

DIMORFISMO SEXUAL EN UN MODELO DE SÍNDROME METABÓLICO.

Memoria de Trabajo de Fin de Grado.

Modelo: Bibliográfico.

Grado en Farmacia.

Estudiante: Miren Beitia de Busturia.

Curso Académico: 2019 - 2020.

Convocatoria: Septiembre de 2020.

Facultad de Farmacia.

Universidad de La Laguna.

Tutores: Guadalberto Hernández y Silvia Velázquez García.

1. Resumen/Abstract.....	2
2. Palabras clave y abreviaturas.....	3
3. Introducción.....	4
3.1 Fisiopatología y tratamiento de Síndrome Metabólico.....	6
3.2 Prevalencia de Síndrome Metabólico.....	8
3.3 Dimorfismo sexual	10
4. Hipótesis.....	12
5. Objetivos.....	12
6. Metodología.....	12
6.1 Búsqueda bibliográfica.....	12
6.2 Diseño experimental.....	13
6.2.1 Diseño experimental F1	13
6.2.2 Diseño experimental F2.....	15
6.2.3 Variables a determinar.....	16
7. Conclusiones.....	18
8. Bibliografía.....	19

1.RESUMEN/ ABSTRACT

The *Metabolic Syndrome* (MetS) is a group of disorders constituted by obesity of central distribution, dyslipidemia, increase in blood pressure, hyperglycemia and insulin resistance. Since lifestyle and genes are key in its development, in order to avoid MetS it is recommended to combine a healthy lifestyle through a correct diet and aerobic exercise. The *serum and glucocorticoid-inducible kinase 1* (SGK1) would be involved in MetS development. This kinase expression is regulated by hormones such as gluco- and mineralocorticoids and, at the transcriptional level, by osmotic and glucose changes. Previous data published by my supervisors have shown as SGK1 overexpression in a model of laboratory mice (B6.Tg.sgk1) is able to reproduce MetS. As there are differences in age and prevalence between sexes in humans, it suggests that sexual hormones may play an important role in MetS causes and/or development, the aims of this project are A) to review the state of the art something to do with the implications of sexual hormones in MetS, B) to elaborate an experimental design in order to research if sexual hormones are able to modify some well-known parameters related to MetS. To this purpose, we propose to study in two strains of adult laboratory mice (Wild type, WT, and transgenic one overactivated for SGK1, B6.Tg.sgk1) which will be grouped by sexes and fed under a high and low fat diet, respectively, and treated with three different dosage of EMD63863 (inhibitor of SGK1 activity). In order to expanding the level of knowledges on sexual hormones and MetS, we propose a similar pattern design using human as experimental subjects.

2. PALABRAS CLAVE Y ABREVIATURAS

ALAD: Asociación Latinoamericana de Diabetes.

AGL: Ácidos Grasos Libres.

AMR: Antagonista de Receptor de Mineralocorticoides.

ATP III: *Adult Treatment Panel III*.

B6.Tg. sgk1: Ratones transgénicos sobreactivados para SGK1.

c-HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad (*High Density Lipoprotein- Cholesterol*).

CHPSNE: *Control Hypertension and other risk factors to Prevent Stroke with Nutrition Education*.

CIMA: Centro de Información Online de Medicamentos de la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios).

DAG: Dieta Alta en Grasa.

DBG: Dieta Baja en Grasa.

ECV: Enfermedad Cardiovascular.

ENPE: Estudio Nutricional de la Población Española.

ENRICA: Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular.

GTT: Test de Tolerancia a la Glucosa (*Glucose Tolerance Test*).

HTA: Hipertensión Arterial.

HGNA: Hígado Graso No Alcohólico.

IDF: *International Diabetes Federation*.

IMC: Índice de Masa Corporal (Índice de Quetelet).

ITT: Test de Tolerancia a la Insulina (*Insuline Tolerance Test*).

LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad (*Low Density Lipoprotein- Cholesterol*).

MetS: Síndrome Metabólico (*Metabolic syndrome*).

MORGAM: *Monica, Risk, Genetics, Archiving and Monograph*.

MR: Receptor de Mineralocorticoides.

SGK1: Quinasa Regulada por Suero y Glucocorticoides 1 (*Serum and Glucocorticoid-regulated Kinasa 1*).

SGLT2: co-Transportador de Sodio-Glucosa tipo 2.

TRH: Terapia de Reemplazo Hormonal.

VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad (*Very Low Density Lipoprotein*).

3. INTRODUCCIÓN

El metabolismo se encarga de regular los procesos bioquímico-fisiológicos que ocurren tras la ingestión de los nutrientes (carbohidratos, proteínas y lípidos), encargándose de su combustión para obtener la energía necesaria para la vida. Los carbohidratos, principalmente glucosa en humanos, suponen la principal fuente de energía celular. La regulación del metabolismo es ejercida por hormonas como el glucagón y la insulina. Aumentos de la glucemia estimulan la secreción de insulina, hormona hipoglucemiante, mientras que la reducción de la glucemia inducen la secreción de glucagón, hormona hiperglucemiante [1][2].

La mayor reserva de energía metabólica está en el tejido adiposo, en forma de triglicéridos, los cuales se sintetizan por estímulo de la insulina. En ayuno se metabolizan a ácidos grasos libres (AGL) que son transportados a diversas partes del organismo, donde son oxidados para obtener energía. Su almacenamiento y metabolización es regulado por varias hormonas (catecolaminas, insulina, glucagón, hormonas tiroideas y hormona de crecimiento) y por la actividad física. Aumentos de la concentración de lípidos, particularmente colesterol, favorecen las dislipemias lo cual aumenta el riesgo de aterosclerosis, sobre todo en pacientes diabéticos [1][2].

