



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

EXPRESIÓN PROTEICA DE UCP's EN TEJIDO ADIPOSO DE LAS REGIONES

EPICÁRDICA Y MEDIASTINAL EN PACIENTES MEXICANOS CON

ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA

TESINA EXPERIMENTAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRESENTA:

GLORIA HERNÁNDEZ ÁLVAREZ

TUTOR

DRA. CLAUDIA HUESCA GÓMEZ



CIUDAD DE MEXICO

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente	Dr. Óscar Armando Pérez Méndez.
Vocal	Dra. Claudia Huesca Gómez.
Secretario	Dra. Barbara Itzel Peña Espinoza.
1er. Suplente	Dra. Martha Alicia Menjívar Iraheta.
2do. Suplente	EBC. Virginia Martínez Bezies.

Trabajo realizado en INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”
Departamento de Fisiología.

Tutor:

Dra. Claudia Huesca Gómez
Investigador en Ciencias Médicas “C”

Sustentante:

Q.F.B. Gloria Hernández Álvarez

ESTE TRABAJO FUE APOYADO EN SU TOTALIDAD POR EL CONACYT CB-2012-01.
NÚMERO DE PROYECTO 179967

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Claudia Huesca Gómez quien dirigió mi tesina, por sus consejos que me guiaron en cada etapa de este proyecto, por transmitirme sus conocimientos y experiencia con gran paciencia, dedicación y comprensión. Es un ejemplo de fortaleza humana.

Al Dr. Ricardo Gamboa Ávila por su gran apoyo académico y moral, siempre alentándome a cumplir mis objetivos y resolviendo todas mis dudas.

Al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” por proporcionar los recursos técnicos necesarios para la realización de esta tesina.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haber participado en mi formación académica durante esta etapa de mi vida profesional.

DEDICATORIA

A mi madre, que siempre estuvo a mi lado, creyó en mí y me apoyó en mis proyectos. No habría llegado hasta aquí de no ser por su amor y comprensión, fue un motor en todos mis logros.

A la Dra. Rosario Dehesa Terán, que me brindó sus conocimientos, apoyo constante y ejemplo, ayudando a mi superación personal y profesional, con el único fin de servir a mis semejantes.

A mis hermanos Laura y Bernardo, y a mis pequeñas Brenda, Esmeralda y Esperanza, que ante las adversidades han estado conmigo y no me permiten desistir de mis objetivos, son mi fuerza.

A Greta, Vane, Gladys, Lulú, Mine, Brenda, Emma, Rosy y Marce que aguantaron todos y cada uno de los momentos de desánimo que sentí, nunca dejaron de ser positivas y de alentarme.

ÍNDICE

Contenido

INDICE DE ABREVIATURAS.....	8
1 RESUMEN.....	10
2 INTRODUCCIÓN.....	11
2.1 Enfermedad arterial coronaria (EAC).....	11
2.1.1 Aterosclerosis.....	11
2.1.2 Lesión aterosclerótica.....	12
2.2 Factores de riesgo de EAC.....	13
2.2.1 Tabaquismo.....	14
2.2.2 Alcoholismo.....	15
2.2.3 Hipertensión arterial.....	15
2.2.4 Diabetes mellitus.....	16
2.2.5 Dislipidemias.....	17
2.2.6 Obesidad.....	18
2.3 Tejido adiposo.....	19
2.3.1 Tejido adiposo blanco.....	20
2.3.2 Tejido adiposo pardo.....	21
2.3.3 Tejido adiposo epicárdico.....	22
2.3.4 Tejido adiposo mediastinal.....	23
2.4 Termogénesis.....	24
2.5 Proteínas desacoplantes (UCPs).....	25
3.5.1 Proteína desacoplante 1 (UCP 1)	26
3.5.2 Proteína desacoplante 2 (UCP 2)	27
3.5.3 Proteína desacoplante 3 (UCP 3)	28
3 JUSTIFICACIÓN.....	30

4	HIPÓTESIS.....	30
5	OBJETIVOS.....	30
4.1	Objetivo general.....	30
4.2	Objetivos particulares.....	31
6	METODOLOGIA.....	32
6.1	Tipo de estudio.....	32
6.2	Diseño experimental	32
6.2.1	Grupo EAC.....	32
6.2.2	Grupo Control.....	33
6.3	Somatometría.....	33
6.4	Toma de muestra.....	34
6.5	Determinación de glucosa y perfil de lípidos.....	34
6.5	Obtención de tejidos adiposo epicárdico y subcutáneo.....	34
6.6	Expresión de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en TAE y TAM.....	35
6.7	Análisis estadístico.....	35
7	RESULTADOS.....	37
7.1	Características clínicas de la población por grupo de estudio.....	37
7.2	Expresión proteica de cada UCP por tejido entre grupos.....	38
8	DISCUSIÓN.....	40
9	CONCLUSIÓN.....	46
10	REFERENCIAS.....	47
11	APÉNDICES.....	58

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADP: Adenosina difosfato	LDLox: Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
AHA: Asociación Americana del corazón	LPL: Lipoproteína lipasa
ARNm: Ácido ribonucleico mensajero	lpm: Latidos por minuto
ATP: Adenosina trifosfato	mmHg: Milímetros de mercurio
ATP III: Panel de Tratamiento para Adultos III	OMS: Organización Mundial de la Salud
Col total: Colesterol total	ON: Óxido nítrico
CML: Células de músculo liso	PAI: Inhibidor del activador tisular del plasminógeno
DM: Diabetes mellitus	PCR: Proteína C Reactiva
EAC: Enfermedad arterial coronaria	PET: Tomografía de emisión de positrones
ECV: Enfermedad cardiovascular	PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas
FC: Frecuencia cardíaca	ROS: Especies reactivas de oxígeno
FDA: Administración de alimentos y medicamentos	rpm: Respiraciones por minuto
FR: Frecuencia respiratoria	SEEDO: Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
GDP: Guanosina difosfato	SLC: Familia transportadora de solutos
GTP: Guanosina trifosfato	TA: Tejido adiposo
HAS: Hipertensión arterial sistémica	TAB: Tejido adiposo blanco
HDL: Lipoproteínas de alta densidad	TAD: Tensión arterial diastólica
HTP: Hipertensión pulmonar	TAE: Tejido adiposo epicárdico
IAM: Infarto agudo al miocardio	TAM: Tejido adiposo mediastinal
ICAM: moléculas de adhesión intracelular	TAP: Tejido adiposo pardo
IL: Interleucina	TAPV: Tejido adiposo perivascular
IMC: Índice de masa corporal	TAS: Tensión arterial sistólica
Kb: Kilobases	TAV: Tejido adiposo visceral
KDa: Kilodaltons	
LDL: Lipoproteínas de baja densidad	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

TFPI: Inhibidor de la vía del factor tisular

Tg: Triglicéridos

TNF: Factor de necrosis tumoral

UA: Unidades arbitrarias

UCP 1: Proteína desacoplante 1

UCP 2: Proteína desacoplante 2

UCP 3: Proteína desacoplante 3

RESUMEN

La enfermedad arterial coronaria (EAC) representa la primera causa de muerte a nivel mundial por enfermedades cardiovasculares. Estudios recientes demostraron la participación de las proteínas desacoplantes (UCPs por sus siglas en inglés) con factores de riesgo de EAC como son las dislipidemias, la obesidad, la diabetes y la hipertensión arterial, los cuales se ven incrementados por el consumo de alcohol y tabaco. Las UCPs juegan un papel importante en la termorregulación y mantenimiento de la tasa metabólica basal, participando en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, regulando la síntesis de ATP y disipando la energía normalmente usada en estos procesos en forma de calor, en vez de almacenarla en forma de grasa. **Objetivo:** Determinar los niveles de expresión proteica de las UCPs y su relación con EAC y factores de riesgo asociados con ella. **Método:** Se analizaron 166 individuos en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, de los cuales 60 fueron pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria (grupo EAC) y 106 fueron pacientes sometidos a cirugía de reemplazo valvular (grupo Control). En ambos grupos se cuantificaron los niveles de expresión proteica de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el tejido adiposo epicárdico y mediastinal, por inmunoelectrotransferencia (Western Blot) y se relacionaron sus datos clínicos y somatométricos. **Resultados:** Los pacientes con EAC presentaron un incremento de la expresión proteica de UCP 1 en el tejido adiposo epicárdico y de UCP 2 el tejido adiposo mediastinal, en comparación al grupo control. **Conclusión:** Dichos incrementos sugieren un papel protector de ambas proteínas contra el daño oxidativo mitocondrial para la disminución de ROS, en pacientes con EAC, como un mecanismo de retroalimentación para reestablecer el equilibrio redox.

