

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

División Académica de Ciencias de la Salud



**“Efecto de la obesidad inducida por dos dietas hipercalóricas
sobre la función de las células β pancreáticas”**

**Tesis que para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias Biomédicas**

Presenta:

Corazón de María Márquez Álvarez

Director:

**Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis
Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo**

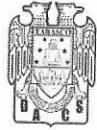
Villahermosa, Tabasco.

Febrero 2022



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Dirección



Of. No. 00123/DACS/JAEP

10 de febrero de 2022

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

C. Corazón de María Márquez Álvarez

Maestría en Ciencias Biomédicas

Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores, Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop, Dr. Jorge Luis Blé Castillo, Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo, Dra. Viridiana Olvera Hernández, Dr. Eduardo Martínez Abundis, impresión de la tesis titulada: "**Efecto de la obesidad inducida por dos dietas hipercalóricas sobre la función de las células β pancreáticas**", para sustento de su trabajo recepcional de la Maestría en Ciencias Biomédicas, donde funge como Director de Tesis el Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis y la Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.

Atentamente

Dra. Mirian Carolina Martínez López

Directora



- C.c.p.- Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis.- Director de tesis
- C.c.p.- Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.- Director de tesis
- C.c.p.- Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop.- sinodal
- C.c.p.- Dr. Jorge Luis Blé Castillo.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Viridiana Olvera Hernández.- Sinodal
- C.c.p.- Dr. Eduardo Martínez Abundis.- Sinodal



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa Tabasco, siendo las 09:00 horas del día 01 del mes de febrero de 2022 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

"Efecto de la obesidad inducida por dos dietas hipercalóricas sobre la función de las células β pancreáticas"

Presentada por el alumno (a):

Márquez Álvarez Corazón de María
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Con Matricula

2	0	1	E	5	7	0	0	4
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al Grado de:

Maestro en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

COMITÉ SINODAL

Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis

Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo
Directores de Tesis

Dra. Isela Esther Juárez Rojop

Dr. Jorge Luis Bie Castillo

Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo

Dra. Viridiana Olvera Hernández

Dr. Eduardo Martínez Abundis

Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 26 del mes de enero del año 2022, el que suscribe, Corazón de María Márquez Álvarez, alumna del programa de Maestría en Ciencias Biomédicas, con número de matrícula 201E57004 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **“Efecto de la obesidad inducida por dos dietas hipercalóricas sobre la función de las células β pancreáticas”**, bajo la Dirección del Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis y la Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo, Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. El alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: cora_marquez@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Corazón de María Márquez Álvarez

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca número 769634, CVU 909241 para estudios de Maestría.

A Dios

Tu amor y tu bondad no tienen fin, me permites sonreír ante mis logros que son resultado de tu ayuda.

A mis tutores

Al Dr. Eduardo Martínez Abundis y la Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo por la oportunidad, paciencia, conocimiento, motivación y apoyo incondicional.

A mi familia

A mi Padre por enseñarme a superar cada obstáculo en la vida con entereza y dedicación; a mi Madre por guiarme y acompañarme con sus bellas palabras y a mis hermanos, por su presencia y motivación en cada momento de mi vida.

A mis amigos

Por su valiosa amistad, por su compañía y buenos momentos.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	i
GLOSARIO	ii
RESUMEN	iv
SUMMARY.....	v
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- MARCO TEÓRICO	3
2.1.- OBESIDAD Y DIABETES	3
2.2.- SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE INSULINA.....	3
2.3. - PAPEL DE LA MITOCONDRIA EN LA HOMEOSTASIS DE INSULINA	5
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MITOCONDRIA.	5
SÍNTESIS MITOCONDRIAL DE ATP.....	7
LAS MITOCONDRIAS COMO GENERADORES DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO.....	9
LA MITOCONDRIA COMO REGULADOR DE LA APOPTOSIS.....	10
2.4.- EL PÁNCREAS Y SU FUNCIÓN.....	12
2.5.- ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN EL PÁNCREAS.....	14
3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
4.- HIPÓTESIS.....	17
5.- JUSTIFICACIÓN.....	18
6.- OBJETIVOS.....	19
6.1.- OBJETIVO GENERAL.....	19
6.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
7.- METODOLOGÍA	20
7.1.- ANIMALES Y DIETAS	20

7.2.- SEGUIMIENTO.....	20
7.3.- DETERMINACIÓN DE OBESIDAD	22
7.4.- CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA	22
7.5.- DETERMINACIÓN DE INSULINA EN SANGRE.....	22
7.6.- AISLAMIENTO DE ISLOTES DE LANGERHANS	23
7.7.- DETERMINACIÓN DE LA FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	24
7.8.- POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL	25
7.9.- APERTURA DEL PORO DE TRANSICIÓN DE LA PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL	25
7.10.- WESTERN BLOT	25
7.11.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
8.- RESULTADOS.....	28
8.1.- SEGUIMIENTO DE PESO Y DETERMINACIÓN DE OBESIDAD.....	28
8.2.- DETERMINACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	30
8.3.- EVALUACIÓN DE NIVELES DE GLUCOSA E INSULINA.....	31
8.4.- ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL	35
8.5.- EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN Y LIBERACIÓN DE INSULINA	38
9.- DISCUSIÓN	41
10.- CONCLUSIÓN	54
11.- BIBLIOGRAFÍA	55
12. ANEXOS	68
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	68
ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN.....	72
PRESENTACIONES EN CONGRESOS.....	73
PUBLICACIONES.....	76

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características de las dietas consumidas	20
Figura 1. Mecanismo de Liberación de insulina en la célula β	4
Figura 2. Estructura de las mitocondrias.	6
Figura 3. Rutas metabólicas en la célula.	8
Figura 4. Cadena respiratoria.....	9
Figura 5. Estructuras de las subfamilias Bcl-2.	11
Figura 6. Representación esquemática del páncreas y los islotes de Langerhans..	13
Figura 7. Determinación de obesidad.	29
Figura 8. Determinación de porcentaje de grasa.	30
Figura 9. Determinación de presión arterial.	31
Figura 10. Metabolismo de glucosa e insulina.	32
Figura 11. Tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.	33
Figura 12. Características físicas del páncreas.....	34
Figura 13. Análisis de la función mitocondrial.	36
Figura 14. Expresión de proteínas involucradas en la producción y liberación de insulina en páncreas.	40
Figura 15. Niveles de expresión de proteínas en la síntesis y liberación de insulina de las dietas hipercalóricas.	52

GLOSARIO

-ADP: Adenosín Difosfato

AMPc: Adenosín Monofosfato Cíclico

ANOVA: Análisis de Varianza

ARNm: Ácido Ribonucleico mitocondrial

ATP: Adenosín Trifosfato

Bcl-2: Linfoma de células B 2

Cal: Calceína

CTRL: Control

CV: Cardiovascular

DCFH-DA: Diacetato de Diclorofluoresceína

DE: Desviación Estándar

DM 2: Diabetes Mellitus Tipo 2

DM: Diabetes Mellitus

DMEM: Dulbecco Modified Eagle Minimal Essential Medium

Drp-1: Proteína relacionada a la dinamina 1

eIF2a: Factor de iniciación eucariótica 2

Fis-1: Proteína de fisión 1

GLUT-2: Transportador de Glucosa Tipo 2

GRA: Grasa

HBSS: Hank's Balanced Salt Solution

HOMA-IR: Modelo Homeostático para evaluar la Resistencia a la Insulina

HTA: Hipertensión arterial

IMC: Índice de Masa Corporal

IR: Receptores de Insulina

LDHA: Lactato Deshidrogenas A

Maf A1: Factor de transcripción tipo A

Mfn: Mitofusinas

NOM: Norma Oficial Mexicana

OECD: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

OPA-1: Proteína Atrófica Óptica

PAM: Presión Arterial Media

Pdx-1: Pancreatic and duodenal homeobox 1

Perk: Cinasa del retículo plasmático pancreático

PP1: Proteína Fosfatasa 1

PTPm: Poro de Transición de la Permeabilidad mitocondrial

PVDF: Fluoruro de Polivinilideno

Rh-123: Rodamina 123

RI: Resistencia a la insulina

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno

SAC: Sacarosa

SM: Síndrome Metabólico

SNAP-25: Proteína Asociada a Sinaptosoma 25 kDa

TTNS: Buffer Tris-Fosfato/Tween 20

VAMP-2: Proteína de Membrana Asociada a Vesículas 2

RESUMEN

Introducción: La obesidad es considerada un problema de salud pública por su impacto en la calidad de vida y se presenta como una consecuencia de la ingesta crónica de dietas hipercalóricas. En un estado de obesidad las células beta pancreáticas sufren daño asociado a estrés oxidativo, alteración en la permeabilidad de la membrana, además de problemas para sintetizar y liberar insulina.

Objetivo: Evaluar el efecto de la obesidad inducida por dos dietas, una dieta alta en sacarosa y otra alta en grasa, sobre la producción, liberación de insulina y en la función mitocondrial de las células beta pancreáticas en ratas.

Métodos: Se utilizaron ratas Wistar macho recién destetadas, divididas en tres grupos y alimentadas por 12 meses con dieta estándar (Control), alta en carbohidratos (Sacarosa) y alta en lípidos (Grasa). Se registró el peso, IMC, consumo calórico, niveles de glucosa, insulina, tolerancia a la glucosa (GTT) y presión arterial. Se evaluó la concentración de especies reactivas de oxígeno (ROS), potencial de membrana mitocondrial y apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm) con sondas fluorescentes en islotes de Langerhans. Finalmente se evaluó por western Blot la expresión de proteínas involucradas en la síntesis y liberación de insulina en homogenizados de páncreas.

Resultados: El peso corporal y el consumo calórico fueron similares entre los tres grupos, con IMC mayor en Sacarosa. Ambas dietas indujeron acumulación de grasa abdominal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, valores alterados en la GTT y la presión arterial. En los islotes aislados, la presencia de especies reactivas de oxígeno (ERO) fue mayor en Sacarosa, sin cambios en el potencial de membrana y la apertura del PTPm. De las proteínas involucradas en la síntesis y liberación de insulina evaluadas, GLUT-2 y SNAP-25 disminuyeron en ambas dietas y Sintaxina solo en Sacarosa; contrario a Maf-A que aumento su expresión en el grupo Grasa.

Conclusiones: Ambas dietas hipercalóricas indujeron obesidad abdominal, hiperglucemia e hiperinsulinemia; sin embargo, la dieta de sacarosa mostró una mayor severidad en el metabolismo de la glucosa, aumenta el estrés oxidativo, la presión arterial y además modifica la expresión de proteínas implicadas en la síntesis y liberación de insulina en los islotes de Langerhans.

SUMMARY

Introduction: Obesity is considered the leading public health issue because of its impact on quality and life's. Obesity is mainly a consequence of chronic hypercaloric diets' ingestion. The beta-pancreatic cells suffer oxidative stress-associated damage; mitochondrial dysfunction with altered membrane potential and opening in the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) among disruption in insulin synthesis and release.

Objective: To evaluate the effects of high sucrose- and high fat diet-consumption induced obesity on insulin production and release; moreover, the mitochondrial function in the beta-pancreatic cells of rats.

Methods: Male just weaned Wistar rats were divided into three groups and feed with different diets along 12 months: Control group (standard chow); Sucrose group (feed with standard chow and 30% sucrose solution), and Fat diet group (feed with 30% of lard in the chow and tap water). Bodyweight was recorded monthly. At the end of 12 months, the BMI, caloric consumption, serum glucose, insulin levels, besides a glucose tolerance test (GTT), were determined. The oxidative stress, mitochondrial membrane potential, and mPTP opening by using fluorescent dyes. Finally, the expression of proteins involved in insulin production and release of insulin were evaluated in pancreas homogenate.

Results: Body weight and caloric consumption were similar between groups with slightly higher BMI in the Sucrose group. Both hypercaloric diets induced abdominal fat accumulation, fasting hyperglycemia and hyperinsulinemia. The serum glucose levels were higher for the two obese groups along the 120 minutes of the GTT. The oxidative stress was slightly higher only in the Sucrose group, whereas the mPTP and membrane potential were similar between the three groups. The expression of GLUT-2 and SNAP-25 was reduced in Sucrose and Fat diet groups; the expression of Sintaxina 1a was reduced only on Sucrose, whereas Maf A increases only in the Fat diet group.

Conclusion: Both hypercaloric diets induced abdominal obesity, hyperglycemia, and hyperinsulinemia; however, the high sucrose diet shows a greater severity in metabolic disruption, worsens the glucose metabolism, increasing oxidative stress and disturbing the insulin production-associated proteins expression in pancreas.

1.- INTRODUCCIÓN

El constante aumento en la prevalencia de obesidad a nivel global ha desencadenado un gran interés debido a los múltiples factores de riesgo que éste genera. Además de ser un gran problema de salud pública, representa un importante riesgo para el deterioro de la salud.

Se ha señalado que el sobrepeso y la obesidad son los principales factores para desarrollar enfermedad crónica, tales como diabetes, enfermedades hepáticas, cardiovasculares y síndrome metabólico (SM); y su aparición está relacionada con la ingesta excesiva de dietas hipercalóricas (González *et al*, 2008).

Estudios previos han descrito que la obesidad inducida por el consumo de dietas altas en grasas o altas en carbohidratos presenta diferentes características. Un estudio en ratones mostró que la dieta alta en carbohidratos aumenta la tasa de lipogénesis y la actividad de la lipasa en ayunas; por su parte la dieta alta en grasa no promueve la lipogénesis ni incrementa la captación de glucosa por los adipocitos (López de Fez *et al* 2004; Lafontan, 2012), además se ha reportado que en dietas altas en sacarosa se propicia un estado de hiperglucemia acompañado de oxidación elevada de ácidos grasos, mayor biosíntesis de colesterol, hiperpolarización de la membrana mitocondrial y un reducción de intercambio de ATP/ADP; acompañada de una reducción de la proteína quinasa que reduce la lipólisis y la señalización de la liberación de insulina en el páncreas (Matos *et al*, 2014; Gómez-Crisóstomo *et al*, 2018)

Otros estudios en ratas relacionan el consumo de dietas altas en grasa con el desarrollo de hiperglucemia, con resistencia a la insulina y disfunción de las células beta, o un estado de prediabetes semejante al de los humanos (Arias-Díaz & Balibrea, 2007; Rodríguez *et al*, 2009). En breve, los estudios indican que una dieta con alto contenido en lípidos es dañina para la función mitocondrial, además de promover la inflamación metabólica o citotoxicidad (Pepín *et al*, 2016; Sergi *et al*, 2019). Por otra parte, las dietas ricas en carbohidratos se caracterizan por propiciar patologías como hipertrigliceridemia, hiperglucemia y enfermedad cardiovascular;

con desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina lo que en conjunto deriva en la formación de metabolitos tóxicos causando lipotoxicidad. De manera particular el aumento de triglicéridos daña a las células β afectando la función de los receptores de insulina y causando muerte celular (Burgeiro *et al*, 2017).

Frente a este panorama es importante analizar el impacto que la obesidad tiene sobre el metabolismo, así como el daño que esta condición podría inducir en la función de los sistemas biológicos en el organismo. Para fines de este proyecto se evaluó la función de las células beta pancreáticas y de sus mitocondrias en dos modelos de obesidad inducida por el consumo de dietas hipercalóricas, con el objetivo de comparar principalmente las modificaciones en el metabolismo de la glucosa, la síntesis de insulina y la función mitocondrial.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1.- OBESIDAD Y DIABETES

La obesidad es considerada un estado inflamatorio crónico, donde la sobrecarga de lípidos depositados en el hígado, músculo, corazón y otras vísceras provoca lipotoxicidad, con la presencia de estrés oxidativo como principal inductor de un estado inflamatorio crónico y daño celular (Higdon & Frei, 2003; Argente *et al.*, 2006; González *et al.*, 2008; De Tursi *et al.*, 2013). La obesidad también es considerada el principal factor de riesgo para desarrollar Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2) siendo la lipotoxicidad y el estrés oxidativo algunas de las posibles causas (González *et al.*, 2008, Murray, 2013; Allagnar *et al.*, 2016; Bensella *et al.*, 2018). La diabetes comprende un conjunto de trastornos crónicos que se caracteriza por el aumento de la concentración de glucosa en sangre o hiperglucemia, debido principalmente al mal funcionamiento o destrucción de las células beta pancreáticas, encargadas de sintetizar insulina, la hormona responsable en la regulación de glucosa (Santiago *et al.*, 2012; Bensella *et al.*, 2018).

2.2.- SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE INSULINA

Para la regulación de las concentraciones glucosa es necesario mantener niveles de insulina óptimos, por esta razón, las células betas dirigen su síntesis y liberación de insulina de dos formas, la primera es independiente de las concentraciones de glucosa en sangre, es la liberada en estado basal o de manera constitutiva.

Este proceso de síntesis inicia con la activación de genes para la preproinsulina, que es un precursor formado en los ribosomas con la desfosforilación del factor de iniciación eucariota 2 (eIF2a) por la Proteína fosfatasa 1 (PP1) o por la cinasa del retículo plasmático pancreático (PERK) y la participación de factores de transcripción, como PDX-1, Maf a y Isl-1. La preproinsulina pasa por el retículo endoplásmico rugoso de las células beta pancreáticas y es convertida a proinsulina, finalmente se escinde en insulina y péptido C, ambos son empaquetados en gránulos secretores en el aparato de Golgi y posteriormente liberados por emiocitosis de manera continua y en concentraciones basales, este proceso se da con la participación de calcio como activador de los microtúbulos. En general, todos

los agentes que activan el AMPc intracelular estimulan la secreción de insulina (Myers, 2002; Olivares, 2008; Saltiel *et al.*, 2008; Ebina *et al.*, 2018).

La segunda forma de producción de insulina se estimula en respuesta a un aumento de nutrientes. Al existir un aumento en los niveles de glucosa extracelular se activa el proceso de liberación de insulina iniciando con el censo de los niveles de glucosa y su transporte a través de los transportadores de la glucosa 2 (GLUT2), posteriormente es fosforilada por la Hexoquinasa I (Glucoquinasa) que aumentan el flujo de piruvato hacia la mitocondria con un aumento en el índice ATP/ADP que permite tanto la despolarización de la membrana plasmática, apertura de canales de calcio dependientes de voltaje, la fusión de las vesículas y la liberación de insulina.

La señalización para la liberación de insulina a través de la glucólisis puede ser regulada negativamente por la acción de la Lactato deshidrogenasa A (LDHA) que limita el flujo de piruvato a la mitocondria (Figura 1). Así como las concentraciones de calcio regulan la correcta fusión de las vesículas portadoras de insulina con la membrana plasmática, esto ocurre con la formación de un complejo de proteínas vesiculares como VAMP-2 con otras membranales como la Sintaxina 1a y SNAP25 (Fu Z *et al.*, 2013).

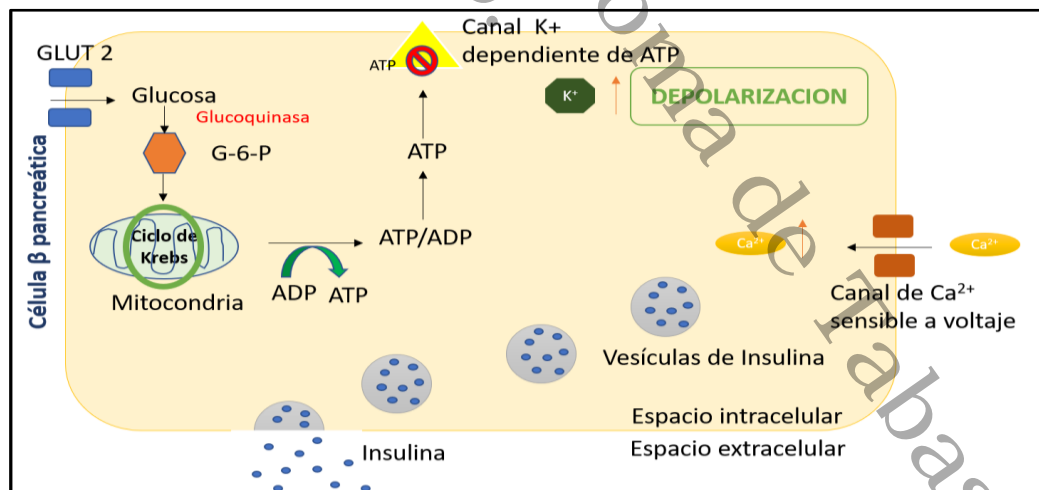


Figura 1. Mecanismo de Liberación de insulina en la célula β . La figura muestra la liberación a través de la glucólisis, el ciclo de Krebs, con un aumento del índice ATP/ADP que despolariza la membrana, y abre los canales Ca^{2+} activando la señalización para la fusión de las vesículas y liberación de insulinas al exterior celular.

Este proceso de síntesis y liberación de insulina puede ser alterado, llevando a las células a producir insulina de manera excesiva, esto ocurre cuando hay fallos en el reconocimiento de esta hormona por su receptor, lo que conduce a una acumulación de la misma provocando un estado de hiperinsulinemia por resistencia a la insulina.

La resistencia a la insulina es la condición en la que la respuesta de las células a la hormona es menor a la esperada; lo que conduce a un aumento de insulina sérica como mecanismo compensatorio, que a su vez provoca una desregulación de los nutrientes, del metabolismo y de la homeostasis en general (Santiago *et al.*, 2012). Cabe señalar que para identificar la resistencia a la insulina se recurren a modelos como es el índice HOMA-IR que es una estimación de la sensibilidad insulínica (Añez, *et al.*, 2014).