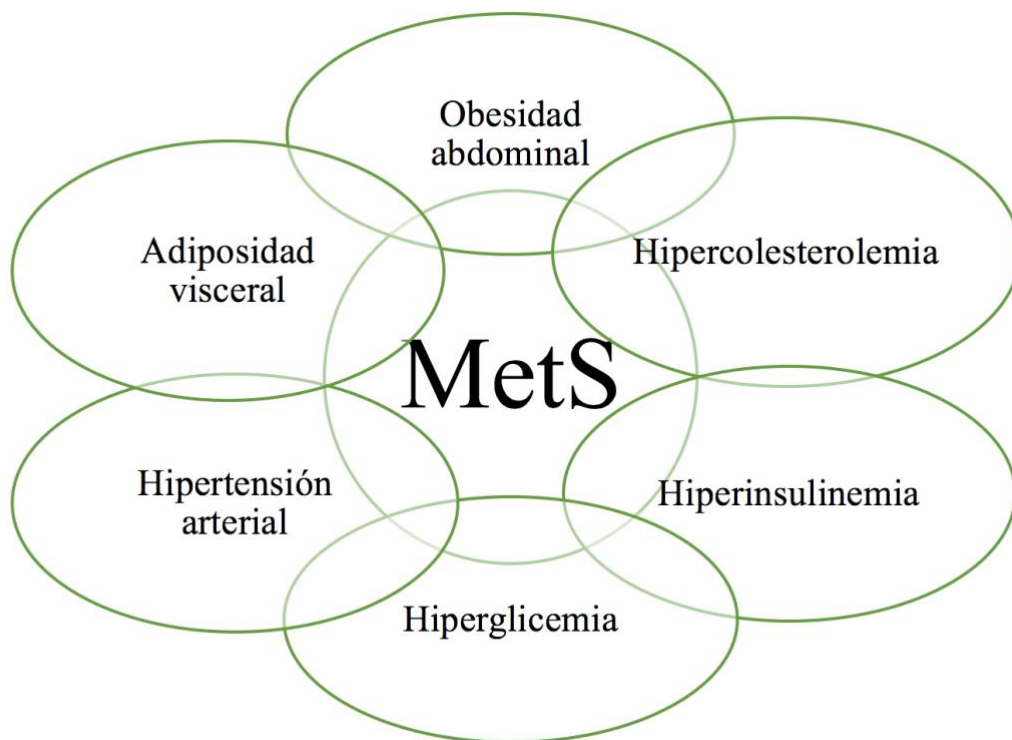


Figura 1: Signos y síntomas de MetS. (Modificado de Lizarzaburu Robles JC, 2013) [3][4].

El síndrome metabólico (MetS) es un conjunto de alteraciones (figura 1) que cursa con obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia (con disminución de c-HDL),

resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hiperglicemia, además de hipertensión arterial (HTA). El diagnóstico de cada entidad nosológica se realiza según criterios definidos por organismos como *International Diabetes Federation (IDF)*, *Adult Treatment Panel III (ATP III)* [5] o la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) [4] (tabla 1). Para diagnosticar MetS deben coincidir, al menos, tres de las entidades mencionadas [3][4]. La genética, la obesidad, la dieta y el sedentarismo son factores predisponentes del MetS.

Componentes	ALAD	IDF	ATP III
Obesidad abdominal	Perímetro de cintura ≥ 94 cm en hombres y ≥ 88 cm en mujeres.	Perímetro de cintura ≥ 90 cm en hombres y ≥ 80 cm en mujeres (para Asia y Latinoamérica).	Perímetro de cintura > 102 cm en hombres (para hispanos > 94cm) y > 88 cm en mujeres (para Asia y Latinoamérica).
Triglicéridos altos	> 150 mg/dL (o en tratamiento hipolipemiente específico).	> 150 mg/dL (o en tratamiento hipolipemiente específico).	> 150 mg/dL (o en tratamiento hipolipemiente específico).
c- HDL bajo	< 40 mg/ dL en hombres o < 50 mg/ dL en mujeres (o en tratamiento con efecto sobre c- HDL).	< 40 mg/ dL en hombres o < 50 mg/ dL en mujeres (o en tratamiento con efecto sobre c- HDL).	< 40 mg/ dL en hombres o < 50 mg/ dL en mujeres (o en tratamiento con efecto sobre c- HDL).
Presión arterial elevada	PAS ≥ 130 mmHg y/o PAD ≥ 85 mmHg O en tratamiento antihipertensivo.	PAS ≥ 130 mmHg y/o PAD ≥ 85 mmHg O en tratamiento antihipertensivo.	PAS ≥ 130 mmHg y/o PAD ≥ 85 mmHg.
Alteración en la regulación de la glucosa	Glucemia anormal en ayunas, intolerancia a la glucosa, o diabetes.	Glucemia en ayunas ≥ 100 mg/dL o D 2 diagnosticada previamente. glucemia elevada.	Glucemia en ayunas ≥ 100 mg/dL o en tratamiento para glucemia elevada.
Diagnóstico	Obesidad abdominal + 2 de los 4 restantes.	Obesidad abdominal + 2 de los 4 restantes	3 de los 5 criterios descritos

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de MetS (Modificado de Lizarzaburu Robles JC, 2013 y Bastarrachea LA et al, 2010) [4][5].

3.1. FISIOPATOLOGÍA Y TRATAMIENTO DE MetS

El MetS condiciona diversas alteraciones metabólicas que constituyen un factor de riesgo para desarrollar, entre otras patologías, enfermedad cardiovascular, diabetes e hígado graso no alcohólico (HGNA) [6].

El aumento del consumo calórico incrementa la incidencia del MetS. También se implica a genes que codifican proteínas relacionadas con la síntesis y degradación de triglicéridos y/o genes involucrados en la proliferación y diferenciación de adipocitos en la fisiopatología del MetS [7].

La obesidad abdominal provoca hiperplasia de los adipocitos lo cual genera resistencia de los receptores de insulina, causando hiperglucemia [6]. El índice de Quetelet [Índice de Masa Corporal, IMC] – que se calcula mediante la fórmula $IMC = \frac{Peso (kg)}{Altura (m)^2}$ - establece 3 rangos en función del valor de IMC (tabla 2) [8][9][10]. En obesos el tejido adiposo abdominal tiene actividad lipolítica elevada, induciendo aumento de ácidos grasos libres en plasma y de los sustratos para la síntesis hepática de lipoproteínas de baja (LDL) y de muy baja densidad (VLDL), que genera una dislipidemia aterogénica. Además, con la obesidad, la gluconeogénesis no se inhibe, mientras que en el músculo disminuye la captación de glucosa, causando hiperglucemia y la consecuente secreción de insulina [7].

IMC (Kg/ m ²)	RANGO
18.5- 25	Normal
25-29.9	Sobrepeso.
30	Obesidad.

Tabla 2. Rangos de IMC [8].

