



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

SEDE SUR

DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA

**Efecto del sulfuro de hidrógeno en los niveles de adiponectina y su
relación con el pardeamiento del tejido adiposo en ratas Wistar con
obesidad inducida por dieta rica en grasas**

Tesis que presenta

Med. Cir. Arturo Serrano Sánchez

Para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en la especialidad en
Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Directores de Tesis:

**Dr. David Centurión Pacheco
Dra. Karla Guadalupe Carvajal Aguilera**

Ciudad de México

Agosto, 2022



El presente trabajo de investigación se desarrolló bajo la dirección de la Dra. Karla Guadalupe Carvajal Aguilera y el Dr. David Centurión Pacheco en el laboratorio de Nutrición Experimental del Instituto Nacional de Pediatría y en el laboratorio 6 del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Para la realización de este proyecto se contó con el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca No. 401579.

DEDICATORIAS

A MI ESPOSA

Por apoyarme y animarme a seguir avanzando para cumplir con mis metas. Por ser mi eterna compañera y mi mejor amiga. Por tu comprensión en las noches en vela y tus palabras de aliento siempre en el momento necesario. Por levantarme siempre que tropiezo con una sola sonrisa. Te amo lise.

A MIS PADRES

Por estar siempre a mi lado con su apoyo incondicional en cada decisión que tomo. Por su ayuda emocional, su compañía y consejos siempre que lo necesito. Por ser los mejores padres que, con su esfuerzo, me han inculcado las bases para ser la persona que soy. Los amo y espero seguir llenándolos de orgullo.

A MI ABUE

Por haberme cuidado y amarme como mi segunda mamá. Por haber hecho de mi infancia la etapa más divertida y enseñarme a atesorar esos momentos en familia.

Por demostrarme que se puede salir adelante aún con pocas oportunidades. Te amo donde sea que estés y te extraño mucho.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Centurión por aceptarme como parte del laboratorio durante épocas difíciles y de confinamiento por temas de salud a nivel mundial. Por apoyarme y compartirme sus conocimientos que lograron enriquecerme a nivel académico y como persona.

A la Dra. Karla Guadalupe Carvajal por haberme aceptado como uno más del equipo de su laboratorio. Por estar al pendiente y motivarme a seguir aprendiendo. Por procurar siempre resolver mis dudas y orientarme de la mejor manera para resolverlas.

A mis sinodales: La Dra. Mónica Lamas Gregori y el Dr. Juan Antonio Suarez-Cuenca por el tiempo dedicado a mi proyecto. Por sus comentarios y críticas que siempre buscaron la adecuada construcción de mi trabajo.

A la Dra. Aracely Sánchez López por su apoyo y sus consejos en los momentos complicados, siempre fueron acertados y contribuían a recuperar mi camino.

A Saúl, por enseñarme tanto. Por impulsarme a aprender y ayudarme a entrar en este mundo tan desconocido para mí. Por tu paciencia y tu manera tan sencilla de enseñar, que sentaron las bases de este trabajo. Por brindarme tu amistad y respaldo durante todo este ciclo.

A mis amigos del laboratorio 6 y del laboratorio en el INP. Hernán Beltrán, por enseñarme tanto en el laboratorio y ayudarme a no sentirme como un completo extraño en mis inicios. Carolina Gómez, por recibirme en el laboratorio y enseñarme todos los tips para no fallar en mis experimentos. Diana Silva, que por la distancia entre laboratorios nos tocó convivir poco, pero los momentos en que coincidimos siempre fueron muy divertidos y llenos de risa. Félix López, compañero y amigo de generación, embarcados en este proceso en el laboratorio desde el inicio, gracias

por tus comentarios y por siempre echarme porras en mis presentaciones. A Pedro por su amistad y los momentos de plática en el laboratorio que hacían que pasara rápido el tiempo. A Yola por recibirme en el INP y siempre estar dispuesta a brindar su apoyo.

A mis compañeros y amigos de generación, especialmente Ciciolil y Juan que, a pesar de la distancia y las circunstancias suscitadas por la pandemia, lográbamos siempre conectarnos para reír y divertirnos como si nos conociéramos de siempre. Al resto de la generación por sus comentarios y compañerismo durante la maestría.

A mis mejores amigos, que son como mis hermanos y hermanas. Por estar siempre en las buenas y en las malas, y ayudarme a hacer de este ciclo uno de los mejores de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. Introducción.....	1
1.1. Obesidad.....	1
1.1.1. Comorbilidades de la obesidad.....	3
1.2. El tejido adiposo.....	4
1.2.1. Función endócrina del tejido adiposo.....	5
1.2.2. La proteína desacoplante del tejido adiposo (UCP).....	8
1.2.3. Browning o pardeamiento del tejido adiposo.....	8
1.3. Adiponectina.....	9
1.3.1. La adiponectina y sus receptores.....	11
1.3.2. Efectos fisiológicos de la adiponectina.....	14
1.3.3. Pardeamiento y adiponectina.....	15
1.4. El Sulfuro de Hidrógeno (H₂S).....	15
1.4.1. Biosíntesis del H ₂ S.....	16
1.4.2. Persulfuración.....	17
1.4.3. H ₂ S y su relación con la obesidad.....	19
1.4.4. Pardeamiento y H ₂ S.....	20
2. Justificación.....	22
3. Hipótesis.....	22
4. Objetivos.....	22
4.1. Objetivo general.....	22
4.2. Objetivos específicos.....	23
5. Materiales y Métodos.....	24

5.1.	<i>Modelo animal</i>	24
5.2.	<i>Diseño experimental</i>	24
5.3.	<i>Homogenización de tejido adiposo</i>	25
5.4.	<i>Cuantificación de proteínas de tejido adiposo</i>	26
5.5.	<i>Determinación de adiponectina</i>	27
5.6.	<i>Análisis de la expresión de proteínas mediante Western Blot</i>	27
5.7.	<i>Análisis estadístico</i>	28
6.	Resultados	30
6.1.	Efecto de la DRG y el NaHS sobre la concentración de adiponectina en el tejido adiposo	30
6.2.	Expresión de AMPK y su fosforilación en el tejido adiposo	33
6.3.	Expresión de proteínas asociadas con pardeamiento del tejido adiposo ..	34
6.3.1.	Expresión de PGC-1 α en el tejido adiposo	34
6.3.2.	Expresión de UCP1 en el tejido adiposo	35
7.	Discusión	38
7.1.	Efectos del sulfuro de hidrogeno sobre los niveles de adiponectina en el tejido adiposo	38
7.2.	Efectos del sulfuro de hidrogeno en la expresión proteica de marcadores de pardeamiento	40
8.	Conclusiones	43
9.	Perspectivas	44
10.	Referencias	45
	ANEXO 1. Composición de la dieta normal y la dieta rica en grasas	58
	ANEXO 2. Actividades académicas.	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales causas de muerte en adultos 20204

Figura 2. La adiponectina muestra cuatro diferentes formas de distinto peso molecular11

Figura 3. Representación esquemática de las vías de señalización de la adiponectina y el entrecruzamiento con la vía de señalización de la insulina13

Figura 4. Representación esquemática de las vías enzimáticas para la síntesis del H₂S.....17

Figura 5. Mecanismos de reacción propuestos para la formación de persulfuros..18

Figura 6. Diseño experimental.25

Figura 7. Concentraciones de adiponectina en tejido adiposo.....30

Figura 8. Niveles de adiponectina en tejido adiposo ajustadas al peso del tejido adiposo.31

Figura 9. Concentración de adiponectina en suero.32

Figura 10. Efecto en la activación de AMPK α en tejido adiposo.33

Figura 11. Expresión de PGC-1 α en el tejido adiposo.....35

Figura 12. Expresión de UCP1 en el tejido adiposo.36

Figura 13. Resumen gráfico de resultados.....42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de peso corporal en adultos según IMC.....1

Tabla 2. Factores etiopatogénicos de la obesidad.....2

Tabla 3. Ejemplos de adipocinas y sus efectos en la salud y enfermedad.....7

LISTA DE ABREVIATURAS

3-MST	3-mercaptopiruvato-sulfuro transferasa
Acrp30	Proteína del adipocito relacionada al complemento 30
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	Ácido desoxirribonucleico complementario
Akt	Proteína cinasa B
AMP	Adenosin monofosfato
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
AMPK	Cinasa activada por AMP
AMPKα	Subunidad α de AMPK
ANOVA	Análisis de varianza
AAOA	Ácido aminoociacético
apM1	Transcripción 1 del gen más abundante del tejido adiposo
APPL1	Proteína adaptadora, fosfotirosina que interactua con el dominio PH y cremallera de leucina 1
APPL2	Proteína adaptadora, fosfotirosina que interactua con el dominio PH y cremallera de leucina 2
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATP	Adenosin trifosfato
BAR	Dominio NH ₂ -terminal Bin1/anfifisina/RVS167
BSA	Albúmina de suero bovino
C/EBPα	Proteínas de unión potenciadoras de CCAAT
CaMKK-β	Proteína cinasa cinasa β dependiente de Calcio/Calmodulina
CAT	Cisteína aminotransferasa
CBS	Cistationina β sintasa
CC	Control de carga
CO	Monóxido de carbono
COVID-19	Enfermedad por coronavirus del 2019
CSE	Cistationina- γ -liasa
DL-PAG	DL-Propargilglicina
DN	Dieta normal
DRG	Dieta rica en grasas
DT2	Diabetes tipo 2
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
eNOS	Sintasa de óxido nítrico endotelial
Ensanut	Encuesta nacional de salud y nutrición
FABP-4	Proteína de unión de ácidos grasos 4
FGF21	Factor de crecimiento de fibroblastos 21
GLUT4	Transportador de glucosa 4
GTPasa	Trifosfatasa de guanosina
H₂S	Sulfuro de hidrógeno
HG	Alta glucosa

HIF1α	Subunidad α del factor 1 inducible por hipoxia
HMW	Adiponectina de peso molecular alto
HRP	Peroxidasa de rábano
IL-1β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
IR	Receptor de insulina
IRS	Sustrato del receptor de insulina
LKB1	Cinasa hepática B1
LMW	Adiponectina de peso molecular bajo
LXR	Receptores X hepáticos
miARN	Micro-ARN
MAPK p38	Proteína cinasa activada por mitógeno p38
MKK3	Proteína cinasa cinasa 3 activada por mitógeno
MMW	Adiponectina de peso molecular medio
NaHS	Sulfhidrato de sodio
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud
pAMPKα	Subunidad α de AMPK fosforilada
PAQR	Receptores de progestina y adipoQ
PBS	Buffer fosfato salino
PBST	PBS con Tween
PGC-1α	Coactivador 1 α de PPAR γ
PI	Proteína de interés
PKCζ	Proteína cinasa C ζ
PLP	Fosfato de piridoxal
POMC	Proopiomelanocortina
PP2A	Proteína fosfatasa 2
PPARα	Receptor activado por proliferador de peroxisomas α
PPARγ	Receptor activado por proliferador de peroxisomas γ
PRDM16	Dominio regulador positivo que contiene a 16
PTB	Dominio de unión a fosfotirosina
PVDF	Difluoruro de polivinilideno
Rab5	GTPasa 5 relacionada con Ras en el cerebro
RT-PCR	Reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa reversa
SARS-CoV2	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave tipo 2
SDS	Dodecilsulfato de sodio
siRNA	ARN de silenciamiento o ARN pequeño de interferencia
SVF	Fracción estromal vascular
TA	Tejido adiposo
TAB	Tejido adiposo blanco
TABg	Tejido adiposo beige
TAK1	Cinasa 1 activada por el factor de crecimiento transformante β

ABREVIATURAS

TAP	Tejido adiposo pardo
TASc	Tejido adiposo subcutaneo
TAV	Tejido adiposo visceral
TBS	Tris buffer salino
TBST	TBS con Tween
TCA	Ácido tricloroacético
TNF-α	Factor de necrosis tumoral α
UCP1	Proteína desacoplante 1
UCP2	Proteína desacoplante 2

RESUMEN

Recientemente, el pardeamiento del tejido adiposo ha sido objeto de gran interés, principalmente por su capacidad para incrementar el gasto energético, prevenir el desarrollo de obesidad y diabetes tipo 2, y mejorar la sensibilidad a la insulina. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del tratamiento con sulfhidrato de sodio (NaHS) sobre el pardeamiento del tejido adiposo, así como en los niveles de adiponectina en suero y en el tejido adiposo. Para cumplir con ello, 24 ratas Wistar macho jóvenes (4 – 6 semanas) fueron divididas en 4 grupos; el primer grupo recibió tratamiento con dieta normal (DN, n=6) durante 16 semanas. Otro grupo fue tratado con una dieta rica en grasas (DRG) durante 12 semanas. Posteriormente, el grupo con DRG fue dividido en 3 subgrupos a los que se les administró, diariamente, vía i.p., durante 4 semanas los siguientes fármacos: (1) nada (DRG, n=6); (2) PBS - vehículo de NaHS (DRG + PBS; 1 mL/kg/día) y (3) donador de H₂S (DRG + Sulfhidrato de Sodio/NaHS; 5.6 mg/kg/día). Se realizó la determinación de los niveles de adiponectina en suero y en tejido adiposo mediante ensayo de ELISA. Se midió la expresión de las proteínas relacionadas con pardeamiento del tejido adiposo UCP1 y PGC-1 α , así como de la cinasa activada por AMP (AMPK) y su forma fosforilada en el tejido adiposo mediante Western Blot. La DRG redujo los niveles de adiponectina total en suero, aunque no en el tejido adiposo. Los niveles séricos y tisulares de adiponectina ajustados al peso del tejido adiposo se vieron disminuidos por el NaHS y solo en el suero por la DRG. El NaHS incrementó de una manera estadísticamente significativa la expresión de las proteínas relacionadas con pardeamiento del tejido adiposo, PGC-1 α y UCP1, así como el estado de fosforilación de AMPK (pAMPK). En conclusión, el H₂S exógeno incrementó la expresión de proteínas relacionadas con el pardeamiento del tejido adiposo como la PGC-1 α y la UCP1, a través de una vía de señalización en donde pudiera estar implicada la activación de AMPK, de una manera independiente a la adiponectina.

ABSTRACT

Recently, the browning of adipose tissue has been a subject of great interest, mainly due to its capability to increase energy expenditure, to prevent the development of obesity and type 2 diabetes, and to improve insulin sensitivity. The objective of this study was to determine the effect of sodium hydrosulfide (NaHS) treatment on proteins related with adipose tissue browning, as well as on adiponectin levels in serum and adipose tissue. To accomplish this, 24 young male Wistar rats (4-6 weeks old), were divided into 4 groups; the first group received a normal diet treatment (ND, n=6) for 16 weeks. Another group was treated with a high-fat diet (HFD) for 12 weeks. Subsequently, the HFD group was divided into 3 subgroups to which the following drugs were administered daily for 4 weeks: (1) nothing (HFD, n=6); (2) PBS - NaHS vehicle (HFD + PBS; 1 mL/kg/day) and (3) H₂S donor (DRG + Sodium hydrosulfide/NaHS; 5.6 mg/kg/day). Serum and adipose tissue adiponectin levels were determined by ELISA. Expression of the adipose tissue browning-related proteins UCP1 and PGC-1 α , as well as AMP-activated kinase (AMPK) and its phosphorylated form in adipose tissue were measured by Western Blot. HFD reduced total adiponectin levels in serum, although not in adipose tissue. Serum and tissue levels of adipose tissue weight adjusted adiponectin were decreased by NaHS and only in serum by the HFD. NaHS significantly increased the expression of browning-related proteins, PGC-1 α and UCP1, as well as the phosphorylation state of AMPK (pAMPK). In conclusion, exogenous H₂S increased the expression of browning-related proteins, such as PGC-1 α and UCP1, through a signaling pathway in which AMPK activation could be involved, in an adiponectin-independent manner.

1. Introducción

1.1. Obesidad

La obesidad es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como “una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud” (WHO, 2021). El grado de obesidad se manifiesta en el peso corporal, por lo que, de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC), puede clasificarse en peso normal, sobrepeso y obesidad (Tabla 1). El IMC es calculado mediante la división del peso corporal en kilogramos (kg) entre el cuadrado de la estatura en metros (m) (WHO, 2021).

Tabla 1. Clasificación de peso corporal en adultos según IMC (WHO, 2021).

Clasificación	IMC (kg/m²)
<i>Peso Normal</i>	18.50 a 24.99
<i>Sobrepeso</i>	25.00 a 29.99
<i>Obesidad</i>	≥ 30.00
<i>Obesidad grado 1</i>	30.00 a 34.99
<i>Obesidad grado 2</i>	35.00 a 39.99
<i>Obesidad grado 3</i>	≥ 40.00

La obesidad es un problema de salud mundial cuya prevalencia va en aumento cada día, ya que, durante las últimas 5 décadas, su prevalencia casi se ha triplicado. De acuerdo con datos de la OMS en el 2016, el 39% de la población mundial tenía sobrepeso (aproximadamente 1900 millones de personas) y el 13% eran obesos, esto es, alrededor de 650 millones (WHO, 2021). Además, la Federación Mundial de Obesidad, proyecta que para el 2025 existirán alrededor de 2700 millones de adultos con sobrepeso y más de 1000 millones con obesidad (Federation, 2019). En México, según datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 (Ensanut 2020), existe una prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos

mayores de 20 años del 76% (32.8 millones) en mujeres y de 72.1% (28.9 millones) en hombres (INSP, 2021).