Una de las principales causas de la resistencia a la insulina es el deterioro de la función mitocondrial que también se asocia con la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y estrés oxidativo. Dicho hallazgo es importante en patologías como diabetes y síndrome metabólico, por ello actualmente su determinación es imprescindible.

2.3. - PAPEL DE LA MITOCONDRIA EN LA HOMEOSTASIS DE INSULINA

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MITOCONDRIA

Las mitocondrias son organelos de gran importancia, presentes prácticamente en todas las células. Su estructura está constituida por dos membranas, una membrana externa, que se caracteriza por ser altamente permeable gracias a su alto contenido en porinas y una membrana interna, más grande, más selectiva y menos permeable, incluso a iones y moléculas pequeñas, lo que le permite mantener el gradiente de protones en la síntesis de ATP (Koopman, 2012; Stiles, 2012; Osellame, 2012).

La membrana interna forma pliegues conocidos como crestas mitocondriales y entre las dos membranas se forma un espacio intermembranal y un espacio interno delimitado por la membrana interna denominado matriz mitocondrial (Figura 2) (Friedman, 2014; Gordaliza, 2019).

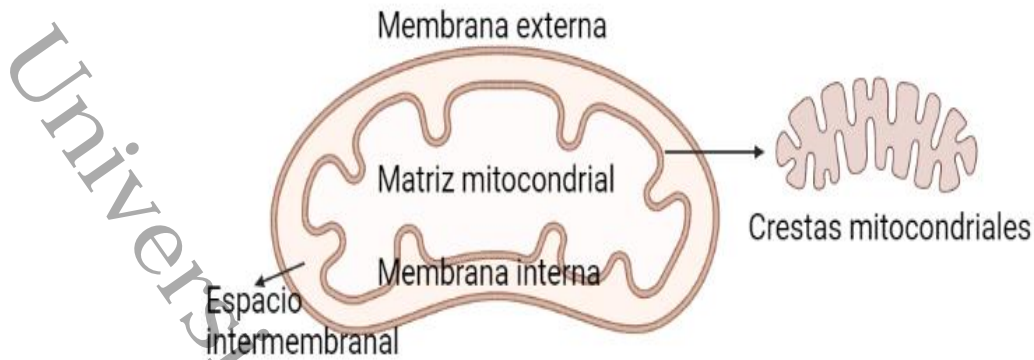


Figura 2. Estructura de las mitocondrias. La figura muestra la morfología de las mitocondrias, constituidas por una membrana externa, membrana interna y las cavidades que se forman, llamados matriz mitocondrial y espacio intermembranal.

La morfología de las mitocondrias es muy cambiante, su mecanismo dinámico de remodelación mediante los procesos de fisión y fusión provocan cambios en su forma y tamaño; en este sentido, se pueden observar desde mitocondrias con estructuras ramificadas alargadas, hasta otras que parecen pequeños elipsoides. Por otra parte, la distribución de las mitocondrias dentro de las células depende de la demanda de energía o calcio, éstas se pueden encontrar de manera individual o formar parte de una compleja red llamada red mitocondrial, cuya estructura es regulada por el ciclo celular, por procesos de mitogénesis y mitofagia, además de la ya mencionada dinámica mitocondrial, para mantener constante su número y el funcionamiento correcto de sus componentes (Osellame, 2012; Koliaki, 2016; Diaz-Vegas, 2020).

Las mitocondrias se caracterizan por ser estructuras muy dinámicas donde se llevan a cabo diversos procesos metabólicos como: el ciclo de ácido tricarbóxico o ciclo de Krebs, la β -oxidación de ácidos grasos y la respiración celular. Está última depende de la cadena transportadora de electrones y su objetivo es generar energía en forma de ATP para las actividades celulares, además de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), la activación de la vía intrínseca de muerte celular o apoptosis y también es importante su participación en la regulación de las concentraciones intracelulares de calcio (O'Rourke, 2010; D'Ortencio, 2016), por tal motivo su correcto funcionamiento es de gran importancia.

Otro fenómeno mitocondrial muy estudiado es el poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm), se trata de un canal inespecífico que se forma en las membranas de la mitocondria y permite la liberación de sustancias intracelulares; aunque aún no se sabe a ciencia cierta cómo está constituido, cómo se regula ni bajo qué condiciones es asociado con patologías participa activamente en la regulación de calcio y en la activación de apoptosis con la liberación de citocromo C y otros factores proapoptóticas al citosol (Baines *et al.*, 2018).

SÍNTESIS MITOCONDRIAL DE ATP.

La función más comúnmente asociada con la mitocondria es la producción de energía en forma de ATP. Este proceso deriva del metabolismo de los azúcares, que inicia con la glucólisis, seguida de la participación de las mitocondrias para producir acetil coenzima A (Acetil-CoA), o a través del metabolismo de ácidos grasos, en la vía mitocondrial conocida como la beta oxidación, donde también se obtiene Acetil-CoA (Stiles, 2012; Gordaliza, 2019). Esta molécula integra las rutas del metabolismo energético de carbohidratos y lípidos que finalmente convergen en el ciclo de Krebs o ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Figura 3). El ciclo de Krebs es una vía integrada por varias reacciones secuenciales en donde se obtienen como productos citrato, NADH y FADH₂. Estos dos últimos son equivalentes reductores que acarrean electrones para activar un impresionante grupo de cinco complejos proteicos integrados en la membrana interna de la mitocondria, que en su conjunto se conocen como cadena de transporte de electrones o cadena respiratoria mitocondrial (CRM).

La función que desempeña la CRM es dual: por una parte transporta electrones de un complejo a otro con potenciales de energía redox descendientes que dan como resultado la liberación de energía; por otra parte, esa energía es utilizada por algunos de estos complejos para bombear protones de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal, con lo que se genera un gradiente y al mismo tiempo un potencial de membrana con una mayor concentración de protones en el espacio intermembranal y una menor concentración en la matriz mitocondrial, acompañado de un elevado consumo de oxígeno, molécula que funciona como aceptor final de

los electrones para reducirse y formar agua, una reacción realizada por el complejo IV o citocromo oxidasa. Debido a la desaparición de oxígeno para la formación de agua, es que este proceso se conoce comúnmente como respiración mitocondrial.

Finalmente, ese gradiente de protones generado por los complejos I, III y IV es utilizado por el complejo V, la ATP sintetasa, que funciona como un canal de protones cuyo flujo de retorno a la matriz mitocondrial impulsa un rotor molecular, generando energía mecánica que será utilizada para la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato (Figuras 3 y 4). Debido a estos procesos las mitocondrias son conocidas como las centrales energéticas de las células (Hollozsy, 1960; Granata, 2017).

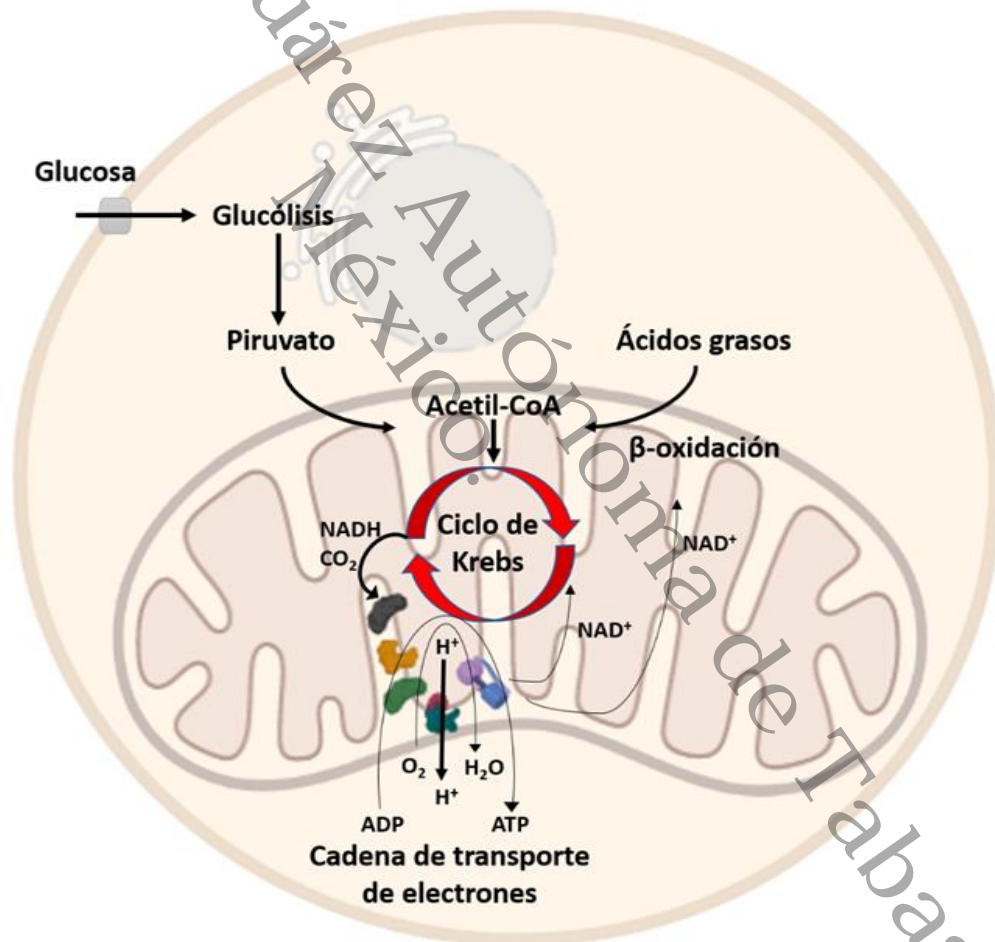


Figura 3. Rutas metabólicas en la célula. Se muestra de manera resumida las rutas metabólicas que alimentan a la cadena de transporte de electrones mitocondrial o cadena respiratoria mitocondrial (CRM), así como su ubicación en la célula.

LAS MITOCONDRIAS COMO GENERADORES DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO.

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son moléculas conocidas como radicales libres debido a que poseen electrones desapareados en su último orbital energético, que las hace inestables y altamente reactivas. Dentro de las ERO más abundantes se encuentran el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que se genera como un subproducto en el paso del complejo I al III en la cadena respiratoria mitocondrial (Figura 4), y de él se derivan el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), y el oxígeno singlete (1O_2) éstas consideradas como ERO de importancia biológica (Mittal, 2014; Le, 2014). Estas moléculas actúan como potentes agentes oxidantes y se pueden generar, además de las mitocondrias, en el citosol, la membrana plasmática y el retículo endoplásmico (De Tursi, 2013; Carvajal, 2019).

Existen situaciones en las cuales la cantidad de ERO aumenta significativamente y se crea un desbalance con respecto a los mecanismos antioxidantes que da lugar a un estado llamado estrés oxidativo (EOx), un estado tóxico que se caracteriza por la oxidación de componentes celulares como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos afectando su función biológica o incluso hacerlas disfuncionales (Aroor, 2012; Mikhed, 2015).

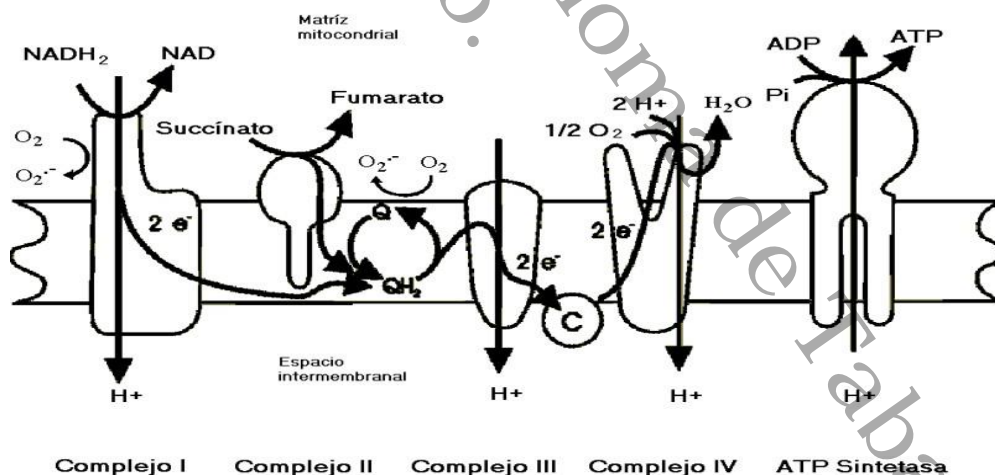


Figura 4. Cadena respiratoria. Se muestra el flujo de electrones a través de la cadena respiratoria, la translocación de protones por los complejos I, III y IV hacia el espacio intermembranal; además de la síntesis de ATP por la ATP-sintetasa a partir de ADP y fosfato y los sitios que se han identificado como formadores de radical superóxido: el complejo I y el ciclo Q de la ubiquinona (Tomado de Martínez-Abundis *et al.*, 2005).

LA MITOCONDRIA COMO REGULADOR DE LA APOPTOSIS.

La apoptosis es una vía de destrucción o muerte celular programada altamente regulada, que depende de la activación de señales intracelulares y ocurre de manera normal con la finalidad de lograr la destrucción de células dañadas o infectadas y evitar el desarrollo de enfermedades.

La vía de señalización apoptótica en la que participan las mitocondrias se conoce como la vía intrínseca. La activación de este proceso puede darse por daño a los ácidos nucleicos, por aumento en la concentración de calcio en el citosol, por estrés celular o aumento de especies reactivas de oxígeno, entre otras (Martinou, 2011) y está sujeta a una estricta regulación.

Existe toda una familia de proteínas conocida como Bcl-2 que media la participación de la mitocondria en la apoptosis y su función se centra en regular el aumento de la permeabilidad de la membrana externa, lo que permite la liberación de factores proapoptóticos como el Factor Inductor de Apoptosis (FIA), la proteína SMAC/Diablo y el citocromo C, que una vez fuera de la mitocondria favorecen la activación de caspasas efectoras como la Caspasa 3.

La familia de Bcl-2 está integrada por proteínas de tres categorías (Figura 5): las antiapoptóticas, que incluyen a Bcl-2 y Bcl-XL y están constituidas por cuatro dominios; las proapoptóticas multidominio como Bax y Bak que contienen solo tres dominios y, finalmente las proapoptóticas de un solo dominio como son Bid, PUMA, Bad, y Noxa (Orrenius, 2003; Varadi, 2004; MacAskill, 2010).

El proceso apoptótico mediado por la mitocondria se puede iniciar de diferentes formas; por ejemplo, se puede dar como respuesta a daño al ADN o como parte de la vía extrínseca mediada por receptores de muerte, en la cual la mitocondria es un amplificador de la señal.

Cualquiera que sea la razón que provoque su activación, se trata de un proceso altamente energético y genéticamente determinado que cuenta con un aumento en la expresión del gen p53, la proteína producida activa el sistema de proteínas proapoptóticas de la familia Bcl-2 aumentando la expresión de PUMA, Noxa, Bax,

y Bak; con el objetivo de aumentar la permeabilidad de la membrana externa, ya sea por la formación de canales inespecíficos o que alteren la función de canales o transportadores preexistentes, permitiendo el paso desregulado de solutos y agua hacia la matriz mitocondrial, que a su vez genera el hinchamiento de la mitocondria y la consecuente ruptura de la membrana externa.

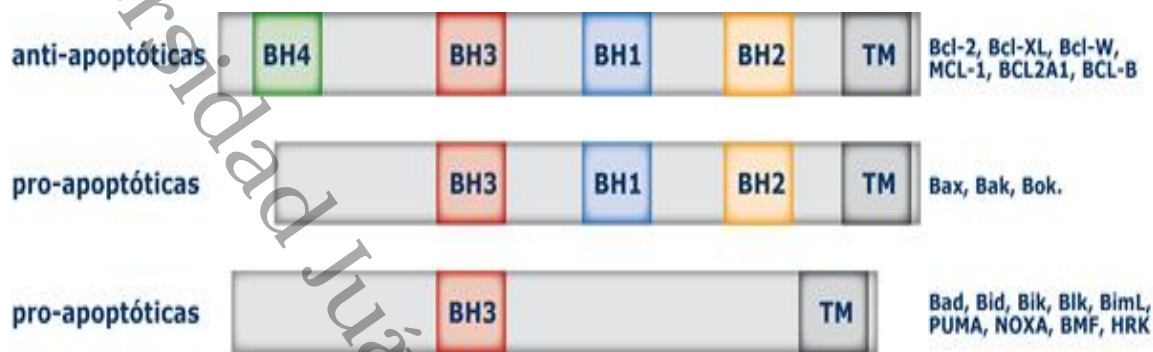


Figura 5. Estructuras de las subfamilias Bcl-2. La figura muestra los dominios que conforman la estructura de las proteínas de la familia Bcl-2 así como los integrantes de cada categoría. Dominios de homología característicos en las estructuras de las subfamilias de las proteínas Bcl-2. BH (Bcl-2 homology domain), BH1, BH2, BH3, BH4, TM (Dominio transmembrana, transmembrane domain). [Imagen], GMOT-UIINCS 2012 (<http://gmot.uib.es/moleculas/bclbax/bclbax.html>).

Por cualquiera de estos dos mecanismos, el resultado será la liberación de las moléculas proapoptóticas intramitocondriales al citosol, dando paso a la apoptosis con el desmantelamiento de organelos y destrucción de proteínas (Armstrong, 2006; Luo, 2007; Xie, 2007; Montessuit, 2010; Moreau, 2010).

La activación de las caspasas por proteínas que se liberan de la mitocondria, son considerados eventos amplificadores de la señal apoptótica que la vuelven prácticamente irreversible.

2.4.- EL PÁNCREAS Y SU FUNCIÓN.

El páncreas es un órgano dual con funciones tanto exocrinas como endócrinas encargado de la obtención y utilización de la energía, por lo que desempeña un papel muy relevante como centro regulador del metabolismo. Dentro de su estructura contiene células especializadas en la síntesis y liberación de hormonas reguladoras, tales como insulina, glucagón, polipéptido pancreático y somatostatina, además de su función digestiva como productor de enzimas digestivas como lipasa y amilasa pancreáticas. Una característica relevante asociada a sus funciones es su conformación celular con arreglos acinares encargados de las funciones digestivas y la organización de otros tipos de células en forma de islotes (islotes de Langerhans) que están conformados por diferentes tipos de células, dentro de las que destacan las células beta (β), además de las células alfa y delta, que son las encargadas de la producción y liberación de hormonas.

Las células beta, además de ser las más abundantes en los islotes (alrededor del 70% de la población celular total que integra el islote) son las encargadas de la síntesis y liberación de insulina, por lo que gobiernan la regulación del metabolismo de la glucosa. En porcentaje le siguen las células alfa, encargadas de la liberación de glucagón, hormona que favorece un aumento de los niveles de glucosa en sangre, y en menor proporción se encuentran las células delta, epsilon y las liberadoras de polipéptido pancreático; estas últimas participan principalmente en procesos digestivos (Figura 6).

Debido a la abundancia de células beta, éstas se agrupan principalmente hacia el centro de los islotes, interconectados estratégicamente formando una red con el tejido vascular.

Para cumplir correctamente con su función, las células beta presentan algunas particularidades en comparación con la mayoría de las otras células del organismo; por ejemplo, expresan de manera casi exclusiva una isoforma de transportador de glucosa (GLUT2) que tiene una alta afinidad por la glucosa, por lo que permite el paso de glucosa al interior de la célula aún a niveles muy bajos haciéndolas muy sensibles a cambios en las concentraciones circulantes de esta molécula.

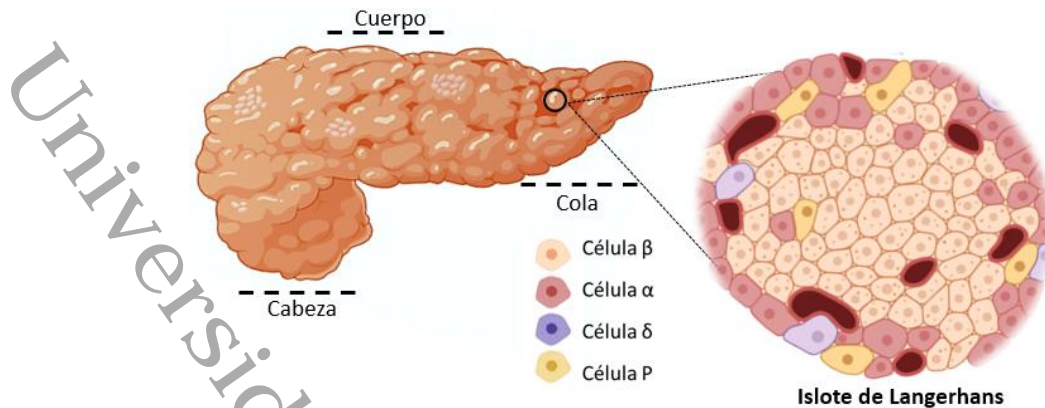


Figura 6. Representación esquemática del páncreas y los islotes de Langerhans. La figura muestra la estructura del páncreas (lado izquierdo) y la conformación de líneas celulares que integran los islotes de Langerhans (derecha). Los óvalos en color rojo/guinda representan los vasos sanguíneos.

Otra particularidad de las células beta es la presencia de una isoforma de la enzima Hexoquinasa I (Glucoquinasa) que regula la entrada de la glucosa a la vía de la glucólisis y que integra los niveles de glucosa en sangre con la liberación de insulina (Röder, 2016).

