



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

“Estudio en la duda. Acción en la fe”

División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco



**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA LEPTINA SOBRE LA FUNCIÓN  
CARDÍACA Y ACTIVACIÓN DE MECANISMOS APOPTÓTICOS EN UN  
MODELO DE ISQUEMIA/REPERFUSIÓN EN ÓRGANO AISLADO**

TRABAJO RECEPCIONAL BAJO LA MODALIDAD DE TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN MÉDICO CIRUJANO**

PRESENTA:

**JARUMI HISHEL CRUZ HERNÁNDEZ**

ASESORES:

**DR. EN C. EDUARDO MARTÍNEZ ABUNDIS**

**DRA. EN C. NANCY PATRICIA GÓMEZ CRISÓSTOMO**



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

“Estudio en la duda. Acción en la fe”

División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco



**ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA LEPTINA SOBRE LA FUNCIÓN  
CARDÍACA Y ACTIVACIÓN DE MECANISMOS APOPTÓTICOS EN UN  
MODELO DE ISQUEMIA/REPERFUSIÓN EN ÓRGANO AISLADO**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN MÉDICO CIRUJANO**

PRESENTA:

**JARUMI HISHEL CRUZ HERNÁNDEZ**

ASESORES:

**DR. EN C. EDUARDO MARTÍNEZ ABUNDIS**

**DRA. EN C. NANCY PATRICIA GÓMEZ CRISÓSTOMO**

## Reporte de similitud de Software Antiplagio

Análisis del efecto de la leptina sobre la función cardíaca y activación de mecanismos apoptóticos en un modelo de isquemia/reperfusión en órgano aislado.

Por JARUMI HISHEL CRUZ HERNÁNDEZ

Análisis del efecto de la leptina sobre la función cardíaca y activación de mecanismos apoptóticos en un modelo de isquemia/reperfusión en órgano aislado.

---

INFORME DE ORIGINALIDAD

---

**8%**

ÍNDICE DE SIMILITUD

---

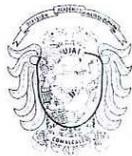
FUENTES PRIMARIAS

---



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División Académica  
Multidisciplinaria  
de Comalcalco

10 AÑOS 2009-2019  
DAMC



Comalcalco, Tabasco a 07 de agosto de 2019  
Oficio N° DAMC-1155/19

**Asunto:** Autorización de Impresión de Trabajo Recepcional por Tesis.

**C. JARUMI HISHEL CRUZ HERNÁNDEZ  
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN MÉDICO CIRUJANO  
P R E S E N T E**

Por medio del presente y en cumplimiento a lo establecido en el Capítulo IV art. 85 del Reglamento de Titulación de los Planes y Programas de Estudio de Licenciatura y Técnico Superior Universitario, vigente, me permito informarle que se autoriza la impresión del Trabajo Recepcional bajo la Modalidad de Tesis titulado **"Análisis del Efecto de la Leptina Sobre la Función Cardíaca y Activación de Mecanismos Apoptóticos en un Modelo de Isquemia-Reperusión en Órgano Aislado"** para sustentar su Examen Profesional de la Licenciatura en Médico Cirujano, asesorada por el Dr. Eduardo Martínez Abundis y la Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

M.A.P. HUGO ADRIÁN BARRAU MADRIGAL  
DIRECTOR



C.c.p. Archivo



El día 05 de agosto de 2019, en la ciudad de Comalcalco, Tabasco, se reunieron los miembros de la Comisión Revisora designada para examinar el Trabajo Recepcional de Licenciatura titulado:

**"Análisis del Efecto de la Leptina Sobre la Función Cardíaca y Activación de Mecanismos Apoptóticos en un Modelo de Isquemia-Reperfusión en Órgano Aislado"**

Presentado por la egresada:

**Jarumi Hisel Cruz Hernández**

Con matrícula **122P4049**

Aspirante al título de:

**Médico Cirujano**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN y LIBERACIÓN** de dicho trabajo para continuar con el procedimiento de titulación, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISIÓN REVISORA**

Dr. Eduardo Martínez Abundis

Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo

Asesor(es)

Dr. José Alfredo Díaz Gandarilla

Dr. Juan Gabriel Tejas Juárez

*Ma. Antonia J.S.*  
M. en C. María Antonia Jiménez Santos

*Karla González Graniel*  
Esp. Karla González Graniel

Dr. Erick N. de la Cruz Hernández

## CARTA AUTORIZACIÓN

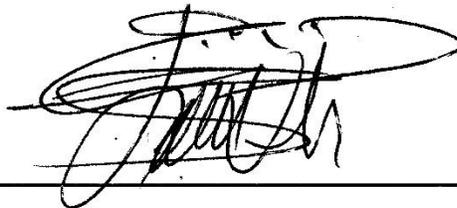
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional denominado **“Análisis del efecto de la leptina sobre la función cardíaca y activación de mecanismos apoptóticos en un modelo de isquemia-reperfusión en órgano aislado”**, del cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco del Trabajo Recepcional antes mencionado, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Comalcalco, Tabasco a los 16 días del mes de octubre del año 2019.

AUTORIZÓ



---

**Jarumi Hishel Cruz Hernández**

“Nuestra sociedad, en la que reina un urgente deseo de riquezas y lujos no entiende el valor de la Ciencia.

No se da cuenta de que la Ciencia es una de las partes más preciosas de su patrimonio moral.

Ni ha asumido, de modo suficiente, el hecho de que la Ciencia está en la base de todo progreso, que aligera la carga de la vida y disminuye su sufrimiento”.

Marie Curie.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## DEDICATORIA

A mis amados Padres Vidal e Irene por su amor, comprensión y respaldo incondicional. Les debo todo lo que soy. Los amo.

A mi hermana Vanía que ha estado conmigo desde siempre, a mi hermano Luca por su apoyo y su ánimo en este proyecto y a mi hermano Lalo por su alegría en cada momento justo. Gracias por estar para mí. Los amo.

A mi abuelita María por su amor y sus abrazos que me llenan de alegría y de fuerza. A mi abuelita Carmen por haber estado para mí, estaría muy orgullosa de ver hasta donde he llegado.

A mis queridas tías Marilú, Lore y Carmita por estar siempre al tanto de mis pasos y guiarme cada día con amor y a mis tíos y mis primos por compartir su alegría conmigo.

A mí querida amiga Wendy, por todas las risas compartidas juntas y por sus consejos.

A mis queridos amigos y maestros de vida el Dr. Eduardo Martínez Abundis y la Dra. Nancy P. Gómez Crisóstomo, que con su alegría y calidez me guiaron y enseñaron a buscar solución a los pequeños misterios de la ciencia y de la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme vida, salud y sabiduría a lo largo de la vida, permitiéndome poder terminar una etapa más.

A mis asesores y queridos amigos los Dr(es). Eduardo Martínez Abundis y a la Dra. Nancy P. Gómez Crisóstomo por todo el apoyo, la confianza permitiéndome estar a su lado y por demostrarme permanentemente su compromiso y dedicación en mi formación científica. No encuentro palabras para agradecer su paciencia al compartir sus conocimientos, experiencias y consejos que en todos estos años contribuyeron en mi formación.

A la División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco por permitirme aprender a desarrollar los conocimientos dados a lo largo de mi carrera y haberme brindado la posibilidad de realizar el presente trabajo de investigación en las instalaciones de esa Unidad Académica.

A mi hermana Vania por todos los momentos estuvo conmigo apoyándome cada día brindándome su amor, consejos y su comprensión.

A toda mi familia, por su apoyo y sus ánimos a lo largo de mis años de formación, haciendo que fuese más fácil este trayecto.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	1
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUCCIÓN .....	7
2. MARCO TEÓRICO .....	9
2.1. Obesidad.....	9
• Definición.....	9
2.2. Clasificación de la obesidad de acuerdo al IMC .....	10
2.3. La obesidad como un problema de salud a nivel mundial .....	11
2.4. La obesidad como factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares .....	16
• Enlaces fisiopatológicos entre la obesidad y las enfermedades cardiovasculares.....	17
• Adaptación cardiovascular a la obesidad. ....	18
• Disfunción de tejido adiposo y el rol de las adipocinas en las enfermedades cardiovasculares.....	19
2.5. Síntesis y modulación de la leptina .....	21
• Receptores de leptina .....	23
• Vías de señalización dependientes del receptor de leptina.....	24
2.6. Relación entre la leptina y las enfermedades cardiovasculares .....	27
• La leptina y el sistema cardiovascular.....	27
• Efectos cardíacos de la leptina. ....	28
2.7. Metabolismo de la mitocondria y procesos que regulan su función.....	29
• Disfunción mitocondrial .....	29

•	Apoptosis.....	33
2.8.	Modelo experimental de isquemia/reperfusión .....	37
•	Sistema de Langendorff.....	37
3.	ANTECEDENTES .....	39
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	41
5.	JUSTIFICACIÓN.....	42
6.	OBJETIVOS.....	43
7.	HIPÓTESIS .....	44
8.	METODOLOGÍA.....	45
8.1.	Animales .....	45
8.2.	Perfusión cardíaca con leptina.....	45
8.3.	Formación de los grupos experimentales .....	46
8.4.	Aislamiento de mitocondrias.....	47
8.5.	Determinación de proteínas.....	47
8.6.	Preparación de muestras para western blot.....	48
8.7.	Western blot.....	48
8.8.	Evaluación de la función cardíaca .....	49
8.9.	Análisis estadístico .....	49
9.	RESULTADOS.....	50
•	Evaluación del efecto de la leptina sobre el Trabajo Cardíaco.....	50
•	Determinación de <i>cATC</i> , <i>ObR</i> , <i>tSTAT</i> y <i>pSTAT</i> por Western Blot.....	52
•	Efecto de la leptina sobre la activación de la apoptosis. ....	52
•	Determinación de <i>citocromo C</i> por Western Blot. ....	56
•	Determinación de <i>Drp1</i> y <i>Fis1</i> , <i>Mfn1</i> y <i>OPA</i> por Western Blot.....	57
10.	DISCUSIÓN .....	58

11.	CONCLUSIÓN .....	63
12.	RECOMENDACIONES .....	64
13.	FINANCIAMIENTO .....	64
14.	GLOSARIO .....	65
15.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	66
15.	ANEXOS .....	78
15.1.	Índice de tablas .....	78
15.2.	Índice de figuras .....	78
15.3.	Trabajos publicados/presentados en congresos.....	79

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

### A

**AAEC:** Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (American Association of Clinical Endocrinologists), 9.

**ACE:** American College of endocrinolog (Colegio Americano de Endocrinología), 9.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico, 8, 29, 30, 36.

**AHA:** American Heart Association (Asociación Americana del Corazón), 16, 41.

**AI:** Aurícula izquierda, 19.

**AgRP:** Péptido relacionado con Agouti, 21.

**AMP:** Adenosine monophosphate (monofosfato de adenosina), 21.

**AMPK:** Adenosine monophosphate-activated protein kinase is an enzyme (proteína cinasa activada por AMP), 21.

**ANGPTL2:** Angiopietin-related protein 2, (proteína angiopoyetina de tipo 2), 17.

**Apaf-1:** Apoptosis protease-activating factor-1 (factor de activación de la proteasa apoptótica 1), 34, 36, 62.

**AS:** Apnea del sueño, 10, 15.

**ARC:** Núcleo arcuato, 22.

**ATP:** Adenosine triphosphate (trifosfato de adenosina), 29.

### B

**Bax:** Proteína 4 similar a bcl-2, 5, 6, 33, 34, 36, 43, 48, 52, 54, 61, 62.

**Bak:** antagonista de bcl-2 / homólogo asesino, 33, 34.

**Bcl-2:** B cell Lymphoma (linfoma de células B), 5, 6, 33, 34, 36, 40, 43, 48, 52, 54, 61, 62.

**BH:** dominios de homología Bcl-2, 33, 36.

**BSA:** Albúmina sérica bovina, 47, 48.

### C

**°C:** Grados Celsius, 37, 38, 45, 47, 48.

**Ca<sup>2+</sup>:** Calcio, 61.

**CaCl<sub>2</sub>:** Cloruro de calcio, 45.

**cACT:** Actina cardíaca, 52, 53, 59.

**CART:** Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (transcrito regulado por la cocaína y anfetaminas), 21.

**Casp:** Caspasa, 34, 36, 43, 52, 55, 56, 62.

**CDC:** Centers for Disease Control and Prevention (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades), 9.

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono, 37, 38, 45.

**Cit c:** citocromo c, 31, 34, 36, 56, 61-63.

**COX:** Ciclooxygenasa, 24.

**Ctrl:** Control, 46, 50, 51, 53-57.

**CRH1:** dominio de homología de receptor 1, 25.

## **D**

**DALYS:** Disability-Adjusted Life Year (AVAD, años de vida ajustados por discapacidad), 39.

**DIS:** Dislipidemias, 10, 15, .

**DMT2:** Diabetes Mellitus tipo 2, 7, 10, 14-16, 27, 29.

**DMN:** Núcleo dorsomedial, 22.

**Drp1:** Dynamin-related protein 1 (proteína relacionada con la dinamina 1), 30-32, 57, 67.

## **E**

**EC:** Extracelular (es), 22, 23, 27, 33, 41.

**ECV:** Enfermedades cardiovasculares, 7, 10, 15, 16, 19, 20, 27, 28, 58.

**ECNT:** Enfermedades crónicas no transmisibles, 15.

**EDTA:** Ethylenediaminetetraacetic Acid (ácido etilendiaminotetraacético), 47.

**EIM:** Espacio intermembrana, 30, 34.

**EO:** Estrés oxidativo, 7, 16, 17, 22, 27, 41.

**ERC:** Enfermedad renal crónica, 15.

**ERGE:** Enfermedad de Reflujo Gastroesofágico, 10.

**ERO:** Especies reactivas de oxígeno, 18, 31.

**EUA:** Estados Unidos de América, 11-14.

## **F**

**FA:** Fibrilación auricular, 16.

**FC:** Frecuencia cardíaca, 8, 19, 20, 22, 39, 40, 43, 45, 49-51.

**FContr:** Fuerza de contracción, 8, 40, 43, 45, 49-51.

**FCN:** Factor de Crecimiento Nervioso, 17.

**Fis1:** Mitochondrial fission 1 protein (proteína de fisión 1), 30-32, 57.

**FN3:** Fibronectina tipo III, 23.

**FNT- $\alpha$ :** Factor de Necrosis Tumoral alfa, 17, 33, 39.

## **G**

**GAPDH:** Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (deshidrogenasa gliceraldehído-3-fosfato), 48, 53-55, 57.

**g:** Gramos, 45, 46, 48, .

**g:** Gravedad, 47.

**GC:** Gasto cardíaco, 18, 22.

**GTP:** trifosfatasas de guanosina, 30, 32.

## **H**

**h:** Horas, 37, 39, 40, 45, 46, 48, 56, 59, 60.

**HAS:** Hipertensión arterial sistémica, 10, 14, 15, 16, 27.

**HC:** Hipertrofia cardíaca, 19.

**HCl:** Cloruro de hidrogeno, 47.

**HVI:** Hipertrofia ventricular izquierda, 16.

**HGNA:** Hígado graso no alcohólico, 10, 15.

## **I**

**IC:** Insuficiencia cardíaca, 16, 19, 28.

**Ig:** inmunoglobulina, 23.

**IMC:** Índice de masa corporal, 7, 10, 14, 20, 27.

**IL:** Interleucina, 17, 39.

**INSP:** Instituto Nacional de Salud Pública, 7, 9.

**Ice:** Intracelular (es), 23.

**I/R:** Isquemia/reperfusión, 8, 30, 31, 35, 41, 43, 45, 46, 50-64.

## **J**

**JAK:** Janus kinase (quinasa Janus), 23-26, 28, 34, 43, 45, 52, 60.

## **K**

**KCl:** Potassium Chloride (cloruro de potasio), 45.

**kDa:** Kilodalton, 5, 6, 8, 21.

**kg:** Kilogramos, 7, 10, 27.

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** Potassium dihydrogen phosphate (fosfato dihidrógeno de potasio), 45.

## **L**

**Lep:** Leptina, 46, 50-57, 61, 62.

**L:** litros, 48.

## **M**

**MAP:** Mitogen-Activated Protein (proteínas activadas por mitógenos), 23.

**m<sup>2</sup>:** Metros cuadrados, 7, 10, 27.

**mA:** Miliamperios, 48.

**MEC:** Matriz extracelular, 22.

**Mfn1:** Mitofusin-1 (mitofusina 1), 30-32, 57.

**mg:** Miligramos, 45, 47.

**MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O:** Sulfato de magnesio, 45.

**min:** Minutos, 5, 6, 37, 45- 48, 59, 60, 61.

**mL:** Mililitro, 27, 31, 37, 39, 43, 45-48.

**MOMP:** Permeabilización de la membrana externa mitocondrial, 36.

**MME:** Membrana mitocondrial externa, 30, 32, 34, 36.

**mmHg:** Milímetros de mercurio, 37, 49.

**MMI:** Membrana mitocondrial interna, 30, 32.

**MXN:** Peso mexicano, 14.

## **N**

**NaCl:** Cloruro de sodio, 45, 48.

**NaHCO<sub>3</sub>:** Bicarbonato de sodio, 45.

**nM:** Nanomolar, 5, 6, 31, 43, 45-48, 51, 58, 59.

**nm:** Nonometros, 47.

**ng:** Nanogramo, 5, 6, 27, 31, 39, 43, 45, 46, 51, 58, 59.

**NPY:** Neuropeptido Y, 21.

## **O**

**O<sub>2</sub>:** Oxígeno, 37, 38, 45.

**Ob-R:** Receptor de leptina, 5, 23, 52, 53, 58, 59, 60.

**OECD:** The Organisation for Economic Co-operation and Development (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico), 7, 11, 12, 40.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud, 9, 10, 11, 40.

**ON:** Óxido nítrico, 18.

**Opa1:** Optic atrophy type 1 (proteína de la atrofia óptica tipo 1), 30-32, 57.

**OT:** Osteoartritis, 10, 15.

## **P**

**P:** Presión, 49.

**pmm:** pulsaciones por minuto, 49.

**PA:** Presión Arterial, 19.

**PCR-RT:** Transcriptasa reversa, 64.

**PDFVI:** Presión Diastólica Final del Ventrículo Izquierdo, 49.

**PVDF:** polyvinylidene fluoride (polifluoruro de vinilideno), 48.

**pH:** Unidad de medida de acidez o alcalinidad de una disolución, 37, 45, 48.

**POMC:** pro-opiomelanocortina, 21.

**PSAP:** Presión sistólica de la arteria pulmonar, 19.

**pSTAT:** phosphor-Signal transducer and activator of transcription 3 (transductor de señal y activador de la transcripción 3 fosforilado), 5, 6, 25, 39, 40, 48, 52, 53, 60.

## **R**

**RE:** Retículo endoplásmico, 28.

**RI:** Resistencia a la insulina, 15, 16, 17.

**RVS:** Resistencia vascular sistémica, 19.

**RBP-4:** Retinol Binding Protein 4 (proteína de unión a retinol 4), 17.

## **S**

**Seg:** Segundos, 45.

**SIP:** Péptido Inhibidor de STAT, 43, 45, 46, 50-57, 59-62.

**SCV:** Sistema cardiovascular, 16, 22.

**SDS:** Sodium dodecyl sulfate (sulfato dodecil sódico), 48.

**SNC:** Sistema nervioso central, 19, 21, 28.

**SOCS-3:** Supresor de la señalización de citocinas 3, 25.

**SRAA:** Sistema renina angiotensina aldosterona, 17.

**STAT3:** Signal transducer and activator of transcription 3 (transductor de señal y activador de la transcripción 3), 5, 6, 23-26, 28, 34, 40, 43, 45, 46, 48, 51-57, 60-62.

**STE:** Sodium Chloride-Tris-EDTA (cloruro de sodio-Tris-EDTA), 47.

## **T**

**TA:** Tejido adiposo, 7, 8, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 27, 39.

**TC:** Trabajo cardíaco, 45, 49.

**Tris-HCl:** Tris-Hydrochloride (tris-hidrocloruro), 47.

**Tris-Na:** Tris sodio, 48.

**TGF- $\beta$ :** Transforming growth factor beta (factor de crecimiento transformante  $\beta$ ), 17.

**TTNS:** Tween-Tris-buffered saline (solución salina tamponada con Tween-Tris), 48.

## **U**

**$\mu$ L:** Microlitro, 47.

**$\mu$ M:** micromolar, 45.

**UPCEA:** Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal, 45.

**USD:** United States Dollars (dólar estadounidense), 14.

## **V**

**VDAC:** Voltage-dependent anion-selective channel protein (canal de aniones dependiente de voltaje), 48.

**VFC:** Variabilidad de la frecuencia cardíaca, 19.

**VI:** Ventrículo izquierdo, 18, 19, 28, 38, 49.

**VMN:** Núcleo hipotalámico ventromedial, 22.

**V:** Voltios, 48.

**VS:** Volumen sistólico, 19.

## RESUMEN

**Antecedentes:** La obesidad es un problema de salud a nivel mundial, alcanzando proporciones epidémicas, su importancia radica en su impacto negativo sobre la calidad de vida y su relación con la aparición de enfermedades cardiovasculares. La leptina es un péptido de 16 kDa, producido principalmente por el tejido adiposo. Se ha reportado que induce un aumento en la expresión de proteínas pro-apoptóticas, alteraciones mitocondriales y un efecto pro-hipertrofico sobre los cardiomiocitos. Este trabajo analiza el efecto de una concentración alta de leptina, concentración similar a la que presentan personas con obesidad, sobre corazones de rata que fueron sometidos a un episodio de isquemia/reperfusión para evaluar el rendimiento del corazón, la hipertrofia y la activación de la apoptosis

**Metodología:** Los corazones de rata fueron perfundidos con o sin 3.1 nM de leptina durante 60 min previo a un período de isquemia de 45 min y 60 min de reperfusión. El trabajo cardíaco se evaluó previo a la preparación de los homogenizados y al aislamiento de mitocondrias. Se determinaron por western blot la actina cardíaca, el receptor de leptina Ob-R, tSTAT3 y pSTAT3 y, las proteínas relacionadas con apoptosis Bax, Bcl-2, citocromo c y Caspasa 3.

**Resultados:** En nuestros resultados, la leptina redujo la recuperación de los corazones después del período de isquemia, reflejándose en una frecuencia cardíaca disminuida; no se evidenció el efecto de la leptina como inductor de hipertrofia cardíaca, pero sí su efecto como activador de los mecanismos apoptóticos, con un aumento en la relación Bax/Bcl-2 y en la liberación de citocromo c de la mitocondria al citosol.

**Conclusiones:** Nuestros resultados apoyan el efecto perjudicial de la leptina sobre la función cardíaca, desde el inicio de la perfusión y posterior al período isquémico, además de que amplifica la señalización apoptótica a través de la vía mitocondrial.

**Palabras clave:** *Leptina, Apoptosis, Obesidad, Hipertrofia cardíaca, lesión por Isquemia-reperfusión.*

## ABSTRACT

**Background:** Obesity is a global health problem, reaching epidemic proportions, which have a negative impact on quality of life and is associated with the onset of cardiovascular diseases. The 16 kDa peptide leptin, is mainly produced by the adipose tissue but is also synthesized by different tissues like heart. Within its effects, an increase in the expression of pro-apoptotic protein, mitochondrial abnormalities and a pro-hypertrophic effect on cardiomyocytes have been described. This study analyzes the effect of a high concentration of leptin –concentration that usually is present in people with obesity- on rat hearts subjected to an episode of ischemia/reperfusion, and evaluate the heart perform, hypertrophy and apoptosis activation

**Methods:** rat hearts were perfused with or without 3.1 nM of leptin for 60 min before 45 min of ischemia and 60 min of reperfusion. Cardiac performance was evaluated before the preparation of homogenates and isolation of mitochondria. Cardiac actin, leptin receptor, tSTAT3, pSTAT3 and the apoptosis-related proteins Bax, Bcl-2, cytochrome c and caspase 3 were analyzed by western blot.

**Results:** In our results, leptin worse the recovering of hearts after ischemia period, reflecting a lowered heart rate; the effect of leptin as an inducer of cardiac hypertrophy was not evident, but its effect as activator of apoptosis, with an increase in the Bax/Bcl-2 ratio and releasing of cytochrome c to the cytosol was identified.

**Conclusions:** Our result support the deleterious effect of leptin on cardiac function, from the beginning of the perfusion and after the ischemia period; leptin also amplifies the apoptotic signaling through the mitochondrial pathway.

