resistencia a la insulina inducida por HFD y muestran una mejor tolerancia a la glucosa. Además, la inducción de iNOS en ratones obesos, se asoció con alteraciones en la fosfatidilinositol 3-quinasa y la activación de Akt por la insulina en el músculo (Perreault & Marette, 2001). La expresión de iNOS también reduce la expresión de IRS-1 en células del músculo esquelético de ratones obesos, mientras que la alteración del gen iNOS o el tratamiento con su inhibidor mejora la expresión reprimida de IRS-1 en el músculo esquelético de ratones ob/ob, razón por la cual iNOS puede contribuir a la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad (Sugita et al., 2005). Por otro lado, la expresión selectiva de iNOS en el hígado causa resistencia a la insulina hepática debido a interrupciones en la vía de señalización de la insulina, lo que lleva a hiperglucemia e hiperinsulinemia (Shinozaki et al., 2011). En contraste, los ratones deficientes de iNOS están protegidos de la resistencia a la insulina periférica y hepática inducida por lípidos (Charbonneau & Marette, 2010). Mientras que el ejercicio disminuye los niveles de expresión de iNOS en el hígado, reduciendo la resistencia a la insulina (Tsuzuki et al., 2015), un alterado metabolismo de lípidos en el hígado inducido por obesidad también puede ocasionar una sobreexpresión de iNOS. Promoviendo así, la resistencia a la insulina (Stanimirovic et al., 2015)

### **3.9. Tratamiento de la diabetes.**

La diabetes tiene varias características que promueven su desarrollo, por lo que el tratamiento consta de tres factores esenciales: el tratamiento farmacológico, la alimentación y el ejercicio moderado. Tanto la alimentación como el ejercicio son factores muy importantes, varios estudios han demostrado que el ejercicio moderado y la pérdida de peso disminuyen la producción de citoquinas pro-inflamatorias y los niveles lipídicos en sangre, además de estimular la secreción de adiponectina. Disminuyendo así, el riesgo de resistencia a la insulina en tejidos diana (Aye et al., 2018; Martinez-Huenchullan et al., 2018; Stanford, Middelbeek, & Goodyear, 2015).

---

Durante muchos años las sulfonilureas (SU) y la insulina fueron las únicas opciones disponibles. Aunque las SU y sus derivados aumentan la secreción de insulina por las células  $\beta$ -pancreáticas y disminuyen el riesgo de lesiones macro y micro-vasculares (Stumvoll, Goldstein, & Haeften, 2005; Wright, 2002), su acción constante incluso a concentraciones bajas de glucosa provoca hipoglicemia y conduce a resistencia a la insulina (Gunaratne, Austin, & Wu, 2018). Otros fármacos como las tiazolidinedionas, aumentan la sensibilidad a la insulina, disminuyen la dislipidemia y la inflamación, y adicionalmente aumentan las concentraciones de adiponectina (Yki-j & Ppars, 2004). Sin embargo, los efectos negativos más comunes son la ganancia de peso acompañado de un mayor almacenamiento de TG y retención de fluidos que puede llegar a hemodilución (Chang, Park, & Park, 2013).

Desde 1950, las guanidinas fueron los fármacos de elección para el tratamiento de la diabetes. No obstante, en 1977 la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, ordenó el retiro de estos fármacos del mercado y su uso clínico, debido a que se demostró su relación con la acidosis láctica. Sin embargo, la metformina sigue siendo el medicamento de elección y de primera línea del esquema de tratamiento para la DMT2 recomendado en varios países del continente americano y europeo (Inzucchi et al., 2015; Rodulfo, Blanco, Aure, & Palacios, 2017).

Aunque el mecanismo de acción de la metformina no es del todo claro, se conoce que este medicamento inhibe la gluconeogénesis hepática debido a que inhibe el complejo I mitocondrial y activa AMPK que concluye con la activación de las vías catabólicas mientras que las vías anabólicas se desactivan. Entre sus varios efectos benéficos se conocen el efecto hipoglicemiante, efecto antiobesidad, efecto antilipidémico, efecto hepatoprotector y cardioprotector (Rodulfo et al., 2017). Sin embargo, los casos de acidosis láctica asociado a metformina se han incrementado en los últimos años y debido a que este fármaco se elimina exclusivamente por vía renal, su empleo está contraindicado en pacientes con fallo renal fundamentalmente por el mayor riesgo de acidosis láctica (Asif, Bennett, & Marakkath, 2019; Flory, Hennessy, Bailey, & Inzucchi, 2019).

En los últimos años se han empleado los fármacos incretínicos y los fármacos glucosúricos para el tratamiento de la diabetes, estos nuevos grupos farmacológicos, representan una

alternativa de eficacia discreta en cuanto a la mejora del control glucémico con un perfil beneficioso en referencia al aumento de peso y las hipoglucemias (Cholankeril et al., 2018). Sin embargo, no presentan mucha eficacia y es necesario un tratamiento concomitante con SU, insulina y/o anti-hipertensivos (Li-xin et al., 2008), y aunque las hipoglucemias graves han sido acontecimientos muy poco frecuentes en varios estudios, el perfil de seguridad a largo plazo con todos estos fármacos aún es cuestionable debido a la presencia de varios efectos adversos (Bjornstad & Eckel, 2018).

Los productos naturales son una fuente natural de potentes compuestos bioactivos que pueden coadyuvar al tratamiento y prevención de ciertas enfermedades, además que presentan pocos efectos adversos. Es así que *Chenopodium quinoa* Willd. fue seleccionado para la evaluación de su actividad antiinflamatoria sobre mediadores inflamatorios presentes en obesidad y diabetes tipo 2.

### **3.10. *Chenopodium quinoa* Willd.**

*Chenopodium quinoa* Willd. (C. quinoa) es un pseudocereal nativo de Sudamérica, cultivado originalmente en los Andes de Bolivia y Perú. Sin embargo, en los últimos años su producción se ha expandido a diversos países de Europa y Asia (FAO, 2011).

C. quinoa comúnmente llamado quinua pertenece a la subfamilia Chenopodiaceae de las Amarantáceas. C. quinoa es una planta herbácea con hojas anchas y polimorfos con un tallo central más o menos ramificados y flores pequeñas en panículas, cuya altura puede llegar a medir de 1 a 3 metros y está bien adaptada a climas extremos que incluye déficit de agua, bajas temperaturas, salinidad y suelos poco enriquecidos además de soportar alturas muy elevadas (hasta 4000 m.s.n.m.) como es el caso de los cultivos en Bolivia (fig. 1) (Bascuñán Godoy, Reguera, Abdel-Tawab, & Blumwald, 2015; Choukr-Allah et al., 2016; Ruiz et al., 2014).



*Figura 3 Cultivo de Chenopodium quinoa willd. (Vega-Gálvez et al., 2010)*

Los cultivos de quinua particularmente en Bolivia, presentan una gran diversidad genética según las condiciones agroecológicas donde se desarrollan; según Mujica esta diversidad genética se manifiesta en la variabilidad de la coloración de la planta, inflorescencia y semilla, además del contenido de proteína, saponina y betacianina en las hojas, con lo que se obtiene una amplia adaptación a diferentes condiciones agroecológicas (citado en FAO, 2011). Pero además, recientes estudios demuestran que las propiedades fitoquímicas varían considerablemente entre los genotipos (Bascañán Godoy et al., 2015; Saad-Allah & Youssef, 2018) y los factores ambientales (Bascañán Godoy et al., 2015); en cuanto a su distribución, la mayor diversidad genética se alberga en el altiplano de La Paz, Oruro y Potosí, pero también existe una diversidad genética significativa en los valles interandinos de Cochabamba, Chuquisaca y Potosí.

La quinua cultivada en los salares del departamento de Potosí obtuvo su sello de denominación como “Quinua Real del Altiplano Sur” en el 2014, después de ser reconocida por los países miembros de la Comunidad Andina de Naciones (CAN) como un producto 100% boliviano. Es así que, la Quinua Real se produce únicamente en el Altiplano Sur de Bolivia (Cabolqui, 2017) debido a que está perfectamente adaptada a sus características

---

extremas: un clima frío y seco (entre 200 y 400 mm de lluvia anual), suelos salinos y elevadas altitudes (entre 3700 y 4200 m.s.n.m.), condiciones que permiten la producción de un grano de mayor tamaño, con características organolépticas particulares y un mayor valor nutricional en comparación con la quinua cultivada en Estados Unidos, Australia o Canadá (Cabolqui, 2017; Ortiz García, 2017)

Debido a la alta adaptabilidad de los cultivos de quinua a diferentes condiciones agroecológicas, y por sobre todo a su alto valor nutricional de las semillas de *C. quinoa*; la FAO (2011) ha considerado a este grano ancestral un cultivo importante con el potencial de contribuir a la seguridad alimentaria en todo el mundo, y desde entonces *C. quinoa* ha llamado la atención de varios investigadores a nivel mundial.

### **3.10.1. Propiedades nutricionales.**

*C. quinoa* presenta un gran valor nutricional, tanto las hojas como las semillas de *C. quinoa* forman parte de la alimentación de los pueblos andinos; las hojas se emplean en ensaladas y sopas, mientras que las semillas son altamente empleadas para la preparación de harinas, sopas, segundos, masas, panes, bebidas y una gran variedad de merienda seca típicas de la región andina de Bolivia. Por otra parte, muchas industrias han empleado las semillas o harina de quinua para la producción de alimentos no tradicionales y así incrementar su consumo en la población, tal es el caso de los cereales, hojuelas, api, galletas y pasteles entre otros.

Estudios han reportado que las semillas de *C. quinoa* son ricas en proteínas y poseen un balance único entre aminoácidos esenciales en comparación con otros cereales, su particular composición de aminoácidos es cercana al equilibrio ideal de proteínas recomendadas por la FAO y es similar al de la leche; adicionalmente, su alto contenido en lisina y su mayor disponibilidad de triptófano lo ha catalogado como el alimento más completo en proteínas entre la mayoría de los cereales (Comai et al., 2007; Vega-Gálvez et al., 2010).

El contenido lipídico de las semillas de quinua es rico en ácidos grasos esenciales como el ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico, y presenta altas cantidades de antioxidantes como el  $\alpha$  y  $\gamma$ -tocoferol (Filho et al., 2017). Dentro de la porción lipídica de las semillas de quinua, el 88%

aproximadamente corresponde a los ácidos grasos poliinsaturados (Repo-Carrasco, Espinoza, & Jacobsen, 2003). los cuales presentan un efecto positivo en enfermedades cardiovasculares, metabolismo de prostaglandinas, sistema inmune y función de la membrana celular (Calder & Grimble, 2002; Richard, Kefi, Barbe, Bausero, & Visioli, 2008).

El almidón es el principal componente de los carbohidratos en la quinua y representa entre el 52% y 69% de la materia seca, los azúcares simples se presentan en aproximadamente el 3% donde el contenido de fructuosa y glucosa es menor en comparación a D-ribosa, D-galactosa y maltosa, dando lugar a un índice glucémico bajo (Abugoch, 2009; Vega-Gálvez et al., 2010). Además, el alto contenido de fibra dietética y la carencia de gluten en las semillas de quinua, lo convierten en una alternativa nutricional para pacientes con enfermedad cética (Vega-Gálvez et al., 2010). En la tabla 1 se muestra el contenido de macronutrientes de quinua en comparación con otros cereales.

**Tabla 1 Composición promedio aproximada de los granos de quinua en comparación con otros cereales (g /100 g de materia seca).**

Componente	Quinua	Arroz	Cebada	Trigo	Maíz	Centeno	Sorgo
Lípidos	7.0	3.2	1.3	2.8	5.3	1.8	3.6
Proteína	16.3	8.8	11.0	14.8	10.5	11.6	12.4
Cenizas	2.7	1.7	1.2	1.8	1.3	1.8	1.7
Fibra dietética	7.0	3.5	15.6	10.7	7.3	15.1	6.3
Carbohidratos	74.0	86.3	86.5	80.6	82.9	84.8	82.3
Kcal 100/ g	424.2	409.2	401.7	406.8	421.3	401.8	411.2

(Fuente: Filho et al., 2017)

Adicionalmente, la quinua también es muy rico en micronutrientes como las vitaminas y minerales. Las semillas de quinua presentan concentraciones significativas de vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflabina), B6 (piridoxina), C (ácido ascórbico) y E (tocoferoles y tocotrienoles) en comparación con otros cereales (Tabla 2); presenta también altos valores de ácido fólico y minerales como el calcio, fosforo, hierro y zinc (Filho et al., 2017; Vega-Gálvez et al., 2010).

A pesar de todos los macro y micronutrientes que posee este pseudocereal, también presenta moléculas bioactivas en las que podemos mencionar a los ácidos fenólicos, flavonoides, saponinas, entre otros con actividad anti-oxidante, anti-inflamatoria y anti-cáncer las cuales han tomado mucho interés en los últimos años.(Gawlik-Dziki et al., 2013; Hu et al., 2017; Tang, Li, Chen, et al., 2015; Tang, Li, Zhang, et al., 2015). Sin embargo, son necesarios más estudios para identificar sus beneficios en la salud tanto para mantener o mejorar la salud o inclusive para prevenir o tratar ciertas enfermedades.

**Tabla 2 Concentraciones de vitaminas en granos de C. quinoa y otros cereales (mg /100 g)**

Vitaminas	Quinoa	Arroz	Avena	Trigo
Tiamina (B1)	0.36	0.40	0.76	0.50
Riboflavina (B2)	0.32	0.09	1.39	0.16
Niacina	1.52	5.09	0.96	4.96
Piridoxina (B6)	0.49	0.51	0.12	0.41
Ácido pantoténico	0.77	1.49	1.35	0.60
Ácido ascórbico (C)	ni	nd	nd	nd
Folatos totales (mg /100 g)	184.00	20.00	56.00	44.00
α-tocoferol (E)	2.44	1.20	ni	0.71
β-tocoferol	0.08	nd	ni	0.23
γ-tocoferol	4.55	nd	ni	1.91
δ-tocoferol	0.35	nd	ni	nd
β-Caroteno (µg /100 g)	8.00	nd	ni	5.00
Vitamina A (µg RE /100 g)	1.00	nd	nd	nd
Vitamina A (UI)	14	nd	nd	9

ni = no informado

nd = no detectado

(Fuente: Filho et al., 2017).

### 3.10.2. Propiedades farmacológicas.

El uso de la quinua en la medicina tradicional tiene varias aplicaciones, entre sus usos más frecuentes se pueden mencionar el tratamiento de abscesos, hemorragias y luxaciones. La cocción de las hojas en vinagre se utiliza para desinflamar la garganta y tratar las anginas; la infusión de las hojas se usa para tratar las infecciones urinarias o como laxante. Por otra parte, las semillas de quinua se emplean de diversas maneras para combatir las afecciones hepáticas, las anginas, la cistitis y los dolores dentales. La cualidad anti-inflamatoria y cicatrizante de las semillas, es conocida en las comunidades del altiplano, quienes los



---

emplean en emplastos combinados con otras plantas para curar las fracturas de huesos (Rojas, Alandía, Irigoyen, Blajos, & Santivañez, 2011).

Las investigaciones sobre la actividad farmacológica de *C. quinoa* han sido dirigidas principalmente a respaldar la actividad anti-inflamatoria y anti-oxidante de las semillas. Sin embargo, también se ha reportado actividad inmunoreguladora, anti-cáncer y anti-diabética.

Las saponinas de las semillas de quinua han sido una de las primeras moléculas identificadas con actividad anti-inflamatoria. Un extracto hidrolizado de las saponinas obtenidos de residuos de *C. quinua*, muestra una actividad anti-inflamatoria significativa en el modelo de edema de oreja en ratones, y adicionalmente, compuestos aislados de este extracto muestran un efecto anti-inflamatorio en el modelo murino de edema de pata (Lozano, Gonzales, Flores, & Almanza, 2013). Ensayos realizados en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS, mostraron que las saponinas fraccionadas de las semillas de *C. quinoa* inhiben significativamente la producción de NO, IL-6 y TNF- $\alpha$  (Yao, Yang, et al., 2014)

Otro estudio realizado por Yao (2014) demostró que los polisacáridos de las semillas de *C. quinoa* presentan un significativo efecto antioxidante e inmunoregulador. Fracciones acuosa y alcalinas de los polisacáridos de la quinua mostraron un potente efecto antioxidante evaluados por el método DPPH (actividad de eliminación de radicales) y ORAC (Capacidad atrapadora de radicales oxígeno). La actividad inmunoreguladora fue evaluada en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS donde se observó que la producción de NO, IL-6 y TNF- $\alpha$ , fue menor en comparación con el LPS y mayor en comparación con las células sin tratar (Yao, Shi, et al., 2014).

Los polisacáridos de bajo peso molecular extraídos y purificados de las semillas de *C. quinoa* presentan actividad anti-oxidante, inmunoreguladora y anti-cáncer. La significativa actividad anti-oxidante fue evaluada por DPPH y ABTS. Los resultados de la evaluación de la actividad inmunoreguladora en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS, sugiere que el purificado exhibe un efecto inmunopotenciador así como anti-inflamatorio. Adicionalmente, este purificado mostró una significativa inhibición de la proliferación celular contra líneas celulares cancerosas (SMMC 7721 y MCF-7) de manera dosis y tiempo dependiente (Hu et al., 2017).



---

La actividad anti-oxidante y anti-inflamatoria de las semillas de quinua, también fue demostrada por la presencia del péptido lunasina. La purificación de este péptido proveniente de las semillas de *C. quinoa* exhibió una débil actividad de captación de radicales por DPPH pero una fuerte actividad de captación de radicales por ABTS; además, inhibió la producción de NO, IL-6 y TNF- $\alpha$  en macrófagos RAW264.7 estimulados por LPS (G. Ren et al., 2017).

Otro tipo de compuestos con potencial efectos bioactivos en los granos de quinua son las betalainas. Estudios han demostrado que estos pigmentos presentan una significativa actividad antioxidante (Escribano et al., 2017). Estudios in vitro con diferentes líneas celulares han demostrado el potencial de las betalainas en la quimioprevención del cáncer, y los experimentos in vivo han demostrado que los suplementos dietéticos inhiben la formación de tumores en ratones (Gandía-Herrero, Escribano, & García-Carmona, 2016)

Otro efecto benéfico de *C. quinoa* fue demostrado tras la suplementación de las semillas de quinua en ratas alimentadas con una dieta alta en fructuosa. Los resultados mostraron una reducción significativa del colesterol sérico total y los triglicéridos inducidos por la dieta alta en fructuosa en las ratas tratadas. Las semillas de quinua también redujeron los niveles de glucosa y proteína total plasmática. Además, la disminución de HDL-colesterol inducido por la fructuosa fue restablecida por las semillas de quinua en las ratas tratadas (Paško, Zagrodzki, Bartoń, Chłopiczka, & Gorinstein, 2010). Por otro lado, en un estudio del consumo de quinua procesada en sujetos prediabéticos, se pudo apreciar que este producto disminuyó significativamente el IMC y hemoglobina glucosilada; además de aumentar la sensación de saciedad y plenitud (Abellán Ruiz et al., 2017).

Estudios sobre moléculas bioactivas presentes en las semillas de *C. quinoa* con potencial efecto anti-obesidad, también fueron estudiadas previamente. Los polifenoles de la quinua presentan un efecto protector contra la inflamación intestinal inducida por la obesidad. Un estudio realizado en ratones obesos (db/db) demostró que la suplementación con quinua evita el aumento de peso en estos ratones y disminuye significativamente los niveles de RNAm de las citoquinas inflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-8 y TNF- $\alpha$  en células de la mucosa colónica, mostrando así, un efecto protector contra la inflamación inducida por la obesidad (Noratto et al., 2015). Adicionalmente, los compuestos fenólicos extraídos de la cocción de la quinua disminuyen

---

significativamente los niveles de RNAm de IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y COX-2, pero aumenta la expresión de IL-10 (citoquina anti-inflamatoria) de manera dosis dependiente (Tang & Tsao, 2017).

20-hidroxiecdisona, un fitoecdisteroide encontrado en las semillas de quinua, ha reportado un efecto preventivo contra el desarrollo de la obesidad. La suplementación del extracto de quinua o extracto de quinua enriquecido con 20- hidroxiecdisona en ratones alimentados con una dieta alta en grasa, redujo el desarrollo del tejido adiposo asociado a un menor tamaño de los adipocitos y una disminución en la expresión de genes involucrados en el almacenamiento de lípidos (PPAR $\gamma$ , lipoproteína lipasa y fosfoenolpiruvato carboxicinas). Además, los ratones tratados mostraron una atenuación marcada de los niveles de RNAm de varios marcadores inflamatorios (MCP1, CD68, TLR4) y resistencia a la insulina (osteopontina, PAI-1)(A. Foucault et al., 2012). Más tarde, en un estudio complementario al primero, se demostró que la suplementación del extracto de quinua enriquecido con 20-hidroxiecdisona en ratones alimentados con una dieta alta en grasa, aumento significativamente el gasto energético global y ocasionó un cambio en el metabolismo de la glucosa hacia la oxidación en detrimento de la lipogénesis. Además, disminuyó la absorción de lípidos de la dieta y estimuló su excreción en las heces, efectos que en conjunto conducen a un menor almacenamiento de lípidos dentro del tejido adiposo y representan un efecto anti-obesidad (A. S. Foucault et al., 2014).

#### 4. Diseño metodológico.

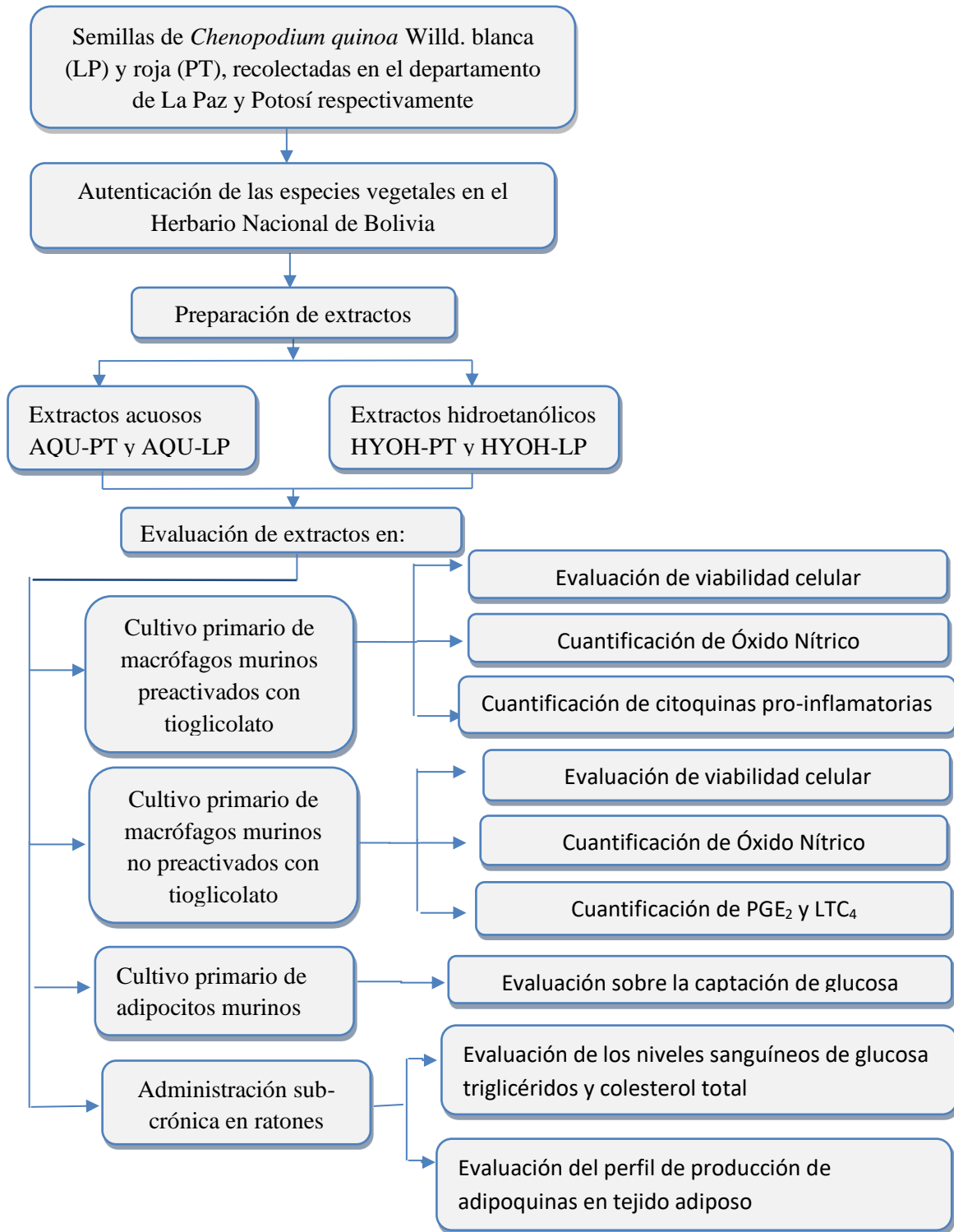


Figura 4 Diseño metodológico.

---

## 5. Metodología

### 5.1. Colección del material vegetal.

Semillas de *Chenopodium quinoa* Willd. (*C. quinoa*) fueron recolectadas de productores locales de los departamentos de La Paz (quinua blanca) y Potosí (quinua roja), en la localidad de Huancané Provincia Los Andes (Latitud 16°18'14.14''Sur y longitud 68°32'35.88''Oeste) y Municipalidad Llica Provincia Daniel Campos (Latitud 19°51'9.48''Sur y longitud 68°14'36.47''Oeste) respectivamente. Posteriormente, los granos de *C. quinoa* fueron identificados y autenticados por el Herbario Nacional de Bolivia – UMSA.

### 5.2. Preparación de extractos.

Semillas de *C. quinoa* fueron lavadas con agua destilada con la finalidad de eliminar los componentes de la cobertura de los granos, siendo esta porción rica en saponinas. Seguidamente, las semillas fueron secadas a temperatura ambiente y luego fueron trituradas hasta obtener un polvo fino que fue macerado con agua destilada (extracto acuoso) o una solución de etanol al 70% (extracto hidroetanólico) en una proporción de 200 g para 500ml de solvente durante 24 y 48 horas respectivamente. Para ambos extractos, se realizó el recambio de solvente cuatro veces para maximizar el rendimiento. Posteriormente, los sobrenadantes obtenidos de las maceraciones fueron filtrados en tela milimetrada y luego en papel filtro. A continuación, el extracto hidroetanólico fue sometido a evaporación con presión reducida en un rotaevaporador (Heidolph, Laborata 4000 efficient) para eliminar la porción etanólica y el remanente de agua de ambos extractos se eliminó a presión reducida en un liofilizador (Christ LCG D37520).

De esta manera, se obtuvo cuatro tipos de extractos de *C. quinoa*; extracto acuoso (AQU-LP) y extracto hidroetanólico (HYOH-LP) de la quinua recolectada en el departamento de La Paz y el extracto acuoso (AQU-PT) e hidroetanólico (HYOH-PT) de la quinua recolectada en el departamento de Potosí. Seguidamente, todos los extractos liofilizados fueron almacenados en un ambiente seco hasta su uso en los diferentes ensayos.

---

### **5.3. Animales de experimentación.**

Ratones Swiss albino machos fueron proporcionados por la Unidad de Reactivos Biológicos de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Los animales tenían libre acceso al agua y al alimento, fueron mantenidos en un ciclo de 12 horas de luz y oscuridad a una temperatura entre 20 y 24 °C. Posteriormente, los animales fueron escogidos al azar para los diferentes ensayos con las respectivas especificaciones para cada experimento.

### **5.4. Aislamiento de macrófagos murinos.**

Ratones machos entre 30±3 g fueron administrados con 1 mL de caldo tioglicolato estéril al 3% por vía intraperitoneal y después de 4 días se realizó el aislamiento de macrófagos peritoneales pre activados. Por otra parte, también se realizó el aislamiento de macrófagos residentes de la cavidad peritoneal sin previa estimulación con tioglicolato y en ambos casos el aislamiento se realizó como se detalla a continuación.