Introducción

Enfermedad Arterial Coronaria.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un conjunto de trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos, representan “la principal causa de muerte mundial, con 17.7 millones de defunciones en el 2015” según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017). “Una de las enfermedades cardiovasculares más comunes es la enfermedad arterial coronaria (EAC), que ocupa el primer lugar de mortalidad en México”, según la Secretaría de Salud (SSA 2022).

“La principal causa de EAC es la obstrucción parcial o total del flujo sanguíneo en las arterias coronarias, debido a su estrechamiento provocado por la aterosclerosis. Puede presentar periodos largos y estables, pero también puede desestabilizarse repentinamente, a raíz de un evento aterotrombótico agudo, causado por erosión o ruptura de la placa vulnerable”, comprometiendo el flujo y causando isquemia al miocardio (Barbaguelata, 2022, p.419).

Aterosclerosis

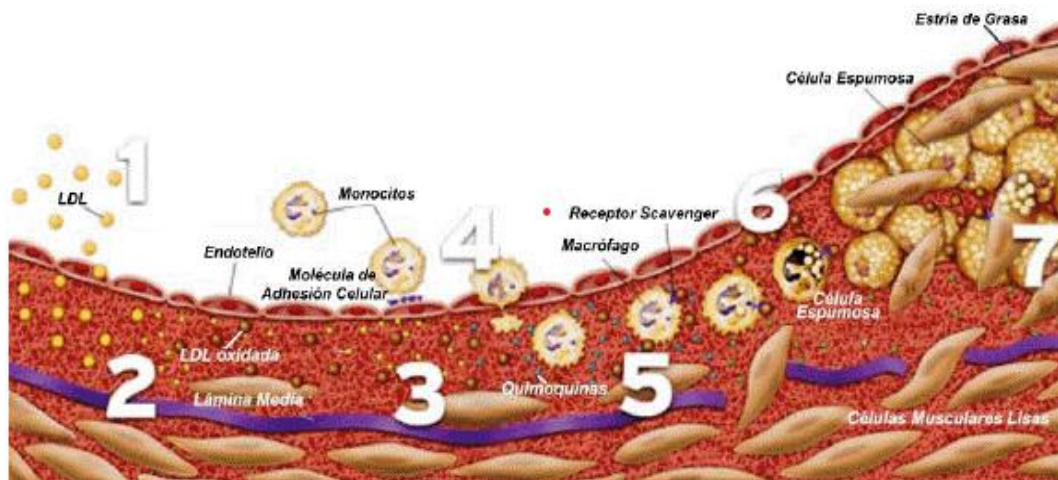
“La aterosclerosis se refiere al engrosamiento y endurecimiento de las arterias de mediano y gran calibre. Es un proceso inflamatorio y crónico que inicia desde la infancia y se desarrolla a lo largo de los años, es asintomática la mayor parte del tiempo; se distingue por la retención, oxidación y modificación de lípidos en forma de estrías grasas en las paredes de las arterias, que posteriormente evolucionan a placas fibrosas que producen engrosamiento, disminuyendo su luz de manera crónica, aunque sí estas placas se rompen, causan trombosis y oclusión aguda parcial o total de la arteria afectada” (Sarre, 2018, p.912-3). Es la causa de la mayor parte de las ECV, incluida la EAC y otras complicaciones de tipo vascular (enfermedad cerebrovascular, enfermedad arterial periférica y aterosclerosis aórtica) (Sarre, 2018, p.91 2).

Lesión Aterosclerótica.

“La hipótesis más aceptada es que la aterogénesis se desarrolla por lesión de células endoteliales en la íntima vascular”. Cuando se produce un daño a nivel endotelial inducido por diversos factores como tabaquismo, hipertensión arterial, dieta alta en grasas y/o azúcares, se favorece la retención de lípidos y células inflamatorias, como monocitos, en la pared arterial (Castro, 2021, p.2). “La alteración de la función del endotelio vascular conduce a un incremento en la expresión de moléculas de adhesión de superficie, por ejemplo, las moléculas de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), presenta un aumento de la permeabilidad al colesterol y de la adherencia de leucocitos (principalmente monocitos) al endotelio; lo que incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que, a su vez, oxidan a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la íntima de la arteria. En respuesta a ello, los monocitos circulantes se introducen, se diferencian a macrófagos que fagocitan las LDL oxidadas (LDLox), transformándose lentamente en células espumosas, que junto a los linfocitos T infiltrados forman la lesión aterosclerótica inicial. Las células del músculo liso (CML) de la túnica media proliferan y migran a dicha lesión, en respuesta al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) producido por las células endoteliales. Posteriormente, la lesión se convierte en una placa fibrolipídica, que conforme las CML sintetizan colágeno, formarán una gruesa cápsula protectora de tejido conjuntivo fibroso (que encierra el núcleo de lípidos crecientes), en el que están dispersos macrófagos, células espumosas, linfocitos T, cristales de colesterol, CML y detritus celulares, denominada placa ateromatosa. Progresivamente, se degrada la matriz con la acumulación de tejido necrótico, llevando a apoptosis y pérdida de la integridad del endotelio, que conduce a una ruptura de la placa, con la posterior unión y formación de un trombo”, conduciendo a la oclusión del lumen (López, 2020, p.84) (Figura 1).

Figura 1

Representación gráfica de las etapas de establecimiento de la placa aterosclerótica.



Nota: 1 y 2 Entrada de lipoproteínas hacia el subendotelio y posterior modificación. 3 y 4: Liberación de factores de crecimiento y citoquinas que promueven la diapédesis de monocitos adicionales hacia la íntima. 5: La diferenciación a macrófagos. 6: Formación de células espumosas 7: establecimiento de estría grasa. Adaptado de “Atherosclerotic vascular disease conference” (p.1) por Faxon, 2004, Circulation 109 (21).

Factores de Riesgo para la EAC.

Varias pruebas epidemiológicas prospectivas muestran diversos factores de riesgo para EAC, agrupándolos en modificables o no modificables, que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Factores de riesgo asociados al desarrollo de Enfermedades cardiovasculares (ECV).