**Keywords:** *Leptin, Apoptosis, Obesity, Heart hypertrophy, Ischemia-reperfusion injury.*

## 1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es un problema de salud a nivel mundial, su importancia radica en el impacto negativo que tiene sobre la calidad de vida y salud de las personas, además del aumento de su prevalencia mundialmente, alcanzando proporciones epidémicas<sup>1</sup>. Proyecciones hechas por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCED) en 2017, estima un aumento constante de la obesidad en países como Estados Unidos, México, Chile y Canadá. En el año 2016, Estados Unidos ocupó el primer lugar de obesidad en adultos a nivel mundial, con 40%, seguido por Chile con 34.4% y en tercer lugar México con 33.3%<sup>2</sup>. De acuerdo con el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) se define a la obesidad como una enfermedad crónica multifactorial en la que están involucrados aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida, que favorecen una acumulación excesiva de grasa corporal<sup>3</sup>. El índice de masa corporal (IMC) se utiliza para clasificar el grado de obesidad de una persona. Se calcula dividiendo el peso de la persona (kg) por el cuadrado de su talla (metros cuadrados) ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Un adulto con un IMC igual o superior a 25 se considera con sobrepeso y un IMC igual o superior a 30 se considera con obesidad. Por su parte la obesidad se clasifica en 3 grados de acuerdo con el IMC. Un IMC 30-34.9 se considera obesidad grado I, un IMC 35-39.9 es obesidad grado II y un IMC  $\geq 40$  para la obesidad grado III<sup>4</sup>. La obesidad se considera el principal factor de riesgo para desarrollar enfermedades como dislipidemias, DM2, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares (ECV)<sup>5</sup>. En las ECV asociadas con la obesidad, se producen cambios estructurales y funcionales que conducen un estado de inflamación sistémica crónica, con remodelación cardíaca que conlleva a disfunción de los cardiomiocitos<sup>5, 6</sup>. Diversos mecanismos son considerados como responsables de los efectos de la obesidad en el sistema cardiovascular, tales como aumento de citocinas con actividad vascular, estrés oxidativo (EO), activación de apoptosis, entre otras. Se ha demostrado una correlación positiva en la que el cuerpo humano responde y se adapta al exceso de ingesta calórica, aumentando sus necesidades metabólicas<sup>7</sup> y hemodinámicas impuestas por la ganancia de peso corporal<sup>8</sup>. Aquí se presenta una correlación directa entre la obesidad y el tejido adiposo (TA), a nivel celular, los adipocitos incrementan en número y tamaño produciendo así, alteraciones en su estructura y su función, estas

alteraciones desempeñan un papel muy importante en la patogenia de la obesidad<sup>7</sup>. El TA es un órgano endocrino que secreta diversas hormonas llamadas adipocinas, dentro de las que se incluyen a la leptina, la adiponectina<sup>6, 9</sup> y la resistina<sup>10</sup>. La leptina es un péptido de 16 kDa que estructuralmente pertenece a la superfamilia de citoquinas tipo I<sup>10, 11</sup>. Se reconoce su acción en los tejidos periféricos que están implicados en diferentes sistemas metabólicos como, en la homeostasis de la glucosa y de los lípidos, en las funciones neuroendocrinas, en la regulación del balance energético, la angiogénesis, la inflamación, entre otros<sup>12-14</sup>. En la obesidad, la leptina se encuentra elevada como mecanismo para ayudar a la regular el balance de energía<sup>15</sup>. La secreción de la leptina es directamente proporcional al total de TA en el cuerpo<sup>16</sup>. Dentro de sus efectos cardiovasculares, se encuentran la regulación de sistemas como la presión arterial, la agregación plaquetaria, la formación de trombos y la respuesta vascular a la inflamación<sup>15</sup>. Se ha reportado que la leptina induce un aumento en el trabajo cardíaco, mediante el aumento de la frecuencia cardíaca (FC) y fuerza de contracción (FContr). En corazones, sometidos a una perfusión con concentraciones elevadas de leptina, se demostró un aumento en la expresión de proteínas pro-apoptóticas concluyendo que surge por alteraciones mitocondriales lo cual está asociado con un efecto pro-hipertrofico de la leptina sobre los cardiomiocitos<sup>17</sup>. La mitocondria participa en diversos procesos para la regulación de la homeostasis celular, uno de ellos, es la dinámica mitocondrial; aquí, existen ciclos donde la mitocondria puede entrar a estados de fisión (división) y/o fusión, estos eventos se relacionan en la proliferación, apoptosis, la integridad del ADN mitocondrial y en la regulación del calcio mitocondrial<sup>18</sup>. La función mitocondrial es un determinante importante de la contractilidad miocárdica; estudios recientes, han demostrado que cambios estructurales en la mitocondria pueden ser relevantes en la disfunción cardíaca inducida por isquemia/reperfusión (I/R)<sup>18</sup>. Con este trabajo se pretende analizar la participación de la leptina en un evento fisiopatológico experimental como lo es la I/R cardíaca, que emula un infarto y analizar sus efectos sobre la actividad de las proteínas reguladoras de la apoptosis y de la dinámica mitocondrial.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Obesidad

- **Definición**

La palabra obeso tiene sus orígenes a mediados del siglo XVII, proviene del latín *obēsus*, **ob**-que abarca todo, y **esus**-comer, es decir "alguien que se lo come todo"<sup>19</sup>

La Organización mundial de la Salud (OMS) define al sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud<sup>4</sup>, mientras que el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) define como obesidad al peso que es más alto de lo que se considera saludable para una altura dada<sup>20</sup>.

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD, por sus siglas en inglés) define al sobrepeso y a la obesidad como la condición en la cual los habitantes tienen un peso excesivo que representa riesgos para la salud, debido a la alta proporción de grasa corporal<sup>21</sup>.

El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) indica que la obesidad es una enfermedad crónica multifactorial en la que están involucrados aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida, que condicionan una acumulación excesiva de grasa corporal<sup>3</sup>.

La Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AAEC) y el Colegio Americano de Endocrinología (ACE) definen a la obesidad como una enfermedad crónica caracterizada por procesos fisiopatológicos que aumentan la cantidad de tejido adiposo y puede aumentar la morbilidad y la mortalidad. Esta acumulación es el resultado de una compleja interacción de múltiples factores biológicos (p. ej., genes de susceptibilidad), factores ambientales (p. ej., consumo de dietas hipercalóricas) y factores conductuales que determinaran la gravedad de la enfermedad, los impactos para la salud y el desarrollo de las complicaciones<sup>22</sup>.

## 2.2. Clasificación de la obesidad de acuerdo al IMC

El IMC es un valor que se utiliza para clasificar el grado de obesidad de una persona. Se calcula dividiendo el peso de la persona (kg) por el cuadrado de su talla (metros cuadrados) ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Un adulto con un IMC igual o superior a 25 se considera con sobrepeso y con un IMC igual o superior a 30 es considerado obeso. Por su parte la obesidad se clasifica en 3 grados de acuerdo con el IMC. El grado I corresponde a un IMC 30-34.9, el grado II a un IMC 35-39.9 y para el grado III, el  $\text{IMC} \geq 40$ <sup>4</sup>. En la Tabla 1 se muestra la clasificación de la obesidad basado en el IMC según la OMS, así como el riesgo que implica para la salud. Un  $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$  se asocia a una mayor probabilidad de complicaciones relacionadas con la obesidad y el riesgo de progresar a estadios más avanzados de obesidad<sup>23</sup>.

**Tabla 1.** Clasificación de la obesidad por IMC según la OMS.

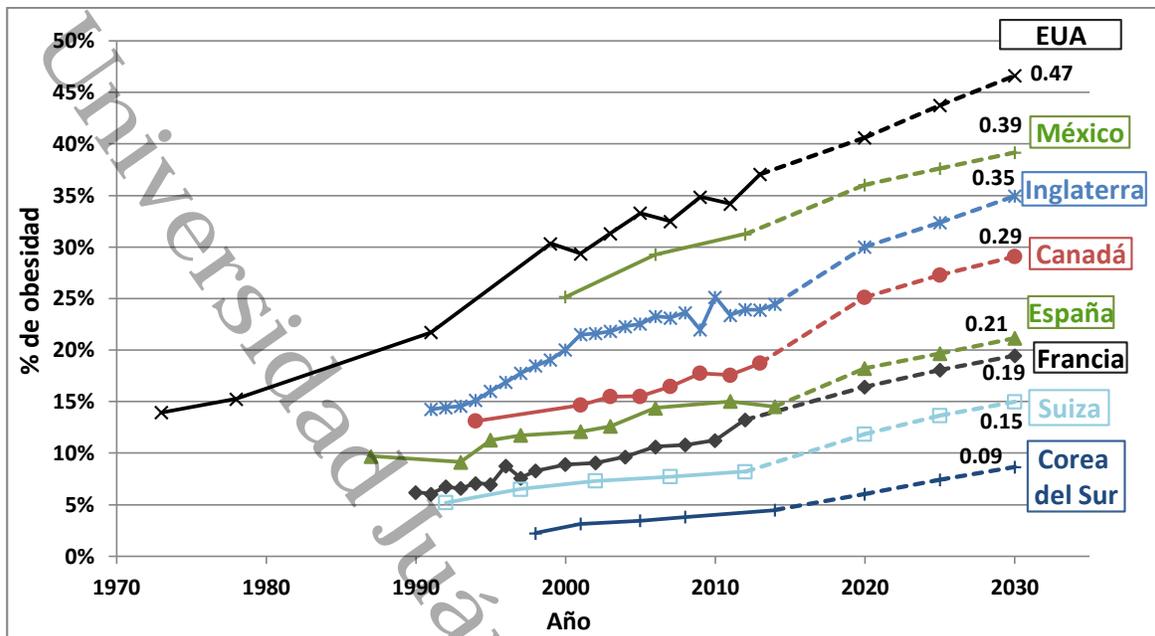
CLASIFICACIÓN	IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	COMPLICACIONES /RIESGO A LA SALUD
<b>Peso normal</b>	18.5-24.9	Sin complicaciones / promedio
<b>Sobrepeso</b>	25-29.9	Sin complicaciones
<b>Obesidad Grado I (Moderada)</b>	30-34.9	1 o más (ECV, DMT2, HAS, DIS, HGNA, AS, OT, ERGE) / aumento moderado
<b>Obesidad Grado II (Severa)</b>	35-39.9	1 o más (ECV, DMT2, HAS, DIS, HGNA, AS, OT, ERGE) / aumento severo
<b>Obesidad Grado III (Mórbida)</b>	$\geq 40$	1 o más (ECV, DMT2, HAS, DIS, HGNA, AS, OT, ERGE) / aumento muy severo

**Abreviaciones:** IMC, índice de masa corporal; ECV: Enfermedad Cardiovascular; DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2; HAS: Hipertensión Arterial Sistémica; DIS: Dislipidemias; HGNA: Hígado graso no alcohólico; AS: Apnea del sueño; OT: Osteoartritis, ERGE: Enfermedad de Reflujo Gastroesofágico.

### **2.3. La obesidad como un problema de salud a nivel mundial**

La obesidad es una epidemia de rápido incremento en todo el mundo alcanzando proporciones de epidemia en países occidentales<sup>1</sup>; es la segunda causa de muerte prevenible después del consumo de tabaco<sup>24</sup>. De acuerdo con reportes de la OMS desde el año 1975 la prevalencia de la obesidad se ha triplicado en todo el mundo. En el 2016 había más de 1900 millones de adultos que tenían sobrepeso, de los cuales 650 millones tenían obesidad, representando alrededor del 13% de la población adulta en todo el mundo (11% hombres y 15% mujeres). De la misma manera la prevalencia de sobrepeso y obesidad se incrementa en niños y adolescentes (5 a 19 años), del 4% en 1975 a más del 18% en el 2016<sup>4</sup>, alcanzando hasta un 25% de la población en países desarrollados<sup>25</sup>. El sobrepeso y la obesidad se consideraban como un problema propio de los países de ingresos económicos elevados, pero en la actualidad ambos trastornos aumentan también en los países con bajos y medianos ingresos<sup>4</sup>.

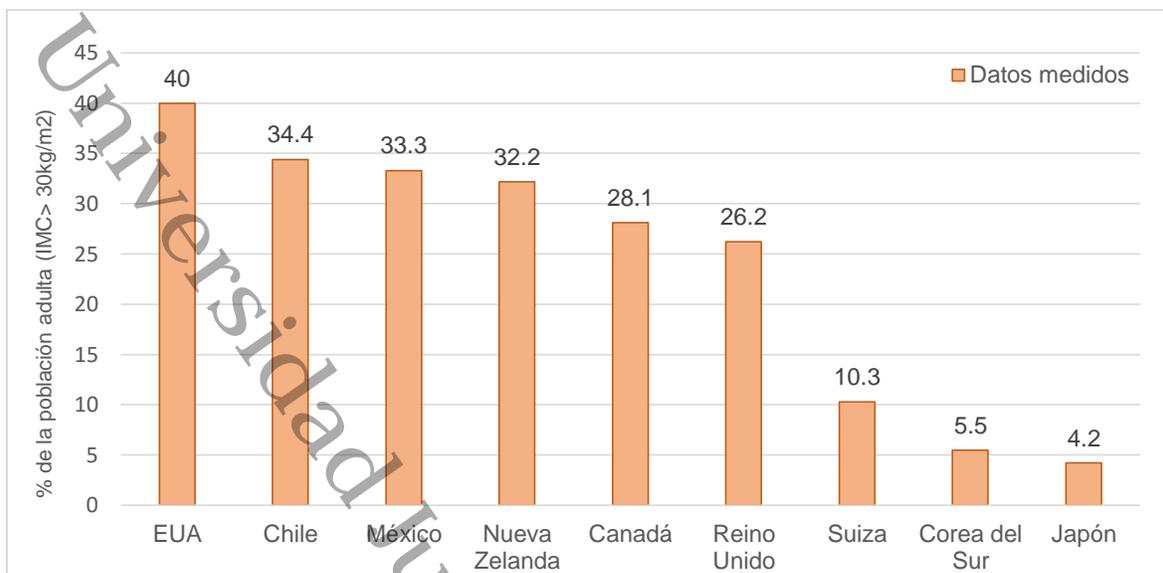
Las proyecciones hechas por la OCED en 2017 estiman un aumento constante en la prevalencia de obesidad hasta el 2030 (Figura 1). Se espera que la obesidad siga en aumento en países como Estados Unidos de América (EUA), México e Inglaterra en donde se proyecta que el 47%, 39% y 35% de la población, respectivamente padecerá obesidad. Las tasas de proyecciones de obesidad estiman que aumentarán más lentamente para Canadá con 29% con respecto a EUA y México. Por el contrario, para Suiza y Corea del Sur se espera un aumento lento de 19% y 9% respectivamente<sup>26</sup>. Actualizaciones de OCED del año 2018, sobre las proyecciones de las cifras de prevalencia de sobrepeso y obesidad (Figura 2) estiman que, uno de cada cinco adultos padecen obesidad en países miembros de la OECD (EUA, Reino Unido, México, Canadá, Chile, Nueva Zelanda, España, Francia, Italia, Japón, Corea, Brasil, Chile, Turquía, Australia, entre otros), también se reportó que en el año 2016, el primer lugar de obesidad a nivel mundial en la población de mayores de 15 años, era ocupado por EUA con 40%, segundo lugar Chile con 34.4% y tercer lugar México con 33.3%, seguido por Nueva Zelanda (32.2%), Canadá (28.1%) y Reino Unido (26.2%), los datos auto-reportados de Colombia indican 20.9%; los países con menor prevalencia de obesidad en adultos son Japón (4.2%) y Corea del Sur (5.5%)<sup>2</sup>.



**Figura 1.** Tasas proyectadas de obesidad al año 2030.

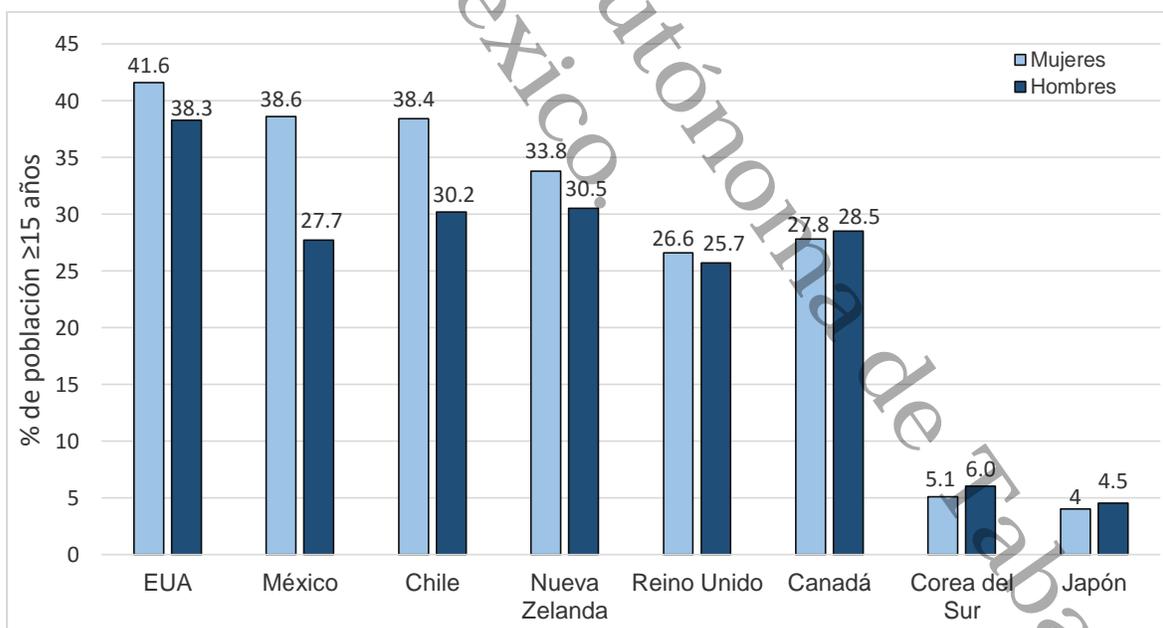
Modificado de: OECD OBESITY UPDATE 2017. Analysis of national health survey data. <http://www.oecd.org/health/health-systems/Obesity-Update-2017-Figure-5-Projected-rates-of-obesity.xls>. **Abreviaciones:** EUA: Estados Unidos de América.

En México la prevalencia ha aumentado significativamente desde 1980, afectando en la actualidad a más del 30% de la población adulta, este aumento se puede atribuir al aumento en el consumo de alimentos con alto contenido calórico y a un estilo de vida más sedentario. Reportes de la OCED del año 2016 (Figura 3), mostraron una mayor prevalencia de obesidad en mujeres que en hombres siendo 10.9% más en mujeres que en hombres, mientras que en los países con menor prevalencia de obesidad como Corea de Sur sucede todo lo contrario, con 0.9% mayor en hombres que en mujeres y en Japón es 0.5% más en hombres<sup>2</sup>. Un estudio realizado por Rtveldze K et al (2014)<sup>27</sup>, en el cual se analizó la prevalencia de la obesidad en México, pronosticaron que para el año 2050 la obesidad aumentará a 54% y 57% para hombres y mujeres, respectivamente, y la prevalencia de sobrepeso será de 34% para cada categoría<sup>27</sup>.



**Figura 2.** Obesidad en Adultos  $\geq 15$  años (2016 o el año más reciente)<sup>2</sup>.

Modificado de Fuente: OCDE (2018). OECD Health Statistics 2018. (Acceso 06 Febrero 2019) [https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH\\_LVNG](https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH_LVNG). **Abreviaciones:** EUA: Estados Unidos de América.



**Figura 3.** Obesidad entre adultos  $> 15$  años (2016 o el año más reciente)<sup>28</sup>.

Modificado de Fuente: OCDE (2018). OECD Health Statistics 2018. (Acceso 10 Febrero 2019) [https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH\\_LVNG](https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH_LVNG). **Abreviaciones:** EUA: Estados Unidos de América.

Un análisis sistemático realizado de 1990 al 2010, estimó que el sobrepeso y la obesidad se asocian mundialmente con 3.4 millones de muertes<sup>29</sup>, además de que en niños con obesidad aumenta el riesgo de muerte prematura<sup>30</sup>. La obesidad afecta las funciones normales del cuerpo y se ha convertido en un problema de salud pública importante. En el año 2014 en EUA se estimó que los costos médicos anuales asociados con la obesidad fueron de \$1901.00 USD por persona, extrapolándolo a nivel nacional, el costo fue de \$149.4 billones USD<sup>31</sup>, también se estimó que los costos de la obesidad, si se padece esta desde los 20 años de edad, es de \$23,123.00 USD y si es desde los 65 años, el costo es de \$19,022 USD<sup>31,32</sup>. En Europa en el año 2011 el costo total fue equivalente al 0.47%-0.61% del producto interno bruto<sup>33</sup>.

Los reportes de encuestas realizado por DiBonaventura M. et al., (2018)<sup>34</sup>, en los cuales se entrevistaron a 2511 adultos mexicanos mayores 18 años de edad, con un porcentaje de hombres (50.62%) y mujeres (49.38%) con un rango de edad entre 40-66 años, clasificó a los individuos por su IMC, reportando a los de bajo peso: 35 (1.39%), los de peso normal: 901 (35.88%), sobrepeso: 962 (38.31%), obesidad tipo I: 425 (16.93%), obesidad tipo II: 132 (5.26%), y obesidad tipo III: 56 (2.23%). Un total de 826 individuos encuestados (32.90%) informaron tener DMT2, 900 encuestados (35.84%) informaron tener hipertensión y 454 (18.08%) informaron ambas afecciones. Los encuestados que se clasificaron en obesidad tipo I, y que presentaban DMT2 e HAS, presentaron más visitas a la sala de emergencias en los últimos 6 meses que los encuestados con peso normal. También se reportó que los costos en salud aumentaron de \$2,422 MXN (peso normal), a \$2,614 MXN (sobrepeso), a \$2,993 MXN (obesidad tipo I) y a \$3,317 MXN (obesidad tipo II-III)<sup>34</sup>.

Rtveladze K. et al, (2014)<sup>27</sup> reportó que, en México los costos de salud estimados en el año 2010 para la obesidad con la presencia de comorbilidades propias, fueron de \$806 millones USD y con el aumento de la prevalencia estimada de obesidad para el 2050, el costo podría aumentar a \$1.7 mil millones. También se reportó que se espera que para el año 2050 se presenten aproximadamente 12 millones de casos de diabetes y 8 millones de casos de enfermedad cardíaca<sup>27</sup>.

Estos datos demuestran que el sobrepeso y la obesidad representan un problema de salud pública a nivel mundial y de manera sobresaliente en México. Además de la

rapidez con la que aumenta su prevalencia, en países en desarrollo y desarrollados, está su asociación como el principal factor de riesgo para desarrollar comorbilidades incluyendo, resistencia a la insulina (RI), DIS, DMT2, HAS, ECV, HGNA, enfermedad renal crónica (ERC), OT, ciertos tipos de cáncer, apnea obstructiva del sueño y otros síndromes de hipoventilación, que afectan la función cardiovascular, entre otras afecciones, y que incrementan de manera importante la mortalidad<sup>25,35,36</sup>, disminuyen la calidad vida relacionada con la salud en las personas con sobrepeso y obesidad en comparación con aquellas con un peso normal y representan un impacto profundo en la economía del sistema de salud mexicano. En México un análisis de transición epidemiológica del 2015 mostró que las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) dentro de las cuales se encuentra la DMT2 e HAS causaron 75% del total de las muertes<sup>37</sup>.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 2.4. La obesidad como factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares

La obesidad es considerada como uno de los principales factores de riesgo modificable para desarrollar ECV de acuerdo con la Asociación Americana del Corazón (AHA)<sup>38</sup>. Está ampliamente demostrado que la obesidad se relaciona con diversas ECV, como la enfermedad vascular aterosclerótica, insuficiencia cardíaca (IC), hipertrofia ventricular izquierda (HVI), HAS, accidente cerebrovascular, fibrilación auricular (FA), arritmias ventriculares, entre otras<sup>5,6,39</sup>. Diversos estudios epidemiológicos realizados en los últimos años concluyen que el riesgo para ECV asociado a la obesidad, sigue presente aun cuando otros factores de riesgo disminuyen o son modificados, lo que evidencia que la obesidad por sí misma es un predictor independiente de ECV<sup>6</sup>.

En las ECV, las alteraciones tanto estructurales como funcionales que son inducidas por la obesidad, están mediadas por mecanismos tanto directos como indirectos produciendo una remodelación cardíaca<sup>5,6</sup>. Los mecanismos directos, son los que el sistema cardiovascular lleva a cabo para adaptarse al exceso de grasa corporal, incluyendo la acción de las adipocinas como agentes pro-inflamatorios y la homeostasis vascular que resulta en un estado pro-inflamatorio y pro-trombótico. Por su parte, los mecanismos indirectos, están mediados por factores de riesgo concomitantes de ECV, como RI, HAS, DMT2, adiposidad visceral, y dislipidemias<sup>6,39</sup>. Existen múltiples mecanismos responsables de los efectos adversos de la obesidad sobre el sistema cardiovascular (SCV)<sup>7</sup>, se trata de una interacción compleja de factores hemodinámicos, neuro-humorales y metabólicos, además de inflamación y EO que contribuyen a la apoptosis celular, la hipertrofia y la fibrosis intersticial<sup>5</sup>. Todas estas condiciones contribuyen a amplificar la morbilidad y la mortalidad en este tipo de pacientes<sup>6</sup>. Anteriormente se consideraba al TA como un sistema de almacenamiento de energía, pero actualmente se reconoce su papel como un órgano endocrino que sintetiza hormonas llamadas adipocinas; moléculas activas que poseen efectos protectores para el miocardio<sup>29</sup>. En la adiposidad visceral, donde se encuentra un índice de circunferencia de cintura aumentado, se asocia con 29% de muerte por ECV, 27% con infarto de miocardio y con un 35% para mortalidad total<sup>39</sup>.

- **Enlaces fisiopatológicos entre la obesidad y las enfermedades cardiovasculares**

Dentro de los mecanismos que ya están bien descritos, se sabe que cuando aumenta la cantidad de grasa corporal (adiposidad) surgen anormalidades metabólicas que aumentan la resistencia vascular por la activación neuro-humoral, como en el caso del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), la activación simpática, la hiperleptinemia y los factores de crecimiento<sup>6,40</sup>. Estudios realizados en modelos preclínicos de animales obesos han demostrado que existe un estado de inflamación sostenida, que induce a una disfunción diastólica<sup>29</sup>. También se han realizado estudios en personas con obesidad para corroborar si existe una respuesta de inflamación sistémica crónica y se encontró que hay un aumento de leucocitos y diversas citocinas pro-inflamatorias como la proteína C reactiva y las que son producidas por el TA, como las interleucina 6 (IL-6), IL-18, IL-1b, y el FNT- $\alpha$ <sup>41,42</sup>, así también como la expresión de factores de crecimiento como el Factor de Crecimiento Transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y Factor de Crecimiento Nervioso (FCN)<sup>5,9,29</sup>, resistina, proteína de unión a retinol 4 (RBP-4), lipocalina 2 y proteína de tipo angiopoyetina 2 (ANGPTL2), que ejercen efectos aterogénicos<sup>6</sup>, además de que el propio tejido cardiaco puede expresar de manera aumentada citocinas pro-inflamatorias y factores de crecimiento pro-fibróticos<sup>5</sup>.