Macrófagos murinos fueron aislados en condiciones estériles mediante lavado de la cavidad peritoneal con tampón salino fosfato (PBS)(Abad et al., 2006). Se inyectaron 5 ml de PBS a la cavidad peritoneal y se realizó un ligero masaje de 60s para mejorar el rendimiento de células aisladas, seguidamente se recolectó el PBS de la cavidad en un tubo Falcon y la muestra se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min, se eliminó el sobrenadante y se realizó dos lavados mediante la adición de 5 mL de PBS y posterior centrifugación como se indicó anteriormente. El pellet celular fue resuspendido en 1 mL de medio RPMI 1640 para luego realizar el recuento celular. La viabilidad de las células aisladas fue determinada empleando el colorante de exclusión vital azul tripán y se realizó un ajuste celular a  $1 \times 10^6$  células/mL en medio RPMI 1640 (Sigma Aldrich) suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, penicilina 100 U/mL y estreptomycinina 100 µg/mL (GIPCO).

### **5.5. Estimulación de macrófagos con LPS.**

Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados y cultivados en placas de 24 pozos con 1 mL de medio RPMI 1640 (Sigma Aldrich) suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, penicilina 100 U/mL y estreptomycinina 100 µg/mL (GIPCO) durante toda la noche. Al día siguiente, el medio de cultivo fue removido y las células fueron lavadas

con 1mL de PBS para eliminar células no adherentes. Los macrófagos adheridos fueron estimulados en presencia y ausencia de lipopolisacárido de *E.coli* (LPS) a una concentración final de 0,5 µg/mL (Sigma Aldrich, L2880-25MG), más las diferentes concentraciones de los extractos a evaluar (entre 50 y 200 µg/mL) (Elisha, Dzoyem, McGaw, Botha, & Eloff, 2016; Yao, Yang, et al., 2014) o dexametazona 1 µM como control positivo (Sigma Aldrich, D4902-100MG), las células fueron incubadas a 37 °C y 5% de CO<sub>2</sub> durante 18h (Abad et al., 2006). Seguidamente, el sobrenadante fue recolectado en tubos eppendorf y almacenados a -20 °C para posterior cuantificación de óxido nítrico y citoquinas pro-inflamatorias.

### **5.6. Cuantificación de óxido nítrico.**

Los nitritos acumulados en el medio de los macrófagos estimulados con LPS fue cuantificado mediante la reacción de Griess (Huang, Pan, Liu, Wu, & Wu, 2012; Jung, Hong, Han, Park, & Son, 2015). Brevemente, se mezclaron 100 µL del sobrenadante de medio de cultivo con un volumen igual del reactivo de Griess (un volumen de 1% de sulfamida en 5% de ácido fosfórico con un volumen de 0,1% N-(1-naftil)-etilendiamina en agua destilada) y se incubó a temperatura ambiente por 10 min. Se emplearon diferentes concentraciones conocidas de nitrito de sodio como estándar (entre 5 µM y 100 µM) y la absorbancia de las reacciones colorimétricas fue medida a 492 nm con filtro diferencial de 630 nm en un lector de placas (Awariness Technology, Stat Fax 2100 Microplate Reader). La concentración de óxido nítrico en las muestras se halló mediante regresión lineal con los datos obtenidos de la curva estándar y los resultados fueron reportados como porcentaje de producción de óxido nítrico con referencia al control negativo (Macrófagos estimulados únicamente con LPS)

### **5.7. Cuantificación de citoquinas pro-inflamatorias.**

La producción de IL-6 y TNF-α fue cuantificada mediante kits de ensayo inmuno enzimático ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich (BD Biosciences) (J. H. Lee et al., 2006; Yao, Shi, et al., 2014). Las placas fueron incubadas con buffer de cargado durante toda la noche para la adhesión del anticuerpo de captura a los pozos, posteriormente se realizaron 3 lavados con 300 µL de tampón de lavado y se procedió al bloqueo con diluyente de ensayo durante 1 h a temperatura ambiente, seguida de 3 lavados. Para la cuantificación se adicionó 100 µL del estándar de IL-6 o TNF-α recombinante de ratón a diferentes concentraciones (15.6 pg/mL –

1000 pg/mL) y las muestras que fueron previamente diluidas 1/20 con diluyente de ensayo; las placas fueron incubadas por 2 h a temperatura ambiente seguidas de 5 lavados. Para la cuantificación de IL-6 se adicionó 100  $\mu$ L de la solución de detección que contenía el anticuerpo biotinilado anti-IL-6 de ratón y la enzima peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (SAv-HRP) por 1 h, mientras que para la cuantificación de TNF- $\alpha$  primero se adicionó 100  $\mu$ L del anticuerpo de detección (anti-TNF $\alpha$  de ratón) por 1 h y luego se incubó 30 min más con la adición de 100  $\mu$ L de la solución enzimática (SAv-HRP) para la detección. Finalmente, las placas fueron lavadas 7 veces y se adicionó 100  $\mu$ L de la solución sustrato seguido de una incubación de 20 min a temperatura ambiente en oscuridad, la reacción se detuvo por la adición de 50  $\mu$ L de la solución de parada y la densidad óptica fue medida en un lector de ELISA (Awariness Technology, Stat Fax 2100 Microplate Reader) a 450nm y 492nm. La concentración de ambas citoquinas se determinó empleando los valores de la curva estándar aplicando en ambas variables la escala logarítmica según indicaciones del fabricante.

### **5.8. Estimulación de macrófagos con Ionóforo de calcio.**

Macrófagos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y cultivados en placas de 96 pozos durante toda la noche con 100  $\mu$ L de medio RPMI 1640 (Sigma Aldrich) suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, penicilina 100 U/mL y estreptomycin 100  $\mu$ g/mL (GIPCO). Al día siguiente, el medio de cultivo fue removido y las células fueron lavadas con 100  $\mu$ L de PBS para eliminar células no adherentes. Los macrófagos adheridos fueron tratados con las diferentes concentraciones de los extractos (entre 100 y 500 mg/ml) o indometacina 1  $\mu$ M (Sigma Aldrich) como control positivo por 60 min a 37°C y 5 % de CO<sub>2</sub>. Seguidamente, las células fueron estimuladas mediante la adición de Ionóforo de calcio (concentración final 1 $\mu$ M en cada pozo) durante 2 h mas a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> (Abad et al., 2006). Finalmente, los sobrenadantes fueron recolectados en tubos eppendorf y almacenados a -20°C hasta la cuantificación de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>.

### **5.9. Cuantificación de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>.**

La producción de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub> fue medida mediante kits de Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA) competitivo (Prostaglandin E<sub>2</sub> Express ELISA Kit; Leukotriene C<sub>4</sub> ELISA Kit de

Cayman Chemical) (Jung et al., 2015; J. H. Lee et al., 2006). Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y se realizó una dilución 1/2 en ELISA buffer, se colocó 50 µL de las muestras a cada pozo y se adicionó 50 µL del reactivo Tracer más 50 µL de la solución de anticuerpos según instrucciones del fabricante. La placa para la cuantificación LTC<sub>4</sub> se incubó toda la noche a 4°C mientras que la placa de PGE<sub>2</sub> se incubó por 60 min a temperatura ambiente en un agitador orbital. En ambos casos las placas fueron lavadas 5 veces con 300 µL de buffer de lavado y para el revelado de las placas se adicionó 200 µL del reactivo de Ellman a cada pozo y se continuó con la marcha según especificaciones del fabricante. Las placas se incubaron por 75 min a temperatura ambiente y en oscuridad en un agitador orbital, a continuación, las lecturas de la placa se realizaron en el lector de ELISA (Awariness Technology, Stat Fax 2100 Microplate Reader) a 405 nm y 450 nm. Las concentraciones fueron determinadas empleando los valores de la curva estándar realizando los cálculos respectivos según indicaciones del fabricante.

### **5.10. Ensayo de viabilidad celular.**

El efecto citotóxico de los diferentes extractos de *C. quinoa* fue evaluado mediante el ensayo de reducción de la sal de tetrazolio, Bromuro de 3 (4,5 dimetil-2-tiazolil)-2,5- difeniltetrazolio (MTT) (Arrebola Arencibia, Fernández Rosario, & Curveco Sánchez, 2003; Israf, Khaizurin, Syahida, Lajis, & Khozirah, 2007). Una vez concluida la estimulación con LPS o Ionóforo de calcio, se removió el medio y las células fueron lavadas con un volumen de PBS igual al del medio de cultivo. A continuación, las células estimuladas con LPS o ionóforo de calcio fueron tratadas con 500 o 100 µL de una solución de MTT respectivamente (0,5 mg/mL en RPMI sin rojo fenol) (Cheng et al., 2012) por 4 h a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Posteriormente, el medio fue removido y reemplazado por un volumen igual de ácido clorhídrico 0,04 M en isopropanol para disolver los cristales de formazan, y la densidad óptica fue medida a 492 nm con filtro diferencial de 630 nm en un lector de ELISA (Awariness Technology, Stat Fax 2100 Microplate Reader). La viabilidad celular se determinó usando la siguiente ecuación descrita anteriormente (González-Chávez et al., 2017).

$$\% \text{viabilidad} = \frac{DO(\text{celulas tratadas})}{DO(\text{celulas control})} \times 100$$



---

### **5.11. Aislamiento de adipocitos murinos.**

Se aislaron adipocitos murinos de grasa epididimal mediante disrupción mecánica y digestión enzimática (Domingues, Pelletier, Ostenson, & Castro, 2014). El tejido epididimal se fraccionó en trozos de 2 a 3 mm, rápidamente se incubó con 5 mL de colagenasa 0,25 mg/mL (Sigma Aldrich, USA) en medio Krebs Ringer-Phosphate Hepes (KRPH) libre de glucosa ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1 mM, NaCl 139 mM, KCl 5.4 mM,  $\text{CaCl}_2$  2.2 mM y HEPES 20 mM, pH 7,4) suplementado con albumina sérica bovina (BSA) al 1% durante 90 min a 37°C con agitación manual cada 15 min. Posteriormente, se adicionó 5 mL de KRPH a la suspensión celular para disminuir la actividad enzimática, rápidamente se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min, se eliminó el supernadante y se realizó 2 lavados con 5 ml de medio KRPH, luego las células se resuspendieron en 2 mL de KRPH, se mezcló y se filtró en una membrana de nilón y se volvió a lavar, las células se resuspendieron en 1 mL de KRPH y se realizó el ajuste celular a 15000 células/mL para luego ser cultivadas.

### **5.12. Captación de glucosa en adipocitos primarios.**

Los adipocitos murinos anteriormente aislados, se cultivaron en placas de 96 pozos (200  $\mu\text{L}$  de la suspensión celular en cada pozo) a 37°C por 30 min antes de iniciar el ensayo, pasado este tiempo, las células fueron estimuladas en presencia y ausencia de los extractos AQU-PT y HYOL-PT a una concentración de 100 y 200 mg/mL por 20 min y posteriormente se adicionó glucosa a una concentración final de 10 mM en cada condición. Seguidamente, las células fueron cultivadas por 30 minutos con agitación continua y moderada a 37 °C y el supernadante fue recolectado en tubos eppendorf después de 1 min de haber iniciado la agitación el cual se consideró como tiempo inicial y luego de 30 min (tiempo final). En las muestras recolectadas se determinó la concentración de glucosa en el medio para inferir indirectamente la cantidad de glucosa absorbida por los adipocitos. La cuantificación de glucosa en el medio se realizó por el método GOD-POD con Kit comercial (Human, Labotech SRL) y los resultados fueron reportados como concentración de glucosa en el medio al inicio del tratamiento y al final del mismo.

---

### **5.13. Tratamiento subcrónico de ratones suplementados con C. quinoa y evaluación de la expresión génica de adipoquinas.**

El extracto HYOH-PT mostró un mayor efecto durante los primeros ensayos y fue seleccionado para realizar un ensayo subcrónico, para ello se emplearon ratones entre 12 y 14 gramos de peso corporal. Se asignaron dos grupos al azar (n=10): el primer grupo fue sometido a una dieta con alimento estándar suplementado con el extracto HYOH-PT a una dosis de 400 mg/kg/día; el segundo grupo fue alimentado con la comida estándar y fue empleado como grupo control (Graf et al., 2014; M. Song, Lee, & Kim, 2011). Ambos grupos fueron tratados por 30 días (con monitoreo diario del control de peso) y posteriormente se practicó la eutanasia en una cámara de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). De estos animales se recolectó sangre periférica mediante punción cardiaca para la cuantificación de glucosa, triglicéridos y colesterol en suero mediante la utilización de kits colorimétricos respectivos (HUMAN), siguiendo las especificaciones del fabricante. Por otra parte, el tejido adiposo epididimal y el hígado fueron removidos y pesados rápidamente. Luego el tejido adiposo epididimal fue fraccionado en pequeños pedazos de tejido para ser almacenados en tubos de criopreservación con 500 uL de RNAlater (RNAlater® Solution, Ambion, USA) a 4°C durante toda la noche y posteriormente a -80°C hasta el momento de su análisis para evaluar expresión génica de adipoquinas.

### **5.14. Extracción de RNA total.**

RNA total de macrófagos estimulados con LPS más las diferentes concentraciones de los extractos de C. quinoa, fue extraído empleando un kit de extracción de RNA (PureLink® RNA Mini Kit, Ambion, USA). En el momento de la colecta de sobrenadantes de los experimentos antes mencionados, las células fueron colocadas sobre hielo y fueron lisadas por la adición de 300 µL de la solución de lisis (tampón de lisis con 1% de 2-mercaptoetanol) a cada pozo, seguidamente este medio se recolectó en tubos eppendorf libre de RNasa y las muestras fueron agitadas vigorosamente en un vortex hasta obtener un lisado homogéneo.

Por otro lado, el RNA total de tejido adiposo epididimal de los ratones que estuvieron con el tratamiento subcrónico con C. quinoa y el grupo placebo, fue extraído con un previo tratamiento de la muestra. Brevemente, las muestras de tejido adiposo fueron sometidas a

disrupción mecánica y digestión con 1 mL de colagenasa (0,25 mg/mL en medio KRPH), las muestras fueron incubadas en baño de agua a 37 °C con agitación constante durante 20 min, posteriormente se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min y el intranadante fue eliminado para luego adicionar 300 µL de solución de lisis. Seguidamente, las muestras fueron agitadas vigorosamente en un vortex hasta lisar completamente las células.

Ambas muestras se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 min, luego se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo libre de RNasa y se adicionó 300 µL de etanol al 70 %, los tubos se mezclaron y todo su contenido se transfirió al spin cartridge con su tubo recolector del kit. Las muestras se centrifugaron a 14000 rpm por 15 s a temperatura ambiente y luego se descartó el flujo y se colocó el spin cartridge dentro de otro tubo recolector para volver a centrifugar. A continuación, se adicionó 700 µL del tampón de lavado I al spin cartridge para luego centrifugarlo y eliminar el flujo, se adicionó 500 µL del tampón de lavado II al spin cartridge y se descartó nuevamente el flujo obtenido por centrifugación, este lavado se realizó dos veces y posteriormente se centrifugó a 14000 rpm durante 2 min para secar la membrana unida al RNA. Finalmente, se colocó el spin cartridge dentro de un nuevo tubo eppendorf y se adicionó 50 µL de agua libre de RNasa y se incubó a temperatura ambiente por 1 min. Las muestras fueron centrifugadas a 15000 rpm por 2 minutos y el eluido que contiene el RNA total purificado se almacenó inmediatamente a -80°C hasta realizar el DNA copia.

#### **5.15. Síntesis de DNA copia.**

El RNA aislado fue cuantificado con un MultiskanGO (Thermo SCIENTIFIC) para realizar PCR reverso-transcriptasa (RT-PCR) a partir de una concentración conocida. El DNA copia fue obtenido de acuerdo a las indicaciones del kit de reverso transcriptasa (TaqMan® Reverse transcription Reagents, Applied Biosystems N8080234) empleando RT Buffer 1X, MgCl<sub>2</sub> 1,75 mM, dNTP mix 0,5 mM cada uno, RNasa Inhibidor 1,0 U/µL, random hexamers 2,5 µM, MultiScribe™ RT 2,5 U/µL, 2 µL de RNA total y agua ultra pura (UltraPure™ DEPEC trated water, Invitrogen) necesaria para un volumen de 20 µL de reacción por muestra. Las condiciones del RT-PCR fueron: 25°C por 10 min, 37°C por 30 min, 95°C por 5 min y mantenido a 4°C hasta su almacenamiento a -20°C para su posterior uso.

### 5.16. Expresión génica y PCR cuantitativo.

Los niveles de expresión génica de Leptina, Adiponectina, PPAR $\gamma$ , Resistina e IL-6 en adipocitos, fueron determinados por PCR cuantitativo (qPCR) empleando SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las condiciones del qPCR fueron: activación de la enzima a 50°C durante 2 min, desnaturalización a 95°C durante 2 min, los productos de DNAc fueron amplificados durante 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 3 s y alineación/extensión a 60°C por 30 s, la curva de disociación se realizó a 95°C durante 15 s seguido de 60°C por 1min, 95°C por 15 s y por último, 60°C por 15 s. La expresión génica fue normalizada en relación a la expresión de genes constitutivos (GPDH y  $\beta$ -actina) usando el método  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  como se describió anteriormente (Livak & Schmittgen, 2001) y los valores del grupo tratado se compararon con los valores del grupo placebo. Así también, se analizó los niveles de expresión de IL-6 en macrófago estimulados con LPS. Las secuencias de los primers empleados se observan en la tabla 3.

**Tabla 3. Secuencia de primer empleados para análisis de expresión génica mediante amplificación por qPCR.**

Gen	Secuencia	Tamaño del Amplicón (pb)
<b>GPDH</b>	F 5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG -3'	223
	R 5'- ACACATTGGGGGTAGGAACA -3'	
<b>Beta-actina</b>	F 5'-CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC- 3'	171
	R 5' -ATG GAGCCACCGATCCACA -3'	
<b>Interleucina-6 (IL-6)</b>	F 5'- TCCAGTTGCCTTCTTGGGAC -3'	140
	R 5'-GTGTAATTAAGCCTCCGACTTG-3'	
<b>Resistina</b>	F 5' CATCGATGAAGCCATCGACAA 3'	151
	R 5' GGAGCAGCTCAAGACTGCTGT G 3'	
<b>Leptina</b>	F 5' ACA CAC GCA GTC GGT ATC C 3'	285
	R 5' GAG TAG AGT GAG GCT TCC AGG 3'	
<b>Adiponectina</b>	F 5' -GCACTGGC AAGTTCTACTGCAA-3'	122
	R 5' -GTAGGTGAAGAGAACGGCCTTGT-3'	
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	F 5'-TTTTCAAGGGT GCCAGTTTC-3'	198
	R 5' -AATCCTTGGCCCTCTGAGAT-3'	

---

## **5.17. Análisis estadístico.**

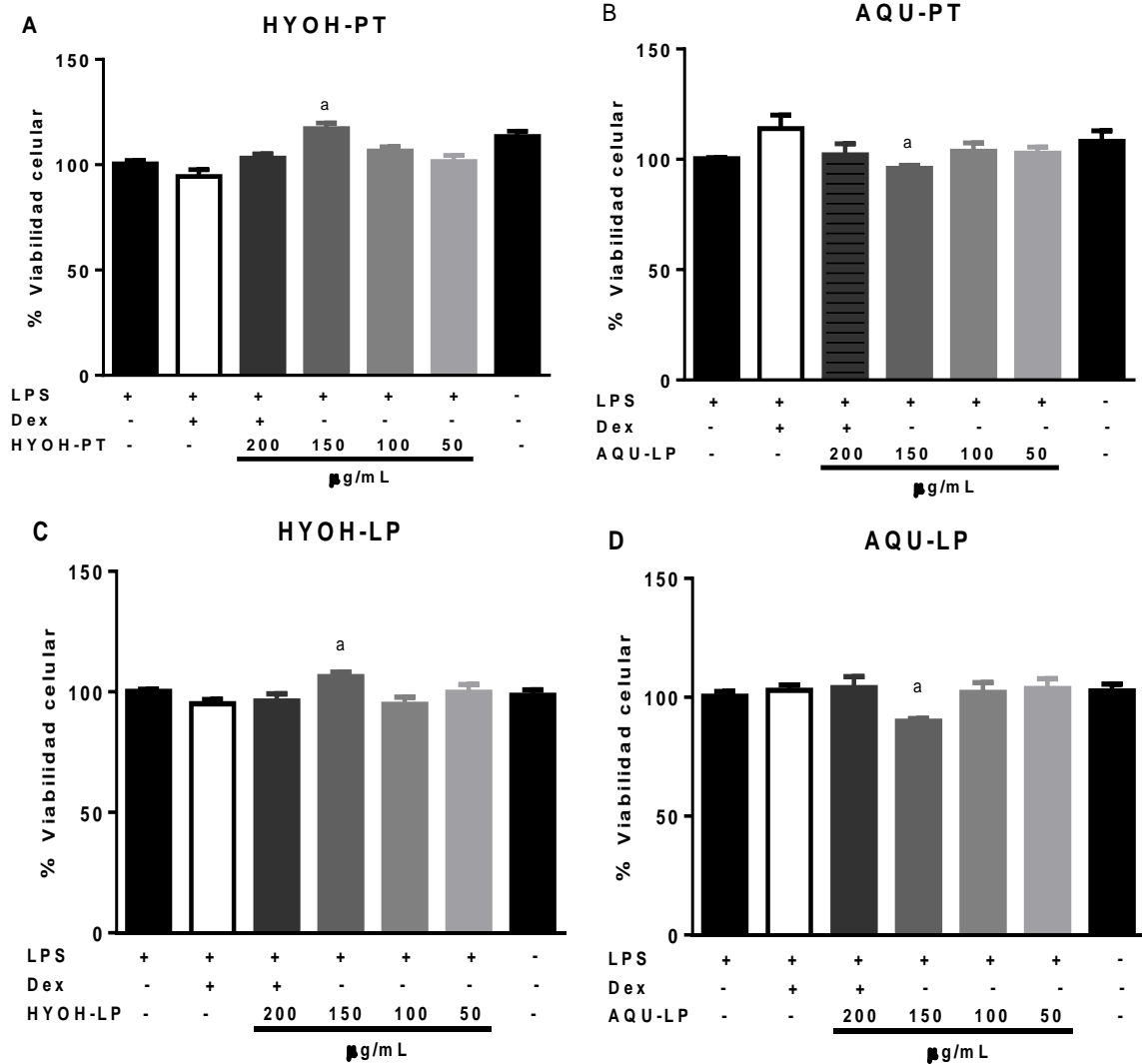
Los resultados fueron analizados en el paquete estadístico GraphPad Prisma versión 6.0, San Diego, CA, USA. Los resultados muestran la media  $\pm$  error estándar y los valores de probabilidad menores a 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos. Los ensayos de viabilidad celular y la producción de óxido nítrico fueron analizados mediante análisis de varianza de dos vías (two-way ANOVA) seguido del análisis de comparación múltiple de Tukey, los datos de la curva de crecimiento se analizaron a través del T-test (t de Student) y el nivel de significancia fue determinado usando el método de Holm-Sidak, mientras que la producción de IL-6, TNF- $\alpha$ , captación de glucosa, medición de parámetros bioquímicos y expresión génica en macrófagos y adipocitos fueron analizados por ANOVA de dos vías seguido de múltiples comparaciones con el test de Bonferroni.

## **6. Resultados.**

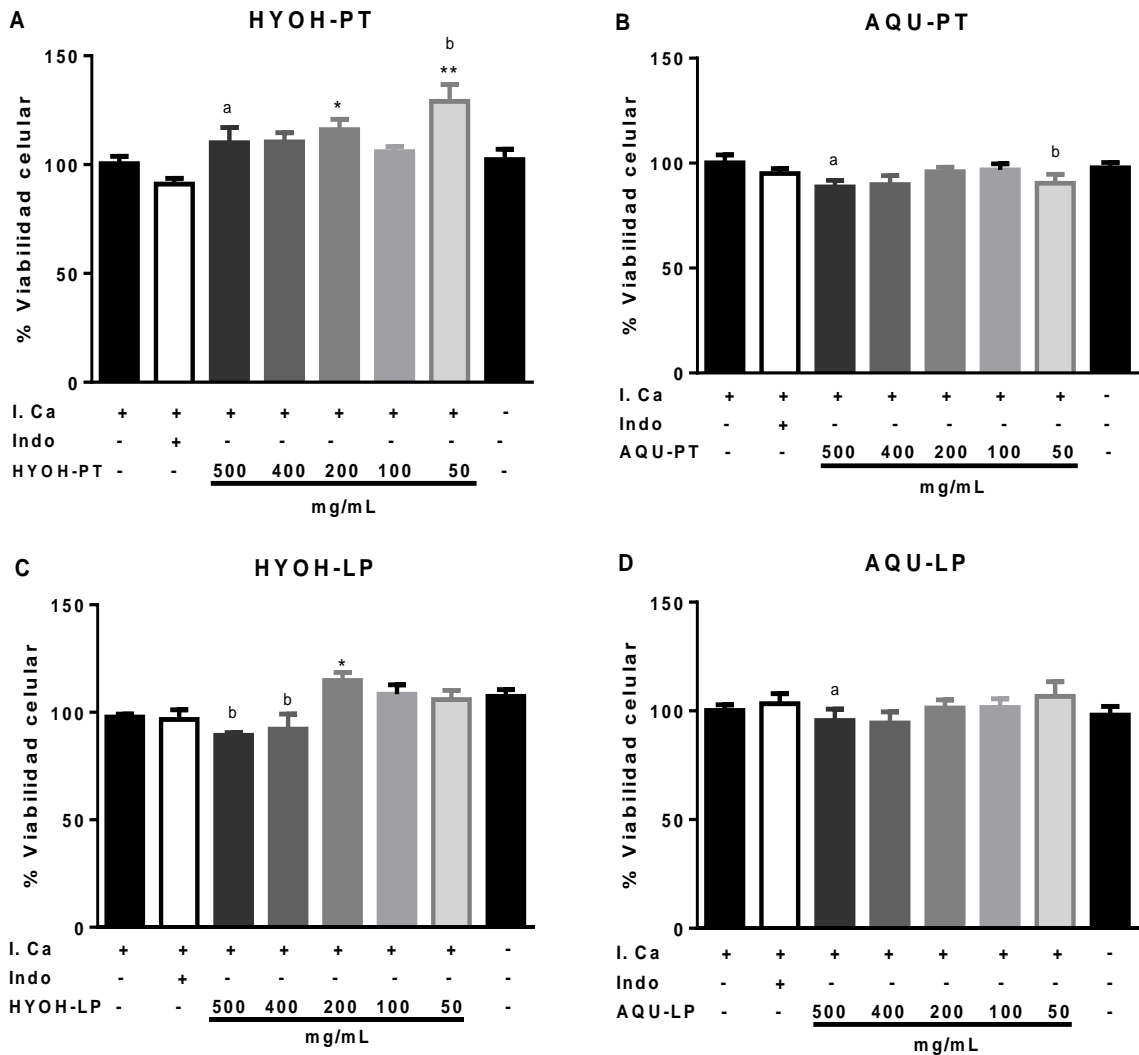
### **6.1. Las dosis evaluadas de los extractos de C. quinoa no presentan efecto citotóxico en cultivos primarios de macrófagos peritoneales murinos.**

Los ensayos de viabilidad celular mediante la reducción de la sal de tetrazolio revelaron que, todas las dosis evaluadas de los extractos de C. quinoa no presentan efecto tóxico sobre los cultivos primarios de macrófagos peritoneales murinos empleados para la evaluación anti-inflamatoria de los extractos acuosos e hidroetanólicos de ambas quinuas.

En la figura 5 se observa el porcentaje de viabilidad celular de los macrófagos murinos preactivados y estimulados en presencia o ausencia de LPS más diferentes concentraciones de los extractos de C. quinoa o dexametazona durante 18 h, diseño metodológico que fue empleado para la evaluación de producción de óxido nítrico, IL-6 y TNF- $\alpha$ . Nuestros resultados muestran que los extractos de C. quinoa no presentan efecto citotóxico a concentraciones menores de 200  $\mu$ g/mL y una exposición igual o menor a 18 h de tratamiento.