Por otra parte, se ha descrito que las células beta son ricas en mitocondrias, con el fin de cubrir la importante demanda de energía en forma de ATP que requieren para la síntesis, producción y liberación de insulina, debido a que es un proceso con un alto gasto energético (Fu, 2013; Hasnain, 2016). En las células beta pancreáticas, las mitocondrias son encargadas de acoplar el estímulo de la glucosa y la secreción de insulina. Esto ocurre cuando el piruvato generado durante la glucólisis se transporta a la mitocondria y proporciona átomos de carbono al ciclo de Krebs para producir ATP; de tal forma que un incremento en la concentración de glucosa extracelular se traduce en un aumento de ATP en el citoplasma, esto a su vez bloquea los canales de potasio, despolarizando la membrana y activando a los canales de calcio dependientes de voltaje. Finalmente, el incremento de calcio en el citoplasma activa la maquinaria secretora granular por exocitosis. (Tébar *et al.*, 2009; Corro *et al.*, 2017). Está bien establecido que el buen funcionamiento de un órgano depende del buen estado de la red mitocondrial en una célula, en este caso el páncreas no es la excepción.

2.5.- ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL EN EL PÁNCREAS.

El páncreas es un órgano susceptible de presentar situaciones disfuncionales que desencadenan una variedad de enfermedades agudas o crónicas relacionadas con patologías endocrinas, cardiovasculares, neurodegenerativas y neoplásicas. La presencia de alteraciones en la función pancreática puede deberse a un aumento en el estrés oxidativo, una respuesta inflamatoria exacerbada que daña el órgano, así como alteraciones en los mecanismos de regulación de la función y la dinámica mitocondrial (Ylilialio, 2012).

Las células beta, regulan los niveles de glucosa en sangre a través de la síntesis y liberación de insulina y, por lo tanto, cualquier alteración en su funcionamiento puede afectar la homeostasis de esta molécula, además de originar las condiciones para desarrollar diversas patologías (Villamayor, 2018). Dentro de las principales causas de daño en las células se encuentran el estrés oxidativo general y del retículo endoplásmico debido a la producción en exceso de radicales libres, que puede activar el sistema inmune y provocar a su vez la activación de linfocitos T y macrófagos, así como fomentar la liberación de citocinas proinflamatorias que potencializan la formación de más radicales libres, aumentando el nivel de daño celular.

El estrés oxidativo representa una forma de daño que evoluciona gradualmente y se traduce en hiperplasia de las células, lo que interrumpe principalmente la biosíntesis y secreción de insulina; este fenómeno junto con la señalización inflamatoria de las citocinas liberadas, dirigen a las células a un proceso de apoptosis. Finalmente, las células sufren una disfunción que condicionará el desarrollo de resistencia a la insulina y generará las condiciones para la instauración de diabetes tipo 2 (Walker, 2011).

Como se mencionó antes la fosforilación oxidativa es un proceso donde se generan especies reactivas de oxígeno (ROS) como productos secundarios. Estas moléculas están directamente relacionadas con la disfunción mitocondrial debido a que su producción puede volverse excesiva bajo ciertas condiciones, causando degeneración de las vías de señalización homeostática para la proliferación y

diferenciación celular, además de que producen estrés oxidativo y afectan las rutas biosintéticas de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, que son componentes importantes de las células. Toda esta secuencia de eventos puede estar relacionada con el establecimiento de un estado citotóxico en el páncreas (Muller, 2004, Hamanaka, 2010). Las alteraciones en cualquiera de las funciones que cumple la mitocondria pueden afectar la función del órgano al que pertenezcan y manifestarse como enfermedad a cualquier edad, por lo tanto, la naturaleza de la enfermedad estará asociada con el nivel de alteración que sufra la mitocondria (Vaquero-Raya, 2005).

El estado inflamatorio del páncreas resulta ser un ciclo vicioso de generación de ERO que provoca estrés oxidativo, ya sea por el aumento mismo de especies reactivas o por una sobrecarga en la concentración de calcio en las mitocondrias, lo que afecta finalmente la función mitocondrial, provoca una reducción en la síntesis de ATP, así como la despolarización y fragmentación mitocondrial aumentada.

El estrés pancreático resultante, está acompañado de una mitofagia alterada por la desregulación del metabolismo de lípidos, lo que se refleja en la pérdida de masa pancreática y en una disminución del tamaño de las células, además de que se ve comprometida la regeneración celular (Raffaello, 2016; Biczko, 2018). A nivel del órgano, se establece un estado de enfermedad, donde existe una menor generación o reciclado de mitocondrias y la disminución en la producción de insulina, propiciando de esta manera el establecimiento de la diabetes (Soleimanpur, 2014).

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad es considerada uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial debido al descontrolado aumento de su prevalencia, así como a los múltiples factores de riesgo para desarrollar diversas enfermedades; es por esto que ha desencadenado un gran interés tanto para los servicios de salud como para la comunidad científica.

La obesidad es causada por múltiples factores, sin embargo, el descontrol de una dieta es el principal motivo de su aparición, un excesivo consumo de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos es la principal causa de la aparición de este padecimiento (Versiani *et al.*, 2014). En México este problema de salud se ha incrementado desmesuradamente en las últimas décadas principalmente por el estilo de vida sedentaria y el consumo de dietas hipercalóricas.

Los daños que provoca el estado inflamatorio de la obesidad repercuten en diversos órganos y sistemas entre ellos el páncreas (De Tursi *et al.*, 2013); que desempeña su papel principal en la regulación de glucosa y otras funciones vitales a través de la síntesis y liberación de insulina, por lo que su fallo compromete el estado de salud del organismo (Saltiel *et al.*, 2008). Frente a este panorama es importante analizar el efecto que tiene la obesidad inducida por el consumo de dietas hipercalóricas a base de carbohidratos o lípidos sobre la producción, liberación de insulina y sobre la función mitocondrial de las células β -pancreáticas.

4.- HIPÓTESIS

Las dietas hipercalóricas producirán daño a nivel de las células β -pancreáticas afectando negativamente la función mitocondrial, la síntesis y liberación de insulina, esto se observará con mayor severidad en el grupo sacarosa, debido a sus características bioquímicas, metabólicas y su relación directa con el funcionamiento del páncreas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

5.- JUSTIFICACIÓN

El sobrepeso y la obesidad están vinculados a un gran número de muertes y gastos excesivos en salud en todo el mundo. Los datos registrados por la Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), mostraron que, en el 2018, el 72.5 % de los adultos en México, tuvieron sobrepeso u obesidad cuando el promedio de la OECD fue del 55.6%.

La obesidad abdominal constituye el principal componente del síndrome metabólico, que además se integra con hiperglicemia, dislipidemias, alteración en la tolerancia a la glucosa y la resistencia a insulina. En esta condición, las células beta pancreáticas sufren un severo daño fisiológico asociado con estrés oxidativo que puede conducir a una disfunción mitocondrial, generando diversas patologías asociadas con alteraciones en la síntesis y liberación de insulina (Myers *et al.*, 2002; Argente *et al.*, 2006). La obesidad es causada por múltiples factores; sin embargo, el consumo excesivo de dietas hipercalóricas (un excesivo consumo de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos) es considerado como la principal causa de su aparición (Versiani *et al.*, 2014). Es por esto que la generación de conocimiento específico sobre el efecto que puede tener el consumo de dietas hipercalóricas a base de lípidos o carbohidratos sobre las células beta del páncreas es de suma importancia, ya que puede impactar en la generación de mejores tratamientos dietéticos y farmacológicos en pacientes obesos con riesgo de alteraciones en el metabolismo de la glucosa asociado con defectos en la liberación de insulina y la función mitocondrial.

6.- OBJETIVOS

6.1.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de la obesidad inducida por dietas alta en sacarosa o grasa sobre la producción, liberación de insulina y la función mitocondrial de las células β -pancreáticas en ratas.

6.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Determinar la presencia de obesidad con el cálculo del IMC y de alteraciones metabólicas inducidas en los animales por el consumo crónico de una dieta alta en sacarosa y una dieta alta en grasa.

2.- Comparar la concentración de especies reactivas de oxígeno en ambas dietas.

3.- Evaluar la función mitocondrial de las células β pancreáticas (potencial de membrana, apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial).

4.- Analizar las alteraciones en la producción y secreción de insulina en las células beta de los islotes de Langerhans en ambas dietas.

7.- METODOLOGÍA

7.1.- ANIMALES Y DIETAS

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar recién destetadas, con un peso aproximado de 70 g, adquiridas de la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal (UPCEA) de la Universidad Autónoma Juárez de Tabasco. Los animales fueron mantenidos en cajas de acrílico, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y temperatura controlada (24 ± 1 °C). Para el cuidado de los animales se siguió la normativa mexicana para el uso de animales en investigación (NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, “Especificaciones técnicas para la producción, uso y cuidado de animales de experimentación”) y el protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la UJAT, con número de registro 0423.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos, destinados al consumo de dos dietas hipercalóricas y a un grupo con dieta control durante 12 meses (Tabla 1).

Grupo control (Control)	Dieta alta en carbohidratos (Sacarosa)	Dieta alta en grasa (Grasa)
Agua potable+ alimento comercial con 5% grasa*	Agua con azúcar refinada (30%) + alimento comercial con 5% grasa*	Agua potable + alimento con 30% de grasa (25% de manteca de cerdo adicionada)

Tabla 1. Características de las dietas consumidas durante los 12 meses.

*Alimento para uso en animales de laboratorio LabDiet 5001.

7.2.- SEGUIMIENTO

Peso corporal: De manera mensual se llevó el seguimiento de peso corporal de cada rata, la determinación se realizó colocando al animal en un contenedor de plástico con tapa para inmovilizarlo, posteriormente se colocó el recipiente en una balanza granataria de la marca OHANUS y se procedió a determinar el peso, restando el peso del contenedor.

Ingesta calórica: Para calcular las calorías consumidas en cada dieta, se consideró la información nutrimental del alimento comercial Lab Diet 5001 (4.07 Kcal/g), de la azúcar refinada comercial (20 Kcal/5g) y de la manteca de cerdo (135Kcal/15 g). Con estos valores se calculó el contenido calórico de cada dieta, obteniendo los siguientes valores:

- Solución de sacarosa al 30% contiene 1.2 Kcal/ mL.
- Alimento enriquecido con manteca cerdo contiene 5.75 Kcal/g.

La determinación final fue el resultado de medir el consumo de solución de sacarosa y gramos de alimento estándar o alto en grasa durante tres días consecutivos por cada caja. Por último, se multiplicó el total de gramos de alimento y mililitros de solución consumidas por el contenido calórico y se dividió por los tres días y por las ratas contenidas en cada caja para obtener las calorías consumidas por rata por día.

Presión arterial: Al término de la fase de inducción de obesidad se midió la presión arterial utilizando un sistema no invasivo (Small Animal Tail Noninvasive blood Pressure System, Biopac Systems, Inc.). Para ello se colocó al animal en un restrictor de movimiento que permitía dejar la cola libre para hacer las mediciones con ayuda de un transductor circular (9.5 mm) conectado a una consola para el registro en una computadora.

El procedimiento se realizó con una fase de habituación durante tres días previos a la determinación definitiva, con la finalidad de minimizar el estrés de los animales y obtener resultados más consistentes. El procedimiento se inició calentando a 30 °C una caja grande de cartón con ayuda de dos focos incandescentes; posteriormente se colocaron dentro las ratas en su caja de acrílico y se mantuvieron así por 20 minutos, posterior a este tiempo se realizó la medición tomando 10 registros de cada animal.

Al cuarto día se realizó la medición definitiva con el proceso descrito para la habituación. Se tomaron los 10 registros de cada animal y con estos valores se obtuvieron las medias de presión sistólica y diastólica por animal y posteriormente por grupo; se calculó también la presión arterial media (PAM) y se realizó la comparación entre grupos de los valores obtenidos.

7.3.- DETERMINACIÓN DE OBESIDAD

Para la determinación de la obesidad se realizó el cálculo de IMC midiendo el peso corporal de cada rata al final de los 12 meses de consumo de las dietas y su longitud de nariz a la base de la cola de acuerdo con un reporte previo (Novelli *et al.*, 2006). Adicionalmente se cuantificó el porcentaje de grasa retroperitoneal y abdominal total (visceral, retroperitoneal y epididimal) de cada rata, con el fin de obtener un indicador de obesidad central.

Las ratas se sacrificaron por decapitación, se disecó y peso el tejido graso retroperitoneal solo y en adición de la grasa visceral y epididimal, utilizando una balanza analítica.

Los porcentajes de grasa retroperitoneal y abdominal total se calcularon dividiendo el peso de la grasa entre el peso total de la rata y multiplicando por 100 el valor obtenido.

7.4.- CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA

Al finalizar los 12 meses, se dejó a las ratas en ayuno de toda la noche. A la mañana siguiente se determinó la concentración de glucosa basal, para lo cual se colocó a la rata en un restrictor de movimiento dejando solo la cola libre, ésta se atemperó sumergiéndola en agua tibia y posteriormente se hizo una incisión en la punta. Se obtuvo una muestra de 0.5 mL de la sangre por goteo y una de las gotas se utilizó para determinar la concentración de glucosa con la ayuda de un glucómetro comercial (AccuCheck).

Una vez obtenida la muestra y determinada la glucosa en ayuno, se realizó la administración oral de una solución de dextrosa (glucosa) a una dosis de 2g/Kg de peso; y se realizó la determinación de las concentraciones de glucosa a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos, tomando una gota de sangre de la misma incisión en la cola (Pighin *et al.*, 2003).

7.5.- DETERMINACIÓN DE INSULINA EN SANGRE.

La concentración de insulina en sangre se midió en las muestras obtenidas de los animales con ayuno de toda la noche, de manera simultánea a la determinación de

glucosa. Se colocó al animal en un restrictor de movimiento dejando la cola expuesta, se calentó con agua tibia (37°C), se secó con una toalla de papel y se realizó una incisión en la punta, se recolectó 0.5 mL de sangre por goteo. Se realizó el mismo procedimiento para la obtención de otra muestra de sangre de la misma incisión, a los 15 minutos posteriores a la ingesta vía oral de la solución de glucosa a una dosis de 2g/Kg de peso. De estas muestras se obtuvo el suero por centrifugación a 3500 rpm/5min y se utilizó una alícuota de 100 µL para la determinación de insulina con un kit comercial de Elisa (Rat insulin ELISA Kit, ThermoScientific).

Por otra parte, se empleó el modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (HOMA-IR) a partir de los datos obtenidos de glucosa e insulina en ayuno (Pepín *et al.*, 2016; Pan, 2018).

7.6.- AISLAMIENTO DE ISLOTES DE LANGERHANS

Se empleó una adaptación del método de digestión con colagenasa. Una vez que la rata fue sacrificada, se le realizó una laparotomía con una incisión en V desde la región pélvica al tórax, ya expuesta la cavidad abdominal, se localizó el páncreas y se procedió a distenderlo con una inyección de 5 mL de solución de colagenasa (1mg/mL en buffer HBSS, Hank's Balancead Salt Solution, Ver anexo 1) que se aplicó a través del conducto biliar común, ingresando la aguja a la altura de la ampolla de Váter (Gotoh, 1985). Una vez insuflado, se recuperó todo el páncreas separándolo de los órganos anexos; y se incubó a 37° C por 13 minutos en baño de agua con la adición de otros 5 mL de la misma solución de colagenasa. El proceso de digestión se detuvo con la adición de 10 mL de buffer HBSS completo (Buffer Hank's, BSA al 4% disuelta en sales de spinner a pH 7.4, con 500 µL de mezcla de antibióticos. Ver anexo 2) frío a 4° C (Li *et al.*, 2009).

Posteriormente se empleó un método de centrifugación en gradiente discontinuo de densidad con Lymphoprep (densidad 1.077 g/ML, Sigma-Aldrich). Para ello se resuspendió el tejido en 10 mL de buffer HBSS completo con agitación manual vigorosa hasta que la solución se tornó de color melón; la suspensión se lavó con 10 mL del mismo buffer en tres ocasiones, centrifugando a 1400 rpm por 2 minutos.

Posteriormente, el botón obtenido de la centrifugación se resuspendió en 5 mL de Lymphoprep y se formó el gradiente añadiendo 5 mL de buffer HBSS completo; se centrifugó a 3500 rpm por 25 minutos quitando el freno y aceleración. Los islotes se recuperaron en la fase superior e intermedia que se formó como resultado de la centrifugación (Villarreal, 2019).

Se tomaron aproximadamente 5 mL de la fase superior y de la interfase que contenían los islotes, se lavó la suspensión de islotes en tres ocasiones con 10 mL de buffer HBSS completo y finalmente se resuspendieron en 10 mL de buffer HBSS completo para ser atrapados individualmente con ayuda de una micropipeta y observando a través de un estereoscopio.

Los islotes de Langerhans se depositaron en medio DMEM (Dulbecco Modified Eagle Minimal Essential medium complementado con 10% de suero fetal bovino y una mezcla de antibiótico/antimicótico) donde se mantuvieron por 24 h para su estabilización antes de ser utilizados en determinaciones posteriores.

7.7.- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Para este fin, los islotes en cultivo fueron lavados en 3 ocasiones con 4 mL de buffer HBSS sin complementar, se recuperaron por centrifugación a 1400 rpm durante dos minutos. Después del último lavado, el botón se resuspendió en 1 mL de buffer y se incubó con 2 Mm de la sonda 2',7'-Diacetato de Diclórofluoresceína (DCFH-DA) a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, se lavaron en tres ocasiones con buffer HBSS sin complementar.

Finalmente, el botón se resuspendió en 100 µL del mismo buffer y se colocaron 40 µL de la suspensión de islotes en la tapa de una placa de 40 pozos invertida, se cubrieron con cubreobjetos y se obtuvieron imágenes de los islotes con la ayuda de un microscopio de fluorescencia a 10X y 40X usando un filtro para fluorescencia.

Se midió la intensidad de la fluorescencia y el tamaño de cada islote con el software ImageJ (Martínez-Abundis *et al.*, 2012).

7.8.- POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL

Los islotes fueron lavados en tres ocasiones con 4 mL de buffer HBSS sin completar y recuperados por centrifugación a 1400 rpm por dos minutos, posteriormente se incubaron con 1 Mm de rodamina 123 (Rh123, Sigma-Aldrich) durante 30 minutos a 37°C, fueron lavados en tres ocasiones y se resuspendieron en 100 µL de buffer HBSS sin completar (Pighin *et al.*, 2003; Pepín *et al.*, 2016).

Se colocaron 40 µL de la suspensión de islotes en la tapa de una placa de 40 pozos invertida, se cubrieron con cubreobjetos y se obtuvieron imágenes de los islotes con un microscopio de fluorescencia a 10X y 40X usando el filtro correspondiente para fluorescencia. De las imágenes se midieron la intensidad de la fluorescencia y el tamaño de cada islote con el software ImageJ (Martínez-Abundis *et al.*, 2012).

7.9.- APERTURA DEL PORO DE TRANSICIÓN DE LA PERMEABILIDAD MITOCONDRIAL

Se lavaron los islotes en tres ocasiones con buffer HBSS sin complementar, posteriormente se incubaron con 1mM de calceína acetoximetil éster (Calceína-AMT) y 5mM de cloruro de cobalto durante 30 minutos a 37°C en oscuridad. Después de lavarse 3 veces, fueron resuspendidos en 100 µL del mismo buffer sin fluoróforo.

Se colocaron 40 µL de la suspensión de islotes en la tapa de una placa de 40 pozos invertida, se cubrieron con cubreobjetos y se obtuvieron imágenes de los islotes con un microscopio de fluorescencia a 10X y 40X usando el filtro indicado para la fluorescencia. De las imágenes obtenidas se midieron la intensidad de la fluorescencia y el tamaño de cada islote con el software ImageJ (Martínez-Abundis *et al.*, 2012).

7.10.- WESTERN BLOT

Se evaluó el contenido de algunas de las principales proteínas involucradas en la síntesis, transporte y liberación de insulina en homogeneizados de páncreas, utilizando la técnica de Western Blot.

Las muestras de páncreas fueron procesadas en frío; se tomó en su totalidad el páncreas y se homogeneizó en buffer de lisis (Ver anexo 3) adicionado con inhibidores de proteasas, se empleó un homogeneizador con pistilo tipo Potter, posteriormente se centrifugó cada muestra a 10 000 rpm por 10 minutos. Se recuperó el sobrenadante y se realizó la cuantificación de proteínas totales en cada muestra con la técnica de Bradford, realizando una curva estándar con albúmina sérica bovina (BSA) como estándar, midiendo la absorbancia con la ayuda de un espectrofotómetro EPOCH a 495 nm.

Las muestras se prepararon a una concentración de 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de proteína utilizando como diluyente buffer de lisis sin inhibidores de proteasas y buffer Laemmli 5X (Ver anexo 4). Estas mezclas se incubaron a 100 °C por 10 minutos para desnaturalizar completamente las proteínas, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se conservaron a -20 °C para ser utilizadas posteriormente.

Una cantidad de 60 μg de proteínas de cada muestra fueron separadas por electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% a 100 V y transferidas a membrana de Fluoruro de polivinilideno (PVDF) por transferencia húmeda a 100 V durante dos horas, cuidando siempre de mantener fría la cámara de transferencia en un baño de hielo.

Las membranas fueron lavadas tres veces con buffer de lavado TTNS (ver anexo) durante 10 minutos, posteriormente se bloquearon durante dos horas con 10 mL de leche descremada al 5% en el mismo buffer, pasado el tiempo se lavaron nuevamente en tres ocasiones durante 10 minutos.