La integridad y la correcta función del TA son aspectos relevantes para determinar el riesgo cardiometabólico. El TA regula el exceso de grasa proveniente de la dieta y también determina si la homeostasis metabólica se mantiene o se produce un estado de inflamación sistémica de bajo grado con una RI, dando como resultado consecuencias cardíacas deletéreas. Es bien sabido que el TA interactúa con otros órganos como el cerebro, hígado, corazón, músculo esquelético a través de moléculas de señalización, por lo que cuando hay un aumento del TA surgen consecuencias tanto a nivel local como sistémico: localmente se pueden desarrollar inflamación, hipoxia, fibrosis, alteración en la secreción de adipocinas y una función mitocondrial alterada; las consecuencias sistémicas comprenden una RI, un metabolismo anormal de la glucosa y los lípidos, estado pro-inflamatorio y pro-trombocito a una disfunción

endotelial, aumentando el riesgo de padecer las comorbilidades mencionadas anteriormente<sup>6</sup>.

En condiciones de un balance energético adecuado, los adipocitos secretan adipocinas anti-inflamatorias que promueven la sensibilidad a la insulina y poseen efectos cardioprotectores y anti-aterogénicos<sup>6</sup>; pero en estados avanzados de obesidad, el TA sufre una mala adaptación a la expansión, primero los adipocitos sufren una hiperplasia estimulada por el reclutamiento y la proliferación de precursores adipogénicos, posteriormente los adipocitos sufren una hipertrofia que los vuelve disfuncionales, produciendo la liberación de citocinas pro-inflamatorias como la leptina, este estado de inflamación se intensifica por el reclutamiento de macrófagos al TA que también son productores de citocinas e inducen la síntesis de óxido nítrico (ON), especies reactivas de oxígeno (ERO) e intermediarios de nitrógenos que refuerzan la RI, iniciando un círculo vicioso de respuesta inflamatoria que favorece el desarrollo de patologías asociadas a la obesidad, lo cual implica la desregulación de otros mecanismos como la apoptosis, necrosis celular y fibrosis, que perpetúa así la inflamación sistémica de bajo grado y la disfunción del TA<sup>6,7</sup>.

- **Adaptación cardiovascular a la obesidad.**

La obesidad produce cambios hemodinámicos desfavorables y una amplia gama de modificaciones inadecuadas tanto en la estructura como en la función cardiovascular<sup>6</sup>. Al aumentar la cantidad de peso corporal generalmente también conlleva un aumento en la masa magra, lo que demanda un mayor flujo sanguíneo, que se traduce en un aumento en el volumen sanguíneo total por acción simpática, incrementando finalmente el gasto cardíaco (GC)<sup>6,17,43</sup>. En la obesidad tipo II y III aumenta el retorno venoso, lo que provoca un aumento de la precarga y la presión de llenado del ventrículo izquierdo (VI), dando como resultado que las presiones arteriales pulmonares y cardíacas derechas se eleven<sup>29</sup>. Las demandas de volumen sanguíneo provocan una disfunción del llenado diastólico del VI<sup>43</sup>. El incremento del trabajo cardíaco y la predisposición por obesidad lleva a una geometría anormal del VI y una inadecuada remodelación cardíaca<sup>6,29</sup>. La obesidad con una resistencia vascular periférica incrementa de manera desproporcionada las dimensiones de las paredes del

VI, produciendo una hipertrofia cardíaca (HC) tipo concéntrica del VI<sup>43</sup>. También se ha demostrado que los individuos obesos tienen una contractilidad miocárdica disminuida que es proporcional al exceso de peso. La hipertrofia del VI produce una disfunción diastólica y eventualmente una disfunción sistólica del VI; una combinación de la disfunción sistólica y la diastólica progresan a una IC<sup>6,29,43</sup>. La Tabla 2 resume los efectos hemodinámicos y las adaptaciones cardiovasculares más representativas en la obesidad<sup>6</sup>.

---

**Tabla 2.** Efectos hemodinámicos inducidos por la obesidad y las adaptaciones cardiovasculares.

---

**Adaptaciones hemodinámicas y cardíacas estructurales y funcionales asociadas a la obesidad.**

---

- ↑ Volumen sanguíneo intravascular
  - ↑ Volumen sistólico (VS).
  - ↑ Frecuencia cardíaca (FC)
  - ↓ Variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC)
  - ↑ Gasto cardíaco (GC)
  - ↑ Resistencia vascular sistémica (RVS)
  - ↑ Presión Arterial (PA)
  - ↑ Presión sistólica de la arteria pulmonar (PSAP)
  - ↑ Presiones de llenado en cavidades cardíacas izquierda y derecha
  - Agrandamiento de la AI
  - Dilatación del VI
  - Hipertrofia del VI (tipo excéntrico o concéntrico)
  - Llenado diastólico anormal del VI
- 

**Abreviaciones:** AI: aurícula izquierda; VI: ventrículo izquierdo.  
Tomada de Koliaki C. et al. *Metabolism*. 2019;92:98-107.

---

• **Disfunción de tejido adiposo y el rol de las adipocinas en las enfermedades cardiovasculares.**

En décadas anteriores se consideraba al TA como un depósito inerte de triglicéridos. Fue en la década de los 90's cuando se identificó a la leptina, un factor proteico que es producido por el TA pero que tiene su acción a nivel del sistema nervioso central (SNC), dándole a este tejido una función endocrina. Actualmente se sabe que la asociación de la obesidad con la enfermedad metabólica y ECV depende de la correcta función y regulación del TA. Se reconocen diversas funciones que lo relacionan con el metabolismo de lípidos y de la glucosa, el balance energético, la homeostasis vascular, la angiogenesis<sup>6</sup>, con el sistema cardiovascular, entre otras<sup>44</sup>. Es conocido que el

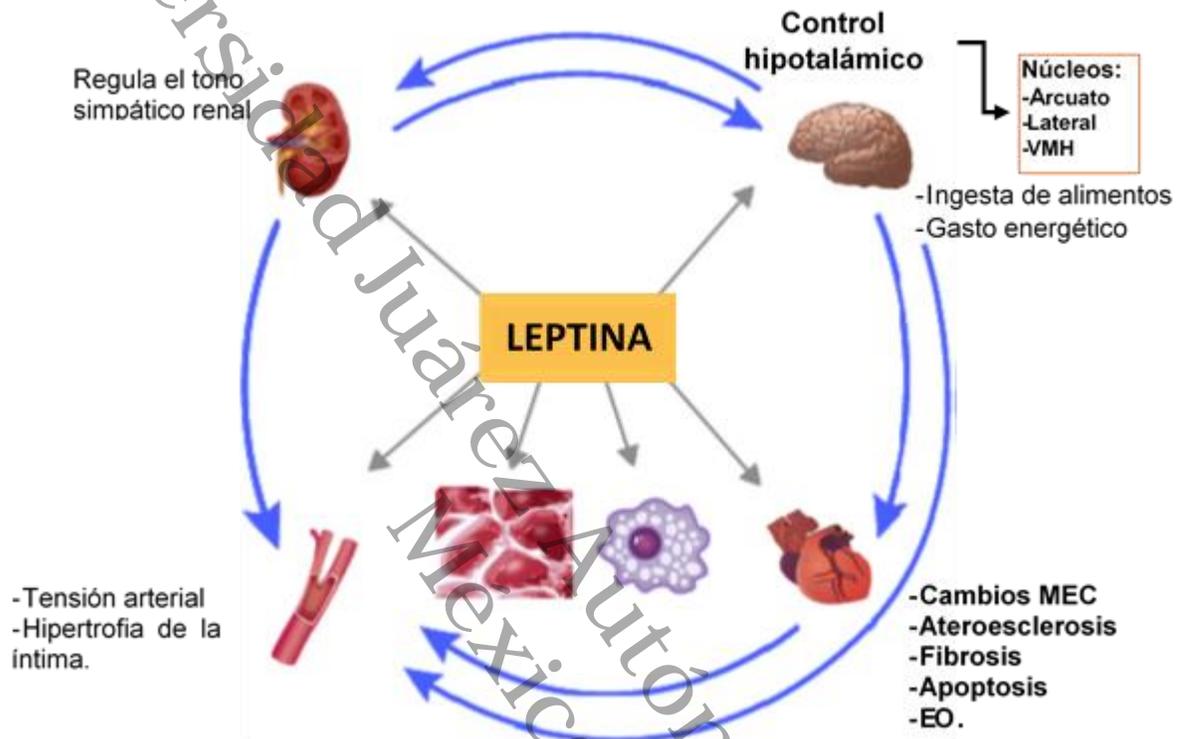
adipocito secreta diversas hormonas que son biológicamente activas, las adipocinas, donde se incluyen a la leptina, la adiponectina<sup>6,8</sup> y la resistina<sup>9</sup>. La leptina es una proteína que se libera a la circulación en proporción con la cantidad de grasa, provee información sobre el estado nutricional y sobre la grasa subcutánea a centros neurales que regulan la conducta alimentaria, del apetito y el gasto energético<sup>45</sup>. La adiponectina por su parte, incrementa la sensibilidad a la insulina y aumenta la oxidación de grasas, resultando en una reducción de los niveles de ácidos grasos circulantes<sup>8</sup>.

La concentración de leptina generalmente es directamente proporcional con el IMC, su ritmo circadiano revela niveles máximos en la noche y niveles bajos en la mañana y es recíproco al ritmo diurno del cortisol. Además, la leptina lleva señales al hipotálamo, produciendo la disminución de la ingesta de alimentos, incrementando el gasto energético<sup>9</sup>, aumenta la actividad simpática, que potencia la trombosis, así como la presión arterial y la FC<sup>45</sup>. La leptina y la resistina poseen propiedades pro-inflamatorias, en contraste con la adiponectina que parece actuar como un antagonista de la leptina y está correlacionada negativamente con el IMC, la RI y con el grado de hiperinsulinemia<sup>9</sup>. La desregulación de estas hormonas se define como un desequilibrio entre los compuestos pro y anti-inflamatorios reflejando así la disfunción del TA. Con esta información se refuerza los conocimientos sobre el papel fundamental de las adipocinas en la encrucijada entre la obesidad y las ECV.

## 2.5. Síntesis y modulación de la leptina

El nombre de la leptina proviene de la palabra griega *leptos*, “delgado”, en referencia al efecto anti-obesidad de la hormona, la cual es atribuida a su función fisiológica primaria<sup>43</sup>. Es el producto del gen *OB* descubierto en 1994 por Jeffrey Friedman<sup>10</sup>. El gen *OB* humano se localiza en el cromosoma 7q31.3 y consta de tres exones separados por dos intrones; en el exón 2 y 3 se encuentra la información para la codificación proteica<sup>46</sup>. La leptina es un polipéptido miembro de la familia de las adipocinas. Como se mencionó anteriormente, las adipocinas son sintetizadas mayormente por el TA blanco, que es el más predominante en humanos. Es una molécula de 16 kDa que estructuralmente pertenece a la superfamilia de citocinas tipo I. La leptina actúa como parte de un mecanismo de retroalimentación que indica al cerebro la cantidad de recursos disponibles en el cuerpo en función de la grasa corporal<sup>9</sup>, tiene su acción principal en el SNC, sobre la conducta alimentaria y el gasto energético. Actualmente es reconocida como regulador fundamental de la homeostasis energética, metabolismo de la glucosa y el de los lípidos en los tejidos periféricos<sup>11</sup> adicionalmente la leptina también regula funciones neuroendocrinas y del sistema inmune, la reproducción, la hematopoyesis, la angiogénesis y la inflamación. Una de sus funciones más estudiadas es la regulación de la ingesta y demanda calórica, desempeñándose su acción central en el hipotálamo para regular el balance energético<sup>12,13</sup>. Para el control de la homeostasis energética en los tejidos periféricos, la leptina modula directamente la actividad de la proteína cinasa activada por AMPK, e indirectamente modula la síntesis de neuropéptidos orexigénicos/anorexigénicos en el hipotálamo, lo que conduce a la saciedad y al balance energético general negativo<sup>11</sup>. El hipotálamo se encarga de integrar los cambios en las hormonas del TA, hormonas gástricas, en la ingesta de alimentos y el control de nutrientes. Aquí hay dos subtipos de neuronas que regulan la ingesta de alimentos: i) neuronas orexigénicas que contienen neuropéptido Y (NPY) y el péptido relacionado con Agouti (AgRP), y en menor grado galanina y grelina; y ii) neuronas que contienen péptidos anorexigénicos como la pro-opiomelanocortina (POMC), y neuronas que liberan el transcrito regulado por la cocaína y anfetaminas (CART)<sup>43,46</sup>. Estos mecanismos hipotalámicos son regulados por el estado energético y varias hormonas circulantes en el torrente

sanguíneo, incluida la leptina. Para disminuir la ingesta de alimentos e incrementar el gasto energético, la leptina requiere la activación de varios núcleos hipotalámicos (Figura 4) incluidos el núcleo arcuato (ARC), núcleo hipotalámico ventromedial (VMN) y el dorsomedial (DMN)<sup>43,47</sup>.

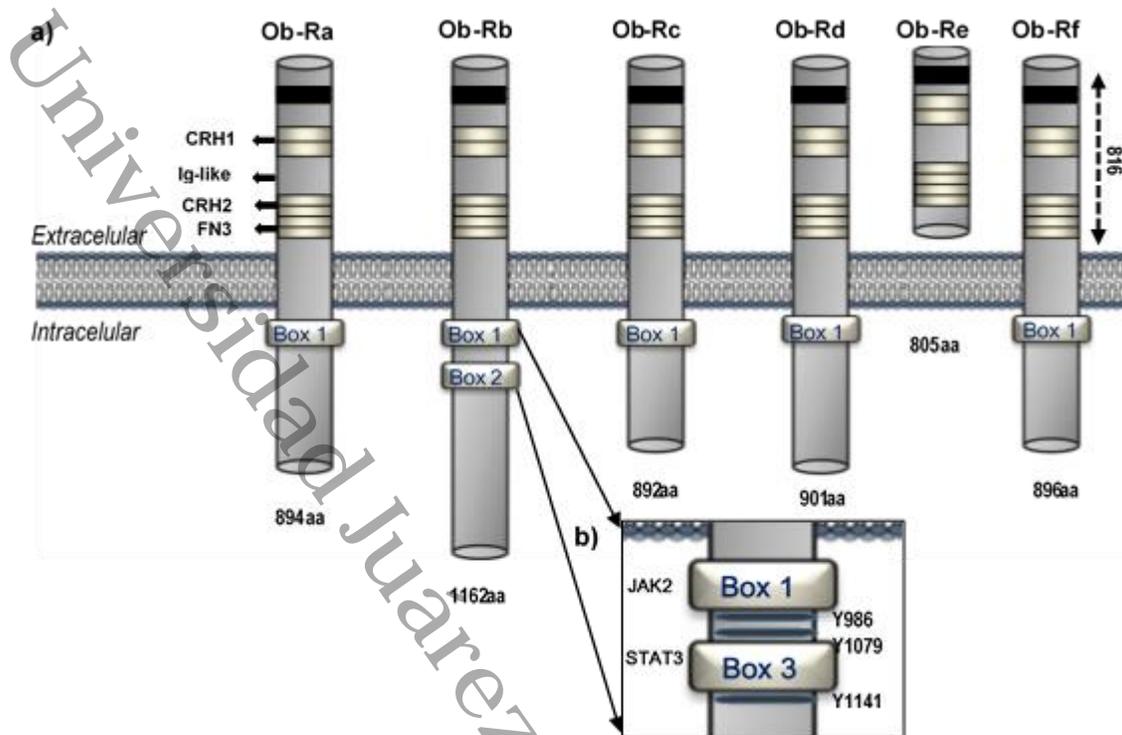


**Figura 4.** Efectos pleiotrópicos de la leptina.

La leptina actúa en el sistema CV directa e indirectamente, no solamente abarca acciones directas en órganos como el riñón, cerebro y la vasculatura, con efectos que están implicados en la reproducción, el metabolismo óseo, la inflamación y la regulación hormonal, sino que también actúa de manera indirecta en la homeostasis metabólica del TA, alterando los mediadores y células inflamatorias que tienen sus efectos sobre el SCV, que resultan en alteraciones en la modulación de la función vascular, la FC, el GC. En el hipotálamo la leptina regula la ingesta de alimentos y el gasto energético<sup>47,48,49</sup>. VMH: Hipotálamo ventromedial; TA, Tejido adiposo; MEC, matriz extracelular; EO, estrés oxidativo. *Imagen modificada de Abel E.D., Sweeney G. Biochimie. 2012;94(10):2097-2103.*

- **Receptores de leptina**

El receptor de leptina (Ob-R) fue aislado por primera vez en 1995 en el plexo coroideo de ratón y se mostró que el empalme alternativo durante la expresión del gen Ob puede dar lugar a diferentes isoformas de Ob-R, en roedores se han identificado seis isoformas (Figura 5)<sup>50-53</sup>. Todas las isoformas Ob-R comparten un dominio de unión a ligandos extracelular (EC) común de más de 800 aminoácidos (aa). La isoforma Ob-Re es un receptor soluble que posee solamente dominios extracelulares (EC), las isoformas Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd y Ob-Rf tienen dominios transmembrana de 34 aa, difieren en el dominio intracelular que varía en cada una de las isoformas y solo Ob-Rd tiene dominios intracelulares (ICe) capaces de transducir señales al interior de la célula desde la región citoplasmática<sup>52</sup>, activando la vía JAK/STAT. La proteína JAK es una quinasa que es regulada por señales EC y vías de transducción de señales del sustrato del receptor de insulina (IRS)/fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K). El Ob-Rb humano (Ob-Rfl) tiene una secuencia de 1165 aa, mientras que la Ob-Rb de ratón de 1162 aa<sup>43,46</sup>. En la porción EC del Ob-R se encuentran diversos dominios estructurales incluyen a citoquina N-terminal, dominio de homología de receptor 1 (CRH1), un dominio similar a la de inmunoglobulina (Ig), un segundo dominio CRH (CRH2), que se conoce como el dominio de unión a la leptina y dos dominios de fibronectina tipo III (FN3)<sup>50</sup>; en la porción ICe de Ob-R existen regiones box1, box2 y box3, que se asocian e interactúan con diversas vías de señalización descendentes, incluida la de JAK/STAT. La leptina tiene una alta afinidad a la unión con el homodímero Ob-Rb, para producir la activación de JAK2<sup>53</sup>. El dominio box1 intracelular de Ob-R es un componente crítico para la activación por JAK2<sup>50</sup>. Se han descrito cuatro isoformas de Ob-R transmembrana en humanos (OB-Rfl, OB-R219.1, OB-R219.2 y OB-R219.3), todas poseen dominios EC, de unión a ligando y transmembrana idénticos, pero son diferentes en la longitud ICe (Figura 6). Se considera que solo la forma larga (OB-Rfl) tiene la capacidad de señalización completa del Ob-R activando la vía de JAK/STAT. Pero también las isoformas cortas pueden estar involucradas en la activación de vías de señalización MAP quinasas<sup>51,52</sup>. En humanos además de los cuatro receptores anclados a la membrana, se demostró la presencia de una forma soluble del receptor<sup>53</sup>.



**Figura 5.** Isoformas del receptor de leptina.

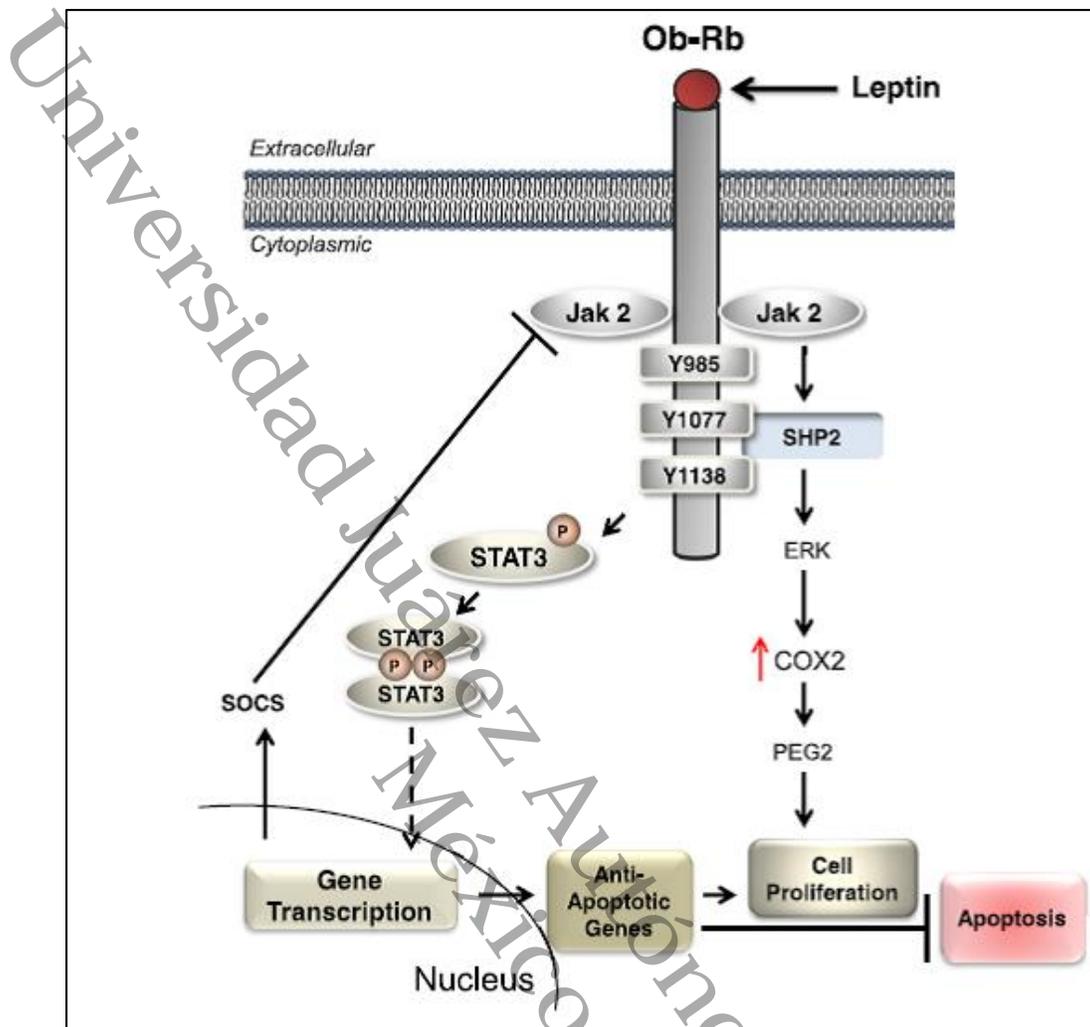
a) Representación esquemática de la estructura general de los diferentes receptores de leptina en ratones, b) se muestran los sitios de unión de la leptina a JAK/STAT como parte de la activación de la señalización de la vía JAK/STAT.

**Abreviaciones:** aa, aminoácidos; JAK2, quinasa Janus 2; STAT3, transductor de señal y activador de transcripción 3. *Imagen modificada de Achkar et al. Translational Medicine Communications. 2019;4:1-9.*

- **Vías de señalización dependientes del receptor de leptina.**

La leptina regula muchas vías de señalización que están implicadas en los procesos metabólicos del cuerpo<sup>50</sup>. La alteración de la transducción de la señal de leptina finalmente promueve el desarrollo de la obesidad mórbida<sup>48,53</sup>. Esto ilustra la importancia de un eje receptor de leptina funcional como regulador de los circuitos reguladores hipotalámicos y endocrinos<sup>54</sup>. Las principales vías reguladas por la leptina son: JAK2/STAT3 (Janus cinasa/transductor y activador de la transcripción-3), IRS1/2-PI3K/AKT (proteína cinasa B), SHP2/ERK (homología Src de fosfatasa 2/cinasa relacionada con la señal EC) y COX-2 (ciclooxigenasa)<sup>50</sup>.

La señalización de leptina se inicia por la unión a su receptor que resulta en la activación de JAKs, una familia que está compuesta por cuatro miembros: JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2. Las vías de señalización activadas por estas cinasas participan en casi todas las funciones biológicas que son mediadas por citocinas y factores de crecimiento. La principal cinasa que participa en la señalización de la leptina es JAK2 (Figura 6); al fosforilarse la tirosina (Tyr1138) de Ob-Rb por JAK2 se produce una unión a STAT3, siendo este el principal factor de transcripción fosforilado y activado por la leptina<sup>50</sup>. La translocación de STAT3 al núcleo está mediada por la homodimerización de STAT3 fosforilada (pSTAT3). pSTAT3 se une al promotor de muchos genes y estimula su transcripción. Los tres residuos de tirosina (Tyr985, Tyr1077 y Tyr1138) tienen un sitio de unión para el dominio de homología 2 (SH2) de la molécula de señalización descendente<sup>51</sup>. De manera resumida en respuesta a la presencia de leptina, se forma un complejo JAK2/Ob-Rb, que a su vez este complejo puede fosforilar los tres residuos de tirosina, al fosforilar Tyr1138, este se une a STAT3, STAT3 fosforila el JAK2 del complejo JAK2/Ob-Rb, para producir pSTAT3, que posteriormente se translocará al núcleo en forma de dímeros que actúan como factores de transcripción para regular la expresión de los genes blanco, incluido el supresor de la señalización de citocinas 3 (SOCS-3) y los neuropéptidos. SOCS-3 inhibe la fosforilación de los residuos de tirosina por JAK2, regulando así activamente la señalización de la leptina con una retroalimentación negativa<sup>9,51</sup>. Dependiendo de cada tirosina fosforilada se activará una vía de señalización descendente que participan en la regulación de la ingesta de alimentos, el balance energético y el mantenimiento del peso, así como en la expresión de genes implicados en la proliferación celular<sup>51</sup>.