El elevado índice aterogénico implica riesgo cardiovascular y el incremento de triglicéridos puede dar lugar al desarrollo de HGNA, que se asocia a resistencia a la insulina y, por tanto, a hiperinsulinemia. Como consecuencia, la enzima lipasa sensible a hormona estimula la lipólisis en el tejido adiposo y, consecuentemente, aumento de la concentración plasmática de AGL. Un segundo impacto se produce por estrés oxidativo en el hígado y la inducción de respuesta inflamatoria. Así, los radicales libres de oxígeno inducen, en las células de Kupffer y en los hepatocitos, la síntesis de citosinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) - que activa la vía de la caspasa causando apoptosis de los hepatocitos -, el factor de crecimiento transformante 1 (TGF-1) - que activa la síntesis de colágeno e Interleucina-8 (IL-8), un potente quimiotáctico de neutrófilos -. En la fisiopatología del HGNA también TNF- α se relaciona con la obesidad por el aumento de la expresión del receptor de LDL y, por tanto, el acúmulo de colesterol en los hepatocitos. Por todo ello, la regulación de la liberación de insulina y el estrés oxidativo pueden representar un objetivo terapéutico en el MetS [11].

Existen diferentes enfoques terapéuticos para el MetS y sus patologías asociadas. En cualquiera de esos tratamientos, la modificación del estilo de vida (dieta y actividad física) son factores esenciales. La dieta - adaptada a la edad, género, estado metabólico, situación económica y disponibilidad de alimentos de cada paciente [5] -, debe reducir el aporte calórico y suministrar una dieta equilibrada (legumbres, frutas, verduras, granos enteros, pescado y productos lácteos bajos en grasa). La actividad física aeróbica prescrita gradualmente, asociada a la dieta, mejoran los signos y síntomas del MetS [5] [12].

Si la modificación del estilo de vida no resulta efectiva, entonces se tratan las patologías asociadas. La Metformina es una biguanida utilizada tanto en monoterapia como en combinación con otros fármacos para tratar la Diabetes Mellitus tipo 2 [13], que aumenta la sensibilidad de los tejidos periféricos a la acción de la insulina, por estimulación de los transportadores de glucosa (GLUT), incrementando la captación y utilización de glucosa en el músculo; en el hígado, inhibe la glucogenolisis y la gluconeogénesis [11] [14]. La asociación de Metformina con otros antidiabéticos orales como Glitazona (Pioglitazona) e inhibidores del co-transportador de sodio y glucosa tipo 2 (SGLT2), disminuyen el riesgo de hipoglucemia (efecto secundario en la monoterapia). Además, la terapia con Metformina reduce el peso [15]. Por otra parte, los fármacos que actúan como inhibidores de SGLT2 (Dapagliflozina, Canagliflozina, Empagliflozina y Ertugliflozina), reducen la HTA y disminuyen la mortalidad cardiovascular [16]. Por último, la Pioglitazona, en combinación con Vitamina E, se utiliza en el tratamiento del HGNA asociado a MetS porque disminuye la esteatosis hepática y la inflamación lobulillar [17].

La aldosterona actúa a través del receptor de mineralocorticoides (MR) [18] [19]. Una diana de MR es la quinasa regulada por suero y glucocorticoides 1 (SGK1), proteína presente en la mayoría de las células del organismo cuya expresión génica está regulada por aldosterona, glucocorticoides y glucosa [20]. SGK1 estimula la captación celular de glucosa y la glucólisis aportando así energía metabólica [21]. Una publicación de mis supervisores, realizada en ratones, relaciona la sobreexpresión de SGK1 con obesidad, dislipidemia, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y a la insulina, así como con HTA e HGNA, es decir, con los factores determinantes de MetS [20].

Para tratar el MetS podrían utilizarse antagonistas del receptor de mineralocorticoides (AMR) como la Eplerenona y la Espironolactona. La Eplerenona actúa sobre el túbulo distal renal provocando natriuresis y reducción de la kaliuria. La Espironolactona es un diurético ahorrador de potasio que provoca excreción de sodio, cloro y agua, además de disminución de la eliminación de potasio. Como efecto secundario, la Espironolactona puede provocar ginecomastia e impotencia en hombres y trastorno del ciclo menstrual en mujeres, debido a su afinidad por los receptores de andrógenos y progestágenos [22] [23] [24].

La terapia de reemplazo hormonal (TRH) se ha sugerido en mujeres postmenopáusicas que padecen MetS, administrando estrógenos por vía oral con o sin progestágeno. Ese tratamiento reduce la glucemia e insulinemia en ayunas y, por tanto, la posibilidad de padecer diabetes.

Las mujeres con TRH muestran menor incidencia de hipercolesterolemia que las no tratadas. Además, valores de presión arterial sistólica superior a 90 mmHg es superior en mujeres diagnosticadas de MetS sin TRH que en mujeres tratadas [7][25].

3.2 PREVALENCIA DE MetS

El MetS es uno de los grandes problemas sanitarios actuales, puesto que el 20-30% de la población mundial adulta la padece [26]. La edad a la que se diagnostica ha descendido, considerándose grupo de riesgo los jóvenes de 30-35 años [4]. El estudio *Control Hypertension and other risk factors to Prevent Stroke with Nutrition Education (CHPSNE)* realizado en China, así como el estudio MORGAM (*Monica, Risk, Genetics, Archiving and Monograph*) en Europa, han mostrado que la prevalencia de MetS es superior en hombres menores de 50 años, mientras que en edades superiores la prevalencia es mayor en mujeres [27]. En Corea del Sur, el 32.9% de las mujeres y el 29% de los hombres padecen MetS [26]. Por otra parte, la prevalencia en mujeres mejicanas postmenopáusicas (50-59 años) es del 35% [25].

El 40% de la población mundial adulta (aproximadamente 1.900 millones) padece sobrepeso, alcanzando parámetros de obesidad (IMC>30) el 13% de ella [28]. Un estudio realizado en europeos entre 18 y 80 años, ha mostrado distinta prevalencia en función de la edad y de la nacionalidad (tabla 3) [29].

RANGO	LOCALIZACIÓN EUROPEA
IMC > 30 Kg/m ²	Italia (Tirol): 11.6% Alemania (Augsburgo): 26.3%
OBESOS con MetS	Italia: 42.7% Finlandia: 78.2%
OBESOS METABÓLICAMENTE SANOS	Reino Unido: 28% mujeres; 19% hombres. Finlandia: 7% mujeres; 2% hombres.