**Figura 5 Viabilidad celular de macrófagos posterior a la estimulación con LPS mas diferentes concentraciones de los extractos de *C. quinoa*.** Macrófagos peritoneales murinos fueron estimulados en presencia o ausencia de LPS mas diferentes concentraciones de los extractos de *C. quinoa* durante 18 h. Posteriormente, el medio fue removido y las células fueron incubadas con MTT 0,5 mg/mL por 4 h más y finalmente, los cristales de formazan fueron disueltos con una solución de ácido clorhídrico 0,04M en isopropanol. Los resultados muestran que nuestros extractos no presentan efecto tóxico sobre estas células. (A) extracto HYOH-PT, (B) extracto AQU-PT, (C) extracto HYOH-LP, (D) extracto AQU-LP, (a) n=4. Los valores representan la media ± ES (n=16),



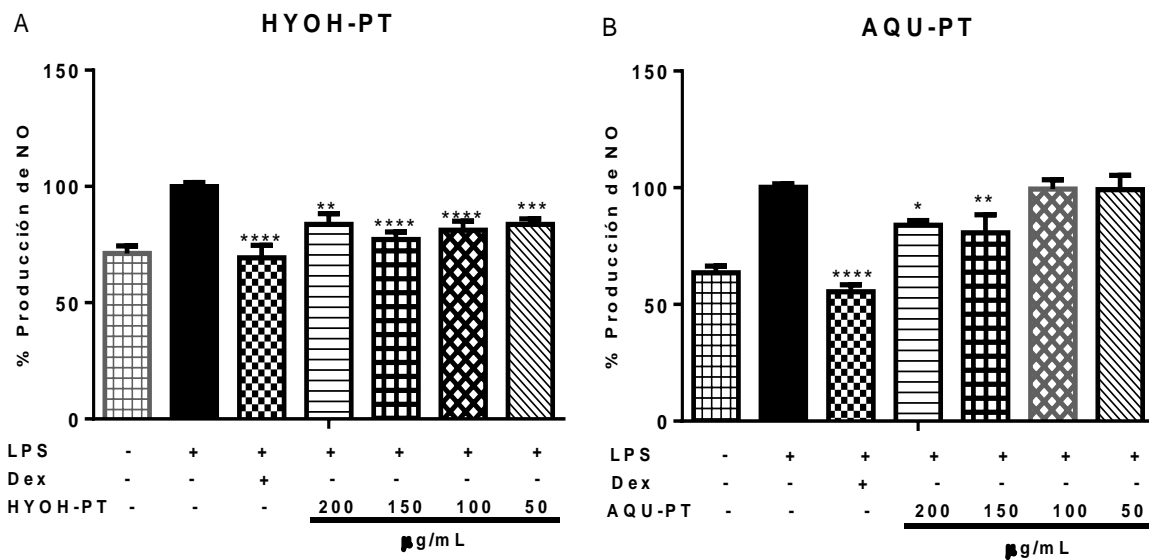
**Figura 6 Viabilidad celular de macrófagos después de la estimulación con I.Ca más diferentes concentraciones de los extractos de C. quinoa.** Macrófagos residentes de la cavidad peritoneal fueron incubados en presencia o ausencia de las diferentes concentraciones de los extractos de C. quinoa o indometacina 1  $\mu$ M durante 60 min, posteriormente las células fueron estimuladas por la adición de I.Ca 1  $\mu$ M por 2 h más. Seguidamente, el medio fue removido y las células fueron incubadas con MTT 0,5 mg/mL por 4 h más y finalmente, los cristales de formazan fueron disueltos con una solución de ácido clorhídrico 0,04M en isopropanol. Los resultados muestran que nuestros extractos no presentan efecto tóxico sobre estas células. (A) Extracto HYOH-PT, (B) extracto AQU-PT, (C) extracto HYOH-LP, (D) extracto AQU-LP, (a) n=4, (b) n=5. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=18),

Por otra parte, los ensayos de MTT posteriores a la exposición aguda y elevadas concentraciones de los extractos de C. quinoa (ensayos empleados para la cuantificación de ON, PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>), también demostraron no ser tóxicos, En la figura 6 se muestra el

porcentaje de viabilidad de los macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal empleados para la evaluación de la producción de eicosanoides. Nuestros resultados muestran que los extractos acuosos de ambas quinuas no modifican la viabilidad celular (Fig. 6B y 6D), mientras que algunas dosis de los extractos hidroetanólicos de ambas variantes de quinua presentan un aumento significativo en el porcentaje de viabilidad, para el extracto HYOH-PT el porcentaje de viabilidad a las dosis de 200 y 50 mg/mL es de 116,12 % y 129,09 % respectivamente (Fig. 6A). Así también, a la dosis de 200 mg/mL del extracto HYOH-LP la viabilidad celular fue de 114,85 % (Fig. 6C).

### 6.2. La producción de óxido nítrico se ve disminuida en presencia los extractos de C. quinoa.

La estimulación de macrófagos peritoneales con LPS promueve un aumento en la producción de óxido nítrico, efecto que se ve disminuido en presencia de los diferentes extractos evaluados (Fig. 7 y 8).



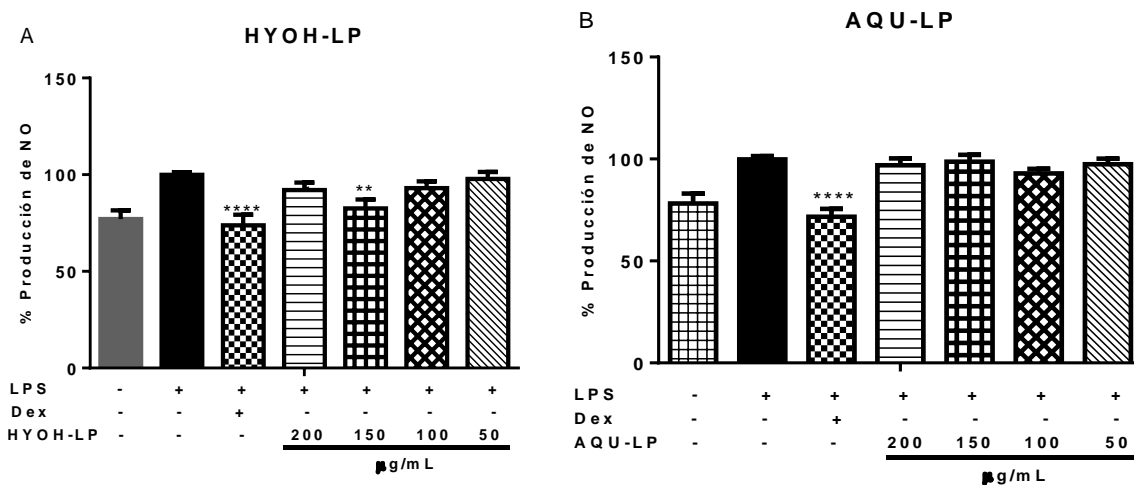
**Figura 7. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS 0,5 µg/mL más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Los resultados muestran disminución significativa en



la producción de óxido nítrico (NO) con ambos extractos. (A) extracto HYOH-PT, (B) extracto AQU-PT. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=18), \*P<0,05 \*\*P<,005 \*\*\*\*P< 0,0001.

Todas las dosis del extracto HYOH-PT mostraron un efecto de disminución sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos previamente activados con tioglicolato y estimulados con LPS, en comparación con el control negativo (LPS 0,5  $\mu$ g/mL, 100% de producción de óxido nítrico). A las concentraciones de 200, 150, 100 y 50  $\mu$ g/mL de este extracto, el porcentaje de inhibición de óxido nítrico fue de 16,33 % (P<0,01), 22,98 % (P<0,0001), 20,26 % (P<0,0001) y 19,63 % (P<0,001) respectivamente, como se aprecia en la Fig. 7A. El extracto AQU-PT solo presentó un 16,09 % y 19,29 % de inhibición sobre la producción de óxido nítrico a las concentraciones de 200  $\mu$ g/mL (P<0,05) y 150  $\mu$ g/mL (P<0,01), Siendo este efecto menor en comparación con el control positivo (Dex 1  $\mu$ M; 31,93% P<0,0001) y muy similar al efecto observado con el extracto HYOH-PT a las dosis mayores evaluadas (Fig. 7B).

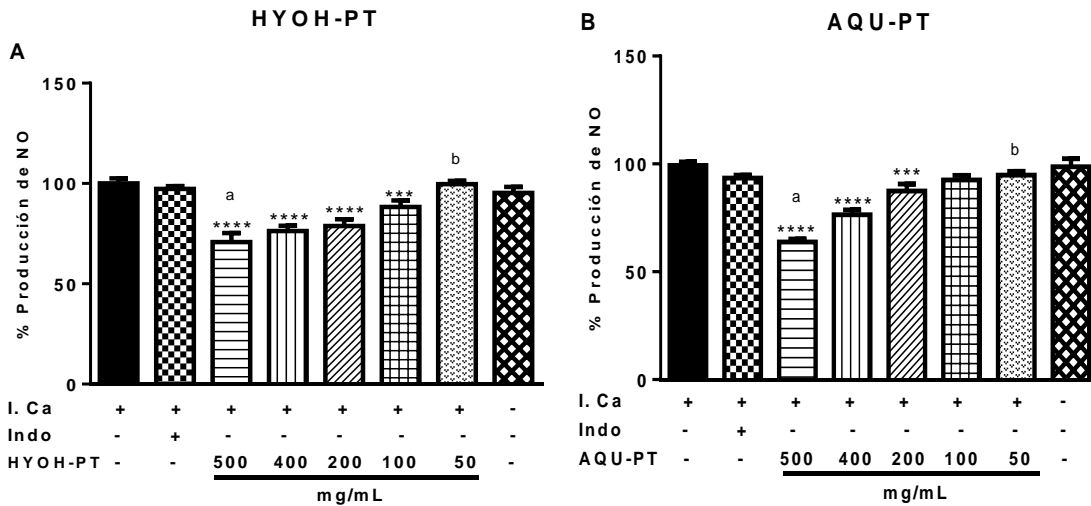
El extracto HYOH-LP a una dosis de 150  $\mu$ g/mL disminuyó significativamente la producción de óxido nítrico hasta un 20 % aproximadamente (17,4 %, P<0,01), mientras que con las demás dosis de este extracto, no se observó una disminución significativa de este mediador proinflamatorio (Fig.8A). Por otro lado, no se evidencio una disminución significativa en la producción de óxido nítrico con todas las dosis evaluadas del extracto AQU-LP (Fig. 8B).



**Figura 8. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante

lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS 0,5µg/mL más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Solo se aprecia disminución significativa de óxido nítrico (NO) a 150 µg/mL para el extracto HYOH-LP (A) y no así para el extracto AQU-LP (B). Los valores representan la media ± ES (n=20), \*P<0,05 \*\*\*P< 0,0001.

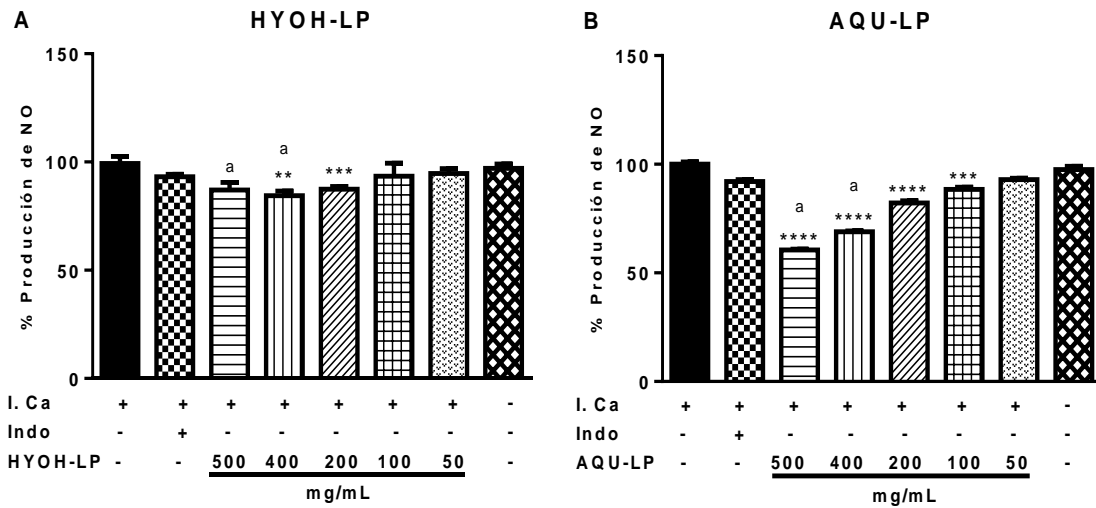
Por otra parte, en los ensayos de estimulación con I.Ca también se pudo apreciar la disminución de producción de óxido nítrico tras el tratamiento con los diferentes extractos de C. quinoa (Fig. 9 y 10). A las dosis de 500, 400, 200 y 100 mg/mL del extracto HYOH-PT la disminución en la producción de óxido nítrico fue de 29,17 % (P<0,0001); 23,66 % (P<0,0001); 21,22 % (P<0,0001) y 11,64 % (P<0,001) respectivamente (Fig. 9A). Así también, el extracto AQU-PT disminuyó significativamente la producción de óxido nítrico en un 36,25 % (P<0,0001); 23,56 % (P<0,0001) y 12,58 % (P<0,001) a las dosis de 500, 400 y 200 mg/mL respectivamente (Fig. 9B).



**Figura 9. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con I.Ca.** Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados con diferentes concentraciones de los extractos o indometacina 1µM durante 60 min, posteriormente se adiciono I.Ca. 1µM y se incubó por 2 h más. Los resultados muestran una disminución significativa en la producción de óxido nítrico con las dosis más altas evaluadas. (A) Extracto HYOH-PT; (B) extracto AQU-PT; (a) n=6; (b) n=4; Los valores representan la media ± ES (n=12), \*\*\*\*P<0,0001 \*\*\*P< 0,001.

Los extractos de la quinua blanca también disminuyeron significativamente la producción de óxido nítrico en comparación con el grupo control (I.Ca 100% de producción de óxido

nítrico). A las dosis de 400 y 200 mg/mL del extracto HYOH-LP la disminución fue de 15,59 % y 12,51 % (Fig. 10A), mientras que para el extracto AQU-LP la disminución en la producción de óxido nítrico fue mayor en comparación con el extracto anterior, a las dosis de 500, 400, 200 y 100 mg/mL la disminución fue de 39,50 %; 31,01 %; 17,83 % y 11,55% respectivamente (Fig. 10B).

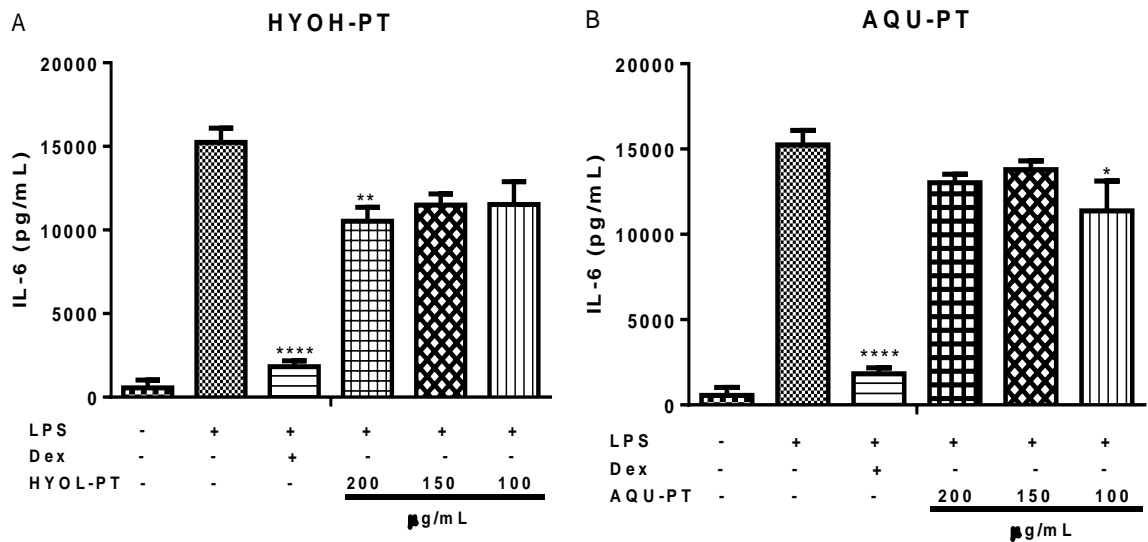


**Figura 10 Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos estimulados con I.Ca.** Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados con diferentes concentraciones de los extractos o indometacina 1μM durante 60 min, posteriormente se adiciono I.Ca. 1μM y se incubó por 2 h más. Los resultados muestran una disminución significativa en la producción de óxido nítrico con las dosis más altas evaluadas. (A) Extracto HYOH-LP; (B) extracto AQU-LP; (a) n=6; Los valores representan la media ± ES (n=12), \*\* P<0,01 \*\*\*P< 0,001 \*\*\*\*P<0,0001.

Si bien la estimulación de macrófagos en presencia de I.Ca no es un método estándar para la cuantificación de óxido nítrico, estos resultados nos permitieron identificar posibles dosis de los extractos de C. quinoa que tendrían efecto sobre la disminución en la producción de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>. En este sentido, las dosis de todos los extractos que presentaron un efecto significativo en la disminución de la producción de óxido nítrico fueron las dosis que se evaluaron para la cuantificación de los mediadores inflamatorios de origen lipídico (PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>).

### 6.3. Los extractos de *C. quinoa* presentan tendencia a disminuir la producción de citoquinas pro-inflamatorias.

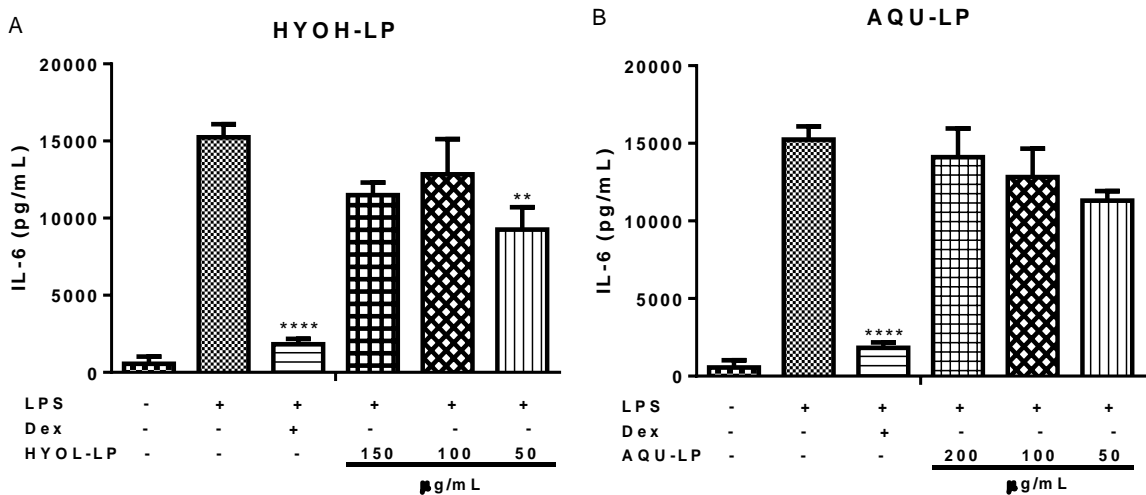
La actividad anti-inflamatoria de *C. quinoa* fue evaluada también sobre la producción de citoquinas pro-inflamatorias de interés como IL-6 y TNF- $\alpha$ . Sin embargo, solo se pudo apreciar disminución en la producción de IL-6 (Fig. 3 y 4) y no así en la producción de TNF- $\alpha$  (Fig. 5 y 6). Para el extracto HYOH-PT se evidenció una disminución significativa en la producción de IL-6 a la dosis de 200  $\mu\text{g/mL}$ , la disminución fue de  $15248,6 \pm 842,6$  pg/mL (control negativo LPS) a  $10520,4 \pm 845,7$  pg/mL ( $P < 0,01$ ). Además, también se apreció una disminución de este mediador pro-inflamatorio con las demás dosis evaluadas de este extracto (150 y 100  $\mu\text{g/mL}$  producción de IL-6:  $11487,9 \pm 687,6$  pg/mL y  $11517,8 \pm 1379,7$  pg/mL respectivamente), siendo este efecto estadísticamente no significativo (Fig. 11A).



**Figura 11. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS 0,5  $\mu\text{g/mL}$  más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Los resultados muestran disminución significativa de IL-6 a 200  $\mu\text{g/mL}$  para el extracto HYOH-PT (A) y a 100  $\mu\text{g/mL}$  para el extracto AQU-PT (B). Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=5), \* $P < 0,05$  \*\* $P < 0,01$  \*\*\*\* $P < 0,0001$ .

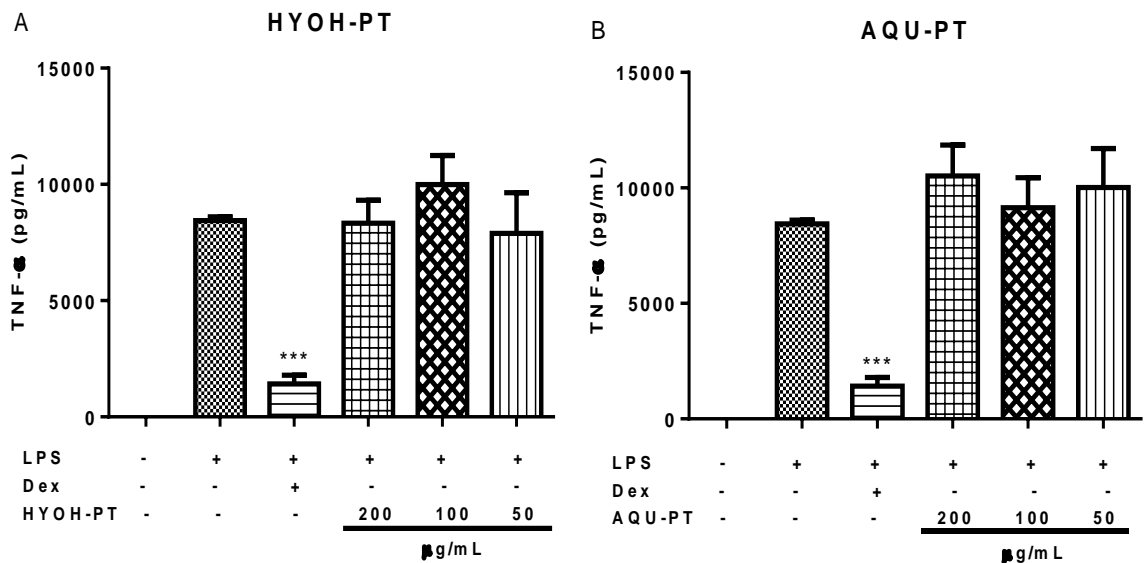
Por otro lado, el extracto AQU-PT también presentó un efecto similar, a la dosis de 100  $\mu\text{g/mL}$  demostró una disminución significativa en la producción de IL-6 ( $11379,3 \pm 1746$   $\text{pg/mL}$ ;  $P < 0,05$ ) en comparación con el control negativo, mientras que en las demás dosis evaluadas el efecto de disminución de IL-6 no fue significativo (200 y 150  $\mu\text{g/mL}$  producción de IL-6:  $13028,4 \pm 502,8$   $\text{pg/mL}$  y  $13785 \pm 524,8$   $\text{pg/mL}$  respectivamente; Fig. 11B).

El extracto HYOH-LP disminuyó significativamente la producción de IL-6 a la concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  ( $9250,9 \pm 1457,7$   $\text{pg/mL}$ ,  $P < 0,01$ ) en comparación con el control negativo (LPS 0,5  $\mu\text{g/mL}$ ;  $15248,6 \pm 842,6$   $\text{pg/mL}$ ), efecto menor al que se observa con el control positivo (Dex 1 $\mu\text{M}$ ; 1825  $\text{pg/mL}$ ,  $P < 0,0001$ ). No obstante, a dosis mayores no se evidenció una disminución significativa de este mediador (Fig. 12A). Por otra parte, no se evidenció efecto significativo sobre la producción de IL-6 con todas las dosis evaluadas del extracto AQU-LP (Fig. 12B).



**Figura 12. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS 0,5  $\mu\text{g/mL}$  más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Los resultados muestran disminución significativa de IL-6 a 50  $\mu\text{g/mL}$  para el extracto HYOH-LP (A) mientras que para el extracto AQU-LP no se aprecia disminución significativa (B). Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=5), \*\* $p < 0,01$  \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

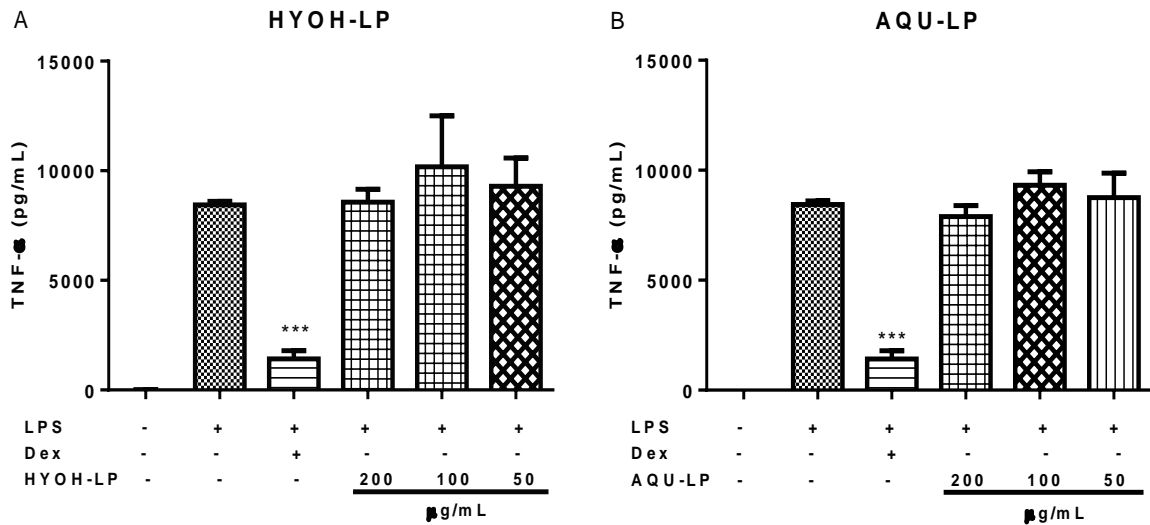
En cuanto a la producción de TNF- $\alpha$ , los extractos evaluados no mostraron efecto significativo alguno sobre la producción de este mediador (Fig. 5 y 6). La producción de TNF- $\alpha$  se mantuvo de forma similar a la del control negativo (LPS 8443,6  $\pm$  163,9 pg/mL) tras la estimulación con las diferentes concentraciones del extracto HYOH-PT; para las dosis de 200, 150 y 100  $\mu$ g/mL producción de TNF- $\alpha$  fue de: 8327,5  $\pm$  986,6 pg/mL, 9994,2  $\pm$  1252,5 pg/mL y 7898  $\pm$  1747,8 pg/mL respectivamente (Fig.13A). En cambio, el extracto AQU-PT muestra un ligero aumento en la producción de este mediador en comparación con el control negativo (Dosis: 200, 150 y 100 mg/mL producción de TNF- $\alpha$ : 10518,7  $\pm$  1332,1 pg/mL; 9138,9  $\pm$  1303,8 pg/mL y 10024,5  $\pm$  1682,7 pg/mL respectivamente), efecto que resultó no significativo estadísticamente (Fig. 13B).



**Figura 13. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de TNF- $\alpha$  en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS 0,5  $\mu$ g/mL más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Los resultados muestran que el extracto HYOH-PT (A) y el extracto AQU-PT (B) no modifican significativamente la producción de TNF- $\alpha$ . Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=5), \*\*\*p< 0,001.