MODIFICABLES	
MAYOR RIESGO	MENOR RIESGO
• Hipertensión arterial sistémica	• Sobrepeso y obesidad
• Tabaquismo	• Sedentarismo
• Dislipidemia	• Dieta aterogénica
• Diabetes mellitus u otra ECV	• Alcoholismo
• Tasa de Filtrado Glomerular < 60 ml/min	• Estrés

NO MODIFICABLES	
MAYOR RIESGO	MENOR RIESGO
<ul style="list-style-type: none"> • Antecedente familiar prematuro de ECV (hombres < 55 años y mujer < 65 años) • Edad (hombres > 55 años y mujer > 65 años) • Sexo masculino 	<ul style="list-style-type: none"> • Antecedente familiar tardío de ECV (hombres > 55 años y mujer > 65 años)

Nota: Tomado de *Cardiovascular risk factors in young Mexican adults* (p.429) por Almazán 2020. Archivos de Cardiología de México.

Se han asociado múltiples factores de riesgo con la prevalencia de EAC, reconocidos como los principales desencadenantes del desarrollo y la progresión de la aterosclerosis, en concreto: obesidad, diabetes, dislipidemias, hipertensión arterial sistémica (HAS), tabaquismo y alcoholismo. Sin embargo, cada vez es más notable la compleja interacción que existe entre estos factores, los cuales cubren rubros de estilo de vida, características fisiológicas, bioquímicas y personales (Lechner, 2019). Cuanto mayor sea la cantidad de ellos presente, mayor será la probabilidad para tener eventos cardiovasculares.

Tabaquismo

“La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) estima que las enfermedades cardiovasculares causan 800 mil muertes y 400 mil muertes prematuras al año. Alrededor de una quinta parte y un tercio de éstas son resultado del tabaquismo” (Brown 2023). Un meta-análisis reveló que “fumar tiene un riesgo 51 % mayor de cardiopatía coronaria en pacientes con diabetes” (Pan, 2015, p.1800). Otro meta-análisis indicó que “fumar aumenta al doble el riesgo de enfermedad cardiovascular para fumadores actuales y aumenta el 37% para los exfumadores, esto en pacientes mayores a 60 años” (Mons, 2015, p.8). “Los no fumadores expuestos regularmente tienen un riesgo de 25 a 30 % mayor en comparación a los no expuestos” (Japuntich 2015, como se citó en Brown, 2023).

Alcoholismo

Actualmente, un estudio observacional confirmó que “el consumo excesivo de alcohol (mayor a 60 g/día en hombres y a 40 g/día en mujeres) contribuía para aumentar la mortalidad por EAC, mientras otro estudio lo asoció beneficiosamente al consumo bajo a moderado (hasta 60 g/día en hombres y 40 g/día en mujeres)” (Fernández, 2015, como se citó en Hoek, 2022, p.51). Esto resulta en “un perfil de riesgo bifásico característico, en forma de J” (Wood, 2018, p.1580) donde “un consumo bajo a moderado de alcohol representa un riesgo menor EAC en comparación con la abstinencia o el exceso” (Hoek, 2022, p.51). Otro estudio demostró que “un consumo bajo a moderado del alcohol afecta positivamente la sensibilidad a la insulina, protegiendo contra la diabetes mellitus y EAC” (Koppes, 2006, como se citó en Patel, 2023, p.2).

Hipertensión Arterial Sistémica.

La hipertensión arterial sistémica (HAS) es la “principal causa de muerte mundial, con 10.8 millones de defunciones en el 2019. En México, la prevalencia de HAS en adultos mayores de 20 años fue del 29.4 % (27.7 % en mujeres y 31.3 % en hombres)” según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2022 (Campos, 2023, p.170). La HAS es un padecimiento multifactorial que se caracteriza por un “incremento continuo en las cifras de la presión sanguínea arterial sistólica o diastólica, por encima de 130 y 80 mmHg respectivamente” según el Colegio Americano de Cardiología (Campos, 2023, p.170).

“La HAS es el principal factor de riesgo para EAC ya que aumenta la tensión de las arterias, pudiendo convertir estímulos mecánicos en intracelulares o señales bioquímicas de la pared vascular. Está relacionada con diversos factores, como son los radicales libres, la formación de mediadores inflamatorios, el flujo sanguíneo capilar deteriorado y la inactivación

de óxido nítrico (ON); la interacción de estos factores causa la disfunción endotelial asociada con la aterosclerosis” (Konukoglu, 2017, como se citó en Fithra, 2021, p.454).

“Una reducción en la presión arterial sistólica a una meta de 130 mmHg se asoció con una menor incidencia de EAC”. Asimismo “una reducción en la presión arterial sistólica y diastólica de 20 y 10 mmHg respectivamente, disminuyeron el riesgo de muerte por EAC en aproximadamente un 50 % en pacientes entre los 40-49 años y en aproximadamente un tercio entre los de 80-89 años” (Brown 2023).

Diabetes Mellitus.

La diabetes mellitus (DM) es un “conjunto de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, producto de defectos en la producción, secreción y/o acción de la insulina. Se subclasifican en DM tipo 1, DM tipo 2, DM gestacional y otros tipos específicos” (Alemán, 2018, p.44). “La DM tipo 2 conduce a una disfunción endotelial, por formación de productos finales glicosilados, acumulación intraendotelial de glucosa y aumento de estrés oxidativo; mientras que la disfunción endotelial agrava la DM tipo 2 al deteriorar el acceso de glucosa e insulina al tejido blanco” (Alemán, 2018, p.44). Un meta-análisis de 102 estudios prospectivos demostró que “la DM tipo 2 duplicó el riesgo de EAC, ataque cerebrovascular isquémico y muerte por enfermedad vascular, siendo mayor en mujeres que en hombres y en edades más tempranas, independientemente de otros factores de riesgo” (Sawar, 2010, p.2215).

“La evolución de la enfermedad, el mal control glucémico y la presencia de complicaciones microvasculares (como enfermedad renal o proteinuria) aumentan los riesgos relativo y absoluto de eventos cardiovasculares. Aún con glucemias por debajo del umbral para el diagnóstico de DM, existe riesgo de EAC, el cual aumenta con la concentración de glucosa” (Guamán, 2021, p.8).

Dislipidemias.

Las dislipidemias son consideradas el segundo factor de riesgo más común para EAC, siendo “aterogénica la que se caracteriza por el incremento de triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (cLDL), con descenso del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y presentar hiperlipidemia posprandial, responsables del desarrollo y progresión aterosclerótica” (Bordeianu, 2019, p.2).

La Tabla 2 muestra los valores normales y de riesgo de los lípidos plasmáticos, según el Panel de tratamiento para adultos III (ATP III, 2002).

Tabla 2.

Valores de referencia de lípidos considerados normales y de riesgo.

	Col. total (mg/dL)	cHDL (mg/dL)	cLDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)
Deseable	< 200	Bajo (H) < 40	Óptimo < 100	Normal < 150
Normal alto	200-239	Bajo (M) < 50	Normal 100-129	Normal alto 150-199
Alto	> 240	Alto (M) > 60	Normal alto 130-159	Alto 200-499
			Alto 160-189	Muy alto > 500
			Muy alto > 190	

Nota: Col. Total: Colesterol total; cHDL, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad; cLDL: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad.

Un reciente estudio transversal que utilizó el Índice de calcio arterial coronario como predictor de EAC, indicó “una prevalencia mayor del 55 %, 41 % y 20 % de hipercolesterolemia, hiperlipidemia mixta y cHDL bajo respectivamente” (Abd, 2018, p.1). “Los triglicéridos elevados han sido implicados en la EAC, sin embargo, la relación es más complicada ya que la asociación se atenúa cuando se ajusta por otros factores de riesgo tales como la adiposidad central, la resistencia a la insulina y la mala alimentación. Por lo tanto, es difícil determinar un efecto aislado de los triglicéridos en la EAC” (Brown 2023).