La etiopatogenia de la obesidad deriva de múltiples factores, que pueden ser de origen primario como factores genéticos o algunos síndromes (p. ej. Prader-Willi). También puede deberse a factores secundarios o adquiridos que van desde el sedentarismo o una nutrición hipercalórica, hasta patologías derivadas de otros aparatos y/o sistemas y manifestarse como consecuencia de enfermedades endócrinas, psiquiátricas o de origen farmacológico (Tabla 2).

Tabla 2. Factores etiopatogénicos de la obesidad (Modificado de Apovian, 2016).

Causas primarias		Causas secundarias	
Genéticas		Neurológicas	Lesión cerebral, tumor cerebral, radiación craneal, obesidad hipotalámica.
Trastornos monogénicos	Mutación del receptor de Melanocortina-4, déficit de leptina, déficit de POMC.		
Síndromes	Prader-Willi, Bardet-Biedl, Cohen, Alström, Froehlich.	Endócrinas	Hipotiroidismo, síndrome de Cushing, déficit de hormona del crecimiento, pseudohipoparatiroidismo.
		Psiquiátricas	Depresión, trastornos de la conducta alimentaria.
		Farmacológicas	Antidepresivos tricíclicos, anticonceptivos, antipsicóticos, antiepilépticos, glucocorticoides.

POMC: Proopiomelanocortina.

Debido a lo anterior, en la actualidad, existe un esfuerzo importante por buscar nuevos blancos terapéuticos para desacelerar el incremento de esta condición y, con ello, la presencia de las múltiples enfermedades asociadas a ella, como la hipertensión arterial, diabetes mellitus y algunos tipos de cáncer (Smith & Smith, 2016), que ponen en riesgo la calidad y esperanza de vida de quienes las padecen.

1.1.1. Comorbilidades de la obesidad

Como se describió previamente, la obesidad es un padecimiento con causas multifactoriales; sin embargo, el resultado de esta acumulación excesiva de grasa en el cuerpo es capaz de desencadenar alteraciones en otros niveles. La obesidad se asocia con múltiples enfermedades, incluidas la diabetes mellitus tipo 2 (DT2), enfermedades cardiovasculares (p. ej. hipertensión, infarto agudo al miocardio, enfermedad cerebrovascular), esteatosis hepática, apnea obstructiva del sueño, enfermedades osteoarticulares y algunos tipos de cáncer (p. ej. útero, vejiga, colon, hígado, riñón) (Hu, 2008; Smith & Smith, 2016).

En México, de las 10 principales causas de muerte en el 2020, las enfermedades del corazón se encontraban en primer lugar, en tercer sitio, la diabetes mellitus, seguida de los tumores malignos, y como sexta y séptima causas se encontraban las enfermedades del hígado y las enfermedades cerebrovasculares, respectivamente (Figura 1) (INEGI, 2020). Es de notarse que derivado de la pandemia generada por el virus del SARS-CoV2, la enfermedad asociada a éste, COVID-19, se encuentra como la segunda causa de muerte y hay evidencia de un vínculo estrecho entre la obesidad y sus comorbilidades con ese padecimiento (Zhou et al., 2021).

Resulta importante hacer notar que el incremento constante en la prevalencia de la obesidad, sus comorbilidades y su asociación con las principales causas de muerte, refuerzan la necesidad de entender, paliar, frenar y, de ser posible, revertir este padecimiento.

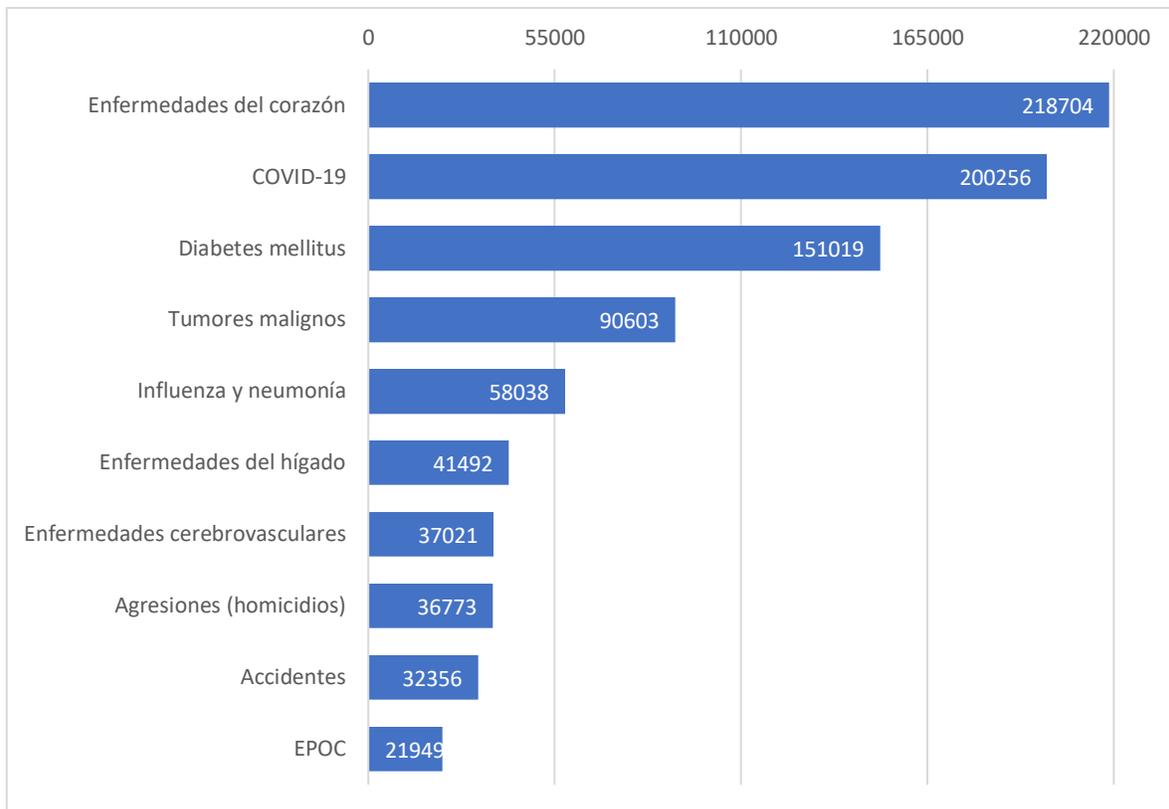


Figura 1. Principales causas de muerte en adultos 2020, número total de fallecimientos por causa (Tomado de INEGI, 2020).

1.2. El tejido adiposo

Para lograr entender la fisiopatología de la obesidad y la relación con sus distintas comorbilidades, es necesario enfocar la atención en el tejido adiposo. Éste es un tipo de tejido especializado de origen mesenquimatoso, compuesto por células agrupadas capaces de almacenar lípidos, denominadas adipocitos (Ross et al., 2004).

El tejido adiposo puede dividirse de acuerdo con su fenotipo, en tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo pardo (TAP) (Britton et al., 2013; Virtanen et al., 2009). El primero, representa a la mayor parte de la masa de tejido adiposo en los humanos, mientras que el TAP, conforma el ~4.3% del total de masa grasa en adultos y se localiza principalmente en la región perirrenal, perivascular, cuello,

mediastino y supraclavicular (Leitner et al., 2017; Ross et al., 2004). El TAB es el responsable del almacenamiento de energía en forma de triglicéridos y funciona como suministro energético para tejidos periféricos a través de la liberación regulada de ácidos grasos libres (Oikonomou & Antoniades, 2019). El TAP es un tejido adiposo con una tasa metabólica alta, involucrado en la termogénesis (Ricquier & Bouillaud, 2000).

Diversos estudios han demostrado que el tejido adiposo presenta un fenómeno de convertibilidad, remodelación o plasticidad, siendo capaz de cambiar entre los distintos fenotipos dependiendo del estímulo recibido (Cinti, 2017). En modelos animales con obesidad y en humanos con obesidad mórbida se ha observado que el TAP reduce su actividad o se encuentra completamente inactivo comparado con sujetos sin obesidad (Oikonomou & Antoniades, 2019; Vijgen et al., 2011). Por otro lado, existe una forma inducible de TAB, denominado tejido adiposo beige (TABg) o brite (**brown in white**), que puede encontrarse de forma diseminada en depósitos de TAB y su diferenciación ocurre como respuesta a la exposición al frío y modulación farmacológica del TAB, teniendo funciones similares a las del TAP en su gasto energético elevado y en la termogénesis (Cinti, 2017; Oikonomou & Antoniades, 2019).

Además de sus funciones en el almacenamiento y suministro energético, así como en la termogénesis, el tejido adiposo es capaz de secretar diversas sustancias dándole su función característica como órgano endócrino (Trayhurn & Wood, 2004).

1.2.1. Función endócrina del tejido adiposo

El tejido adiposo es considerado un órgano endócrino por su facultad para producir y secretar hormonas y factores de señalización capaces de ejercer efectos autócrinos, parácrinos y/o endócrinos (Lehr et al., 2012; Oikonomou & Antoniades, 2019). Dentro de estas hormonas se encuentran las denominadas adipocinas (Funahashi et al., 1999), con efectos a distintos niveles como: (1) la regulación del

apetito y saciedad a nivel cerebral; (2) la regulación de la presión sanguínea y la función endotelial o la contractilidad del músculo cardíaco en el aparato cardiovascular; (3) la modulación de la respuesta inflamatoria, en la atracción de células inmunes o en la cicatrización de heridas en el sistema inmune; y (4) la modulación del almacenamiento de triglicéridos, en la sensibilidad a la insulina, en la secreción de adipocinas o en el pardeamiento en el mismo tejido adiposo (Blüher, 2013; Fasshauer & Blüher, 2015).

El número de adipocinas conocidas hasta el momento rebasan las 600 y algunas de ellas pueden verse en la Tabla 3. El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) fue descrito como la primera adipocina en 1993 (Hotamisligil et al., 1993). El TNF- α es una citocina pro-inflamatoria elevada en la obesidad. Un año después, otra adipocina de gran relevancia fue descubierta: la leptina (Zhang et al., 1994). Ésta, en conjunto con la adiponectina, desempeñan un papel importante en la saciedad, el peso corporal y la sensibilidad a la insulina (Lehr et al., 2012). La adiponectina ha demostrado también estar vinculada con efectos sobre el pardeamiento del TAB.

Dependiendo del estado en el que se encuentre el adipocito será el perfil secretor de adipocinas (Fasshauer & Blüher, 2015), esto es, según el fenotipo y los estímulos agudos o crónicos a los que se haya visto expuesto, expresará distintos perfiles transcripcionales y secretará mediadores específicos.

En la obesidad existe un aumento en el tamaño o hipertrofia del adipocito, lo que resulta en adipocitos cargados de lípidos, inflamación del tejido adiposo, fibrosis, hipoxia, estrés oxidante y una eventual muerte de esas células (Oikonomou & Antoniades, 2019; Rutkowski et al., 2015).

Tabla 3. Ejemplos de adipocinas y sus efectos en la salud y enfermedad (Modificado de Fasshauer & Blüher, 2015)

Adipocina	Efecto
Adiponectina	Mejora sensibilidad a la insulina, antidiabética, antiaterogénica y antiinflamatoria
Apelina	Inhibe la secreción de insulina
Quemerina	Proteína quimioatrayente, regula adipogénesis
FABP-4	Asociada con riesgo incrementado para DT2
FGF21	Estimula la captura de glucosa en los adipocitos; incrementa la termogénesis, el gasto energético y la disposición de grasa; mejora el metabolismo de glucosa y lípidos.
IL-1β, IL-6 y TNF-α	Citocinas proinflamatorias.
Leptina	Señal de saciedad; regula el apetito, gasto energético, fertilidad y otros procesos. Afectada en obesidad.

Esta hipertrofia adipocitaria crónica, va disminuyendo la capacidad de oxigenación del tejido por un efecto de rarefacción vascular, que consiste en la disminución de la densidad de los capilares por volumen de tejido (Oikonomou & Antoniades, 2019; Paavonsalo et al., 2020). La baja disponibilidad de oxígeno incrementa la expresión del factor de transcripción HIF1 α . Esto ha demostrado estar relacionado con efectos profibróticos y proinflamatorios (Halberg et al., 2009), situación que incrementa la secreción de adipocinas involucradas con la fisiopatología de la obesidad y sus comorbilidades, disminuyendo la disponibilidad de las protectoras como la adiponectina.

En las últimas décadas se ha mantenido un elevado interés en el TAP y en el TABg por su capacidad en contrarrestar estas alteraciones metabólicas (Kaisanlahti & Glumoff, 2019). Como se mencionó previamente, ambos fenotipos presentan la función característica de un alto gasto energético y de disipación energética en

forma de calor o termogénesis, mecanismo concebido por una fuga de protones a nivel de la cadena de fosforilación oxidativa mitocondrial, efectuado por una proteína desacoplante de la síntesis de ATP, la UCP1 (Ricquier & Bouillaud, 2000).

1.2.2. La proteína desacoplante del tejido adiposo (UCP)

La generación de calor observada en el TAP ocurre mediante el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. El TAP es rico en mitocondrias y la membrana interna mitocondrial contiene una gran cantidad de la proteína desacoplante 1 (UCP1 o *termogenina*). La UCP1 crea una ruta para el flujo de protones desde el citosol hacia la matriz mitocondrial, lo que incrementa la oxidación de los sustratos de la fosforilación oxidativa (como los ácidos grasos) generando un desacoplamiento de la producción de ATP y la obtención de energía en forma de calor (Kaisanlahti & Glumoff, 2019; Ricquier, 2017; Stryer et al., 2015).

Como se mencionó previamente, las células del TABg se encuentran en depósitos de TAB, y presentan características morfológicas como las del TAP (expresión de UCP1). El proceso de diferenciación de TAB a TABg se puede generar por diversos estímulos, como la exposición al frío o por fármacos (Than et al., 2015). Esta capacidad de cambio de un fenotipo asociado con resistencia a insulina por uno con características protectoras ha cobrado cada vez mayor interés por sus probables efectos terapéuticos en la obesidad.

1.2.3. Browning o pardeamiento del tejido adiposo

En años recientes, la capacidad de diferenciación del TAB hacia TABg (pardeamiento/browning) ha sido objeto de gran interés debido a la capacidad de incrementar el gasto energético, prevenir el desarrollo de obesidad y DT2, y mejorar la sensibilidad a la insulina como se ha observado en modelos animales (Kaisanlahti & Glumoff, 2019; Vargas-Castillo et al., 2020).

Dentro de los agentes inductores de pardeamiento implicados se encuentran aspectos físicos como la exposición al frío, los agonistas de los receptores β_3 adrenérgicos, ácidos grasos de cadena corta, factores dietéticos y compuestos orgánicos como la capsaicina y el aceite de pescado, receptores nucleares y sus ligandos como los receptores X hepáticos (LXR), miARNs, fármacos como las tiazolidinedionas o los análogos de incretinas; así como algunas adipocinas como la adiponectina, la apelina, la leptina, el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21), entre otros (Kaisanlahti & Glumoff, 2019).

El proceso de diferenciación adipogénico es orquestado principalmente por el receptor activado por el proliferador de peroxisomas γ (PPAR- γ), el cual impulsa el transcriptoma de adipogénesis junto con otros coactivadores como las proteínas de unión potenciadoras de CCAAT (C/EBP), el coactivador de PPAR- γ 1 α (PCG1 α) y la proteína con dominio regulador positivo que contiene a 16 (PRDM16) (Kaisanlahti & Glumoff, 2019). Por lo tanto, la medición de la expresión de estos factores pueden ser indicadores de diferenciación del TAB. Así mismo, la cinasa dependiente de AMP (AMPK) podría estar implicada en el proceso de diferenciación del tejido adiposo. Al respecto, en un estudio *in vitro* se observó que la apelina, una adipocina generada en el tejido adiposo, al ser administrada a cultivos de adipocitos produjo un incremento en la fosforilación de Akt y AMPK; además, el silenciamiento de AMPK con un siRNA, bloqueó los efectos previamente observados por la apelina en la expresión de PRDM16 y UCP1 (Than et al., 2015). En la siguiente sección se hablará de la adiponectina, otra adipocina de interés en el pardeamiento del tejido adiposo.

1.3. Adiponectina

La adiponectina es una proteína secretada por el tejido adiposo, por lo que es una adipocina. Consta de 244 residuos de aminoácidos, con un peso molecular de ~30 a ~300 kDa (dependiendo el oligómero formado), es codificada por el gen *AdipoQ*, y se encuentra asociada a diversas respuestas como: (1) sensibilización de insulina;

(2) polarización de macrófagos hacia su fenotipo antiinflamatorio M2; (3) efectos anti-apoptóticos en cardiomiocitos y células β -pancreáticas; (4) reducción del estrés oxidativo; y (5) termogénesis (Achari & Jain, 2017; Heydari et al., 2020; Ruan & Dong, 2016).

La adiponectina plasmática puede encontrarse en niveles de 2 – 20 $\mu\text{g/mL}$, concentraciones mayores, en comparación con los niveles de leptina o insulina (que se encuentran en el rango de los ng/mL) (Ruan & Dong, 2016). Por otro lado, se ha observado que la concentración de adiponectina presenta un dimorfismo sexual, con una relación de 2:1 en favor del sexo femenino, pudiendo esto deberse principalmente a que en hombres existen menores niveles de la forma multimérica de adiponectina (HMW ~50% de la adiponectina total en el sexo femenino vs un 25% en el sexo masculino) (Pajvani et al., 2004; Z. V. Wang & Scherer, 2016).