Tabla 3. Prevalencia de MetS y obesidad en Europa [29].

En España, las cifras de sobrepeso (39.3%) y obesidad (21.6%) son alarmantes, según el Estudio Nutricional de la Población Española (ENPE) [30]. El Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular (ENRICA) muestra diferente prevalencia entre mujeres y hombres españoles en función del IMC y de la edad (tabla 4) [31].

MetS	MUJERES	HOMBRES
IMC \leq 25	3%	4.8%
IMC \geq 30	44.5%	60.4%
45-65 AÑOS	24.8%	36.2%
\geq 65 AÑOS	44.5%	39.5%

Tabla 4. Prevalencia de MetS en función del IMC, género y edad [31].

Según el estudio DARIOS (tabla 5) [32], la obesidad (factor de riesgo para desarrollar MetS) en Canarias, es mayor en todos los grupos de edad estudiados comparando con el resto de España.

	Obesidad Canarias	España
35-44 años	22.3%	16.7%
45-54 años	38.1%	25.5%
55-64 años	43.5%	34.0%
65-74 años	33.3%	36.9%

Tabla 5. Obesidad en Canarias y España en función de grupos de edad [32].

También, existe mayor prevalencia de MetS en Canarias, siendo mayor a cualquier edad [32], con diferencias entre hombres y mujeres, según los criterios de la ATPIII (tabla 6) [33].

MetS	HOMBRES	MUJERES
18-30 años	7%	5%
>30-45 años	20%	14%
>45-65 años	36%	41%
>65 años	50%	51%

Tabla 6. Prevalencia de MetS en Canarias en función de género y edad, según criterios ATPIII [33].

Un estudio realizado por el Hospital Universitario de Canarias (Tenerife) y el Hospital Insular Nuestra Señora de los Reyes (El Hierro), mostró que el 22.3% de la población herreña es mayor de 65 años, y que el 80.3% de la muestra estudiada cumple con 3 o más criterios de MetS (tabla 7) [34].

EDAD	MetS
<61 años	74.3%
61-72 años	80.7%
>72 años	86.6%

Tabla 7. Prevalencia de MetS en El Hierro [34].

Por su parte, en el análisis sindrómico por sexo (tabla 8) mostró diferencias en hipertensión arterial, obesidad y concentración plasmática de c-HDL [34].

	MUJERES	HOMBRES
Hipertensión arterial	92.1%	82.6%
Obesidad	75.6%	46.5%
c-HDL	49.6%	36.6%

Tabla 8. Complicaciones de MetS en El Hierro [34].

3.3 DIMORFISMO SEXUAL

La incidencia de determinadas patologías es distinta en machos y hembras de diferentes especies animales: el carcinoma hepatocelular ocurre con mayor frecuencia en hombres [35], mientras que la hipertensión pulmonar se da con mayor frecuencia en ratones hembras [36].

En mujeres postmenopáusicas, la disminución de la síntesis y secreción de estrógenos se relaciona con predisposición a la aterosclerosis, disminución de la apoptosis en las células endoteliales y aumento de la resistencia a la insulina, así como con la disminución de LDL plasmático al endotelio, la disminución de la adhesión de monocitos así como con la respuesta quimiotáctica de los monocitos y la proliferación de células musculares lisas [37]. El papel de las hormonas sexuales en la relajación vascular dependiente del endotelio y la inhibición de los mecanismos de contracción del músculo liso vascular, pueden generar diferencias sexuales en el tono vascular [7]. La enfermedad cardiovascular (ECV) - primera causa de muerte en países occidentales – es desarrollada en mujeres 10 años después que los varones, con un aumento notable un año después de la menopausia [25].

De la revisión realizada en esta memoria se desprende que la incidencia de MetS es alta en el mundo [38], existiendo diferencias geográficas [39], así como entre edades, dieta y actividad física [5]. Además, la prevalencia de los síndromes que conforman el MetS es diferente entre hombres y mujeres [26], sin que se hayan comunicado evidencias contundentes sobre qué papel ejercen las hormonas sexuales en la causa y/o el desarrollo de MetS.

La importancia de conocer detalles sobre los asuntos planteados tiene doble interés: profundizar en el conocimiento de una enfermedad de alta incidencia mundial y, como consecuencia, posibilitar el desarrollo de terapias específicas dependiendo del estado hormonal del paciente [25].

4. HIPÓTESIS

Las hormonas sexuales están implicadas en la (s) causa (s) y/o el desarrollo del Síndrome Metabólico (MetS).

5. OBJETIVOS

- 1) Revisar el estado del conocimiento sobre las posibles implicaciones de las hormonas sexuales (estrógenos, progestágenos, andrógenos) en el desarrollo de MetS.
- 2) Hacer un diseño experimental para estudiar efectos de las hormonas sexuales sobre parámetros establecidos de MetS.
- 3) Aprender a escribir y comunicar resultados de un trabajo científico basado en la experiencia de un grupo de investigación.

6. METODOLOGÍA

6.1 BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

▪ **Material obtenido de internet**

- Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>): Palabra clave inicial: “*metabolic syndrome*”. Palabras clave secundarias: “*metabolic syndrome*” AND “*sexual dimorphism*”; “*Spain*”, “*Prevalence*”, “*Metabolic Syndrome*”; “*SGLT2*”; “*Metabolic syndrome*” AND “*Canary island*” AND “*Prevalence*”.
- Punto Q (<https://www.ull.es/servicios/biblioteca/servicios/puntoq/>): Palabra clave: “*dimorfismo sexual*”.
- Google Scholar (<https://scholar.google.es/>): Palabras clave: “*síndrome metabólico prevalencia*”, “*activación del enzima SGK1 en el síndrome metabólico*”, “*índice de Quetelet*”, “*tratamiento síndrome metabólico*”.
- CIMA (Centro de Información online de Medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios)

(<https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>): “Espironolactona”, “Eplerenona”, “Metformina”.

▪ **TFGs previos, tutelados por la Dra. Velázquez y el Dr. Hernández**

- Cárdenes Brito R. Síndrome metabólico y actividad del receptor de mineralocorticoides. Trabajo Fin de Grado, Universidad de La Laguna; 2017.
- Martín Sánchez Y. Búsqueda de fármacos para el tratamiento del Síndrome Metabólico asociado a la actividad del receptor de mineralocorticoides. Trabajo Fin de Grado, Universidad de La Laguna; 2018.