Diversos estudios confirman el papel predictor y la relación causal entre la hipercolesterolemia y la EAC. Basados en el estudio Framingham, “el 80% de los casos de infarto agudo al miocardio (IAM) se produjeron en individuos cuyo colesterol total era mayor a 200 mg/dL” (Castelli, 1986). Posteriormente, el estudio PROCAM (Prospective cardiovascular Munster Study) de Alemania, mostró una relación directamente proporcional entre la muerte por daño cardiovascular con un nivel elevado de cLDL e inversamente proporcional con un cHDL bajo (Assman 1998, p.1).

Obesidad.

La obesidad es la “acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo en relación con el peso, usualmente acompañada de inflamación sistémica crónica leve” (Kaufer 2022, p.148). En México, “la prevalencia en adultos mayores de 20 años en obesidad fue del 36.9 % y de sobrepeso del 38.3 %, donde la posibilidad de tener obesidad es 45 % mayor en mujeres que en hombres” según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2022 (Campos 2023, p.242).

“Las principales características asociadas con el exceso de tejido adiposo y la acumulación de grasa ectópica incluyen: resistencia a la insulina, dislipidemia aterogénica, HAS, disminución de la fibrinólisis con aumento de riesgo de trombosis e inflamación endotelial” (Bryce, 2017, p.203). Un estudio reciente indicó que “los pacientes obesos tenían el doble de probabilidad de EAC, después de ajustar por datos demográficos, tabaquismo, actividad física y consumo de alcohol” (Ndumele, 2016. p.3).

El parámetro más usado para su diagnóstico es el índice de masa corporal (IMC) (Tabla 3), con buena reproducibilidad y fácil uso, pero “es ineficaz para distinguir entre masa libre de grasa (donde incluimos la masa muscular y el hueso) y la masa grasa, y tampoco la distribución

de ésta, considerando que el tejido adiposo tiene una mayor influencia en el riesgo cardiometabólico, especialmente en el entorno visceral” (Suárez 2018, p.131).

Tabla 3

Clasificación Internacional según el IMC (kg/m²) para adultos.

OMS 2000	SEEDO 2007	AHA 2009
Bajo peso < 18.5	Bajo peso < 18.5	Bajo peso < 18.5
Normopeso:18.5-24.9	Normopeso:18.5-24.9	Peso normal o aceptable: 18.5-24.9
Sobrepeso:25-29.9	Sobrepeso grado 1: 25-26.9	Sobrepeso:25-29.9
	Sobrepeso grado 2: 27-29.9	
Obesidad grado 1: 30-34.9	Obesidad tipo 1: 30-34.9	Obesidad grado 1: 30-34.9
Obesidad grado 2: 35-39.9	Obesidad tipo 2: 35-39.9	Obesidad grado 2: 35-39.9
Obesidad grado 3: ≥ 40	Obesidad mórbida o tipo 3: 40-49.9	Obesidad grado 3: 40-49.9
	Obesidad extrema o tipo 4: ≥ 50	Obesidad grado 4: 50-59.9
		Obesidad grado 5: ≥ 60

Nota: IMC: índice de masa corporal; OMS: Organización Mundial de la Salud; SEEDO: Sociedad Española para el estudio de la Obesidad; AHA: Asociación Americana del Corazón. Tomado de *Índice de masa corporal: ventajas y desventajas de su uso en obesidad* (p.129), por W. Suárez, 2018. Nutrición clínica de México.

“El principal motor de la obesidad es un estado de balance de energía positivo, es decir, un estado donde la energía que ingresa al organismo supera al gasto, resultado de un aumento en el consumo de alimentos, una disminución en el gasto de energía (generalmente por escasa actividad física) o ambos. Esta ecuación simple es un fenómeno complejo por una interacción de una multiplicidad de factores, entre ellos, conductuales, ambientales, fisiológicos, genéticos y sociales” (Kaufer 2022, p.154).

Tejido Adiposo.

El tejido adiposo (TA) es “una variedad especializada de tejido conjuntivo, encargado de almacenar lípidos como fuente de energía química”; del cual “el 60-70 % está formado por adipocitos (unidad funcional). “El resto del tejido está constituido por células sanguíneas,

endoteliales, macrófagos, pericitos y precursores de adipocitos en distintos grados de diferenciación, ya sean fibroblastos como precursores primarios y preadipocitos que son células intersticiales vacías de lípidos prontas a transformarse en adipocitos” (Escobar, 2022, p.4).

Existen dos tipos de TA: el blanco (TAB) y el pardo (TAP) de acuerdo con el tipo de adipocito predominante. Existe un tercer tipo, el beige, encontrado en el TAB en cantidades menores.

Tejido Adiposo Blanco.

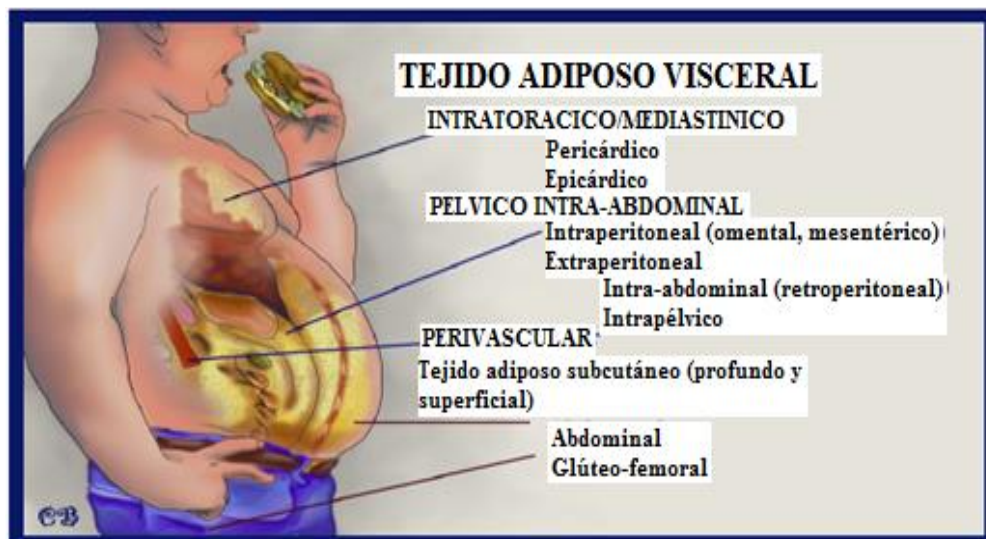
“El tejido adiposo blanco (TAB) está menos vascularizado e innervado, su célula tiene un tamaño de 20 a 200 μm , y contiene una sola vacuola lipídica (unilocular), donde almacena lípidos, de los cuales el 90-99 % son triglicéridos” (Frigolet, 2020, p.144). “Es el depósito más abundante de energía corporal, sirve de protección y aislante mecánico. Los adipocitos maduros del TAB se ven implicados en la síntesis de triglicéridos (Tg), la captación de glucosa y la lipólisis; de tal forma que, cuando existe un exceso de energía, se produce acumulación de glucosa en forma de Tg, estimulando la lipogénesis. En cambio, en una situación de escasez energética o de incremento del gasto, tiene la capacidad de movilizar los depósitos de lípidos, gracias a la acción de la Lipoproteína lipasa (LPL), que hidroliza los Tg liberando ácidos grasos, los cuales son llevados a los tejidos y oxidados para la obtención de energía. El TAB es muy sensible a la insulina (implicado en la regulación de glucosa), debido a que estimula la captación de glucosa en los adipocitos y favorece el aumento de las reservas de lípidos, por la síntesis de Tg y disminución de la lipólisis” (Hernández, 2021, p.2-3).