Así mismo, los extractos HYOH-LP y AQU-LP no disminuyeron la producción de TNF- $\alpha$  tras la estimulación con las diferentes concentraciones de estos extractos (Fig. 14). Y a pesar de que se observa un ligero aumento de esta citoquina con el extracto HYOL-LP a la dosis

de 100  $\mu\text{g/mL}$  (producción de  $\text{TNF-}\alpha$   $10187 \pm 2320,5$   $\text{pg/mL}$ ), este efecto resultó no significativo en comparación con el control negativo (LPS  $8443,6 \pm 163,9$   $\text{pg/mL}$ ) (Fig. 14A). Mientras que, para el extracto AQU-LP no se apreció modificación alguna sobre la producción de  $\text{TNF-}\alpha$  (Fig. 14B)

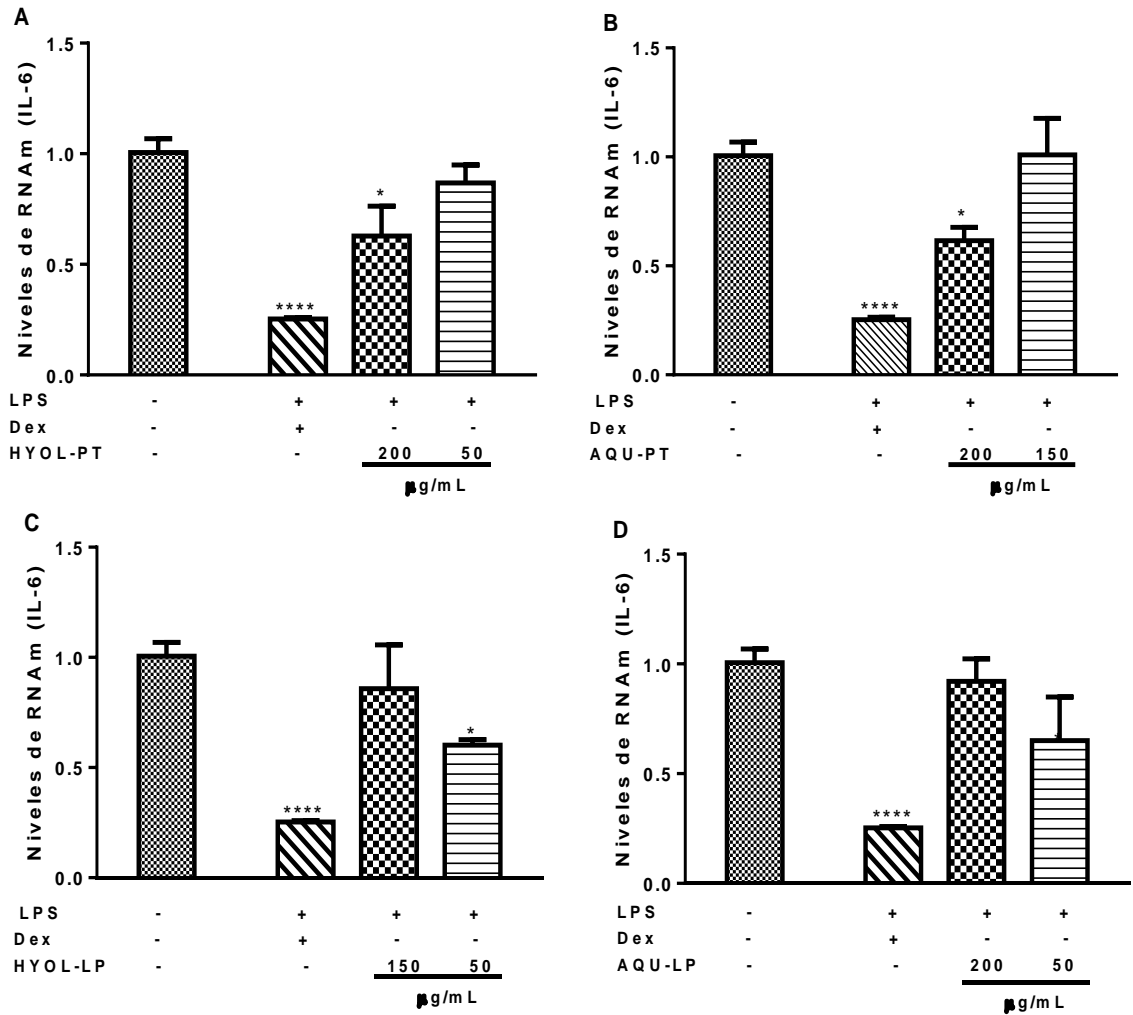


**Figura 14.** Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de  $\text{TNF-}\alpha$  en macrófagos murinos estimulados con LPS. Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS  $0,5$   $\mu\text{g/mL}$  más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Los resultados muestran que el extracto HYOH-LP (A) y el extracto AQU-LP (B) no modifican significativamente la producción de  $\text{TNF-}\alpha$ . Los valores representan la media  $\pm$  ES ( $n=5$ ),  $***p < 0,001$ .

#### 6.4. Los extractos de C. quinoa presentan tendencia a disminuir la expresión génica de IL-6.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en los anteriores ensayos, se evaluó también la expresión génica de IL-6 en los macrófagos primarios estimulados con LPS. Los extractos de C. quinoa disminuyeron la expresión génica de IL-6 con un patrón muy similar al obtenido con los anteriores ensayos, los extractos HYOH-PT, AQU-PT y HYOH-LP disminuyeron significativamente la expresión de esta citoquina en un  $37 \pm 13,4\%$ ,  $38 \pm 6,1\%$  y  $40 \pm 2,4\%$  a una dosis de  $200$   $\mu\text{g/mL}$  para los dos primeros extractos y a  $50$   $\mu\text{g/mL}$  para HYOH-LP ( $P < 0,05$  ver Fig. 15A, 15B y 15C), mientras que con las otras dosis de los extractos HYOL-

PT y HYOL-LP solo se observa una ligera disminución de  $13,2 \pm 8,2\%$  y  $14,2 \pm 19,8\%$  respectivamente, efecto que no fue estadísticamente significativo. Por otro lado, el extracto AQU-LP también mostró una tendencia en la disminución de la expresión de IL-6, a la dosis de  $100 \mu\text{g/mL}$  se observó solo una disminución de  $34,9 \pm 19,9\%$  (Fig. 15D), efecto no significativo que se observó también en los anteriores ensayos.

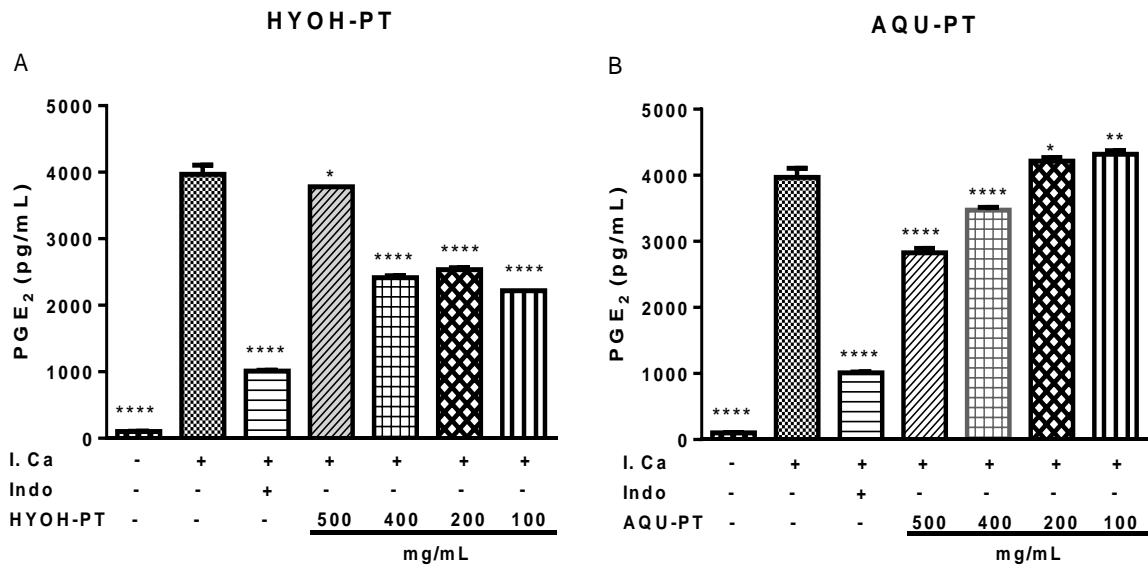


**Figura 15. Efecto de los extractos de *C. quinoa* sobre los niveles de expresión génica de IL-6 en macrófagos murinos estimulados con LPS.** Macrófagos murinos preactivados con tioglicolato fueron aislados mediante lavado intraperitoneal y posteriormente fueron estimulados en presencia y ausencia de LPS  $0,5 \mu\text{g/mL}$  más diferentes concentraciones de los extractos durante 18 h. Seguidamente, las células fueron lisadas y se extrajo el RNAm para la evaluación de expresión génica. Los resultados muestran disminución significativa de la expresión de IL-6 para los extractos HYOH-PT (A) y AQU-PT (B) a una dosis de  $200 \mu\text{g/mL}$  y para el extracto HYOH-LP a la dosis de  $50 \mu\text{g/mL}$  (C), mientras que para el extracto AQU-LP no se aprecia disminución significativa (D). Los valores representan la media  $\pm$  ES ( $n=3$ ), \* $p<0,05$  y \*\*\* $p<0,001$ .



### 6.5. Los extractos de *C. quinoa* inhiben la producción de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub> en macrófagos estimulados con Ionóforo de calcio.

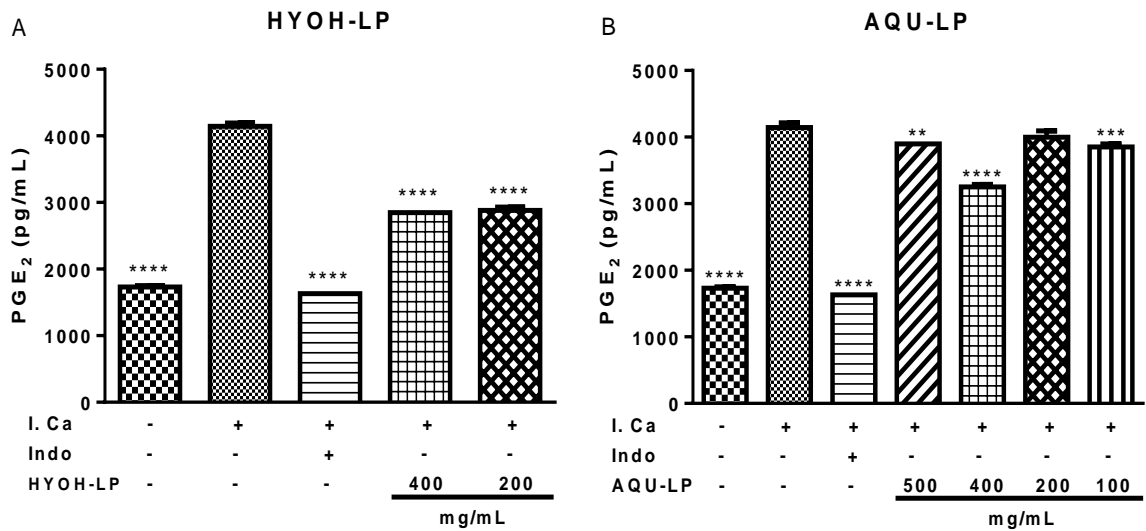
Los extractos de *C. quinoa* ejercen un efecto inhibitor sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en macrófagos murinos primarios (Fig.16 y 17). Los resultados obtenidos muestran una disminución de PGE<sub>2</sub> en presencia de todas las dosis del extracto HYOH-PT, la producción de PGE<sub>2</sub> disminuyó de 3968,78 pg/mL (grupo control de solo Ionóforo de calcio) a 3779.91 pg/mL (P<0,05), 2414,48 pg/mL (P< 0,0001), 2534,38 pg/mL (P<0,0001) y 2217,99 pg/mL (P<0,0001) a las dosis de 500,400, 200 y 100 mg/mL respectivamente (Fig. 16A). Este extracto tuvo un mayor efecto con las dosis menores a 500 mg/mL disminuyendo aproximadamente entre un 44 % y 36% la producción de PGE<sub>2</sub>, mostrando una eficacia de casi el 50% y un poco más de actividad que presentó el control positivo de Indometacina, el cual disminuyó en un 74 % la producción de este mediador (Indo 1009,18 pg/mL P< 0,0001).



**Figura 16.** Efecto de los extractos *HYOH-PT* y *AQU-PT* sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en macrófagos estimulados con *I.Ca*. Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados en presencia o ausencia de indometacina 1 μM y diferentes concentraciones de los extractos durante 1 h con posterior estimulación de *I.Ca* 1 μM por 2 h más. Los resultados muestran un efecto significativo para la disminución de la producción de PGE<sub>2</sub>. (A) extracto *HYOH-PT*, (B) extracto *AQU-PT*. Los valores representan la media ± ES (n=2), \*P<0,05 \*\*\*P<0,001 \*\*\*\*P<0,0001.

Por otra parte, el extracto AQU-PT también disminuyó la producción de PGE<sub>2</sub> en un 29% (2826,99 pg/mL  $P<0,0001$ ) y 12 % (3472,80 pg/mL  $P<0,0001$ ) a las dosis de 500 y 400 mg/mL respectivamente. Sin embargo, a las dosis de 200 y 100 mg/mL la producción de PGE<sub>2</sub> se aumentó en un 6 % y 9 % ( $P<0,01$ ) en comparación con el grupo control de I.Ca. (3968,78 pg/mL). Este extracto mostró un efecto anti-inflamatorio solo con las dosis más elevadas, el mismo que es menor al efecto obtenido con el extracto HYOH-PT y el control positivo de Indometacina 1009,18 pg/mL ( $P<0,0001$ ; ver Fig. 16B).

El extracto HYOH-LP también ejerce un efecto de inhibición sobre la producción de PGE<sub>2</sub> con ambas concentraciones evaluadas, a las dosis de 400 y 200 mg/mL la producción de PGE<sub>2</sub> disminuyó de 4143,52 pg/mL (grupo control de I.Ca.) a 2845,9 pg/mL ( $P<0,0001$ ) y 2880,8 pg/mL ( $P<0,0001$ ) respectivamente (Fig. 17A), este extracto logró disminuir aproximadamente en un 30% la producción de PGE<sub>2</sub> mostrando el 50% de efectividad que presentó el control positivo de Indometacina (1629,94 pg/mL,  $P<0,0001$ ) el cual logró disminuir la producción de PGE<sub>2</sub> en un 60% en esta ocasión. En cuanto al extracto AQU-LP se puede observar disminución de PGE<sub>2</sub> significativa a las concentraciones de 500, 400 y 100 mg/mL (3899,67 pg/mL  $P<0,01$ ; 3251,86 pg/mL  $P<0,0001$  y 3852,99 pg/mL  $P<0,001$  respectivamente. Fig. 17B), donde el mayor efecto de inhibición fue del 22% a la dosis de 400 mg/mL, siendo este efecto de menor eficacia en comparación con el efecto que ejerce el control positivo (Indo 1629,94 pg/mL,  $P<0,0001$ ) y los extractos HYOH-LP ( $P<0,0001$ ).

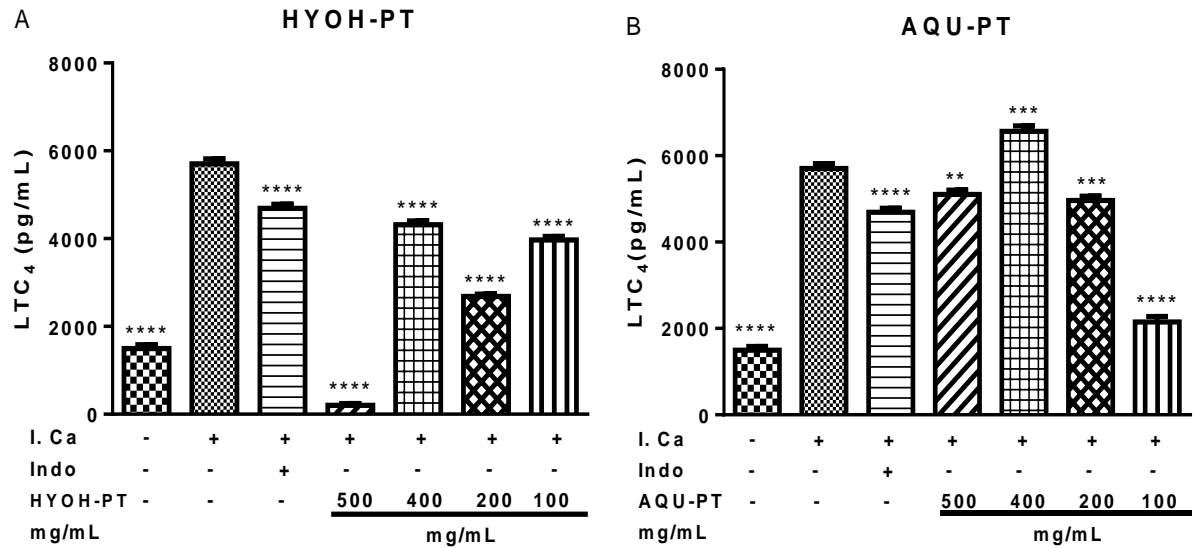


**Figura 17. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.** Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados en presencia o ausencia de indometacina (Indo) y diferentes concentraciones de los extractos durante 1 h con posterior estimulación de I.Ca 1  $\mu$ M por 2 h más. Los resultados muestran un efecto significativo para la disminución de la producción de PGE<sub>2</sub>, (A) extracto HYOH-LP, (B) extracto AQU-LP. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=2), \*\*P<0.01 \*\*\*P<0,001 \*\*\*\*P< 0,0001.

Por otra parte, la producción de LTC<sub>4</sub> también se ve disminuida en presencia de los diferentes extractos evaluados tras la estimulación con Ionóforo de Calcio (Fig. 18 y 19). Todas las concentraciones evaluadas del extracto HYOH-PT presentan una disminución significativa en la producción de LTC<sub>4</sub> en comparación con el control negativo (I.Ca 5706,28 pg/mL), este extracto mostró una inhibición completa de la producción de LTC<sub>4</sub> a la concentración de 500 mg/mL (202,50 pg/mL, P<0.0001). Así mismo, a las dosis de 400, 200 y 100 mg/mL el extracto disminuyó la producción de LTC<sub>4</sub> en un 24 % (4316,23 pg/mL P<0,0001), 53 % (2685,22 pg/mL P<0,0001) y 30 % (3964,44 pg/mL P<0,0001) respectivamente, efectos que resultaron con mayor eficacia al que ejerce la indometacina (4693,30 pg/mL, P<0,0001, ver Fig. 18A).

Las dosis del extracto AQU-PT también mostraron una inhibición significativa de la producción de LTC<sub>4</sub> que es muy parecida al efecto obtenido con la indometacina (4693,30 pg/mL, P<0,0001). La inhibición de la producción de este mediador fue del 11 % (5103,33 pg/mL, P<0,01), 22% (4462,82 pg/mL, P<0,001) y 62 % (2149,41 pg/mL, P<0,0001) con las

dosis de 500, 200 y 100 mg/mL respectivamente (Fig. 18B). Sin embargo, a la dosis de 400 mg/mL del mismo extracto se observa una sobreproducción de LTC<sub>4</sub> (6561,12 ± 91,58 pg/mL), el cual muestra un comportamiento inusual debido a que a concentraciones mayores y menores presenta un efecto opuesto que hace suponer que este último resultado se tratase de un efecto de sobre reactividad de los macrófagos en esa condición específica.

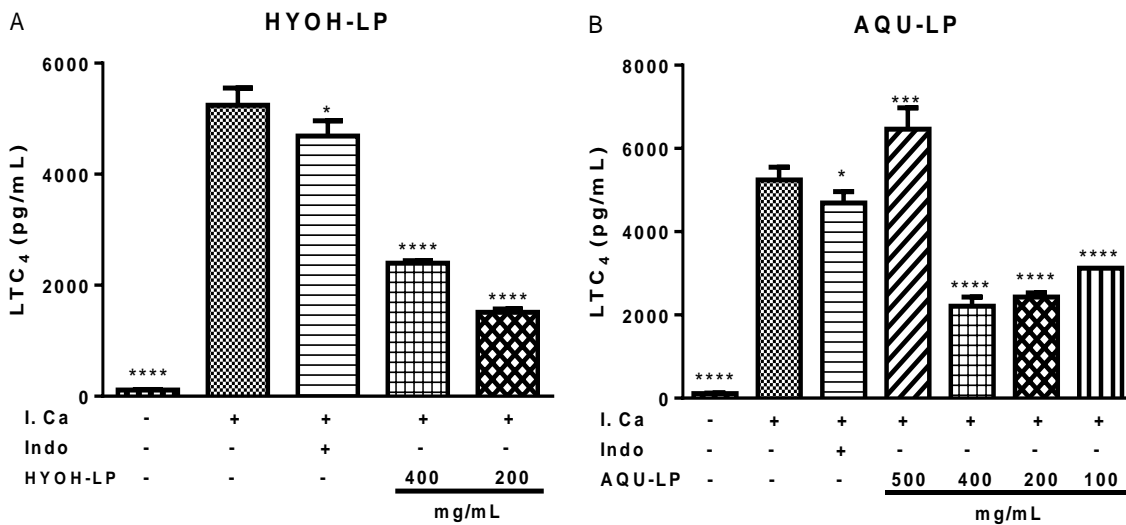


**Figura 18. Efecto de los extractos HYOH-PT y AQU-PT sobre la producción de LTC<sub>4</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.** Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados en presencia o ausencia de indometacina (Indo) y diferentes concentraciones de los extractos durante 1 h con posterior estimulación de I.Ca 1 μM por 2 h más. Los resultados muestran un efecto significativo para la disminución de la producción de LTC<sub>4</sub>, (A) extracto HYOH-PT, (B) extracto AQU-PT. Los valores representan la media ± ES (n=2), \*\*P<0,01 \*\*\*P<0,001 \*\*\*\*P< 0,0001

Las dosis evaluadas menores de 500 mg/mL de los extractos HYOH-LP y AQU-LP también ejercen inhibición de la producción de este mediador inflamatorio de origen lipídico en comparación con su control negativo (I.Ca. 5241,34 pg/mL). Así se tiene, un 54 % (2396,65 pg/mL, P<0,0001) y 71 % (1512,41 pg/mL, P<0,0001) de inhibición en la producción de LTC<sub>4</sub> para las dosis de 400 y 200 mg/mL del extracto HYOH-LP (Fig. 19A), mientras que para las dosis de 400, 200 y 100 mg/mL del extracto AQU-LP la inhibición fue de 58 % (2204,29 pg/mL, P<0,0001), 54% (2431,05 pg/ml, P<0,0001) y 40% (3124,28 pg/mL, P<0,0001) respectivamente (Fig. 19B), efectos que resultaron tener mayor eficacia que el grupo control con indometacina (4687,34±196,19 pg/mL, P<0,05). Sin embargo, a la dosis

más alta del extracto AQU-LP (500 mg/mL) se observó una sobreproducción de LTC<sub>4</sub> (6466,59 pg/mL, P<0,001)), lo cual indica que a mayores concentraciones de este extracto se podría obtener un efecto proinflamatorio.

Ambos extractos hidroetanólicos (HYOH-PT y HYOH-LP) presentaron un efecto mayor a los extractos acuosos (AQU-PT y AQU-LP) demostrando una vez más que los extractos hidroetanólicos presentan un mayor efecto de inhibición de mediadores inflamatorios.

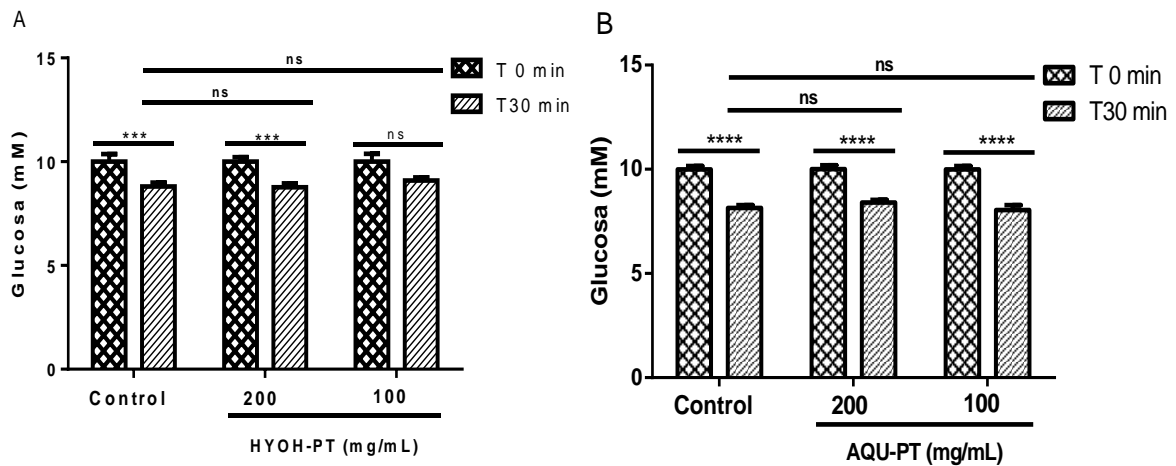


**Figura 19. Efecto de los extractos HYOH-LP y AQU-LP sobre la producción de LTC<sub>4</sub> en macrófagos estimulados con I.Ca.** Macrófagos murinos residentes de la cavidad peritoneal fueron aislados y estimulados en presencia o ausencia de indometacina (Indo) y diferentes concentraciones de los extractos durante 1 h con posterior estimulación de I.Ca 1  $\mu$ M por 2 h más. Los resultados muestran un efecto significativo para la disminución de la producción de LTC<sub>4</sub>, (A) extracto HYOH-LP, (B) extracto AQU-LP. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=2), \*P<0,05 \*\*\*=P<0.001 \*\*\*\*p<0,0001.

### 6.6. Los extractos de C. quinoa no estimulan la captación de glucosa en adipocitos murinos primarios.

Adipocitos murinos de tejido epididimal fueron aislados y sometidos a elevadas concentraciones de glucosa con previa estimulación de los extractos HYOH-PT y AQU-PT. Después de 30 min, el medio fue recolectado y se cuantificó la concentración de glucosa en el mismo para inferir de forma indirecta la captación de glucosa por los adipocitos. En la

figura 20 se muestra la concentración de glucosa en el medio al tiempo 0 y después de los 30 minutos de adición de glucosa, los resultados muestran una disminución significativa de la concentración de glucosa en el medio tras la estimulación con 200 mg/mL ( $8,4 \pm 0,13$  mM;  $P < 0,0001$ ) y 100 mg/mL ( $8,04 \pm 0,24$  mM;  $P < 0,0001$ ) del extracto AQU-PT en comparación con el tiempo inicial ( $10 \pm 0,19$  mM y  $10 \pm 0,16$  mM respectivamente) (Fig. 20B); sin embargo, esta disminución es muy similar al efecto obtenido con el control ( $8,14 \pm 0,15$  mM). Un panorama muy similar se presenta tras la estimulación con el extracto HYOH-PT a la concentración de 200 mg/ml, donde se puede apreciar una disminución significativa de la concentración de glucosa en el medio de  $10 \pm 0,22$  mM a  $8,8 \pm 0,19$  mM ( $P < 0,0001$ ), efecto que no es significativamente menor en comparación con el control ( $8,8 \pm 0,18$  mM, Fig. 20A). A la dosis de 100 mg/ml de este extracto no se observó disminución significativa de la concentración de glucosa en el medio después de los 30 min en presencia de los estímulos ( $9,11 \pm 0,15$  mM).