El primer reporte sobre la adiponectina fue en 1995. Ésta fue identificada a partir de una biblioteca de ADNc enriquecida en genes específicos de adipocitos, recibiendo el nombre en ese momento de Acrp30 (Scherer et al., 1995). Un año después, Hu y colaboradores realizaron la clonación del gen de adiponectina mediante un ensayo de presentación diferencial de ARNm por RT-PCR, refiriéndose a ella como AdipoQ (E. Hu et al., 1996). Ambos estudios fueron realizados en modelos murinos. En ese mismo año (1996), el homólogo humano fue identificado, denominándolo como apM1 (adipose most abundant gene transcript 1) (Maeda et al., 1996).

Con respecto a su estructura, en 1998 se logró su caracterización mediante cristalización (Shapiro & Scherer, 1998). La adiponectina muestra 4 formas diferentes de distintos pesos moleculares; una de bajo peso molecular (LMW, trimérica), una de peso molecular medio (MMW, hexamérica), una de alto peso molecular (HMW, multimérica 12-18 monómeros) y una isoforma pequeña que consiste únicamente del dominio globular de la proteína (Figura 2); tiene una vida media que va de los 32 min para la LMW a los 83 min para MMW y HMW (Ruan & Dong, 2016). En relación con sus distintas formas, se ha observado que el complejo

HMW es la isoforma mayormente bioactiva, contribuyendo con sus efectos en mejorar la sensibilidad a la insulina (Pajvani et al., 2004). Por otro lado, la adiponectina trimérica ha demostrado que puede reducir los niveles de glucosa en sangre al inhibir la gluconeogénesis hepática (Wang & Scherer, 2016).

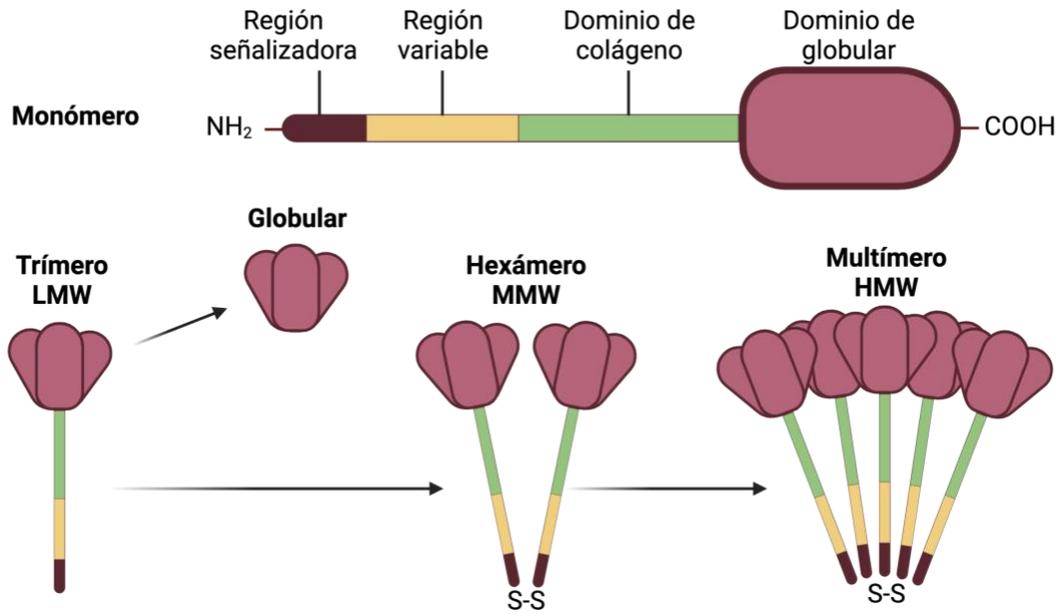


Figura 2. La adiponectina muestra cuatro diferentes formas de distinto peso molecular (Modificado de Achari & Jain, 2017).

1.3.1. Los receptores de la adiponectina

Los receptores de adiponectina, AdipoR1 y AdipoR2, pertenecen a la familia PAQR (receptores de progestina y adipoQ), poseen 7 dominios transmembrana con el extremo N-terminal citoplasmático y el C-terminal extracelular. El receptor principalmente implicado en las respuestas observadas por acción de la adiponectina es el AdipoR1, ya que existe debate en los efectos generados por parte del AdipoR2. En algunos estudios se ha observado que el AdipoR2 presenta un fenotipo similar al de AdipoR1, pero en otros estudios se ha visto que genera respuestas opuestas (Ruan & Dong, 2016).

Con respecto a la señalización del receptor de adiponectina, se han observado múltiples vías implicadas (Figura 3). En primer lugar, se encuentra la vía que depende de la proteína adaptadora APPL1. La APPL1 contiene múltiples dominios que la hacen capaz de unirse a segundos mensajeros y generar cascadas de señalización intracelular en las que también se encuentran asociadas vías de señalización de AMPK, Rab5 o MAPK p38 (Fang & Judd, 2018). En la actualidad, existen pocos datos sobre cómo puede generarse la interacción entre AdipoR1 y APPL1. Una posibilidad es que, al momento de unirse la adiponectina con su receptor, ésta estimula una fosforilación de tirosina en AdipoR1, lo que induce la unión de APPL1 de su dominio PTB (phosphotyrosine binding, unión a fosfotirosina) al extremo n-terminal del receptor. Una vez unida APPL1 a AdipoR1, se activa a la PP2A (proteína fosfatasa 2A), resultando en la desfosforilación e inactivación de la PKC ζ (proteína cinasa C ζ), situación que desfosforila a la cinasa hepática B1 (LKB1) permitiéndole translocarse del núcleo al citoplasma, y que sea capaz de activar, por ejemplo, a AMPK (Achari & Jain, 2017). Así mismo, se ha encontrado que Rab5 interactúa con el dominio BAR (NH₂-terminal Bin1/anfifisina/rvs167) del APPL1, estimulando su activación (Mao et al., 2006). Además, APPL1 es capaz de funcionar como proteína de andamiaje, formando complejos con las cinasas río arriba de la MAPK p38 (como el complejo TAK1-MKK3-MAPK p38), activando su vía de señalización (Xin et al., 2011).

En segundo lugar, la proteína APPL2 es una isoforma de la anterior y es un regulador negativo de APPL1 debido a que puede formar heterodímeros con esa proteína y evitar su unión con los receptores de la adiponectina (Ruan & Dong, 2016). Así, APPL1 y APPL2 son las proteínas reguladoras de la señalización mediada por adiponectina y su unión a sus receptores. Como tercera vía, aparece una donde participa el factor de transcripción PPAR- α , observándose incrementos en su expresión mediada por adiponectina en músculo esquelético y, con ello, un incremento en la actividad de acetil CoA oxidasa y de proteínas desacoplantes (UCPs) lo que promueve la oxidación de ácidos grasos y aumenta el gasto energético (Fang & Judd, 2018; Ruan & Dong, 2016). Por último, también se han

descrito vías asociadas a la activación de CaMKK-β por inducción de liberación de Ca²⁺ del retículo sarcoplásmico en miocitos; y vías en donde participa la ceramida hepática, que disminuye por acción de la adiponectina y esto se asocia con un incremento en la sensibilidad a la insulina (Figura 3) (Ruan & Dong, 2016).

De manera interesante, se ha observado un entrecruzamiento con vías de señalización de la insulina. La proteína APPL1 puede formar complejos con el sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) en condiciones basales. Después de una estimulación por insulina o adiponectina, el complejo es fosforilado, haciendo que sea reclutado por el receptor de insulina (IR) e iniciar la vía de señalización de la insulina incluso sin estar la insulina unida a su receptor (Z. V. Wang & Scherer, 2016).

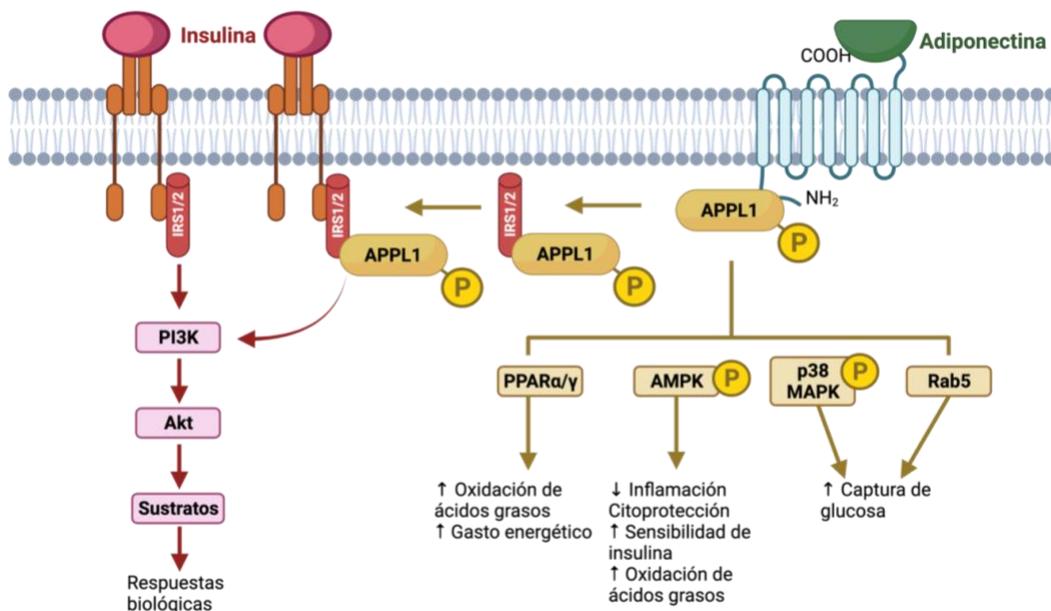


Figura 3. Representación esquemática de las vías de señalización de la adiponectina y la comunicación cruzada con la vía de señalización de la insulina. La activación de los receptores de adiponectina (AdipoR1/2) es capaz de activar una cascada de señalización en la que se ven implicados múltiples mensajeros. La adiponectina se une al extremo C-terminal de su receptor, estimulando la unión de APPL1 a su extremo N-terminal. APPL1 es capaz de activar vías de cinasas como la de PKCζ-LKB1-AMPK o de TAK1-MPKK-MAPK p38; además de activar a la

GTPasa Rab5 e incrementar la expresión de PPAR α / γ . (Modificado de Ruan & Dong, 2016).

1.3.2. Efectos fisiológicos de la adiponectina

La adiponectina puede actuar en múltiples niveles de la fisiología del organismo. Como ya se mencionó, tiene efectos antidiabéticos, antiinflamatorios, antiaterogénicos y de pardeamiento. Tales efectos han sido estudiados y pueden explicarse en algunos tejidos clave.

Por ejemplo, en el músculo esquelético se ha demostrado que la adiponectina incrementa la captura de glucosa y la oxidación de ácidos grasos a través de las vías de señalización de AMPK y MAPK p38, (Myeong et al., 2006; Yamauchi et al., 2002). A nivel cardiovascular es capaz de rescatar de las lesiones por isquemia-reperfusión generadas en cerebro al incrementar la actividad de eNOS a través de mecanismos dependientes de AMPK (Nishimura et al., 2008). En el hígado, la adiponectina: (1) mejora la sensibilidad a la insulina, (2) incrementa la oxidación de ácidos grasos, (3) modula la absorción de éstos mediante vías asociadas a PPAR α (Yamauchi et al., 2001), y (4) reduce los productos de peroxidación lipídica al restablecer la función mitocondrial (M. Zhou et al., 2008).

En el tejido adiposo, la adiponectina está involucrada en vías de diferenciación celular y adipogénesis. En un estudio en el que se utilizaron células 3T3-L1 (líneas celulares de preadipocitos tipo fibroblastos) con sobreexpresión de adiponectina, se observó un incremento de factores de transcripción relacionados con adipogénesis como C/EBP α y PPAR γ , así como en la expresión del transportador de glucosa 4 (GLUT4) lo que se asoció con una mejor sensibilidad a insulina (Fu et al., 2005). Finalmente, existe evidencia de que la adiponectina es capaz de contrarrestar el estado inflamatorio en el tejido adiposo al promover la proliferación del fenotipo antiinflamatorio de macrófagos M2 (Hui et al., 2015). En relación con sus efectos de

pardeamiento del tejido adiposo existen datos controversiales que se profundizarán en la siguiente sección.

1.3.3. Pardeamiento del tejido adiposo y adiponectina

Existe controversia en el estudio del efecto de la adiponectina sobre el pardeamiento del tejido adiposo. Por ejemplo, Qiao y colaboradores observaron que en un modelo de ratón knockout (*Adipoq*^{-/-}) había un incremento en la temperatura al exponerlos al frío, mientras que al restituir la adiponectina, esta reducía la termogénesis al disminuir la expresión de receptores β_3 adrenérgicos en el TAP (Qiao et al., 2014). En contraste, en otro estudio se encontró que la adiponectina incrementó el pardeamiento inducido por frío en TAB subcutáneo al inducir la expresión de *Ucp1* por activación de AMPK, además de promover la proliferación de macrófagos M2 en la fracción estromal vascular (SVF), situación que no se observó en ratones knockout para adiponectina en este mismo estudio (Hui et al., 2015). De esta forma, son necesarios más estudios para poder identificar y caracterizar la asociación de la adiponectina y el pardeamiento del TAB.

Recientemente, se ha observado que el gasotransmisor H₂S, sulfuro de hidrógeno, parece mejorar los niveles de adiponectina en modelos de obesidad, padecimiento en donde los niveles de esa adipocina se encuentran disminuidos (Arita et al., 1999). A continuación, se presenta información sobre el H₂S y su posible participación a nivel metabólico.

1.4. El Sulfuro de Hidrógeno (H₂S)

El sulfuro de hidrógeno (H₂S) es un gas incoloro conocido ya desde el siglo XVIII, descrito por Ramazzini solo como un gas tóxico ambiental (Szabo, 2019). Este gas es producido de forma endógena a partir de la L-cisteína generada a través de la vía de la transulfuración. No fue sino hasta 1996 que Abe y Kimura propusieron que el H₂S tiene efectos como neuromodulador por su capacidad de señalización a nivel

cerebral (Abe & Kimura, 1996). Posteriormente, este gas fue introducido a la familia de los gasotransmisores junto al óxido nítrico (NO) y al monóxido de carbono (CO) (R. Wang, 2004). Debido a su alta permeabilidad y a sus amplias funciones de señalización asociadas, es un tema de intenso estudio en la actualidad (Cirino et al., 2022; Powell et al., 2018).

1.4.1. Biosíntesis del H₂S

La síntesis del H₂S es llevada a cabo a partir del aminoácido L-cisteína mediante 3 vías enzimáticas que se muestran en la Figura 4. En el citosol, el H₂S es sintetizado a partir de dos enzimas dependientes de fosfato de piridoxal (PLP): la cistationina-γ-liasa (CSE) y la cistationina β sintasa (CBS). Además, tanto en el citosol como en la mitocondria, el H₂S es producido por la 3-mercaptopiruvato-sulfuro transferasa (3-MST) en conjunto con la cisteína aminotransferasa (CAT) (Comas & Moreno-Navarrete, 2021).

La expresión de las enzimas sintetizadoras del H₂S puede observarse en múltiples tejidos y en algunos casos las enzimas son específicas de cada uno de ellos. Por ejemplo, la actividad de la CSE se encuentra expresada principalmente en vasos sanguíneos, tejido adiposo, riñón e hígado (Comas & Moreno-Navarrete, 2021; Ishii et al., 2004) La CBS se expresa sustancialmente en el cerebro, particularmente en hipocampo, cerebelo, corteza cerebral (Zuhra et al., 2020), hipotálamo y tallo cerebral (Huerta de la Cruz et al., 2022). Por último, la 3-MST se encuentra altamente expresada en las células cardíacas, cerebro, hígado y riñón (Cao et al., 2019).

La acumulación del sulfuro de hidrógeno puede resultar tóxica en el organismo (concentraciones mayores a 300 ppm) y, actualmente, la vía catabólica de este gasotransmisor ha sido poco estudiada. En algunos estudios se han descrito 3 principales vías catabólicas: oxidación, metilación y a través de la exhalación (Cao et al., 2019; Cirino et al., 2022).