6.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Basado en un trabajo previo de los tutores de este TFG que estudió la influencia de SGK1 en el MetS, en ratones machos [20], se compararán machos y hembras de la misma especie animal. Para profundizar sobre el papel de la enzima SGK1 en la génesis y/o desarrollo de MetS, se plantea tratar a animales de ambos géneros con un inhibidor de SGK1 [40]. Por último, se propone ampliar el diseño experimental animal (F1) con uno en humanos (F2).

6.2.1 Diseño experimental F1

Animales de 12 semanas de edad, serán estabulados según la regulaciones españolas y europeas al respecto (RD53/ 2013 y 2010/63 EU), a una temperatura 22 +/- 2°C, sometidos a un ciclo L:O (14:10), aclimatándose a las condiciones citadas (4-7 días) antes de comenzar los experimentos. Tanto los animales control (WT) como los sobreactivados para SGK1 (B6.Tg.SgK1), se agruparán en machos y hembras (figura 2), estando éstas en la fase de diestro 2 de su ciclo estral [41].

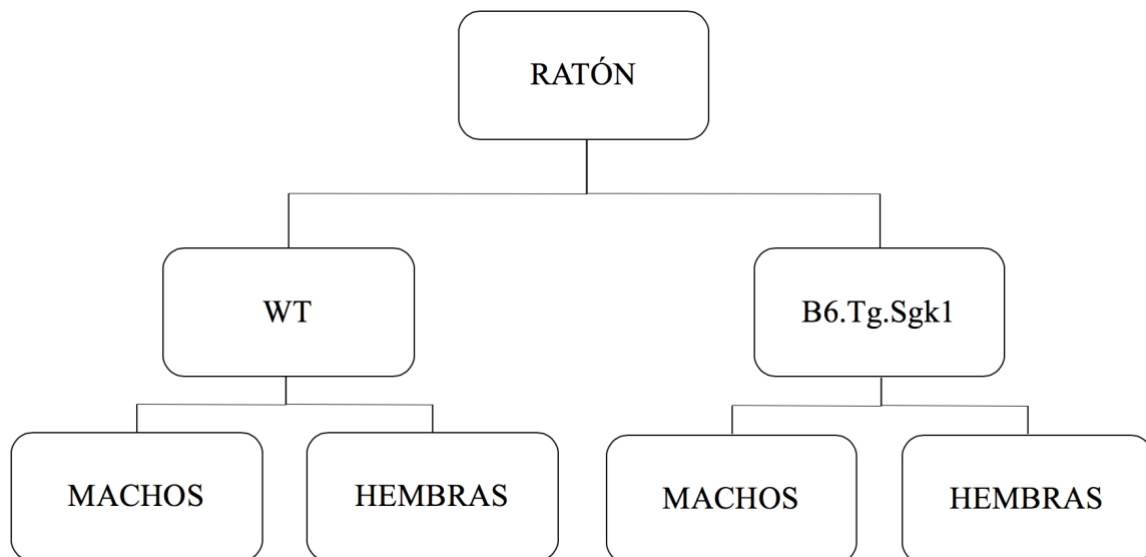


Figura 2. Diseño Experimental F1 [20].

Con esa distribución inicial, se establecerán dos grupos de animales:

- A) Diseño F1 A: Recibirán dieta baja en grasas (DBG) o dieta alta en grasas (DAG) durante 6 semanas [20]; la composición porcentual de las dietas están en la figura 3.

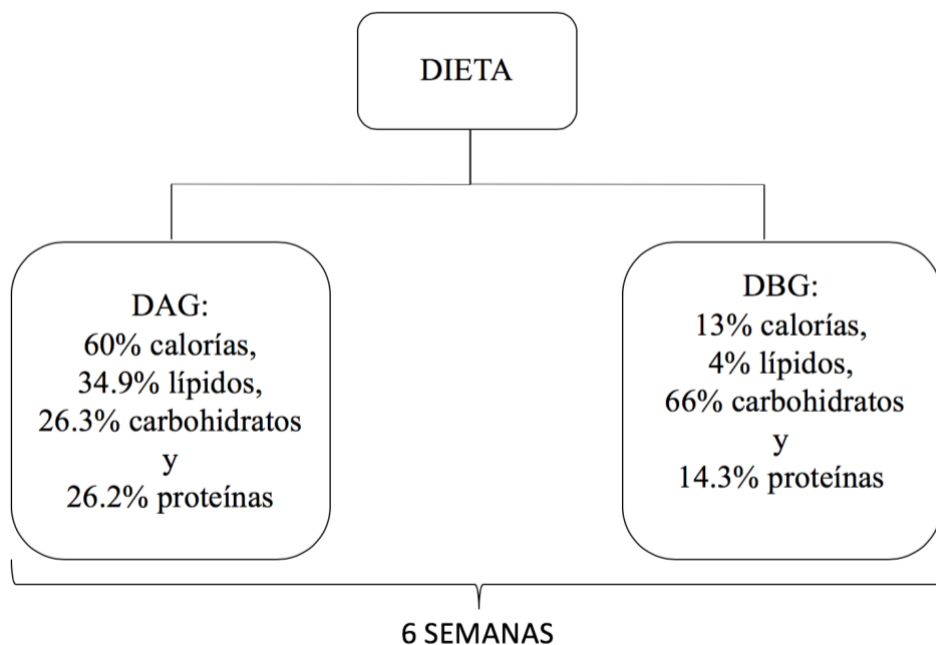


Figura 3. Composición de las dietas a administrar [20].

- B) Diseño F1 B: Un segundo grupo de animales, que recibirán DAG durante 6 semanas, se tratarán con el inhibidor de SGK1 (EMD638683), o su vehículo, durante 4 semanas

por vía intraperitoneal. Ya que la IC_{50} es $3.35 \mu M$, se administrarán 3 dosis (1, 3 y $10 \mu M$) [1][40] (figura 4).