Una vez lavadas, las membranas se incubaron con anticuerpos primarios (1:1000) por una noche, con agitación constante y a 4 °C: los anticuerpos utilizados fueron Anti-GLUT-2 (Abcam), Anti-Syntaxina (Abcam), Anti-Vamp-2 (Abcam), Anti-Snap-25 (Abcam), Anti-GCK (Santa cruz), Anti-HK (Abcam), Anti-insulina (Abcam) y Anti-Maf A (Santa Cruz) diluidos en una solución de 3% de albúmina sérica bovina en TTNS. Se utilizó la proteína β -actina como control interno de carga (Sigma).

A la mañana siguiente, las membranas fueron lavadas tres veces con buffer TTNS e incubadas por dos horas con el anticuerpo secundario correspondiente diluido 1: 10 000 en TTNS con 5% de leche descremada; posterior a la incubación, se lavaron

en tres ocasiones por 10 minutos con TTNS, finalmente se revelaron utilizando un sustrato quimioluminiscente de peróxido de hidrogeno y luminol. La señal se capturó con un fotodocumentador (Image quant LAS500); las imágenes obtenidas fueron analizadas con el software ImageJ para hacer el análisis densimétrico.

7.11.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El valor estadístico de las diferencias se determinó mediante un ANOVA de una vía, seguido de la prueba *pos hoc* de Dunnet para las comparaciones múltiples entre los tres grupos. Para ello se utilizó el programa GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego.). Se consideró a las diferencias significativas con un valor de $p < 0.05$.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

8.- RESULTADOS

8.1.- SEGUIMIENTO DE PESO Y DETERMINACIÓN DE OBESIDAD.

La ganancia de peso durante la fase de inducción de la obesidad fue similar en los grupos Sacarosa (SAC) y Grasa (GRA) en comparación con el grupo Control (CTRL). En la Figura 7 panel A se presenta el seguimiento del peso corporal durante los 12 meses que duró el consumo de las dietas hipercalóricas. No se observaron diferencias significativas en ningún punto de la curva, teniendo como peso corporal final alrededor de 600g.

En el panel B de la misma Figura se muestra el peso final a los 12 meses de consumo de las dietas, sin diferencias entre los grupos.

Este mismo comportamiento se observó en la ingesta calórica medida al final de los 12 meses siendo ésta similar (89.03 cal/día) para los tres grupos (Figura 7, panel C) aun teniendo fuentes de alimentación enriquecidos en azúcar (30% de azúcar en el agua de beber) o grasa (30% de grasa en el alimento); sin embargo, al realizar el cálculo de las calorías consumidas, se observó diferencia en el consumo de alimento y agua; es decir, que los animales del grupo Sacarosa consumieron menos alimento pero una mayor cantidad de solución de sacarosa y el grupo Grasa tuvo un menor consumo de alimento que el grupo Control, pero mayor al grupo Sacarosa; por lo que, existió una sustitución de la fuente de alimentación dependiendo de la dieta administrada en cada grupo, esto se reflejó en la cantidad de calorías ingeridas y el peso final de los animales que resultaron con valores muy parecidos.

Por otro lado, en la evaluación del Índice de Masa Corporal (IMC), se observó que el grupo Sacarosa presentó un aumento ligero, pero significativo con respecto al Control (Figura 7, panel D; * $p < 0.05$), dicha diferencia no se apreció con el grupo Grasa.

En el cálculo del índice se percató que la longitud de la cabeza a la cola de los animales del grupo Sacarosa eran inferiores al resto de los animales que corresponden a los grupos Control y Grasa, esto permitió que al hacer el cálculo existiera esa ligera variación, considerando que el peso fue similar en los tres grupos.

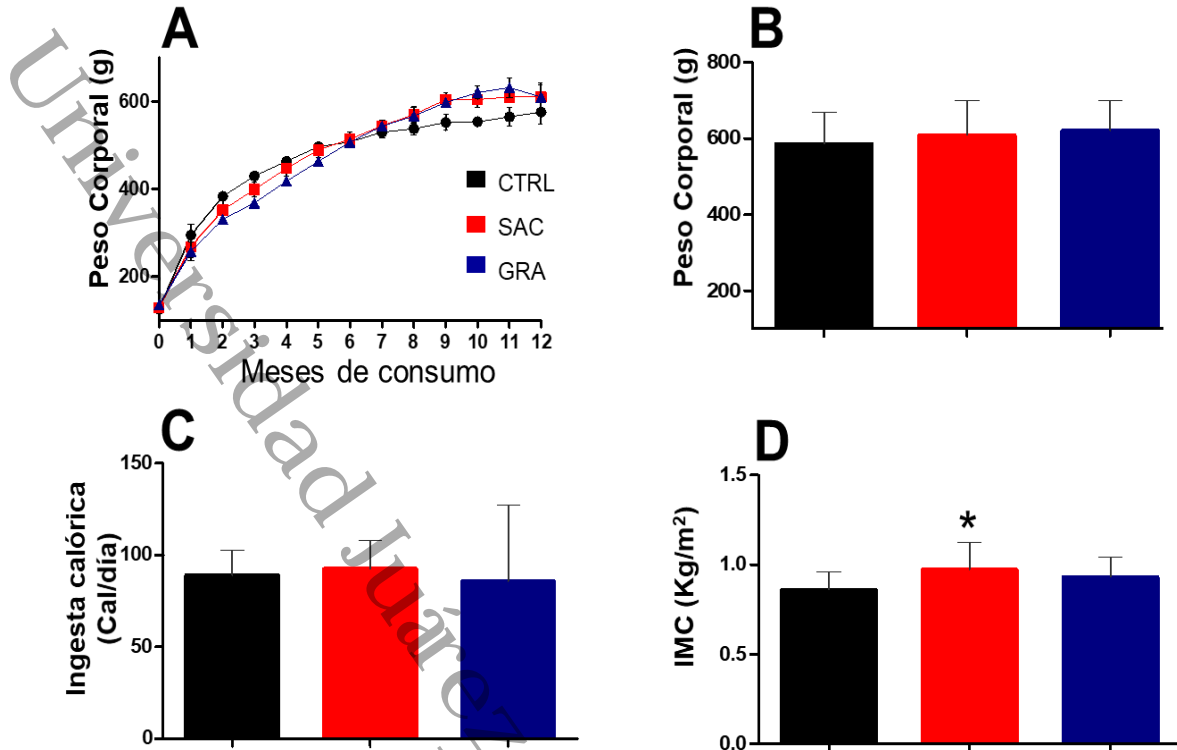


Figura 7. Determinación de obesidad. La figura muestra los valores de A) Peso corporal de ratas medido durante los 12 meses de consumo de la dieta alta en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL); B) Peso corporal al término de los 12 meses de dieta; C) Ingesta calórica a los 12 meses (calorías consumidas por rata cada 24h); D) índice de Masa Corporal (IMC) a los 12 meses de dieta. Comparación usando ANOVA con poshoc de Dunnet vs grupo CTRL; * $p < 0.05$; las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos $n=12$ por grupo.

Para analizar la composición corporal, se cuantificó la cantidad de tejido grasa retroperitoneal y abdominal total (grasa retroperitoneal, visceral y epididimal) y fue reportado como porcentaje con respecto al peso corporal de la rata.

A diferencia del peso corporal y la ingesta calóricas, los porcentajes de grasa tanto abdominal total y retroperitoneal fueron significativamente mayores en los grupos con dietas hipercalóricas con respecto al grupo Control, conservando entre estas dietas porcentajes similares tal y como se observa en la Figura 8.

Los valores fueron hasta 6% para la grasa retroperitoneal y por arriba del 10% en grasa abdominal total como se aprecia en el panel A y B de la figura 8, ambas con un valor de $p < 0.05$.

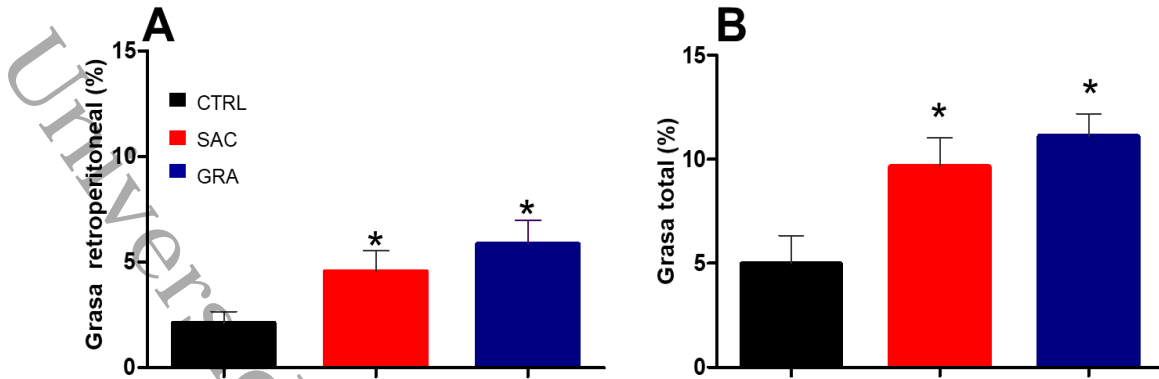


Figura 8. Determinación de porcentaje de grasa. La figura muestra los valores obtenidos a los 12 meses de consumo de las dietas alta en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL) para A) Porcentaje de grasa retroperitoneal y B) Porcentaje de grasa total. Comparación usando ANOVA con poshoc de Dunnet vs grupo CTRL; * $p < 0.05$; las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos $n=12$ por grupo.

8.2.- DETERMINACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.

Otro parámetro evaluado como parte del seguimiento fue la presión arterial; uno de los factores de riesgos relacionados principalmente con la obesidad, es un componente del síndrome metabólico y causante a su vez de graves problemas de salud como los infartos.

La determinación de la presión arterial a los doce meses del consumo de las dietas tuvo la finalidad de establecer si la hipertensión se encuentra entre los trastornos metabólicos asociados con el consumo de las dietas.

En la Figura 9, en el panel A se presentan los resultados de la presión diastólica y en el panel B la presión sistólica, siendo en esta última donde se aprecia un aumento significativo para ambas dietas y podemos observar que el valor medio del grupo Sacarosa es mayor que el del grupo Grasa, por lo que se observa en la gráfica una mayor diferencia de Sacarosa contra Control con valores de $p < 0.05$.

Adicionalmente se determinó la presión arterial media (PAM), que es el promedio entre la presión sistólica y diastólica de cada animal, este parámetro refleja la presión de las arterias durante el ciclo cardiaco, con lo que se obtienen un estimado sobre la presión de perfusión sanguínea que reciben los diferentes órganos; en el panel C de la Figura 9 se observa la PAM con una diferencia significativa en el grupo Sacarosa contra el grupo Control, lo que no sucede en el caso del grupo Grasa.

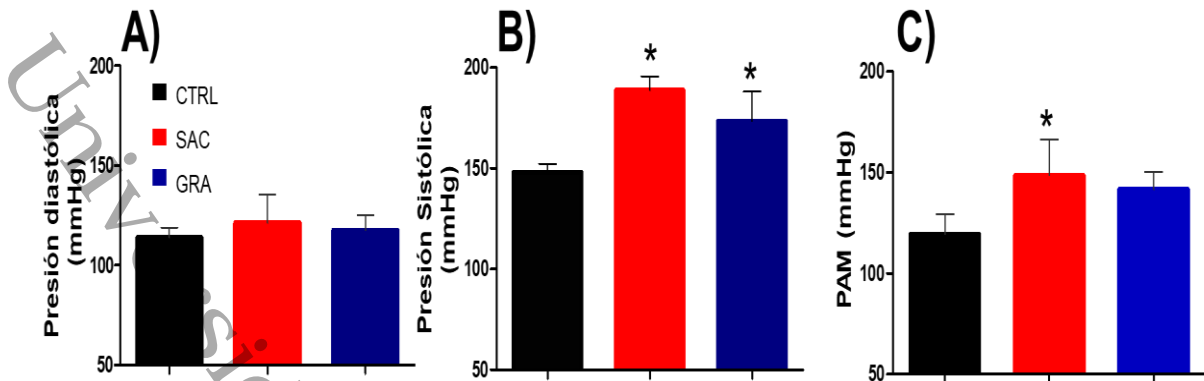


Figura 9. Determinación de presión arterial. Se muestran los valores obtenidos para A) Presión arterial diastólica. B) Presión arterial sistólica. C) Presión Arterial Media (PAM) a los 12 meses de consumo de dietas alta en grasa y alta en sacarosa. ANOVA con poshoc de Dunnet vs grupo CTRL; * $p < 0.05$; las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos $n=12$ por grupo.

8.3.- EVALUACIÓN DE NIVELES DE GLUCOSA E INSULINA.

Se determinaron los niveles de glucemia en estado basal (ayuno) en sangre a los 12 meses de inducción de obesidad.

Los resultados obtenidos indican que las ratas que consumieron ambas dietas hipercalóricas tienen mayor concentración de glucosa con respecto a los animales con dieta control; como se observa en el panel A de la Figura 10; los valores del grupo Control oscilan en 90mg/dL mientras que para los otros dos grupos se obtuvieron concentraciones superiores a 110 mg/dL, con una diferencia estadísticamente significativa (valor de * $p < 0.05$). Para evaluar la capacidad de estos animales para asimilar la glucosa, se les suministró un bolo de glucosa por vía oral (2mg/kg de peso) y se midió su concentración sanguínea los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración, lo que se conoce como curva de tolerancia a la glucosa. Los valores medios de glucosa a los 15 minutos fueron de 187 y 218 mg/dL para los grupos de Sacarosa y Grasa respectivamente, contra 136 mg/dL del grupo Control (Figura 10, panel B).

Adicionalmente se evaluaron los niveles de insulina; para ello se determinó la concentración de insulina en estado basal (ayuno de toda la noche) y a los 15 minutos después de la ingesta del bolo de glucosa. Como se observa en el panel C y D de la figura 10, se obtuvieron concentraciones mayores de insulina en ayuno en

los grupos con dietas hipercalóricas con respecto al grupo Control. A los 15 minutos después de recibir el bolo de glucosa, la concentración media aumento significativamente en ambos grupos de dietas con respecto al grupo Control alcanzado valores superiores a las 20 unidades, casi el doble del valor obtenido por el grupo Control.

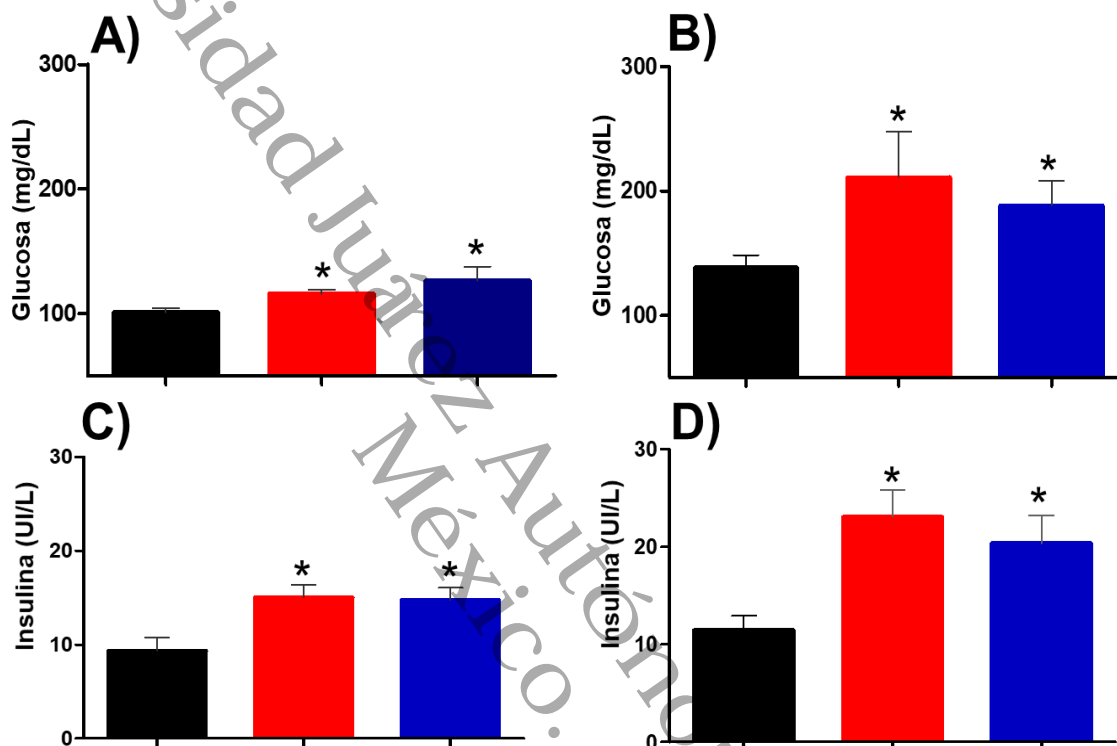


Figura 10. Metabolismo de glucosa e insulina. En la figura se muestran los valores obtenidos a los 12 meses de consumo de dietas alta en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL). A) Niveles de glucosa sérica en estado basal (ayuno). B) Niveles de glucosa a los 15 minutos después de recibir un bolo de glucosa (2 g/Kg de peso). C) Niveles de insulina sérica en estado basal y D) Niveles de insulina sérica a los 15 minutos después de recibir el bolo de glucosa. Comparación con ANOVA con poshoc de Dunnet vs grupo CTRL. * $p < 0.05$, las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos $n=12$ por grupo.

Los resultados anteriores son reflejo de un problema en cuanto a la regulación de los niveles de glucosa en sangre y claramente indican resistencia a la insulina en los dos grupos pues los valores basales son superiores en ambos.

Para analizar de manera más precisa el estado de la regulación de la glucosa y la posible resistencia a la insulina en los animales con dietas hipercalóricas, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa (administración oral de 2mg/kg después de un ayuno de toda la noche), en donde el grupo Grasa mostró concentraciones significativamente elevadas de glucosa sanguínea en casi todos los puntos de la curva (15, 30, 60, 90 minutos después del bolo), con excepción del tiempo 120 minutos, donde se sobreponen con los valores del grupo Control. Por otra parte, las concentraciones de glucosa para el grupo Sacarosa fueron significativamente mayores a las del grupo Control y al grupo de Grasa denotando un estado hiperglucémico postprandial que se mantiene por un tiempo muy prolongado (Figura 11, panel A). En adición, el índice HOMA-IR, calculado con los datos de las concentraciones de glucosa e insulina basal también demuestran que ambas dietas indujeron resistencia a la insulina con concentraciones de glucosa en ayuno elevadas, como se observa en el panel B de la misma figura.

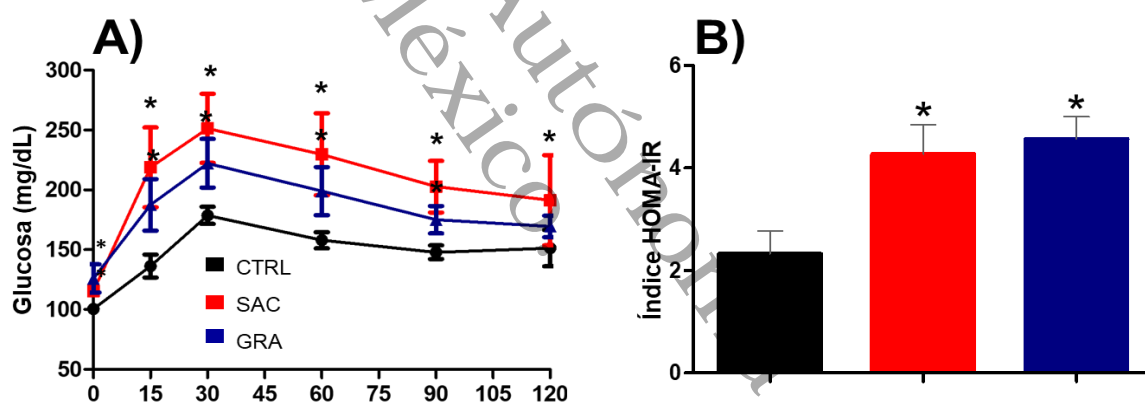


Figura 11. Tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. La figura muestra valores obtenidos a los 12 meses de consumo de dietas alta en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL). A) Curva de tolerancia a la glucosa con un bolo (2g/Kg de peso). B) Índice HOMA-IR (resistencia a la insulina). Comparación con ANOVA y poshoc de Dunnet vs grupo CTRL *p <0.05, las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos n= 12 por grupo.

Durante el sacrificio de los animales se capturaron imágenes del aspecto físico del organismo a los 12 meses de dietas, en donde se observó diferencia en cuanto a la coloración y tamaño de páncreas, así como en la distribución de tejido graso.

En la figura 12 se muestran imágenes representativas de los páncreas durante la laparotomía, para tener una referencia del cambio morfológico se calculó el área del órgano con ayuda del programa ImageJ y se convirtió el valor a cm^2 ; en donde se observa una disminución en cuanto al tamaño en los grupos de dietas comparada con el grupo Control, las figuras observadas en la parte superior corresponden a los páncreas unidos a los órganos anexos y se encuentra delimitado con la línea punteada; en la parte inferior se observan los páncreas disecados y en donde se tiene una mejor apreciación de sus dimensiones.