**Figura 20. Efecto de los extractos de *C. quinoa* sobre la captación de glucosa en adipocitos murinos.**

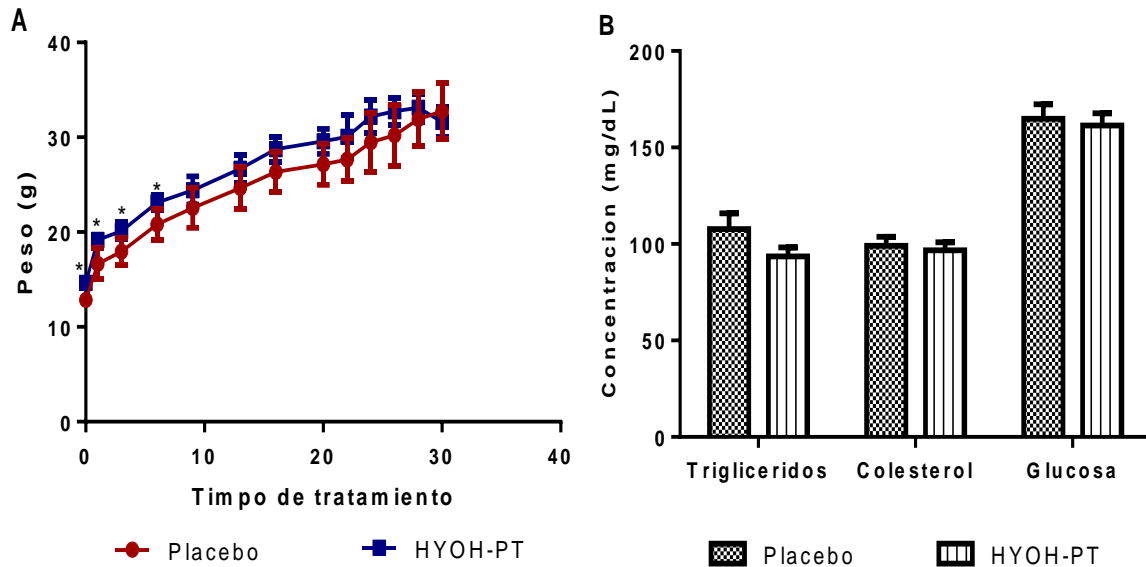
Adipocitos murinos primarios de tejido epididimal fueron aislados y estimulados en presencia de 200 y 100 mg/mL de los extractos de *C. quinoa* durante 20 minutos y posteriormente fueron incubados por 30 min más a 37°C en presencia de glucosa 10 mM. La concentración de glucosa en el medio fue cuantificado al tiempo inicial y luego de 30 min de la incubación con glucosa. Los resultados muestran disminución de la concentración de glucosa en el medio para inferir de manera indirecta la captación de glucosa. (A) extracto HYOH-PT, (B) extracto AQU-PT. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=8), \*\*\* $P < 0,001$ . \*\*\*\* $P < 0,0001$

### **6.7. Los parámetros sanguíneos en ratones alimentados con el extracto HYOH-PT no son alterados.**

La dieta suplementada con el extracto HYOH-PT en ratones Swiss albinos durante 30 días, no modificó su crecimiento ni los niveles sanguíneos de glucosa, triglicéridos y colesterol total en comparación con el grupo control. Si bien en la figura 21A se observa que el grupo tratado con el extracto HYOH-PT inicia el tratamiento con un peso promedio mayor al del grupo placebo ( $14,64 \pm 0,57$  g. y  $12,85 \pm 0,41$  g. respectivamente), esta diferencia significativa se va desvaneciendo después del sexto día de tratamiento mostrando posteriormente un crecimiento normal y equiparable al del grupo placebo. Pero además, se puede observar una ligera disminución del peso en el grupo tratado con el extracto después del día 26 del tratamiento mientras que en el grupo placebo el promedio del peso corporal sigue incrementándose hasta el punto final del ensayo.

Por otro lado, los niveles de glucosa, triglicérido y colesterol total no fueron modificados significativamente tras la suplementación con el extracto HYOH-PT. En la figura 21B se muestra una ligera disminución en los niveles de triglicéridos siendo  $93,65 \pm 4,61$  mg/dL para el grupo tratado y  $107,76 \pm 8,08$  mg/dL para el grupo placebo, mientras que los valores para colesterol total y glucosa son relativamente similares en ambos grupos (glucosa  $161,43 \pm 6,34$  mg/dL y colesterol total  $96,78 \pm 4,22$  mg/dL para el grupo tratado;  $164,91 \pm 7,51$  mg/dL y  $99,08 \pm 4,67$  mg/dL respectivamente para el grupo placebo).

Por otra parte, el almacenamiento de lípidos dentro del tejido adiposo epididimal no fue modificado significativamente tras el tratamiento con el extracto HYOH-PT. En la tabla 4 se aprecia el peso promedio del tejido adiposo y el hígado de los ratones en tratamiento.



**Figura 21. Crecimiento y niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol total de los ratones tratados con el extracto HYOH-PT.** Ratones Swiss albino de entre 12 y 14 g. fueron alimentados con una dieta suplementada con el extracto HYOH-PT durante 30 días. Los resultados muestran un crecimiento normal y peso similar en ambos grupos durante el tratamiento (A), y parámetros sanguíneos no modificados significativamente tras los 30 días de tratamiento en ambos grupos (B). Los valores representan la media ± DS en la figura A y media ± ES para la figura B (n=10 por grupo).

**Tabla 4. Peso de órganos de los animales tratados con el extracto HYOL-PT.**

Órgano	Peso De Órganos (g)	
	Placebo	HYOH-PT
Tejido adiposo epididimal	0,724 ± 0,056	0,582 ± 0,064
Hígado	1,776 ± 0,074	1,817 ± 0,045

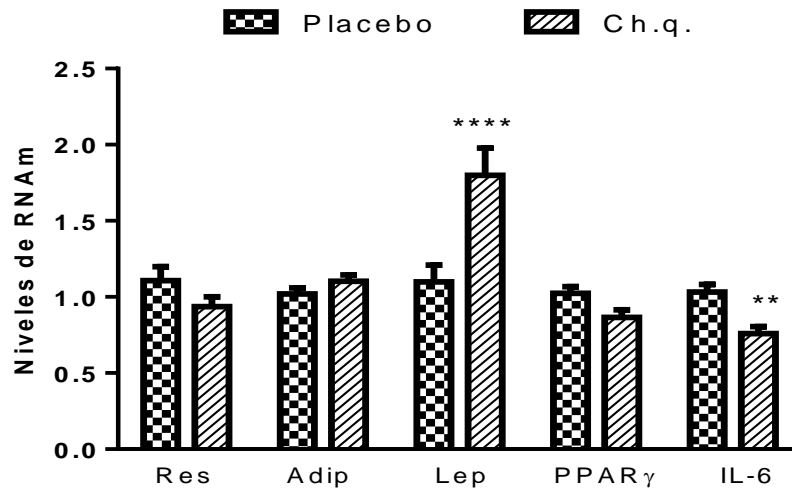
**6.8. La expresión de adipocinas es modificada por el extracto HYOL-PT.**

La expresión génica de algunas adipocinas provenientes de los adipocitos aislados del tejido epididimal de los ratones Swiss albino, fue modificada tras la alimentación suplementada con el extracto HYOL-PT durante 30 días en comparación con el grupo placebo. La expresión génica de leptina en el grupo tratado es  $1,8 \pm 0,18$  veces mayor que el grupo placebo



( $P < 0,0001$ ). Así mismo, la expresión génica de IL-6 también fue disminuida significativamente ( $0,76 \pm 0,046$ ) en comparación con el grupo placebo ( $1,033 \pm 0,05$ ;  $P < 0,001$ ). Por otra parte, los niveles de expresión de resistina y PPAR $\gamma$  fueron ligeramente menores en el grupo tratado ( $0,94 \pm 0,064$  y  $0,867 \pm 0,049$  respectivamente), en comparación con el grupo placebo ( $1,11 \pm 0,093$  para resistina y  $1,024 \pm 0,042$  para PPAR $\gamma$ ). Sin embargo, estos valores no son estadísticamente significativos.

Otro posible efecto del extracto HYOH-PT se puede apreciar por la tendencia a promover la secreción de adiponectina (adipoquina que promueve la secreción y sensibilización de la insulina). A pesar de que el resultado no es significativo, la expresión de esta adipoquina tiende a aumentar de  $1,019 \pm 0,041$  en el grupo placebo, a  $1,103 \pm 0,043$  en el grupo suplementado con el extracto HYOH-PT (Fig. 22)



**Figura 22. Niveles de expresión génica de adipoquinas provenientes de tejido epididimal de ratones tratados con HYOL-PT.** Ratones Swiss albino de entre 12 y 14 g fueron alimentados con una dieta suplementada con el extracto HYOH-PT durante 30 días. Posteriormente, el tejido adiposo epididimal fue sustraído y se realizó el aislamiento de RNAm para la evaluación de la expresión génica de adipoquinas. Los resultados muestran un aumento de la expresión de leptina y una disminución de IL-6 estadísticamente significativos, además se observa una tendencia favorable para reducir el grado de inflamación dentro del tejido adiposo. Los valores representan la media  $\pm$  ES (n=10 por grupo) \*\* $P < 0,01$ . \*\*\*\* $P < 0,0001$ .

---

## 7. Discusión.

En la actualidad se han realizado varios estudios de plantas con actividad anti-inflamatoria y/o anti-diabética para coadyuvar al tratamiento de la diabetes, sin embargo, se conoce poco sobre la actividad de *Chenopodium quinoa* Willd. sobre mediadores inflamatorios presentes en obesidad y DMT2. En este estudio se ha podido verificar que los extractos de *C. quinoa* presentan actividad reguladora sobre varios mediadores pro-inflamatorios que se encuentran característicamente elevados durante la obesidad y DMT2. Adicionalmente, se evidenció la diferencia de actividad que existe entre dos tipos de extracto de dos variantes de *C. quinoa*. Nuestros resultados muestran un efecto favorable para la disminución de mediadores pro-inflamatorios, efecto que es más evidente en los extractos hidroetanólicos de ambas quinuas y particularmente en el extracto HYOL-PT. Aunque ambas quinuas fueron tipificadas como *Chenopodium quinoa* Willd., nuestros resultados demostraron diferencia en la eficacia de acción anti-inflamatoria entre estas dos variantes de *C. quinoa*, efecto que estaría relacionado con la composición de nutrientes y/o compuestos bioactivos de cada tipo de quinua. La variabilidad en la composición fitoquímica entre diferentes genotipos de *C. quinoa* fue descrita anteriormente (Saad-Allah & Youssef, 2018) y otros estudios también abalan la diferencia fitoquímica como consecuencia de las diferentes condiciones agroecológicas y factores medio-ambientales en las que fueron cultivados (Iqbal, Yaning, Waqas, Shareef, & Raza, 2018; Reguera et al., 2018).

La sobreexpresión de iNOS y la producción de óxido nítrico juegan un rol muy importante para el desarrollo de resistencia a la insulina inducida por la obesidad en tejidos periféricos como el musculo esquelético (Sugita et al., 2005) e hígado (Shinozaki et al., 2011). Nuestros hallazgos muestran que la disminución en la producción de este mediador en macrófagos activados, fue inducida por los extractos de *C. quinoa* de manera dosis dependiente, a excepción del extracto AQU-LP donde la disminución no fue estadísticamente significativa. El efecto anti-inflamatorio de *C. quinoa* fue reportado previamente, donde la inhibición sobre la producción de óxido nítrico, IL-6 y TNF- $\alpha$  fue inducida por saponinas presente en las semillas de *C. quinoa* (Yao, Yang, et al., 2014), estos compuestos glucósidos de esteroides o de triterpenoides se encuentran en varias partes de la planta de quinua pero predominantemente en la corteza de las semillas (Kuljanabhagavad, Thongphasuk,

---

Chamultrat, & Wink, 2008) y han sido reconocidas como el principal factor anti-nutricional del grano debido a la alta toxicidad que presenta en sangre, aunque la toxicidad oral reportada en animales es baja (Filho et al., 2017). A pesar de ello, las semillas de quinua forman parte de la alimentación de los pueblos andinos para la preparación de harinas y platos típicos de la región. Sin embargo, su preparación se realiza después de varios lavados en agua para eliminar las saponinas que presentan un sabor amargo. En este sentido y rescatando el uso tradicional de las semillas de *C. quinoa*, nuestro estudio empleó semillas lavadas varias veces en agua destilada hasta eliminar la espuma característica que indica la presencia de saponinas.

Por lo anteriormente citado, nuestros resultados sugieren que la actividad anti-inflamatoria de los extractos de *C. quinoa* no se debe únicamente a la presencia de saponinas, y que por lo tanto existen otras moléculas que presentan esta actividad.

Adicionalmente, los macrófagos estimulados con LPS muestran una disminución significativa en la producción de IL-6, para los extractos HYOH-PT, AQU-PT y HYOH-LP con solo una dosis de las tres que fueron evaluadas por cada tipo de extracto. Los extractos AQU-PT y HYOH-LP muestran una tendencia de disminución en la producción de IL-6 con las concentraciones mínimas evaluadas, mientras que el extracto HYOH-PT muestra una disminución significativa a la mayor dosis evaluada con un perfil dosis dependiente, demostrándose también que existe un mejor pronóstico para los extractos hidroetanólicos de ambas quinuas. Se conoce que la estimulación con LPS promueve la activación del TLR4 el cual promueve la translocación de NF- $\kappa$ B para la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias como: IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-12 y TNF- $\alpha$ , siendo esta última la principal inductora de la producción de IL-6 y óxido nítrico (Płóciennikowska, Hromada-Judycka, Borzęcka, & Kwiatkowska, 2015). No obstante, la producción de TNF- $\alpha$  no fue modificada significativamente con ninguno de los cuatro extractos, aunque la menor producción de TNF- $\alpha$  se observa a las concentraciones más altas evaluadas, siendo este efecto más apreciable en presencia de HYOH-PT donde la concentración de esta citoquina es ligeramente menor pero no significativa en comparación con el control positivo, a pesar de que la estimulación de los macrófagos fue la misma para la evaluación de estos tres mediadores inflamatorios.

---

En los últimos años, varios estudios confirman que los granos de *C. quinoa* presentan una potente actividad antioxidante, antiinflamatoria, inmunoreguladora y anticáncer, donde los polisacáridos, compuestos fenólicos y flavonoides serían los componentes más comunes que ejercen estos efectos beneficiosos (Elisha et al., 2016; Hu et al., 2017; G. Ren et al., 2017; Yao, Shi, et al., 2014). Adicionalmente, otro estudio demostró que la causa de reducción de IL-6 y TNF- $\alpha$  observado en líneas celulares de macrófagos RAW264.7 estimulados con LPS, no es debida solo a la presencia de polisacáridos, sino también a la actividad de lunasina, un péptido presente en los granos de *C. quinoa* que mostró un potente efecto anti-inflamatorio y anti-oxidante (G. Ren et al., 2017). El hecho de que nuestros resultados no muestran una disminución significativa de TNF- $\alpha$ , no es indicativo de que nuestros extractos no disminuyen su producción, pero esta deficiente actividad podría ser como consecuencia de un periodo corto de estimulación en comparación con los otros estudios donde la estimulación se realizó durante 24 horas o debido a las bajas concentraciones evaluadas en nuestro estudio en comparación con los estudios mencionados anteriormente donde se emplearon fracciones separadas de los extractos de *C. quinoa* (G. Ren et al., 2017; Yao, Shi, et al., 2014). A pesar de ello, nuestros resultados sugieren que *C. quinoa* podría regular la expresión génica de mediadores pro-inflamatorios, esto debido a que los extractos HYOH-PT, AQU-PT y HYOH-LP disminuyen significativamente la expresión génica de IL-6 en macrófagos primarios estimulados con LPS, efecto que presenta un patrón similar a los resultados obtenidos con los ensayos de ELISA, la disminución significativa de ON e IL-6 y la deficiente actividad sobre TNF- $\alpha$ , nos sugiere que estos extractos podrían tener componentes con actividad más selectiva y podrían actuar también en otras vías relacionadas a la del NF- $\kappa\beta$ , por lo que la expresión de iNOS y la vía p38 de la señalización alterna de TNF- $\alpha$  que estimula la producción de IL-6 y óxido nítrico en macrófagos (Parameswaran & Patial, 2010; Yang et al., 2014), podrían ser dianas de estudio para el entendimiento de la actividad anti-inflamatoria que presentan estos extractos.

Los macrófagos juegan un rol muy importante para el desarrollo de la inflamación crónica observada en la obesidad, síndrome metabólico y DMT2 (Esser, Legrand-Poels, Piette, Scheen, & Paquot, 2014); la mayor producción de mediadores inflamatorios durante estas patologías está dado por la activación de macrófagos residentes del tejido adiposo y la

infiltración de células de sistema inmune dentro del tejido adiposo (Amano et al., 2014). En este sentido, en nuestro estudio también se evaluó la actividad de *C. quinua* sobre la producción de mediadores inflamatorios de origen lipídico ( $\text{PGE}_2$  y  $\text{LTC}_4$ ) en macrófagos estimulados con ionóforo de calcio A23187, el cual transfiere selectivamente calcio y magnesio a través de las membranas biológicas, promoviendo la activación de varias enzimas dependientes de calcio (Luckasen, White, & Kersey, 1974). Entre ellos, la  $\text{cPLA}_2\alpha$  se activa gracias al aumento intracelular de calcio y libera ácido araquidónico para la producción de eicosanoides (Leslie, 2015) tales como las prostaglandinas y leucotrienos (Funk, 2001). Nuestros resultados muestran un efecto inhibitorio de todos los extractos de *C. quinoa* sobre la producción de  $\text{PGE}_2$  y  $\text{LTC}_4$ . De hecho, el extracto AQU-PT muestra una relación de dosis versus efecto, a diferencia del extracto HYOH-PT el cual a concentraciones menores, disminuye significativamente la producción de  $\text{PGE}_2$ ; efecto que se repite de manera similar al obtenido con los extractos de la quinua blanca. Además, los extractos HYOH-PT y HYOH-LP presentan un efecto mayor en comparación con los extractos AQU-PT y AQU-LP debido a que logran disminuir la producción de  $\text{PGE}_2$  en más de 30% en comparación con sus controles negativos.

Por otra parte, la producción de  $\text{LTC}_4$  también disminuyó tras la estimulación de los macrófagos con todos los extractos. La inhibición de  $\text{LTC}_4$  por los extractos HYOH-LP y AQU-LP presentan un efecto muy similar a concentraciones menores de 400mg/mL mientras que el extracto HYOH-PT mostró un efecto más potente que el extracto AQU-PT a las dosis de 500, 400 y 200 mg/mL, demostrando una vez más una mayor actividad anti-inflamatoria en comparación con los demás extractos evaluados. A pesar de que no se han reportado estudios de *C. quinoa* sobre la producción de eicosanoides en ensayos *in vitro*, se estima que la actividad inhibitoria de nuestros extractos sobre la producción de  $\text{PGE}_2$  y  $\text{LTC}_4$  podría ser ocasionada por las betalainas presentes en las semillas de *C. quinoa* (Escribano et al., 2017; Vidaurre-Ruiz, Días-Rojas, Mendoza-Llamo, & Solano-Cornejo, 2017). Se ha reportado que betalainas presentes en algunas de las especies de *Amarantaceae* presentan un efecto inhibitorio sobre LOX, COX-1 y COX-2 (Graf et al., 2016; Jayaprakasam, Zhang, & Nair, 2004; Vidal, López-Nicolás, Gandía-Herrero, & García-Carmona, 2014).

La hiperglicemia característica de la DMT2 está asociada también a una disminución en el transporte de glucosa inducida por la insulina en el tejido adiposo y tejido muscular que eventualmente resulta en resistencia a la insulina (Bhattacharya et al., 2007; Chawla et al., 2011). En este sentido, nosotros también evaluamos el posible efecto antidiabético de *C. quinoa* con relación a la estimulación de la captación de glucosa en adipocitos primarios. Aunque se ha reportado que un lixiviado de *C. quinoa* rico en 20- hidroxiecdisona (20E), un fitoesteroide presente en las semillas y hojas de *C. quinoa*; reduce significativamente los niveles de glucosa en ayunas de ratones obesos e hiperglucémicos inducidos por la dieta (Graf et al., 2014), nuestros resultados no mostraron una modificación en la captación de glucosa en los adipocitos primarios inducida por los extractos HYOL-PT y AQU-PT en comparación con el grupo control, lo cual sugiere que nuestros extractos no incrementan la sensibilización de la glucosa en el tejido adiposo. Sin embargo, son necesarios más estudios para identificar el mecanismo por el cual *C. quinoa* ejerce un efecto hipoglucemiante.

Por otro lado, también evaluamos el efecto protector antiobesidad de *C. quinoa* en ratones Swiss albino sanos alimentados con una dieta suplementada con el extracto HYOH-PT durante 30 días. Existe evidencia científica de que la suplementación de *C. quinoa* mejora el perfil lipídico y disminuye los niveles de glucosa en ratas sanas y ratas alimentadas con dieta alta en fructuosa (Paško et al., 2010), pero nuestros hallazgos solo muestran una ligera disminución no significativa de triglicéridos, mientras que los niveles plasmáticos de glucosa y colesterol total no son modificados en los ratones suplementados con el extracto HYOH-PT tras el periodo de tratamiento. Esta deficiente actividad de nuestro extracto podría deberse a la diferente suplementación de *C. quinoa* empleada en nuestro estudio en comparación con el estudio mencionado anteriormente (Paško et al., 2010), donde un porcentaje de la comida estándar fue sustituido por las semillas de *C. quinoa*, mientras que, en nuestro estudio se adiciono solo una pequeña porción del extracto hidroetanólico de *C. quinoa* a la comida estándar. Lo cual sugiere que otros componentes macromoleculares ausentes en nuestro extracto, pero presentes en las semillas de *C. quinoa*, serían los principales responsables de la regulación de los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol en el organismo.

La desregulación en la secreción de adipoquinas inducida por la obesidad, también juega un rol primordial para el desarrollo de inflamación dentro del tejido adiposo y resistencia a la

---

insulina en tejidos sensibles a esta hormona (Fantuzzi, 2005; Fasshauer & Blüher, 2015; Molica et al., 2015). Es así que, en nuestro estudio evaluamos el efecto del extracto HYOH-PT sobre la producción de adipoquinas en tejido adiposo epididimal de los ratones alimentados con una dieta suplementada del extracto HYOH-PT, en el cual se aprecia un perfil de expresión benéfico de la producción de adipoquinas para disminuir la inflamación presente en la obesidad y DMT2, que estaría relacionado con la actividad antidiabética de *C. quinoa*.

El aumento de la adiposidad promueve un incremento en la secreción de adipoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-6 y resistina entre otros, que eventualmente conducen a un bajo grado de inflamación sistémica y resistencia a la insulina (Piya, Mcternan, & Kumar, 2013). Nuestros resultados muestran una disminución significativa en la expresión de IL-6 en tejido adiposo de los ratones suplementados con el extracto HYOH-PT, efecto que podría estar relacionado con la reducción de la adiposidad. Un estudio diferente demostró que la suplementación con un extracto hidrolizado de *C. quinoa* disminuye la ganancia de peso, ingesta de alimentos y los niveles de triglicéridos en ratas sedentarias y ratas ejercitadas (Meneguetti et al., 2011). En relación a este efecto, nuestros resultados solo muestran una ligera disminución en el peso del tejido adiposo de ratones suplementados con el extracto HYOL-PT en comparación con el grupo placebo. Así también, la ligera disminución de la expresión de PPAR $\gamma$  podría estar asociada con una disminución en la capacidad de almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo que resulta en la ligera disminución del peso del tejido adiposo en los ratones suplementados con HYOH-PT. A pesar de que la disminución en la expresión de PPAR $\gamma$  y el peso del tejido adiposo no fueron estadísticamente significativos en comparación con el grupo placebo, se presume que estos efectos podrían repercutir en la disminución significativa de la expresión génica de IL-6 en los ratones suplementados con nuestro extracto HYOH-PT, ya que varios estudios también demostraron que la pérdida de peso resulta también en una disminución de adipoquinas pro-inflamatorias que induce un mejor pronóstico para la sensibilidad a la insulina (Christiansen, Richelsen, & Bruun, 2005; Clément et al., 2004; Wakshlag et al., 2011; Woelnerhansen et al., 2011). 20-hidroxiecdisona, un ecdiesteroide encontrado en las semillas de *c. quinoa*, ha sido reportado como el componente principal que posee efecto modulador sobre la expresión



---

de adipoquinas en ratones alimentados con una dieta alta en grasa, mostrando también un efecto protector contra la obesidad ocasionado por una reducción de la captación de ácidos grasos y esterificación en el adipocito (A. Foucault et al., 2012).

La leptina, una adipoquina que controla la ingesta de alimentos promoviendo la saciedad (Yu & Kim, 2012), se muestra altamente expresada en el tejido adiposo de los ratones sanos suplementados con el extracto HYOH-PT. Aunque se ha reportado una relación positiva de leptina con el incremento de adiposidad e inflamación (Molica et al., 2015; Peelman et al., 2004), nuestros resultados no mostraron un aumento del tejido adiposo o ganancia de peso en los ratones suplementados con el extracto HYOH-PT. En contraste, estos ratones muestran una ligera disminución del peso corporal durante la adultez y después del día 26 de la suplementación con el extracto de C. quinoa, efecto que posiblemente fue ocasionado por una disminución de la ingesta de alimento y aumento de la saciedad, como consecuencia de la mayor expresión de leptina en el tejido adiposo de los ratones suplementados con el extracto HYOL-PT en comparación con el grupo placebo. Aunque el efecto de saciedad no es muy perceptible en nuestro estudio, posiblemente como consecuencia del periodo relativamente corto de la suplementación con HYOH-PT en los ratones durante la adultez, existe evidencia de que el consumo de C. quinoa disminuye el IMC y aumenta la sensación de saciedad y plenitud en sujetos prediabéticos (Abellán Ruiz et al., 2017).

Otros efectos posiblemente favorables aunque no significativos del extracto HYOH-PT, se observan con la ligera disminución de la resistina (adipoquina proinflamatoria que disminuye la sensibilidad a la insulina en los tejidos diana) y un leve aumento de la adiponectina (promueve la secreción de insulina y estimula la sensibilización de la misma en los tejidos periféricos), efectos que podrían resultar significativos en individuos obesos o con otras afecciones metabólicas.

En conjunto, nuestros resultados proveen evidencia científica de la actividad reguladora de los extractos de C. quinoa sobre la producción de mediadores inflamatorios involucrados en el desarrollo de obesidad y DMT2, además de presentar un efecto protector contra el desarrollo de obesidad en individuos sanos. Efectos benéficos que pueden ser ocasionados por el contenido de polisacárido, compuestos fenólico, flavonoides, betalainas,



---

ecdiesteroides entre otros, que fueron recuperados en la fracción acuosa e hidroetanólica de los extractos empleados en este estudio. Sin embargo, la diferencia de actividad entre los extractos de ambas variantes de *C. quinoa*, sugiere que estas especies presentan un diferente contenido de estos metabolitos activos, por lo cual es necesario realizar un análisis fitoquímico de los extractos de estas dos variantes de *C. quinoa* para identificar los componentes presentes en cada una de ellas, y así explicar el efecto mayor que presentan los extractos de la quinua roja en comparación con la quinua blanca.

Por otro lado, es necesario evaluar el efecto de *C. quinoa* en modelos de obesidad o diabetes para corroborar nuestros hallazgos y así brindar más respaldo científico sobre su actividad farmacológica, para concientizar el consumo de quinua y emplearlo como un tratamiento coadyuvante para tratar la obesidad y los desórdenes metabólicos asociados a la diabetes.

---

## 8. Conclusiones.

Los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd. muestran un potencial efecto modulador sobre los mediadores pro-inflamatorios característicos de la obesidad y DMT2 en modelos in vitro e in vivo.

Los extractos de *C. quinoa* presentan actividad anti-inflamatoria; los extractos HYOH-PT, AQU-PT y HYOH-LP disminuyen la producción de NO e IL-6 sin modificar significativamente la producción de TNF- $\alpha$ . Además, todos los extractos reducen significativamente la producción de PGE<sub>2</sub> y LTC<sub>4</sub>; estos resultados indican que los extractos de *C. quinoa* ejercen un mayor efecto inhibitor sobre la producción de mediadores proinflamatorios de origen lipídico.