“Existen dos grupos principales de TAB: Tejido adiposo subcutáneo (TAS) y Tejido adiposo visceral (TAV). El TAS se encuentra bajo la piel, en la hipodermis, se divide en superficial y profundo. El TAV rodea los órganos internos de la cavidad mediastinal y abdominal pélvica, se divide en: TA intraperitoneal (omental y mesentérico) y TA extraperitoneal

(retroperitoneal e intrapélvico). El TAV incluye también pequeñas cantidades de grasa en mediastino (pericárdico), alrededor del corazón (epicárdico), el estómago (epigástrico) y los vasos sanguíneos (perivascular)”, mostrados en la Figura 2 (Bambace 2012, p13).

FIGURA 2

Tipos de tejido adiposo y su localización anatómica.



Nota: Tomado de *Characterization of epicardial adipose tissue and miocardial fat infiltration in humans* (p.14), por Bambace, 2012.

Tejido Adiposo Pardo.

“El Tejido Adiposo Pardo (TAP) es más vascularizado, con un gran contenido de mitocondrias, las cuales poseen citocromos, que son las responsables del color. Sus células contienen varias vacuolas lipídicas (multiloculares), con una forma poligonal y miden de 15 a 50 μm . Su función no es almacenar energía, sino disiparla mediante la termogénesis. Para lograr la regulación de la temperatura corporal, se localiza en sitios superficiales (regiones interescapulares, cervicales y axilares) y profundos (perirrenales, periaórtico, inguinal y

pericárdico). En humanos, las regiones interescapulares, axilares y cervicales adquieren especial importancia “(Frigolet 2020, p.147).

“Hasta hace menos de 10 años, el TAP era considerado biológicamente activo sólo en neonatos y niños jóvenes, para generar calor durante su exposición al frío (por termogénesis adaptativa); sin embargo, reaparecía durante el crecimiento transformado en TAB, por lo que carecía de importancia en el metabolismo energético”. Recientemente, “mediante la Tomografía de Emisión de Positrones (PET), se redescubrió TAP metabólicamente activo en adultos humanos localizado en: El tejido adiposo perivascular (TAPV), ubicado alrededor de la aorta, arteria carotídea común y arteria braquiocefálica; en mediastino anterior (paracárdico) y alrededor de la arteria coronaria epicárdica y venas cardíacas incluyendo la mamaria interna y ramas arteriales intercostales para la subclavia y la aorta” (Yeung, 2003, Van Marken, 2009 como se citaron en Sacks 2013, p.1783). Además, “su presencia se correlacionó inversamente con el IMC y la sensibilidad a la insulina” en pacientes con $IMC \geq 40$ kg/m², siendo un probable blanco terapéutico para la obesidad y DM (Herz, 2022, p.96-97)

Tejido Adiposo Epicárdico.

“El tejido adiposo epicárdico (TAE) es una grasa perivisceral que rodea a las arterias coronarias y el corazón; contacta directamente con el miocardio subyacente” (Cano 2020, p.2). “En distintas condiciones, puede secretar factores pro y antiinflamatorios, por ejemplo, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la interleucina 6 (IL 6), adiponectina y leptina, de forma endocrina o paracrina. Evidencia muestra que el TAE está involucrado en la regulación local de la función coronaria y miocárdica, modulando la liberación y absorción de ácidos grasos libres y, por lo tanto, la homeostasis de energía. Por lo anterior, juega un rol importante en la EAC al hacer eficiente la utilización de glucosa por el miocardio” (Wang 2022, p.1).

Se ha evaluado la relación entre el TAE y los factores de riesgo cardiovascular, encontrándose “una asociación significativa entre el aumento del TAE y la prevalencia del síndrome metabólico, así como con cada uno de sus componentes. Se estima que su medición podría aportar una información más certera que la obtenida con otras variables utilizadas para la cuantificación del TA, como es el perímetro de cintura o el IMC, ya que estos parámetros no distinguen entre tejido adiposo visceral y subcutáneo” (Creta 2022, p.305).

“Gran cantidad de Proteína desacoplante 1 (UCP 1) se expresa en el TAE de humanos adultos”, confirmando así su función protectora frente a la hipotermia severa, que propicia arritmias y efectos parácrinos en la función cardiovascular, o a la elevación de ácidos grasos libres en la circulación coronaria por hipertrigliceridemia, pues “los niveles de cHDL se han correlacionado positivamente y de triglicéridos negativamente, con la expresión de UCP 1”, indicando que el TAP es metabólicamente activo en el TAE (Chechi 2017, p.1).

Tejido Adiposo Mediastinal.

“El tejido adiposo mediastinal (TAM) está situado dentro del mediastino, junto al tórax, pero fuera del pericardio que rodea al corazón; representa 70% del total de grasa intratorácica” (Cheung 2013, p.1). La acumulación de grasa en las regiones epicárdica y mediastinal está asociada con un número de marcadores de riesgo cardiometabólico, sin embargo, estas relaciones difieren entre los depósitos. Por ejemplo, en un trabajo, “el TAM más no el TAE fue asociado positivamente e independiente con los niveles de triglicéridos y Proteína C Reactiva (PCR)” (Tandros 2010, p.1039). Un estudio confirmó que el “TAM en adultos humanos muestra algunas características de TAP, comparado con los depósitos subcutáneos a nivel microscópico y molecular” (Cheung 2013, p.1). Otro estudio reveló que “el TAM tiene también una presencia

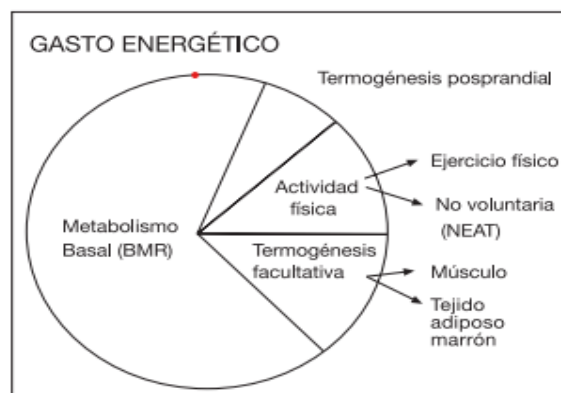
variable pero detectable de UCP 1, expresándose en mayor cantidad en el TAM que en el TAE” (Chechi 2017, p.2).

Termogénesis

“Los animales homeotermos mantienen constante su temperatura corporal frente a las variaciones del medio ambiente mediante la producción de calor, fenómeno denominado termogénesis termorreguladora”, la cual es función fisiológica del TAP. “El gasto energético de un individuo tiene varios componentes, con una parte obligatoria y otra variable (Figura 3), ambas reguladas por diversos efectores hormonales. La termogénesis facultativa es el calor producido en respuesta a la exposición al frío o una dieta hipercalórica, siendo regulada por centros hipotalámicos y las hormonas tiroideas. En el humano, puede residir en el músculo (titiritante) y en el TAP (no titiritante) localizado entre el TAB” (Obregón 2007, p.29-30).

Figura 3

Componentes del gasto energético.



NOTA: Los componentes son: termogénesis obligatoria, termogénesis asociada a dieta, termogénesis asociada a actividad física y termogénesis facultativa. Adaptado de “*Obesidad termogénesis y hormonas tiroideas*” (p.29) por Obregón, 2007, Revista Española de Obesidad Vol. 5 (1).