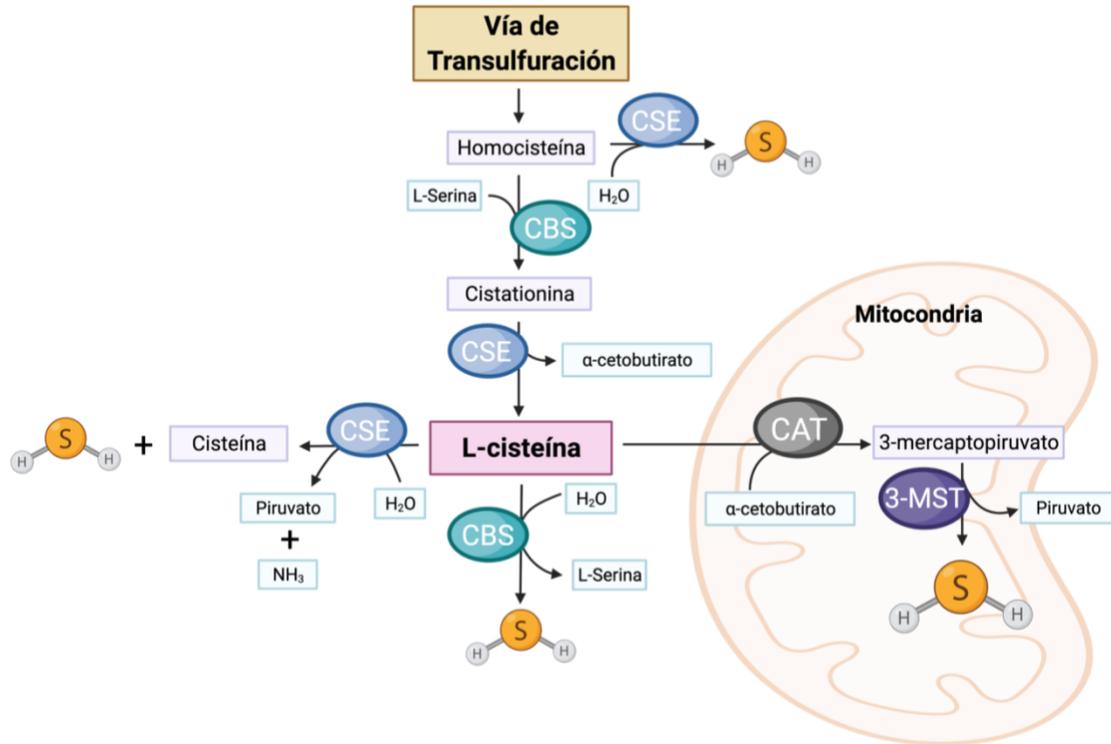


Figura 4. Representación esquemática de las vías enzimáticas para la síntesis del H₂S. La vía de la transulfuración es clave en la generación de varios metabolitos sulfurados como la L-cisteína. La homocisteína proveniente del ciclo de la transmetilación pasa por una reacción de condensación con L-serina llevada a cabo por la CBS, formando a la cistationina. Posteriormente, la cistationina sufre de hidrólisis por acción de la CSE, generando a la L-cisteína. Luego, en el citosol, la L-cisteína puede ser catabolizada tanto por la CSE, como por la CBS; o en la mitocondria por acción de la CAT y la 3-MST para la síntesis del H₂S (Modificado de Comas & Moreno-Navarrete, 2021).

1.4.2. El sulfuro de hidrógeno actúa a través de la persulfuración

Se ha propuesto a la persulfuración de proteínas como una de las vías de señalización generadas por el H₂S, esto mediante la modificación postraduccional en los grupos tioles (-SH) de los residuos de cisteína en persulfuros (-SSH) (Filipovic et al., 2018). Esta reacción de persulfuración es capaz de alterar la estructura, función, estabilidad e interacciones de una proteína (Filipovic et al., 2018; Mustafa

et al., 2010). Ciertamente el H₂S no puede reaccionar directamente sobre los grupos tioles (-SH) de las proteínas, sino que este grupo debe de estar previamente oxidado como grupo de ácidos sulfénicos (-SOH), grupo de nitrosotioles (-SNO) derivado de la nitrosilación, o con los puentes disulfuro de las proteínas (-S-S-) (Filipovic, 2015, Figura 5).

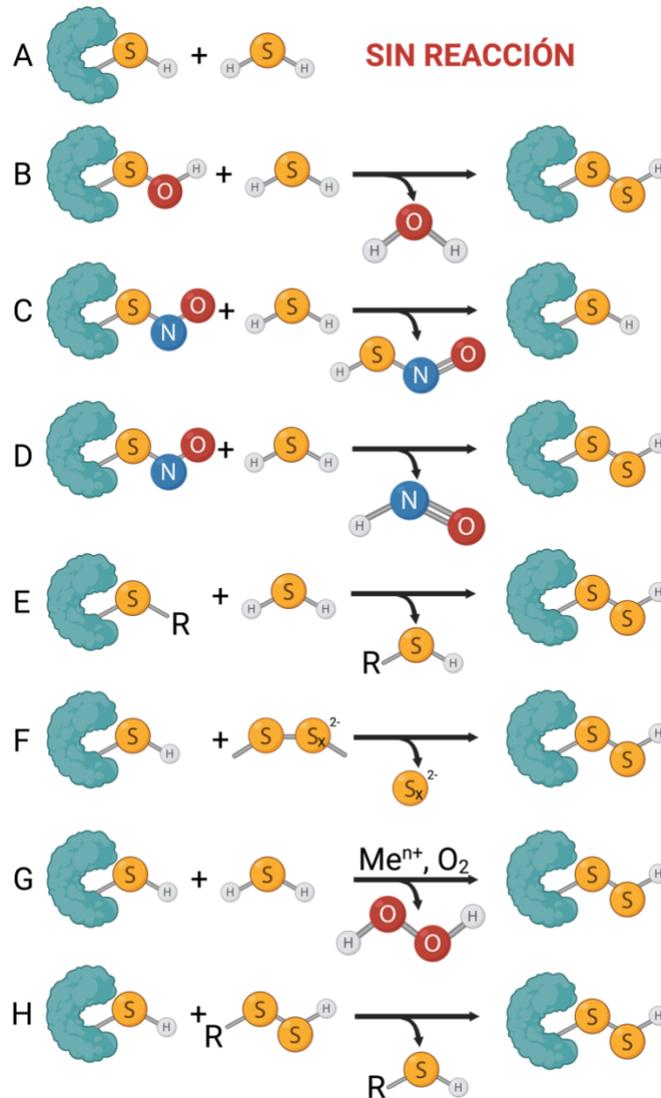


Figura 5. Mecanismos de reacción propuestos para la formación de persulfuros. (A) No es posible una reacción directa entre tioles proteicos y H₂S, pero (B) el H₂S sí puede reaccionar con ácidos sulfénicos. (C) Reacciones de cisteínas S-nitrosiladas con H₂S que pueden derivar en la formación de HSNO o (D) proteínas persulfuradas dependiendo del entorno proteico que rodea al grupo tiol. (E) El H₂S puede reaccionar con puentes disulfuro existentes inter- o intramoleculares. (F) Los

polisulfuros (SS_x^{2+}) pueden reaccionar directamente con tioles proteicos y generar persulfuración. (G) Los centros metálicos (Me^{n+}) pueden actuar como oxidantes para la formación de persulfuros a partir de H_2S y tioles de proteínas. (H) Los persulfuros podrían servir como portadores de sulfuro de hidrógeno y participar en la reacción de "trans-S-sulfhidración" (modificado de Filipovic, 2015).

1.4.3. H_2S y su relación con la obesidad

El H_2S desempeña un papel importante en la obesidad y en sus enfermedades asociadas. Por ejemplo, se ha observado una correlación positiva entre los niveles plasmáticos de cisteína y obesidad (El-Khairy et al., 2003). Los niveles de cisteína se han asociado con una disminución en la tasa metabólica y un incremento en la adiposidad en modelos murinos (Elshorbagy et al., 2012). Por otro lado, se ha observado una correlación negativa entre los niveles de H_2S y adiposidad (Whiteman et al., 2010), efecto asociado probablemente con una reducción en la expresión de sus enzimas sintetizadoras tanto en TAB como en TAP (Katsouda et al., 2018).

El H_2S es producido principalmente en el tejido adiposo epididimal, perirrenal y en el TAP; casi el 80% de su producción se debe a la acción de la CSE como su ruta de síntesis principal (Beltowski & Jamroz-Wisniewska, 2017). Sin embargo, existe controversia sobre el papel que desempeña el H_2S en este tejido. Por ejemplo, se ha sugerido como un regulador metabólico relacionado con la sensibilidad a la insulina y la captura de glucosa. Al respecto, en un estudio en el que se utilizaron cultivos de adipocitos de rata, se observó que el H_2S inhibió el efecto de la insulina basal (insulina en niveles fisiológicos), así como la captura de glucosa, mientras que la administración de inhibidores de la CSE contrarrestó este efecto (Feng et al., 2009). En contraste, en otro estudio se observó un incremento en la captación de glucosa en adipocitos 3T3-L1 con la administración de un donador de H_2S , efecto asociado al incremento de la actividad de PPAR γ mediante persulfuración de C139 (Cai et al., 2016).

En algunos estudios se ha observado que el H₂S puede mejorar los niveles de adiponectina. Pan y colaboradores observaron en cultivos de células 3T3-L1 tratadas con concentraciones de alta glucosa (HG) una disminución en los niveles de adiponectina; mientras que la administración con un donador de H₂S (sulfhidrato de sodio, NaHS) revirtió estos efectos (Pan et al., 2019). En otro estudio realizado en un modelo murino con cardiomiopatía inducida por dieta rica en grasas (DRG), otro donador de H₂S, el SG-1002, restableció de manera significativa los niveles de adiponectina que se habían visto alterados por la DRG (Barr et al., 2015). Estos resultados sugieren que existe una correlación positiva entre la administración de un donador de H₂S y los niveles de adiponectina a nivel celular y en plasma. Recientemente se demostró que la administración i.p. de Na₂S, un donador de sulfuro de hidrógeno, produjo un aumento de las concentraciones plasmáticas de glicerol y de ácidos grasos no esterificados sugiriendo que el H₂S estimula la lipólisis (Bełtowski & Wiórkowski, 2022).

1.4.4. Pardeamiento del tejido adiposo y H₂S

Se ha estudiado también la relación que pudiera tener el H₂S en el pardeamiento del tejido adiposo; sin embargo, también existe controversia al respecto. Así, se ha sugerido que el H₂S guarda relación con la adipogénesis. En un estudio en el que se utilizaron células 3T3-L1 a las que se les dio tratamiento con donadores de H₂S (NaHS o GYY4137), se observó que el tratamiento generó un aumento en la expresión de marcadores tempranos de adipogénesis como el PPAR- γ y la C/EBP- α . Además, cuando se administraron los inhibidores de las enzimas CBS (ácido aminooxiacético, AAOA) y de la CSE (DL-propargilglicina, DL-PAG) durante la diferenciación de 3T3-L1, se redujo la expresión de estos biomarcadores de adipogénesis (Tsai et al., 2015). Estos resultados sugieren que la producción de H₂S favorece la adipogénesis y que la supresión de su síntesis inhibe el proceso adipogénico. Por otro lado, en 2 estudios diferentes en los que se analizaron algunos compuestos sulfurados derivados del ajo (ajoeno y dialil trisulfuro); se

observó que, al administrarlos en cultivos de 3T3-L1, se redujo la expresión de los biomarcadores antes mencionados, sugiriendo una supresión de la adipogénesis (Ambati et al., 2008; Lii et al., 2012).

Además, un estudio sugiere que el H₂S controla la expresión de proteínas desacoplantes mitocondriales. Lu y colaboradores observaron efectos neuroprotectores al administrar NaHS en un modelo animal para enfermedad de Parkinson, resultado asociado a una disminución del estrés oxidante por acción de la UCP2. Dichos efectos, pudieron ser corroborados al observar que las respuestas protectoras del donador de H₂S eran abolidas ante el knockout de *Ucp2* (Lu et al., 2012). Esto sugiere la posibilidad de que el H₂S puede tener efectos en la expresión de otras proteínas desacoplantes como la UCP1, aunque actualmente no existen estudios al respecto.

2. Justificación

La obesidad cada vez adquiere mayor relevancia por las múltiples implicaciones que tiene sobre la salud. Esta condición está asociada con un gran número de enfermedades capaces de reducir la calidad de vida de quien las padece e incrementar el riesgo de muerte. Es por ello, que surge la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas para su manejo. El H₂S, a bajas concentraciones, puede tener efectos benéficos a distintos niveles, como a nivel cerebral, cardiovascular y hepático, entre otros. Una ventana terapéutica podría abrirse al estudiar el papel que desempeña el H₂S como regulador de la adipogénesis, ya que los hallazgos podrían usarse para evitar el cambio que la obesidad induce en el secretoma del tejido adiposo, logrando el restablecimiento de sus funciones. Durante ese análisis, podría caracterizarse también el posible papel del H₂S en el pardeamiento del tejido adiposo.

Con los antecedentes presentados, la pregunta que pretende abordar esta tesis es la siguiente:

¿Qué efecto tendrá la administración de un donador de H₂S en los niveles de adiponectina, así como en la diferenciación y pardeamiento del tejido adiposo de ratas con obesidad inducida por dieta rica en grasas?

3. Hipótesis

- La administración de un donador de H₂S prevendrá la disminución en los niveles de adiponectina e inducirá la diferenciación y el pardeamiento del tejido adiposo de ratas con obesidad inducida por dieta rica en grasas.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

- Determinar el efecto de un donador de H₂S en la diferenciación y pardeamiento del tejido adiposo, así como en los niveles de adiponectina en el tejido adiposo.

4.2. Objetivos específicos

1. Determinar los niveles de adiponectina en el tejido adiposo y suero de ratas en los grupos con DN y DRG, así como los grupos tratados con DRG más el vehículo de NaHS (PBS) y DRG tratados con NaHS.
2. Determinar la expresión proteica de PGC-1 α , UCP-1, AMPK α total y su forma activa (p-AMPK α) en tejido adiposo de ratas mediante Western Blot en el grupo DN y en los grupos con DRG, DRG + PBS y DRG + NaHS.

5. Materiales y Métodos

5.1. *Modelo animal*

De acuerdo con el principio de las tres R's (reemplazar, reducir y refinar) para el uso de animales de experimentación en investigación (Prescott & Lidster, 2017), se buscó reducir el número de animales, ocupando el tejido adiposo obtenido de los animales utilizados en dos proyectos en el laboratorio (Gomez, 2022), corroborándose que las manipulaciones realizadas a dichos animales no afectarían las determinaciones a realizar, ni los resultados del presente proyecto. Para el modelo animal, se utilizaron 24 ratas Wistar macho jóvenes (4-6 semanas), con un peso inicial de 220-300 g. Los animales fueron alojados bajo condiciones de humedad y temperatura controladas (50% HR, 22 ± 1 °C), con periodos de luz/oscuridad 12/12 h, alimento de acuerdo con su tratamiento y agua *ad libitum*.

Todos los procedimientos fueron realizados siguiendo los lineamientos establecidos por el Comité de Ética Institucional (CICUAL) del CINVESTAV (0102-14), por el Comité de Investigación y CICUAL del INP (038-2018); así como lo establecido en la Norma Oficial Mexicana sobre Especificaciones y Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) y la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de Estados Unidos de América (Garber et al., 2011).

5.2. *Diseño Experimental*

Los animales fueron divididos de forma aleatoria en 4 grupos (n=6 por grupo). El primer grupo control, recibió tratamiento con dieta normal (DN). Los otros 3 grupos fueron tratados con una dieta rica en grasas (DRG) durante 12 semanas. Las características de la composición de las dietas se pueden consultar en el Anexo 1. A partir de la semana 12 se inició la administración de fármacos diariamente durante 4 semanas, de acuerdo con el siguiente diseño experimental: Grupo 1) sin

MATERIAL Y MÉTODOS

tratamiento (DN, control), grupo 2) sin tratamiento (DRG, control con dieta rica en grasas), grupo 3) PBS – vehículo de NaHS (DRG + PBS; 1 mL/kg) y grupo 4) donador de H₂S (DRG + Sulfhidrato de Sodio/NaHS; 5.6 mg/kg) en animales con dieta rica en grasas. Cada semana a partir de la semana 0 se midió el peso corporal en todos los animales. Al final del tratamiento (semana 16) se midió nuevamente el peso corporal y fueron sacrificadas mediante sobredosis con pentobarbital, posteriormente, se realizó la recolección de las muestras de tejido adiposo perirrenal y retroperitoneal para su análisis (Figura 6).

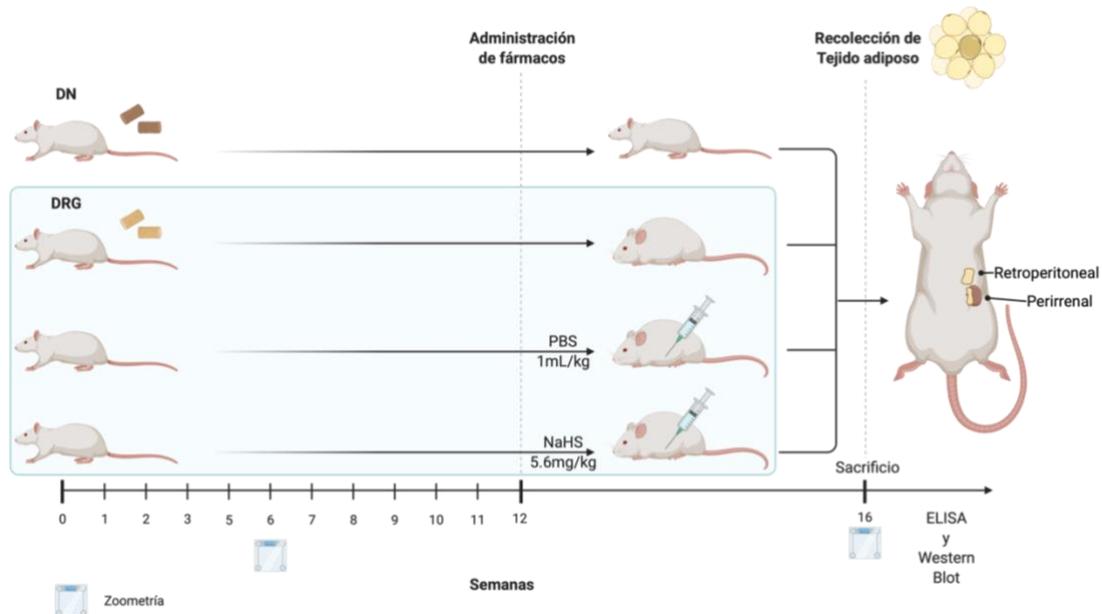


Figura 6. Diseño experimental. Los animales fueron divididos en 4 grupos de acuerdo con su tratamiento (n=6 por grupo). Durante 16 semanas se les alimentó con dieta normal (DN) o con una dieta rica en grasas (DRG, recuadro azul). A partir de la semana 12, se inició la administración diaria de los distintos compuestos: (1) Buffer de fosfatos, PBS (grupo 3, vehículo de NaHS, 1 mL/kg/día por 4 semanas) y el donador del H₂S (grupo 4, NaHS, 5.6 mg/kg/día por 4 semanas). En la semana 16 fueron sacrificadas y se realizó la recolección del tejido adiposo para su análisis.