El extracto HYOH-PT presenta un efecto antiinflamatorio más potente en comparación con los demás extractos. Los diferentes ensayos realizados en macrófagos murinos primarios, evidenciaron que este extracto reduce la producción de mediadores inflamatorios de manera dosis dependiente.

Por otra parte, los extractos de *C. quinoa* no mostraron efecto significativo sobre la captación de glucosa en adipocitos murinos primarios y el extracto HYOH-PT no modificó los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol sérico total en ratones sanos suplementados con este extracto.

El extracto HYOH-PT modifica los niveles de expresión génica de adipoquinas involucradas en el desarrollo de diabetes y resistencia a la insulina. La suplementación de este extracto en la dieta de los ratones sanos disminuye significativamente la expresión de IL-6 en los adipocitos, efecto que sería provocado por una reducción de la adipogénesis expresado en la ligera disminución de la expresión de PPAR $\gamma$  y un menor peso del tejido adiposo epididimal. Además, se infiere que el extracto HYOH-PT induce sensación de saciedad y plenitud debido a que aumenta significativamente la expresión de leptina e induce una ligera disminución del peso corporal en los ratones tratados durante la etapa adulta.

---

## 9. Referencias bibliográficas:

- Abad, M. J., Bessa, A. L., Ballarin, B., Arag, O., Gonzales, E., & Bermejo, P. (2006). Anti-inflammatory activity of four Bolivian *Baccharis* species ( Compositae ). *Journal of Ethnopharmacology*, *103*(3), 338–344. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.024>
- Abellán Ruiz, M. S., Barnuevo Espinosa, M. D., García Santamaría, C., Contreras Fernández, C. J., Garcia Aldeguer, M., Soto Méndez, F., ... López Román, F. J. (2017). Efecto del consumo de quinoa (*Chenopodium quinoa*) como coadyuvante en la intervención nutricional en sujetos prediabéticos. *Nutrición Hospitalaria*, *34*(5), 1163–1169. <https://doi.org/10.1109/IMNC.2000.872622>
- Abugoch, J. L. E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, *58*, 1–13.
- Achari, A. E., & Jain, S. K. (2017). Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(6). <https://doi.org/10.3390/ijms18061321>
- Adamczak, M., & Wiecek, A. (2013). The Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Seminars in Nephrology*, *33*(1), 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2012.12.008>
- Amano, S. U., Cohen, J. L., Vangala, P., Tencerova, M., Nicoloro, S. M., Yawe, J. C., ... Aouadi, M. (2014). Local proliferation of macrophages contributes to obesity-associated adipose tissue inflammation. *Cell Metabolism*, *19*(1), 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.11.017>
- Ambrosini, G., Nath, A. K., Sierra-Honigmann, M. R., & Flores-Riveros, J. (2002). Transcriptional Activation of the Human Leptin Gene in Response to Hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(37), 34601–34609. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205172200>
- Arrebola Arencibia, D. F., Fernández Rosario, L. A., & Curveco Sánchez, D. L. (2003). Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia , algunas consideraciones y su utilidad . *Revista De Toxicología En Linea*, 40–52. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Daniel\\_Arencibia/publication/242644724\\_Principales\\_ensayos\\_para\\_determinar\\_la\\_citotoxicidad\\_de\\_una\\_sustancia\\_algunas\\_consideraciones\\_y\\_su\\_utilidad/links/0deec5385f44296f6b000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Daniel_Arencibia/publication/242644724_Principales_ensayos_para_determinar_la_citotoxicidad_de_una_sustancia_algunas_consideraciones_y_su_utilidad/links/0deec5385f44296f6b000000.pdf)
- Asif, S., Bennett, J., & Marakkath, B. (2019). Metformin-associated Lactic Acidosis : An Unexpected Scenario. *Cureus*, *11*(4), 3–7. <https://doi.org/10.7759/cureus.4397>
- Aye, M. M., Butler, A. E., Kilpatrick, E. S., Kirk, R., Vince, R., Rigby, A. S., ... Atkin, S. L. (2018). Dynamic Change in Insulin Resistance Induced by Free Fatty Acids Is Unchanged Though Insulin Sensitivity Improves Following Endurance Exercise in

- 
- PCOS. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00592>
- Bäck, M., Sultan, A., Ovchinnikova, O., & Hansson, G. K. (2007). 5-Lipoxygenase-activating protein: A potential link between innate and adaptive immunity in atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Circulation Research*, 100(7), 946–949. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000264498.60702.0d>
- Badimon, L., & Cubedo, J. (2017). Adipose tissue depots and inflammation: Effects on plasticity and resident mesenchymal stem cell function. *Cardiovascular Research*, 113(9), 1064–1073. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx096>
- Barrios-Correa, A. A., Estrada, J. A., & Contreras, I. (2018). Leptin Signaling in the Control of Metabolism and Appetite : Lessons from Animal Models. *Journal of Molecular Neuroscience*, 63(3), 1–12. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1185-0>ALeptin
- Bascuñán Godoy, L., Reguera, M., Abdel-Tawab, Y. M., & Blumwald, E. (2015). Water deficit stress-induced changes in carbon and nitrogen partitioning in *Chenopodium quinoa* Willd. *Planta*, 243(3), 591–603. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2424-z>
- Bastard, J.-P. P., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M. J., Caron, M., Vidal, H., ... Fève, B. (2006). Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European Cytokine Network*, 17(1), 4–12. <https://doi.org/10.5551/jat.12.295>
- Bates, S. H., Stearns, W. H., Dundon, T. A., Schubert, M., Tso, A. W. K., Wang, Y., ... Myers, M. G. (2003). STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*, 421(6925), 856–859. <https://doi.org/10.1038/nature01388>
- Bédard, S., Marcotte, B., & Marette, A. (1997). Cytokines modulate glucose transport in skeletal muscle by inducing the expression of inducible nitric oxide synthase. *The Biochemical Journal*, 325 ( Pt 2), 487–493. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(96\)05976-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(96)05976-X)
- Bhattacharya, S., Dey, D., & Roy, S. S. (2007). Molecular mechanism of insulin resistance. *Journal of Biosciences*, 32(2), 405–413. <https://doi.org/10.1007/s12038-007-0038-8>
- Björnholm, M., & Zierath, J. R. (2005). Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes. *Biochemical Society Transactions*, 33(Pt 2), 354–357. <https://doi.org/10.1042/BST0330354>
- Bjornstad, P., & Eckel, R. H. (2018). Pathogenesis of Lipid Disorders in Insulin Resistance : a Brief Review. *Current Diabetes Reports*, 18, 127–135.
- Black, R. A., Rauch, C. T., Kozlosky, C. J., Peschon, J. J., Slack, J. L., Wolfson, M. F., ... Cerretti, D. P. (1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells. *Nature*, 385(6618), 729–733. <https://doi.org/10.1038/385729a0>
-

- Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J., & Foster, M. T. (2016). Adipose tissue: An endocrine organ playing a role in metabolic regulation. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 26(1), 25–42. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0073>
- Bouzakri, K., Koistinen, H. A., & Zierath, J. R. (2005). Molecular mechanisms of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 1(2), 167–174.
- Bouzakri, Karim, & Zierath, J. R. (2007). MAP4K4 gene silencing in human skeletal muscle prevents tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced insulin resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 282(11), 7783–7789. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608602200>
- Bruun, J. M., Lihn, A. S., Verdich, C., Pedersen, S. B., Toubro, S., Astrup, A., & Richelsen, B. (2003). Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*, 285(3), E527–E533. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00110.2003>
- Buettner, C., Pocius, A., Muse, E. D., Etgen, A. M., & Myers, M. G. (2006). Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell Metabolism*, 4(1), 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.04.014>
- Cabolqui. (2017). La “quinua real”: un producto único que crece de los salares de Bolivia al mundo - Cámara Boliviana de Exportadores de Quinoa y Productos Orgánicos. Retrieved January 16, 2019, from <http://www.cabolqui.org/es/noticias/la-quinua-real-producto-unico-crece-los-salares-bolivia-al-mundo/>
- Cai, K., Qi, D., Wang, O., Chen, J., Liu, X., Deng, B., ... Le, Y. (2011). TNF- $\alpha$  acutely upregulates amylin expression in murine pancreatic beta cells. *Diabetologia*, 54(3), 617–626. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1972-9>
- Calder, P., & Grimble, R. (2002). Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(3), 14–19. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601478>
- Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol Rev*, 84, 277–359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>
- Carboneau, B. A., Allan, J. A., Townsend, S. E., Kimple, M. E., Breyer, R. M., & Gannon, M. (2017). Opposing effects of prostaglandin E2 receptors EP3 and EP4 on mouse and human  $\beta$ -cell survival and proliferation. *Molecular Metabolism*, 6(6), 548–559. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.04.002>
- Ceddia, R. B., Somwar, R., Maida, A., Fang, X., Bikopoulos, G., & Sweeney, G. (2005). Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia*, 48(1), 132–139. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1609-y>
- Chang, E., Park, C. Y., & Park, S. W. (2013). Role of thiazolidinediones, insulin

- sensitizers, in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(6), 517–524. <https://doi.org/10.1111/jdi.12107>
- Charbonneau, A., & Marette, A. (2010). Inducible Nitric Oxide Synthase Induction Underlies Lipid-Induced Hepatic Insulin Resistance in Mice Potential Role of Tyrosine Nitration of Insulin Signaling Proteins. *Diabetes*, 59(April), 861–871. <https://doi.org/10.2337/db09-1238>.
- Chawla, A., Nguyen, K. D., & Goh, Y. P. S. (2011). Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 738–749. <https://doi.org/10.1038/nri3071>
- Chen, H. (2006). Cellular inflammatory responses: Novel insights for obesity and insulin resistance. *Pharmacological Research*, 53(6), 469–477. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.03.003>
- Cheng, D. M., Kuhn, P., Poulev, A., Rojo, L. E., Lila, M. A., & Raskin, I. (2012). In vivo and in vitro antidiabetic effects of aqueous cinnamon extract and cinnamon polyphenol-enhanced food matrix. *Food Chemistry*, 135(4), 2994–3002. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>
- Choi, H. Y., Kim, S., Yang, S. J., Yoo, H. J., Seo, J. A., Kim, S. G., ... Choi, K. M. (2011). Association of adiponectin, resistin, and vascular inflammation: Analysis with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(4), 944–949. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.220673>
- Choi, S. Il, Lee, J. S., Lee, S., Lee, J. H., Yang, H. S., Yeo, J., ... Lee, O. H. (2018). Radical scavenging-linked anti-adipogenic activity of *Alnus firma* extracts. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(1), 119–128. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3221>
- Cholankeril, R., Patel, V., Perumpail, B., Yoo, E., Iqbal, U., Sallam, S., ... Ahmed, A. (2018). Anti-Diabetic Medications for the Pharmacologic Management of NAFLD. *Diseases*, 6(4), 93. <https://doi.org/10.3390/diseases6040093>
- Choukr-Allah, R., Rao, N. K., Hirich, A., Shahid, M., Alshankiti, A., Toderich, K., ... Butt, K. U. R. (2016). Quinoa for Marginal Environments: Toward Future Food and Nutritional Security in MENA and Central Asia Regions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00346>
- Christiansen, T., Richelsen, B., & Bruun, J. M. (2005). Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *International Journal of Obesity*, 29(1), 146–150. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802839>
- Clément, K., Viguierie, N., Poitou, C., Carette, C., Pelloux, V., Curat, cyrile a., ... Langin, D. (2004). Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *The FASEB Journal*, 18(14), 1657–1669. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2204com>

- 
- Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. *Archives of Medical Science*, 9(2), 191–200.  
<https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181>
- Comai, S., Bertazzo, A., Bailoni, L., Zancato, M., Costa, C. V. L., & Allegri, G. (2007). The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours. *Food Chemistry*, 100(4), 1350–1355.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.072>
- Costa, M. F. de S., de Souza-Martins, R., de Souza, M. C., Benjamim, C. F., Piva, B., Diaz, B. L., ... Penido, C. (2010). Leukotriene B4 mediates  $\{\gamma\}$   $\{\delta\}$  T lymphocyte migration in response to diverse stimuli. *Journal of Leukocyte Biology*, 87(2), 323–332. <https://doi.org/10.1189/jlb.0809563>
- Das Kunar, S., & Elbein C., S. (2006). The Genetic Basis of Type 2 Diabetes. *Cellscience*, 2(4), 100–131.
- De Ferranti, S., & Mozaffarian, D. (2008). The perfect storm: Obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clinical Chemistry*, 54(6), 945–955.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.100156>
- Deiuliis, J., Shah, Z., Shah, N., Needleman, B., Mikami, D., Narula, V., ... Rajagopalan, S. (2011). Visceral adipose inflammation in obesity is associated with critical alterations in tregulatory cell numbers. *PLoS One*, 6(1), 1–11.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016376>
- Domingues, N., Pelletier, J., Ostenson, C., & Castro, M. M. C. A. (2014). Therapeutic properties of VO ( dmpp ) 2 as assessed by in vitro and in vivo studies in type 2 diabetic GK rats. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 131(1), 115–122.  
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.11.005>
- Dunmore, S. J., & Brown, J. E. P. (2013). The role of adipokines in b-cell failure of type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology*, 216(1), T37–T45. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0278>
- Edgerton, D. S., Cardin, S., Emshwiller, M., Neal, D., Chandramouli, V., Schumann, W. C., ... Cherrington, A. D. (2001). Small Increases in Insulin Inhibit Hepatic Glucose Production Solely Caused by an Effect on Glycogen Metabolism. *Diabetes*, 50(8), 1872–1882. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.8.1872>
- Edgerton, D. S., Kraft, G., Smith, M., Farmer, B., Williams, P. E., Coate, K. C., ... Cherrington, A. D. (2017). Insulin’s direct hepatic effect explains the inhibition of glucose production caused by insulin secretion. *JCI Insight*, 2(6), 1–14.  
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.91863>
- Edgerton, D. S., Lautz, M., Scott, M., Everett, C. A., Stettler, K. M., Neal, D. W., ... Cherrington, A. D. (2006). Insulin ’ s direct effects on the liver dominate the control of hepatic glucose production. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(2), 521–527.  
<https://doi.org/10.1172/JCI27073>
-



- Elisha, I. L., Dzoyem, J. P., McGaw, L. J., Botha, F. S., & Eloff, J. N. (2016). The anti-arthritic, anti-inflammatory, antioxidant activity and relationships with total phenolics and total flavonoids of nine South African plants used traditionally to treat arthritis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *16*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1301-z>
- Escribano, J., Cabanes, J., Jiménez-Atiénzar, M., Ibañez-Tremolada, M., Gómez-Pando, L. R., García-Carmona, F., & Gandía-Herrero, F. (2017). Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food Chemistry*, *234*, 285–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.187>
- Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J., & Paquot, N. (2014). Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *105*(2), 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.006>
- Esteve Ràfols, M. (2014). Tejido adiposo: Heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinología y Nutrición*, *61*(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.03.011>
- Exley, M. A., Hand, L., O’Shea, D., & Lynch, L. (2014). Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *Journal of Endocrinology*, *223*(2), 41–48. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0516>
- Fain, J. N., Madan, A. K., Hiler, M. L., Cheema, P., & Bahouth, S. W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*, *145*(5), 2273–2282. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1336>
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *115*(5), 911–920. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.02.023>
- FAO. (2011). *La quinua : Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Proinpa*. [https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo\\_quinua\\_es.pdf](https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinua_es.pdf)
- Fasshauer, M., & Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, *36*(7), 461–470. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014>
- Fasshauer, M., Kralisch, S., Klier, M., Lossner, U., Blüher, M., Klein, J., & Paschke, R. (2003). Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *301*(4), 1045–1050. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00090-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00090-1)
- Fernández-Veledo, S., Vila-Bedmar, R., Nieto-Vazquez, I., & Lorenzo, M. (2009). c-Jun N-Terminal Kinase 1/2 Activation by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Induces Insulin Resistance In Human Visceral But Not Subcutaneous Adipocytes: Reversal by Liver X Receptor Agonists. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *94*(9),



---

3583–3593. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0558>

- Filgueiras, L. R., Serezani, C. H., & Jancar, S. (2015). Leukotriene B4 as a potential therapeutic target for the treatment of metabolic disorders. *Frontiers in Immunology*, 6, 13–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00515>
- Filho, A. M. M., Pirozi, M. R., Borges, J. T. D. S., Sant’Ana, H. M. P., Chaves, J. B. P., & Coimbra, J. S. D. R. (2017). Quinoa : Nutritional , functional , and antinutritional aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1618–1630. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.1001811>
- Flory, J. H., Hennessy, S., Bailey, C. J., & Inzucchi, S. E. (2019). *Reports of Lactic Acidosis Attributed to Metformin , 2015-2018. Diabetes care.* <https://doi.org/10.2337/dc19-0923>
- Forstermann, U., & Sessa, W. C. (2011). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
- Foucault, A., Mathé, V., Lafont, R., Even, P., Dioh, W., Veillet, S., ... Hermier, D. (2012). Quinoa Extract Enriched in 20-Hydroxyecdysone Protects Mice From Diet-Induced Obesity and Modulates Adipokines Expression. *Obesity*, 20(2), 270–277. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.257>
- Foucault, A. S., Even, P., Lafont, R., Dioh, W., Veillet, S., Tomé, D., ... Quignard-Boulangé, A. (2014). Quinoa extract enriched in 20-hydroxyecdysone affects energy homeostasis and intestinal fat absorption in mice fed a high-fat diet. *Physiology and Behavior*, 128, 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.002>
- Fried, S. K., & Zechner, R. (1989). Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *Journal of Lipid Research*, 30(12), 1917–1923. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2695592>
- Fruebis, J. (2001). Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(4), 2005–2010. <https://doi.org/10.1073/pnas.041591798>
- Fujisaka, S., Usui, I., Bukhari, A., Iikutani, M., Oya, T., Kanatani, Y., ... Tobe, K. (2009). Regulatory Mechanisms for Adipose Tissue M1 and M2 Macrophages in Diet-Induced Obese Mice. *Diabetes*, 58(11), 2574–2582. <https://doi.org/10.2337/db08-1475>.
- Funk, C. D. (2001). Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. *Science*, 294(5548), 1871–1875. <https://doi.org/10.1126/science.294.5548.1871>
- Galic, S., Oakhill, J. S., & Steinberg, G. R. (2010). Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316(2), 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.018>
-

- Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2016). Biological Activities of Plant Pigments Betalains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(6), 937–945. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.740103>
- Gaspar, R. C., Muñoz, V. R., Kuga, G. K., Nakandakari, S. C. B. R., Minuzzi, L. G., Botezelli, J. D., ... Pauli, J. R. (2018). Acute physical exercise increases leptin-induced hypothalamic extracellular signal-regulated kinase1/2 phosphorylation and thermogenesis of obese mice. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(1), 697–704. <https://doi.org/10.1002/jcb.27426>
- Gawlik-Dziki, U., Świeca, M., Sułkowski, M., Dziki, D., Baraniak, B., & Czyz, J. (2013). Antioxidant and anticancer activities of Chenopodium quinoa leaves extracts - In vitro study. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.03.023>
- González-Chávez, M. M., Ramos-Velázquez, C. S., Serrano-Vega, R., Pérez-González, C., Sánchez-Mendoza, E., & Pérez-Gutiérrez, S. (2017). Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1467–1472. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1305423>
- Gordon, S., & Taylor, P. R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 5(12), 953–964. <https://doi.org/10.1038/nri1733>
- Graf, B. L., Poulev, A., Kuhn, P., Grace, M. H., Lila, M. A., & Raskin, L. (2014). Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds with anti-diabetic properties. *Food Chemistry*, 163, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.pmj.2014.02.014>
- Graf, B. L., Rojas-Silva, P., Rojo, L. E., Delatorre-Herrera, J., Baldeón, M. E., & Raskin, I. (2016). Innovations in Health Value and Functional Food Development of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), 431–445. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12135>
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Shaw, J. E. (2014). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2), 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002>
- Guariguata, Leonor, Whiting, D., Weil, C., & Unwin, N. (2011). The International Diabetes Federation diabetes atlas methodology for estimating global and national prevalence of diabetes in adults. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94(3), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.040>
- Gunaratne, K., Austin, E., & Wu, P. E. (2018). Unintentional sulfonylurea toxicity due to a drug-drug interaction: A case report. *BMC Research Notes*, 11(1), 10–12. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3404-8>
- Gupta, D., Varma, S., & Khandelwal, R. L. (2007). Long-term effects of tumor necrosis factor-alpha treatment on insulin signaling pathway in HepG2 cells and HepG2 cells

- overexpressing constitutively active Akt/PKB. *Journal of Cellular Biochemistry*, 100(3), 593–607. <https://doi.org/10.1002/jcb.21080>
- Gushiken, L. F., Beserra, F. P., Rozza, A. L., Bérghamo, P. L., Bérghamo, D. A., & Pellizzon, C. H. (2016). Chemical and biological aspects of extracts from medicinal plants with antidiabetic effects. *Review of Diabetic Studies*, 13(2–3), 96–112. <https://doi.org/10.1900/RDS.2016.13.96>
- Haas, M. J., Horani, M., Mreyoud, A., Plummer, B., Wong, N. C. W., & Mooradian, A. D. (2003). Suppression of apolipoprotein AI gene expression in HepG2 cells by TNF  $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1623(2–3), 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2003.08.004>
- Hada, Y., Yamauchi, T., Waki, H., Tsuchida, A., Hara, K., Yago, H., ... Kadowaki, T. (2007). Selective purification and characterization of adiponectin multimer species from human plasma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 356(2), 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.03.004>
- Harizi, H., & Gualde, N. (2002). Dendritic cells produce eicosanoids, which modulate generation and functions of antigen-presenting cells. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 66(5–6), 459–466. <https://doi.org/10.1054/plef.2002.0383>
- Hauner, H., Petruschke, T., Russ, M., Rohrig, K., & Eckel, J. (1995). Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. *Diabetologia*, 38(7), 764–771. <https://doi.org/10.1007/s001250050350>
- Henquin, J. C., Nenquin, M., Sempoux, C., Guiot, Y., Bellanné-Chantelot, C., Otonkoski, T., ... Rahier, J. (2011). In vitro insulin secretion by pancreatic tissue from infants with diazoxide-resistant congenital hyperinsulinism deviates from model predictions. *Journal of Clinical Investigation*, 121(10), 3932–3942. <https://doi.org/10.1172/JCI58400>
- Horrillo, R., González-Pérez, A., Martínez-Clemente, M., López-Parra, M., Ferré, N., Titos, E., ... Clària, J. (2010). 5-Lipoxygenase Activating Protein Signals Adipose Tissue Inflammation and Lipid Dysfunction in Experimental Obesity. *Journal of Immunology*, 184(7), 3978–3987. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901355>
- Hotamisligil, G. S., & Ebru, E. (2008). Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nature Reviews Immunology*, 8(12), 1–26. <https://doi.org/10.1038/nri2449.Nutrient>
- Hu, Y., Zhang, J., Zou, L., Fu, C., Li, P., & Zhao, G. (2017). Chemical characterization, antioxidant, immune-regulating and anticancer activities of a novel bioactive polysaccharide from Chenopodium quinoa seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 622–629. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.019>
- Huang, G., Pan, C., Liu, F., Wu, T., & Wu, C. (2012). Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Antrodia salmonea* in the lipopolysaccharide-stimulated RAW246

- . 7 macrophages and the k -carrageenan-induced paw edema model. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1485–1493. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.041>
- Huszar, D., Lynch, C. A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J. H., Fang, Q., Berkemeier, L. R., ... Frank, L. (1997). Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*, 88(1), 131–141. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81865-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81865-6)
- Ibars, M., Ardid-Ruiz, A., Suárez, M., Mugerza, B., Bladé, C., & Aragonès, G. (2017). Proanthocyanidins potentiate hypothalamic leptin/STAT3 signalling and Pomc gene expression in rats with diet-induced obesity. *International Journal of Obesity*, 41(1), 129–136. <https://doi.org/10.1038/ijo.2016.169>
- Instituto Nacional de Estadística. (2017). En 2016 se registraron 138.124 casos de diabetes. Retrieved January 10, 2019, from <https://www.ine.gob.bo/index.php/principales-indicadores/item/2203-en-2016-se-registraron-138-124-casos-de-diabetes>
- Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., ... Matthews, D. (2015). Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes , 2015 : A Patient- Centered Approach Update to a Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of. *Diabetes Care*, 38(1), 140–149. <https://doi.org/10.2337/dc14-2441>
- Iqbal, H., Yaning, C., Waqas, M., Shareef, M., & Raza, S. T. (2018). Differential response of quinoa genotypes to drought and foliage-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in relation to oxidative damage, osmotic adjustment and antioxidant capacity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164(818), 344–354. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.004>
- Israf, D. A., Khaizurin, T. A., Syahida, A., Lajis, N. H., & Khozirah, S. (2007). Cardamonin inhibits COX and iNOS expression via inhibition of p65NF-κB nuclear translocation and IκB phosphorylation in RAW 264.7 macrophage cells. *Molecular Immunology*, 44(5), 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.04.025>
- Jayaprakasam, B., Zhang, Y., & Nair, M. G. (2004). Tumor cell proliferation and cyclooxygenase enzyme inhibitory compounds in *Amaranthus tricolor*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 6939–6943. <https://doi.org/10.1021/jf048836z>
- Jovinge, S., Hamsten, A., Tornvall, P., Bhvenholm, P., Ericsson, C., Faire, U. De, & Nilsson, J. (1998). Evidence for a role of tumor necrosis factor-alpha in disturbances of triglyceride and glucose metabolism predisposing to coronary heart disease. *Endocrinology And Metabolism*, 47(1), 113–118.
- Jung, Y. Y., Hong, J. T., Han, S. B., Park, Y. H., & Son, D. J. (2015). Effect of *Ixeris dentata* Nakai Extract on Nitric Oxide Production and Prostaglandin E<sub>2</sub> Generation in LPS-stimulated RAW264.7 Cells . *Immune Network*, 15(6), 325. <https://doi.org/10.4110/in.2015.15.6.325>
- Kaaman, M., Ryde, M., Axelsson, T., Nordstro, E., Sicard, A., Bouloumie, A., ...