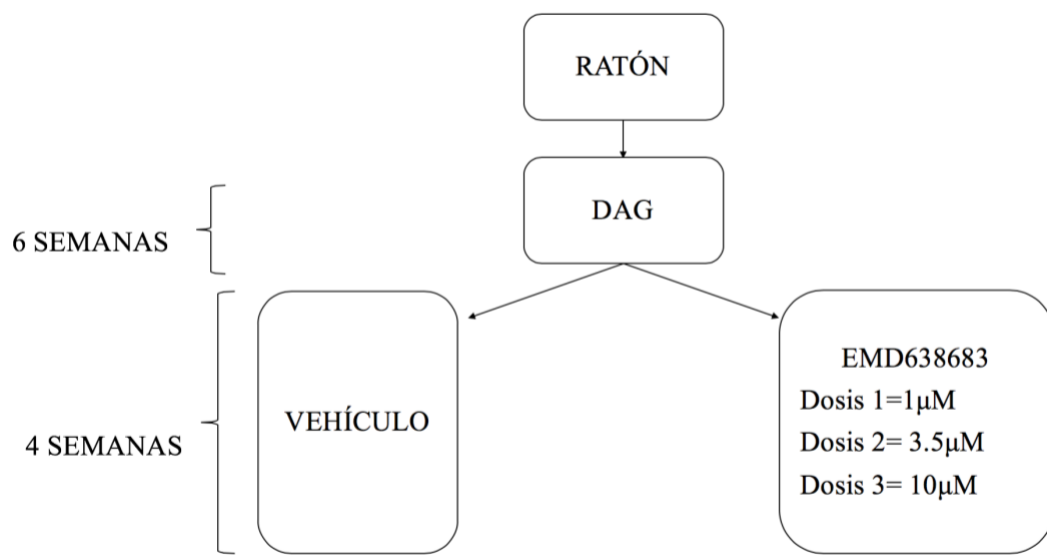


Figura 4. Diseño experimental F1 B [1] [40].

6.2.2 Diseño experimental F2

Basados en un experimento previo [30] - contando con el consentimiento expreso de todos/as los/las participantes y previa obtención de la pertinente autorización por el Comité Ético de Investigación que corresponda- se realizará un estudio doble ciego tratando con EMD638683 durante 8 semanas. Esto es, los individuos experimentales serán distribuidos en grupos, por intervalos de edad y sexo, sin que sepan qué tipo de tratamiento van a recibir; además, los tratamientos, o su vehículo, serán distribuidos entre los/as participantes por personas que no conocen su composición. Una vez se conozca la IC_{50} para humanos, se administrarán 3 dosis: la mitad de IC_{50} (dosis 1), IC_{50} (dosis 2) y el doble de IC_{50} (dosis 3). Ver esquema experimental en la tabla 9.

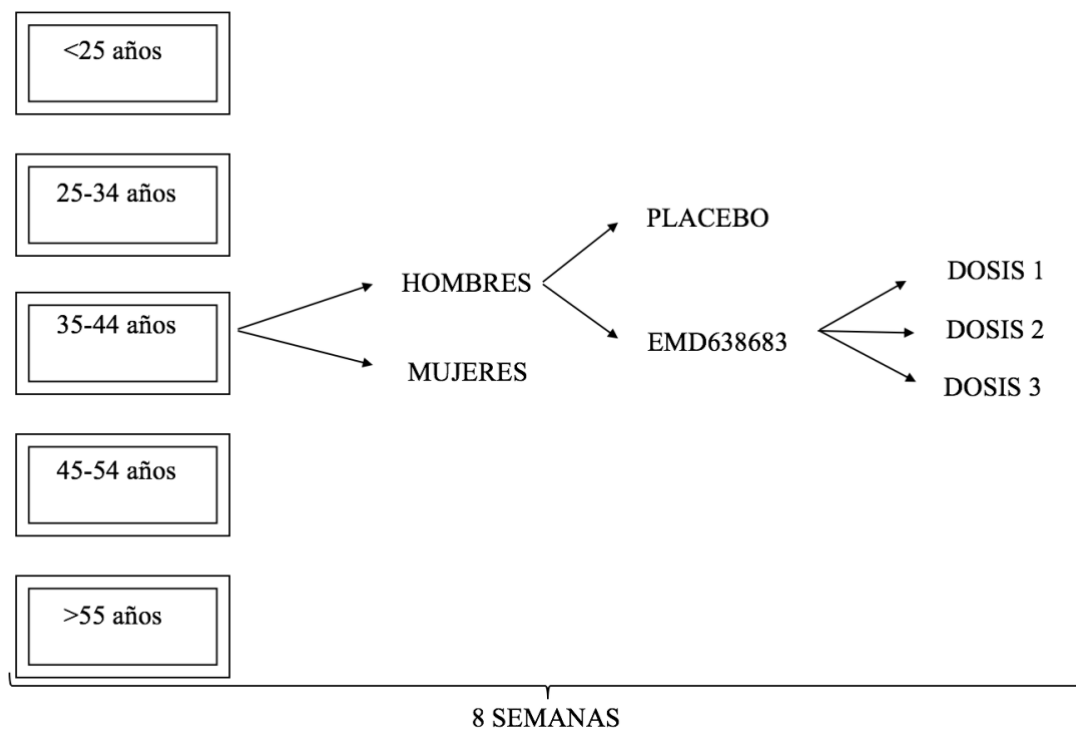


Tabla 9. Diseño experimental F2. Para simplificar se muestra en un solo grupo [30].

6.2.3 VARIABLES A DETERMINAR:

Todos los parámetros se medirán en los siguientes tiempos:

- Diseño F1 A.- T0= Pre-ensayo, T1= Final del ensayo (6 semanas), en ayunas y en estado postpandrial.
- Diseño F1 B.- T0= Pre-ensayo, T1= Mitad del ensayo (6 semanas), T2= Final del ensayo (12 semanas), en ayunas y en estado postpandrial.
- Diseño F2.- T0= Pre-ensayo, T1= Mitad del ensayo (4 semanas), T2= Final del ensayo (8 semanas), en ayunas y en estado postpandrial.
- **INSULINEMIA:** Cuantificación de la concentración plasmática de insulina con un kit comercial de ELISA (Mercodia) en los puntos 0, 30 y 120 min del test de tolerancia a glucosa [1][20].
- **TEST DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA (GTT):** Tras ayuno durante 16 horas y la administración de glucosa en bolus (2g/Kg de peso), se tomarán muestras a 0 (glucemia en ayunas), 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos post bolus, para determinar la glucemia mediante un glucómetro comercial [1][20].