5.3. Homogenización de tejido adiposo

Para la obtención de las muestras del tejido adiposo, una vez sacrificados los animales, se realizó una incisión longitudinal abdominal en línea alba para la

extracción del tejido adiposo perirrenal y retroperitoneal, y se almacenó a -70°C hasta su homogenización. Para la homogenización del tejido adiposo obtenido, se utilizó buffer de lisis suplementado con inhibidores de proteasas y fosfatasa de acuerdo con lo siguiente: se preparó el buffer de lisis al volumen necesario según las muestras a homogenizar; se pesó el tejido adiposo de cada una de las muestras (~ 300 mg/muestra); se añadió el buffer de lisis y se realizó la lisis mecánica con el homogenizador; una vez homogenizadas las muestras, se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 min a 4°C ; se obtuvo el sobrenadante, se separó en alícuotas y se almacenaron a -70°C hasta su uso en la determinación de proteínas y analitos.

5.4. *Cuantificación de proteínas de tejido adiposo*

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método de Lowry, utilizando ácido tricloroacético para limpiar las proteínas de grasa (Lowry-TCA), el cual es un procedimiento de precipitación cuantitativa de proteínas que permite el análisis de soluciones proteicas muy diluidas (< 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) como en el caso del tejido adiposo (Peterson, 1977). Brevemente el procedimiento consiste en: preparación de muestras con concentraciones crecientes de albúmina sérica bovina (BSA, 1mg/mL; MP Cat. 152401) que van de 0 a 50 μL para la curva estándar y la preparación de las muestras de estudio (homogenados de tejido adiposo); se agregaron 100 μL de desoxicolato de sodio 0.4% (Sigma, Cat. D6750) a cada muestra, se mezcló y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min; se añadieron 100 μL de TCA (Merck, Cat. 196057) al 70% frío e inmediatamente después 1 mL de agua desionizada a cada muestra, se mezcló y se incubaron en hielo durante 15 min para precipitar las proteínas; posteriormente, se centrifugaron a 12000 rpm durante 15 min a 4°C ; se retiró el sobrenadante hasta que quedó únicamente el pellet precipitado; se agregó 1 mL del reactivo de Lowry a cada muestra, se mezcló y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min; se añadieron 100 μL del reactivo colorante de Folin-Ciocalteu (Sigma, Cat. F-9252), se mezcló y se dejaron incubando durante 30 min protegiendo de la luz; finalmente, en una placa de 96 pozos, se colocaron las muestras de la curva estándar y las muestras de estudio

por duplicado para leer su absorbancia mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 600 nm.

5.5. *Determinación de adiponectina*

Para medir los niveles de adiponectina en suero, se tomaron muestras de sangre de la vena caudal de los animales de estudio, después de 12 h de ayuno a las 16 semanas. Las muestras se dejaron coagular y posteriormente fueron centrifugadas para la separación del suero. Se obtuvo el suero y se almacenó a -70°C hasta su uso para la determinación de adiponectina. La medición de la concentración de adiponectina en TA se realizó con las muestras obtenidas del procedimiento de homogenización muestras. Para las muestras de suero, se siguieron las instrucciones del fabricante del kit de ELISA (Merck Millipore, Rat Adiponectin ELISA Kit, Cat: EZRADP-62K). Del mismo modo, en tejido adiposo, se midieron las concentraciones de adiponectina con un kit de ELISA (Sigma Aldrich, Rat Adiponectin ELISA Kit, RAB1136) de acuerdo con las instrucciones del proveedor.

5.6. *Análisis de la expresión de proteínas mediante Western blot*

Las muestras homogenadas fueron preparadas de acuerdo con la cantidad de proteína cuantificada, de tal manera que se utilizaron 50 μg de proteína por muestra. Primero, se prepararon las muestras utilizando 50 μg de muestra con buffer de carga 4X (proporción 1:0.5), se hirvieron a 95°C durante 4 min, se centrifugaron a 4000 rpm durante 8 segundos y se colocaron en hielo. Posteriormente, se realizó la electroforesis colocando las muestras en un gel SDS-poliacrilamida al 10% (para AMPK α , p-AMPK α y PGC-1 α) o 12% (para UCP1) dependiendo el peso molecular de la proteína de estudio, a un voltaje constante de 60 V. Ya que las muestras alcanzaron al gel separador, se incrementó a un voltaje constante de 120 V durante 2 horas. Posteriormente, se realizó la transferencia de las proteínas a una membrana de difluoruro de polivinilideno (PVDF) mediante transferencia semi-seca (Trans-Blot Semi-Dry, Bio-Rad) a un amperaje constante de 300 mA durante 30 min.

Una vez transferidas las proteínas a la membrana, esta fue bloqueada con leche en polvo reducida en grasas al 5% en TBS-Tween (TBST) al 0.1% durante 1 hora. Luego, se realizaron lavados con PBST 0.1%, para después incubar a la membrana con el anticuerpo primario de estudio: anti-Actina (control de carga, 1:2000, Sigma-Aldrich, A2103), anti- α -Tubulina (control de carga, 1:2000, Santa Cruz, SC-5286), anti-AMPK α (1:1000, Abcam, ab3770), anti-p-AMPK α (T172, 1:1000, Cell signaling, 2535), anti-PGC-1 α (1:1000, Cell Signaling, 2178), y anti-UCP1 (1:1000, Santa Cruz, SC-293418); se incubaron durante la noche. Posteriormente, se realizaron lavados con PBST 0.1% y se procedió a incubar la membrana con el anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa de rábano (HRP) durante 2 horas. Finalmente, posterior a realizar los lavados con PBST 0.1%, se agregó el sustrato enzimático con luminol para generar la reacción de oxidación que fue revelada por quimioluminiscencia en el fotodocumentador (ChemiDoc XRS+ System, Bio-Rad).

Para su análisis, se utilizó el software de Bio-Rad Quantity One. De manera breve: una vez obtenidas las imágenes en el fotodocumentador, se realizó el cálculo de las densidades de la proteína de interés (PI) de cada una de las muestras, realizando la sustracción del fondo para evitar inconsistencias en los resultados; se hizo lo mismo para la proteína de control de carga (CC); posteriormente, se identificó el CC con el mayor valor y se dividió entre cada uno de los valores de densidad de los CC restantes para obtener un valor de CC relativo; finalmente, se dividieron cada una de las densidades de la PI entre los valores de CC relativos para obtener la cantidad relativa de la PI normalizada por el CC. Para el caso de la proteína p-AMPK α , se realizaron los pasos anteriores y, además, para determinar la activación de AMPK α mediante fosforilación, se sustituyó la proteína de CC por las densidades de AMPK α total.

5.7. *Análisis estadístico*

Se analizaron los datos como la media \pm el error estándar de la media (E. E. M.). Para determinar el efecto generado por la DRG y los distintos tratamientos en los

niveles de adiponectina en el tejido adiposo y en suero, así como en la expresión de las proteínas de interés, se realizó una prueba de ANOVA de una vía, seguido de una prueba *post hoc* de Tukey; o una prueba de Kruskal-Wallis, con prueba *post hoc* de Dunn para las variables no paramétricas. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

6. Resultados

6.1. Efecto de la DRG y el NaHS sobre la concentración de adiponectina en el tejido adiposo

Los valores de adiponectina se determinaron mediante ensayo de ELISA (Figura 7). De manera inesperada, la DRG no produjo cambios significativos en las concentraciones de adiponectina con respecto a la DN. Además, el tratamiento con NaHS disminuyó significativamente la cantidad de adiponectina en el tejido adiposo cuando se comparó con la DRG ($p=0.0018$) e incluso contra lo observado con la DN ($p=0.0035$).

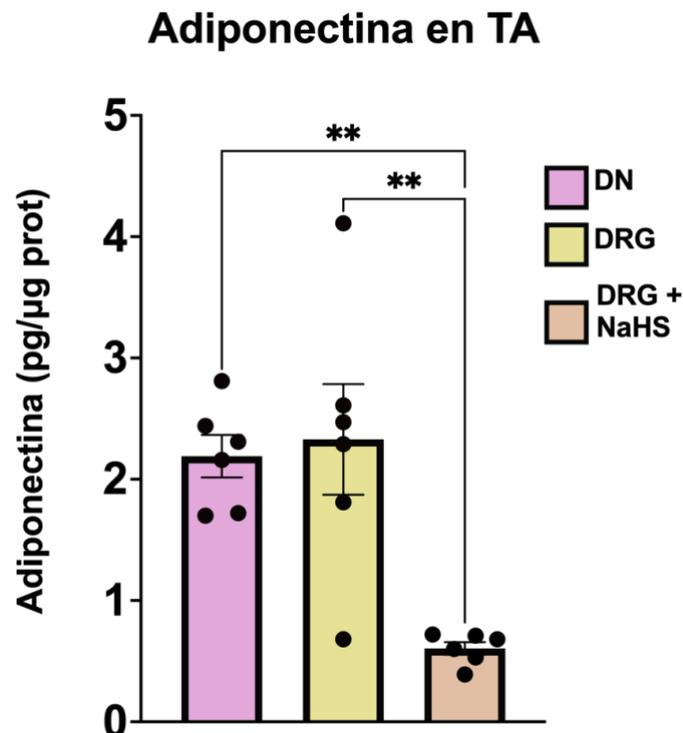


Figura 7. Concentraciones de adiponectina en tejido adiposo. Cada columna representa el valor de la media \pm el E.E.M. ($n=6$ por grupo). **, $p<0.01$. ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey. DN: Dieta normal, DRG: Dieta rica en grasas, NaHS: Sulfhidrato de sodio.

Posterior al ensayo de ELISA y con el análisis de los resultados obtenidos, se realizó un ajuste de los niveles de adiponectina, con respecto al peso del tejido adiposo. Lo anterior, debido a que durante el proceso de expansión del tejido adiposo se puede presentar tanto un crecimiento en el tamaño celular (hipertrofia), como en el número de células (hiperplasia). En la figura 8 se pueden observar los niveles de adiponectina ajustados al peso del tejido adiposo. De manera interesante, la DRG generó una disminución en la producción de adiponectina con respecto al tejido adiposo total, aunque no de una manera estadísticamente significativa ($p=0.70$ vs DN). Sin embargo, sigue llamando la atención que el grupo tratado con NaHS presentó niveles de adiponectina menores que el control ($p=0.0074$) y que la DRG, aunque en este último sin diferencias significativas ($p=0.198$).

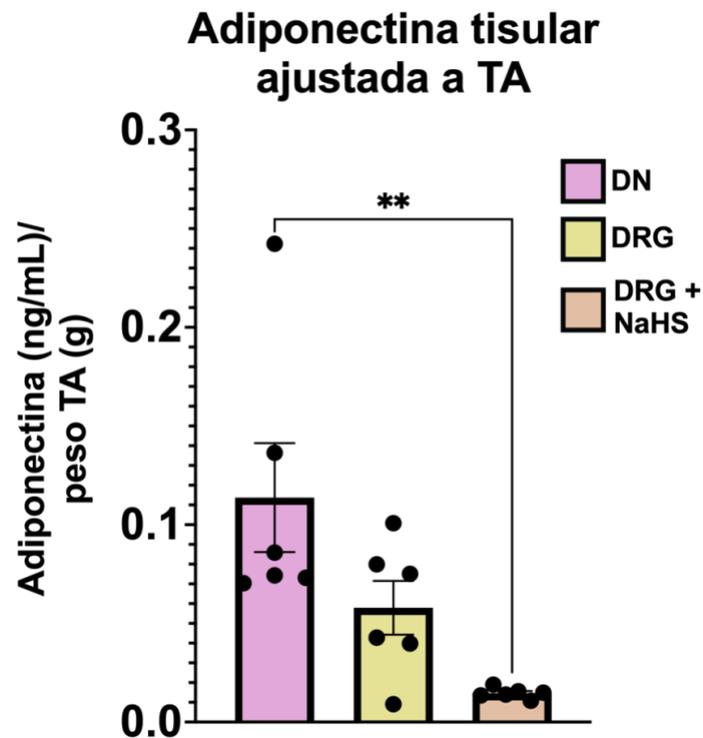


Figura 8. Niveles de adiponectina en tejido adiposo ajustadas al peso del tejido adiposo. Cada columna representa el valor de la media \pm el E.E.M. ($n=6$ por grupo). **, $p<0.01$. Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn. DN: Dieta normal, DRG: Dieta rica en grasas, NaHS: Sulfhidrato de sodio.

Nuestros resultados demostraron que el NaHS generó una disminución en las concentraciones de adiponectina a nivel tisular, contrario a lo descrito en la literatura. Sin embargo, es importante considerar que, en la mayoría de los estudios en donde se han observado los efectos benéficos del H₂S sobre los niveles de adiponectina, éstos han sido medidos sobre las concentraciones séricas de adiponectina. Por lo que, se realizó un ensayo de ELISA para medir las concentraciones de adiponectina en suero en los distintos grupos (Figura 9).

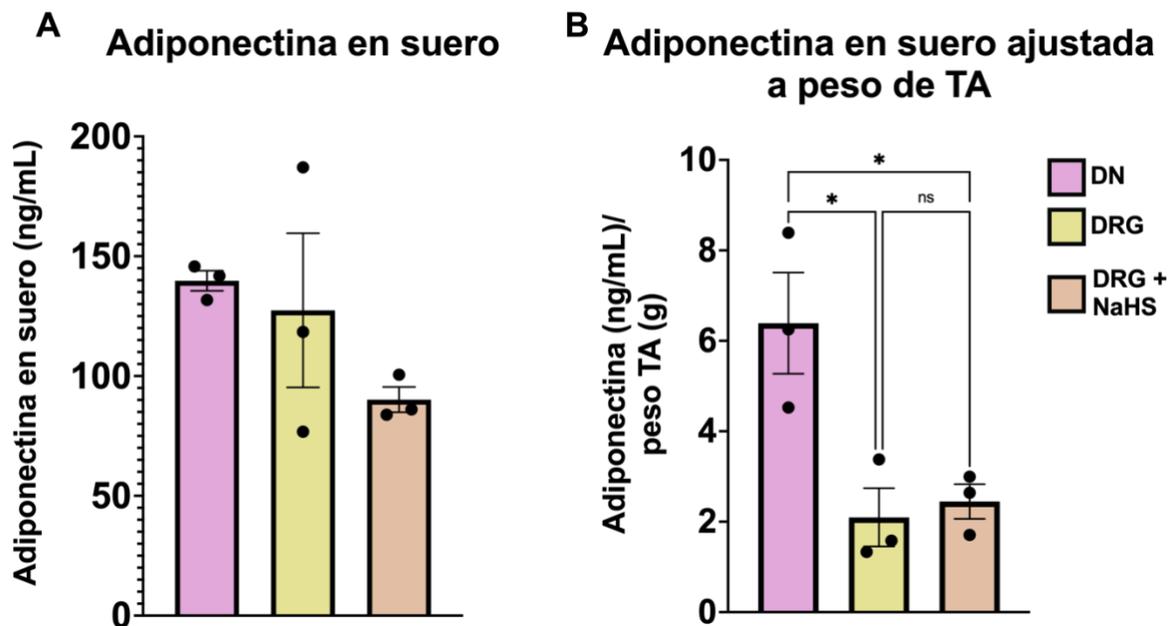


Figura 9. Concentración de adiponectina en suero. (A) adiponectina total en suero. (B) Adiponectina sérica ajustada al peso del tejido adiposo. Cada columna representa el valor de la media \pm el E.E.M. (n=3 por grupo). *, p<0.05. ANOVA de una vía con prueba post hoc de Tukey. DN: Dieta normal, DRG: Dieta rica en grasas, NaHS: Sulfhidrato de sodio.

La figura 9A muestra las concentraciones de adiponectina en suero de los distintos grupos. Se observó una disminución aparente en las concentraciones de los grupos con DRG y DRG + NaHS, aunque sin diferencias estadísticamente significativas (DN vs: DRG, p=0.89; NaHS, p=0.23. DRG vs NaHS, p=0.4). Se realizó el ajuste de los niveles de adiponectina con respecto al peso del tejido adiposo (Figura 9B). De manera interesante, al ajustar las muestras con el peso del tejido adiposo, se logró

observar una disminución en las concentraciones de adiponectina generados por la DRG, así como en el grupo tratado con NaHS (DN vs: DRG, $p=0.0185$; NaHS, $p=0.0267$). Sin embargo, cuando se comparó el grupo tratado con DRG + NaHS con el grupo con DRG, no se observaron diferencias significativas ($p=0.9459$).

6.2. Efecto de la DRG y el NaHS sobre la expresión de AMPK y su fosforilación en el tejido adiposo

La figura 10 muestra el efecto en la activación de AMPK α mediante la determinación de su estado de fosforilación en el tejido adiposo de ratas alimentadas con DN y DRG, además del efecto producido por PBS y NaHS.