**Figura 6.** Señalización del receptor de leptina en la célula.

La unión de la leptina a su receptor Ob-Rb activando la familia Janus (JAK2) por autofosforilación. El JAK2 activado se une y fosforila a residuos de tirosina: Tyr985, Tyr1077 y Tyr1138. Tyr985 fosforilado activa la vía ERK, Tyr1077 fosforilado activa la vía JAK2/STAT5, Tyr1138 fosforilado activa la vía JAK2/STAT3. Estas vías están involucradas en la regulación de la ingesta de alimentos, el balance energético y el mantenimiento del peso, así como en la expresión de genes implicados en la proliferación celular<sup>51,53</sup>.

## 2.6. Relación entre la leptina y las enfermedades cardiovasculares

- **La leptina y el sistema cardiovascular.**

Los niveles de leptina disminuyen en un periodo de ayuno, pero en un periodo de sobrealimentación los niveles de leptina se encuentran elevados como un mecanismo compensatorio para ayudar a regular el balance de energía<sup>14</sup>.

La secreción de la leptina es directamente proporcional al total de TA (grasa corporal) en el cuerpo<sup>15</sup>; En la pérdida de peso los niveles de leptina están disminuidos<sup>9</sup>, en individuos no obesos los niveles en suero son 1-15ng/ml, pero en pacientes con obesidad (IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) se han encontrado concentraciones circulantes muy elevadas (100-200 ng/ml)<sup>53</sup>. Se considera a la leptina como la hormona anti-obesidad. Pero hay una contradicción que en la obesidad existe un mecanismo endógeno que es resistente a la leptina porque en personas obesas, los niveles elevados de leptina no son suficientes para evitar las alteraciones en el desequilibrio energético, provocando resistencia<sup>15,54</sup>. La leptina podría ser un vínculo entre la obesidad y el desarrollo de ECV, ya que dentro de sus efectos se encuentran la regulación de diversos sistemas como la presión arterial, la agregación plaquetaria, la formación de trombos y la respuesta vascular a la inflamación<sup>14</sup>.

Los diferentes cambios funcionales y estructurales del corazón en la obesidad, como son la hipertrofia de los cardiomiocitos, cambios en la matriz EC, la apoptosis y el EO, están promovidos por alteraciones metabólicas, donde la leptina juega un papel principal como colaboradora de la regulación de estos mecanismos<sup>55</sup>.

La leptina estimula la inflamación vascular, provoca EO e hipertrofia del músculo liso cardiovascular, todas estas características se desarrollan con la patogénesis de enfermedades como DM, HAS, aterosclerosis y enfermedad coronaria<sup>14</sup>. Aunque inicialmente se consideraba que la expresión y secreción de leptina estaba restringida exclusivamente al tejido adiposo, estudios recientes han demostrado que diferentes tipos de células de origen cardiovascular como las células endoteliales, las células del músculo liso vascular y los mismos cardiomiocitos pueden expresar tanto a la leptina como a sus receptores<sup>56,57,58</sup>, lo que pone en evidencia la existencia de efectos autocrino-paracrinos locales además de los mecanismos mediados por la leptina circulante<sup>14</sup>.

La resistencia a la leptina no solo está relacionada en la obesidad, sino que representa un factor de riesgo para la aparición de otras enfermedades, como las ECV, la osteoporosis, la diabetes y la depresión, esto debido a que la hormona posee propiedades funcionales pleiotrópicas<sup>11</sup>.

La resistencia a la leptina que es inducida por la obesidad tiene un efecto negativo y perjudicial para varios órganos y tejidos periféricos. Las alteraciones moleculares y celulares en la regulación de la leptina conllevan a un aumento de su síntesis y secreción, un deterioro de la entrada de leptina al SNC, una alteración de la transducción de la señalización de la leptina, un defecto del tráfico intracelular de Ob-Rb y a estrés en el retículo endoplásmico (RE)<sup>11</sup>.

- **Efectos cardíacos de la leptina.**

La remodelación desproporcionada del VI concéntrico en la obesidad, se relaciona con niveles elevados de leptina<sup>59</sup>. Se ha demostrado que la expresión de las isoformas del receptor y secreción de leptina en el miocardio y cardiomiocitos, induce hipertrofia en estos sitios, pero este efecto se produce incluso en ausencia de tensión de la pared (obesidad), lo que sugiere que la leptina tiene efectos específicos sobre el corazón a través de mecanismos moleculares directos<sup>14,57,58</sup> y confirmando que en un estado de hiperleptinemia está relacionado de manera independiente a una función cardiovascular más deficiente<sup>56</sup>. Dentro de los mecanismos moleculares y bioquímicos involucrados en los efectos de la leptina se encuentran diversas cascadas de señalización que incluyen JAK/STAT, MAPK, proteína cinasa C y cinasas dependiente de Rho/ROCK<sup>57</sup>. Diversos estudios han demostrado que en etapas iniciales donde hay un nivel elevado de leptina se produce taquicardia con una hipertrofia cardíaca compensadora por acción de los efectos de la misma, pero con una exposición a los niveles elevados de manera crónica dan como resultado hipertrofia mal adaptativa que puede progresar a una IC<sup>56</sup>.

## 2.7. Metabolismo de la mitocondria y procesos que regulan su función

- **Disfunción mitocondrial**

La mitocondria es el principal centro de control que regula la homeostasis energética de la célula, por lo que en ella convergen múltiples señalizaciones celulares integradas para mantener este equilibrio<sup>59</sup>. Las mitocondrias utilizan los nutrientes de las células para producir sustancias químicas como el ATP que son la principal fuente de energía para ejecutar las funciones celulares. Muy específicamente, la glucosa y los lípidos dependen de las mitocondrias para su metabolismo y así generar la mayor cantidad de energía en forma de ATP<sup>60</sup>. En la obesidad, el aumento de la ingesta energética persistente, sumado con una disminución de la actividad física, crea un ambiente donde la mitocondria entra en un estado de sobrecarga que puede producir una disfunción mitocondrial<sup>61</sup>. La disfunción mitocondrial se ha relacionado con diversas enfermedades, incluidas la DMT2, cáncer y enfermedades neurodegenerativas<sup>62,63</sup>.

Dentro de las alteraciones que se producen en la mitocondria, se encuentran aquellos procesos que regulan la integridad mitocondrial y el número de mitocondrias, los procesos dinámicos de fisión y fusión mitocondrial (o procesos de división), que funcionan de manera fisiológica para mantener la morfología, el tamaño y el número adecuado de mitocondrias dentro de la célula, cuando se sobrepasa la capacidad de adaptación mitocondrial, se produce una inestabilidad en su ADN y se ve altera su capacidad respiratoria, resultando en la mezcla e intercambio del contenido mitocondrial, produciendo una morfología anormal que acentúa la disfunción mitocondrial<sup>61</sup>. Además de su participación en diversas reacciones bioquímicas para el mantenimiento de la homeostasis energética, la mitocondria también desempeña un papel clave en eventos relacionados con la proliferación, apoptosis y el envejecimiento celular, principalmente relacionados con la integridad del ADN mitocondrial y con la regulación del calcio mitocondrial<sup>18,64</sup>. Las mitocondrias son orgánulos altamente dinámicos, que se movilizan a través del citoesqueleto<sup>65</sup>, alargándose y dividiéndose de manera constante para suplir las necesidades de la célula; siendo esenciales para el rendimiento contráctil latido a latido de los corazones; es por ello que se encuentran de manera abundante dentro de estas células<sup>66,67</sup>. La dinámica mitocondrial, es un proceso en el cual la mitocondria entra en fisión (división) y/o fusión<sup>18</sup>. Generalmente

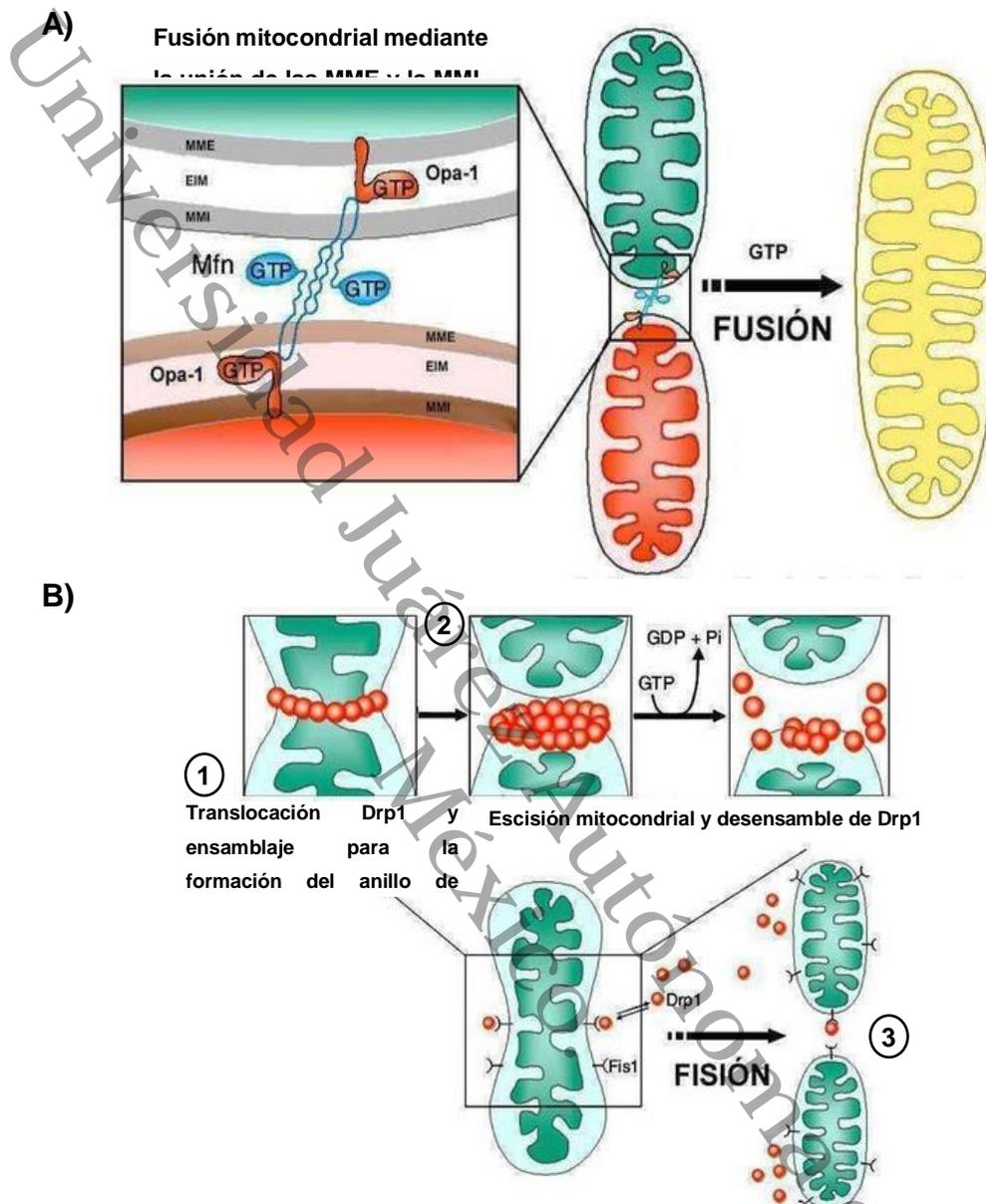
las mitocondrias poseen formas esféricas, alargadas incluso, ramificaciones filamentosas que forman una red interconectadas dentro de la célula<sup>66</sup>, evidenciando su dinámica activa y morfología variable. Estas diferencias en su morfología, son el resultado de los procesos de fisión y fusión que se encuentran estrechamente vinculados al estado metabólico celular y son importantes para la reparación rápida de las mitocondrias dañadas y para la mezcla de ADN y proteínas entre las mitocondrias<sup>68</sup>.

La fisión y fusión mitocondrial son procesos controlados por la actividad de un grupo de proteínas hidrolasas de trifosfato de guanosina (GTPasas) relacionadas con la familia de las dinaminas, como Drp1, Fis1, Mfn1 y Opa1<sup>64,66-69</sup>. La fusión involucra la unión de dos o más mitocondrias; se trata de un proceso de dos pasos donde las membranas internas y externas se unen lo que permite la mezcla del contenido de las dos mitocondrias y es controlado principalmente por las mitofusionas 1 y 2 (Mfn1 y Mfn2), que se localizan en la membrana mitocondrial externa (MME) y el espacio intermembrana (EIM) e interactúan entre sí para coordinar la fusión de la MME de mitocondrias opuestas, mientras que la proteína de la atrofia óptica 1 (Opa1) se localiza en el EIM y está asociada a la membrana mitocondrial interna (MMI) participa en el remodelamiento de las crestas mitocondriales, acercamiento y fusión de las dos mitocondrias (Figura 7A). La fisión, se inicia por acción de la proteína relacionada con la dinamina 1 (Drp1) de distribución principalmente citoplasmática, pero con una fracción localizada en puntos específicos de la MME que representan futuros sitios de fisión, Drp-1 es reclutado por las mitocondrias pero, debido a que carece de una secuencia de destino mitocondrial, es recluta a la membrana a través de la proteína de fisión 1 (Fis1); Fis1 que es una proteína anclada en la MME actuando de "receptor transiente" para la proteína Drp-1<sup>66,67,69,70</sup>. Ante un estímulo para que se produzca el proceso de fisión, Drp-1 se transloca a la MME y se oligomeriza formando un anillo de constricción alrededor de la mitocondria, lo que culmina en la escisión que es mediada por la hidrólisis de GTP<sup>66,67</sup> (Figura 7B).

Estudios recientes, han demostrado que algunos cambios estructurales en la mitocondria pueden ser relevantes en la disfunción cardíaca inducida por isquemia/reperfusión (I/R)<sup>18</sup>. También se ha reportado que la forforilación de Mfn1

estimula la permeabilización de mitocondrial y la apoptosis<sup>67</sup>. Estudios revelan que la leptina, induce hipertrofia en los cardiomiocitos tratados con una concentración de 3.1nM de leptina (50ng/ml) y se asoció con una disminución de los niveles de Drp1 fosforilada y aumento de la translocación del mismo a las mitocondrias, lo que demuestra un efecto pro-fisión de la leptina<sup>71</sup>. En un modelo donde se ligaba las arterias coronarias en ratas, analizaron las proteínas de fisión y fusión mitocondrial en homogenizados y lisados celulares mediante transferencia western y reportaron que Fis1 aumento en un 80% y 31% a las 12 y 18 semanas respectivamente después de la ligadura de las arterias coronarias, Mfn2 se redujo en un 17% y 22% respectivamente; no se modificó la expresión de Opa1 a las 12 semanas, pero su disminuyó en un 18% a las 18 semanas de la ligadura<sup>72</sup>. También se ha demostrado que la expresión de Opa1, reduce la producción de ERO y la liberación de cit c, confiriendo una resistencia a la apoptosis<sup>70,73</sup>. Una desorganización y fragmentación mitocondrial se ha asociado con diversas enfermedades cardiovasculares incluida la hipertrofia, cardiomiopatía diabética, lesión por I/R e hipertensión<sup>18,64,67,68,71</sup>.

La capacidad de la leptina para estimular la fisión mitocondrial puede ser importante para comprender el papel de esta proteína en la patología cardíaca, especialmente la relacionada con la disfunción mitocondrial. De manera que las proteínas que participan en los procesos de fisión y fusión desempeñan un papel clave para el correcto mantenimiento del metabolismo mitocondrial y, por consiguiente, a una viabilidad celular. La dinámica mitocondrial es considerada un nuevo paradigma en las investigaciones en diversas patologías cardíacas.



**Figura 7.** Fisión y fusión mitocondrial.

A) En la fusión la interacción de las proteínas Mfn1/2 en la MME y Opa1 en la MMI, produce la unión de dos mitocondrias adyacentes. B) En la fisión, 1) Drp1 se transloca a los sitios de fisión promovidos por Fis1 y forma un anillo de constricción alrededor de las mitocondrias, 2) lo que provoca escisión mitocondrial por hidrólisis de GTP y, 3) se produce la fragmentación de la mitocondria. Drp1= proteína relacionada con la dinamina 1; Fis1= proteína de la fisión 1; GTP= trifosfatasa de guanosina; Mfn= Mitofusina; MME= membrana mitocondrial externa; MMI= membrana mitocondrial interna; Opa1= proteína de la atrofia óptica 1.

- **Apoptosis**

La apoptosis o muerte celular programada, es un proceso celular genéticamente controlado por el que las células inducen su propia muerte en respuesta a determinados estímulos<sup>74</sup>, y que involucra una serie de eventos bioquímicos que conducen a etapas morfológicas características que incluyen la contracción celular, la pérdida del contacto entre células, la condensación de cromatina, formación de vesículas citoplasmáticas y cuerpos apoptóticos y fagocitosis de la células apoptóticas<sup>74-76</sup>. La apoptosis es un fenómeno biológico fundamental, permanente, dinámico e interactivo y se puede observar en las siguientes condiciones celulares: 1) durante el desarrollo, 2) para el mantenimiento de la homeostasis de las poblaciones celulares en los tejidos, 3) como mecanismo de defensa en las reacciones inmunitarias, 4) cuando las células son lesionadas por enfermedad o por agentes lesivos y 5) en el envejecimiento<sup>76</sup>. Existen dos vías de la apoptosis, la vía extrínseca o vía de los "receptores de muerte establece conexiones con el espacio EC, recibiendo señales pro-apoptóticas desde el exterior y de las células vecinas; y se han identificado la participación de dos familias de receptores con estas características: la proteína Fas y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (FNT); y por otro lado, se encuentra la vía intrínseca o vía mitocondrial, que está regulada principalmente por la familia de proteínas Bcl-2, que ejercen su acción directamente sobre la mitocondria. Se sabe que el rol de estas proteínas es regular la respuesta de la célula a diversos estímulos apoptóticos, para una correcta función y supervivencia o muerte celular cuando así se requiera<sup>77,78</sup>. Los integrantes de esta familia poseen uno o más dominios de homología Bcl-2 (BH, BH1-4), cada uno de estos dominios estructurales determina la actividad pro o anti-apoptótica de las proteínas relacionadas con Bcl-2<sup>77-80</sup>. De acuerdo a su estructura, estas proteínas se agrupan en tres subfamilias: 1) las proteínas Bcl-2, proteínas pro-supervivencia (anti-apoptóticas) Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1 y A1, que posee los cuatro dominios BH y tienen la capacidad para unirse y secuestrar a sus parientes pro-apoptóticos; 2) las proteínas pro-apoptóticas BH3-only Bid, Bim, Puma, Noxa, Bad, Bmf, Hrk y Bik, actúan como sensores de tipos específicos de estrés celular; y 3) las proteínas pro-apoptóticas de tipo multidominio Bax y Bak y quizás Bok, esta subfamilia posee tres de los cuatro dominios BH y su principal acción es como efectores críticos

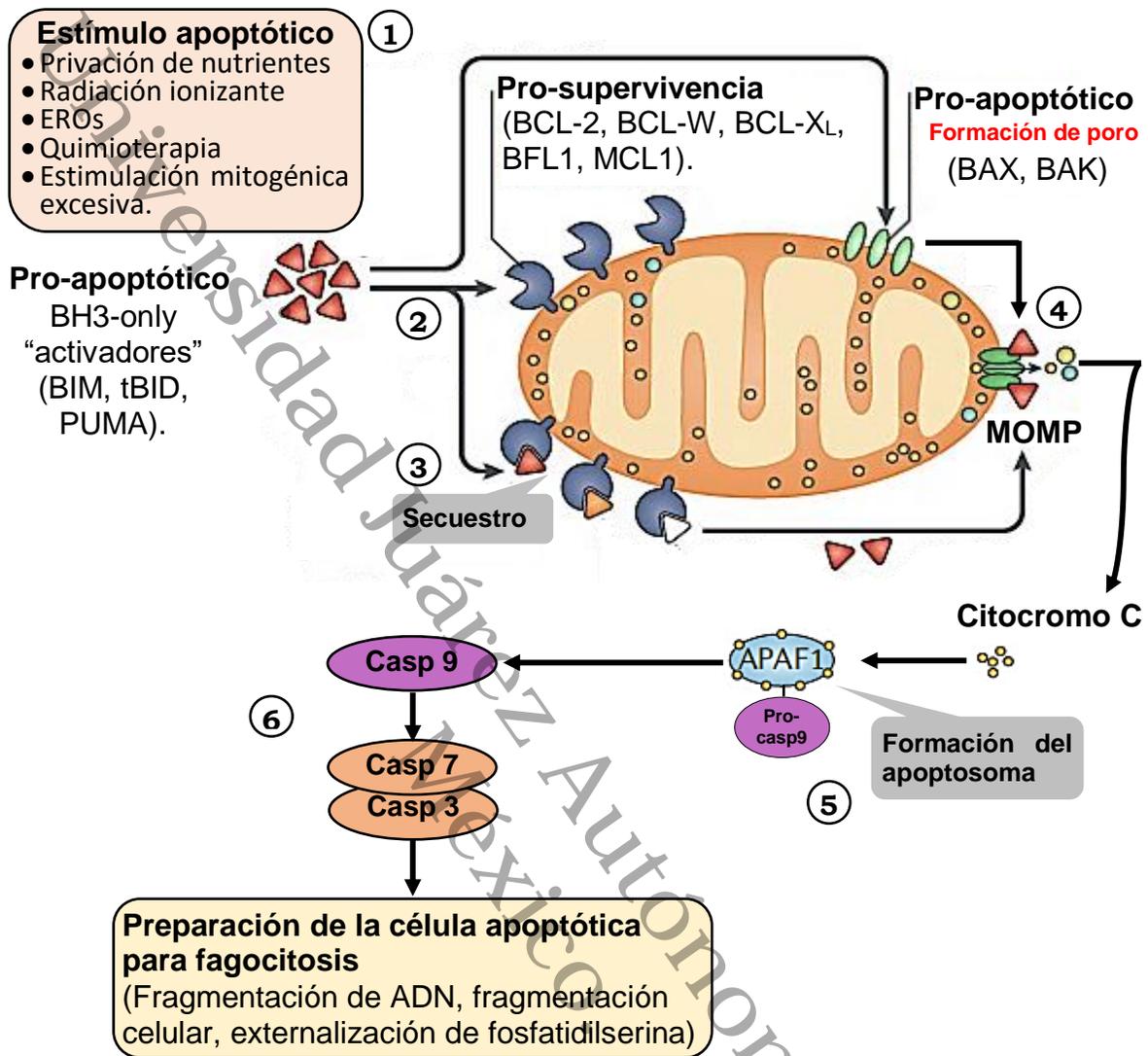
de la apoptosis y pueden actuar en sentido descendente tanto en los miembros de pro-supervivencia como en las de tipo BH3-only para permeabilizar la MME<sup>77-83</sup>, también pueden producir poros por sí solas en liposomas y la formación de poros en la MME. Las proteínas tipo BH3-only activan a las proteínas pro-apoptóticas para iniciar la apoptosis, en cambio, las anti-apoptóticas inhiben la formación del poro, evitando la apoptosis<sup>74,76</sup>. En la vía intrínseca de la apoptosis (Figura 8), se producen cambios estructurales en las mitocondrias incluidos la fragmentación y remodelamiento celular, este último produce la una mayor movilización de cit c al citosol<sup>80,84-87</sup>. Se necesita un estímulo o daño celular para iniciar esta vía de la apoptosis, aquí las proteínas activadoras pro-apoptóticas (BH3-only) se unen o pueden ser secuestradas por las proteínas pro-supervivencia como BCL-2, linfoma de células B extra grande (BCL-XL) o leucemia de células mieloides 1 (MCL1); cuando estas las proteínas pro-supervivencia están saturadas o ausentes, pueden activar la proteína X asociada a BCL-2 (BAX) y/o el antagonista/asesino de BCL-2 (BAK), que por un cambio alostérico se translocan a la superficie mitocondrial, lo que les permite oligomerizarse y formar macroporos que permeabilizan la MME<sup>80,85,86</sup>, produciendo la liberación de numerosas proteínas apoptogénicas del EIM; entre ellas, el cit c<sup>84</sup>. En el citosol, el cit c se une al factor de activación de la proteasa apoptótica 1 (Apaf-1) y a la pro-caspasa 9 (pro-casp 9) para la formación de un complejo proteico, llamado apoptosoma; estos eventos promueven la conversión de la pro-casp 9 a caspasa 9 activa (casp 9 act), para que a su vez estimule la activación de las caspasas efectoras, las casp 3, 6 y 7, para el facilitar el desmantelamiento de la célula y que continúen las últimas fases de la apoptosis<sup>75,80,87-89</sup>.