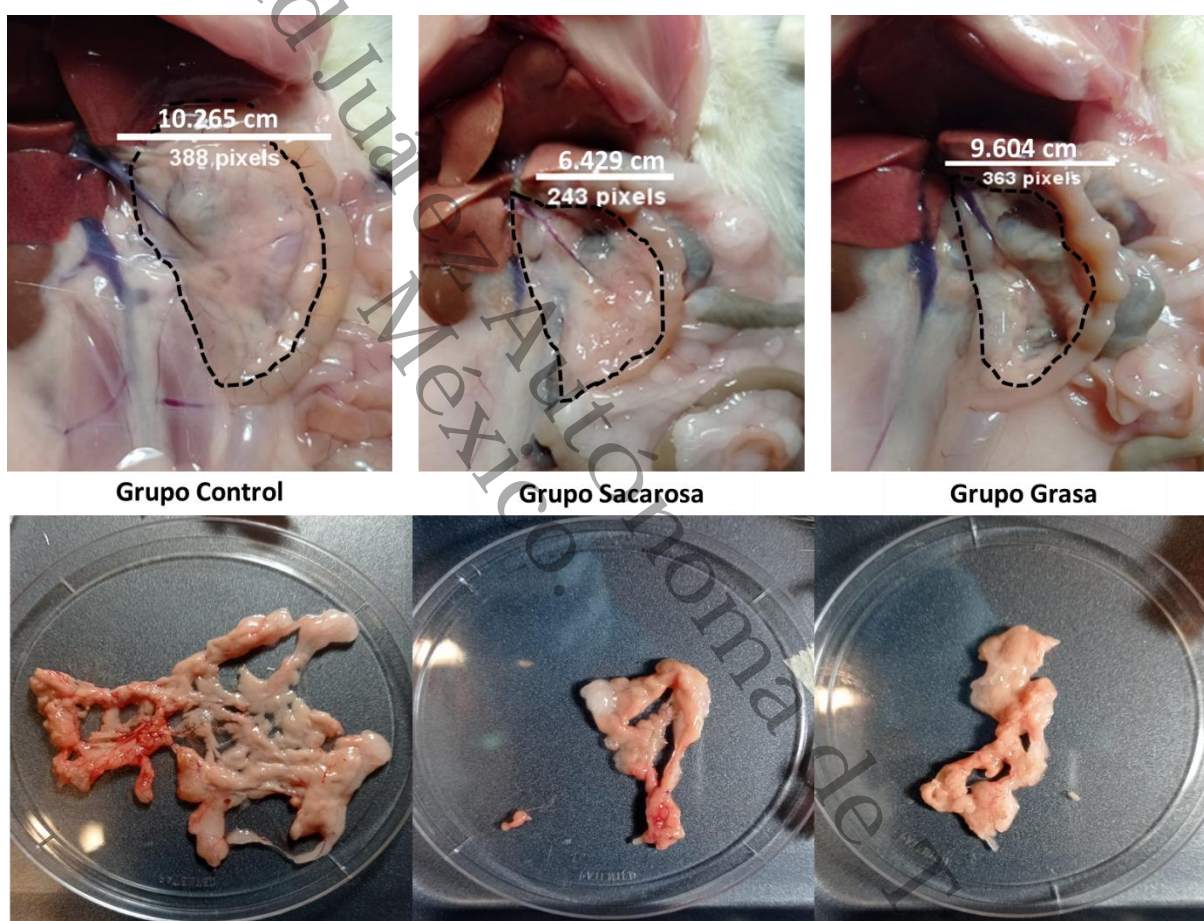


Figura 12. Características físicas del páncreas. En la parte superior se muestran fotografías representativas del páncreas expuesto en laparotomía, mientras que en la parte inferior los mismos páncreas disecados de ratas de los grupos Control, Sacarosa y Grasa después de 12 meses de consumo de las respectivas dietas. En las imágenes se indica el área en pixeles y su equivalente en cm^2 . El páncreas se encuentra limitado por la línea punteada. Imágenes ilustrativas del aspecto del páncreas previo a la extracción de islotes de Langerhans.

8.4.- ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL

Como parte de los objetivos planteados en este proyecto se evaluó en los islotes aislados, la función mitocondrial, a través de tres parámetros: concentración de radicales libres, potencial de membrana mitocondrial y apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm), utilizando técnicas de fluorescencia ya descritas en la metodología.

Para la determinación de la concentración de especies reactivas de oxígeno se utilizó la sonda fluorescente DCF-DA que permite la detección de peróxido de hidrógeno formado a partir del superóxido que es formado principalmente como subproducto de la fosforilación oxidativa. Se observó un aumento significativo en la fluorescencia del grupo Sacarosa con respecto a Control, lo que no ocurrió con el grupo Grasa, tal como se observa en la Figura 13, panel A. Para este análisis se midió la intensidad de la fluorescencia y se normalizó con el valor de la superficie total de cada islote.

Para medir el potencial de membrana se utilizó rodamina 123, un fluoróforo aniónico que se acumula en la mitocondria en relación directa con la intensidad del potencial de membrana. Los resultados fueron similares en los tres grupos, como se observa en el panel B de la Figura 13; es decir, no hay diferencia significativa, por lo que se deduce que las dietas no tuvieron efecto sobre la intensidad del potencial de membrana.

De igual forma, la evaluación de la apertura de PTPm con el fluoróforo calceína-AM no mostró algún cambio propiciado por las dietas, los valores obtenidos para los tres grupos fueron similares (Figura 13, panel C).

Este experimento nos sirvió al mismo tiempo para analizar el tamaño de los islotes, una variable que puede brindar información muy importante. Nuestros resultados mostraron que los islotes de los grupos Sacarosa y Grasa son considerablemente más pequeños que los obtenidos del grupo Control (Figura 13, panel D), lo que podría indicar un déficit en el desarrollo, atrofia celular o incluso podría explicarse por un exceso de apoptosis de las células. Otro dato que podría considerarse circunstancial es que el rendimiento del proceso de aislamiento de los islotes fue

considerablemente menor en el grupo de Sacarosa comparado con el grupo Control, sugiriendo que esos islotes son más sensibles al estrés de este proceso.

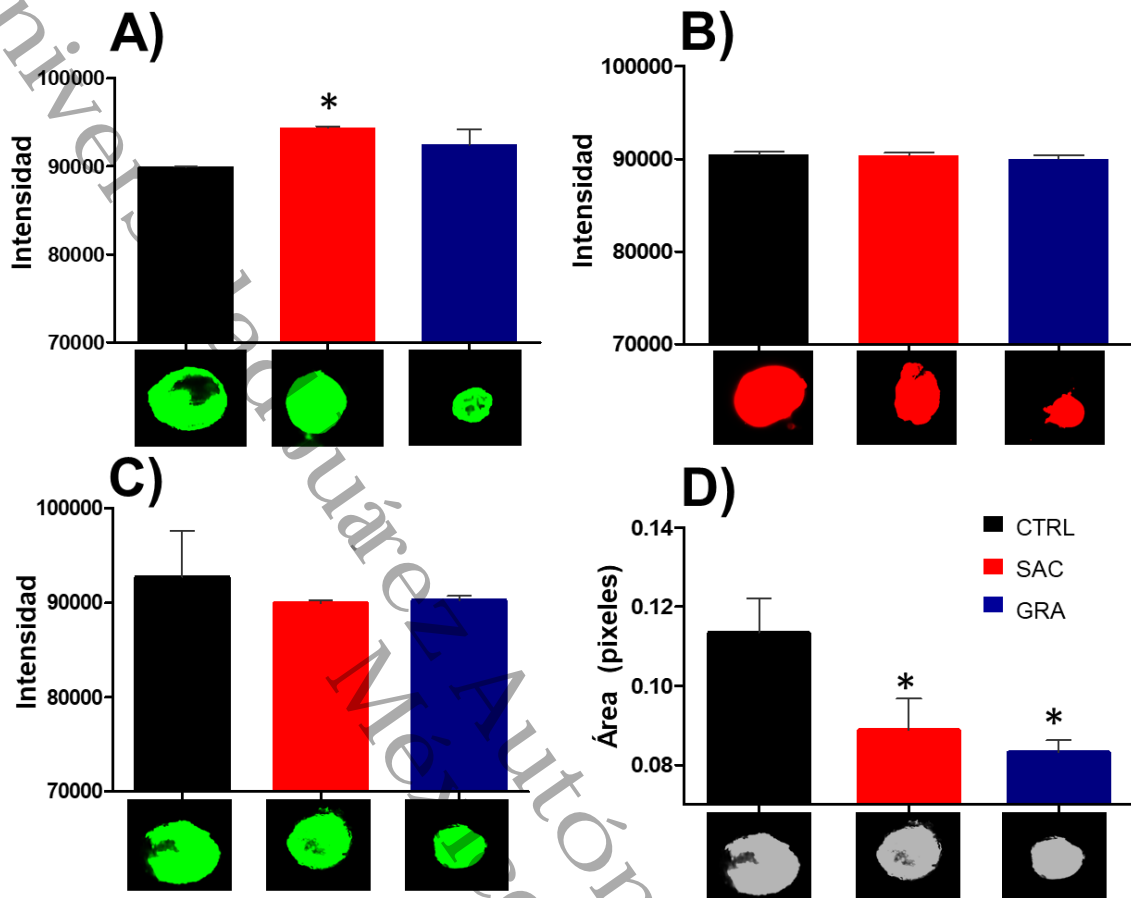


Figura 13. Análisis de la función mitocondrial. La figura muestra los valores de intensidad de fluorescencia de los islotes de Langerhans aislados de ratas después de 12 meses de consumo de las dietas altas en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL). A) Cuantificación de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) con DCF. B) Potencial de membrana mitocondrial analizado con Rodamina 123. C) Análisis de la apertura del Poro de Transición de la Permeabilidad mitocondrial (PTPm) utilizando Calceína-AMT. Las imágenes bajo las gráficas son fotografías representativas de los islotes. Imágenes tomadas con un microscopio de fluorescencia con objetivo de 40X. ANOVA con poshoc de Dunnet vs grupo CTRL * $p < 0.05$. Las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos $n=4$ por grupo.

Los resultados obtenidos hasta este punto indican que el metabolismo de la glucosa, así como el funcionamiento de las células beta y en general de los islotes pancreáticos han sido afectados por el consumo de las dietas, principalmente la

dieta alta en sacarosa. Es importante mencionar que el efecto de las dietas hipercalóricas sobre el tamaño y el estrés oxidativo de los islotes podría explicar las alteraciones en los niveles de insulina y, en consecuencia, en las alteraciones en los niveles de glucosa en las ratas en las diferentes condiciones experimentales.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

8.5.- EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN Y LIBERACIÓN DE INSULINA

La expresión de proteínas puede estar alterada, en un estado de obesidad, inflamación y citotoxicidad debido a los desajustes que se ocasionan en los órganos y células. En este sentido se determinaron, en homogeneizados de páncreas, las proteínas involucradas en la síntesis de insulina, iniciando por los transportadores GLUT-2 puesto que ellos permiten en primera instancia la entrada de glucosas a la célula beta para iniciar su proceso de regulación con la activación de la maquinaria de síntesis y liberación de insulina.

Los niveles de expresión de GLUT-2 a los 12 de meses de consumo de dietas hipercalóricas está significativamente reducida en las dos dietas, especialmente en el grupo Sacarosa, donde resulta casi indetectable comparado con el grupo Control (Figura 14, panel A).

Posteriormente se analizó la expresión de una de las enzimas más importantes en la regulación de la síntesis de insulina, la Glucoquinasa (Hexoquinasa I), que controla la entrada de la glucosa a la glucólisis. En el panel B de la figura 14 se observa una tendencia hacia el aumento, pero que a su vez no es suficiente para tener una diferencia significativa comparada con el control.

En cuanto a la determinación de la expresión de las proteínas involucradas en la formación, transporte y liberación de las vesículas de insulina sintetizada, se determinaron aquellas que forma el complejo SNARE, estas actúan desde la producción de las vesículas en retículo endoplasmático, en el empaquetamiento en el aparato de Golgi y finalmente actúan en la liberación de los gránulos de insulina por exocitosis; en este sentido se determinó el nivel de expresión de las proteínas Vamp-2, Sintaxina 1A, y SNAP-25.

La expresión de Vamp-2 en los grupos de Sacarosa y Grasa no cambió en comparación con el grupo Control (panel C, Figura 14), teniendo el valor medio muy similar entre los grupos. La expresión de Sintaxina 1A, otra proteína involucrada en la fusión de membranas para la liberación de las vesículas de insulina, disminuyó significativamente en el grupo Sacarosa, a diferencia del grupo de Grasa que mantuvo los valores similares al grupo Control como se observa en el panel D. Para

el caso de SNAP-25, otra de las proteínas que participan en la fusión de las vesículas de insulina, el comportamiento fue mucho más acentuado, debido a que la expresión de esta proteína disminuyó en los dos grupos con dietas hipercalóricas, en comparación con el grupo Control (panel E, Figura 14).

Finalmente, en los paneles F y G se muestra la expresión de un factor de transcripción Maf A para el gen de insulina en la célula beta pancreática, y los niveles de expresión de la insulina. En ambos casos se observa una tendencia con las medias superiores a los del grupo Control; sin embargo, solo en el caso del factor de transcripción y específicamente el grupo de Grasa logra ser diferente estadísticamente (panel F).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

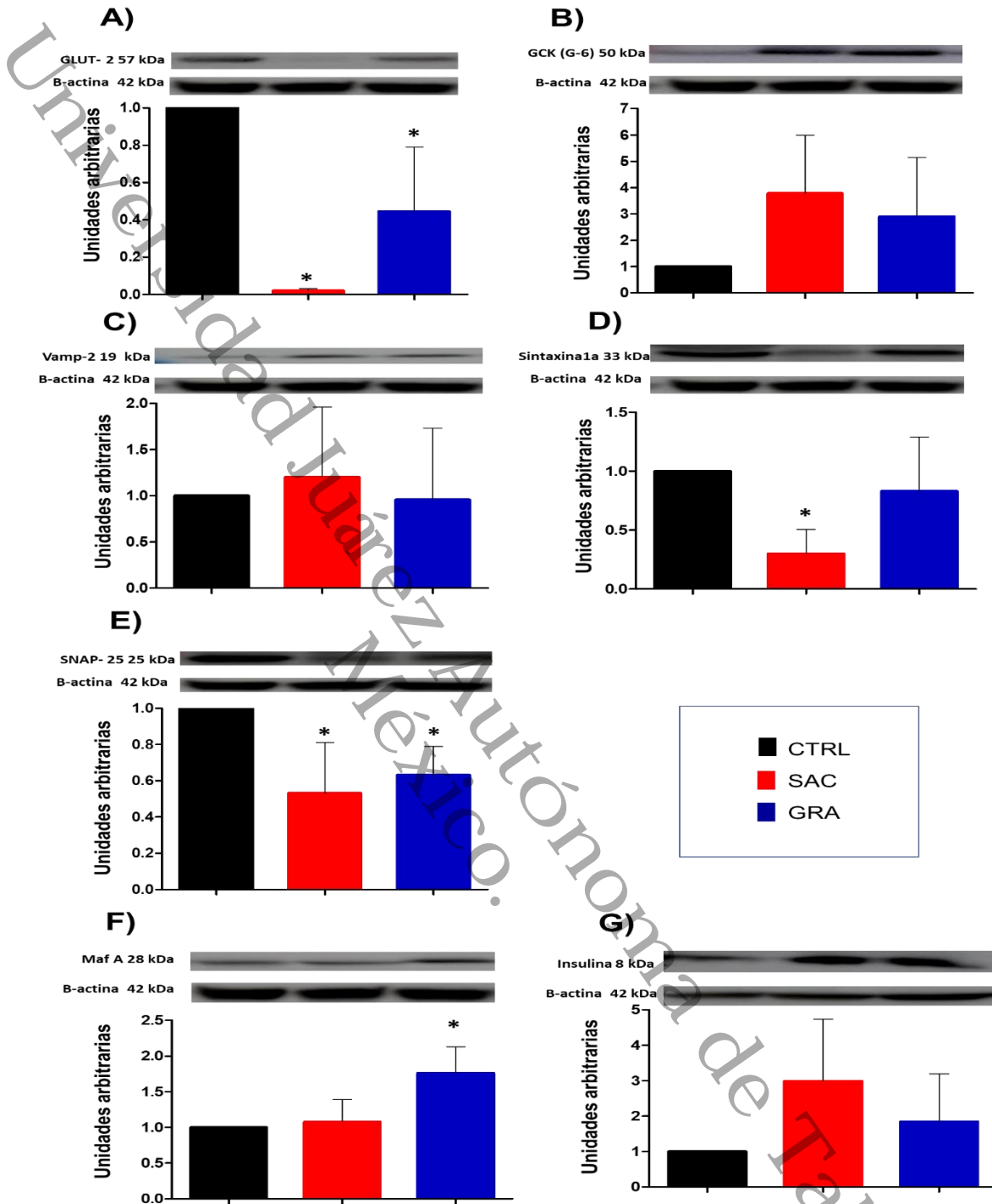


Figura 14. Expresión de proteínas involucradas en la producción y liberación de insulina en páncreas. Niveles de expresión de proteínas en homogeneizados de páncreas de ratas a 12 meses dieta alta en sacarosa (SAC) o alta en grasa (GRA) y dieta control (CTRL); proteínas analizadas por western Blot: A) Transportador de glucosa 2 (GLUT-2), B) Hexoquinasa pancreática (GSK), C) VAMP-2, D) Sintaxina 1A, E) SNAP-25, F) Maf-A y G) Insulina. Comparación realizada con ANOVA y poshoc de Dunnett vs grupo CTRL *p < 0.05 las barras representan la media \pm DE. Para todos los experimentos n=4 por grupo.

9.- DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en los experimentos reflejan cambios significativos entre los grupos de dietas hipercalóricas y el grupo control, los datos de la determinación de obesidad obtenidos del peso corporal, la ingesta calórica y el IMC, coinciden con los datos publicados anteriormente por otros grupos de investigadores, como los reportado en 2017 por Burgeiro en donde reportó que el peso final fue similar entre los grupos después del consumo de una dieta de seis meses, es decir; no encontró diferencia significativa entre las dietas Sacarosa y Grasa con respecto al Control; esto debido a que existe una especie de compensación en la ingesta de alimento y agua; es decir, el grupo Sacarosa tuvo mayor ingesta de solución con azúcar y un menor consumo de alimento, por otra parte el grupo Grasa tuvo un menor consumo de alimento enriquecido en comparación con el grupo Control, pero mayor que el grupo Sacarosa, propiciando un equilibrio calórico lo que se reflejó finalmente en el peso de las ratas. Esta condición también fue observada por Schwaz en 2015, en donde describió que esto es posible debido a las características de las dietas *per se* en el organismo, en este sentido se ha reportado que las dietas alta en grasa pueden disminuir el apetito, contrario a las dietas altas en carbohidratos; además, es importante señalar que aunque la ingesta calórica es similar existe una diferencia en cuanto al metabolismo y absorción de nutrientes, puesto que la dietas son diferentes, dándose una mayor absorción de carbohidratos en el grupo Sacarosa y de lípidos en el grupo Grasa, provocando una menor absorción de proteínas lo que repercute directamente en la composición corporal de cada animal, esto va de acuerdo a lo señalado por Westman *et al.*, en 2008 y posteriormente por Lirio *et al.*, en el 2018 ya que ambos concuerdan en que la composición de la dieta, el metabolismo y la absorción de sus nutrientes propician que la composición de organismo sea diferente, teniendo mayor contenido de grasa pero menor masa muscular, por lo tanto; la función celular, el estado general y el desarrollo del ser vivo es diferente; esto concuerda con los resultados obtenidos del IMC; ya que a pesar de poseer un peso y una ingesta calórica similar, se observó un IMC mayor en el grupo Sacarosa en relación al grupo Control y al grupo Grasa; lo que indica

que la asimilación de nutrientes fue diferente y no permitió el mismo desarrollo del organismo en los tres grupos.

La mayor ingesta de carbohidratos en la solución de sacarosa y una menor ingesta de los otros nutrientes presentes en el alimento sólido, tales como las proteínas, puede explicar la menor talla en los animales del grupo Sacarosa; por lo tanto, un IMC mayor, lo que no ocurrió con el grupo Grasa. Estos resultados son similares a los reportados por Paredes en 2017; adicionalmente, Luna (2014), hace mención que los hidratos de carbono además de provocar mecanismos fisiopatológicos como la resistencia a la insulina pueden causar alteración en el funcionamiento de las hormonas como cortisol, glucagón, adrenalina y hormona de crecimiento, lo que también podría explicar los resultados anteriores en cuanto al desarrollo de los animales.

Algunos estudios con dietas hipercalóricas en ratas como el publicado por Burgeiro en 2017, han sugerido que además de calcular el IMC se deben realizar análisis de la composición corporal de los animales, debido a la posible diferencia en porcentaje de masa grasa y masa magra; en este sentido, los resultados presentados en este trabajo obedecen a estas hipótesis, además estos datos coinciden con los reportados por Glagani desde 2008 que en su estudio reportó una mayor adiposidad en los animales con dieta alta en sacarosa tomando la relación de peso epididimal sobre peso de grasa total. Por otra parte, Schwarz y Borseheim señalan que es posible tener una localización anatómica diferente de los almacenes de grasa corporal aun teniendo un mismo aporte calórico, y esto depende principalmente de la fuente calórica, en tal caso, el consumo de carbohidratos tiende a aumentar la grasa visceral y hepática en mayor medida que el consumo de una dieta alta en grasa; esto ocurre principalmente debido a que los carbohidratos estimulan la lipogénesis hepática, por lo tanto hay una mayor adiposidad. Adicionalmente, Matos y Chaumontet encontraron que una dieta alta en proteínas disminuye la deposición de grasa inducida por dietas altas en sacarosa y grasa.