- TEST DE TOLERANCIA A LA INSULINA (ITT): Tras administración de insulina (0.75 U/Kg de peso) se medirá la glucemia a 0 (glucemia en no ayunas), 15, 30, 45, 60 y 90 minutos post administración [1][20].

- DETERMINACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL:
 - Para el diseño experimental F1: Tras habituación de los animales (5 días), la presión arterial se determinará mediante un sistema no invasivo [pletismografía (PanLab) poniendo un manguito en la vena de la cola (*tail cuff*)]. Medida en el período de 10:00 a 11:00 am, a intervalos de 20 minutos, usando el software SeDaCom 2.0 [1][20].
 - Para el diseño experimental F2: Tras 10 minutos de habituación (habitación en silencio y persona en decúbito supino), la tensión arterial se tomará con un tensiómetro comercial de mercurio, en el período de 10:00 a 11:00 am, anotando 3 medidas en un intervalo de 15 minutos, durante 7 días consecutivos.

- NIVELES DE EXPRESIÓN DE SGK1: Se analizarán los niveles de expresión protéica de SGK1 en distintos tejidos mediante la técnica de western blot [1][20].

- DETERMINACIÓN DE LAS HORMONAS SEXUALES: Se determinará la concentración plasmática de Testosterona, Progesterona y Estradiol, mediante ELISA, siguiendo el protocolo indicado por el fabricante.

7. CONCLUSIONES

1. La incidencia de MetS es alta en el mundo occidental, presentando diferencias condicionadas por la localización geográfica, la edad, el tipo de dieta y la actividad física.
2. La prevalencia de MetS es diferente entre machos y hembras de la especie humana.
3. No existen datos concluyentes sobre la influencia de las hormonas sexuales en la causa y /o el desarrollo de MetS.
4. Conocida la influencia de la enzima SGK1 en el desarrollo de MetS en roedores, se propone un diseño experimental para evaluar los efectos de las hormonas sexuales sobre parámetros biológicos relacionados con MetS, tanto en animales como en humanos.
5. Aplicando los principios del método científico, se ha aprendido a definir los objetivos de un trabajo, revisar el estado del conocimiento, describir un diseño experimental, así como presentarlo y defenderlo ante una audiencia especializada.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Cárdenes Brito R (2017). Síndrome metabólico y actividad del receptor de mineralocorticoides. Trabajo Fin de Grado. Universidad de La Laguna.
- [2] Martín Sánchez Y (2018). Búsqueda de fármacos para el tratamiento del Síndrome Metabólico asociado a la actividad del receptor de mineralocorticoides. Trabajo Fin de Grado. Universidad de La Laguna.
- [3] Kaliannan K, Robertson RC, Murphy K, Stanton C, Kang C, Wang B, Hao L, Bhan AK, Kang JX (2018). Estrogen-mediated gut microbiome alterations influence sexual dimorphism in metabolic syndrome in mice. *Microbiome* 6: 1-22.
- [4] Lizarzarburu Robles JC (2013). Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. *Anales Facultad Medicina* 74: 315-320.
- [5] Sinay I, Costa Gil J, de Loreda L, Ramos O, Lúquez H, da Silva Filho RL, da Silva SC, Ferreira S, Tambascia M, Godoy A, Duarte E, Carrasco Piña E, García Bruce H, Pasquel M, Jense Villatoro A, Guzmán JR, González Chávez A, Aschner P, Bastarrachea P (2010). Epidemiología, Diagnóstico, Control, Prevención y Tratamiento del Síndrome Metabólico en Adultos. Consejo Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes 18: 25-44.
- [6] Castillo Hernández JL, Cuevas González M, Almar-Galiana M, Romero-Hernández E (2017). Síndrome metabólico, un problema de salud pública con diferentes definiciones y criterios. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana* 17: 7-24.
- [7] Molina de Salazar DI, Muñoz-Gómez D (2018). Síndrome metabólico en la mujer. *Revista Colombiana de Cardiología* 25: 21-29.
- [8] Cardozo LA, Cuervo Guzman YA, Murcia Torres JA (2016). Porcentaje de grasa corporal y prevalencia de sobrepeso-obesidad en estudiantes universitarios de rendimiento deportivo de Bogotá, Colombia. *Nutrición clínica y Dietética Hospitalaria* 36: 68-75.
- [9] Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, García García CJ, García López P, Álvarez Ferre J, Padilla López CA, Mur Villar N (2012). Estudio comparativo de la eficacia del índice de masa corporal y el porcentaje de grasa corporal como métodos para el diagnóstico de sobrepeso y obesidad en población pediátrica. *Nutrición Hospitalaria* 27: 185-191.
- [10] Heshmatpour M (2015). Bell inequalities for arbitrary situations. *Physics Letters A* 379: 870-872.
- [11] Martín-Domínguez V, González-Casas R, Mendoza-Jiménez-Ridruejo J, García-Buey L, Moreno-Otero R (2013). Pathogenesis, diagnosis and treatment of non alcoholic fatty liver disease. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 105: 409-420.
- [12] Pitsavos C, Panagiotakos D, Weinem M, Stefanadis C (2006). Diet, Exercise and the Metabolic Syndrome. *The Review of Diabetic Studies* 3: 118-126.
- [13] Ascher MP, Muños VOM, Girón CD, García MOM, Fernández ADG, Casas LA, Bohórquez LF, Arango TCM, Carvajal L, Ramírez DA, Sarmiento JG, Colon CA, Correa GNF, Alarcón RP, Bustamante SAA, Fino V, Penagos E (2017). Guía de práctica clínica para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2: manejo inicial. *Universitas Médica* 58.