En el corazón, la proteína Bcl-2 controla la apoptosis y confiere una protección contra daño por I/R cardíaca *in vivo*<sup>90</sup>. Bcl-2 induce la activación de la vía JAK/STAT3 y se ha demostrado que está regulada por la leptina a través de la transducción de señales de STAT3, que es mediada por el receptor de leptina. La deficiencia de leptina y su pérdida de la activación de STAT3 se relacionan con la disminución de la expresión de los genes anti-apoptóticos de Bcl-2 en el corazón<sup>91,92</sup>. Las alteraciones cardiometabólicas que están presentes en la obesidad pueden conducir a la acumulación de productos como triglicéridos, diacilglicerol, entre otros, que puede

contribuir a una disfunción y/o muerte de los miocitos. Se ha sugerido que la apoptosis de los miocitos, es un componente fundamental en la insuficiencia cardíaca, de forma marcada cuando ocurre la transición de la remodelación compensatoria a la insuficiencia cardíaca<sup>55</sup>.

La pérdida de los cardiomiocitos por apoptosis, puede contribuir a una disfunción continua de la función ventricular en la falla cardíaca. Los cardiomiocitos no pueden ser reemplazados después de su pérdida y por lo tanto se reduce la capacidad del miocardio para mantener la función contráctil. Esta pérdida se ha implicado en la miocardiopatía, I/R de miocardio e insuficiencia cardíaca congestiva<sup>48</sup>.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



**Figura 8.** La vía intrínseca de la apoptosis celular.

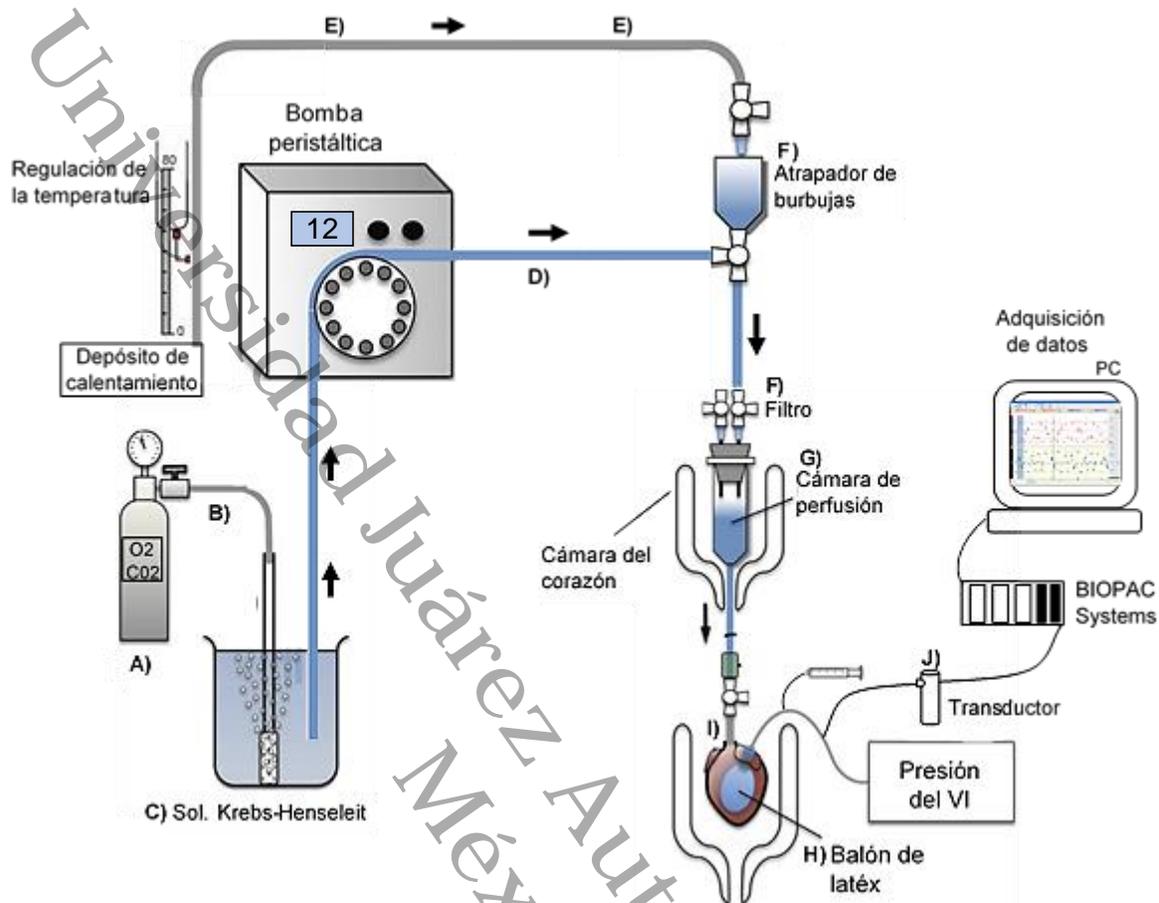
Se necesita un estímulo para iniciar la vía intrínseca de la apoptosis (1), el estrés o el daño celular, (2) activan un conjunto de proteínas pro-apoptóticas, BH3-only activadoras y estas (3) pueden unirse o ser secuestrarlas por proteínas pro-supervivencia Bcl-2, o cuando las proteínas pro-supervivencia están saturadas o ausentes, pueden activar a Bax o Bak; (4) Bax o Bak activado, se oligomeriza y forma poros en la MME (MOMP) permitiendo la salida de moléculas apoptogénicas desde el EIM hacia el citosol, entre ellas, el cit c; (5) en el citosol este, se une a la proteasa Apaf1 y a la pro-casp 9 para forman el apoptosoma que (6), estimula la activación de las casp 3 y 7 para la descomposición de los materiales celulares. Apaf1= factor de activación de la proteasa apoptótica 1; EIM= espacio intermembrana; MME= membrana mitocondrial externa; MOMP= permeabilización de la MME; cit c= citocromo c; casp= caspasa. *Imagen modificada de Singh R., et al. Nat Rev Mol Cell Bio. 2019;20(3):175-193.*

## 2.8. Modelo experimental de isquemia/reperfusión

- **Sistema de Langendorff**

El pionero del sistema de Langendorff fue el médico y fisiólogo alemán Oscar Langendorff que en 1895 publicó un método que describía la manera de mantener vivo un corazón de mamífero, de una manera aislada, pero, fue Elías Cyon en 1866, quien logró describir realmente la manera de aislar y perfundir exitosamente corazones de rana<sup>93,94</sup>.

El sistema de Langendorff (Figura 9), permite perfundir el corazón de forma retrógrada, a través de la aorta canulada, provocando el cierre de la válvula aórtica y llenando los senos de valsalva y el líquido de perfusión pasa a través de las arterias coronarias, para que luego pase al lecho vascular coronario antes de su drenaje hacia las venas coronarias. Para la perfusión, se utilizan diversas soluciones artificiales ricas en nutrientes (solución de Tyrode, solución de Krebs-Henseleit, etc.) con un pH entre 7.35 y 7.4, con una velocidad de flujo constante de hasta 15 ml/min, una presión constante (60 y 80 mmHg), una temperatura (36-37°C) y con una oxigenación adecuada (O<sub>2</sub>, 95%; CO<sub>2</sub>, 5%) lo que permite que el corazón funcione durante varias horas después de la escisión<sup>95,96</sup>. Este sistema ha permitido realizar un sinnúmero de estudios relacionados con la fisiopatología y farmacología cardíacas.



**Figura 9.** Sistema de Langendorff.

El depósito de calentamiento se ajusta de 37°C así el sistema de la cámara de perfusión y la cámara del corazón se mantienen a una temperatura constante, haciendo circular agua caliente a través de la línea de calentamiento de agua. El depósito de SKH se oxigena con O<sub>2</sub>95%/CO<sub>2</sub>5%. El flujo coronario que se regula por una bomba peristáltica, se mide colocando una sonda de flujo en línea en la línea de perfusión aórtica. La presión de perfusión coronaria se mide a través de un brazo conectado a un transductor de presión. La presión del VI se mide a través de un balón de látex insertado en la cámara de VI y conectado a un transductor de presión. Tanque mezcla de gases de O<sub>2</sub>95%/CO<sub>2</sub>5% (A), tubo de dispersión de gas (B), depósito de solución de Krebs-Henseleit (SKH) (C), línea de perfusión (D), línea de calentamiento (E), filtro atrapador de burbujas (F), cámara de perfusión (G), balón de látex (H), cánula aórtica (I), transductor (J) *Imagen modificada de Liao R., et al. AJP-Heart Circ Physiol. 2019;303:156-167.*

### 3. ANTECEDENTES

En un importante estudio, se realizó la estimación comparativa de riesgo de muertes y los años de vida ajustados por discapacidad (DALYs, por sus siglas en inglés), atribuibles a los efectos independientes de 67 factores de riesgo (incluidos, hipertensión arterial y un IMC alto) del año 1990 y 2010. El efecto de la hipertensión arterial resultó ser el factor más importante a nivel mundial, representando 9.4 millones de muertes que correspondió al 7.0% de las muertes por DALYs en el año 2010, seguido de un IMC alto, con 3.4 millones de muertes representando un 3.8% de las muertes por DALYs a nivel mundial en el mismo año. En este estudio también se demostró que un IMC alto, fue el principal factor de riesgo en regiones de Australasia y el sur de América Latina, y también ocupó un lugar importante en otras regiones de África del Norte, Medio Oriente y Oceanía<sup>29</sup>.

La obesidad representa un problema de salud a nivel mundial, conlleva a alteraciones perjudiciales para el corazón tanto en su metabolismo como en su función. Estudios realizados en modelos preclínicos de animales obesos han demostrado que existe un estado de inflamación sostenida, que induce a una disfunción diastólica<sup>39</sup>. En la obesidad, las adipocinas actúan como agentes pro-inflamatorios y la alteración en la homeostasis vascular resulta en estados pro-inflamatorios y pro-trombóticos<sup>41</sup> que producen una remodelación cardíaca<sup>5,6</sup>. También se han realizados estudios en personas con obesidad para corroborar si existe una respuesta de inflamación sistémica crónica y se encontró que hay un aumento de leucocitos y diversas citocinas pro-inflamatorias como la proteína C reactiva y las que son producidas por el TA, interleucina 6 (IL-6), Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ )<sup>8,42</sup> y diversos factores de crecimiento<sup>92</sup>, que pueden tener efectos aterogénicos<sup>6</sup>, además de que el propio tejido cardíaco puede expresar de manera aumentada citocinas pro-inflamatorias y factores de crecimiento pro-fibróticos<sup>5</sup>. Algunos estudios *in vitro* demostraron una hipertrofia de los cardiomiocitos inducida por la exposición a concentraciones elevadas de leptina durante 24 h, con un aumento de su tamaño del 31%<sup>97</sup>.

Se ha reportado que la leptina induce un aumento en el trabajo cardíaco, mediante el aumento de la FC. También se encontró, que en corazones perfundidos con leptina (50ng/mL), la expresión de pSTAT se encuentra aumentada y la proteína anti-

apoptótica Bcl-2 se encontró disminuida después de 4 h de exposición a la leptina. También las altas concentraciones de leptina producen un daño mitocondrial que altera la función del tejido cardíaco<sup>17</sup>.

Otro estudio reportó que los corazones que se perfundieron continuamente con leptina tuvieron un aumento significativo de la FC y la FContr. De la misma manera se registró un aumento de pSTAT y actina cardíaca, como marcador de hipertrofia cardíaca, después de 3 y 4 h de perfusión<sup>98</sup>.

México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Reportes realizados por la OMS, refieren que desde el año 1975 la prevalencia de la obesidad se ha triplicado en todo el mundo. En el 2016 había más de 1900 millones de adultos que tenían sobrepeso, de los cuales 650 millones tenían obesidad. De la misma manera la prevalencia de sobrepeso y obesidad se incrementa en niños y adolescentes. Las tasas de proyecciones de obesidad de la OCED estiman que México se encuentra dentro de los primeros tres lugares a nivel mundial de personas que padecen sobrepeso y obesidad. En México la prevalencia ha aumentado dramáticamente desde 1980, en la actualidad afecta a más del 30% de la población adulta, esto asociado a los cambios hacia un estilo de vida moderno, donde disminuye la actividad física y aumenta el consumo de alimentos con alto contenido energético. Además, la obesidad es considerada como el principal factor de riesgo para desarrollar diversas enfermedades crónico-degenerativas y enfermedades cardiovasculares, incluyendo a la hipertrofia e insuficiencia cardíacas.

La Asociación Americana del Corazón (AHA) considera a la obesidad como uno de los principales factores modificables para evitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. La obesidad produce alteraciones hemodinámicas deletéreas para la estructura y función cardiovascular; dentro de las que se encuentran los niveles elevados de la hormona leptina, que es secretada por el tejido adiposo. Dentro de las acciones de la leptina sobre el miocardio se encuentran, la inducción de hipertrofia de los cardiomiocitos, los cambios en la matriz E, la activación de apoptosis y aumento del EO. Berzabá-Evoli E., et al (2018), reportaron que los corazones que se perfundieron continuamente con leptina, tuvieron un aumento significativo de la frecuencia cardíaca y en la fuerza de contracción. Por otra parte, se ha sugerido que la muerte por apoptosis de los cardiomiocitos, es un componente fundamental en la insuficiencia cardíaca y, que puede contribuir a una pérdida continua de la función cardíaca. Con el presente trabajo se pretende generar más información en relación a: 1) efecto de la leptina sobre la función cardíaca y 2) activación de mecanismos apoptóticos en cardiomiocitos en un modelo de I/R con el fin de establecer la posible relación de la obesidad con la aparición de enfermedades cardiovasculares a través de la hiperleptinemia.

## 5. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se enfocará en estudiar el efecto de la leptina sobre el corazón, como un potencial mecanismo que explica la relación de la obesidad con la aparición de enfermedades cardiovasculares. Debido al aumento en la prevalencia de las enfermedades cardiovasculares y la obesidad a nivel mundial, es imperante conocer los mecanismos fisiopatológicos implicados en estas enfermedades, además de ofrecer una mirada integral sobre las complicaciones y su relación con la apoptosis celular.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 6. OBJETIVOS

### Objetivo General

Analizar los efectos de una concentración alta de leptina sobre la función cardíaca y la expresión o modulación de proteínas reguladoras de la apoptosis en corazones de ratas expuestos a un episodio de isquemia/reperfusión (I/R) que serán perfundidos o no con una concentración alta de leptina (3.1 mM).

### Objetivos particulares

- Exponer corazones de rata a un episodio de isquemia/reperfusión en presencia de una concentración alta de leptina (50ng/mL=3.1 nM).
- Evaluar la función cardíaca durante la I/R en presencia de una concentración alta de leptina en las diferentes condiciones experimentales a través de la determinación de la frecuencia cardíaca (FC) y fuerza de contracción (FContr).
- Determinar la activación de apoptosis durante la I/R en presencia de una concentración alta de leptina, midiendo la expresión de proteínas reguladoras de la apoptosis: Bax, BCL-2, Caspasa 3, en corazones de rata bajo las diferentes condiciones experimentales.
- Analizar la participación de la vía JAK/STAT, en la modulación de la apoptosis durante la I/R en presencia de una concentración alta de leptina, mediante la aplicación de Péptido Inhibidor de STAT3 (SIP).

## 7. HIPÓTESIS

Los niveles elevados de leptina presentes en la obesidad, tienen un efecto deletéreo sobre la función cardíaca que conlleva al desarrollo de hipertrofia cardíaca, que podría ser una respuesta adaptativa y beneficiosa, aunque, en general, se percibe que la hipertrofia progresiva del miocardio contribuye a la remodelación y consecuentemente al desarrollo de insuficiencia cardíaca. Como consecuencia surgen alteraciones en el metabolismo mitocondrial que favorecen aún más la disfunción cardíaca teniendo como eje principal la desregulación de los mecanismos apoptóticos de la célula, a través, de un aumento en la activación y expresión de proteínas reguladoras de la apoptosis.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **8. METODOLOGÍA**

### **8.1. Animales**

Los animales se adquirieron de la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal (UPCEA), de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Se utilizaron de acuerdo con los estándares mexicanos establecidos para el uso de animales en investigación (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999). Se utilizaron ratas Wistar macho de 350-400 g que se mantuvieron en cajas de acrílico, en una habitación con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h y a una temperatura constante de 25°C, con acceso libre a alimento y agua.

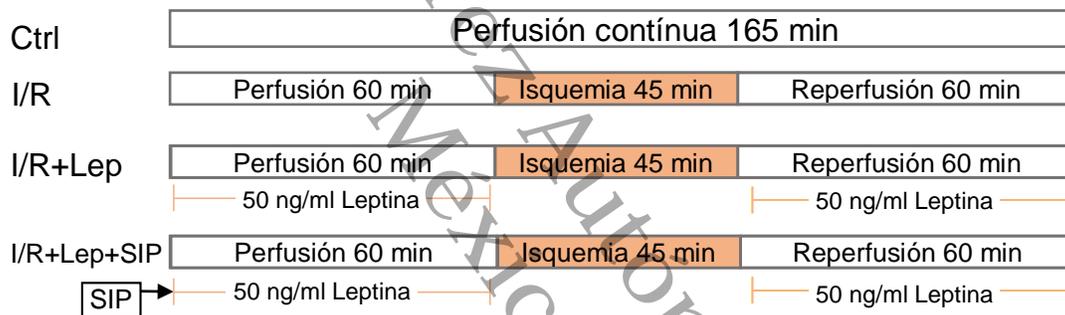
### **8.2. Perfusión cardíaca con leptina**

La ratas se anestesiaron profundamente mediante la aplicación intraperitoneal de pentobarbital sódico (1U/100g) adicionado con el anticoagulante heparina (0.5U/300g); posteriormente se realizó una toracotomía para extraer el corazón que se colocó inmediatamente en solución de Krebs-Henseleit helada (pH 7.39, NaCl 118 mM, KCl 4.75 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18 mM, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.18 mM, CaCl<sub>2</sub> 5 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM, 5.5 mM glucosa y 100 µM de octanato de sodio), y en el menor tiempo posible (≤30seg) se insertó en el sistema de Langerdorff, donde fue perfundido continuamente con una solución de Krebs-Henseleit a 37°C, oxigenada (O<sub>2</sub> 95%/CO<sub>2</sub> 5%) al menos 20 min antes y durante todo el tiempo del experimento, con un flujo de bombeo de 12 mL/min. De manera inicial, los corazones se mantuvieron en perfusión durante 60 min para su acondicionamiento. Para los corazones con I/R, se detuvo el flujo de solución de Krebs apagando la bomba durante 45 min y se encendió nuevamente manteniendo el flujo de reperfusión durante 60 min más. Para los corazones expuestos a leptina, se adicionó 50 ng/mL de la hormona a la solución de Krebs-Henseleit. Al final de este período se calculó el trabajo cardíaco (TC), como el producto de la FC y la FContr. Los corazones que mantuvieron un TC ≥20,000 fueron utilizados para las diferentes condiciones experimentales. Para la inhibición de la vía JAK/STAT, se aplicó vía i.v. el SIP a una concentración 20 mM a las ratas, 20 min antes de realizar la toracotomía.

### 8.3. Formación de los grupos experimentales

Se utilizaron grupos de 3 corazones cada uno, que se clasificaron en: 1) grupo Control (Ctrl): corazones controles sin I/R que solo fueron perfundidos de manera constante durante 165 min (2 h y 45 min.); 2) grupo I/R: corazones que fueron expuestos a un episodio de isquemia de 45 min después de una hora de perfusión, y se perfundieron durante 1 hora más; 3) grupo I/R+Leptina (Lep): corazones que fueron expuestos al mismo procedimiento de I/R, pero la solución de perfusión contenía 50ng/mL de leptina (3.1 nM); 4) grupo I/R+Lep+SIP, corazones que fueron expuestos al mismo procedimiento de I/R-Lep, pero a las ratas se les aplicó SIP antes de extraer el corazón, como se mencionó antes.

Para su mejor comprensión, el protocolo experimental se representa de forma gráfica en la siguiente figura:



**Figura 10.** Representación del diseño experimental.

Los corazones del grupo Ctrl: corazones controles sin I/R, perfundidos continuamente con solución de Krebs durante 165 min; grupo I/R, corazones perfundidos durante 60 min y posteriormente expuestos a un episodio de isquemia de 45 min y perfundidos durante 60 min más; grupo I/R+Lep: corazones expuestos al mismo procedimiento de I/R, pero la solución de perfusión contenía 50 ng/ml de leptina (3.1 nM); grupo I/R+Lep+SIP: corazones expuestos al mismo procedimiento de I/R+Lep, pero con la aplicación previa de péptido inhibidor de STAT3 (SIP). Ctrl= control; I/R=isquemia/reperfusión; Lep=leptina.

#### **8.4. Aislamiento de mitocondrias**

Terminada la perfusión con las diferentes condiciones experimentales, los corazones se lavaron con una solución de aislamiento de STE helado (sacarosa 250 mM, Tris-HCl 10 mM y EDTA 1 mM), y se procedió al aislamiento de mitocondrial por centrifugación diferencial. Los corazones se cortaron en piezas pequeñas con tijeras, se lavó el tejido con la solución STE para eliminar restos de sangre y se incubó durante 10 min a 4°C con la misma solución, pero adicionada con la enzima nagarsa (1mg/corazón). Posteriormente se retiró la enzima mediante centrifugación a 750 x g durante 10 min a 4°C y se decantó el sobrenadante que contenía la enzima nagarsa. El tejido se homogenizó con un homogeneizador tipo Potter-Elvehjem en la solución de STE; posteriormente este homogeneizado se centrifugó a 750 x g durante 10 min a 4°C para eliminar los restos de tejidos y núcleos celulares. Se colectó una fracción del sobrenadante como homogeneizado total. El resto del sobrenadante se centrifugó a 10000 x g durante 10 min a 4°C para obtener la fracción mitocondrial en el botón y el sobrenadante se consideró la fracción citosólica. Se resuspendió el botón y se incubó durante 10 min a 4°C, con 0.1% de albúmina de suero bovino (BSA) disuelta en STE helada, se centrifugó nuevamente a 10000 x g durante 10 min a 4°C, se suspendió el botón en la misma solución STE sin BSA ni EDTA. Finalmente se guardaron todas las fracciones a -70°C hasta su utilización.

#### **8.5. Determinación de proteínas**

La concentración de proteína en las muestras obtenidas se determinó usando el reactivo comercial Bradford Reagent (Bradford 1976, Sigma-Aldrich, EUA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó una curva de calibración con una solución de BSA comercial (1mg/mL). Por otra parte, 5 µL de mitocondrias o citosoles por separado, se diluyeron en 95 µL de H<sub>2</sub>O milliQ, de esta dilución se tomó 5 µL para la lectura y se inició la reacción adicionando 100 µL de solución Bradford Reagent, se incubó durante 5 min a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 595 nm en un lector de microplacas.

## 8.6. Preparación de muestras para western blot

Posterior a la cuantificación de proteínas, se agregó la misma cantidad de proteína de cada muestra, se llevaron a 200  $\mu$ L con buffer de lisis y adicionado con un 20% de buffer de carga (Tris-Na 190 mM, azul de bromofenol 0.1%, ditioneitol 100mM y glicerol 30%). Estas mezclas se incubaron a 100°C durante 10 min, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se almacenaron a -20°C hasta ser utilizadas.

## 8.7. Western blot

Las proteínas se separaron por electroforesis en geles de acrilamida-bis acrilamida al 12% a 90 V durante 2 h 30 min, usando como solución de corrida Tris-Na 25 mM, glicina 192 mM, SDS 0.1%), terminada la electroforesis los geles se transfirieron a membranas de PVDF durante 1 h 15 min a 0.35 mA, utilizando como solución de transferencia Tris-Na 25 mM, glicina 192 mM, 10 % de metanol, pH 8.3. Posteriormente las membranas fueron bloqueadas durante 2 h con una solución de leche descremada al 5% en buffer de lavado (TTNS, Tris-base 30.2 g, NaCl 90 g, Tween 20 5.0 ml, pH 7.5 para 1 L) para evitar el pegado inespecífico de los anticuerpos. Finalizado el bloqueo, las membranas se lavaron 3 veces durante 10 min, con TTNS 1x y se incubaron durante toda la noche a 4°C en agitación, con el anticuerpo primario (anti-STAT3, conejo; anti-pSTAT (fosforilado), ratón; anti-Bcl-2, ratón; anti-Bax, conejo; anti-citocromo C, conejo; anti-VDAC, conejo; anti-Drp-1, conejo; anti-Fis1, conejo; anti-Mfn1, conejo; anti-Opa1, cabra y conejo, anti-GAPDH, este último se utilizó como control de carga), diluidos 1:1000 con BSA al 3% en solución de lavado. A la mañana siguiente las membranas se lavaron 3 veces durante 10 min, con TTNS 1x y se incubaron con el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa, diluido 1:10,000 en la misma solución de bloqueo, durante 2 h a temperatura ambiente. Concluida la incubación con el anticuerpo secundario, las membranas se lavaron y finalmente se les agregó el sustrato quimioluminiscente Western Immobilon (Millipore, MA) siguiendo las instrucciones del fabricante; finalmente se capturó la imagen de la quimioluminiscencia en un fotodocumentador ImageQuant LAS 500.

### **8.8. Evaluación de la función cardíaca**

El rendimiento cardíaco se evaluó midiendo la presión diastólica final del VI (PDFVI), se insertó un balón de látex en el VI de los corazones, que a su vez estaba conectado a un transductor de presión. Para la obtención del trabajo cardíaco (TC) se midió la frecuencia cardíaca (FC, pulsaciones por min, ppm) y la fuerza de contracción (FContr, presión (P), mmHg) que se adquirieron directamente del equipo.