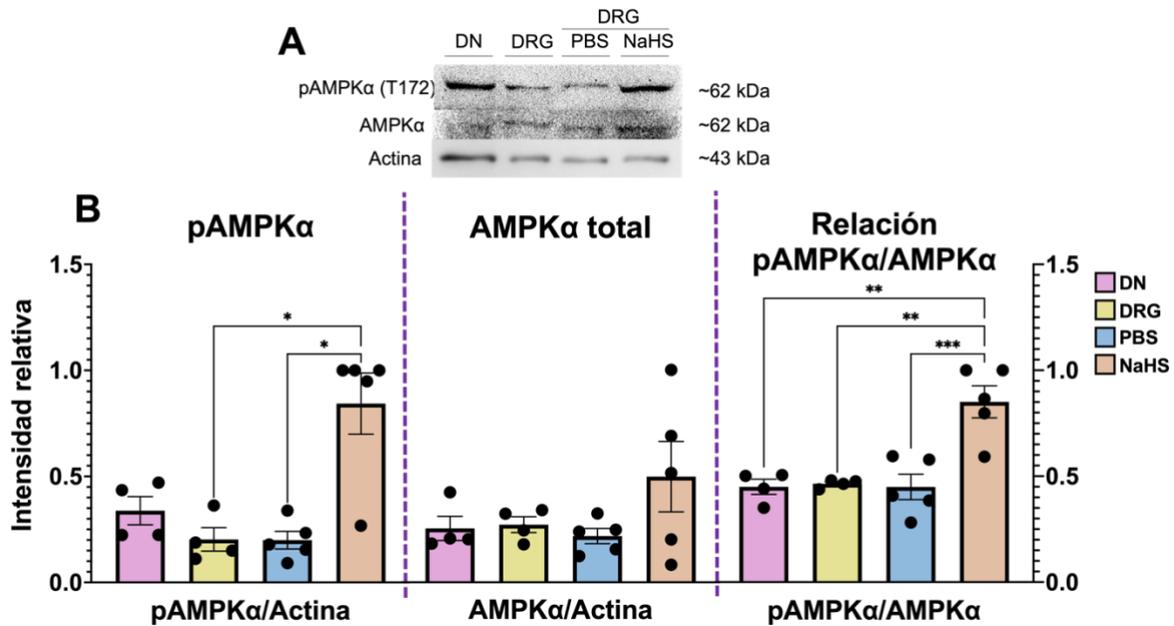


Figura 10. Efecto en la activación de AMPK α en tejido adiposo. (A) Inmunoblot representativo de la expresión proteica de AMPK α , pAMPK α (T172) y actina. (B) Análisis cuantitativo de la expresión de AMPK α fosforilada normalizada con actina (pAMPK α /Actina), AMPK α total normalizada con actina (AMPK α /Actina) y AMPK α fosforilada con respecto a AMPK α total (pAMPK α /AMPK α). Cada barra representa el valor de la media \pm el E.E.M. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$. Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn para pAMPK α /Actina y AMPK α total. ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Tukey para pAMPK α /AMPK α . DN: Dieta normal (n=4),

DRG: Dieta rica en grasas (n=4), PBS: vehículo de NaHS (n=5), NaHS: Sulfhidrato de sodio (n=5).

En la figura 10A se observa un inmunoblot representativo de la expresión de AMPK α y su forma activa (pAMPK α), con la actina como control de carga. Se realizó el análisis cuantitativo de la expresión relativa de AMPK α total en el tejido adiposo de los distintos grupos y de su forma fosforilada (Figura 10B). El análisis cuantitativo mostró que, el tratamiento con NaHS, fue capaz de incrementar la activación de AMPK α presente en el tejido adiposo de una manera estadísticamente significativa cuando se comparó con el resto de los grupos (NaHS vs: DN, p=0.001; DRG, p=0.0012; PBS, p=0.0007), y que este efecto no depende de un incremento en la expresión de AMPK α total. Demostrando que el H₂S exógeno fue capaz de incrementar la activación de AMPK α .

6.3. Efecto de la DRG y el NaHS en la expresión de proteínas asociadas con pardeamiento del tejido adiposo

6.3.1. Efecto de la DRG y el NaHS en la expresión de PGC-1 α en el tejido adiposo

En la figura 11 se ilustra la expresión de PGC-1 α en el tejido adiposo de animales con dieta normal y con obesidad inducida por DRG. Así como el efecto producido por los tratamientos con: 1) vehículo y 2) NaHS.

En la figura 11A se muestra un inmunoblot representativo en el que se evaluó la expresión de la proteína PGC-1 α , teniendo a la actina como control de carga. Se realizó el análisis cuantitativo de la expresión relativa de PGC-1 α en el tejido adiposo de los cuatro grupos (Figura 11B). En la figura 12B, se observa que el grupo control, el grupo con DRG y el grupo con vehículo, aparentemente conservaron una expresión de PGC-1 α muy similar. De manera interesante, existió un incremento significativo en la expresión de PGC-1 α para el grupo tratado con NaHS, cuando se

compara con el grupo control y con DRG + PBS (NaHS vs: DN, $p=0.0419$; PBS, $p=0.0491$), aunque sin llegar a ser significativo con el grupo de DRG ($p=0.0599$).

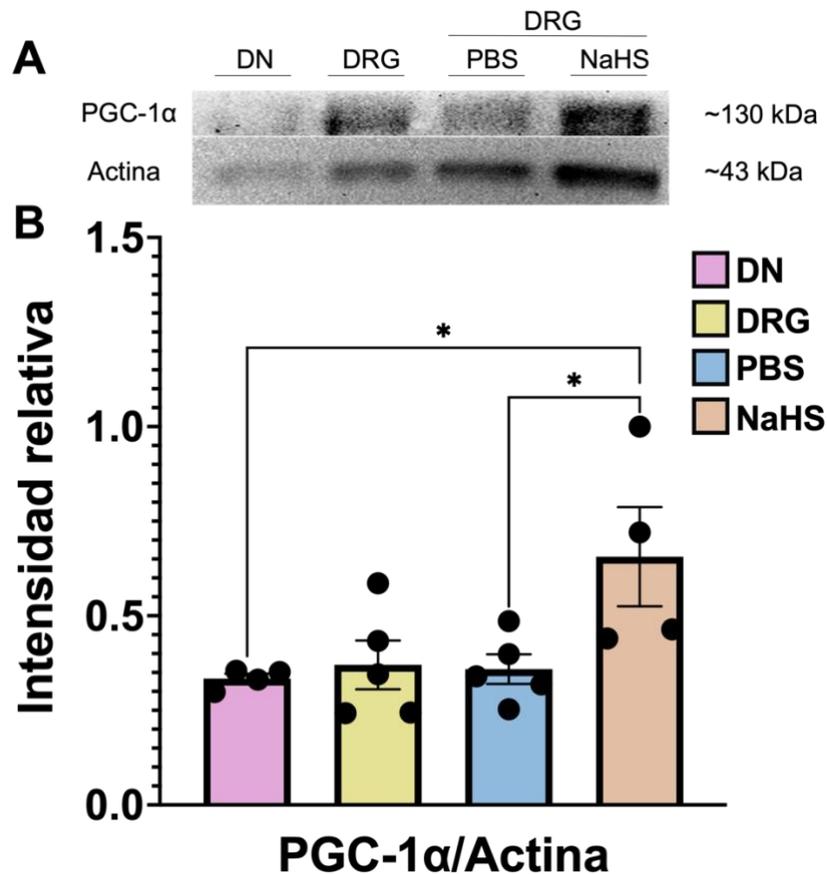


Figura 11. Expresión de PGC-1α en el tejido adiposo. (A) Inmunoblot representativo para expresión proteica de PGC-1α y Actina. (B) Análisis cuantitativo de la expresión de PGC-1α normalizada con actina (PGC-1α/Actina). Cada barra representa el valor de la media \pm el E.E.M. *, $p < 0.05$; ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Tukey. DN: Dieta normal (n=4), DRG: Dieta rica en grasas (n=5), PBS: vehículo de NaHS (n=5), NaHS: Sulfhidrato de sodio (n=4).

6.3.2. Efecto de la DRG y el NaHS en la expresión de UCP1 en el tejido adiposo

La figura 12 muestra el efecto de la DRG y los tratamientos con vehículo y NaHS, en la expresión de la proteína UCP1 en el tejido adiposo de ratas.

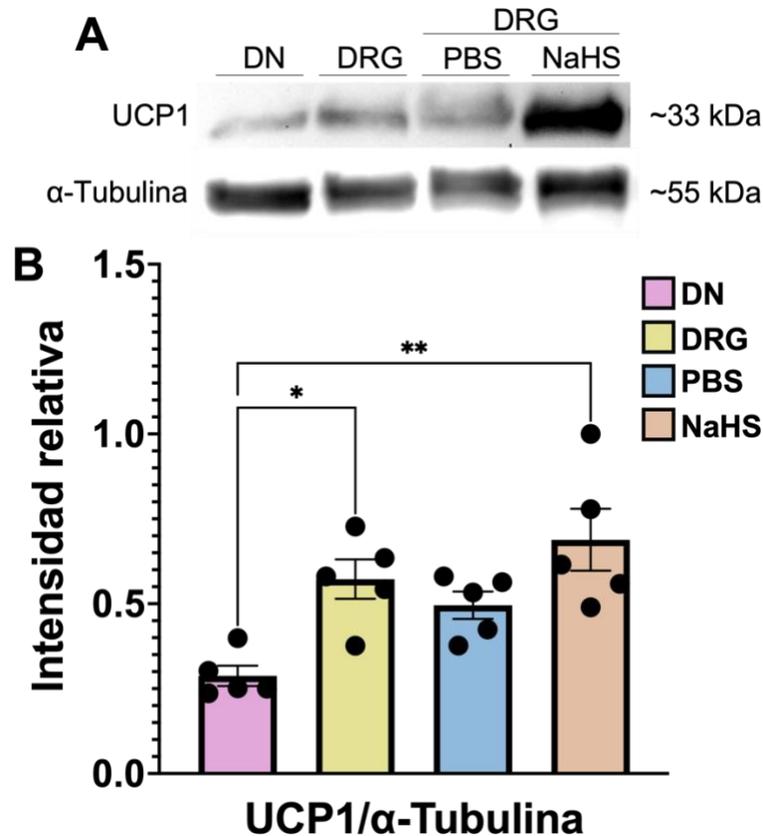


Figura 12. Expresión de UCP1 en el tejido adiposo. (A) Inmunoblot representativo para expresión proteica de UCP1 y α -Tubulina. (B) Análisis cuantitativo de la expresión de UCP1 normalizada con α -Tubulina (UCP1/ α -Tubulina). Cada barra representa el valor de la media \pm el E.E.M. (n=5 por grupo). *, p<0.05; **, p<0.01. ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Tukey. DN: Dieta normal, DRG: Dieta rica en grasas, PBS: vehículo de NaHS, NaHS: Sulfhidrato de sodio.

En la figura 12A se observa un inmunoblot representativo de una membrana de PVDF en la que se evaluó la expresión de UCP1 con α -Tubulina como control de carga. Se realizó el análisis cuantitativo de la expresión relativa de UCP1 en el tejido adiposo de los distintos grupos (Figura 12B). De manera interesante, la figura 13B mostró un incremento en la presencia de UCP1 en el tejido adiposo de los grupos con obesidad inducida por DRG (p=0.0181), aunque no de manera significativa en el vehículo (p=0.7989), cuando son comparados con el grupo control. Además, resulta sorprendente, el efecto generado por el tratamiento con NaHS, mostrando

un incremento significativo en la expresión de UCP1, cuando es comparado con el grupo control ($p=0.0011$), aunque no con el resto de los grupos (NaHS vs: DRG, $p=0.5315$; PBS, $p=0.1427$).

Es importante aclarar que, para los inmunoblots en los que fueron evaluadas AMPK α , pAMPK α y PGC-1 α , se utilizó como control de carga a la proteína Actina ya que, se realizaron las incubaciones de los distintos anticuerpos en la misma membrana de acuerdo con su peso molecular, siendo la Actina la proteína de mejor elección debido a su peso de 43 kDa; a diferencia de la Tubulina (55 kDa) que podría interferir al momento de realizar las diferentes lecturas por quimioluminiscencia con la proteína AMPK α y su forma fosforilada debido a su peso molecular de 62 kDa. De la misma manera, la Tubulina se ocupó como control de carga para los inmunoblots en los que se evaluó a UCP1 (33 kDa), y no a la Actina, para evitar interferencias.

7. Discusión

Actualmente existen múltiples modelos animales de obesidad inducida por DRG capaces de mimetizar las alteraciones metabólicas asociadas con este padecimiento, caracterizados por contener más del 10% de grasas en la dieta y con un alto contenido en grasas saturadas (Rodríguez-Correa et al., 2020). Nuestro modelo de DRG, previamente demostró haber generado un incremento en el peso corporal de los animales, así como en la cantidad de tejido adiposo visceral, comparado con el grupo con DN; además de alteraciones metabólicas como resistencia a la insulina, hiperglucemia e hiperleptinemia (Gomez et al., 2019).

Por otro lado, existe evidencia sobre los efectos benéficos generados por el H₂S en distintos padecimientos metabólicos como la obesidad o la resistencia a la insulina. En este sentido, se ha observado que la administración de NaHS a ratones con obesidad inducida por DRG, redujo de una manera significativa el peso de los animales (Wu et al., 2016); además, en otro estudio, se evidenció que un donador polisulfurado, el Na₂S₄, logró normalizar la sensibilidad a insulina en el tejido adiposo de ratas con obesidad y síndrome metabólico (Kowalczyk-Bołtuc, 2022). Sin embargo, hasta el momento, existe poca evidencia sobre los mecanismos moleculares detrás de los cambios favorables generados por el H₂S en el peso corporal y del tejido adiposo de animales con obesidad. Al respecto, sugerimos la posibilidad de que el H₂S pudiera estar interviniendo en la expresión de la adiponectina, misma que, de acuerdo con algunos autores, pudiera estar asociada con el proceso de pardeamiento del tejido adiposo, lo que podría incrementar su gasto energético (Hui et al., 2015).

7.1. Efectos del sulfuro de hidrógeno sobre los niveles de adiponectina en el tejido adiposo

La adiponectina es una adipocina producida en el tejido adiposo, con efectos autocrinos capaces de mejorar la sensibilidad a la insulina y promover la

adipogénesis. Se ha observado una asociación inversa entre el nivel de adiposidad y los niveles de adiponectina sérica (Li et al., 2009); por lo que una recuperación en los niveles alterados de adiponectina durante la obesidad, es un foco terapéutico de gran interés. Nuestros resultados demuestran, en primera instancia, concentraciones de adiponectina en el tejido adiposo de las ratas con DRG similares a las del grupo control con DN. En relación con lo anterior, existe evidencia de que, durante estados de nutrición con excedente de ingesta calórica, el tejido adiposo puede expandirse debido al crecimiento en el tamaño de sus células (hipertrofia) y en el número celular (hiperplasia) (Engin, 2017). Es entonces que, se realizó la corrección de las concentraciones de adiponectina con respecto al peso del tejido adiposo, demostrando nuestros resultados una disminución, aunque no significativa, en la concentración de adiponectina ajustada al peso del tejido adiposo de las ratas con DRG. De acuerdo con estos resultados, Barnea y colaboradores observaron en un modelo murino con obesidad inducida por dieta que existe una correlación positiva entre los niveles de adiponectina sérica y el peso del tejido adiposo, sugiriendo que los niveles de adiponectina disminuidos parecen compensarse con un incremento en la masa del tejido adiposo (Barnea et al., 2006). Además, en un estudio realizado en humanos con obesidad, se logró observar que existe una correlación negativa entre el diámetro del adipocito y los niveles de adiponectina sérica, indicando que la hipertrofia del tejido adiposo pudiera ser la causa principalmente implicada en los niveles disminuidos de adiponectina circulante (Meyer et al., 2013). En resumen, nuestros resultados demuestran que una DRG consumida de manera crónica reduce la producción de adiponectina en el tejido adiposo y este efecto pudiera estar relacionado con las alteraciones metabólicas asociadas a la hipertrofia de las células del tejido adiposo.

Existen estudios en los que se ha demostrado que, en cultivos celulares crecidos a concentraciones de alta glucosa (HG) o animales con cardiomiopatía inducida por DRG, el H₂S ha sido capaz de evitar la disminución en los niveles de adiponectina generados por la HG o la DRG (Barr et al., 2015; Pan et al., 2019). Sin embargo, de manera inesperada, nuestros resultados muestran una disminución en las

concentraciones totales y ajustadas de adiponectina en el tejido adiposo de ratas con DRG tratadas con NaHS. Esto puede deberse posiblemente a diferencias metodológicas, tomando en cuenta que en nuestro procedimiento experimental se realizaron los análisis de las concentraciones de adiponectina en el tejido y no a nivel sérico. Sin embargo, al medir las concentraciones de adiponectina en el suero de las ratas en los distintos grupos, no se distinguieron diferencias entre estos, además de observarse disminuidos los niveles de adiponectina sérica ajustada al tejido adiposo en la DRG y en DRG con NaHS. Las discrepancias pueden ser consecuencia de múltiples factores como: 1) la tasa de secreción de adiponectina, 2) el tipo de depósito de TA en el que se realiza la medición y 3) las concentraciones tisulares pueden no estar relacionadas con los niveles de adiponectina sérica, ya que puede ser producida por diferentes tejidos, además de que pueden existir efectos postraduccionales o interacciones autocrinas y/o paracrinas. Al respecto, se ha observado que existe una correlación negativa entre el IMC y la tasa de secreción de adiponectina en el TAV de humanos (Motoshima et al., 2002), efecto que pudiera estar asociado con resistencia a la insulina. (Hoffstedt et al., 2004). Además, la producción de adiponectina es menor en el TAV comparado con el TASC, aunque el TAV presenta una tasa de secreción un 30% mayor que el TASC (Hoffstedt et al., 2004; Nannipieri et al., 2007). De manera importante, en los estudios en donde se han observado los efectos benéficos del H₂S sobre los niveles de adiponectina sérica, como el de Barr y colaboradores (Barr et al., 2015), se les administró el donador de H₂S durante al menos 12 semanas, por lo que no podemos descartar que el tiempo de administración del H₂S exógeno sea un factor determinante sobre los niveles de adiponectina de nuestros resultados.