- Dahlman, I. (2006). ALOX5AP expression , but not gene haplotypes , is associated with obesity and insulin resistance. *International Journal of Obesity*, 30(3), 447–452. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803147>
- Kanda, H., Tateya, S., Tamori, Y., Kotani, K., Hiasa, K., Kitazawa, R., ... Kasuga, M. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 116(6), 1494–1505. <https://doi.org/10.1172/JCI26498DS1>
- Kawanami, D., Maemura, K., Takeda, N., Harada, T., Nojiri, T., Imai, Y., ... Nagai, R. (2004). Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: A new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 314(2), 415–419. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.12.104>
- Kim, H. E., Choi, S. E., Lee, S. J., Lee, J. H., Lee, Y. J., Kang, S. S., ... Kang, Y. (2008). Tumour necrosis factor- $\alpha$ -induced glucose-stimulated insulin secretion inhibition in INS-1 cells is ascribed to a reduction of the glucose-stimulated Ca<sup>2+</sup>-influx. *Journal of Endocrinology*, 198(3), 549–560. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0131>
- Kim, H. K., Hairani, R., Jeong, H., Jeong, M. G., Chavasiri, W., & Hwang, E. S. (2017). CBMG, a novel derivative of mansonone G suppresses adipocyte differentiation via suppression of PPAR $\gamma$  activity. *Chemico-Biological Interactions*, 273, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.017>
- Knowles, R. G., & Moncada, S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochemical Journal*, 298(2), 249–258. <https://doi.org/10.1042/bj2980249>
- Kobashi, C., Urakaze, M., Kishida, M., Kibayashi, E., Kobayashi, H., Kihara, S., ... Kobayashi, M. (2005). Adiponectin inhibits endothelial synthesis of interleukin-8. *Circulation Research*, 97(12), 1245–1252. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000194328.57164.36>
- Kocot, J., Dziemidok, P., Kiełczykowska, M., Hordyjewska, A., Szcześniak, G., & Musik, I. (2017). Adipokine Profile in Patients with Type 2 Diabetes Depends on Degree of Obesity. *Medical Science Monitor*, 23, 4995–5004. <https://doi.org/10.12659/MSM.904318>
- Koerner, A., Kratzsch, J., & Kiess, W. (2005). Adipocytokines: Leptin - The classical, resistin - The controversial, adiponectin - The promising, and more to come. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 19(4), 525–546. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.07.008>
- Krajewska, M., Banares, S., Zhang, E. E., Huang, X., Scadeng, M., Jhala, U. S., ... Krajewski, S. (2008). Development of diabetes in mice with neuronal deletion of Shp2 tyrosine phosphatase. *American Journal of Pathology*, 172(5), 1312–1324. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.070594>
- Kriegler, M., Perez, C., DeFay, K., Albert, I., & Lu, S. D. (1988). A novel form of



- 
- TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: Ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*, 53(1), 45–53. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90486-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90486-2)
- Kuljanabhadgavad, T., Thongphasuk, P., Chamulitrat, W., & Wink, M. (2008). Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. *Phytochemistry*, 69(9), 1919–1926. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.03.001>
- Landstram, A. H. S., Andersson, A., & Borg, L. A. H. (1991). Lysosomes and pancreatic islet function: adaptation of beta-cell lysosomes to various metabolic demands. *Metabolism*, 40(4), 399–405.
- Lee, J. H., Hyun, E., Yoon, W. J., Kim, B. H., Rhee, M. H., Kang, H. K., ... Yoo, E. S. (2006). In vitro anti-inflammatory and anti-oxidative effects of *Cinnamomum camphora* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(2), 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.009>
- Lee, O.-H., Kwon, Y.-I., Hong, H.-D., Park, C.-S., Lee, B.-Y., Kim, Y.-C., & \*. (2009). Production of Reactive Oxygen Species and Changes in Antioxidant Enzyme Activities during Differentiation of 3T3-L1 Adipocyte. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(1), 70–75. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2009.012>
- Lee, S., Lee, H., Kwon, Y., Lee, S. E., Cho, Y., Kim, J., ... Kim, H. (2014). Adenylyl Cyclase-Associated Protein 1(CAP1) is a Receptor for Human Resistin and Mediates Inflammatory Actions of Human Monocytes. *Cell Metab.*, 19(3), 484–497. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.01.013>
- Lee, Y. H., Mottillo, E. P., & Granneman, J. G. (2014). Adipose tissue plasticity from WAT to BAT and in between. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1842(3), 358–369. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.011>
- Lehr, S., Hartwig, S., Lamers, D., Famulla, S., Müller, S., Hanisch, F.-G., ... Eckel, J. (2012). Identification and Validation of Novel Adipokines Released from Primary Human Adipocytes. *Molecular & Cellular Proteomics*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.010504>
- Leslie, C. C. (2015). Cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>: physiological function and role in disease. *Journal of Lipid Research*, 56(8), 1386–1402. <https://doi.org/10.1194/jlr.R057588>
- Lewis, G. F., Vranic, M., Harley, P., & Giacca, A. (1997). Fatty Acids Mediate the Acute Extrahepatic Effects of Insulin on Hepatic Glucose Production in Humans. *Diabetes*, 46(7), 1111–1119.
- Li-xin, G., Qi, P., Xiao-xia, W., Hui, L., Li-na, Z., Jia-min, C., & Yao, W. (2008). Effect of short term intensive multitherapy on carotid intima-media thickness in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal*, 121(8), 687–690. <https://doi.org/10.1310/hpj5003-202>
-

- 
- Li, P., Oh, D. Y., Bandyopadhyay, G., Lagakos, W. S., Talukdar, S., Osborn, O., ... Olefsky, J. M. (2015). LTB4 promotes insulin resistance in obese mice by acting on macrophages, hepatocytes and myocytes. *Nature Medicine*, *21*(3), 239–247. <https://doi.org/10.1038/nm.3800>
- Lin, J., Choi, Y. H., Hartzell, D. L., Li, C. L., Della-Fera, M. A., & Baile, C. A. (2003). CNS melanocortin and leptin effects on stearoyl-CoA desaturase-1 and resistin expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *311*(2), 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.10.004>
- Lin, Y., & Sun, Z. (2010). Current views on type 2 diabetes. *Journal Endocrinol*, *204*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1677/JOE-09-0260.Current>
- Liu, C., Feng, X., Li, Q., Wang, Y., Li, Q., & Hua, M. (2016). Adiponectin, TNF- $\alpha$  and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*, *86*, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.028>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods*, *25*(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Lozano, M., Gonzales, E., Flores, Y., & Almanza, G. R. (2013). Effect in Acute Inflammation of Sapogenin Extract and Isolated Sapogenins From Quinoa Waste ( *Chenopodium Quinoa Willd* ). *Bolivian Journal of Chemistry*, *30*(2), 115–121.
- Luckasen, J. R., White, J. G., & Kersey, J. H. (1974). Mitogenic Properties of a Calcium Ionophore, A23187. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *71*(12), 5088–5090. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.12.5088>
- Lumeng, C. N., Bodzin, J. L., & Saltiel, A. R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *The Journal of Clinical Investigation*, *117*(1), 175–184. <https://doi.org/10.1172/JCI29881.both>
- Makki, K., Froguel, P., & Wolowczuk, I. (2013). Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance: Cells, Cytokines, and Chemokines. *ISRN Inflammation*, *2013*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/139239>
- Mantovani, A., Sica, A., Sozzani, S., Allavena, P., Vecchi, A., & Locati, M. (2004). The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in Immunology*, *25*(12), 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.09.015>
- Martínez-Clemente, M., Clària, J., & Titos, E. (2011). The 5-lipoxygenase/leukotriene pathway in obesity, insulin resistance, and fatty liver disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *14*(4), 347–353. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834777fa>
- Martinez-Huenchullan, S. F., Maharjan, B. R., Williams, P. F., Tam, C. S., McLennan, S. V., & Twigg, S. M. (2018). Skeletal muscle adiponectin induction depends on diet, muscle type/activity, and exercise modality in C57BL/6 mice. *Physiological Reports*,
-

---

6(19), 1–9. <https://doi.org/10.14814/phy2.13848>

- Maury, E., & Brichard, S. M. (2010). Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *314*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.07.031>
- Meneguetti, Q. A., Brenzan, M. A., Batista, M. R., Bazotte, R. B., Silva, D. R., & Garcia Cortez, D. A. (2011). Biological Effects of Hydrolyzed Quinoa Extract from Seeds of *Chenopodium quinoa* Willd. *Journal of Medicinal Food*, *14*(6), 653–657. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0096>
- Meng, Z. X., Sun, J. X., Ling, J. J., Lv, J. H., Zhu, D. Y., Chen, Q., ... Han, X. (2006). Prostaglandin E2 regulates Foxo activity via the Akt pathway: Implications for pancreatic islet beta cell dysfunction. *Diabetologia*, *49*(12), 2959–2968. <https://doi.org/10.1007/BF00955965>
- Metz, S. A., Robertson, R. P., & Fujimoto, W. Y. (1981). Inhibition of prostaglandin E synthesis augments glucose-induced insulin secretion in cultured pancreas. *Diabetes*, *30*(7), 551–557. <https://doi.org/10.2337/diab.30.7.551>
- Ministerio de Salud. (2017). En Bolivia se incrementa casos de Diabetes Mellitus y el Ministerio de Salud busca mejorar diagnóstico de la enfermedad. Retrieved January 10, 2019, from <https://www.minsalud.gob.bo/2703-en-bolivia-se-incrementa-casos-de-diabetes-mellitus-y-el-ministerio-de-salud-busca-mejorar-diagnostico-de-la-enfermedad-2>
- Minokoshi, Y., Shahidul Haque, M., & Shimazu, T. (1998). Microinjection of leptin into the ventromedial hypothalamus increases glucose uptake in peripheral tissues in rats. *Neuroscience Research*, *31*(17), S252. [https://doi.org/10.1016/S0168-0102\(98\)82128-7](https://doi.org/10.1016/S0168-0102(98)82128-7)
- Mittendorfer, B., Horowitz, J. F., Depaoli, A. M., McCamish, M. a, Patterson, B. W., & Klein, S. (2011). Recombinant Human Leptin Treatment Does not Improve insulin action in obese subjects with T2D. *Diabetes*, *60*(5), 1–4. <https://doi.org/10.2337/db10-1302>.
- Mohamed, A. v., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, D. R., Miles, J. M., Yudkin, J. S., ... Coppel, S. W. (1997). Subcutaneous Adipose Tissue Releases Interleukin-6 , But Not Tumor Necrosis Factor- alpha , in Vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *82*(12), 4196–4200.
- Molica, F., Morel, S., Kwak, B. R., Rohner-Jeanraud, F., & Steffens, S. (2015). Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. *Thrombosis and Haemostasis*, *113*(3), 553–566. <https://doi.org/10.1160/TH14-06-0513>
- Moon, H., Matarese, G., Brennan, A. M., Chamberland, J. P., Liu, X., Fiorenza, C. G., ... Mantzoros, C. S. (2011). Efficacy of Metreleptin in Obese Patients With Type 2 Diabetes: Cellular and Molecular Pathways Underlying Leptin Tolerance. *Gene Expression*, *60*(6), 1647–1656. <https://doi.org/10.2337/db10-1791>.
-



- Mothe-Satney, I., Filloux, C., Amghar, H., Pons, C., Bourlier, V., Galitzky, J., ... Neels, J. G. (2012). Adipocytes secrete leukotrienes: Contribution to obesity-associated inflammation and insulin resistance in mice. *Diabetes*, *61*(9), 2311–2319. <https://doi.org/10.2337/db11-1455>
- Mraz, M., & Haluzik, M. (2014). The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *Journal of Endocrinology*, *222*(3), 113–127. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0283>
- Münzberg, H. (2010). Leptin-signaling pathways and leptin resistance. *Frontiers in Eating and Weight Regulation*, *63*, 123–132. <https://doi.org/10.1159/000264400>
- Musi, N., & Goodyear, L. J. (2006). Insulin Resistance and Improvements in Signal Transduction. *Endocrine*, *29*(1), 73–80. <https://doi.org/10.1385/ENDO:29:1:73>
- Neels, J. G. (2013). A role for 5-lipoxygenase products in obesity-associated inflammation and insulin resistance. *Adipocyte*, *2*(4), 262–265. <https://doi.org/10.4161/adip.24835>
- Neels, J. G., & Olefsky, J. M. (2006). Inflamed fat: what starts the fire? *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(1), 33–35. <https://doi.org/10.1172/JCI27280>
- Negishi, M., Sugimoto, Y., & Narumiya, S. (1995). Prostaglandin E receptors. *Journal of Lipid Mediators Cell Signalling*, *12*(2–3), 379–391. <https://doi.org/10.1074/jbc.R600038200>
- Nguyen, M. T. A., Favelyukis, S., Nguyen, A. K., Reichart, D., Scott, P. A., Jenn, A., ... Olefsky, J. M. (2007). A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(48), 35279–35292. <https://doi.org/10.1074/jbc.M706762200>
- Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., Yamashita, H., Ohsugi, M., ... Nagai, R. (2009). CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nature Medicine*, *15*(8), 914–920. <https://doi.org/10.1038/nm.1964>
- Nogueiras, R., Wilson, H., Rohner-Jeanrenaud, F., & Tschöp, M. H. (2008). Central nervous system regulation of adipocyte metabolism. *Regulatory Peptides*, *149*(1–3), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.09.034>
- Noratto, G., Carrion-Rabanal, R., Medina Meza, I. G., Mencia, A., Mohanty, I., Gonzalez, D., & Murphy, K. (2015). Quinoa protective effects against obesity-induced intestinal inflammation. *The FASEB Journal*, *29*(1), 602.9.
- Ogurtsova, K., da Rocha Fernandes, J. D., Huang, Y., Linnenkamp, U., Guariguata, L., Cho, N. H., ... Makaroff, L. E. (2017). IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *128*, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.03.024>

- 
- Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9–18.
- Ortiz García, M. (2017). Bolivia muestra al mundo el potencial de su Quinoa Real - Diario Pagina Siete. Retrieved January 16, 2019, from <https://www.paginasiete.bo/inversion/2017/3/26/bolivia-muestra-mundo-potencial-quinoa-real-131834.html>
- Pajvani, U. B., Du, X., Combs, T. P., Berg, A. H., Rajala, M. W., Schulthess, T., ... Scherer, P. E. (2003). Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin: Implications for metabolic regulation and bioactivity. *Journal of Biological Chemistry*, 278(11), 9073–9085. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207198200>
- Pajvani, U. B., Hawkins, M., Combs, T. P., Rajala, M. W., Doebber, T., Berger, J. P., ... Scherer, P. E. (2004). Complex Distribution, Not Absolute Amount of Adiponectin, Correlates with Thiazolidinedione-mediated Improvement in Insulin Sensitivity. *Journal of Biological Chemistry*, 279(13), 12152–12162. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311113200>
- Parameswaran, N., & Patial, S. (2010). Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Signaling in Macrophages. *National Institutes of Health*, 20(2), 87–103. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v20.i2.10>
- Park, H. K., & Ahima, R. S. (2013). Resistin in Rodents and Humans. *Diabetes and Metabolism Journal*, 37(6), 404–414. <https://doi.org/10.4093/dmj.2013.37.6.404>
- Paško, P., Zagrodzki, P., Bartoń, H., Chłopiczka, J., & Gorinstein, S. (2010). Effect of Quinoa Seeds (*Chenopodium quinoa*) in Diet on some Biochemical Parameters and Essential Elements in Blood of High Fructose-Fed Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(4), 333–338. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0197-x>
- Patel, D., Sk, P., Kumar, R., & Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 320–330. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60032-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60032-X)
- Patel, S. A., Hoehn, K. L., Lawrence, R. T., Sawbridge, L., Talbot, N. A., Tomsig, J. L., ... Cleasby, M. E. (2012). Overexpression of the adiponectin receptor AdipoR1 in rat skeletal muscle amplifies local insulin sensitivity. *Endocrinology*, 153(11), 5231–5246. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1368>
- Paz-Filho, G., Mastronardi, C. A., & Licinio, J. (2015). Leptin treatment: Facts and expectations. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(1), 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.07.014>
- Peelman, F., Waelput, W., Iserentant, H., Lavens, D., Eyckerman, S., Zabeau, L., & Tavernier, J. (2004). Leptin: Linking adipocyte metabolism with cardiovascular and autoimmune diseases. *Progress in Lipid Research*, 43(4), 283–301. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2004.03.001>
-

- Pellegrinelli, V., Carobbio, S., & Vidal-Puig, A. (2016). Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia*, *59*(6), 1075–1088. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-3933-4>
- Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T., & Collins, F. (1995). Effect of the obese gene product on body weight regulation in the ob/ob mice. *Science*, *269*(13), 540–543.
- Pérez-Leonard, & Heidy. (2006). Nutraceúticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA*, *40*(3), 20–28. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120665003.pdf>
- Perez, C., Albert, I., DeFay, K., Zachariades, N., Gooding, L., & Kriegler, M. (1990). A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell*, *63*(2), 251–258. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90158-B](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90158-B)
- Perreault, M., & Marette, A. (2001). Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nature Medicine*, *7*(10), 1138–1143. <https://doi.org/10.1038/nm1001-1138>
- Peters-Golden, M., & Henderson, W. R. (2007). Leukotrienes. *The New England Journal of Medicine*, *357*(18), 1841–1854. <https://doi.org/10.1017/S0952675714000244>
- Pickup, J. C., Chusney, G. D., Thomas, S. M., & Burt, D. (2000). Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sciences*, *67*(3), 291–300. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00622-6](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00622-6)
- Pickup, J. C., & Crook, M. A. (1998). Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*, *41*(10), 1241–1248. <https://doi.org/10.1007/s001250051058>
- Piya, M. K., McEternan, P. G., & Kumar, S. (2013). Adipokine inflammation and insulin resistance : the role of glucose , lipids and endotoxin. *Journal of Endocrinology*, *216*(1), T1–T15. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0498>
- Plóciennikowska, A., Hromada-Judycka, A., Borzęcka, K., & Kwiatkowska, K. (2015). Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *72*(3), 557–581. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1762-5>
- Pradhan, A. (2007). Obesity , Metabolic Syndrome , and Type 2 Diabetes: Inflammatory Basis of Glucose Metabolic Disorders. *Nutrition Reviews*, *65*(12), 152–156. <https://doi.org/10.1301/nr.2007.dec.S152>
- Prins, J. B. (2002). Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, *16*(4), 639–651. <https://doi.org/10.1053/beem.2002.0222>
- Prinz, I., Gregoire, C., Mollenkopf, H., Aguado, E., Wang, Y., Malissen, M., ... Malissen,

- B. (2005). The Type 1 Cysteinyl Leukotriene Receptor Triggers Calcium Influx and Chemotaxis in Mouse  $\alpha$ - and  $\gamma$  Effector T Cells. *The Journal of Immunology*, 175(2), 713–719. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.2.713>
- Rajan, S. S., & Longhi, M. P. (2016). Dendritic cells and adipose tissue. *Immunology*, 149(4), 353–361. <https://doi.org/10.1111/imm.12653>
- Ramírez Alvarado, M. M., & Sánchez Roitz, C. (2012). El factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nutricion Hospitalaria*, 27(6), 1751–1757. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.6.6004>
- Ramirez, J. L., Khetani, S. A., Zahner, G. J., Spaulding, K. A., Schaller, M. S., Gasper, W. J., ... Grenon, S. M. (2018). Serum resistin is associated with impaired endothelial function and a higher rate of adverse cardiac events in patients with peripheral artery disease. *Journal of Vascular Surgery*, 69(2), 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2018.05.251>
- Ramnanan, C. J., Edgerton, D. S., Rivera, N., Irimia-dominguez, J., Farmer, B., Neal, D. W., ... Cherrington, A. D. (2010). Molecular Characterization of Insulin-Mediated Suppression of Hepatic Glucose Production In Vivo. *Diabetes*, 59(6), 1302–1311. <https://doi.org/10.2337/db09-1625>.
- Reguera, M., Conesa, C. M., Gil-Gómez, A., Haros, C. M., Pérez-Casas, M. Á., Briones-Labarca, V., ... Bascuñán-Godoy, L. (2018). The impact of different agroecological conditions on the nutritional composition of quinoa seeds. *PeerJ*, 6, 1–20. <https://doi.org/10.7717/peerj.4442>
- Ren, D., Collingwood, T. N., Rebar, E. J., Wolffe, A. P., & Camp, H. S. (2002). PPAR  $\gamma$  knockdown by engineered transcription factors : exogenous PPAR  $\gamma$  2 but not PPAR  $\gamma$  1 reactivates adipogenesis. *Genes & Development*, 16(1), 27–32. <https://doi.org/10.1101/gad.953802>
- Ren, G., Zhu, Y., & Shi, Z. (2017). Detection of lunasin in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) and the in vitro evaluation of its antioxidant and anti-inflammatory activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4110–4116. <https://doi.org/10.1002/j>
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., & Jacobsen, S. E. (2003). Nutritional value and use of the andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*, 19(1–2), 179–189. <https://doi.org/10.1081/FRI-120018884>
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacological Research*, 57(6), 451–455. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002>
- Rodulfo, J. I. A., Blanco, T. N., Aure, G., & Palacios, A. (2017). Metformina, el fármaco paradigma del siglo XXI. *Medicina Interna*, 33(1), 4–18.

- Rojas M., W., Anaya C., J.-M., Aristizábal B., B., Cano R., L. E., Gómez O., L. M., & Lopera H., D. (2012). Inmunología de Rojas. In *Inmunología de Rojas* (16a ed., pp. 77–97). Medellín Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas. Retrieved from <https://booksmedicos.org/inmunologia-de-rojas-16a-edicion/>
- Rojas, W., Alandia, G., Irigoyen, J., Blajos, J., & Santivañez, T. (2011). *La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*. Oficina Regional para America Latina y el Caribe, FAO (Vol. 37). [https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo\\_quinoa\\_es.pdf](https://doi.org/http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinoa_es.pdf)
- Romacho, T., Elsen, M., Röhrborn, D., & Eckel, J. (2014). Adipose tissue and its role in organ crosstalk. *Acta Physiologica*, 210(4), 733–753. <https://doi.org/10.1111/apha.12246>
- Ropelle, E. R., Flores, M. B., Cintra, D. E., Rocha, G. Z., Prada, O., Guadagnini, D., ... Carvalho, H. F. (2010). IL-6 and IL-10 Anti-Inflammatory Activity Links Exercise to Hypothalamic Insulin and Leptin Sensitivity through IKK b and ER Stress Inhibition. *PLoS Biology*, 8(8), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000465>
- Rosado, E. L., Monteiro, J. B., Chaia, V., & Lago, M. F. do. (2006). Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutrición Hospitalaria*, 21(6), 686–693. Retrieved from [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112006000900009](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000900009)
- Rotter, V., Nagaev, I., & Smith, U. (2003). Interleukin-6 (IL-6) Induces Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes and Is, Like IL-8 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Overexpressed in Human Fat Cells from Insulin-resistant Subjects. *Journal of Biological Chemistry*, 278(46), 45777–45784. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301977200>
- Ruiz, K. B., Biondi, S., Osés, R., Acuña-Rodríguez, I. S., Antognoni, F., Martínez-Mosqueira, E. A., ... Molina-Montenegro, M. A. (2014). Quinoa biodiversity and sustainability for food security under climate change. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 349–359. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0195-0>
- Saad-Allah, K. M., & Youssef, M. S. (2018). Phytochemical and genetic characterization of five quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes introduced to Egypt. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(4), 617–629. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0541-4>
- Sah, S. P., Singh, B., Choudhary, S., & Kumar, A. (2016). Animal models of insulin resistance : A review. *Pharmacological Reports*, 68(6), 1165–1177. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.07.010>
- Sáinz, N., Barrenetxe, J., Moreno-Aliaga, M. J., & Martínez, J. A. (2015). Leptin resistance and diet-induced obesity: Central and peripheral actions of leptin. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(1), 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015>



- 
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, *414*(6865), 799–806. <https://doi.org/10.1038/414799a>
- Sánchez Muñoz, F., García Macedo, R., Alarcón Aguilar, F., & Cruz, M. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta Médica de México.*, *141*(6), 505–512.
- Sandberg, M., & Borg, L. A. H. (2006). Intracellular degradation of insulin and crinophagy are maintained by nitric oxide and cyclo-oxygenase 2 activity in isolated pancreatic islets. *Biology of the Cell*, *98*(5), 307–315. <https://doi.org/10.1042/BC20050085>
- Sartipy, P., & Loskutoff, D. J. (2003). Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(12), 7265–7270. <https://doi.org/10.1073/pnas.1133870100>
- Senn, J. J., Klover, P. J., Nowak, I. A., & Mooney, R. A. (2002). Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes*, *51*(12), 3391–3399. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.12.3391>
- Senn, J. J., Klover, P. J., Nowak, I. A., Zimmers, T. A., Koniaris, L. G., Furlanetto, R. W., & Mooney, R. A. (2003). Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(16), 13740–13746. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210689200>
- Sewter, C., Blows, F., Considine, R., Vidal-Puig, A., & O’Rahilly, S. (2002). Differential effects of adiposity on peroxisomal proliferator-activated receptor  $\gamma$ 1 and  $\gamma$ 2 messenger ribonucleic acid expression in human adipocytes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *87*(9), 4203–4207. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-011511>
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *87*(1), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.10.007>
- Shinozaki, S., Choi, C. S., Shimizu, N., Yamada, M., Kim, M., Zhang, T., ... Kaneki, M. (2011). Liver-specific inducible nitric-oxide synthase expression is sufficient to cause hepatic insulin resistance and mild hyperglycemia in mice. *Journal of Biological Chemistry*, *286*(40), 34959–34975. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.187666>
- Shoelson, S. E., Lee, J., & Goldfine, A. B. (2006). Inflammation and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, *116*(7), 1793–1801. <https://doi.org/10.1172/JCI29069>.and
- Shulman, G. I. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, *106*(2), 171–176. <https://doi.org/10.1172/JCI10583>
- Six, D. A., & Dennis, E. A. (2000). The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: Classification and characterization. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1488*(1–
-

- 2), 1–19. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(00\)00105-0](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(00)00105-0)
- Smith, W. L., DeWitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000). Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annual Review of Biochemistry*, *69*(1), 145–182. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.145>
- Smitka, K., & Marosová, D. (2015). Adipose Tissue as an Endocrine Organ: An Update on Pro-inflammatory and Anti-inflammatory Microenvironment. *Prague Medical Report*, *116*(2), 87–111. <https://doi.org/10.14712/23362936.2015.49>
- Song, H., Saito, K., Fujigaki, S., Noma, A., Ishiguro, H., Nagatsu, T., & Seishima, M. (1998). IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  suppress apolipoprotein (APO) E secretion and APO A-I expression in HepG2 cells. *Cytokine*, *10*(4), 275–280. <https://doi.org/10.1006/cyto.1997.0291>
- Song, M., Lee, S., & Kim, D. (2011). Antidiabetic effect of *Chenopodium ambrosioides*. *Phytopharmacology*, *1*(2), 12–15.
- Sorli, C. H., Zhang, H. J., Armstrong, M. B., Rajotte, R. V, Maclouf, J., & Robertson, R. P. (1998). Basal expression of cyclooxygenase-2 and nuclear factor-interleukin 6 are dominant and coordinately regulated by interleukin 1 in the pancreatic islet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(4), 1788–1793. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.4.1788>
- Southern, C., Schulster, D., & Green, I. C. (1990). Inhibition of insulin secretion by interleukin-1 $\beta$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  via an L-arginine-dependent nitric oxide generating mechanism. *FEBS Letters*, *276*(1–2), 42–44. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80502-A](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80502-A)
- Spite, M., Hellmann, J., Tang, Y., Mathis, S. P., Kosuri, M., Bhatnagar, A., ... Haribabu, B. (2011). Deficiency of the Leukotriene B4 Receptor, BLT-1, Protects against Systemic Insulin Resistance in Diet-Induced Obesity. *The Journal of Immunology*, *187*(4), 1942–1949. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100196>
- Stanford, K. I., Middelbeek, R. J. W., & Goodyear, L. J. (2015). Exercise effects on white adipose tissue: Being and metabolic adaptations. *Diabetes*, *64*(7), 2361–2368. <https://doi.org/10.2337/db15-0227>
- Stanimirovic, J., Obradovic, M., Zafirovic, S., Resanovic, I., Bogdanovic, N., Gluovic, Z., ... Isenovic, E. R. (2015). Effects of altered hepatic lipid metabolism on regulation of hepatic iNOS. *Clinical Lipidology*, *10*(2), 167–175. <https://doi.org/10.2217/clp.15.8>
- Steppan, C. M., & Lazar, M. A. (2004). The current biology of resistin. *Journal of Internal Medicine*, *255*(4), 439–447. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01306.x>
- Stuehr, D. J. (1999). Mammalian nitric oxide synthases. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, *1411*(2–3), 217–230. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00016-X)
- Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & Haefliger, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of

- 
- pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365(9467), 1333–1346.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)61032-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)61032-X)
- Sugita, H., Fujimoto, M., Yasukawa, T., Shimizu, N., Sugita, M., Yasuhara, S., ... Kaneki, M. (2005). Inducible nitric-oxide synthase and NO donor induce insulin receptor substrate-1 degradation in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry*, 280(14), 14203–14211. <https://doi.org/10.1074/jbc.M411226200>
- Tabatabaie, T., Waldon, A. M., Jacob, J. M., Floyd, R. A., & Kotake, Y. (2000). COX-2 inhibition prevents insulin-dependent diabetes in low-dose streptozotocin-treated mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 273(2), 699–704. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2959>
- Taguchi, A., & White, M. F. (2008). Insulin-Like Signaling, Nutrient Homeostasis, and Life Span. *Annual Review of Physiology*, 70(1), 191–212. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100533>
- Tang, Y., Li, X., Chen, P. X., Zhang, B., Hernandez, M., Zhang, H., ... Tsao, R. (2015). Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry*, 174, 502–508. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.040>
- Tang, Y., Li, X., Zhang, B., Chen, P. X., Liu, R., & Tsao, R. (2015). Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry*, 166, 380–388. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.018>
- Tang, Y., & Tsao, R. (2017). Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: a review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(7), 1–16. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600767>
- Titchenell, P. M., Quinn, W. J., Lu, M., Chen, J., Rabinowitz, J. D., & Birnbaum, M. J. (2016). Direct Hepatocyte Insulin Signaling Is Required for Lipogenesis but Is Dispensable for the Suppression of Glucose Production. *Cell Metabolism*, 23, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.022>
- Tran, P. O. T., Gleason, C. E., Poitout, V., & Robertson, R. P. (1999). Prostaglandin E2 mediates inhibition of insulin secretion by interleukin-1 $\beta$ . *Journal of Biological Chemistry*, 274(44), 31245–31248. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.44.31245>
- Trujillo, M. E., & Scherer, P. E. (2005). Adiponectin - Journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *Journal of Internal Medicine*, 257(2), 167–175. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01426.x>
- Tsao, T. S., Tomas, E., Murrey, H. E., Hug, C., Lee, D. H., Ruderman, N. B., ... Lodish, H. F. (2003). Role of Disulfide Bonds in Acrp30/Adiponectin Structure and Signaling Specificity: Different oligomers activate different signal transduction pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 278(50), 50810–50817.
-