### **8.9. Análisis estadístico**

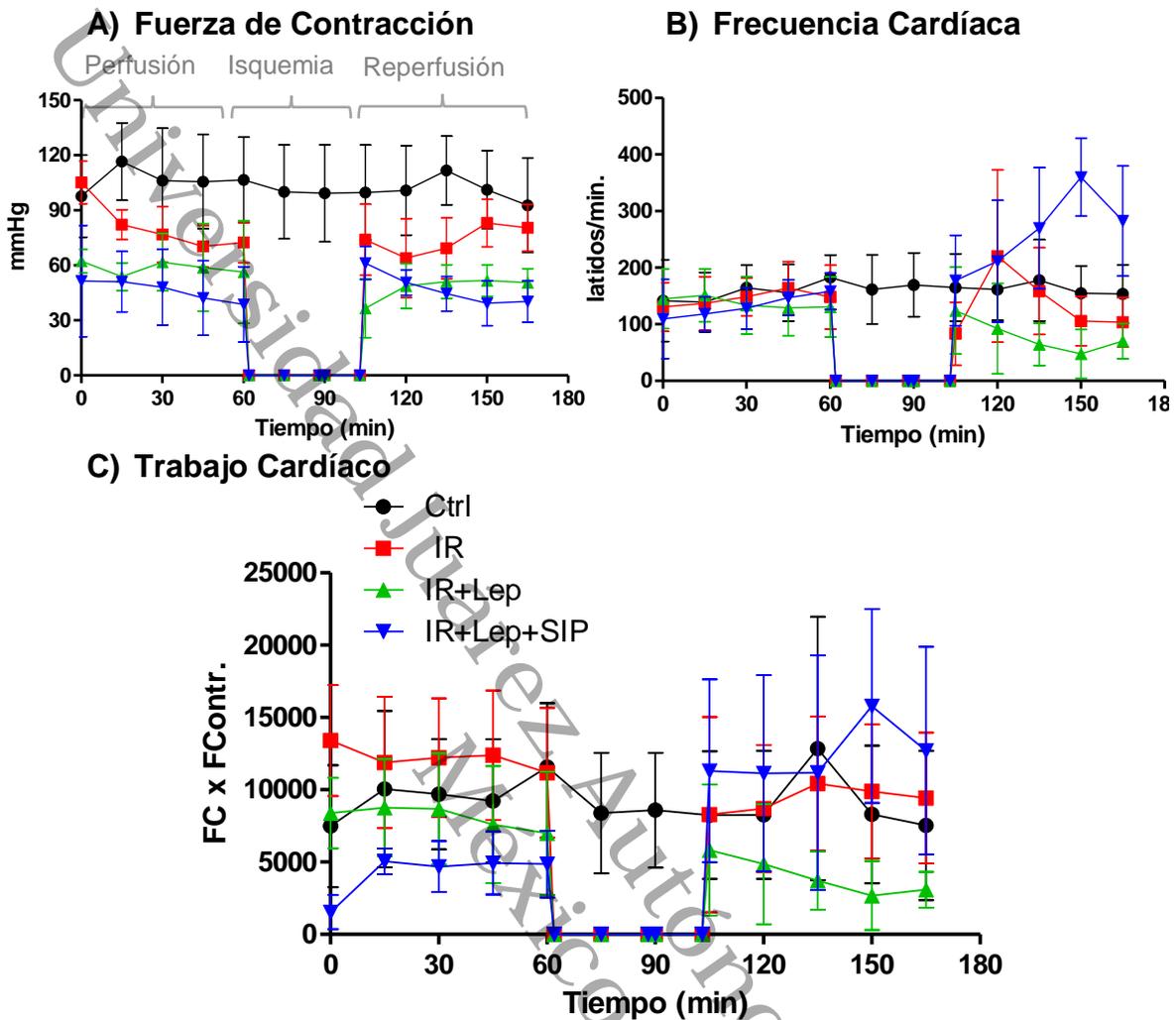
Para comparar entre grupos se utilizó una prueba ANOVA con una prueba post hoc de Tukey. Una  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo entre la comparación de las diferentes condiciones experimentales. El programa GraphPad Prism 6 se utilizó para el análisis estadístico, e ImageJ para el análisis de densitometría de Western Blot.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 9. RESULTADOS

### • Evaluación del efecto de la leptina sobre el Trabajo Cardíaco.

La primera parte de nuestro estudio consistió en analizar el efecto de la leptina sobre la FC y la FContr de los corazones de ratas sometidos a las diferentes condiciones experimentales (Figura 11). Los corazones de rata del grupo 2) I/R, mostraron una disminución en la FContr; en el grupo 3) I/R+Lep la FContr disminuyó de manera más notable en comparación con el grupo 1) Ctrl, que se perfundió continuamente con solución de Krebs sin leptina y que no fue sujeto al periodo de isquemia (Figura 11A). Los valores de la FC se mantuvieron estables durante la primera hora de perfusión para todos los grupos, sin embargo, se observó una caída significativa en estos valores durante la reperfusión en los corazones del grupo 3) I/R+Lep que incluso comparado con los corazones del grupo 2) I/R, sus valores son menores, ya que el grupo I/R la FC disminuyó de manera progresiva y lenta, sucediendo todo lo contrario en los corazones del grupo 4) I/R+Lep+SIP que mostraron un aumento doble en la FC (Figura 11B). De manera interesante no se produce una disminución en el trabajo cardíaco (TC) de los corazones del grupo 2) I/R, sugiriendo de manera notable el efecto perjudicial de leptina, reflejándose en una disminución en el TC en los corazones del grupo 3) I/R+Lep (Figura 11C).



**Figura 11.** Efecto de la leptina sobre el Trabajo Cardíaco.

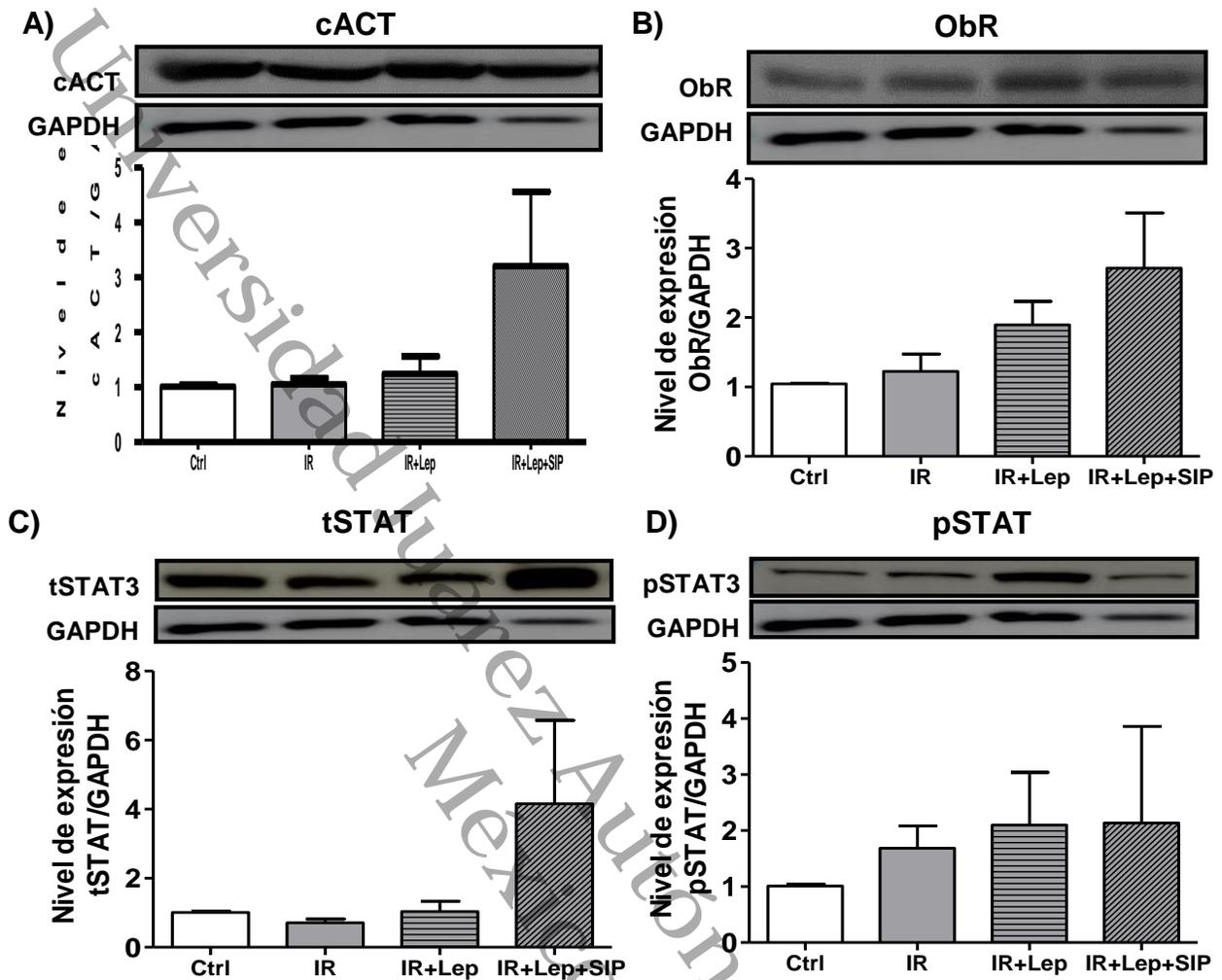
**A)** Gráfico que muestra la FContr (mmHg) de los corazones de los grupos experimentales. **B)** Gráfica que muestra la FC (latidos/minuto) de los corazones de los grupos experimentales. **C)** Gráfico que muestra el TC resultado de la FC por FContr (FCx FContr) de los corazones de los grupos experimentales; (n= 3). La concentración de leptina en la solución de perfusión fue de 50 ng/ml (3.1 nM). FContr= Fuerza de contracción; FC= frecuencia cardíaca; Ctrl= Control; I/R=isquemia/reperfusión; Lep=Leptina; SIP=Péptido Inhibidor de STAT3; TC= trabajo cardíaco.

- **Determinación de cACT, ObR, tSTAT y pSTAT por Western Blot.**

El segundo apartado de experimentos de nuestra investigación se desarrolló para determinar la participación de la vía JAK/STAT con la expresión y activación de STAT3 total (t) y fosforilado (p), en los homogeneizados de los corazones de rata sometidos a las diferentes condiciones experimentales. Los corazones se homogeneizaron y mediante la transferencia de Western Blot, se midió la expresión de actina cardíaca (cACT) como un marcador de hipertrofia cardíaca, la expresión del receptor de leptina (Ob-R), se detectó un aumento pero que no es significativo en la cantidad de esta estos valores en corazones del grupo I/R+Lep+SIP (Figura 12A y B). También se midió la expresión de la proteína tSTAT3 y pSTAT3 y la comparación estadística no indica diferencias (Figura 12C y D).

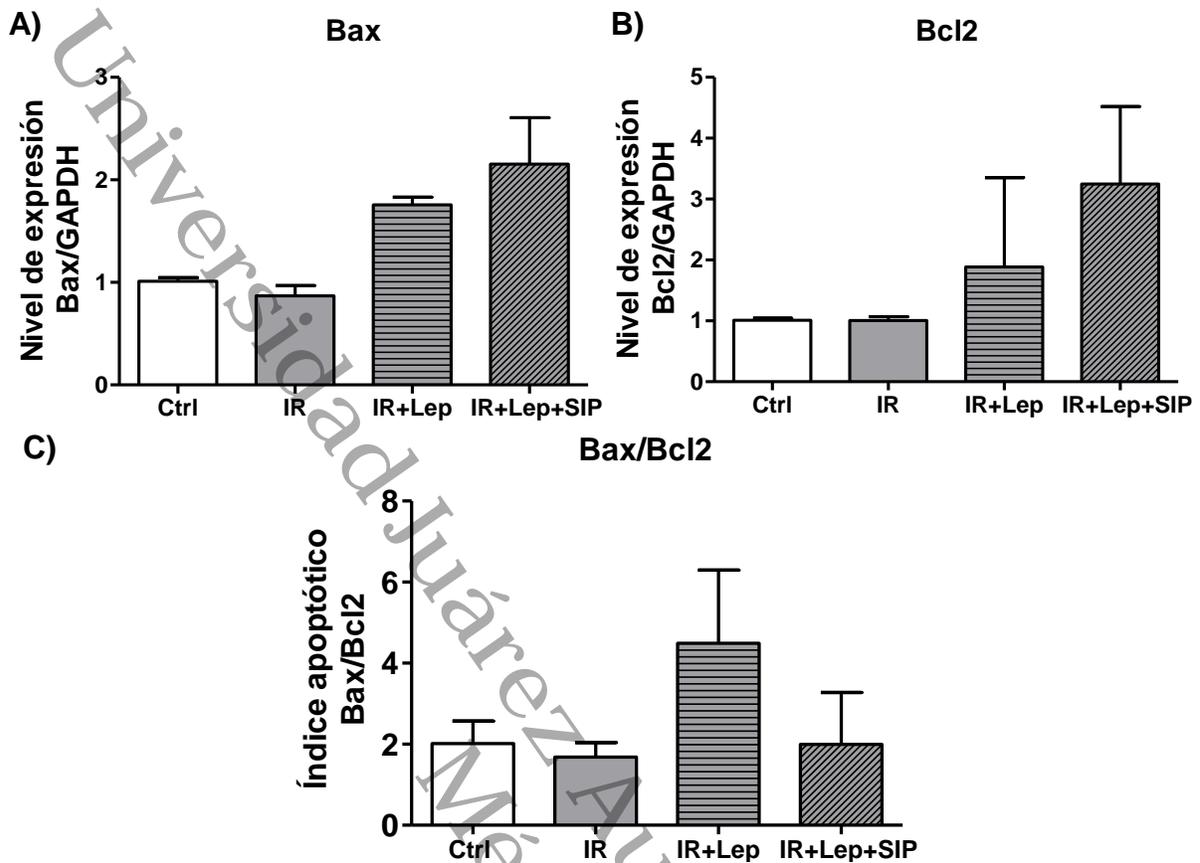
- **Efecto de la leptina sobre la activación de la apoptosis.**

Uno de los objetivos principales de nuestra investigación fue determinar la activación de la apoptosis mediante la expresión de proteínas que la regulan, para ello se midió la expresión de diferentes proteínas que están involucradas tanto en la vía intrínseca (Bax y Bcl2) como extrínseca de la apoptosis (Caspasa 3), obteniendo los siguientes resultados: se encontró un aumento (aunque no fue significativo) en la expresión de Bax en el grupo I/R+Lep (Figura 13A); para la proteína anti-apoptótica Bcl2 el aumento fue estadísticamente significativo en el grupo I/R+Lep+SIP (Figura 13B). En base a esto se calculó el índice apoptótico de Bax/Bcl2, mostrando un aumento en el grupo IR+Lep, pero, en la inhibición de la ruta STAT3 los valores disminuyeron (Figura 13C). Con respecto a la expresión de caspasa 3 (casp 3) se encontró un aumento significativo en el grupo I/R+Lep+SIP (Figura 14A), para la casp 3 activa el aumento fue significativo tanto en el grupo I/R+Lep como en el I/R+Lep+SIP (Figura 14B). Se calculó el índice de Casp 3 mostrando un aumento significativo en el grupo 4) I/R+Lep+SIP (Figura 14C).



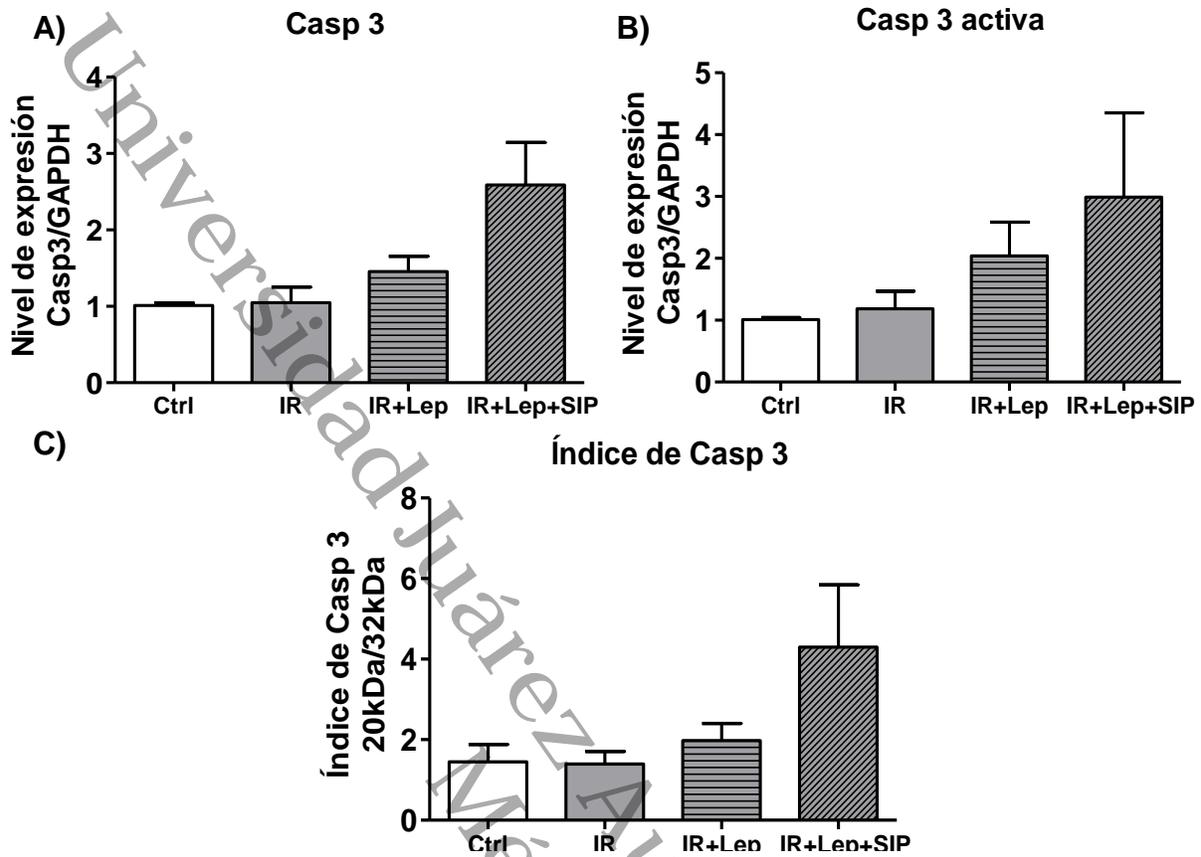
**Figura 12.** Determinación de la expresión de cACT, el receptor Ob-R y STAT3 t y p.

**A)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína c-ACT en homogenizados de corazón; **B)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína de Ob-R en homogenizados de corazón. **C)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína de tSTAT3 en homogenizados de corazón. **D)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína de pSTAT3 en homogenizados de corazón. La proteína GAPDH se utilizó como control de carga. Los valores indican la media  $\pm$  SEM, n=3; \* p<0.05. cACT, actina cardíaca (actina alfa); Ob-R, isoforma del receptor de leptina; STAT3, transductor de señal y activador de la transcripción 3 total (t) y fosforilado (p); Ctrl= Control sin isquemia; I/R= isquemia/reperfusión; Lep= Leptina; SIP=péptido inhibidor de STAT3.



**Figura 13.** Determinación de la expresión de proteínas asociadas a la apoptosis Bax y Bcl-2.

**A)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína Bax en homogenizados de corazón. **B)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína Bcl2 en homogenizados de corazón. **C)** Gráfica que muestra el índice apoptótico de Bax/Bcl2. La proteína GAPDH se utilizó como control de carga. Los valores indican la media  $\pm$  SEM, n=3; \*  $p < 0.05$ . Ctrl= Control sin isquemia; I/R= isquemia/reperfusión; Lep= Leptina; SIP=péptido inhibidor de STAT3.

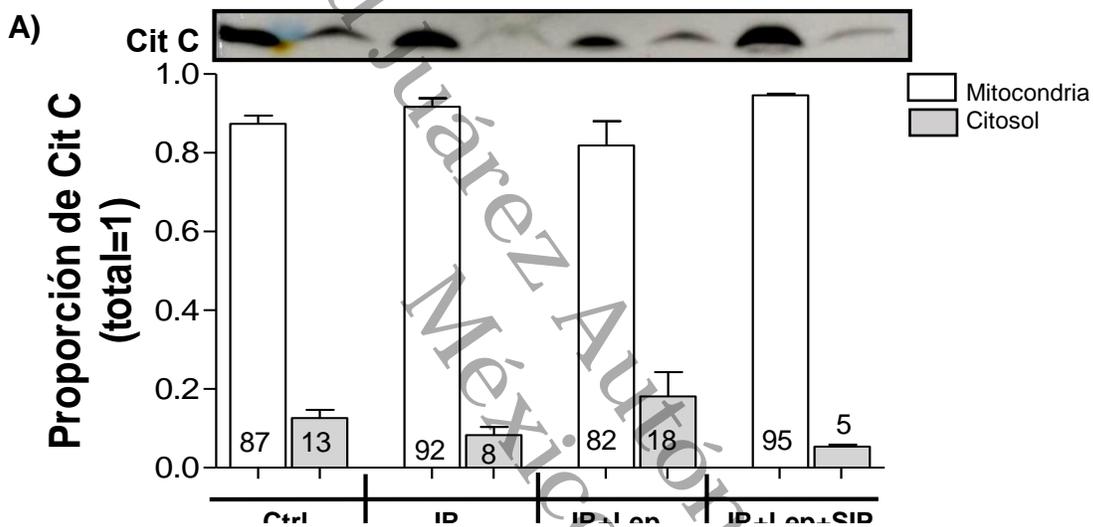


**Figura 14.** Determinación de la expresión de Casp 3.

**A)** Gráfica que muestra la cantidad de la proteína casp 3 en homogenizados de corazón. **B)** Gráfica que muestra la cantidad de proteína de casp 3 activa en homogenizados de corazón. **C)** Gráfica que muestra el índice de caspasa 3. La proteína GAPDH se utilizó como control de carga. Los valores indican la media  $\pm$  SEM,  $n=3$ ; \*  $p<0.05$ . Casp 3= caspasa 3, proteína pro-apoptótica; Ctrl= Control sin isquemia; I/R= isquemia/reperfusión; Lep= Leptina; SIP= péptido inhibidor de STAT3.

- **Determinación de citocromo C por Western Blot.**

También se analizó la cantidad de citocromo c (cit c) en las muestras de mitocondrias y en los citosoles de corazones que fueron sometidos a las diferentes condiciones experimentales (Figura 15). Se encontró que la cantidad de cit c que se libera desde el interior de las mitocondrias al citosol está aumentada a las 4 h de perfusión con leptina en corazones del grupo I/R+Lep, evidenciando un aumento de la permeabilidad mitocondrial y relacionando nuestros resultados que indican que el efecto de la leptina puede activar la vía intrínseca de la apoptosis.

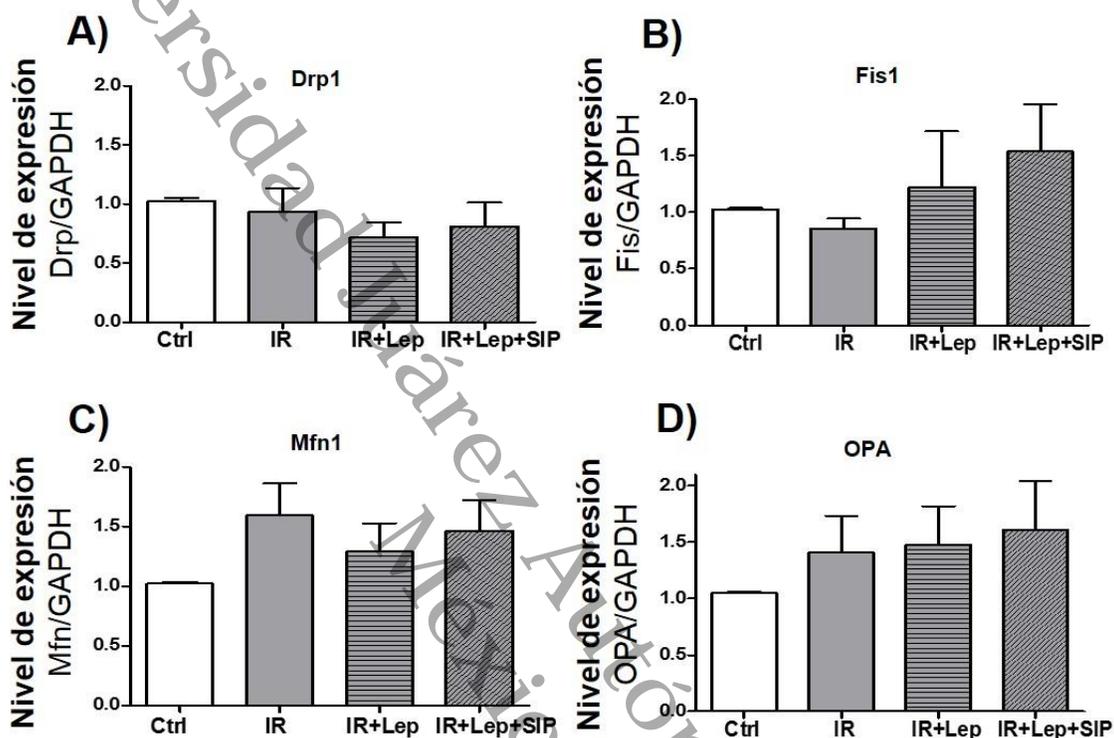


**Figura 15.** Determinación de la expresión de la proteína Cit c.

El contenido del citocromo c se midió en fracciones mitocondriales y citosólicas de corazones. Los valores indican la media  $\pm$  SEM, n = 3; \* p<0.05. Casp= caspasa; Ctrl= Control sin isquemia; I/R= isquemia/reperfusión; Lep= Leptina; SIP=péptido inhibidor de STAT3.