7.2. Efectos del sulfuro de hidrógeno en la expresión proteica de marcadores de pardeamiento

El coactivador de PPAR γ 1 α (PGC-1 α), es un coactivador transcripcional relacionado con procesos biológicos de metabolismo energético. Originalmente fue descrito como modulador de la termogénesis mediada por la expresión de UCP1,

aunque también se ha observado su participación en el control de la biogénesis mitocondrial y el metabolismo oxidativo en el tejido adiposo y otros grupos celulares (Boström et al., 2012; Puigserver et al., 1998).

Nuestros resultados revelan que el H₂S exógeno logró incrementar la expresión de PGC-1 α y que este efecto pudiera estar asociado con la activación de genes de transcripción para UCP1, a través de una vía de señalización en donde se encuentra implicada AMPK. Al respecto, la participación de PGC-1 α también se ha asociado con procesos de diferenciación celular como el pardeamiento del tejido adiposo (Than et al., 2015), en donde AMPK puede desempeñar un papel importante en la activación directa de PGC-1 α mediante la fosforilación de Ser538 y Thr177 (H. Zhang et al., 2015). Además, Untereiner y colaboradores lograron observar, en dos estudios diferentes, que el H₂S exógeno puede incrementar el estado de activación de PGC-1 α mediante su persulfuración, logrando un efecto capaz de estimular la biogénesis mitocondrial en células hepáticas primarias (Untereiner, Fu, et al., 2016a; Untereiner, Wang, et al., 2016b).

Con respecto a la activación de AMPK mediante fosforilación, una posibilidad podría ser a través de su cinasa principal en el tejido adiposo, la cinasa hepática B1 (LKB1). Se sabe que la vía de señalización de LKB1-AMPK desempeña un papel crucial en el proceso de adipogénesis (Xu et al., 2017). Además, se ha visto que tanto AMPK como su forma activa (pAMPK), se encuentran disminuidas en el tejido adiposo durante la obesidad (Desjardins & Steinberg, 2018). Por otro lado, se ha observado que LKB1 también está involucrada en el proceso de pardeamiento del tejido adiposo. Al respecto, en un modelo *in vitro* con células 3T3-L1 con sobreexpresión de LKB1, se pudo observar un incremento del 94% en la expresión de pAMPK α , además de estimular la expresión de proteínas relacionadas con pardeamiento del tejido adiposo como PGC-1 α , PDRM16 y UCP1 (Xi et al., 2019). También, un estudio demostró que el H₂S fue capaz de revertir los efectos generados por alta glucosa (HG) en células endoteliales glomerulares de ratón, al restablecer la expresión de pLKB1 y pAMPK α a niveles similares a las de concentraciones de

glucosa normal (Kundu et al., 2014). Con todo lo anterior, pareciera que el H₂S está actuando sobre mecanismos capaces de incrementar el estado de fosforilación de AMPK, como pudiera ser a través de LKB1, desencadenando vías de señalización que favorecen la expresión de marcadores de pardeamiento del tejido adiposo (Figura 13); aunque, no se descarta la posibilidad de encontrarse más factores involucrados sobre este proceso.

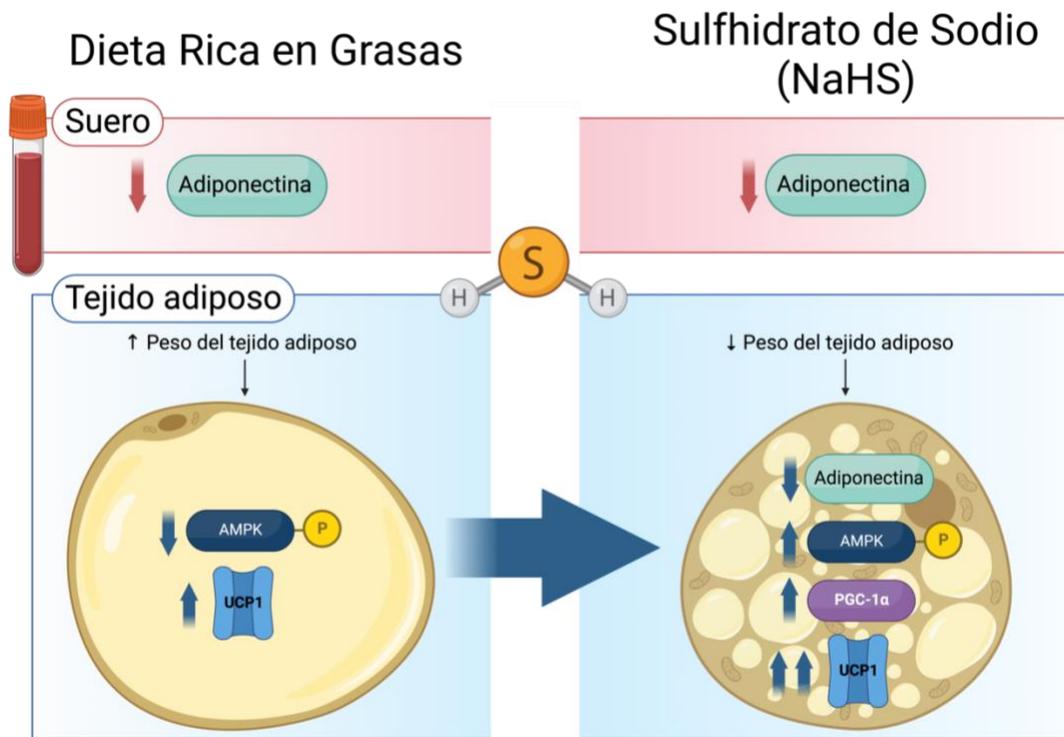


Figura 13. Resumen gráfico de resultados. La DRG disminuyó los niveles de adiponectina en el suero, así como la expresión de AMPK en su estado fosforilado en el tejido adiposo. El NaHS no restableció los niveles séricos y tisulares de adiponectina; por otro lado, incrementó la expresión de PGC-1α y UCP1, además de incrementar el estado de fosforilación de AMPK.

8. Conclusión

El H₂S exógeno incrementó la expresión de proteínas relacionadas con el pardeamiento del tejido adiposo como la PGC-1 α y la UCP1, a través de una vía de señalización en donde pudiera estar implicada la activación de AMPK, de una manera independiente a la adiponectina, ya que, el NaHS no restableció los niveles de adiponectina bajo nuestras condiciones experimentales.

9. Perspectivas

- A. Evaluar los efectos generados por el NaHS, al administrarse durante 16 semanas, en los niveles de adiponectina y sobre la expresión de marcadores de pardeamiento del tejido adiposo (PGC-1 α y UCP1) en:
- Un grupo con dieta normal más NaHS.
 - Un grupo con dieta normal, NaHS y un antagonista de los receptores de adiponectina.
 - Un grupo con dieta rica en grasas más NaHS.
 - Un grupo con dieta rica en grasas, NaHS y un antagonista de los receptores de adiponectina.
- B. Identificar el mecanismo mediante el cual el NaHS estimula el pardeamiento del tejido adiposo y su posible vínculo con la expresión de enzimas relacionadas con la vía de fosforilación de AMPK.

10. Referencias

- Abe, K., & Kimura, H. (1996). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *Journal of Neuroscience*, *16*(3), 1066–1071. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-03-01066.1996>
- 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>
- Ambati, S., Yang, J.-Y., Rayalam, S., Park, H. J., Della-Fera, M. A., & Baile, C. A. (2008). Ajoene Exerts Potent Effects in 3T3-L1 Adipocytes by Inhibiting Adipogenesis and Inducing Apoptosis. *Phytotherapy Research*, *23*, 513–518. <https://doi.org/10.1002/ptr.2663>
- Apovian, C. M. (2016). Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *The American Journal of Managed Care*, *22*(7), s176–s185.
- Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J. I., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *257*(1), 79–83. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0255>
- Barnea, M., Shamay, A., Stark, A. H., & Madar, Z. (2006). A high-fat diet has a tissue-specific effect on adiponectin and related enzyme expression. *Obesity*, *14*(12), 2145–2153. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.251>
- Barr, L. A., Shimizu, Y., Lambert, J. P., Nicholson, C. K., & Calvert, J. W. (2015). Hydrogen sulfide attenuates high fat diet-induced cardiac dysfunction via the suppression of endoplasmic reticulum stress. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, *46*, 145–156. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.12.013>
- Bełtowski, J., & Jamroz-Wisniewska, A. (2017). Hydrogen sulfide in the adipose tissue-physiology, pathology and a target for pharmacotherapy. *Molecules*, *22*(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules22010063>

- Beltowski, J., & Wiórkowski, K. (2022). Role of Hydrogen Sulfide and Polysulfides in the Regulation of Lipolysis in the Adipose Tissue: Possible Implications for the Pathogenesis of Metabolic Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms23031346>
- Blüher, M. (2013). Importance of adipokines in glucose homeostasis. *Diabetes Management*, 3(5), 389–400. <https://doi.org/10.2217/dmt.13.35>
- Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. J., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Boström, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Højlund, K., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1 α -dependent myokine that drives browning of white fat. *Nature*, 481(7382), 463–468. <https://doi.org/10.1038/nature10777.A>
- Britton, K. A., Massaro, J. M., Murabito, J. M., Kreger, B. E., Hoffmann, U., & Fox, C. S. (2013). Body fat distribution, incident cardiovascular disease, cancer, and all-cause mortality. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(10), 921–925. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.06.027>
- Cai, J., Shi, X., Wang, H., Fan, J., Feng, Y., Lin, X., Yang, J., Cui, Q., Tang, C., Xu, G., & Geng, B. (2016). Cystathionine γ lyase-hydrogen sulfide increases peroxisome proliferator-activated receptor γ activity by sulfhydration at C139 site thereby promoting glucose uptake and lipid storage in adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1861(5), 419–429. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.03.001>
- Cao, X., Ding, L., Xie, Z. Z., Yang, Y., Whiteman, M., Moore, P. K., & Bian, J. S. (2019). A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer? *Antioxidants and Redox Signaling*, 31(1). <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7058>
- Cinti, S. (2017). UCP1 protein: The molecular hub of adipose organ plasticity. *Biochimie*, 134, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.09.008>
- Cirino, G., Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2022). Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues and organs. *Physiological Reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2021>

- Comas, F., & Moreno-Navarrete, J. M. (2021). The Impact of H₂S on Obesity-Associated Metabolic Disturbances. *Antioxidants*, *10*(633), 1–23.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox10050633>
- Desjardins, E. M., & Steinberg, G. R. (2018). Emerging Role of AMPK in Brown and Beige Adipose Tissue (BAT): Implications for Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reports*, *18*(10).
<https://doi.org/10.1007/s11892-018-1049-6>
- El-Khairi, L., Vollset, S. E., Refsum, H., & Ueland, P. M. (2003). Predictors of change in plasma total cysteine: Longitudinal findings from the Hordaland Homocysteine Study. *Clinical Chemistry*, *49*(1), 113–120.
<https://doi.org/10.1373/49.1.113>
- Elshorbagy, A. K., Church, C., Valdivia-Garcia, M., Smith, A. D., Refsum, H., & Cox, R. (2012). Dietary cystine level affects metabolic rate and glycaemic control in adult mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *23*(4), 332–340.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.009>
- Engin, A. (2017). Adiponectin-Resistance in Obesity. *Obesity and Lipotoxicity*, *960*, 415–441. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5>
- Fang, H., & Judd, R. L. (2018). Adiponectin regulation and function. *Comprehensive Physiology*, *8*(3), 1031–1063.
<https://doi.org/10.1002/cphy.c170046>
- 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>
- Federation, W. O. (2019). *Prevalence of Obesity*. About Obesity.
<https://www.worldobesity.org/about/about-obesity/prevalence-of-obesity>
- Feng, X., Chen, Y., Zhao, J., Tang, C., Jiang, Z., & Geng, B. (2009). Hydrogen sulfide from adipose tissue is a novel insulin resistance regulator. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *380*(1), 153–159.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.059>
- Filipovic, M. R. (2015). Persulfidation (S-sulphydration) and H₂S. *Handb Exp Pharmacol.*, *230*, 30–52. https://doi.org/10.1007/978-3-319-18144-8_2

- Filipovic, M. R., Zivanovic, J., Alvarez, B., & Banerjee, R. (2018). Chemical Biology of H₂S Signaling through Persulfidation. *Chem Rev*, *118*(3), 1253–1337. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00205>. Chemical
- Fu, Y., Luo, N., Klein, R. L., & Timothy Garvey, W. (2005). Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *Journal of Lipid Research*, *46*(7), 1369–1379. <https://doi.org/10.1194/jlr.M400373-JLR200>
- Funahashi, T., Nakamura, T., Shimomura, I., Maeda, K., Kuriyama, H., Takahashi, M., Arita, Y., Kihara, S., & Matsuzawa, Y. (1999). Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Internal Medicine*, *38*(2), 202–206. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.38.202>
- Garber, J. C., Barbee, R. W., Bielitzki, J. T., Clayton, L. A., Donovan, J. C., Hendriksen, C. F. M., Kohn, D. F., Lipman, N. S., Locke, P. A., Melcher, J., Quimby, F. W., Turner, P. V., Wood, G. A., & Würbel, H. (2011). *GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS* (8th ed.). National Academy of Sciences.
- Gomez, C. B. (2022). *Estudio del efecto simpato-inhibitorio y antioxidante del sulfuro de hidrógeno en un modelo de obesidad (No publicado)*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.
- Gomez, C. B., de la Cruz, S. H., Medina-Terol, G. J., Beltran-Ornelas, J. H., Sánchez-López, A., Silva-Velasco, D. L., & Centurión, D. (2019). Chronic administration of NaHS and L-Cysteine restores cardiovascular changes induced by high-fat diet in rats. *European Journal of Pharmacology*, *863*(August), 172707. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172707>
- Halberg, N., Khan, T., Trujillo, M. E., Wernstedt-Asterholm, I., Attie, A. D., Sherwani, S., Wang, Z. V., Landskroner-Eiger, S., Dineen, S., Magalang, U. J., Brekken, R. A., & Scherer, P. E. (2009). Hypoxia-Inducible Factor 1 α Induces Fibrosis and Insulin Resistance in White Adipose Tissue. *Molecular and Cellular Biology*, *29*(16), 4467–4483. <https://doi.org/10.1128/mcb.00192-09>
- Heydari, M., Cornide-Petronio, M. E., Jiménez-Castro, M. B., & Peralta, C. (2020).