Lo anterior sustenta los resultados obtenidos en la determinación de porcentaje de grasa retroperitoneal y total; porque, los animales con consumo de dietas enriquecidas con sacarosa y grasa desarrollaron una mayor masa grasa, lo que

permitió conservar una similitud entre los pesos corporales de los tres grupos con una ingesta calórica similar.

Resulta muy interesante que, a pesar de que las calorías consumidas por los grupos de dietas hipercalóricas no son mayores al del grupo Control, si aumentó significativamente la deposición de grasa abdominal.

En general, nuestros resultados indican que, aunque se tenga un peso e ingesta calórica similar o igual, no equivale a obtener una composición de tejido igual; en el caso de las dietas los animales pueden padecer los efectos tóxicos que conlleva la ingesta en exceso de un cierto nutriente, como ocurrió en nuestro modelo, iniciando con la acumulación de grasa abdominal indicativo de obesidad central, que es el principal factor de riesgo para el desarrollo de síndrome metabólico, resistencia a la insulina y aumento de la presión sanguínea.

En un estado de obesidad se activan mecanismos que afectan funciones en el organismo, tales como la presión arterial. Se ha señalado que el avance de la edad aumenta el riesgo de padecer hipertensión arterial; sin embargo, la obesidad figura como una de las principales causas que aceleran este proceso.

En la literatura se encuentran reportes que indican que, en modelos de obesidad con dietas hipercalóricas administradas en ratas, aumentan la presión arterial; sin embargo, son pocos los registros de modelos con periodos de consumo de las dietas hasta los 12 meses, por lo tanto, los valores que han sido reportados por Hamidi *et al*, 2017 y Ferland en 2019 son menores a los obtenidos en este estudio. Sin embargo, existen reportes de un aumento de presión por consumo de dietas hipercalóricas a los tres y seis meses, como ocurrió en este trabajo.

Los valores de presión arterial aumentan en ratas adultas, encontrando una gran prevalencia de hipertensión arterial que aumenta con la edad y se incrementa aún más si se padecen enfermedades de hiperglucemia u obesidad, como lo señalan Robles y Macias en su publicación del 2015.

Mantener un estado hiperglucémico o de obesidad, aumentan las posibilidades de presentar desorden en la presión arterial, debido a que se activan mecanismos que provocan fallo en el sistema de regulación de esta variable. En el año de 1993 Kannel, señaló a la obesidad como causa de hipertensión e indicó que la mayor

parte de los casos de hipertensión son atribuibles a un estado de sobrepeso u obesidad, además que la presión sistólica aumenta en promedio 4,5 mmHg por cada 5 Kg de peso. Esto concuerda con nuestros resultados, ya que el grupo Sacarosa presentó mayor IMC y una presión arterial sistólica mayor que el grupo Grasa, mientras que ambos son superiores con respecto al grupo Control.

A finales de la década de los noventa y principios del siglo XX, Pouliot *et al.*, Schmidt *et al.*, y Vera *et al.*, señalaron a la obesidad como causa principal de desorden metabólico asociado a la distribución de grasa corporal, así como la resistencia a la insulina e hiperinsulinemia ya que la obesidad *per se* es un padecimiento insulinodependiente, por lo que entre mayor porcentaje de grasa tenga el organismo, habrá una mayor necesidad de insulina. López *et al.*, en 2004 señaló que un estado de hiperinsulinemia puede sobreestimular el sistema simpático a la retención de sales, especialmente de sodio, esto aumenta el gasto cardíaco y finalmente aumenta la presión arterial. Otra de las posibles rutas fue descrita por Fhigashi *et al.*, quien reportó que la obesidad causa daño endotelial de los vasos sanguíneos afectando el proceso vasodilatador por inhibición de la síntesis de óxido nítrico.

Además, si se añade un estado hiperglucémico a la obesidad, se tiene una mayor reactividad vascular y rigidez arterial con fibrosis causada por sobreexpresión de fibronectina, colágeno y acumulación de productos de glicación avanzada en las paredes de los vasos sanguíneos, aumentando su rigidez y la vasoconstricción. El aumento de la rigidez repercute en la presión sistólica, tal y como se observa en nuestros resultados.

De acuerdo con esta explicación y analizando nuestros resultados, la dieta alta en sacarosa, es la que mostró un mayor efecto sobre la presión, debido a que estimula de manera directa la secreción de insulina al momento de su ingesta y es la fuente principal para generar tejido graso, cosa que no pasa en la misma magnitud al estimular el metabolismo de los lípidos.

Esta diferencia se observa con mayor claridad con la presión arterial media, que permite evaluar la presión que mantiene una buena perfusión tisular, es decir la sangre oxigenada en los tejidos y órganos; en este sentido, el grupo Sacarosa

mostró un aumento significativo con respecto al grupo Control, lo que indica además de los daños mencionado anteriormente, hay una perfusión aumentada en los órganos, causando desgaste y estrés. Un aumento sostenido de la perfusión sanguínea puede conducir a fallo en los órganos.

Otro de los problemas que se desarrollan con el consumo de dietas hipercalóricas, además de la acumulación de tejido graso, es la alteración del metabolismo de la glucosa y por consecuencia de la insulina.

Los valores de glucosa e insulina obtenidos en este estudio, coinciden con los reportados por Versiani en 2014 y Burgeiro en 2017; ambos evaluaron los efectos del consumo de dietas hipercalóricas con grasa y carbohidratos, ambos concluyeron que los animales desarrollaron características de diabetes, con tolerancia reducida a la glucosa, hiperglucemia posprandial, hiperinsulinemia en ayuno y disminución de la sensibilidad a insulina, incluso en ausencia de obesidad. En la literatura se encuentran otros reportes que coinciden con los datos de los trabajos mencionados anteriormente, como los publicados por Pighin *et al.*, 2003; Poveda, 2008 y Zhuo, 2013; sin embargo, es importante señalar que los valores encontrados en este trabajo no son iguales a los reportados en los estudios antes mencionados, esto posiblemente se debe a que nuestro modelo presenta diferencias importantes en cuanto a la edad de inicio y el tiempo de consumo de las dietas.

Esto puede sugerirse que el consumo de las dietas hipercalóricas desde el destete, representan un cambio paulatino que permite a los animales adaptarse conforme crecen, disminuyendo la agresividad; de esta manera, no sufren el cambio brusco en el tipo de alimentación que ocurre cuando se inicia el consumo de las dietas a una edad más avanzada. Esto concuerda con los resultados reportados por Gómez-Crisostomo *et al.*, en donde se empleó el mismo modelo de obesidad inducida por la dieta y no se observaron diferencias importantes en variables como el peso hasta los 6 meses.

Los datos reportados a los 12 meses de dieta muestran alteraciones metabólicas; por ejemplo, los resultados obtenidos de la curva de tolerancia a la glucosa, sugieren un estado hiperglucémico en los grupos Sacarosa y Grasa debido a que sus niveles de glucosa se mantuvieron por encima de los valores del grupo Control

prácticamente durante las 2 horas que duró la prueba. Es importante resaltar que esta prueba es utilizada para el diagnóstico de diabetes o prediabetes y que además puede indicar una posible disfunción de las células encargada de la regulación de los niveles sanguíneos de glucosa, es decir sugiere daño pancreático a nivel de las células β . Zhuo, 2013 señala que la hiperglucemia y resistencia a la insulina resultan de una pérdida de células beta o de la disminución de la función de las que aún permanecen, que no les permite controlar de manera adecuada las concentraciones de glucosa, eso se traduce en intolerancia a la glucosa acompañada de una liberación constante y aumentada de insulina con sensibilidad periférica reducida, estos resultados coinciden con lo reportado por Burgeiro quién encontró un índice HOMA mayor en el grupo con dieta alta en sacarosa, comparado con el grupo Control.

Este cambio diferencial en el metabolismo puede ser por diversos motivos; por ejemplo, las rutas que se activan son diferentes o pueden existir problemas desde la síntesis, liberación y señalización de la insulina, así como en la expresión de los transportadores de glucosa GLUT-2 que participan de manera importante en la regulación de las concentraciones de glucosa en sangre.

Una deficiencia en estos procesos provoca un estado de hiperglucemia con liberación aumentada de insulina por parte de las células beta, lo que provoca que la célula se desgaste y muera, dando paso a una disminución en la masa celular. Por otra parte, la sobre explotación de la célula beta puede llevar a un desequilibrio o incluso a presentarse deficiencia en su renovación.

Parte del daño celular que se observa en un estado de obesidad e hiperglucemia puede asociarse a un daño a nivel mitocondrial, aunque no hay muchos reportes de los mecanismos responsables de estas disfunciones en el páncreas, si se ha determinado un aumento de estrés oxidativo, hipertrofia, apoptosis entre otras alteraciones relacionadas con la disfunción mitocondrial, como lo reportó Zhou *et al.*, en el 2017. Si bien en este trabajo no se determinaron marcadores de apoptosis o hipertrofia; la disminución en el tamaño del páncreas y de los islotes podrían atribuirse a estos procesos; además, en cuanto a la producción de estrés oxidativo, sí se observó una mayor producción de especies reactivas en el grupo Sacarosa, a

diferencia del reporte mencionado anteriormente, donde el incremento se observó en las dos dietas (sacarosa y grasas).

Si bien ambas dietas pueden generar estados citotóxicos, se ha reportado que las dietas altas en sacarosa pueden generar estrés oxidativo con mayor facilidad, debido a sus características metabólicas; Kaneto *et al* en 2010 señala a la glucosa como la molécula energética por excelencia, puesto que al oxidarse produce energía para los procesos metabólicos; sin embargo, un estado de consumo excesivo de carbohidratos da paso a la producción de ERO que resulta de la reducción incompleta del oxígeno, el cual debería ser reducido por dos protones hasta formar agua a nivel de la fosforilación oxidativa; si este proceso no ocurre correctamente, se formarían las ERO que tienen electrones no apareados que les confieren una mayor reactividad.

Si hay un incremento en la ingesta de carbohidratos, como ocurre en la dieta alta en sacarosa, se incrementa la tasa de glucólisis, producción de NADH, y NADPH en el ciclo de Krebs, y una mayor actividad de la cadena transportadora de electrones, incrementando esta última la generación de ERO como productos secundarios a la ingesta sostenida de carbohidratos en grandes cantidades, como lo reportó Singh *et al* en 2009.

Al aumentar la cantidad de estos radicales, pueden reaccionar más fácilmente con otras moléculas, como el óxido nítrico, produciendo otros radicales llamados especies reactivas de nitrógeno como el radical peroxinitrito cuya formación compromete el efecto vasodilatador del óxido nítrico.

De acuerdo con nuestros resultados, las concentraciones de glucosa son similares en los grupos de dietas hipercalóricas y se podría inducir que en ambos casos se tuvieran una producción de ERO similar; sin embargo, existe una vía que se activa cuando hay una exposición prolongada a carbohidratos como la glucosa. Esta vía se activa con la finalidad de reducir la concentración de glucosa, pero lleva consigo la reducción del sistema antioxidante en la célula, produciendo sorbitol, aunado a esto Yamagishi indicó que, en un estado de hiperglicemia prolongada en la célula, se puede llevar reacciones de autooxidación de la glucosa y la glicación de proteínas con formación de superóxido y peróxido de hidrógeno. Estos procesos

pueden estar implicados en el metabolismo de los animales del grupo Sacarosa; que si bien presentó una media menor en la concentración de glucosa comparado al grupo Grasa, se observó un aumento sostenido de niveles de glucosa en la curva de tolerancia a la glucosa y una mayor producción de ERO en las mitocondrias.

El consumo de dietas hipercalóricas puede crear un estado tóxico para las células beta llamado glucolipototoxicidad, en el que un exceso de glucosa y ácidos grasos en las mitocondrias propician los desórdenes anteriores, y además pueden llevar a desgaste estos organelos.

Este desgaste puede implicar serios problemas para el proceso de síntesis y liberación de insulina, debido a que es un proceso dependiente de la función mitocondrial, por lo que un exceso o déficit en los requerimientos energéticos conlleva a una desregulación del proceso y, por lo tanto, a una disfunción de las células beta en el páncreas, como lo reportaron Maedler *et al.*, en 2001 y Kharroubi *et al.*, en el 2004.

Fridlyand *et al.*, señala que en presencia de daño mitocondrial se compromete la regulación de la glucosa, esto puede ocurrir por defectos en la glucólisis, ciclo de Krebs, β -oxidación, o en la cadena transportadora de electrones, que finalmente compromete la síntesis de ATP y disminuye actividades vitales en la célula, entre ellas la síntesis de insulina.

El estado de glucolipototoxicidad está caracterizado principalmente por estrés oxidativo y provoca bajo ciertas circunstancias que se activen otros mecanismos como la apertura del poro de la transición de la membrana mitocondrial y la pérdida del potencial de membrana, dos fenómenos evaluados en este trabajo y que no mostraron cambios en comparación con el grupo Control.

Se evaluó de manera conjunta los posibles efectos de las dietas altas en sacarosa o alta en grasa sobre la expresión de algunas de las principales proteínas involucradas en la síntesis y liberación de insulina en homogeneizados de páncreas.

En este sentido, la expresión de GLUT- 2, que se encargan de censar y permitir el paso de la glucosa para activar la maquinaria de síntesis de insulina, se encontró bastante disminuida en los dos modelos de obesidad, pero la disminución fue más marcada en el grupo Sacarosa en la cual los niveles de expresión son casi

indetectables, esto puede estar relacionado con la disminución en el tamaño de los islotes y el estado general del páncreas, por lo que se esperaría una menor cantidad de células beta que expresan estos canales de forma constitutiva como lo han indicado Plum en 2006 y Lowell en 2005, aunque si bien no hay muchos reportes que señalen propiamente la disminución de estos transportadores; se ha documentado que en un estado de hiperglucemia sostenida llevan al agotamiento a las células por tratar de contrarrestar los niveles de glucosa, llevándolas incluso hasta la apoptosis, disminuyendo de esta manera su masa celular.

Si bien en la dieta alta en grasa también hay una disminución, esta no es comparable con los valores del grupo Sacarosa, esto debido a que el metabolismo de los lípidos es un poco más tardío para el desarrollo de hiperglucemia, es decir que es probable que estas desarrollaron estado hiperglucémico después, por lo que no se manifestó en primera instancia la producción abundante de ERO, ni la pérdida tan marcada de GLUT-2 o masa pancreática comparada con el grupo Sacarosa.

Se determinó la expresión de una de las proteínas claves y reguladoras de la síntesis de insulina, la Hexoquinasa pancreática (Glucoquinasa, GCK) ya que de ella depende la entrada de la glucosa de forma fosforilada a la glucólisis para activar tanto la liberación de las vesículas de insulina almacenadas, como su síntesis desde el retículo endoplásmico. Considerando los niveles de expresión de GLUT-2, y su relación con el tamaño disminuido de los islotes, se esperaría una disminución en la concentración de esta enzima; sin embargo, se encontraron niveles estadísticamente similares en los tres grupos. Esto es interesante porque, aun sin existir diferencia significativa, si se toma en cuenta el factor tamaño celular, esto sugiere una mayor actividad de esta enzima en ambos modelos; además a esto se suma que el valor de las medias es superior al Control. Por otra parte, este resultado también sugiere que podría existir un mecanismo extra para la internalización de la glucosa, posiblemente otros tipos de canales transportadores de glucosa como los GLUT 1, 10 o 11 estén cumpliendo con esta función.

McVie-Wiley en 2001 señaló que los canales GLUT 1 y GLUT 10 se encuentran en el páncreas cumpliendo con el transporte de glucosa, también se ha identificado los canales GLUT-11 en el páncreas; sin embargo, no hay muchas referencias sobre

sus características (Castrejón, 2007). De ser posible se justificaría los niveles de expresión de la GCK que reflejan una tasa considerable de glucosa en el interior de las células, que no están siendo transportada precisamente por los GLUT-2, aunque claramente es necesario también medir el transporte de glucosa para probar esta hipótesis.

Siguiendo con el proceso de producción y liberación de la insulina, se determinó la expresión de las proteínas involucradas en la formación, transporte y liberación de vesículas de insulina a través de mecanismo de fusión de membranas que son los componentes del complejo SNARE, las proteínas Vamp-2, Sintaxina 1A, y Snap-25. Considerando el estado de hiperglucemia e hiperinsulinemia de los animales, se esperaría una mayor capacidad de liberación de las vesículas de insulina y, por lo tanto, una expresión aumentada de estas proteínas. Los valores de expresión de Vamp-2, que se encuentra localizada en los gránulos secretores de insulina, fueron estadísticamente similares en los tres grupos. La fracción faltante del complejo SNARE está formado por Sintaxina 1A y Snap-25; con respecto a la primera, se observó una tendencia a la baja en el grupo de Grasa, aunque solo disminuyó significativamente en el grupo Sacarosa. Los niveles de Snap-25 se encontraron reducidos en ambas dietas, lo que va de acuerdo a lo reportado en la literatura, ya que al estar localizadas en la membrana plasmática de las células beta, y estas a su vez al estar de menor tamaño y o en menor número, la cantidad de proteínas debería ser menor. Estos resultados son muy interesantes, ya que, debido al estado de hiperinsulinemia en ambas dietas, se esperaría una expresión aumentada de estas proteínas, así como un mayor contenido de insulina.

Por otra parte, estos resultados están de acuerdo a los reportados por Thurmond en el 2000 y Bryan en 2002; ambos señalan que hay alteraciones en la expresión del complejo SNARE en animales con sensibilidad a la insulina disminuida, así como con los reportados por Fox en 2013 referente a la expresión disminuida de componentes del complejo, con hiperplasia e hipertrofia de las células beta en ratas diabéticas.

Finalmente se evaluó la expresión de insulina y uno de los factores de activan su transcripción, Maf A, cuya expresión se encontró significativamente mayor en el

grupo Grasa, pero sin cambios en el grupo Sacarosa. Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura por Gao en 2003 y Hagman en 2005, ambos señalan que la expresión de Maf A aumenta como respuesta a los niveles de glucosa; esto es, a mayor concentración de glucosa mayor expresión del factor con la intención de generar más insulina. Desde otro punto de vista, resulta desconcertante que Maf A solo aumentó en el grupo Grasa, ya que también las ratas del grupo Sacarosa presentaron niveles de glucosa sanguínea aumentados (Control 100 ± 4 ; Sacarosa 115 ± 4 ; Grasa 126 ± 11), sugiriendo la existencia de un umbral para la activación del factor de transcripción; aunque también podría estar relacionado con la disfunción celular. En ambos casos, son preguntas interesantes para abordar en futuros trabajos.

Los resultados del análisis de contenido de insulina en el páncreas mostraron que hay un aumento en las medias de la concentración tisular de la hormona en el grupo Sacarosa y Grasa, siendo la primera considerablemente mayor comparada con el Control; desafortunadamente por las desviaciones muy grandes en los valores estos no son estadísticamente diferentes. Considerando que al menos los valores de insulina para el grupo Sacarosa fueran realmente mayores, eso indicaría que, a pesar de existir una buena producción de insulina, no se está liberando adecuadamente, lo que se explica con la baja expresión de Sintaxina y Snap-25 y el aumento en la GCK.

Es importante señalar que la presencia de resistencia a la insulina puede darse por mecanismos derivados propiamente del metabolismo de los carbohidratos y lípidos de manera distinta, ya que el proceso de manera normal se da por el reconocimiento de la insulina por sus receptores en la membrana plasmática, lo que activa la movilización de los canales GLUT- 4 a la membrana de los tejidos periféricos como hígado, grasa y músculo, que a su vez permite la entrada de glucosa para su uso o almacenamiento. Este proceso se da correctamente por la fosforilación de los residuos de tirosina del receptor; sin embargo, la presencia de obesidad, hiperglucemia, y estrés oxidativo activan vías de señalización que favorecen la fosforilación de residuos de serina y reducen la unión de la insulina, provocando un

estado de hiperinsulinemia tal como se encontró en los niveles de insulina en estado basal.

En la Figura 15 se ilustra los puntos en la cascada de síntesis y liberación de insulina que fueron afectados por el consumo de las dos dietas hipercalóricas; las flechas indican aumento (hacia arriba) o disminución (hacia abajo), mientras que el color rojo se refiere al grupo Sacarosa, el color azul hace referencia al grupo Grasa y el signo de igualdad (=) indica que no existió diferencia estadística significativa entre los grupos. Esta imagen nos ayuda a apreciar fácilmente en qué puntos del proceso hay alteraciones y nos da una idea de cuál de los dos modelos de obesidad inducida por la dieta provoca un mayor cambio en la expresión de las proteínas.