- **Determinación de *Drp1* y *Fis1*, *Mfn1* y *OPA* por *Western Blot*.**

Se analizó la expresión de proteínas que están asociadas a la dinámica mitocondrial (Figura 16) pero, no se encontró diferencias en las proteínas de fisión o fusión Drp1, Fis1, Mfn1 y Opa1 en los diferentes grupos experimentales.



**Figura 16.** Determinación de la expresión de proteínas asociadas a la dinámica mitocondrial.

- A)** Gráfica que muestra la cantidad de la proteína Drp1 en homogenizados de corazón.  
**B)** Gráfica que muestra la cantidad de la proteína Fis1 en homogenizados de corazón.  
**C)** Gráfica que muestra la cantidad de la proteína Mfn1 en homogenizados de corazón.  
**D)** Gráfica que muestra la cantidad de la proteína Opa en homogenizados de corazón.  
 La proteína GAPDH se utilizó como control de carga. Los valores indican la media  $\pm$  SEM, n=3; \* p<0.05. Drp1= proteína relacionada con la dinamina 1; Mfn1= mitofisina 1; Fis1= proteína de fisión 1; Opa= proteína de la atrofia óptica 1; Ctrl= Control sin isquemia; I/R= isquemia/reperfusión; Lep= Leptina; SIP=péptido inhibidor de STAT3.

## 10. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto perjudicial (pro-hipertrófico, como inductor de disfunción mitocondrial, pro-apoptótico) de la leptina (50ng/mL o 3.1nM) sobre la función cardíaca y su asociación con la activación de proteínas apoptóticas en los cardiomiocitos, que se sometieron un evento de I/R, utilizando el sistema de Langerdorff (Figura 9).

La leptina es un péptido producido principalmente por el adipocito, por lo que su producción generalmente aumenta en pacientes con obesidad<sup>15,52</sup>, que a su vez es considerada como uno de los principales factores de riesgo modificable para desarrollar diversas ECV, entre las cuales se encuentra la hipertrofia cardíaca<sup>5,6,38,39,40</sup>. También el aumento de la morbilidad y la mortalidad cardiovascular adjudicado a la obesidad puede ser explicado por las acciones cardiovasculares simpáticas efectuadas por la leptina<sup>99</sup>; por ejemplo, además de su efecto sobre el apetito y el metabolismo, la leptina actúa en el hipotálamo para aumentar la presión arterial mediante la activación del sistema nervioso simpático<sup>100</sup>. En ratones deficientes del receptor Ob-R, que se sometieron a una dieta que aumento su peso corporal casi el doble que sus controles magros, los ratones deficientes del receptor de leptina, tenían una presión arterial más baja y cuando se les administró leptina, la presión arterial sistólica aumentó considerablemente a pesar de la disminución de la ingesta de alimentos y del peso corporal<sup>101,102</sup>. Un aumento en la rigidez vascular tiene efectos adversos a largo plazo en el sistema cardiovascular al aumentar la impedancia al flujo sanguíneo y, por lo tanto, al aumentar el trabajo cardiovascular y contribuir al desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda, y estos se asocian con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares<sup>103</sup>. La presencia del receptor de leptina en el corazón sugiere que la leptina podría modular la función cardíaca directamente<sup>104</sup>, ya se ha demostrado que esta, aumenta el consumo de oxígeno cardíaco y disminuye la eficiencia cardíaca *in vivo*<sup>105</sup>.

La primera parte de nuestro estudio se centró en el análisis del efecto de la leptina sobre la función cardíaca, nuestros resultados muestran que la leptina produce una disminución en la frecuencia cardíaca en los corazones que se sometieron a un periodo de I/R y que se re-perfundieron con leptina; por el contrario, los corazones que

se sometieron a un periodo de I/R y que se re-perfundieron con leptina pero que previamente recibieron la aplicación del inhibidor SIP, la frecuencia cardíaca aumentó incluso más que sus controles (Figura 11B), el mismo comportamiento se encontró para el trabajo cardíaco (Figura 11C). Se ha reportado que la exposición continua con leptina durante 4 h aumenta el valor medio de la frecuencia cardíaca, la fuerza de contracción y el trabajo cardíaco alcanzando diferencias significativas a la 3 h de perfusión<sup>98</sup>. En conjunto, estos hallazgos relacionan a la contribución activa de la leptina en la regulación de la función cardíaca y que sus efectos poseen implicaciones fisiopatológicas que alteran el desempeño cardíaco. Cabe recordar que la I/R es en sí misma, un evento perjudicial para el corazón, lo que no se refleja en nuestros experimentos, a menos que sea en presencia de la leptina.

Diversos estudios evidencian que dentro de las funciones de la leptina se encuentra su acción como factor de crecimiento en varios tipos de células, incluidas los cardiomiocitos<sup>14,54</sup>. También se ha demostrado que los cardiomiocitos pueden sintetizar esta proteína de novo<sup>55,56,57</sup>. Se ha demostrado que la expresión de las isoformas del receptor y secreción de leptina en los cardiomiocitos, induce hipertrofia, pero este efecto se produce incluso en ausencia de tensión de la pared (en patologías como en la obesidad), lo que sugiere un efecto independiente de la leptina sobre el corazón<sup>14,56,57</sup>. Por lo tanto, se ha vuelto cada vez más importante comprender el efecto de la hiperleptinemia asociada a la obesidad en los sistemas cardiovasculares. La leptina ejerce sus efectos a través de isoformas de los receptores cortos (Ob-Ra) y largos (Ob-Rb)<sup>51</sup>. La expresión de varias isoformas de Ob-R (tanto largas como cortas) se ha demostrado en el miocardio<sup>106,107</sup> y en los miocitos aislados de rata<sup>86</sup>. Se ha demostrado que en los cardiomiocitos aislados de rata, en los cuales se indujo hipertrofia cardíaca con 50 ng/mL de leptina (3,1 nM), se produce un aumento en la expresión Ob-Rb<sup>108</sup>. Como parte de nuestro segundo grupo de nuestros resultados, en los corazones que se sometieron a un periodo de I/R y que se perfundieron con leptina durante las 2 h y 45 min no encontramos, evidencia del efecto pro-hipertrofico de la leptina, debido a que no se produjo el aumento en la expresión de cACT, (como marcador de hipertrofia cardíaca), ni del receptor Ob-R (Figura 12A y B). De acuerdo con informes anteriores, la leptina aumenta la expresión de cACT de manera

significativa pero, después de una exposición durante al menos 4 h<sup>98</sup>, lo que explicaría por qué nosotros no detectamos este cambio. La leptina, a través de las isoformas del receptor Ob-R activa distintas cascadas de señalización intracelular que incluyen a las vías JAK/STAT, p38, MAPK, ERK y PI3K/Akt. De forma particular, el Ob-Rb se encuentra asociado con la activación de JAK/STAT3<sup>43,46,51,109</sup>. Además de medir la expresión de cACT, medimos la expresión de la proteína tSTAT3 y pSTAT3, y no se detectó un aumento en la expresión de estas proteínas (Figura 12C y D), correlacionando con nuestros resultados que no se produce una hipertrofia cardíaca con este tiempo de exposición más corto. Estos resultados sugieren que 2 h y 45 min de perfusión con leptina no son suficientes para desencadenar la señalización pro-hipertrofica, a través de la vía STAT3, porque la leptina produce su activación dependiente del tiempo de exposición.

El miocardio se compone de cardiomiocitos diferenciados que se encargan la función contráctil y no poseen la capacidad de regenerarse de manera adecuada<sup>110</sup>. Cuando ocurre una pérdida de cardiomiocitos, el corazón es incapaz de mantener una contracción eficiente. El mantenimiento de la homeostasis cardíaca depende de la muerte y renovación de los cardiomiocitos y la apoptosis es una de las vías que contribuye de manera activa a la pérdida de miocitos; esta pérdida de células es común en las patologías cardíacas incluyendo la isquemia/reperfusión miocárdica<sup>111</sup>, infarto de miocardio y la insuficiencia cardíaca<sup>112</sup>.

La apoptosis es un evento altamente regulado y puede ser activada a través de los receptores de muerte en la membrana plasmática (vía extrínseca) o por permeabilización de las mitocondrias (vía intrínseca)<sup>74,113,114</sup>. Las mitocondrias, además de su función bioenergética, desempeñan un papel importante en la apoptosis y los cambios en su morfología pueden afectar la susceptibilidad de las células al daño<sup>114</sup>. En este sentido, resulta controversial el hecho que se ha reportado que a nivel cardíaco la leptina tiene un efecto anti-apoptótico<sup>92</sup>, pero también un efecto pro-apoptótico<sup>115</sup>. La activación de la apoptosis está relacionada con la patogénesis de diversas enfermedades cardíacas, incluida la hipertrofia, el infarto de miocardio y la insuficiencia cardíaca. En estados patológicos, como en la hipoxia crónica, el estiramiento y la sobrecarga de presión crónica se ha demostrado que causan una

apoptosis significativa en los corazones de las ratas, lo que se correlaciona con mayores niveles de Bax y menores niveles de Bcl-2<sup>116,117</sup>. Además, se ha reportado que Bax se activa en las células cardíacas en respuesta al estrés oxidativo<sup>118</sup> y durante la isquemia<sup>114,119</sup>. Durante la lesión por I/R cardíaca, la concentración intracelular de Ca<sup>2+</sup> aumenta anormalmente, lo que resulta en la inducción de apoptosis de miocitos<sup>120</sup>. En nuestro trabajo, los mecanismos de la apoptosis miocárdica después de la I/R, se evaluaron midiendo los niveles de las proteínas reguladoras de la apoptosis Bcl-2 y Bax (Figura 13). En el corazón, Bcl-2 limita la apoptosis y protege contra el daño de I/R cardíaca *in vivo*<sup>110</sup>. Tanto la expresión de la proteína Bax como Bcl-2 en homogenizados de corazones de ratas del grupo I/R no mostraron cambios significativos. Consideramos que este patrón se podría atribuir a la activación de algunos mecanismos de rescate donde diversos estudios han demostrado una reducción de la apoptosis por el pre-acondicionamiento cardíaco<sup>111,117</sup> modificando la expresión de las proteína Bcl-2 y Bax, y es posible que en nuestro experimento, el largo período de perfusión antes de la isquemia (una hora) pudo activar estos mecanismos de rescate ya que se han reportado que la apoptosis se activa en la mayoría de los protocolos de I/R para el sistema de Langendorff utilizando tiempos más cortos (5-30 min) de perfusión antes de la isquemia<sup>121-123</sup>. A pesar de esto, la expresión de Bax y Bcl-2 se ve aumentada ligeramente, aunque no es significativa en los dos grupos perfundidos con leptina (I/R+Lep y I/R+Lep+SIP) (Figura 13A y B). Aunque los cambios en las cantidades de Bax y Bcl-2 fueron pequeños, el índice apoptótico de Bax/Bcl-2 mostró un aumento en el grupo I/R que fue perfundido con leptina y esto no ocurrió en el grupo al que se le aplicó el inhibidor de STAT3 (Figura 13C); este resultado indica que hay un desequilibrio hacia la apoptosis inducido por la leptina, lo que confirma que la activación de la apoptosis es uno de los mecanismos potenciales resultados del efecto perjudicial de la leptina en el corazón<sup>54,55,105</sup>. La vía intrínseca de la apoptosis está relacionada con la liberación de factores pro-apoptóticos localizados en la mitocondria, dentro los cuales se encuentra el cit c. Nuestros resultados evidencian que la leptina estimuló la liberación de cit c de la mitocondria al citosol (Figura 15), lo que es un indicador adicional de la activación de apoptosis. Bax, que reside de manera normal en el citosol, se transloca a la

mitocondria cuando es activada por ciertos estímulos apoptóticos, lo que fomenta la permeabilidad de la membrana externa<sup>117</sup>. Se ha demostrado que Bax forma grandes canales en la membrana externa de las mitocondrias lo que permite la liberación del cit c, que junto con Apaf-1 y pro-casp 9 forman el apoptosoma, un complejo que favorece la activación de la casp-9 e incrementa la cascada apoptótica para la conversión de procaspasa-3 a casp-3 activa<sup>110,117,124</sup> y así inducir la apoptosis. La expresión de casp-3 activa mostró un aumento (no significativo) en los grupos de I/R+Lep y en el grupo I/R+Lep+SIP (Figura 14). La dinámica mitocondrial es otro mecanismo que puede influir en la activación de apoptosis; un aumento en la fisión se ha relacionado con mayor apoptosis<sup>125</sup>. En nuestros resultados no encontramos diferencias significativas en la expresión de las proteínas que regulan la fisión y fusión mitocondrial (Figura 16), indicando que este mecanismo no participa como parte de los efectos de la leptina.

En términos generales, nuestros resultados de alguna manera concuerdan con los reportes que indican tanto efectos protectores como perjudiciales de la leptina sobre el corazón ya que, aunque se observa un efecto pro-apoptótico de esta citocina, la inhibición de la señalización de STAT3 parece aumentar este efecto pro-hipertrófico, lo que podría estar relacionado con reportes que indican que la proteína anti-apoptótica Bcl-2 es inducida por la activación de la vía STAT3 y, al estar ésta regulada por la leptina, la inhibición de STAT3 podría estar bloqueando el efecto anti-apoptótico mientras se mantienen las otras vías activadas por leptina<sup>91</sup>.

## 11. CONCLUSIÓN

Nuestros resultados evidencian el efecto perjudicial de una alta concentración de leptina sobre la función cardíaca y mitocondrial. Un trabajo cardíaco aumentado puede contribuir al desarrollo de hipertrofia y progresar a una insuficiencia. Las mitocondrias son orgánulos intracelulares importantes porque aportan la mayor parte de la energía que requiere la célula además de que regulan la activación de la apoptosis por la vía intrínseca, por lo que su disfunción puede tener consecuencias importantes para la fisiología y patología cardiovascular.

La concentración alta de leptina durante la I/R provoca un desbalance de la señalización apoptótica favoreciendo la liberación de cit c, lo que podría estar relacionado con la alteración de la función cardíaca y la relación de la obesidad con la aparición de enfermedades cardiovasculares.

Universidad Autónoma de Tabasco.  
México.

## **12. RECOMENDACIONES**

Los mecanismos cardioprotectores en corazones que son sometidos a concentraciones aumentadas de leptina contra la lesión provocada por I/R miocárdica no están descritos completamente, lo cual sería un punto muy importante para abordar en futuros estudios de este tipo. También sería interesante extrapolar este modelo a ratas que tengan sobrepeso y obesidad ya que todos los experimentos se realizaron en corazones aislados de ratas con un peso normal. Es recomendable estandarizar y aumentar el tiempo de reperfusión cardíaca; por lo tanto, se requieren más investigaciones en la práctica clínica y estudios experimentales para explorar los mecanismos precisos y confirmar nuestros hallazgos actuales en la mecánica cardíaca y la transducción de señales.

- **Medición de otros parámetros:**

1. Realizar la medición de presión arterial a las ratas, previo al aislamiento de los corazones.
2. Realizar el registro de las derivaciones cardíacas para correlacionar los datos que se obtienen de la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción de los corazones.
3. Realizar cortes histológicos para determinación de hipertrófica cardíaca a nivel histológico.
4. Realizar por medio de secuencias de PCR-RT, la medición de proteínas relacionadas con la inflamación que podrían estar asociadas con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

## **13. FINANCIAMIENTO**

Este trabajo es parte de un proyecto de investigación financiado por el fondo “Ciencia Básica” del CONACYT (Proyecto número: CB 2013-222290-M), cuyo responsable Técnico es el Dr. Eduardo Martínez Abundis.

## 14. GLOSARIO

**Apoptosis:** La apoptosis es una forma de muerte celular programada, o "suicidio celular"<sup>126</sup>.

**Bcl-2:** Proteína que ayuda a controlar la supervivencia o destrucción de una célula al impedir un tipo de muerte celular que se llama apoptosis<sup>127</sup>.

**Citoplasma:** Parte de la célula que rodea el núcleo y que está limitada por la membrana exterior<sup>128</sup>. Líquido del interior de la célula, pero exterior al núcleo de la célula<sup>129</sup>.

**Citosol:** El citosol, también denominado matriz citoplasmática o hialoplasma, se ubica dentro de las células y constituye la mayoría del fluido intracelular del citoplasma<sup>130</sup>.

**Concomitante:** Que aparece o actúa conjuntamente con otra cosa<sup>131</sup>.

**Comorbilidad:** Coexistencia de dos o más enfermedades en un mismo individuo, generalmente relacionadas<sup>132</sup>.

**Citocina:** Polipéptido responsable del crecimiento y la diferenciación de distintos tipos de células<sup>133</sup>.

**Hipertrofia:** Crecimiento excesivo y anormal de un órgano o de una parte de él debido a un aumento del tamaño de sus células<sup>134</sup>.

**Homeostasis:** Conjunto de fenómenos de autorregulación, conducentes al mantenimiento de una relativa constancia en la composición y las propiedades del medio interno de un organismo<sup>135</sup>.

**Pleiotrópicos:** (*pleio*: muchos, *tropic*: efectos)<sup>136</sup>.

## 15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-2642.
2. The Organisation for Economic Cooperation and Development (OCDE) [Revista en Internet] 2018. OECD Health Statistics 2018. [Acceso 06 Marzo 2019]. Disponible en: [https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH\\_LVNG](https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH_LVNG)
3. Rivera D. J.A., Colchero M.A., Fuentes M.L., et al. La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control. Cuernavaca: Inst Nac de Sal Pública, 2018:1-270.
4. Organización Mundial de la Salud [Revista en internet]. Febrero 2018 [Acceso 12 Marzo 2019]. OMS: Obesidad y sobrepeso. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
5. Mahajan R., Lau D. H., Sanders R. Impact of obesity on cardiac metabolism, fibrosis, and function. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2015;25(2):119-126.
6. Koliaki C., Liatis S., Kokkinos A. Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. *Metabolism*. 2019;9:298–107
7. Parto P., Lavie C. J. Obesity and Cardiovascular Diseases. *Curr Probl Cardiol*. 2017;42(11):376–394.
8. Alpert M. A., Lavie C. J., Agrawal H., et al. Obesity and heart failure: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Transl Res*. 2014;164(4):345-356.
9. Mende A., Razak F., Blankenberg, et al. Ethnic Variation in Adiponectin and Leptin Levels and Their Association With Adiposity and Insulin Resistance. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1629-1634.
10. Härle P., Straub R. H. Leptin Is a Link between Adipose Tissue and Inflammation. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2006;1069:454-462.
11. Manuel L., Zárata A., Hernández-Valencia M. La leptina, hormona del adipocito, regula el apetito y el consumo de energía. Papel en la obesidad y dismetabolismo. *Acta Médica Grupo Ángeles*. 2012;10(3):154-157.

12. Santoro A., Raso G. M., Meli R. Drug targeting of leptin resistance. *Life Sciences*. 2015;140:64-74.
13. Facey A., Dilworth L., Irving R. A Review of the Leptin Hormone and the Association with Obesity and Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab*. 2017;8(3):1-3.
14. Paz-Filho G., Mastronardi C., Bertoldi, F, C., et al. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2012;56(9):597-607.
15. Singh M., Bedi U. S., Singh P. P., et al. Leptin and the clinical cardiovascular risk. *International Journal of Cardiology*. 2010;140(3);266-271.
16. Cammisotto P. G., Bukowiecki L. J., Deshaies Y., et al. Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes. *Biochem. Cell Biol*. 2006;84(2):207-214.
17. Cruz-Hernández J. H., Gómez-Crisostómo N. P., Martínez-Abundis E. Análisis de la expresión de proteínas reguladoras de apoptosis en corazones expuesto a niveles altos de leptina en un modelo de órgano aislado. *Congreso Mesoamericano de Investigación UNACH*. 2017;4:277-282.
18. Sharp W W., Fang, Y. H., Han, M., Zhang., et al. Dynamin-related protein 1 (Drp1)-mediated diastolic dysfunction in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic benefits of Drp1 inhibition to reduce mitochondrial fission. *FASEB Journal*. 2014;28:316-326.
19. Oxford Dictionaries [Revista en internet]. 2019 [Acceso 19 Marzo 2019]. English Oxford Living dictionaries. Disponible en: <https://en.oxforddictionaries.com/definition/obese>.
20. Division of Nutrition, Physical Activity, and Obesity, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (NCCDPHP). Abril 2017 [Acceso 14 Marzo 2019]. CDC: Overweight & Obesity. Disponible en: <https://www.cdc.gov/obesity/adult/defining.html>
21. The Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) [Revista en internet] 2019 [Acceso: 04 Marzo 2019]. Overweight or obese population (Indicator). Disponible en: <https://doi.org/10.1787/86583552-en>
22. AACE/ACE Position Statement. 2014. *Endocr Pract*. 20(9);977-984.

23. Moreno G., M. Definición y clasificación de la obesidad. *Rev. Med. Clin. Condes.* 2012;23(2): 124-128.
24. Lavie C. J., Schutter A. D., Parto P., et al. Obesity and prevalence of cardiovascular diseases and prognosis: the obesity paradox updated. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2016;58(5):537–547.
25. Polyzos S.A., Mantzoros C.S. Obesity: seize the day, fight the fat. *Metabolism.* 2019;92: 1-5.
26. The Organisation for Economic Cooperation and Development (OCDE) [Revista en Internet] 2018. OECD Update 2017. [Acceso 12 Marzo 2019]. Disponible en: <http://www.oecd.org/health/health-systems/Obesity-Update-2017-Figure-5-Projected-rates-of-obesity.xls>
27. Rtveldadze K., Marsh T., Barquera S., et al. Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr.* 2014;17(1):233–239.
28. OCDE. OECD Health Statistics 2018. [Internet] 2018. (Acceso 06 Febrero 2019). Disponible en: [https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH\\_LVNG](https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH_LVNG)
29. Lim S.S., Vos T., Flaxman A. D. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet.* 2012;(380):2224-2260.
30. Bass R., Eneli I. Severe childhood obesity: an under-recognised and growing health problem. *Postgraduate Medical Journal.* 2015;91:639-645.
31. Kim D. D., Basu A. Estimating the medical care costs of obesity in the United States: systematic review, meta-analysis, and empirical analysis. *Value Health* 2016;19(5):602–13.
32. Chooi Y.C., Ding C., Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism.* 2019;92:6-10.
33. Von Lengerke T., Krauth C. Economic costs of adult obesity: a review of recent European studies with a focus on subgroup-specific costs. *Maturitas* 2011;69(3):220–229.

34. DiBonaventura MD, Meincke H, Le L.A, Fournier J, Bakker E, Ehrenreich A. Obesity in Mexico: prevalence, comorbidities, associations with patient outcomes, and treatment experiences. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2017;11:1–10.
35. The Lancet. Obesity and sustainability-in transition. *The Lancet Diabetes & Endocrinology.* 2019;7(3):161.
36. Piché M-E., Poirier P., Lemieux I. Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity and Body Fat Distribution to Cardiovascular Disease: An Update. *Progress in Cardiovascular Diseases.* 2018;61(2):103-113.
37. Dávila-Torres J., et al. Panorama de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53(2):240-9.
38. American Heart Association. Understand Your Risks to Prevent a Heart Attack. [Revista en Internet] 2019. (Acceso 23 Febrero 2019). [Disponible en: <https://www.heart.org/en/health-topics/heart-attack/understand-your-risks-to-prevent-a-heart-attack>
39. Elagizi A., Kachur S., Lavie C. J., et al. An Overview and Update on Obesity and the Obesity Paradox in Cardiovascular Diseases. *Progress in Cardiovascular Diseases.* 2018;61(2):142-150.
40. Lavie C., Arena R., Alpert M., et al. Management of cardiovascular diseases in patients with obesity. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(1):45-56.
41. Costantino S., Mohammed S. A., Ambrosini S., et al. Epigenetic processing in cardiometabolic disease. *Atherosclerosis.* 2019;281:150-158.
42. Ghanim H., Aljada A., Hofmeyer D., et al. Circulating Mononuclear Cells in the Obese Are in a Proinflammatory State. *Circulation.* 2004;110(2):1564-1571.
43. Rodríguez A. Novel Molecular Aspects of Ghrelin and Leptin in the Control of Adipobiology and the Cardiovascular System. *Obes Facts* 2014;7:82-95.
44. Reyes J, M. Características Biológicas del Tejido Adiposo: El Adipocito Como Célula Endocrina. *Rev. Med. Clin. Condes.* 2012;23(2):136-144.
45. López-Jiménez F., Cortés-Bergoderi M. Obesidad y corazón. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64(2):140–149.

46. Almanza-Pérez JC., Blancas-Flores G., García-Macedo R., et al. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *Gac Méd Méx.* 2008;144(6):535-542.
47. Friedman J. M. The Function of Leptin in Nutrition, Weight, and Physiology. *Nutrition Reviews.* 2002;60(10):1-14.
48. Francisco V., Pino J., Campos-Cabaleiro V., et al. Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin. *Frontiers in Physiology.* 2018;9(640):1-20.
49. Dale A. E., Sweeney G. Modulation of the cardiovascular system by leptin. *Biochimie.* 2012;94(10):2097-2103.
50. Ankar I. W., Bhat A. A. Zafar M., et al. Oncogenic role of dysregulated leptin signaling in the pathogenesis of ovarian cancer. *Translational Medicine Communications.* 2019;4(1):1-9.
51. Wada N., Hirako S., Takenoya F., et al. Leptin and its receptors. *Journal of Chemical Neuroanatomy.* 2014;61-62:191-199.
52. Schaab M., Kratzsch J. The soluble leptin receptor. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2015;29(5):661-670.
53. Farr O. M., Garvrielo A., Mantzoros C. S. Leptin applications in 2015: What have we learned about leptin and obesity?. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2015;22(5):353-359.
54. Li S., Li X. Leptin in normal physiology and leptin resistance. *Science Bulletin.* 2016; 61(19):1480-1488.
55. Martínez-Martínez E., Jurado-López R., Cervantes-Escalera P., et al. Leptin, a mediator of cardiac damage associated with obesity. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2014;18(1):3-14.
56. P. Schulze P.C., Kratzsch J. Leptin as a new diagnostic tool in chronic heart failure. *Clinica Chimica Acta* 2005;362(1-2):1-11.
57. Rider O. J., Lewis A. J. M., Neubauer S. Structural and Metabolic Effects of Obesity on the Myocardium and the Aorta. *Obes Facts* 2014;7(5):329-338.
58. Rtveldze K., Marsh T., Barquera S., et al. Obesity prevalence in Mexico: Impact on health and economic burden. *Public Health Nutrition.* 2014;17(1):233-239.