- [14] CIMA [Internet]. cima.aemps.es. (2020). Disponible desde: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/55211/FT_55211.html. Metformina Amneal 850 mg comprimidos recubiertos con película EFG.
- [15] Golay A (2008). Metformin and body weight. *International Journal of Obesity* 32: 61-72.
- [16] Davidson JA (2019). SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes and renal disease: overview of current evidence. *Journal of Postgraduate Medicina* 131: 251-260.
- [17] Barrera MF (2016). Nuevas estrategias farmacológicas para el tratamiento del hígado graso no alcohólico. *Gastroenterología latinoamericana* 27: 55–59.
- [18] Briones AM, Rodrigues- Díez R (2020). Receptor mineralocorticoide extrarrenal. Una posible nueva diana para combatir el daño vascular. *Anales RANF* 86: 61-73.
- [19] Bravo-Grau SE, Marusic ET (2011). Aldosterona, una hormona pluripotencial: efectos en el riñón, sistema cardiovascular cerebro y síndrome metabólico. *Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes* 4: 205-212.
- [20] Sierra- Ramos C, Velázquez- Garcia S, Vastola- Mascolo A, Hernández G, Faresse N, Alvarez de la Rosa D (2020). SGK1 activation exacerbates diet-induced obesity, metabolic syndrome and hypertension. *Journal of Endocrinology* 244: 149-162.
- [21] Lang F, Storunaras C, Zacharopoulou N, Voelkl J, Alesutan I (2019). Serum- and glucocorticoid- inducible kinase 1 and the response to cell stress. *Cell Stress* 3: 1-8.
- [22] Buonafine M, Bonnard B, Jaisser F (2018). Mineralocorticoid Receptor and Cardiovascular Disease. *American Journal of Hypertension* 31: 1165–1174.
- [23] CIMA [Internet]. cima. aemps.es. (2020). Disponible desde: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/54900/FT_54900.html. Espironolactona Alter 25 mg comprimidos recubiertos con película EFG. Espironolactona Alter100 mg comprimidos recubiertos con película contiene 100 mg de Espironolactona.
- [24] CIMA [Internet]. cima.aemps.es. (2020). Disponible desde: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/76240/FT_76240.html. Eplerenona Normon 25 mg comprimidos recubiertos con película EFG. Eplerenona Normon 50 mg comprimidos recubiertos con película EFG.
- [25] Tabares-Trujillo MK, Aguilera-Pérez JR, Velázquez-Valassi B, Garza-Ríos P, Angulo-Torres LC, García-Ruiz R (2012). Síndrome metabólico en menopausia: implicaciones de la terapia hormonal. *Perinatología y Reproducción Humana* 26: 25–29.
- [26] Kong S, Shin Cho Y (2019). Identification of female-specific genetic variants for metabolic syndrome and its component traits to improve the prediction of metabolic syndrome in females. *BMC Medical Genetics* 20: 1–13.
- [27] Pucci G, Alcidi R, Tap L, Battista F, Mattace-Raso F, Schillaci G (2017). Sex- and gender-related prevalence, cardiovascular risk and therapeutic approach in metabolic syndrome: A review of the literature. *Pharmacological Research*. pp 1-33.
- [28] Hiriart-Urdanivia M, Sánchez-Soto C, Velasco M, Sabido-Barrera J, Ortiz-Huidobro RI (2019). El receptor soluble de insulina y el síndrome metabólico. *Gaceta Médica de México* 155: 541-545.
- [29] Rincón Mancheño I (2017). Prevalencia del síndrome metabólico en población española adulta que asiste a consulta dietética. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

- [30] Ramón-Arbués E, Martínez-Abadía B, Gracia Tabuenca T, Yuste-Gran C, Pellicer-García B, Juárez-Vela R, Guerrero-Portillo S, Sáez-Guinoa M (2019). Prevalencia de sobrepeso/obesidad y su asociación con diabetes, hipertensión, dislipemia y síndrome metabólico: estudio transversal de una muestra de trabajadores en Aragón, España. *Nutrición hospitalaria* 36: 51-59.
- [31] Guallar-Castillón P, Pérez RF, López García E, León-Muñoz LM, Aguilera MT, Graciani A, Gutiérrez-Fisac JL, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F (2014). Magnitude and Management of Metabolic Syndrome in Spain in 2008-2010: The ENRICA Study. *Revista Española Cardiología* 67: 367-373.
- [32] Marcelino-Rodríguez I, Elosua R, Rodríguez Pérez MC, Fernández-Bergés D, Gumbre MJ, Vega Alonso T, Félix FJ, Almeida González D, Ortiz-Marrón H, Rigo F, Lapetra J, Gavrilá D, Segura A, Fitó M, Peñafiel J, Marrugat J, Cabrera de León A (2016). On the problem of type 2 diabetes-related mortality in the Canary Islands, Spain. The DARIOS Study. *Diabetes Research and Clinical Practice* 111: 74-82.
- [33] Cabrera de León A, Rodríguez Pérez MC, Almeida González D, Domínguez Coello S, Aguirre Jaime A, Brito Díaz B, González Hernández A, Pérez Méndez LI, grupo CDC (2008). Presentación de la cohorte "CDC de Canarias": objetivos, diseño y resultados preliminares. *Revista Española Salud Pública* 82: 519-534.
- [34] Martín González C, Torres Vega AM, González Reimers E, Quintero Platt G, Fernández Rodríguez C, Alvisa-Negrín J, Nawari Meilud A, Santolaria Fernández F (2017). Síndrome metabólico y riesgo cardiovascular en la población diabética de El Hierro, Islas Canarias. *Nutrición Hospitalaria* 34: 593-602.
- [35] Clocchiatti A, Cora E, Zhang Y, Dotto GP (2016). Sexual dimorphism in cancer. *Nature Reviews*. pp 1-16.
- [36] Moral Alonso M (2017). Dimorfismo sexual en un modelo de hipertensión pulmonar en rata. Trabajo Fin de Master. Universidad de Valladolid.
- [37] Vallejo Maldonado S (2017). Simposio manejo terapéutico en el climaterio y menopausia, evidencias actuales. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia* 64: 51-59.
- [38] Artola Menéndez S, Duelo Marcos M, Escribano Ceruelo E (2009). Síndrome metabólico. *Revista Pediatría de Atención Primaria* 11: 259-277.
- [39] Palaniappan LP, Wong EC, Shin JJ, Fortmann SP, Lauderdale D (2011). Asian Americans have greater prevalence of metabolic syndrome despite lower body mass index. *International Journal of Obesity* 35: 393-400.
- [40] Ackermann TF, Boini KM, Beier N, Scholz W, Fuchb T, Lang F (2011). EMD638683, a Novel SGK Inhibitor with Antihypertensive Potency. *Cellular Physiology and Biochemistry* 28:137-146.
- [41] Carrasco-García AA, Camacho-Pernas MA, Pacheco-Cabrera P, Carrillo-Castilla P (2008). Estudio de la actividad contractil uterina basal durante el ciclo estral de la rata. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana* 8: 25-32.