“Se ha evidenciado que el TAP contribuye significativamente en la termogénesis no titiritante, al utilizar ácidos grasos y glucosa como sustratos para producir calor, función

termogénica que depende de la presencia de las Proteínas desacoplantes, que disipan la cadena de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa, producida por la oxidación de sustratos como la glucosa, los ácidos grasos o algunos aminoácidos para generar calor en lugar de adenosín trifosfato (ATP)” (Vargas 2021, p.804).

Proteínas Desacoplantes

“Las proteínas desacoplantes (UCPs) mitocondriales son parte de la familia de transportadores de solutos mitocondriales (SLC25), concentrados en la membrana interna mitocondrial, que se encargan de transportar protones desde del espacio intermembrana a la matriz. Además, algunas UCPs también participan en el transporte de aniones de ácidos grasos y catalizan el transporte de protones por ciclación de ácidos grasos a través de la membrana” (Kumar 2022, p.1).

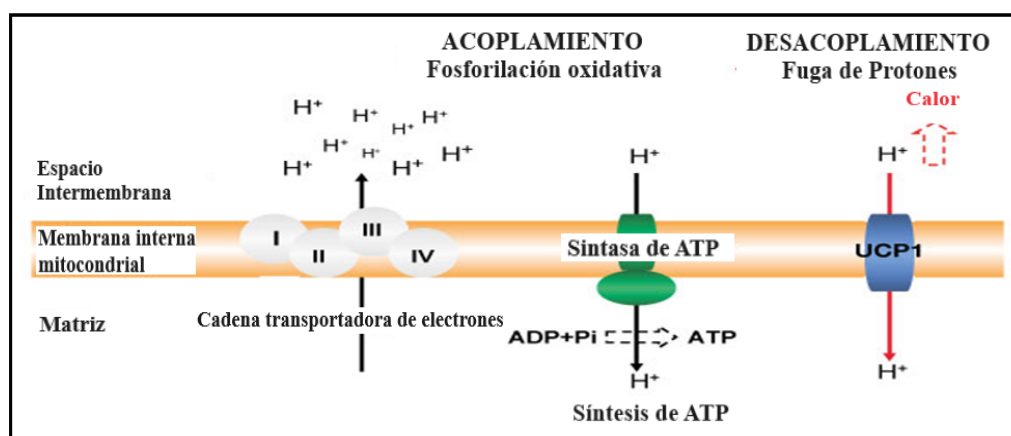
“Están constituidas por tres dominios de repetición (con una secuencia de 100 aminoácidos cada uno), compuestas por dos regiones de α hélice. Las regiones carboxi y amino-terminal están en el espacio intermembrana mientras que las regiones α hélice están unidas por bucles largos que residen del lado de la matriz mitocondrial. Actualmente se conocen 6 homólogos de UCPs en mamíferos (UCP 1 a 6)”, con diferente distribución tisular, pero similitud en su estructura (Monteiro 2021, p.3).

“La importancia de las UCPs se basa en el desacople de la fosforilación oxidativa, como lo hace UCP 1 (Figura 4), que activa el consumo de energía. Actualmente hay mayor interés en UCP 2 y UCP 3, pues su desacople no es esencial para controlar el balance energético, pero al ser homólogas a UCP 1, se expresan en tejidos importantes para el gasto energético, como son el músculo esquelético, hígado y el TAP” (Zanovich 2005, p.164). “Las UCPs tienen una influencia significativa en la bioenergética mitocondrial, la termogénesis y control de la producción de

ROS, que son procesos clave que se deterioran progresivamente con la aparición de trastornos metabólicos (incluidas obesidad y DM), donde la ingesta positiva, prolongada y persistente de energía conduce a una hiperglicemia crónica y resistencia a la insulina” (Monteiro 2021, p.9). Su función puede ser desregulada, contribuyendo a patogénesis asociadas a la excesiva producción de ROS, como los desórdenes metabólicos (DM y obesidad), neurodegenerativos (Alzheimer-Parkinson) y cardiovasculares (ateroesclerosis) (Kumart 2022, p.2; Cárdenas 2021, p.941).

Figura 4

Función de UCP 1.



Nota: Durante la respiración, los protones son bombeados a través de los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial (números I-IV), generando un gradiente de protones, cuya energía conlleva a la síntesis de ATP por la ATP-sintasa. La UCP1 cataliza una reentrada regulada de protones dentro de la matriz, desacoplando la cadena respiratoria, reduciendo la síntesis de ATP con la consecuente generación de calor. Adaptado de “*The role of the uncoupling protein 1 (UCP 1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus*” (p. 216), De Almeida, 2012, Arq. Bras. Endocrinol, Metab, 56 (4).

Proteína Desacoplante 1 (UCP 1).

La proteína desacoplante 1 (UCP 1), termogenina o SLC25A7, fue la primera identificada (Heaton, 1978); es una proteína dimérica de 32 KDa cuyo gen de 9 Kb se localiza en el brazo

largo del cromosoma 4 en q31.1. Se compone de 6 exones (cada uno codifica para una hélice transmembranal) y 5 intrones (De Almeida 2012, p.219). “Es inhibida por nucleósidos de purina di y tri-fosfatos (ADP, ATP, GDP, GTP). En respuesta al frío, ejercicio o excesiva ingesta calórica, los estímulos adrenérgicos disparan la lipólisis, generando ácidos grasos libres que la activan y que, a su vez, proporcionan combustible para la termogénesis mediante β -oxidación” (Rodríguez 2018, p.30). Reduce la generación de radicales libres protegiendo a la célula contra estrés oxidativo. “Constituye aproximadamente el 10% de las proteínas de membrana mitocondrial del adipocito pardo, en contraste con UCP 2 y UCP 3, cuyo contenido no excede el 0.1 %” (Pravednikova 2020, p.3 Monteiro, 2021, p.5).

Se ha reportado la expresión de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y/o proteína de UCP 1 en el TAP epicárdico (Chechi, 2017.p.1) y el músculo esquelético humanos “Varios estudios han sido ligados a la sobreexpresión de UCP 1 en músculo esquelético con una alta emisión energética, bajos niveles de glucosa, insulina, colesterol y adiposidad, por incremento del metabolismo de lípidos y el transporte de glucosa, mejorando así la respuesta a insulina” (Monteiro, 2021, p.10). “Debido a que disminuye el potencial de membrana e incrementa el gasto energético, es considerado gen candidato para diagnóstico de obesidad, DM 2 y/o enfermedades similares”, y su relación con ellas es de interés en investigación. Algunos estudios demuestran que sus variantes genéticas están asociadas a la obesidad, DM 2, IMC y el síndrome metabólico, pero en otros estudios no se encontró relación (De Almeida 2012, p.220-222).

Proteína Desacoplante 2 (UCP 2).

Tiene un tamaño de 8.4 Kb y se localiza en el cromosoma 11q13. Presenta 6 exones (que codifican los 308 aminoácidos que posee) y 2 más en el extremo 5' que no se traducen (Ricquier 2000, como se citó en Jezet, 2018, p.676). “Tiene similitud del 59 % con UCP 1 y 73 % con

UCP 3 humanas. Se localiza en TA, músculo esquelético, corazón, pulmón, páncreas, bazo, riñón, hígado, linfocitos y macrófagos” (Sheedhar 2017, p.2). “Es estimulada por ácidos grasos libres, ácido retinoico, lipopolisacáridos, anión superóxido, leptina y hormonas tiroideas. Su papel fisiológico se relaciona con el control de ROS mitocondriales, la fosforilación oxidativa y regulación de la síntesis de ATP, mantenimiento del potencial redox, control homeostático del calcio, apoptosis y muerte” (Stanzione 2022, p.663).