59. Abe Y., Ono K., Kawamura T., et al. Leptin induces elongation of cardiac myocytes and causes eccentric left ventricular dilatation with compensation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:H2387-H2396.
60. Kusminski C. M., Scherer P. E. Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2012;23(9):435-443.
61. Cheng Z., Almeida F. Mitochondrial alteration in type 2 diabetes and obesity: An epigenetic link. *Cell Cycle*. 2014;13(6):890-897.
62. Roberts S. L., Imai Shin-ichiro. The dynamic regulation of NAD metabolism in mitochondria. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2012;23(9):420-428.
63. Tian J., Tang W., Xu M., et al. Shengmai San Alleviates Diabetic Cardiomyopathy Through Improvement of Mitochondrial Lipid Metabolic Disorder. *Cell Physiol Biochem* 2018;50(5):1726-1739.
64. Kuzmivic J., del Campo A., López-Crisosto C., et al. Dinámica mitocondrial: un potencial nuevo blanco terapéutico para la insuficiencia cardiaca. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64(10):916-923.
65. Frederick L., R., Shaw M., J. Moving Mitochondria: Establishing Distribution of an Essential Organelle. *Traffic* 2007;8:1668-1675.
66. Alaimo Agustina. Neurotoxicidad inducida por manganeso. Vías de muerte apoptóticas y rol de la dinámica mitocondrial [Tesis doctoral]. Argentina: Biblioteca Digital de la FCEN-UBA; 2012.
67. Pyakurel A., Savoia C., Hess D., Scorrano L. Extracellular Regulated Kinase Phosphorylates Mitofusin 1 to Control Mitochondrial Morphology and Apoptosis. *Mol Cell*. 2015;58(2):244-254.
68. Song M., Mihara K., Chen Y., et al. Mitochondrial Fission and Fusion Factors Reciprocally Orchestrate Mitophagic Culling in Mouse Hearts and Cultured Fibroblasts. *Cell Metab*. 2015;21(2):273-285.
69. Sheridan C., Martin J, S. Mitochondrial fission/fusion dynamics and apoptosis. *Mitochondrion* 2010;10:640-648.
70. Iaimo A., Gorojod M R., Beauquis J., et al. Deregulation of Mitochondria-Shaping Proteins Opa-1 and Drp-1 in Manganese-Induced Apoptosis. *Plos one*. 2014;9(3):1-16.

71. Ju J C., Yeung J., Tseung E., et al. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy is associated with enhanced mitochondrial fission. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2019;454(1-2):33-44.
72. Javadov S., Rajapurohitam V., Kilić A., et al. Expression of mitochondrial fusion-fission proteins during post-infarction remodeling: the effect of NHE-1 inhibition. *Basic Res Cardiol*. 2011;106(1):99-109.
73. Varanita T., Soriano M E., Romanello V., et al. The Opa1-Dependent Mitochondrial Cristae Remodeling Pathway Controls Atrophic, Apoptotic, and Ischemic Tissue Damage. *Cell Metabolism*. 2015;21(6):834-844.
74. Cascales A M. Bases moleculares de la apoptosis. *Anal. Real Acad. Nal. Farm.* 2003;69(1).
75. Taneja N., Tjalkens R., Philbert MA., et al. Irradiation of mitochondria initiates apoptosis in a cell free system. *Oncogene*. 2001;20:167-177.
76. Navas C M., Alfonso A L E., Guerra R I. Apoptosis: muerte celular programada. Aspectos generales y su relación con las enfermedades cardiovasculares. *CorSalud*. 2009;1(2).
77. Ramírez-García M. A., Márquez-González H., Barranco-Lampón G., et al. Bcl-2: su papel en el ciclo celular, apoptosis y cancer. 2014;9(3):84-94.
78. Luna-López A., López-Diazguerrero N. E., González-Puertos V. Y., et al. El fantástico mundo de la proteína Bcl-2. *REB* 2008;27(3):93-102.
79. Gustafsson A. B., Gottlieb R. A. Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292:C45–C51.
80. Singh R., Letai A., Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family protein *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2019;20(3):175-193.
81. Brunelle J. K., Letal A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *Cell Science*. 2009;122(4):437-441.
82. Ramírez-García M. A., Márquez-González H., Barranco-Lampón G., et al. Bcl-2: su papel en el ciclo celular, apoptosis y cancer. 2014;9(3):84-94.

83. Juntinico S. A. P., Mantilla G. A., Sánchez M. R. Regulación de la familia de proteínas BCL-2 en células infectadas con *Chlamydia trachomatis*. NOVA. 2015; 13 (24):83-92
84. Colman V., Costa E., Chaves R., et al. Roles biológicos del citocromo c: transporte electrónico mitocondrial, muerte celular programada y ganancia de actividad peroxidática. An Fa Med. 2015;2(1):59-70.
85. Westphal D., Dewson G., Czabotar P.E., et al. Molecular biology of Bax and Bak activation and action. Biochimica et Biophysica Acta. 2011;1813:521-531.
86. Cassidy-Stone A., Chipuk J E., Ingberman E. Chemical Inhibition of the Mitochondrial Division Dynamin Reveals Its Role in Bax/Bak-Dependent Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization. Dev Cell. 2008;14(2):193-204.
87. Precht T A., Phelps R A., Linseman D A., et al. The permeability transition pore triggers Bax translocation to mitochondria during neuronal apoptosis. Cell Death and Differentiation. 2005;12:255-265.
88. Crow M T., Mani K., Nam Young-Jae., et al. The Mitochondrial Death Pathway and Cardiac Myocyte Apoptosis. Circulation Research. 2004;95(10):957-970.
89. Santos L C., Vogel R., Chipuk J E., et al. Mitochondrial origins of fractional control in regulated cell death. Nature communications. 2019;10:1-10
90. Levkau B., Schäfers M., Wohlschlaeger J., et al. Survivin Determines Cardiac Function by Controlling Total Cardiomyocyte Number. Circulation. 2008;117:1583-1593.
91. Bhattacharya S., Ray R. M., Johnson L. R. STAT3-mediated transcription of Bcl-2, Mcl-1 and c-IAP2 prevents apoptosis in polyamine-depleted cells. Biochem. J. 2005;392:335-344.
92. McGaffin K. R., Zou B., McTiernan C. F., et al. Leptin attenuates cardiac apoptosis after chronic ischaemic injury. Cardiovascular Research. 2009;83:313-324.
93. Liao R., Podesser B. K., Lim C. C., et al. The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2012;303:156-167.
94. Riascos B. D., Baltaxe E., Pascual A. G. La preparación de Langendorff: corazón de mamífero aislado perfundido. Universitas médica. 2004;45(3):11-117.

95. He L., Hao S., Wang Y., et al. Dexmedetomidine preconditioning attenuates ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts with endothelial dysfunction. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. June 2019;114:108837.
96. Ibáñez C. X. Cuantificación de la complejidad de la fibrilación mediante el aislamiento espacio-temporal de frentes de activación miocárdica [tesis]. 2008.
97. Jong C. J., Yeung J., Tseung E., et al. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy is associated with enhanced mitochondrial fission. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2019;454(1-2):33-34.
98. Berzabá-Evoli E., Zazueta C., Cruz-Hernández J. H. et al Leptin Modifies the Rat Heart Performance Associated with Mitochondrial Dysfunction Independently of Its Prohypertrophic Effects. *International Journal of Endocrinology*. 2018;2018:1-10.
99. Rahmouni K. Leptin-Induced Sympathetic Nerve Activation: Signaling Mechanisms and Cardiovascular Consequences in Obesity. *Curr Hypertens Rev*. 2010;6(2):104-209.
100. Beltowski J. Role of leptin in blood pressure regulation and arterial hypertension. *Journal of Hypertension*. 2006;24(5):789-801.
101. Mark A., Shaffer R., Correia M., et al. Contrasting blood pressure effects of obesity in leptin-deficient ob/ob mice and agouti yellow obese mice. *J Hypertens*. 1999;17(12):1949-1953
102. Rahmouni K., Morgan D. A., Morgan G. M., et al. Role of Selective Leptin Resistance in Diet-Induced Obesity Hypertension. *Diabetes*. 2005;54:212-218.
103. Tryggstad J. B., Short K. R. Arterial Compliance in Obese Children: Implications for Cardiovascular Health. *Exerc Sport Sci Rev*. 2014;42(4):175-182
104. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F, et al. Relation of Increased Leptin Concentrations to History of Myocardial Infarction and Stroke in the US Population. *Am J Cardiol*. 2007;100(2):234-239.
105. Atkinson L. L., Fischer M. A., Lopaschuk G. D. Leptin Activates Cardiac Fatty Acid Oxidation Independent of Changes in the AMP-activated Protein Kinase-Acetyl-CoA Carboxylase-Malonyl-CoA Axis. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(33):29424-29430.
106. Sweeney G. Cardiovascular effects of leptin. *Nature Reviews*. 2010;7:22-29.

107. Purdham D. M., Zou Min-Xu, Rajapurohitam V., et al. Rat heart is a site of leptin production and action. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287:2877-2884.
108. Rajapurohitam V., Gan X. T., Kirshenbaum L. A., et al. The Obesity-Associated Peptide Leptin Induces Hypertrophy in Neonatal Rat Ventricular Myocytes. *Circulation Research*. 2003;93:277-279.
109. Martinez-Abundis E., Rajapurohitam V., Gertler A., et al. Identification of functional leptin receptors expressed in ventricular mitochondria. *Mol Cell Biochem*. 2015;408(1):155-162.
110. Chen Z. Y., Chua C. C., Ho Y. S., et al. Overexpression of Bcl-2 attenuates apoptosis and protects against myocardial I/R injury in transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280:2313-2320.
111. Zhao Zhi-Qing., Vinten-Johansen J. M. Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovascular Research* 2002;55(3):438-455.
112. Yang Chiu-Fen Clinical manifestations and basic mechanisms of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Tzu Chi Medical Journal*. 2018;30(4):209-215.
113. Crow M. T., Mani K., Nam Young-Jae., et al. The Mitochondrial Death Pathway and Cardiac Myocyte Apoptosis. *Circ Res*. 2004;95:957-970.
114. Orogo A. M., Gustafsson Å. B. Cell Death in the Myocardium: My Heart Won't Go On. *Critical Review*. 2013;65(8):651-656.
115. Martinez-Abundis E., Rajapurohitam V., Haist J. V., et al. The obesity-related peptide leptin sensitizes cardiac mitochondria to calcium-induced permeability transition pore opening and apoptosis. *PLoS One*. 2012;7(7):e41612.
116. Jung F., Weiland U., Johns R. A., et al. Chronic Hypoxia Induces Apoptosis in Cardiac Myocytes: A Possible Role for Bcl-2-like Proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;286(2):419-425.
117. Wen D. J., Feng Z. H., Zhong Z. W., et al. Intermittent hypoxia attenuates ischemia/reperfusion induced apoptosis in cardiac myocytes via regulating Bcl-2/Bax expression. *Cell Research*. 2003;13(5):385-391.
118. Gustafsson, B. A., Tsai G. J., Logue E. S., et al. Apoptosis Repressor with Caspase Recruitment Domain Protects against Cell Death by Interfering with Bax Activation. *J Biol Chem*. 2004;279(20):21233-21238.

119. Capano M., Crompton M. Bax translocates to mitochondria of heart cells during simulated ischaemia: involvement of AMP-activated and p38 mitogen-activated protein kinases. *Biochem J.* 2006;395:57-64.
120. Yao B., He X., Lin Y., et al. Cardioprotective effects of anisodamine against myocardial ischemia/reperfusion injury through the inhibition of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Molecular Medicine Reports.* 2018: 17(1);1253-1260.
121. He L., Hao S., Wang Y., et al. Dexmedetomidine preconditioning attenuates ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts with endothelial dysfunction. *Biomed Pharmacother.* 2019 Jun;114:108837.
122. Stroethoff M, Behmenburg F, Meierkord S, Bunte S, Mayer F, Mathes A, Heinen A, Hollmann MW, Huhn R. Cardioprotective Properties of Omecamtiv Mecarbil against Ischemia and Reperfusion Injury. *J Clin Med.* 2019 Mar 18;8(3).
123. Borutaite V, Jekabsone A, Morkuniene R, Brown GC. Inhibition of mitochondrial permeability transition prevents mitochondrial dysfunction, cytochrome c release and apoptosis induced by heart ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 2003 Apr;35(4):357-66.
124. Lu D, Liu J, Jiao J, et al. Transcription factor Foxo3a prevents apoptosis by regulating calcium through the apoptosis repressor with caspase recruitment domain. *J Biol Chem.* 2013;288(12):8491–8504.
125. Jong CJ, Yeung J, Tseung E, Karmazyn M. Leptin-induced cardiomyocyte hypertrophy is associated with enhanced mitochondrial fission. *Mol Cell Biochem.* 2019 Apr;454(1-2):33-44. doi: 10.1007/s11010-018-3450-5.
126. Kimball J. W. Apoptosis. Khan Academy. [Revista en internet]. 2019 [Acceso 02 Mayo 2019]. Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/developmental-biology/apoptosis-in-development/a/apoptosis>.
127. Instituto Nacional de Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EE. UU. Diccionario de cancer: Bcl-2. [Revista en internet]. [Acceso 07 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/bcl2>.
128. Reverso diccionario. Citoplasma. [Revista en internet]. [Acceso 07 Mayo 2019]. <https://diccionario.reverso.net/espanol-definiciones/citoplasma>.

129. Instituto Nacional de Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EE. UU. Diccionario de cáncer: citoplasma. [Revista en internet]. [Acceso 07 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/citoplasma>.
130. Concepto Definición. Definición: citosol. [Revista en internet] 2016. [Acceso 01 Mayo 2019]. Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/citosol/>.
131. Real Academia Española. Diccionario del español jurídico. [Revista en internet] 2016. [Acceso 01 Mayo 2019]. Disponible en: <https://dej.rae.es/lema/concomitante>.
132. Real Academia Española. [Revista en internet] 2019. [Acceso 01 Mayo 2019]. Disponible en: <https://dle.rae.es/?id=9y1iZbl>.
133. Real Academia Española. [Revista en internet] 2019. [Acceso 01 Mayo 2019]. Disponible en: <https://dle.rae.es/?id=9NC7hxq>.
134. Oxford Dictionaries [Revista en internet]. 2019 [Acceso 9 Marzo 2019]. Spanish Oxford Living dictionaries. Disponible en: <https://es.oxforddictionaries.com/definicion/hipertrofia>.
135. Oxford Dictionaries [Revista en internet]. 2019 [Acceso 9 Marzo 2019]. Spanish Oxford Living dictionaries. Disponible en: <https://es.oxforddictionaries.com/definicion/homeostasis>.
136. Lobo, I. (2008). Pleiotropy: One gene can affect multiple traits (Pleitropía: un gen puede afectar múltiples rasgos). Nature Education, 1(1), 10. Consultado en [www.nature.com/scitable/topicpage/pleiotropy-one-gene-can-affect-multiple-traits-569](http://www.nature.com/scitable/topicpage/pleiotropy-one-gene-can-affect-multiple-traits-569).

## 15. ANEXOS

### 15.1. Índice de tablas

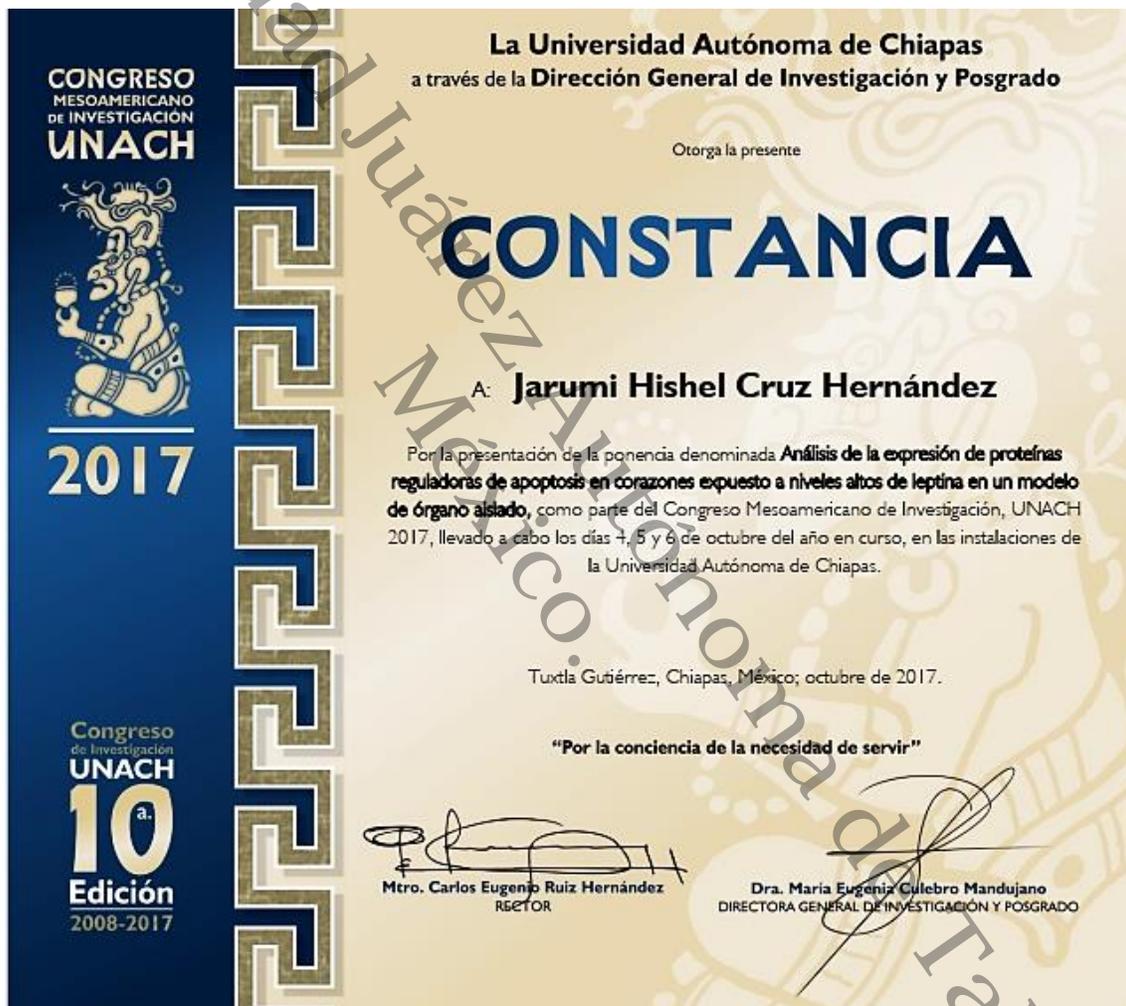
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de la obesidad por IMC según la OMS.....	10
<b>Tabla 2.</b> Efectos hemodinámicos inducidos por la obesidad y las adaptaciones cardiovasculares.....	19

### 15.2. Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Tasas proyectadas de obesidad al año 2030. ....	12
<b>Figura 2.</b> Obesidad en Adultos $\geq 15$ años (2016 o el año más reciente) <sup>2</sup> . ....	13
<b>Figura 3.</b> Obesidad entre adultos $> 15$ años (2016 o el año más reciente) <sup>27</sup> . ....	13
<b>Figura 4.</b> Efectos pleiotrópicos de la leptina. ....	22
<b>Figura 5.</b> Isoformas del receptor de leptina. ....	24
<b>Figura 6.</b> Señalización del receptor de leptina en la célula. ....	26
<b>Figura 7.</b> Fisión y fusión mitocondrial. ....	32
<b>Figura 8.</b> Apoptosis celular.....	36
<b>Figura 9.</b> Sistema de Langendorff. ....	38
<b>Figura 10.</b> Representación del diseño experimental. ....	46
<b>Figura 11.</b> Efecto de la leptina sobre el Trabajo Cardíaco. ....	51
<b>Figura 12.</b> Determinación de la expresión de cACT, el receptor Ob-R y STAT3 t y p. ....	53
<b>Figura 13.</b> Determinación de la expresión de proteínas asociadas a la apoptosis Bax y Bcl-2.....	54
<b>Figura 14.</b> Determinación de la expresión de Casp 3. ....	55
<b>Figura 15.</b> Determinación de la expresión de la proteína Cit c.....	56
<b>Figura 16.</b> Determinación de la expresión de proteínas asociadas a la dinámica mitocondrial.....	57

### 15.3. Trabajos publicados/presentados en congresos

- El presente trabajo de investigación fue presentado como resultados parciales en la modalidad de presentación oral en el Congreso Mesoamericano de Investigación, UNACH, Octubre 2017: **“Análisis de la expresión de proteínas reguladoras de apoptosis en corazones expuestos a niveles altos de leptina en un modelo de órgano aislado.”** Realizado el 4 de octubre del 2017, en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.



- El presente trabajo de investigación fue publicado como parte del número correspondiente al Congreso Mesoamericano de Investigación, UNACH.



## ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS REGULADORAS DE APOPTOSIS EN CORAZONES EXPUESTO A NIVELES ALTOS DE LEPTINA EN UN MODELO DE ÓRGANO AISLADO

Cruz-Hernández, Jarumi Hishel\*; Gómez-Crisóstomo, Nancy Patricia\*; Martínez-Abundis, Eduardo\*

### INTRODUCCIÓN

La obesidad se ha convertido en una gran amenaza para la salud en todo el mundo. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad es un factor de riesgo mayor para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, incluidas la enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, arritmias ventriculares y la muerte súbita. También se considera como un factor causal para el desarrollo de hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad articular (López Jiménez, 2011). Recientemente se ha demostrado que la asociación entre obesidad y enfermedad cardiovascular podría incluir muchos factores, como son inflamación subclínica y activación neurohormo-

nal con aumento del tono simpático (Sierra Johnson, 2007).

Los mecanismos por los que el exceso de grasa causa resistencia a la insulina son complejos, involucran diferentes vías fisiopatológicas y pueden estar mediados por citocinas y otros mediadores inflamatorios, así como también por niveles elevados de leptina.

La leptina, un péptido que es producto del gen Ob/Ob, es una adipocina reguladora del apetito que es liberada por el tejido adiposo y, por lo tanto, su concentración en plasma suele estar en relación directa con la cantidad de grasa corporal. Suele encontrarse en rangos de concentración de 1-15 ng/ml en personas delgadas y hasta 100 o 200 ng/ml en personas con obesidad mórbida (Maffei M, 1995).

Karmazyn y col., han estudiado durante muchos años los efectos de la leptina sobre el tejido cardíaco. Entre sus resultados más sobresa-

\* Universidad Juárez Autónoma de Tabasco: División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco: Laboratorio de Investigación en Enfermedades Metabólicas e Infecciosas.



- El presente trabajo se encuentra en proceso de publicación en una revista indexada de circulación internacional.

## Cardioprotective or detrimental? Leptin promotes apoptosis activation through the migration of mitochondrial apoptosis-related proteins Bax and cytochrome c in a murine model of ischemia-reperfusion

Jarumi H Cruz Hernández<sup>1</sup>, Wendy N Rosado Loman<sup>1</sup>, Nancy P Gómez-Crisóstomo<sup>1</sup>, Erick N De la Cruz-Hernández<sup>1</sup>, Eduardo Martínez-Abundis<sup>Corresp. 2</sup>

<sup>1</sup> Multidisciplinary Academic Division of Comalcalco, Juarez Autonomous University of Tabasco, Comalcalco, Tabasco, Mexico

<sup>2</sup> Multidisciplinary Academic Division of Comalcalco, Laboratory of Research in Metabolic and Infectious Diseases, Juarez Autonomous University of Tabasco, Comalcalco, Tabasco, Mexico

Corresponding Author: Eduardo Martínez-Abundis  
Email address: lulimtz@yahoo.com.mx

**Background:** Leptin exerts both protective and deleterious effects on the heart; the first occurs under hypoxia- or ischemia-associated damage, the second manifests as hypertrophic cardiomyocytes. Therefore, leptin could represent a link between obesity and cardiovascular diseases. To address this dichotomy, we investigated the effect of leptin – the same concentration that is frequently measured in obese people and induces cardiac hypertrophy – on murine hearts following ischemia-reperfusion. Moreover, we evaluated the heart's performance, hypertrophy, and activation of apoptosis. **Methods:** Rat hearts were perfused continuously with or without 3.1 nM leptin for 1 h before and 1 h after an episode of ischemia. Cardiac performance was evaluated, homogenates and mitochondria were prepared for western blot analysis of cardiac actin, leptin receptor, STAT3, pSTAT3, as well as apoptosis-related proteins Bax, Bcl-2, cytochrome c, and caspase 3. **Results:** Leptin worsened heart recovery after ischemia. Although no hypertrophic response was observed, leptin induced the migration of Bax to the mitochondria and the release of cytochrome c into the cytosol, important events in the intrinsic/mitochondrial apoptosis. **Conclusions:** Our results indicate that the presence of leptin for 1 h before and after the ischemic insult reduces heart recovery and amplifies apoptotic signaling through the mitochondrial pathway.