- Data on adiponectin from 2010 to 2020: Therapeutic target and prognostic factor for liver diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms21155242>
- Hoffstedt, J., Arvidsson, E., Sjölin, E., Wåhlén, K., & Arner, P. (2004). Adipose tissue adiponectin production and adiponectin serum concentration in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(3), 1391–1396. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031458>
- Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S., & Spiegelman, B. M. (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 259(5091), 87–91. <https://doi.org/10.1126/science.7678183>
- Hu, E., Liang, P., & Spiegelman, B. M. (1996). AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *Journal of Biological Chemistry*, 271(18), 10697–10703. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.18.10697>
- Hu, F. B. (2008). Obesity Epidemiology. In *Obesity Epidemiology* (Vol. 1). Oxford University Press, Inc. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195312911.001.0001>
- Huerta de la Cruz, S., Rodríguez-Palma, E. J., Santiago-Castañeda, C. L., Beltrán-Ornelas, J. H., Sánchez-López, A., Rocha, L., & Centurión, D. (2022). Exogenous hydrogen sulfide restores CSE and CBS but no 3-MST protein expression in the hypothalamus and brainstem after severe traumatic brain injury. *Metabolic Brain Disease*, 37(6), 1863–1874. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-01033-1>
- Hui, X., Gu, P., Zhang, J., Nie, T., Pan, Y., Wu, D., Feng, T., Zhong, C., Wang, Y., Lam, K. S. L., & Xu, A. (2015). Adiponectin Enhances Cold-Induced Browning of Subcutaneous Adipose Tissue via Promoting M2 Macrophage Proliferation. *Cell Metabolism*, 22(2), 279–290. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.06.004>
- INEGI. (2020). *Características de las defunciones registradas en México durante 2020*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodem/DefuncionesRegistradas2020_Pre_07.pdf
- INSP. (2021). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre Covid-19*

- Resultados Nacionales* (1st ed.). Secretaría de Salud.
- Ishii, I., Akahoshi, N., Yu, X. N., Kobayashi, Y., Namekata, K., Komaki, G., & Kimura, H. (2004). Murine cystathionine γ -lyase: Complete cDNA and genomic sequences, promoter activity, tissue distribution and developmental expression. *Biochemical Journal*, *381*(1), 113–123.
<https://doi.org/10.1042/BJ20040243>
- Kaisanlahti, A., & Glumoff, T. (2019). Browning of white fat: agents and implications for beige adipose tissue to type 2 diabetes. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *75*(1). <https://doi.org/10.1007/s13105-018-0658-5>
- Katsouda, A., Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2018). Reduced adipose tissue H₂S in obesity. *Pharmacological Research*, *128*, 190–199.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.09.023>
- Kowalczyk-Bołtuc, J. (2022). Effect of Exogenous Hydrogen Sulfide and Polysulfide Donors on Insulin Sensitivity of the Adipose Tissue. *Biomolecules*, *12*(646), 1–15.
- Kundu, S., Pushpakumar, S., Khundmiri, S. J., & Sen, U. (2014). Hydrogen sulfide mitigates hyperglycemic remodeling via liver kinase B1-adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, *1843*(12), 2816–2826.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.08.005>
- LabDiet. (2022). *Formulab Diet*. Formulab Diet 5008.
https://www.labdiet.com/cs/groups/lolweb/@labdiet/documents/web_content/mdrf/mdi4/~edisp/ducum04_028444.pdf
- Lehr, S., Hartwig, S., & Sell, H. (2012). Adipokines: A treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics - Clinical Applications*, *6*(1–2), 91–101. <https://doi.org/10.1002/prca.201100052>
- Leitner, B. P., Huang, S., Brychta, R. J., Duckworth, C. J., Baskin, A. S., McGehee, S., Tal, I., Dieckmann, W., Gupta, G., Kolodny, G. M., Pacak, K., Herscovitch, P., Cypess, A. M., & Chen, K. Y. (2017). Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(32), 8649–8654.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.1705287114>
- Li, S., Shin, H. J., Ding, E. L., & van Dam, R. M. (2009). Adiponectin Levels and Risk of Type 2 Diabetes. *Jama*, *302*(2), 179.
<https://doi.org/10.1001/jama.2009.976>
- Lii, C. K., Huang, C. Y., Chen, H. W., Chow, M. Y., Lin, Y. R., Huang, C. S., & Tsai, C. W. (2012). Diallyl trisulfide suppresses the adipogenesis of 3T3-L1 preadipocytes through ERK activation. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(3–4), 478–484. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.020>
- Lu, M., Zhao, F. F., Tang, J. J., Su, C. J., Fan, Y., Ding, J. H., Bian, J. S., & Hu, G. (2012). The neuroprotection of hydrogen sulfide against MPTP-induced dopaminergic neuron degeneration involves uncoupling protein 2 rather than ATP-sensitive potassium channels. *Antioxidants and Redox Signaling*, *17*(6), 849–859. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4507>
- Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., & Matsubara, K. (1996). cDNA Cloning and Expression of a Novel Adipose Specific Collagen-like Factor, apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1)(Reprinted from BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol 221, pg 286-289, 1996). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *221*(2), 286–289.
- Mao, X., Kikani, C. K., Riojas, R. A., Langlais, P., Wang, L., Ramos, F. J., Fang, Q., Christ-Roberts, C. Y., Hong, J. Y., Kim, R. Y., Liu, F., & Dong, L. Q. (2006). APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nature Cell Biology*, *8*(5), 516–523. <https://doi.org/10.1038/ncb1404>
- Meyer, L. K., Ciaraldi, T. P., Henry, R. R., Wittgrove, A. C., & Phillips, S. A. (2013). Adipose tissue depot and cell size dependency of adiponectin synthesis and secretion in human obesity. *Adipocyte*, *2*(4), 217–226.
<https://doi.org/10.4161/adip.24953>
- Motoshima, H., Wu, X., Sinha, M. K., Hardy, V. E., Rosato, E. L., Barbot, D. J., Rosato, F. E., & Goldstein, B. J. (2002). Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: Effects of insulin and rosiglitazone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*,

- 87(12), 5662–5667. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020635>
- Mustafa, A. K., Gadalla, M. M., Sen, N., Kim, S., Mu, W., Gazi, S. K., Barrow, R. K., Yang, G., Wang, R., & Snyder, S. H. (2010). H₂S Signals Through Protein S-Sulfhydration. *Science Signaling*, 2(96), 1–15. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000464>
- Myeong, J. Y., Gha, Y. L., Chung, J. J., Young, H. A., Seung, H. H., & Jae, B. K. (2006). Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor{alpha}. *Diabetes*, 55(9), 2562–2570. <https://doi.org/10.2337/db05-1322>
- Nannipieri, M., Bonotti, A., Anselmino, M., Cecchetti, F., Madec, S., Mancini, E., Baldi, S., Santini, F., Pinchera, A., Rossi, M., & Ferrannini, E. (2007). Pattern of expression of adiponectin receptors in human adipose tissue depots and its relation to the metabolic state. *International Journal of Obesity*, 31(12), 1843–1848. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803676>
- Nishimura, M., Izumiya, Y., Higuchi, A., Shibata, R., Qiu, J., Kudo, C., Shin, H. K., Moskowitz, M. A., & Ouchi, N. (2008). Adiponectin prevents cerebral ischemic injury through endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanisms. *Circulation*, 117(2), 216–223. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.725044>
- Oikonomou, E. K., & Antoniades, C. (2019). The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. *Nature Reviews Cardiology*, 16(2), 83–99. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0097-6>
- Paavonsalo, S., Hariharan, S., Lackman, M. H., & Karaman, S. (2020). Capillary Rarefaction in Obesity and Metabolic Diseases-Organ-Specificity and Possible Mechanisms. *Cells*, 9(12), 1–23. <https://doi.org/10.3390/cells9122683>
- Pajvani, U. B., Hawkins, M., Combs, T. P., Rajala, M. W., Doebber, T., Berger, J. P., Wagner, J. A., Wu, M., Knopps, A., Xiang, A. H., Utzschneider, K. M., Kahn, S. E., Olefsky, J. M., Buchanan, T. A., & 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>
- Pan, Z., Wang, J., Xu, M., Chen, S., Li, X., Sun, A., Lou, N., & Ni, Y. (2019). Hydrogen sulfide protects against high glucose-induced lipid metabolic disturbances in 3T3-L1 adipocytes via the AMPK signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 20(5), 4119–4124. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10685>
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83(2), 346–356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)
- Powell, C. R., Dillon, K. M., & Matson, J. B. (2018). A review of hydrogen sulfide (H₂S) donors: Chemistry and potential therapeutic applications. *Biochemical Pharmacology*, 149, 110–123. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.11.014>
- Prescott, M. J., & Lidster, K. (2017). Improving quality of science through better animal welfare: The NC3Rs strategy. *Lab Animal*, 46(4), 152–156. <https://doi.org/10.1038/labam.1217>
- Puigserver, P., Wu, Z., Park, C. W., Graves, R., Wright, M., & Spiegelman, B. M. (1998). A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 92(6), 829–839. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81410-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81410-5)
- Qiao, L., Yoo, H. S., Bosco, C., Lee, B., Feng, G. S., Schaack, J., Chi, N. W., & Shao, J. (2014). Adiponectin reduces thermogenesis by inhibiting brown adipose tissue activation in mice. *Diabetologia*, 57(5), 1027–1036. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3180-5>
- Ricquier, D. (2017). UCP1, the mitochondrial uncoupling protein of brown adipocyte: A personal contribution and a historical perspective. *Biochimie*, 134, 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.10.018>
- Ricquier, D., & Bouillaud, F. (2000). Mitochondrial uncoupling proteins: From mitochondria to the regulation of energy balance. *Journal of Physiology*, 529(1), 3–10. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00003.x>
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I., Contreras-Vargas, Y., & Carvajal, K. (2020). Biochemical and nutritional overview of diet-induced

- metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? *Nutrition and Diabetes*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4>
- Ross, M. H., Kaye, G. I., & Pawlina, W. (2004). Tejido adiposo. In *Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular* (4th ed., pp. 158–164). Editorial Médica Panamericana.
- Ruan, H., & Dong, L. Q. (2016). Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(2), 101–109. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw014>
- Rutkowski, J. M., Stern, J. H., & Scherer, P. E. (2015). The cell biology of fat expansion. *Journal of Cell Biology*, 208(5), 501–512. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409063>
- Scherer, P. E., Williams, S., Fogliano, M., Baldini, G., & Lodish, H. F. (1995). A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26746–26749. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.45.26746>
- Shapiro, L., & Scherer, P. E. (1998). The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Current Biology*, 8(6), 335–340. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(98\)70133-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(98)70133-2)
- Smith, K. B., & Smith, M. S. (2016). Obesity Statistics. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, 43(1), 121–135. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2015.10.001>
- Stryer, L., Berg, J. M., & Tymoczko, J. L. (2015). Fosforilación oxidativa. In *Bioquímica* (7th ed., p. 520). Editorial Reverté.
- Szabo, C. (2019). A timeline of hydrogen sulfide (H₂S) research: from environmental toxin to biological mediator. *Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.09.010.A>
- Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2017). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H₂S Levels: H₂S Donors and H₂S Biosynthesis Inhibitors. *Pharmacological Reviews*, 69, 497–564.
- Than, A., He, H. L., Chua, S. H., Xu, D., Sun, L., Leow, M. K. S., & Chen, P. (2015). Apelin enhances brown adipogenesis and browning of white adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 290(23), 14679–14691.

- <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.643817>
- Trayhurn, P., & Wood, I. S. (2004). Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*, *92*(3), 347–355.
<https://doi.org/10.1079/bjn20041213>
- Tsai, C. Y., Peh, M. T., Feng, W., Dymock, B. W., & Moore, P. K. (2015). Hydrogen sulfide promotes adipogenesis in 3T3L1 cells. *PLoS ONE*, *10*(3), 1–16.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119511>
- Untereiner, A. A., Fu, M., Módis, K., Wang, R., Ju, Y. J., & Wu, L. (2016). Stimulatory effect of CSE-generated H₂S on hepatic mitochondrial biogenesis and the underlying mechanisms. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, *58*, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.06.005>
- Untereiner, A. A., Wang, R., Ju, Y., & Wu, L. (2016). Decreased Gluconeogenesis in the Absence of Cystathionine Gamma-Lyase and the Underlying Mechanisms. *Antioxidants and Redox Signaling*, *24*(3), 129–140.
<https://doi.org/10.1089/ars.2015.6369>
- Vargas-Castillo, A., Tobon-Cornejo, S., Del Valle-Mondragon, L., Torre-Villalvazo, I., Schcolnik-Cabrera, A., Guevara-Cruz, M., Pichardo-Ontiveros, E., Fuentes-Romero, R., Bader, M., Alenina, N., Vidal-Puig, A., Hong, E., Torres, N., & Tovar, A. R. (2020). Angiotensin-(1-7) induces beige fat thermogenesis through the Mas receptor. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *103*, 154048. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.154048>
- Vijgen, G. H. E. J., Bouvy, N. D., Teule, G. J. J., Brans, B., Schrauwen, P., & van Marken Lichtenbelt, W. D. (2011). Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. *PLoS ONE*, *6*(2), 2–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017247>
- Virtanen, K. A., Lidell, M. E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.-J., Enerbäck, S., & Nuutila, P. (2009). Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *The New England Journal of Medicine*, *360*(15), 1518–1525. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808949>
- Wang, R. (2004). The Evolution of Gasotransmitter Biology and Medicine. *Signal Transduction and the Gasotransmitters*, 3–31. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-806-9_1

- Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, the past two decades. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(2), 93–100. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw011>
- Whiteman, M., Gooding, K. M., Whatmore, J. L., Ball, C. I., Mawson, D., Skinner, K., Tooke, J. E., & Shore, A. C. (2010). Adiposity is a major determinant of plasma levels of the novel vasodilator hydrogen sulphide. *Diabetologia*, 53(8), 1722–1726. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1761-5>
- WHO. (2021). *Obesidad y sobrepeso*. Temas de Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Wu, D., Gao, B., Li, M., Yao, L., Wang, S., Chen, M., Li, H., Ma, C., Ji, A., & Li, Y. (2016). Hydrogen sulfide mitigates kidney injury in high fat diet-induced obese mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2715718>
- Xi, P., Xue, J., Wu, Z., Wang, H., Han, J., Liang, H., & Tian, D. (2019). Liver kinase B1 induces browning phenotype in 3 T3-L1 adipocytes. *Gene*, 682(September 2018), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.10.012>
- Xin, X., Zhou, L., Reyes, C. M., Liu, F., & Dong, L. Q. (2011). APPL1 mediates adiponectin-stimulated p38 MAPK activation by scaffolding the TAK1-MKK3-p38 MAPK pathway. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 300(1), 103–110. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00427.2010>
- Xu, Z., Liu, J., & Shan, T. (2017). New Roles of Lkb1 in Regulating Adipose Tissue Development and Thermogenesis. *Journal of Cellular Physiology*, 232(9), 2296–2298. <https://doi.org/10.1002/jcp.25643>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B. B., & 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>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Mori, Y., Ide, T., Murakami, K., Tsuboyama-Kasaoka, N., Ezaki, O., Akanuma, Y., Gavrilova, O., Vinson, C., Reitman, M. L., Kagechika, H., Shudo, K., Yoda, M.,

- Nakano, Y., ... Kadowaki, T. (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nature Medicine*, 7(8), 941–946. <https://doi.org/10.1038/90984>
- Zhang, H., Guan, M., Townsend, K. L., Huang, T. L., An, D., Yan, X., Xue, R., Schulz, T. J., Winnay, J., Mori, M., Hirshman, M. F., Kristiansen, K., Tsang, J. S., White, A. P., Cypess, A. M., Goodyear, L. J., & Tseng, Y. (2015). Micro RNA -455 regulates brown adipogenesis via a novel HIF 1 α - AMPK - PGC 1 α signaling network . *EMBO Reports*, 16(10), 1378–1393. <https://doi.org/10.15252/embr.201540837>
- 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. In *Nature* (Vol. 372, Issue 6505, pp. 425–432). <https://doi.org/10.1038/372425a0>
- Zhou, M., Xu, A., Tam, P. K. H., Lam, K. S. L., Chan, L., Hoo, R. L. C., Liu, J., Chow, K. H. M., & Wang, Y. (2008). Mitochondrial dysfunction contributes to the increased vulnerabilities of adiponectin knockout mice to liver injury. *Hepatology*, 48(4), 1087–1096. <https://doi.org/10.1002/hep.22444>
- Zhou, Y., Chi, J., Lv, W., & Wang, Y. (2021). Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 37(2). <https://doi.org/10.1002/dmrr.3377>
- Zuhra, K., Augsburger, F., Majtan, T., & Szabo, C. (2020). Cystathionine- β -synthase: Molecular regulation and pharmacological inhibition. *Biomolecules*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/biom10050697>

ANEXO 1. Composición de la dieta normal y la dieta rica en grasas.

Nutrientes	Dieta normal (100 g) ¹			Dieta rica en grasas (100 g) ²		
	%	gramos	kcal	%	gramos	kcal
Carbohidratos	50.3	50.2	200.8	26.37	36	144
Proteínas	23.6	23.6	94.4	10.14	13.8	55.4
Lípidos	6.7	6.7	60.3	63.5	38.5	346.8
Kcal totales			355.5			546.1

Composición de dieta normal y dieta rica en grasas. ¹, dieta normal que consistió en dieta standard Formulab Diet 5008 (LabDiet, 2022). ², dieta rica en grasas compuesta por Formulab Diet 5008 (550 g) adicionado con manteca de cerdo (300 g) y crema de avellana Nutella® (150 g) (Gomez, 2022).

ANEXO 2. Actividades académicas.

Curso “XVII Curso de Obesidad. Aspectos básicos, clínicos y epidemiológicos”. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Ciudad de México, octubre del 2020.

Curso “Aspectos Básicos de Bioseguridad Durante el Desarrollo de Protocolos de Investigación Biomédica Clínica”. Instituto Nacional de Pediatría. Ciudad de México, enero del 2021.

Curso “Curso De Actualización sobre Aspectos de Bioseguridad para Protocolos de Investigación Biomédica y Clínica”. Instituto Nacional de Pediatría. Ciudad de México, febrero del 2022.



INCMNSZ



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN
LA CLÍNICA DE OBESIDAD Y TRASTORNOS DE LA CONDUCTA ALIMENTARIA

otorgan la presente

CONSTANCIA

a

Arturo Serrano Sánchez

Por su asistencia al
XVII Curso de Obesidad. Aspectos básicos, clínicos y epidemiológicos.
Curso Digital
21, 22 y 23 de octubre de 2020, Ciudad de México.

Valor curricular: 12 horasteóricas

Dr. David Kershenobich Stalnikowitz
Director General

Dra. Emma Adriana Chávez Manzanera
Coordinadora de la Clínica de Obesidad y
Trastornos de la Conducta Alimentaria

EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA



Otorga la presente

CONSTANCIA

A: ARTURO SERRANO SÁNCHEZ

Por su participación como: Asistente al

**CURSO ASPECTOS BASICO DE BIOSEGURIDAD DURANTE EL
DESARROLLO DE PROTOCOLOS DE INVESTIGACION BIOMEDICA
CLINICA**

Realizado en la Ciudad de México, del 28 al 29 de enero del 2021

Con una duración de 8 horas

Dr. SALIM KURI AYALA
Jefe del Depto. de Educación Médica Continua



Dr. JOSE ANTONIO VELAZQUEZ ARAGON
Coordinador General

EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA



Otorga la presente

CONSTANCIA

A: ARTURO SERRANO SÁNCHEZ

Por su participación como: Asistente al

**CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD
PARA PROTOCOLOS DE INVESTIGACION BIOMEDICA Y CLINICA**

Realizado en la Ciudad de México, del 03 al 04 de febrero del 2022

Con una duración de 8 horas

DRA. SANDRA LUZ LIZARRAGA LOPEZ
Jefa del Depto. de Educación Médica Continua

DR. JOSE ANTONIO VELAZQUEZ ARAGON
Coordinador General