---

<https://doi.org/10.1074/jbc.M309469200>

- Tsuzuki, T., Shinozaki, S., Nakamoto, H., Kaneki, M., Goto, S., Shimokado, K., ... Andrews, Z. (2015). Voluntary exercise can ameliorate insulin resistance by reducing iNOS-mediated S-nitrosylation of Akt in the liver in obese rats. *PLoS ONE*, *10*(7), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132029>
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(15), 2541–2547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4158>
- Verma, S., Li, S. H., Wang, C. H., Fedak, P. W. M., Li, R. K., Weisel, R. D., & Mickle, D. A. G. (2003). Resistin promotes endothelial cell activation: Further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation*, *108*(6), 736–740. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000084503.91330.49>
- Vidal, P. J., López-Nicolás, J. M., Gandía-Herrero, F., & García-Carmona, F. (2014). Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. *Food Chemistry*, *154*, 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.014>
- Vidaurre-Ruiz, J. M., Días-Rojas, G., Mendoza-Llamo, E., & Solano-Cornejo, M. Á. (2017). Variación del contenido de betalainas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el procesamiento de la quinua (*Chenopodium quinoa W.*). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *83*(3), 319–328. Retrieved from <http://www.mdpi.com/2076-3921/7/4/53>
- Vionnet, N., Hani, E. H., Dupont, S., Gallina, S., Francke, S., Dotte, S., ... Froguel, P. (2000). Genomewide Search for Type 2 Diabetes–Susceptibility Genes in French Whites: Evidence for a Novel Susceptibility Locus for Early-Onset Diabetes on Chromosome 3q27–qter and Independent Replication of a Type 2–Diabetes Locus on Chromosome 1q21–q24. *The American Journal of Human Genetics*, *67*(6), 1470–1480. <https://doi.org/10.1086/316887>
- Wakshlag, J. J., Struble, A. M., Levine, C. B., Bushey, J. J., Laflamme, D. P., & Long, G. M. (2011). The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs. *British Journal of Nutrition*, *106*(1), S11–S14. <https://doi.org/10.1017/S0007114511000560>
- Wang, X., Bao, W., Liu, J., Ouyang, Y. Y., Wang, D., Rong, S., ... Liu, L. G. (2013). Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care*, *36*(1), 166–175. <https://doi.org/10.2337/dc12-0702>
- Ward, C. W., Lawrence, M. C., Streltsov, V. A., Adams, T. E., & McKern, N. M. (2007). The insulin and EGF receptor structures: new insights into ligand-induced receptor activation. *Trends in Biochemical Sciences*, *32*(3), 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2007.01.001>

- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation, 112*(12), 1796–1808. <https://doi.org/10.1172/JCI200319246>
- Westermarck, P., Andersson, A., & Westermarck, G. T. (2011). Islet Amyloid Polypeptide, Islet Amyloid, and Diabetes Mellitus. *Physiological Reviews, 91*(3), 795–826. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2009>
- Wheatcroft, S. B., Williams, I. L., Shah, A. M., & Kearney, M. T. (2003). Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabetic Medicine, 20*(4), 255–268. <https://doi.org/10.1046/j.1464-5491.2003.00869.x>
- Whites, M. F. (2003). Insulin Signaling in Health and Disease. *Science, 302*, 1710–1711. <https://doi.org/10.1126/science.1092952>
- Whites, M. F., & Kahn, C. R. (1994). The Insulin Signaling System\*. *The Journal of Biological Chemistry, 269*(1), 1–4.
- Williamson, D. A., Ravussin, E., Wong, M. L., Wagner, A., DiPaoli, A., Caglayan, S., ... Licinio, J. (2005). Microanalysis of eating behavior of three leptin deficient adults treated with leptin therapy. *Appetite, 45*(1), 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2005.01.002>
- Woelnerhanssen, B., Peterli, R., Steinert, R. E., Peters, T., Borbély, Y., & Beglinger, C. (2011). Effects of postbariatric surgery weight loss on adipokines and metabolic parameters: Comparison of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic sleeve gastrectomy prospective randomized trial. *Surgery for Obesity and Related Diseases, 7*(5), 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2011.01.044>
- Wright, A. (2002). Sulfonylurea Inadequacy. *Diabetes Care, 25*(2), 330–336. <https://doi.org/10.2337/diacare.25.2.330>
- Wu, D., Molofsky, A. B., Liang, H. E., Ricardo-Gonzalez, R. R., Jouihan, H. A., Bando, J. K., ... Locksley, R. M. (2011). Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science, 332*(6026), 243–247. <https://doi.org/10.1126/science.1201475>
- Wu, L., Parekh, V. V., Gabriel, C. L., Bracy, D. P., Marks-Shulman, P. A., Tamboli, R. A., ... Van Kaer, L. (2012). Activation of invariant natural killer T cells by lipid excess promotes tissue inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 109*(19), E1143–E1152. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200498109>
- Wu, X., Motoshima, H., Mahadev, K., Stalker, T. J., Scalia, R., & Goldstein, B. J. (2003). Involvement of AMP-activated protein kinase in glucose uptake stimulated by the globular domain of adiponectin in primary rat adipocytes. *Diabetes, 52*(6), 1355–1363. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.6.1355>

- 
- Xu, H., Sethi, J. K., & Hotamisligil, G. S. (1999). Transmembrane tumor necrosis factor (TNF)-alpha inhibits adipocyte differentiation by selectively activating TNF receptor 1. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(37), 26287–26295. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.2628>
- Xu, W., Tian, M., & Zhou, Y. (2018). The relationship between insulin resistance, adiponectin and C-reactive protein and vascular endothelial injury in diabetic patients with coronary heart disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(3), 2022–2026. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6407>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., ... Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), 1288–1295. <https://doi.org/10.1038/nm788>
- Yang, Y., Kim, S. C., Yu, T., Yi, Y.-S., Rhee, M. H., Sung, G.-H., ... Cho, J. Y. (2014). Functional roles of p38 mitogen-activated protein kinase in macrophage-mediated inflammatory responses. *Mediators of Inflammation*, 2014, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2014/352371>
- Yao, Y., Shi, Z., & Ren, G. (2014). Antioxidant and Immunoregulatory Activity of Polysaccharides from Quinoa ( *Chenopodium quinoa* Willd. ). *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 19307–19318. <https://doi.org/10.3390/ijms151019307>
- Yao, Y., Yang, X., Shi, Z., & Ren, G. (2014). Anti-Inflammatory Activity of Saponins from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages Cells. *Journal of Food Science*, 79(5), 1018–1023. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12425>
- Ying, W., Wollam, J., Ofrecio, J. M., Bandyopadhyay, G., El Ouarrat, D., Lee, Y. S., ... Olefsky, J. M. (2017). Adipose tissue B2 cells promote insulin resistance through leukotriene LTB4/LTB4R1 signaling. *Journal of Clinical Investigation*, 127(3), 1019–1030. <https://doi.org/10.1172/JCI90350>
- Yki-j, H., & Ppars, T. (2004). Thiazolidinediones. *The New England Journal of Medicine*, 351, 1106–1118. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041001>
- Yu, J. H., & Kim, M.-S. (2012). Molecular Mechanisms of Appetite Regulation. *Diabetes & Metabolism Journal*, 36(6), 391–398. <https://doi.org/10.4093/dmj.2012.36.6.391>
-

Zhang, X., Zhang, G., Zhang, H., Karin, M., Bai, H., & Cai, D. (2009). Hypothalamic IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B and ER Stress Link Overnutrition to Energy Imbalance and Obesity. *Cell*, 135(1), 61–73. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.043>.Hypothalamic

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425–432.

Zhou, Y., & Rui, L. (2013). Leptin signaling and leptin resistance. *Frontiers of Medicine*, 7(2), 207–222. <https://doi.org/10.1007/s11684-013-0263-5>.Leptin

# 10. ANEXOS

**Anexo A.** Certificado de Aval Ético para el desarrollo del trabajo de investigación de la tesis, enmarcada dentro del proyecto “Evaluación de la actividad anti-diabética de plantas Bolivianas potencialmente nutraceuticas”.



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA UMSA**  
**CEI - UMSA**  
*Resolución Honorable Consejo Universitario No. 125/10*

**CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO**  
Código de Registro: CEI-UMSA0115

A quien corresponda,  
El Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Mayor de San Andrés (CEI-UMSA), en el marco del Convenio UMSA – ASDI y el proyecto aprobado por la cooperación Sueca ‘Diabetes tipo II: Nuevas terapias’, ha recibido para su evaluación y aval ético el Estudio Doctoral:

**Título del Estudio:** ‘Evaluación de la actividad anti-diabética de plantas Bolivianas potencialmente nutraceuticas’  
**Coordinador, Asesor responsable:** Eduardo Gonzáles Dávalos  
**Doctoranda:** Silvia Zambrana Santander  
**Institución proponente:** Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Cs. Farmacéuticas y Bioquímicas

El estudio fue evaluado bajo la normativa internacional en ética de la investigación (Pautas CIOMS/OMS; Helsinki/AMM, Ezekiel Emanuel), en la que se incluyen los principios y criterios éticos que se deben tomar en cuenta para investigaciones que involucran seres vivos, entre estos:

**Validez social** (la pertinencia, atinencia y relevancia del proyecto/estudio)  
**Selección equitativa del sujeto** (tamaño de la muestra, criterios de inclusión / exclusión, etc.)  
**Relación favorable del riesgo/beneficio** (que el riesgo sea mínimo y el beneficio mayor del estudio)

Una vez evaluado el Estudio, así como las correcciones/complementaciones realizadas por el equipo investigador, el CEI-UMSA certifica que el estudio ‘Evaluación de la actividad anti-diabética de plantas Bolivianas potencialmente nutraceuticas’ cumple con los requisitos éticos para el trabajo en ratas y ratones de laboratorio, por lo que le otorga el presente **CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO** para este componente.

La emisión de este AVAL es válida solo para este estudio y **obliga al equipo de investigadores**, al fiel cumplimiento y compromiso de desarrollo de actividades, en el marco de lo propuesto, corregido y recomendado; lo contrario, podría dar lugar a la revocación de este AVAL.

  
Dra. Katty Terrazas Aranda, M.Sc., Ph.D.  
Coordinador Comité de Ética de la Investigación  
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

  
Dr. Alberto Quevedo Iriarte, Ph.D.  
VICERRECTOR  
Presidente Comité de Ética de la Investigación  
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

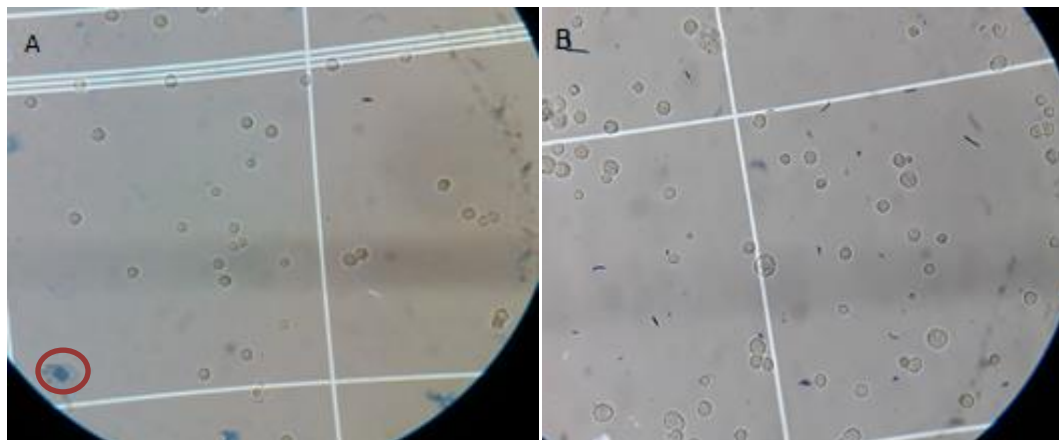
  


La Paz, Octubre de 2015  
Cc/ Coordinación del Proyecto., DIPGIS., CEI-UMSA

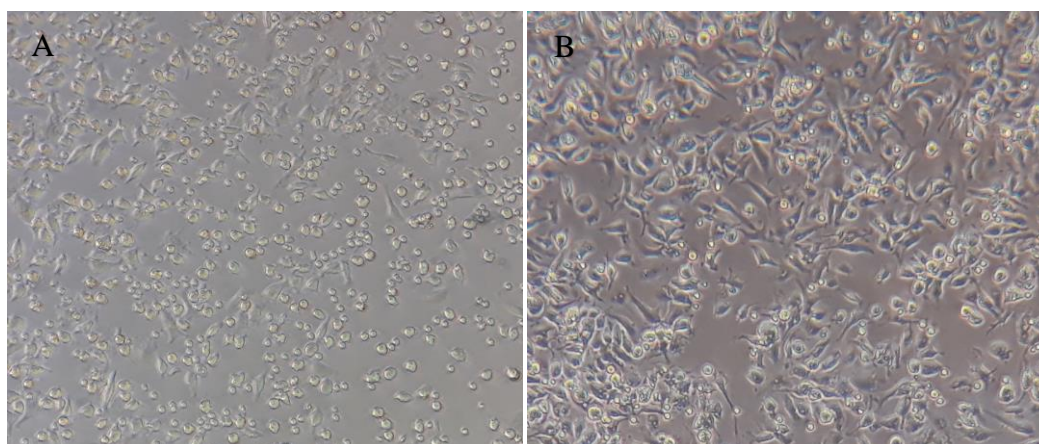
Av. Villazón Nº 195, Monoblock, Piso 1 Telf. (591-2) 2440493  
e-mail: cei@umsa.bo - La Paz - Bolivia



**Anexo B.** Visualización microscópica del aislamiento de macrófagos peritoneales murinos.

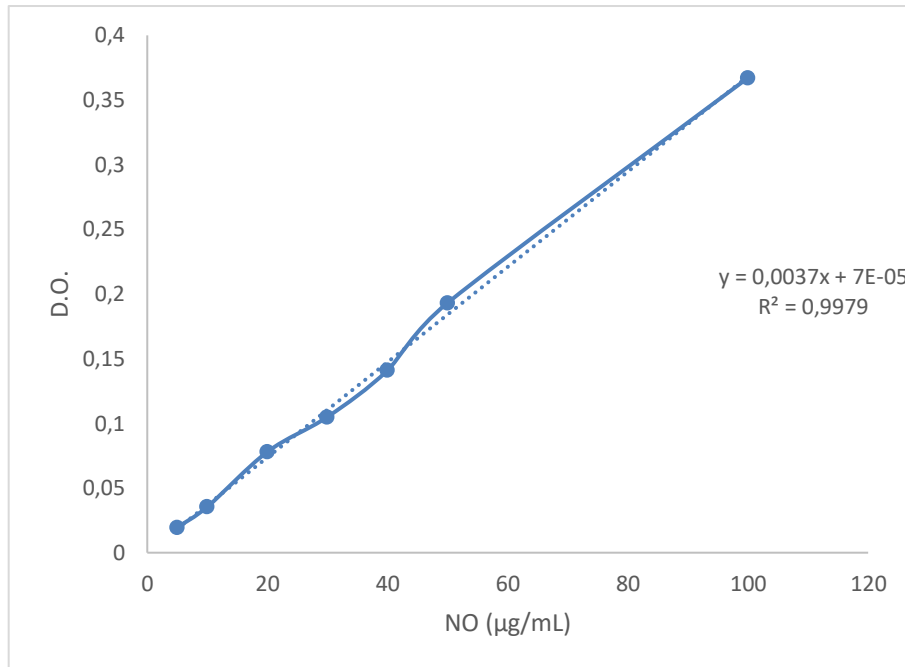


**Figura 1.** Recuento celular de macrófagos peritoneales murinos con colorante de exclusión vital, azul tripan. (A) Morfología de los macrófagos residentes de la cavidad peritoneal sin previa activación con tioglicolato (factor de dilución  $\frac{1}{2}$  y aumento 40X), se observan células viables y en el círculo se aprecia una célula no viable que fue teñida con el colorante. (B) Morfología de los macrófagos peritoneales aislados con previa activación con tioglicolato al 3% (factor de dilución  $\frac{1}{4}$  y aumento 40X), se observa células viables con membranas irregulares y de mayor tamaño que los macrófagos residentes.

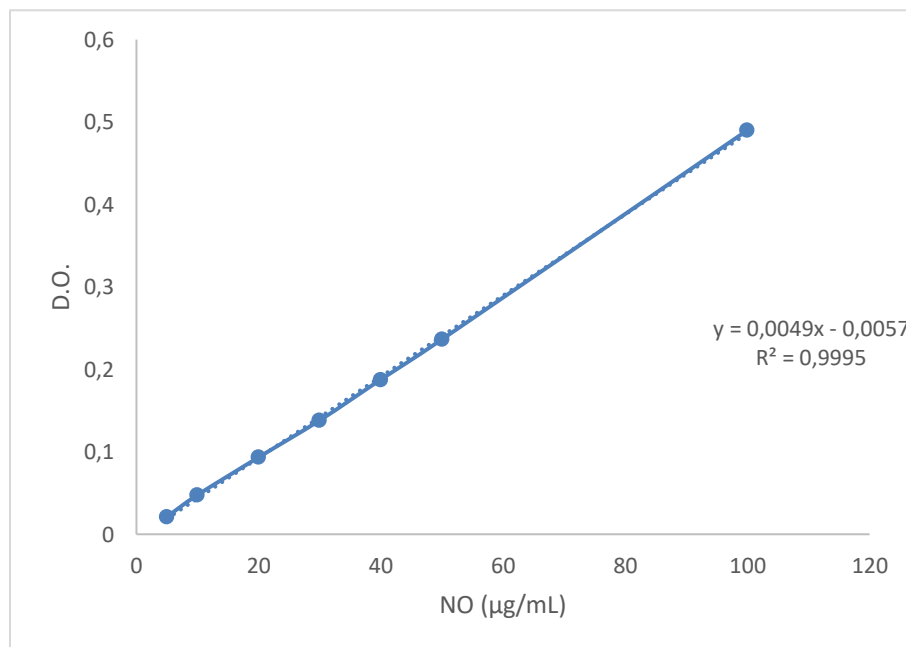


**Figura 2.** Cultivo de macrófagos peritoneales murinos después de 24 horas del aislamiento y previo a la evaluación con los extractos. (A) Morfología de los macrófagos residentes (aumento 40X), se observan células viables adheridas y una pequeña cantidad de células que presentan prolongaciones. (B) morfología de macrófagos pre activados con tioglicolato al 3% (aumento 40X), se observan células viables adheridas y un gran número de células que presentan prolongaciones.

**Anexo C.** Cueva estándar de los diferentes ensayos colorimétricos representados con su respectiva ecuación lineal y coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

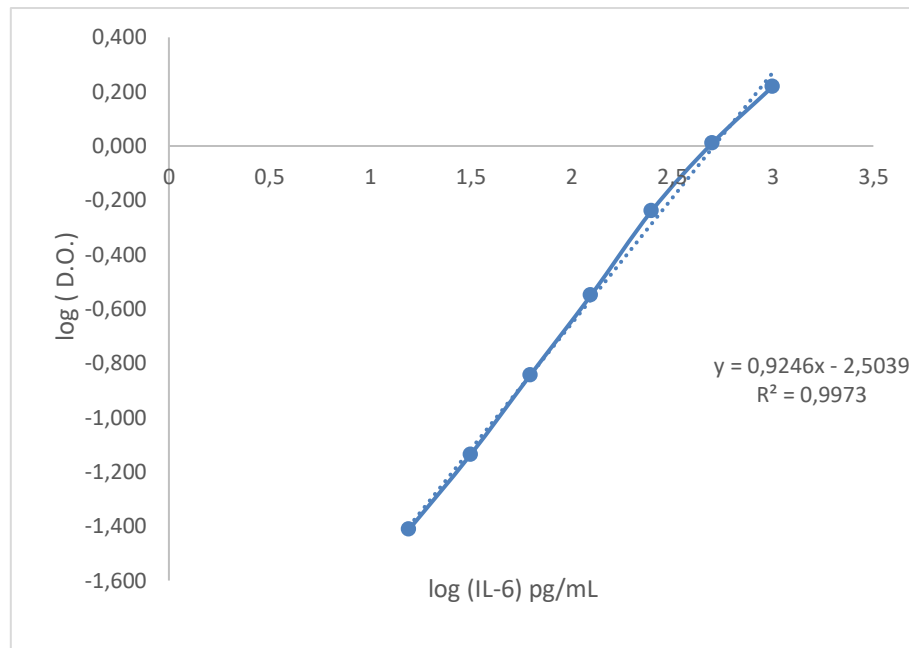


**Figura 1.** Curva estándar de nitrito de sodio para cuantificación de óxido nítrico en los ensayos con macrófagos residentes; volumen final de reacción 160  $\mu\text{L}$

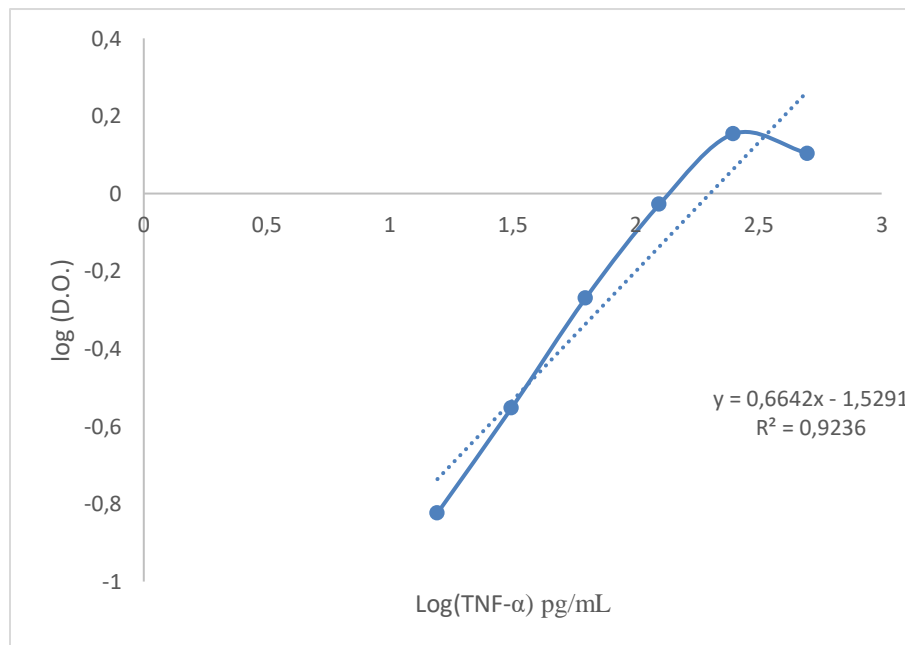


**Figura 2.** Curva estándar de nitrito de sodio para cuantificación de óxido nítrico en los ensayos con macrófagos preactivados con tioglicolato; volumen final de reacción 200  $\mu\text{L}$ .

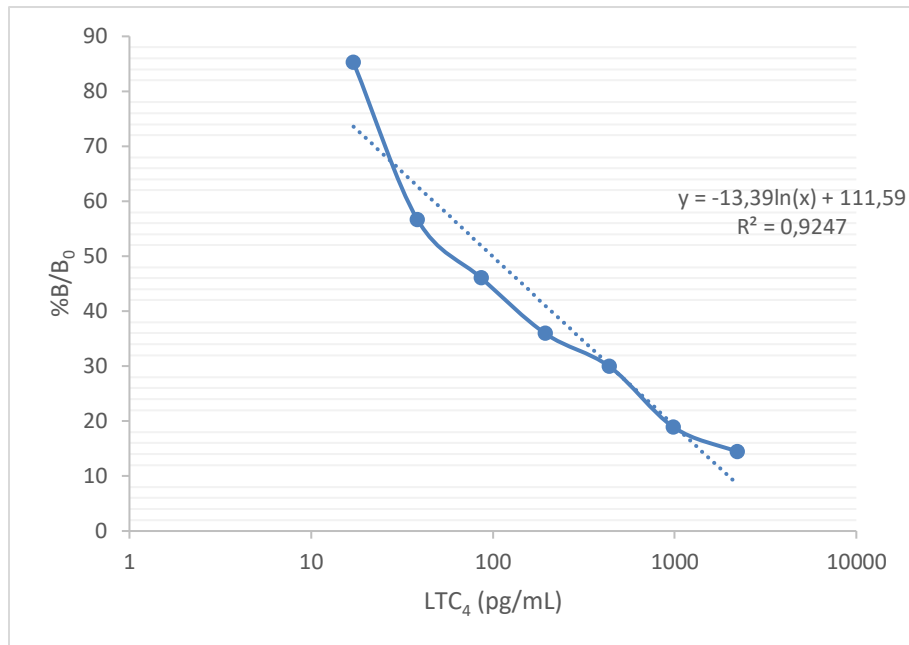




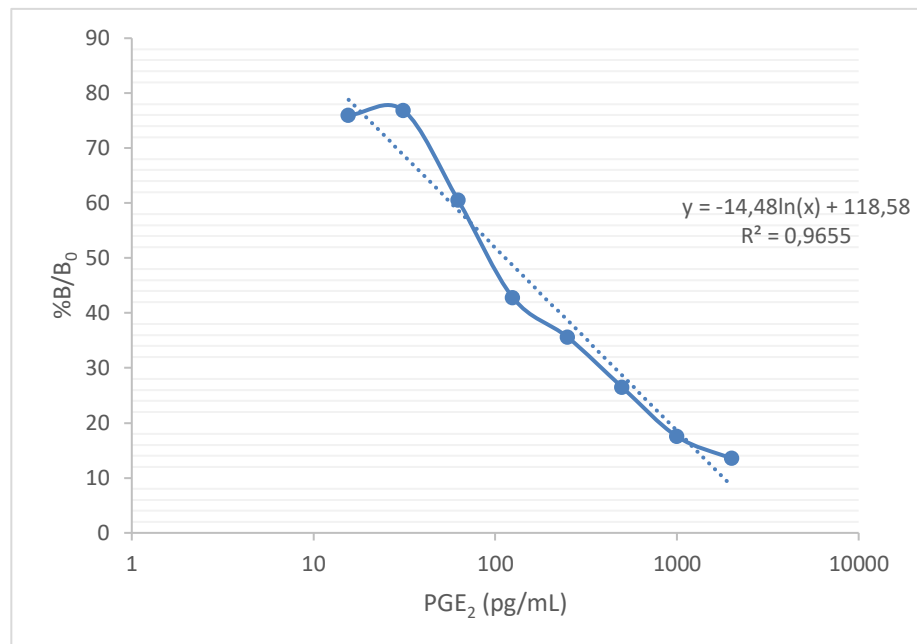
**Figura 3.** Curva estándar para ensayo inmuno-enzimático de Interleucina -6.



**Figura 4.** Curva estándar para ensayo inmuno-enzimático de Factor de Necrosis Tumoral - $\alpha$ .



**Figura 5.** Curva estándar para ensayo inmuno-enzimático de Leucotrieno C<sub>4</sub>.



**Figura 6.** Curva estándar para ensayo inmuno-enzimático de Prostaglandina E<sub>2</sub>.