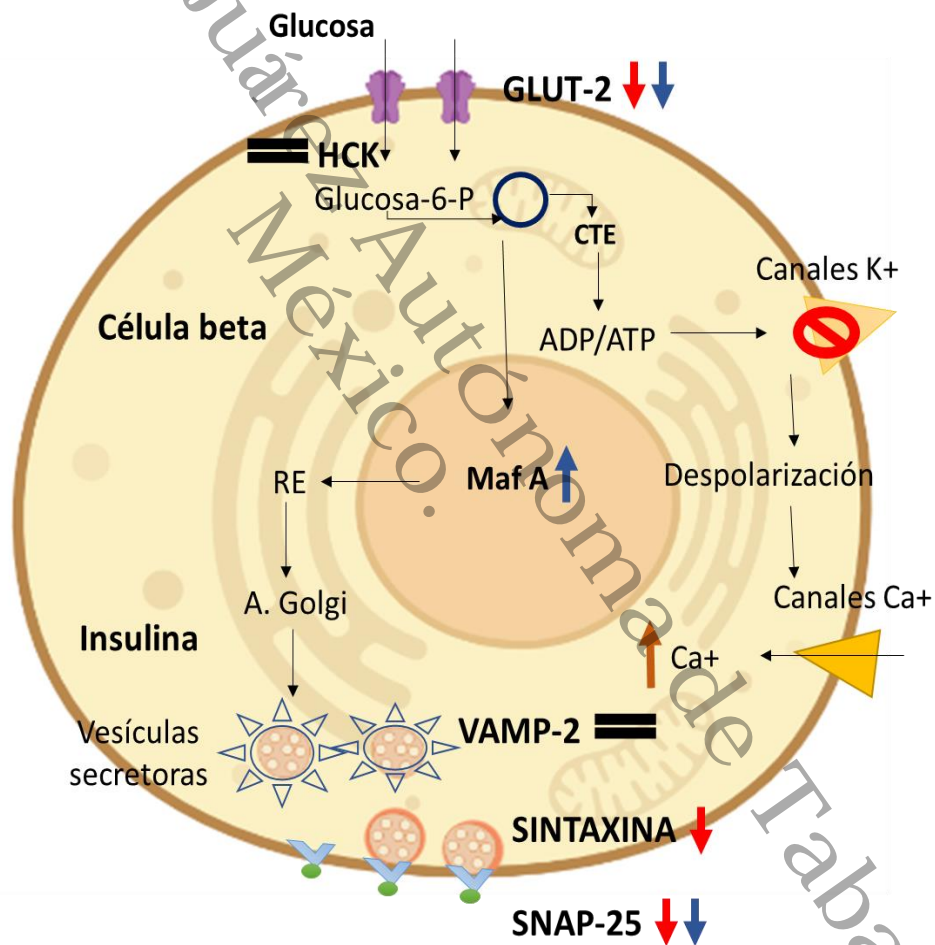


Figura 15. Niveles de expresión de proteínas en la síntesis y liberación de insulina de las dietas hipercalóricas. En la figura se muestran los niveles de expresión de las proteínas analizadas. Grupo Sacarosa (flecha roja), grupo Grasa (flecha azul), sin diferencia significativa (=). RE: retículo endoplásmico, CTE: cadena transportadora de electrones.

En conjunto los resultados obtenidos en este trabajo muestran alteraciones en la síntesis y liberación de insulina; con la expresión modificada de proteínas, estrés oxidativo en el páncreas de animales con obesidad e hiperglicemia, resistencia a la insulina, daños a nivel tisular y celular en los islotes de Langerhans del páncreas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

10.- CONCLUSIÓN

En conclusión, al finalizar los 12 meses se tuvieron dos grupos experimentales que desarrollaron obesidad abdominal, niveles de glucosa elevados en estado basal, incremento en la generación de ERO en los islotes de Langerhans, que es indicativo de estrés oxidativo y resistencia a la insulina inducida por el consumo de las dietas alta en sacarosa y alta en grasa.

La presencia de concentraciones elevadas de glucosa en sangre acompañado de un estado de obesidad, repercutieron en la función del páncreas, principalmente en las células β , afectando la ruta de secreción de insulina mediante el aumento o disminución de la expresión de proteínas que participan en su producción y liberación.

Aunque ambas dietas indujeron alteraciones relacionadas con posible daño celular en los islotes de Langerhans del páncreas, los resultados en su conjunto muestran que la dieta alta en sacarosa fue más agresiva para la salud pancreática, no solo por presentar un mayor número de problemas funcionales, sino en la magnitud de estas alteraciones. Esto puede deberse a su toxicidad o la generación de metabolitos intermediarios que hacen que su efecto sea más rápido o intenso que el de los lípidos; esto a pesar de que el consumo de ambas dietas induce obesidad central.

11.- BIBLIOGRAFÍA

1. Alarcón-Aguilar, A., Maycotte-González, P., Cortés-Hernández, P., López-Díazguerrero, N. E., & Königsberg, M. (2019). Dinámica mitocondrial en las enfermedades neurodegenerativas. *Gaceta Médica de México*, 155(3), 276–283.
2. Argenté, J., Martos-Moreno, G. Á., & Hernández, M. (2006). Mesa Redonda: Tejido adiposo como glándula endocrina. *Obesidad y Síndrome Metabólico*, 46(198), 269-274.
3. Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2), 160-168.
4. Armstrong J. S. (2006). Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *Bioassay: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 28(3), 253–260.
5. Aroor, A. R., Mandavia, C., Ren, J., Sowers, J. R., & Pulakat, L. (2012). Mitochondria and Oxidative Stress in the Cardiorenal Metabolic Syndrome. *Cardiorenal Medicine*, 2(2), 87–109.
6. Baines, C.P., Gutiérrez-Aguilar, M. (2018). The still uncertain identity of the channel-forming unit(s) of the mitochondrial permeability transition pore. *Cell Calcium*. P; 73:121-130.
7. Bensella, M., Jonas, J. C., & Laybutt, D. R. (2018). Mechanisms of β -cell dedifferentiation in diabetes: recent findings and future research directions. *The Journal of endocrinology*, 236(2), 109–143.
8. Bereiter-Hahn, J., & Vöth, M. (1994). Dynamics of mitochondria in living cells: shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. *Microscopy Research and Technique*, 27(3), 198–219.
9. Biczko, G., Vegh, E. T., Shalbueva, N., Mareninova, O. A., Elperin, J., Lotshaw, E., Gretler, S., Lugea, A., Malla, S. R., Dawson, D., Ruchala, P., Whitelegge, J., French, S. W., Wen, L., Husain, S. Z., Gorelick, F. S., Hegyi, P., Rakonczay, Z., Jr, Gukovsky, I., & Gukovskaya, A. S. (2018). Mitochondrial Dysfunction, Through Impaired Autophagy, Leads to Endoplasmic Reticulum Stress,

- Deregulated Lipid Metabolism, and Pancreatitis in Animal Models. *Gastroenterology*, 154(3), 689–703.
10. Bruton, J. D., Aydin, J., Yamada, T., Shabalina, I. G., Ivarsson, N., Zhang, S. J., Wada, M., Tavi, P., Nedergaard, J., Katz, A., & Westerblad, H. (2010). Increased fatigue resistance linked to Ca²⁺-stimulated mitochondrial biogenesis in muscle fibers of cold-acclimated mice. *The Journal of Physiology*, 588(Pt 21), 4275–4288.
 11. Bryant, N.J., Govers, R., James, D.E. (2002). Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3:267-277
 12. Burgeiro, A., Cerqueira, M. G., Varela-Rodríguez, B. M., Nunes, S., Neto, P., Pereira, F. C., Reis, F., & Carvalho, E. (2017). Glucose and Lipid Dysmetabolism in a Rat Model of Prediabetes Induced by a High-Sucrose Diet. *Nutrients*, 9(6), 638.
 13. Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, metabolismo y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100.
 14. Castrejón, V., Carbó, R., Martínez, M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de glucosa. *REB* 26(2): 49-57.
 15. Chaumontet, C., Even, P. C., Schwarz, J., Simonin-Foucault, A., Piedcoq, J., Fromentin, G., Azzout-Marniche, D., & Tomé, D. (2015). High dietary protein decreases fat deposition induced by high-fat and high-sucrose diet in rats. *The British Journal of Nutrition*, 114(8), 1132–1142.
 16. Chen, H., & Chan, D. C. (2005). Emerging functions of mammalian mitochondrial fusion and fission. *Human Molecular Genetics*, 14(2), 283-289.
 17. Cnop, M., Hannaert, A., Hoorens, D.L., Eizirik, D.G., Pipeleers, D. (2001). Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation. *Diabetes*. 50(8): 1771-7.
 18. Corro, A., Medina, I., & Matheus, N. (2017). Señalización de la secreción de insulina por las células beta del páncreas. Una revisión. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. 22(2), 53-62.
 19. Cruz Hernández, H. H., Rosado Lomán, W., Gómez Crisóstomo, N. P., De la Cruz Hernández, E. N., Gúzman García, L. M., & Martínez Abundis, E. (2020).

- High sugar but not high fat diet consumption induces hepatic metabolic disruption and up-regulation of mitochondrial fission associated protein Drp 1 in a model of moderate obesity. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 1–8.
20. D'Ortencio, A., & Navigante, A. (2016). Disfunción mitocondrial y enfermedades cardiovasculares. *Insuficiencia Cardíaca*, 11(4), 201-214.
21. De Tursi, R. L., Vázquez, A., Vázquez, A., Sáenz, G., & Gambau, V. (2013). Relación de estrés oxidativo y la pérdida de peso obtenida en pacientes obesos mórbidos mediante cirugía bariátrica con la técnica del cruce duodenal. *Nutrición Hospitalaria*. 28(4), 1085-1092.
22. De Vos, A., Heimberg, H., Quartier, E., Huypens, P., Bouwens, L., Pipeleers, D. & Schuit, F. (2000). Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *Journal of Clinical Investigation*; 96(5): 2489-95.
23. Diaz-Vegas, A., Sanchez-Aguilera, P., Krycer, J. R., Morales, P. E., Monsalves-Álvarez, M., Cifuentes, M., Rothermel, B. A., & Lavandero, S. (2020). Is Mitochondrial Dysfunction a Common Root of Noncommunicable Chronic Diseases? *Endocrine Reviews*, 41(3), 491–517.
24. Dorn, G. W. (2020). Mitofusins as mitochondrial anchors and tethers. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 142, 146–153.
25. Doyle, S.R., Kasinadhuni, N.R.P., Chan, C.K., Grant, W.N. (2013). Evidence of Evolutionary Constraints That Influence the Sequence Composition and Diversity of Mitochondrial Matrix Targeting Signals. *PLOS ONE*. 8 (6).
26. Ebina, Y., Ellis, L., Jarnagin, K., Edery, M., Graf, L., Clauser, E. Golfine, I. (2018). The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone activated transmembrane signalling. *Cell*, 40 (4), 747-758.
27. Esler, M. (2000). The sympathetic system and hypertension. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 27(2): S99-105.
28. Ferland, D. J., Flood, E. D., Garver, H., Yeh, S. T., Riney, S., Mullick, A. E., Fink, G. D., & Watts, S. W. (2019). Different blood pressure responses in hypertensive rats following chemerin mRNA inhibition in dietary high fat compared to dietary high-salt conditions. *Physiological genomics*, 51(11), 553–561.

29. Fex, M., Nicholas, L. M., Vishnu, N., Medina, A., Sharoyko, V. V., Nicholls, D. G., Spéigel, P., & Mulder, H. (2018). The pathogenetic role of β -cell mitochondria in type 2 diabetes. *The Journal of endocrinology*, 236(3), 145-159.
30. Fox, J.E., Seeberger, K., Dai, X.Q., Lyon, J., Spigelman, A.F, Kolic, J., Hajmrle, C., Joseph, J.W., Kin, T., Shapiro, A. M., Korbitt, G., MacDonald, P.E. (2013) Functional plasticity of the human infant beta-cell exocytotic phenotype. *Endocrinology* 154:1392-1399.
31. Fridlyand, L.E., Philipson, L.H. (2004) Does the glucose-dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic beta-cells? *Diabetes*. 53(8): 1942-8.
32. Friedman, J.R., Nunnari, J. (2014). Mitochondrial form and function. *Nature*. 16;505(7483):335-43.
33. Fu, Z., Gilbert, E. R., & Liu, D. (2013). Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 9(1), 25–53.
34. Gao, Y., Miyazaki, J., Hart, G.W. (2003). The transcription factor PDX-1 is post-translationally modified by O-linked N-acetylglucosamine and this modification is correlated with its DNA binding activity and insulin secretion in min6 beta-cells. *Archives of Biochemistry Biophysics*; 415(2): 155-63.
35. Gómez-Crisostomo, N.P., De la Cruz, E.N., Méndez, M.F., Hernández, J.U., & Martínez- Abundis, E. (2018). Differential effect of high-fat, high-sucrose and combined high fat/high-sucrose diets consumption on fat accumulation, serum leptin and cardiac hypertrophy in rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 126(3), 258–263.
36. González, A., Simental, L., Elizondo, S., Sánchez, J., Gutierrez, G., & Guerrero, F. (2008). Prevalencia del síndrome metabólico entre adultos mexicanos no diabéticos, usando las definiciones de la OMS, NCEP-ATPIIIa e IDF. 71(1), 11 – 19.
37. González, J. S., Peyrot, M., McCarl, L. A., Collins, E. M., Serpa, L., Mimiaga, M. J., & Safren, S. A. (2008). Depression and diabetes treatment nonadherence: a meta-analysis. *Diabetes care*, 31(12), 2398–2403.

38. Gordaliza-Alaguero, I., Cantó, C., & Zorzano, A. (2019). Metabolic implications of organelle-mitochondria communication. *EMBO reports*, 20(9).
39. Gotoh, M., Maki, T., Kiyozumi, T., Satomi, S., Monaco, A. (1985). An improved method for isolation of mouse pancreatic islets. *Transplantation*. 40(4), 437-438.
40. Granata, C., Oliveira, R.S., Little, J.P., Renner, K., Bishop, D.J. (2017). Sprint-interval but not continuous exercise increases PGC-1 α protein content and p53 phosphorylation in nuclear fractions of human skeletal muscle. *Nature. Scientific Reports*, 7,44.
41. Grupo Multidisciplinar de Oncología Traslacional. (2012). Familia de proteínas Bcl2. [Imagen],
42. Gutierrez-Aguilar, R., Kim, D. H., Casimir, M., Dai, X. Q., Pfluger, P. T., Park, J., Haller, A., Donelan, E., Park, J., D'Alessio, D., Woods, S. C., MacDonald, P. E., & Seeley, R. J. (2014). The role of the transcription factor ETV5 in insulin exocytosis. *Diabetology*, 57(2), 383–391.
43. Hagman, D.K., Hays, L.B., Parazzoli, S.D., Poitout, V. (2005). Palmitate inhibits insulin gene expression by altering PDX-1 nuclear localization and reducing MafA expression in isolated rat islets of Langerhans. *The Journal of Biological Chemistry*; 280(37): 32413-18.
44. Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S. (2010). Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends in biochemical sciences*, 35(9), 505–513
45. Hamidi, M., Henning, R. H., van, A., Goris, M., Deelman, L. E., & Buikema, H. (2017). Metformin Improves Endothelial Function and Reduces Blood Pressure in Diabetic Spontaneously Hypertensive Rats Independent from Glycemia Control: Comparison to Vildagliptin. *Scientific reports*, 7(1), 10975.
46. Hasnain, S. Z., Prins, J. B., & McGuckin, M. A. (2016). Oxidative and endoplasmic reticulum stress in β -cell dysfunction in diabetes. *Journal of molecular endocrinology*, 56(2), 33–54.
47. Hicks, J.J, Torres-Ramos, Y.D, Sierra-Vargas, M.P. (2006). Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición*.14(4):223-226.

48. Higdon, J. V., & Frei, b. (2003). Obesity and oxidative stress. *Revista de Investigación Clínica*. 23(365), 7.
49. Holloszy, J.O. (1960). Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 90: 1137-5.
50. Hu, R.M., Levin, E.R., Pedram, A., Frank, H.J.L. (1993). Insulin stimulates production and secretion of endothelium from bovine endothelial cells. *Diabetes*; 42: 351-358.
51. Jin, S. M., Lazarou, M., Wang, C., Kane, L. A., Narendra, D. P., & Youle, R. J. (2010). Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL. *The Journal of Cell Biology*, 191(5), 933–942.
52. Kannel, W.D., Anderson, K., Wilson, P.W.F. (1993). Secular blood pressure trends in normotensive persons: the Framingham study. *American Heart Journal*; 125: 1154-1158.
53. Kharroubi, I.L., Ladriere, A.K., Cardozo, Z., Dogusan, M., Cnop, D.L. (2004). Free fatty acids and cytokines induce pancreatic beta-cell apoptosis by different mechanisms: role of nuclear factor-kappaB and endoplasmic reticulum stress. *Endocrinology*. 145(11): 5087-96.
54. Kiefel, B. R., Gilson, P. R., & Beech, P. L. (2006). Cell biology of mitochondrial dynamics. *International Review of Cytology*, 254, 151–213.
55. Koliaki, C., & Roden, M. (2016). Alterations of Mitochondrial Function and Insulin Sensitivity in Human Obesity and Diabetes Mellitus. *Annual Review of Nutrition*, 36, 337–367.
56. Koopman, W. J., Willems, P. H., & Smeitink, J. A. (2012). Monogenic mitochondrial disorders. *The New England Journal of Medicine*, 366(12), 1132–1141.
57. Lafontan M. (2012). Historical perspectives in fat cell biology: the fat cell as a model for the investigation hormonal and metabolic pathways. *American Journal Physiology Cell Physiol*, 302 (2): 327-359.

58. Le Lay, S., Simard, G., Martinez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2014). Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 908539.
59. Li, D. S., Yuan, Y. H., Tu, H. J., Liang, Q. L., Dai, L. J. (2009). A protocol for islet isolation from mouse pancreas. *Nature Protocols*. 4 (11), 1649-1652.
60. Liesa, M., Palacín, M., & Zorzano, A. (2009). Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiological Reviews*, 89(3), 799–845.
61. López de Fez, C.M., Gaztelu, M.T., Rubio, T., & Castaño, A. (2004). Mecanismos de hipertensión en obesidad. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 27(2), 211-219.
62. Luna, V., López, J. A., Vázquez, M., Fernández, M.L. (2014). Hidratos de carbono: actualización de su papel en la diabetes mellitus y la enfermedad metabólica. *Nutrición Hospitalaria*, 30(5), 1020-1031.
63. Luo, S., & Rubinsztein, D. C. (2007). Atg5 and Bcl-2 provide novel insights into the interplay between apoptosis and autophagy. *Cell*, 14(7), 1247–1250.
64. MacAskill, A. F., & Kittler, J. T. (2010). Control of mitochondrial transport and localization in neurons. *Trends in Cell Biology*, 20(2), 102–112.
65. Maedler, K., Spinas, D., Dyntar, W. Moritz, N. Kaiser, M.Y. (2001). Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on beta-cell turnover and function. *Diabetes*. 50(1): 69- 76.
66. Martínez-Abundis, E., Sánchez-Rodríguez, M., El Hafidi-Bentlakder, M. (2005). Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquímica*, 30: 82-89.
67. Martinez-Abundis, E., Venkatesh , R., Haist, J., Gan, X., & Karmazyn, M. (2012). The Obesity-Related peptide leptin sensitizes Cardiac Mitochondria to Calcium-Induced Permeability Transition Pore Opening and Apoptosis. *PLOS ONE*, 7 7(7):e41612.
68. Martinou, J. C., & Youle, R. J. (2011). Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Developmental cell*, 21(1), 92–101.

69. Matos, A. V., Menezes, z., Baeta J. Guilhen, E., (2014). Distinct metabolic pathways trigger adipocyte fat accumulation induced by high-carbohydrate and high-fat diets. *Nutrition*, 30, 1138-1143.
70. Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C. A., Sou, Y. S., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., & Tanaka, K. (2010). PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *The Journal of Cell Biology*, 189(2), 211–221.
71. Mcvie-Wylie, A.J., Lamson, D.R., Chen, Y.T. (2001). Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. *Genomics*, 72: 113-117.
72. Mikhed, Y., Daiber, A., & Steven, S. (2015). Mitochondrial Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Damage and Their Role in Age-Related Vascular Dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15918–15953.
73. Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167.
74. Montessuit, S., Somasekharan, S. P., Terrones, O., Lucken-Ardjomande, S., Herzig, S., Schwarzenbacher, R., Manstein, D. J., Bossy-Wetzel, E., Basañez, G., Meda, P., & Martinou, J. C. (2010). Membrane remodeling induced by the dynamin-related protein Drp1 stimulates Bax oligomerization. *Cell*, 142(6), 889–901.
75. Moreau, K., Luo, S. y Rubinsztein, DC (2010). Roles citoprotectores para la autofagia. *Opinión Actual en Biología Celular*, 22 (2), 206-211.
76. Müller S. (2004). Redox and antioxidant systems of the malaria parasite Plasmodium falciparum. *Molecular microbiology*, 53(5), 1291–1305.
77. Murray, R.K., Bender, D.A., Botham, K.M., Rodwell, P.A. (2010) *Harper Bioquímica ilustrada*. 28 ed. MacGraw Hill.