“Diversas condiciones fisiológicas y patológicas (dieta hiperlipídica, estrés, ejercicio, obesidad y DM) regulan su expresión y actividad. Es altamente expresada en células β pancreáticas, siendo un regulador negativo de insulina y de sensibilidad a la misma” (Sheedhar 2017, p.3 y 5). Su sobreexpresión en endotelio inhibe la apoptosis, mientras potencia la angiogénesis, a través de la disminución de ROS mitocondriales. Protege contra la EAC, pues su déficit incrementa la disfunción vascular y el daño orgánico en IAM isquémico, aterosclerosis y la HAS (Monteiro, 2021; Stanzione, 2022).

Proteína Desacoplante 3 (UCP 3).

En humanos, las UCP 2 y UCP 3 forman parte de un grupo en el cromosoma 11q13, una región sintética (genes en el mismo cromosoma, muy próximos entre sí, que comparten la región) (Jezet, 2018, p.676). “En humanos, este gen se expresa en dos variantes generadas por empalme alternativo, un transcrito codifica para la proteína larga (UCP 3L, de 312 aminoácidos), y el otro para la proteína corta (UCP 3S, de 275 aminoácidos) deficiente del sexto dominio transmembranal (Ricquer, 2000, p.175). “Comparte 73 % de identidad con UCP 2 y 57 % con UCP 1 en humanos. Se expresa predominantemente en musculo esquelético y, en menor grado, en piel, células β pancreáticas, TAP y corazón” (Monteiro 2021, p.6; Cárdenas, 2018, p.941). “Está regulada positivamente por los niveles de ROS, ácidos grasos y leptina; siendo inhibida

por nucleótidos de purina. Normalmente no es termogénica, pero puede serlo bajo condiciones específicas que incluyen estimulación con glucocorticoides, triyodotironina o exposición al frío. Es regulada por ayuno en humanos y ratones” (Monteiro 2021, p.6).

“La UCP 3 desempeña un rol activo en la regulación de producción de ROS y oxidación de ácidos grasos, que la hace candidata para comprender la fisiopatología de los trastornos metabólicos como obesidad y DM 2” (Monteiro 2021, p.11). “En humanos, la exposición a excesiva glucosa disminuyó la expresión de proteína UCP 3 en islotes aislados, mientras que su sobreexpresión, a diferencia de UCP 2, mejora la secreción de insulina estimulada por glucosa” (Li 2008, p.1). Estudios clínicos han informado “una menor expresión de UCP 3 en pacientes prediabéticos y diabéticos, en comparación con individuos sanos” (Monteiro 2021, p.11).

Tabla 4

Generalidades de las Proteínas desacoplates UCP 1, UCP 2 y UCP 3.

	UCP 1	UCP 2	UCP 3
Localización	4q28q31, 307 aa	11q13, 309 aa (59 %)	11q13, 312 aa (54-57 %)
Distribución	Tejido adiposo pardo y músculo esquelético.	Varios tejidos	Tejido adiposo pardo y músculo esquelético
Papel bioquímico	Transporte de protones. Exportación y desprotonación de ácidos grasos. Transporte de ROS	Transporte de protones Exportación y desprotonación de ácidos grasos. Transporte de ROS	Transporte de protones Exportación y desprotonación de ácidos grasos Transporte de ROS
Papel fisiológico	Termogénesis inducida por el frío y dieta. Modulación de ROS.	Adaptación a incremento de la oxidación de ácidos grasos Modulación de ROS. Regulación contra aterosclerosis. Inhibición de secreción de insulina. Inhibición de adhesión de macrófagos, etc.	Adaptación a incremento de la oxidación de ácidos grasos. Modulación de ROS, etc.

Nota: UCP 1: Proteína desacoplante 1; UCP 2: Proteína desacoplante 2; UCP 3: Proteína desacoplante 3; ROS:

Especies reactivas de oxígeno.

Justificación

La acumulación de grasa en los depósitos viscerales es el factor de riesgo cardiovascular más importante con relación a la cantidad total de grasa corporal, por lo tanto, representa un riesgo de EAC e IAM. El TAE sugiere el factor predictivo de riesgo cardiovascular más confiable, pues constituye una grasa visceral con intensa actividad metabólica, siendo aún poco clara su participación en la aterosclerosis coronaria. La tasa metabólica basal es uno de los predictores para el desarrollo de la obesidad, ya que, si baja, se asocia a una mayor probabilidad de ganar peso. Los mecanismos moleculares que determinan la tasa metabólica basal son parcialmente conocidos, sin embargo, cerca del 50% de ella es explicado por la pérdida de energía ocurrida en la mitocondria por acción de las proteínas desacoplantes (UCPs), por lo cual se requiere evaluar sus niveles de expresión proteica en el TAE y el TAM, como marcadores de EAC, así como su asociación con otros factores de riesgo implicados en ella.

Hipótesis

Los pacientes con EAC presentarán diferencia en los niveles de expresión de proteína de UCP 1, UCP 2 y UCP 3, en el tejido adiposo de las regiones epicárdica y mediastinal, en comparación con el grupo Control.

Objetivos.

Objetivo General

Determinar la expresión proteica de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el TAE y el TAM de pacientes con EAC, sometidos a cirugía de Revascularización Coronaria, en comparación con sujetos de cirugía de Reemplazo Valvular.

Objetivos Particulares

- Evaluar la expresión proteica de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el TAE y el TAM en pacientes con EAC, sometidos a cirugía de Revascularización Coronaria, y compararla con sujetos de cirugía de Reemplazo Valvular.

- Evaluar si los niveles de expresión proteica de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el TAE y el TAM están asociados con factores de riesgo involucrados en la incidencia de EAC.

- Determinar si las expresiones proteicas de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el TAE y el TAM se asocian a un mayor riesgo de EAC en la población mexicana.

Metodología

Tipo de Estudio

Observacional, transversal, analítico y comparativo.

Diseño Experimental.

Se analizaron 166 pacientes mexicanos, no relacionados entre sí, que ingresaron al departamento de cirugía del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” con diagnóstico de EAC o de recambio valvular para intervención quirúrgica. De los casos, 106 fueron de remplazo valvular o grupo Control y 60 fueron de revascularización coronaria o grupo EAC. Dicho tamaño se calculó tomando en cuenta que en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” en el 2018 se realizaron 120 cirugías de revascularización coronaria y 155 cirugías de pacientes sometidos a reemplazo valvular.

Grupo EAC

Criterios de Inclusión

- Pacientes ambos sexos con diagnóstico de EAC estable.
- Infarto al miocardio
- Angioplastia de arterias coronarias
- Con estenosis coronaria mayor al 50% determinada por angiografía.
- Pacientes programados para cirugía de revascularización arterial en el área de cirugía de Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.
- Edad al diagnóstico entre 18 y 70 años, que no hayan presentado eventos cardiovasculares agudos en los tres meses previos al estudio.

Criterios de Exclusión

- Presencia de insuficiencia cardíaca congestiva
- Enfermedad hepática, renal u oncológica.
- Distiroidismo no tratado
- Procesos infecciosos y aquellos con tratamiento de corticoesteroides

Grupo Control

Criterios de Inclusión

- Pacientes con lesión valvular cardíaca no relacionada con lesión aterosclerótica.
- Pacientes de ambos sexos, edad similar a los pacientes con EAC y con angiografía coronaria normal en el preoperatorio, programados para cirugía de recambio valvular.

Criterios de Exclusión

- Fueron los mismos que para el grupo con EAC.