78. Myers, M. G., & White, M. f. (2002). The molecular Basis of Insulin Action: Insulin Signaling from cultured cells to animal models. *Revista de Educacion Bioquimica*, 27(1).
79. NORMA Oficial Mexicana NOM-062ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, uso y cuidado de animales de experimentación.
80. O'Rourke, B. (2010). From bioblasts to mitochondria: ever expanding roles of mitochondria in cell physiology. *Frontiers in Physiology*, 1(7).
81. Olivares, J. A. (2008). Bases Moleculares de las Acciones de la Insulina. *REB*, 27(1), 9 – 18.
82. Olvera, C. P., Enrique, G., & Hernandez, H. L. (2008). Pancreas and b cells: differentiation mechanisms, morphogenesis and endocrine cellular specification. Regeneration?. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 65(4), 306-324.
83. Orrenius, S., Zhivotovsky, B., & Nicotera, P. (2003). Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 4(7), 552–565.
84. Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best practice & research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 26(6), 711–723.
85. Otera, H., Wang, C., Cleland, M. M., Setoguchi, K., Yokota, S., Youle, R. J., & Mihara, K. (2010). Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *The Journal of Cell Biology*, 191(6), 1141–1158.
86. Pan, Y., Wang, B., Zheng, J., Xiong, R., Fan, Z., Ye, Y., Gong, F. (2018). Pancreatic fibroblast growth factor 21 protects against type 2 diabetes in mice by promoting insulin expression and secretion in a PI3K/Akt signaling-dependent manner. *China: WILEY*, 23 (2): 1059-1071.
87. Paredes, J.L., Moreno, E. A., Premoli, G., Alarcón, M., Lugo, A., Villarreal, J., Araujo, S., & Borges, R. (2009). Efectos de la ingestión de una dieta con alto contenido en grasas en ratas Wistar crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi*. *Kasmera*, 37(1), 74-89

88. Patnè, G.; Piro, S.; Rabuazzo, A.M.; Anello, M.; Vigneri, R. y Purrello, F. (2000) Metformin restores insulin secretion altered by chronic exposure to free fatty acids or high glucose. A direct metformin effect on pancreatic β -cells. *Diabetes*, 49:735- 740.
89. Peng, L., Men, X., Zhang, W., Wang, H., Xu, S., Xu, M., Xu, Y., Yang, W., & Lou, J. (2011). Dynamin-related protein 1 is implicated in endoplasmic reticulum stress-induced pancreatic β -cell apoptosis. *International Journal of Molecular Medicine*, 28(2), 161–169.
90. Pepin, É., Al-Mass, A., Attané, C., Zhang, K., Lamontagne, J., et al. (2016) Pancreatic β -Cell Dysfunction in Diet-Induced Obese Mice: Roles of AMP-Kinase, Protein Kinase C ϵ , Mitochondrial and Cholesterol Metabolism, and Alterations in Gene Expression. *PLOS ONE*, 11(4).
91. Pighin, D., Karabatas, L., Rossi, A., Chicco, A., Basabe, J. C., & Lombardo, Y. (2003). Fish oil affects Pancreatic Fat Storage, Pyruvate Dhydrigenase complex activity and insulin secretion in rats fed a Sucrose-Rich Diet. *Biochemical and Molecular Actions of Nutrients*, 495-4101.
92. Plum, L., Belgard, B.M., Bruning, J. C. (2006). Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *Journal Clinical Investigation*. Pp. 1761-1766.
93. Poitout, V. (2003) The ins and outs of fatty acids on the pancreatic β cell. *Trends Endocrinology Metabolic*. 14:201-203.
94. Poitout, V. y Robertson, R.P. (2002) Minireview: Secondary β -cell failure in type 2 diabetes-A convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology* 143:339- 342.
95. Poon, H.F., Calabrese, V., Scapagnini, G., Butterfield, D.A. (2004). Free radicals: key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress. *Journal Gerontology A Biology Science Medicine*, 59(5) .478-93.
96. Pouliot, M.C, Dépres, J.P., Lemieux, S., Moorjani, S., Tremblay, A., Nadeau, A. et al. (1994). Waist metabolism and abdominal metabolite diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *American Journal Cardiology*. 73: 46-468.

97. Prentki, M.; Joly, E.; El-Assaad, W. y Roduit, R. (2002) Malonyl-CoA signaling, lipid partitioning, and glucolipotoxicity. Role in β -cell adaptation and failure in the etiology of diabetes. *Diabetes*, 51(3), 405-413.
98. Raffaello, A., Mammucari, C., Gherardi, G., & Rizzuto, R. (2016). Calcium at the Center of Cell Signaling: Interplay between Endoplasmic Reticulum, Mitochondria, and Lysosomes. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(12), 1035–1049.
99. Reddy, P. H., Reddy, T. P., Manczak, M., Calkins, M. J., Shirendeb, U., & Mao, P. (2011). Dynamin-related protein 1 and mitochondrial fragmentation in neurodegenerative diseases. *Brain Research Reviews*, 67(1-2), 103–118.
100. Robertson, R.P. (2004) Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *Journal Biology. Chemistry*. 279:42351-42354.
101. Robles, N. R., & Macias, J. F. (2015). Hypertension in the elderly. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*, 12(3), 136–145.
102. Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & molecular medicine*, 48(3), 219.
103. Rodríguez-Rodríguez, E., Perea, J. M., López-Sobaler, A. M., & Ortega, R. M.. (2009). Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutrición Hospitalaria*, 24(4), 415-421
104. Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2008). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 27(1), 9 – 18.
105. Schmidt, M.I., Watson, R.L., Duncan, B.B., Metclaf, P., Brancati, F.L., Sharrett, A.R., et al. (1996). Clustering of dyslipemia, hyperuricemia, diabetes, and metabolism⁶⁵ⁿ and its association with fasting insulin and central overall obesity in a general population. *Metabolism*. 1(45), 699-706.
106. Schwarz, D. S., Hutvágner, G., Du, T., Xu, Z., Aronin, N., & Zamore, P. D. (2015). Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*, 115(2), 199–208.

107. Sergi, D., Naumovski, N., Heilbronn, L. K., Abeywardena, M., O'Callaghan, N., Lionetti, L., & Luscombe-Marsh, N. (2019). Mitochondrial (Dys)function and Insulin Resistance: From Pathophysiological Molecular Mechanisms to the Impact of Diet. *Frontiers in physiology*, 10, 532.
108. Soleimanpour, S. A., Gupta, A., Bakay, M., Ferrari, A. M., Groff, D. N., Fadista, J., Spruce, L. A., Kushner, J. A., Groop, L., Seeholzer, S. H., Kaufman, B. A., Hakonarson, H., & Stoffers, D. A. (2014). The diabetes susceptibility gene *Clec16a* regulates mitophagy. *Cell*, 157(7), 1577–1590.
109. Stiles, L., & Shirihai, O. S. (2012). Mitochondrial dynamics and morphology in beta-cells. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 26(6), 725–738.
110. Tébar, F. J., & Escobar, F. (2009). *La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica*. Madrid: Médica Panamericana.
111. Torrejon-Escribano, B., Escoriza, J., Montanya, E., Blasi, J. (2011) Glucose-dependent changes in SNARE protein levels in pancreatic beta-cells. *Endocrinology*, 152:1290-1299.
112. Twig, G., Elorza, A., Molina, A. J., Mohamed, H., Wikstrom, J. D., Walzer, G., Stiles, L., Haigh, S. E., Katz, S., Las, G., Alroy, J., Wu, M., Py, B. F., Yuan, J., Deeney, J. T., Corkey, B. E., & Shirihai, O. S. (2008). Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *The EMBO journal*, 27(2), 433–446.
113. Vaquero-Raya, E.C, Molero-Richard, X. (2005). Reactive oxygen species in inflammatory diseases of the pancreas: a possible therapeutic target? *Gastroenterology Hepatology*. ;28(8):473-8.
114. Varadi, A., Johnson-Cadwell, L. I., Cirulli, V., Yoon, Y., Allan, V. J., & Rutter, G. A. (2004). Cytoplasmic dynein regulates the subcellular distribution of mitochondria by controlling the recruitment of the fission factor dynamin-related protein-1. *Journal of Cell Science*, 117(19), 4389–4400.
115. Vera, O., Velasco, M., Carballo, J., Flores, E., Espinoza, M., De la Parte, M. (2002). Insulinemia: relationship with obesity and high blood pressure. *American Journal Hypertension*. 15: A187.

116. Villamayor, L., Rodríguez-Seguel, E., Araujo, R., Carrasco, M., Bru-Tarí, E., Mellado-Gil, J. M., Gauthier, B. R., Martinelli, P., Quesada, I., Soria, B., Martín, F., Cano, D. A., & Rojas, A. (2018). GATA6 Controls Insulin Biosynthesis and Secretion in Adult β -Cells. *Diabetes*, 67(3), 448–460.
117. Villarreal, D., Pradhan, G., Wu, C.S., Allred, C.D., Guo, S., Sun, Y. (2019). A Simple High Efficiency Protocol for Pancreatic Islet Isolation from Mice. *Journal Visualized Experiments*. (150), e57048.
118. Walker JN, Ramracheya R, Zhang Q, JohnsonPR, Braun M & Rorsman P 2011 Regulation of glucagon secretion by glucose: paracrine, intrinsic or both? *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 13(1) 95–105.
119. Westermann B. (2010). Mitochondrial dynamics in model organisms: what yeasts, worms and flies have taught us about fusion and fission of mitochondria. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21(6), 542–549.
120. Westman, E.C., Feinman, R.D., Mavropoulos, J.C. (2007). Nutrición y metabolismo bajos en carbohidratos. *Journal Clinic Nutrition*. 86:276–284.
121. Williams, J. A., & Ding, W. X. (2018). Mechanisms, pathophysiological roles and methods for analyzing mitophagy – recent insights. *Biological Chemistry*, 399(2), 147–178.
122. Xie, Z. y Klionsky, D.J. (2007). Formación de autofagosomas: maquinaria central y adaptaciones. *Biología Celular de la Naturaleza*, 9 (10), 1102–1109.
123. Ylikallio, E., & Suomalainen, A. (2012). Mechanisms of mitochondrial diseases. *Annals of medicine*, 44(1), 41–59.
124. Youle, R. J., & Narendra, D. P. (2011). Mechanisms of mitophagy. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 12(1), 9–14.
125. Zorzano A. (2009). Regulation of mitofusin-2 expression in skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(3), 433–439.

12. ANEXOS

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

Anexo 1:

Buffer HBSS (Hank's 1x sin complementar)

pH 7.4	
Para 1 litro	
Componentes	mM
CaCl ₂	1.2
MgCl ₂ -6H ₂ O	0.49
MgSO ₄ -7H ₂ O	0.40
KCl	5.33
KH ₂ PO ₄	0.44
NaHCO ₃	4.16
NaCl	137.93
Na ₂ HPO ₄	0.338

Buffer HBSS (Hank's 1x completo)

A 500 mL de HBSS se le adiciona 12.5 mL de Sales de Spinner al 4% de BSA pH 7.4 (Anexo 2) y 1 mL de mezcla de antibióticos y antimicóticos

Anexo 2:

Sales de Spinner

pH 7.4	
Para 1 L	
Componentes	Gramos
Sulfato de magnesio anhidrido	0.1
Cloruro de potasio	0.4
Cloruro de sodio	6.8
Fosfato monobásico de sodio	1.22
D-Glucosa	1.0

Se recomienda ajustar el porcentaje de BSA máximo con un día de anticipación, tomando en cuenta la cantidad de buffer que se requiere en la prueba próxima.

Agregar a una concentración de 4% de BSA y disolver en agitación, una vez preparado mantener en hielo.

Anexo 3:

Buffer Ripa 10X (Buffer de Lisis)

pH: 7.5	
Para 15 mL	
Componentes	mM
Tris-HCl (7.5)	20
NaCl	150
Na ₂ EDTA	1
EGTA	1
NP-40	1 %
Deoxicolato de Sodio	1%
Sodio pirofosfato	2.5
B-glicerofosfato	1
Na ₂ VO ₄	1
Leupeptina	1 μM

Se diluye para su uso a 1X con agua desionizada.

Se recomienda adicionar 1mM de PMSF antes de usar.

Se recomienda adicionar inhibidores de proteasa para evitar degradación de proteínas.


Anexo 4:**Buffer Laemmli 1x**


Para 10 mL	
Componentes	
Tris-HCl 2.5 M (pH 6.8)	0.50 mL
Glycerol 100 %	0.50 mL
SDS 20%	0.58 mL
Azul de bromofenol	0.40 mg

Adicionar β -Mercaptoetanol 1.85 % previo a su uso.

Anexo 5:

ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN

**SALUD**
SECRETARÍA DE SALUD

**Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez**
Renacimiento de la excelencia

Ciudad de México a 30 de Junio 2021

Ref. INCAR-DI-SIBT-BC-025-2021


Coordinación de Posgrado,
Maestría en Ciencias Biomédicas.
De la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Presente.

Por este medio, informo que la estudiante: Corazón de María Márquez Álvarez, realizó estancia académica del 1° al 30 de junio del 2021, con calificación de 10 en su desempeño, en el Departamento de Biomedicina Cardiovascular del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" bajo la tutoría del suscrito.

Se extiende la presente, a solicitud de la interesada, para los fines que a ella le convengan.

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente



Dr. Mohammed El Hafidi Bentlakder,
Jefe del Departamento de Biomedicina Cardiovascular



Carretera México-Toluca, s/n, Ciudad de México, México. Tel: 55 5349 4100. Fax: 55 5349 4101. www.salud.gob.mx

Anexo 6:

PRESENTACIONES EN CONGRESOS

- Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en el **VI Congreso Internacional en Ciencias de la Salud**, octubre, 2021.

VI CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD
06, 07 Y 08 DE OCTUBRE DE 2021
"La Ciencia al Servicio de la Humanidad: COVID-19"

Otorgan el presente
Reconocimiento

CORAZÓN DE MARÍA MÁRQUEZ ÁLVAREZ, NANCY PATRICIA GÓMEZ CRISÓSTOMO, EDUARDO MARTÍNEZ ABUNDIS, ERICK NATIVIDAD DE LA CRUZ HERNÁNDEZ, TERESA DE JESUS BARRALES ZARAGOZA

Por su participación como Ponente en la modalidad de cartel, con el tema:
"Evaluación de las alteraciones inducidas por el consumo de dos dietas hipercalóricas sobre el metabolismo de la glucosa y la liberación de insulina".

Villahermosa Tabasco México, octubre de 2021.

Mg. Patricio Oliva Lagos
Decano Facultad de Ciencias Sociales y Económicas
Universidad Católica del Maule
República de Chile

Dra. Maritza Mercedes Bonilla Dimas
Profesor Decano de la Universidad de El Salvador

D. Guillermo Naváez Osorio
Rector de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

Dr. José Luján Alcaraz
Rector de la Universidad de Murcia, España

Dra. Julie Hempel
Directora de Centro de Estudios del Suroeste y Estudios Mexicanos
Austin College Texas, U.S.A.

27452839T
Firmado digitalmente por JOSÉ LUJÁN ALCARAZ
IR: Q30180018U
Fecha: 2021.10.06 11:29:47 -0600

Libro: 13 Foja: 50 Curso: 883 Folio: 4694

- Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en el **XXII Congreso de la Rama de Bioenergética y Biomembranas**, septiembre, 2021.



Se otorga la presente

CONSTANCIA a:

Corazón de María Márquez Álvarez

Quien asistió y presentó el trabajo titulado:

Analysis of mitochondrial function in pancreatic islets and insulin production in two diet-induced obesity (DIO) models

Por:

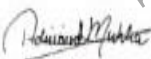
Corazón de María Márquez Álvarez, Eduardo Martínez Abundis, Nancy P. Gómez Crisóstomo, Erick N. De la Cruz Hernández


En la modalidad oral durante el XXII Congreso de la Rama de Bioenergética y Biomembranas
de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.


17 - 21 de octubre de 2021, Hacienda Cantalagua, Michoacán.

Atentamente

El Comité Organizador


Adriana Muhlia Almazán
CIAD Hermosillo


Manuel Gutiérrez Aguilar
Facultad de Química, UNAM


Carlos Saldaña
Universidad Autónoma de Querétaro



Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en el **13 Congreso Mesoamericano de Investigación UNACH**, agosto, 2021.



Las Instituciones organizadoras a través de la Universidad Autónoma de Chiapas
Otorgan la presente

CONSTANCIA

A
Teresa de Jesús Barrales Zaragoza
Eduardo Martínez Abundis
Nancy Patricia Gómez Crisóstomo
Corazón de María Márquez Álvarez

Por la AUTORÍA de la contribución denominada "Consumo calórico y valores antropométricos en dos modelos de obesidad inducida por la dieta" del área del conocimiento "III. Medicina y Ciencias de la salud" presentada en la 13a Edición del Congreso Mesoamericano de Investigación UNACH, realizado en modalidad a distancia del 30 de agosto al 03 de septiembre del presente año.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Septiembre de 2021

"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR"


Dr. Carlos F. Natarén Nandayapa
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR


Dra. María Guadalupe Rodríguez Galván
SECRETARIA DEL COMITÉ ORGANIZADOR



Anexo 7:

PUBLICACIONES

- Artículo original en revisión para su publicación.

The Journal of Physiological Sciences



Differential disruption on glucose and insulin metabolism in two murine models of diet-induced obesity based on carbohydrates or lipids

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Differential disruption on glucose and insulin metabolism in two murine models of diet-induced obesity based on carbohydrates or lipids
Article Type:	Original Paper
Funding Information:	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (CVU# 909241) Ms Corazón de María Márquez-Álvarez
Abstract:	Obesity is a relevant health public issue and is the main factor for glucose metabolism dysregulation and diabetes progression; however, the differential role of a high-fat diet or high sugar diet consumption on glucose metabolism and insulin processing is not well understood and has been scarcely described. Our research aimed to analyze the effects of chronic consumption of both high sucrose and high-fat diets on glucose and insulin metabolism regulation. Wistar rats were fed with high-sugar or high-fat diets for 12 months; after that, fasting glucose and insulin levels were measured along with a glucose tolerance test (GTT). Proteins related to insulin synthesis and secretion were quantified in pancreas homogenates, whereas islets were isolated to analyze ROS generation and size measurement. Our results show that both diets induce metabolic syndrome, linked with central obesity, hyperglycemia, and insulin resistance. We observed alterations in the expression of proteins related with insulin synthesis and secretion, along with diminution of Langerhans islets size. Interestingly, the severity and number of alterations were more evident in the high-sugar diet than in the high-fat diet group. In conclusion, obesity and glucose metabolism dysregulation induced by carbohydrate consumption, led to worst outcomes than high-fat diet.
Corresponding Author:	Eduardo Martínez-Abundis, PhD Universidad Juárez Autónoma de Tabasco Comalcalco, Tabasco MEXICO
Corresponding Author E-Mail:	lulimtz@yahoo.com.mx;edsando.martinez@ujat.mx
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Corazón de María Márquez-Álvarez, Master in Sciences
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Corazón de María Márquez-Álvarez, Master in Sciences Nancy Patricia Gomez-Crisóstomo, PhD Erick Natividad De La Cruz-Hernández, PhD Cecilia Zazueta, PhD Carlos Francisco Aguilar-Gamas, Master degree Eduardo Martínez-Abundis, PhD
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response

- Artículo de revisión aceptado para su publicación.

Universi... Paloma de Tabasco.



Inicio Mensajes Nuevo Salir Bienvenido: EDUARDO MARTINEZ ABUNDIS

Código: RME/0078/21/R2

Título: Papel de la mitocondria en la función de las células beta pancreáticas en estados de salud y enfermedad

Título breve: Mitocondria y producción de insulina

Estado: Aprobado para publicación

Tipo: Artículo de revisión

Resumen: La mitocondria cumple diversas funciones celulares, principalmente en relación con los requerimientos energéticos y la regulación de la muerte. Aunque todas las células de los organismos son importantes, existen algunas que resultan particularmente sobresalientes por el alcance que su desempeño pudiera tener, tal es el caso de las células beta pancreáticas, encargadas de sintetizar y liberar la insulina. En el marco de los 100 años del descubrimiento de esta hormona, con esta revisión se pretende dar a conocer los diferentes aspectos de la función celular en los que está implicada la mitocondria, así como su relevancia en términos de la salud y la enfermedad, que gira en torno a la producción de insulina y, por lo tanto, en la regulación del metabolismo de la glucosa.

Palabras clave: Diabetes mellitus, Disfunción mitocondrial, Regulación de glucosa, Estrés oxidativo, Apoptosis

Editor: Paloma Almeda Valdés

Comentarios: Estimados editores: Esta revisión se centra el análisis de la importancia de las diferentes funciones mitocondriales en las células beta pancreáticas y su impacto en la regulación del metabolismo de la glucosa a través de la síntesis y liberación de insulina. Los autores consideramos que se trata de un tema de extrema relevancia en el contexto de la pandemia de diabetes y obesidad que se vive actualmente y que el tema encaja perfectamente con el perfil de la revista. Esperamos que este manuscrito cumpla con la calidad y represente un aporte importante para el contenido de la revista. Saludos cordiales Dr Eduardo Martinez Abundis Profesor Investigador División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Financiación: -----

Conflicto de intereses: -----

DOI: 10.24875/RME.21000078

Cronología:

- 10-11-2021 Pendiente de validación
- 11-11-2021 Pendiente de completar artículo
- 16-11-2021 Artículo completado y pendiente de validación
- 16-11-2021 Pendiente de completar artículo
- 17-11-2021 Artículo completado y pendiente de validación
- 17-11-2021 Pendiente de asignación de revisor
- 21-11-2021 Asignado a revisor, pendiente de que acepte la invitación
- 21-11-2021 Pendiente de dictamen de revisor
- 06-12-2021 Dictamen pendiente de aprobación de editores
- 07-12-2021 Pendiente de dictamen de revisor
- 26-12-2021 Devuelto con cambios mayores
- 12-01-2022 Revisiones de autor realizadas
- 13-01-2022 Devuelto con cambios menores
- 13-01-2022 Revisiones de autor realizadas
- 13-01-2022 Correcciones validadas por coordinador
- 14-01-2022 Aprobado para publicación