Participaron únicamente los individuos que después de conocer las características del estudio, aceptaron y firmaron la forma de consentimiento informado. En los participantes se aplicaron cuestionarios estandarizados para obtener información demográfica, nivel de escolaridad, ingreso económico, historia familiar y personal de enfermedad cardiovascular, hábitos dietarios, actividad física, consumo de alcohol, uso de medicamentos y suplementos alimentarios.

Somatometría

El peso se determinó en una báscula calibrada; la talla utilizando un estadímetro de pared SECA 222 (Hamburgo, Alemania). El IMC fue calculado con la fórmula de peso (kg)/talla (m²). La circunferencia de cintura se midió con una cinta métrica de fibra de vidrio, en el punto medio

de la distancia entre la parte inferior de la última costilla y la cresta iliaca. La tensión arterial se midió en posición sedente, después de por lo menos cinco minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro digital WelchAllyn serie 52000 (Skaneateles Falls, E.U.A.) y la media de las dos últimas mediciones de tres consecutivas.

Toma de Muestra

Se obtuvo una muestra de sangre venosa de todos los sujetos en estudio, después de 12 h de ayuno, en tubos con sal sódica de etilendiaminotetracético (EDTA) (1 mg/mL). Los 2 tubos recolectados fueron centrifugados a 3500 r.p.m. durante 5 minutos. Se separaron inmediatamente 2 mL de plasma fresco, para la determinación del nivel de glucosa y del perfil lipídico.

Determinación de Glucosa y Perfil de Lípidos

La glucosa, el colesterol total y los triglicéridos se determinaron mediante métodos enzimáticos colorimétricos comerciales, en un autoanalizador Hitachi 902 (Boheringer Mannheim, Alemania) utilizando estuches enzimáticos (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania y WaWakoChemicals, E.U.A.); mientras que cHDL se determinó por un método enzimático homogéneo (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania), que se realizó en el Laboratorio de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. El cLDL se calculó con la fórmula de Friedewald (Friedewald 1972).

Obtención de Tejido Adiposo Epicárdico y Mediastinal.

Las biopsias de tejido adiposo fueron obtenidas durante la cirugía de revascularización o la valvuloplastia. La muestra del tejido adiposo epicárdico (0.5 a 1.0 g) se tomó de la región proximal a la arteria coronaria descendente anterior izquierda por presentar más lesiones, mientras el tejido adiposo mediastinal se obtuvo de la región pectoral. Las muestras se colocaron

en el reactivo Allprotec (QIAGEN, Hilden, Alemania) y fueron congeladas a -70°C hasta la extracción de ARN y proteína. Para la extracción proteica, ambas muestras se dividieron en 2 porciones, siendo colocadas en recipientes estériles con Tripure™ (Roche Molecular Diagnostics, Indianápolis, USA) libres de ARNsas y proteasas.

Expresión Proteica de las UCPs del TAE y TAM.

La proteína total del TAE y TAM se aisló utilizando el reactivo de Tripure™ (Roche Molecular Diagnostics, Indianápolis, USA). Las proteínas se analizaron por inmunoelectrotransferencia “Western Blot”. Las membranas se incubaron con un anticuerpo primario específico para cada UCP, contra UCP 1 humana (anticuerpo policlonal Abcam ab10983, dilución 1:500), UCP 2 humana (anticuerpo policlonal Abcam ab67241, dilución 1:500), y UCP 3 humana (anticuerpo policlonal Abcam ab10985, dilución 1:1000). La carga de proteína en cada carril se verificó mediante la tinción de Ponceau y se incubó la transferencia con anticuerpos monoclonales contra β -actina humana (Abcam ab8226).

Se utilizó el programa Image Lab para cuantificar las bandas presentes en las membranas mediante densitometría, que se detectaron utilizando el sustrato Clarity Western ECL (Biorad). Los niveles de expresión se midieron por duplicado y se normalizaron al comparar la concentración con el control de proteína de carga, β -actina. Los resultados se expresaron como Unidades Arbitrarias de intensidad.

Análisis Estadístico

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico SPSS v22 (SPSS Inc. Chicago IL). Los resultados se presentan como media \pm desviación estándar (SD) para variables con distribución paramétrica. Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad. Las

variables sin distribución normal se presentan como valores medianos (máximo y mínimo). Las comparaciones entre grupos se realizaron utilizando la prueba t de Student no apareada para variables continuas y la prueba U de Mann-Whitney para variables discontinuas. Se realizó la prueba X^2 para variables categóricas. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Características Clínicas de la Población por Grupo de Estudio.

Se analizaron las características clínicas y somatométricas divididas por grupo de acuerdo con el tipo de cirugía: RV o grupo Control (n=106) y RC o grupo EAC (n=60), datos son mostrados en la Tabla 5.

Tabla 5.

Parámetros bioquímicos y antropométricos de la población de estudio.

VARIABLES	Grupo Control (n=106)	Grupo EAC (n=60)	p
Sexo Hombres/Mujeres (%)	84.2/15.8	87.5/12.5	0.570
Edad (años)	51.1 ± 15.5	59.9 ± 9.8	0.290
IMC (kg/m ²)	26.4 ± 4.3	26.6 ± 3.1	0.328
Colesterol total (mg/dL)	155.0 ± 42.8	156.2 ± 56.5	0.124
c-HDL (mg/dL)	40.3 ± 13.3	35.3 ± 7.9	0.039*
c-LDL (mg/dL)	90.2 ± 31.1	98.0 ± 46.5	0.120
Triglicéridos (mg/dL)	131.2 ± 56.3	179.5 ± 88.0	0.011*
Glucosa (mg/dL)	99.8 ± 18.8	116.2 ± 37.8	0.001*
TAD (mmHg)	70.0 ± 9.0	69.0 ± 7.0	0.675
TAS (mmHg)	113.0 ± 11.0	110.0 ± 12.0	0.791
HAS (%)	41.5	50.0	0.290
Diabetes (%)	13.2	32.2	0.004*
Tabaquismo (%)	34.7	63.6	1x10 ⁻⁵ *
Alcoholismo (%)	19.8	20.0	0.098
Uso de antihipertensivos (%)	41.5	61.6	0.012*
Uso de estatinas (%)	8.4	52.3	0.001*

Los datos clínicos se muestran como media ± DS y en porcentaje. IMC: índice de masa corporal; TAD: tensión arterial diastólica; TAS: Tensión arterial sistólica; HAS: Hipertensión arterial sistémica; c-HDL: colesterol de lipoproteínas de alta densidad, c-LDL: colesterol de lipoproteínas de baja densidad.

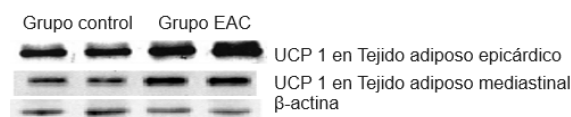
El grupo EAC tiene mayores niveles de glucosa (p=0.001) y triglicéridos (p=0.011), y menor de cHDL (p=0.039), además de mayor prevalencia en tabaquismo (p=1x10⁻⁵), DM tipo 2 (p=0.004), uso de antihipertensivos (p=0.012) y estatinas (p=0.001) con respecto al Control.

Expresión de UCPs por Tejido entre los Grupos.

Se analizaron los niveles de proteínas UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el tejido adiposo epicárdico (TAE) y el tejido adiposo mediastinal (TAM) en el grupo EAC comparándolos con el grupo Control, mediante inmunoelectrotransferencia (Western Blot) normalizados con β -actina, control endógeno (Figura 5), siguiendo el procedimiento descrito en los Apéndices A al D. Los resultados son reportados en unidades arbitrarias (UA) y mostrados en las Gráficas 1 y 2 respectivamente.

Figura 5.

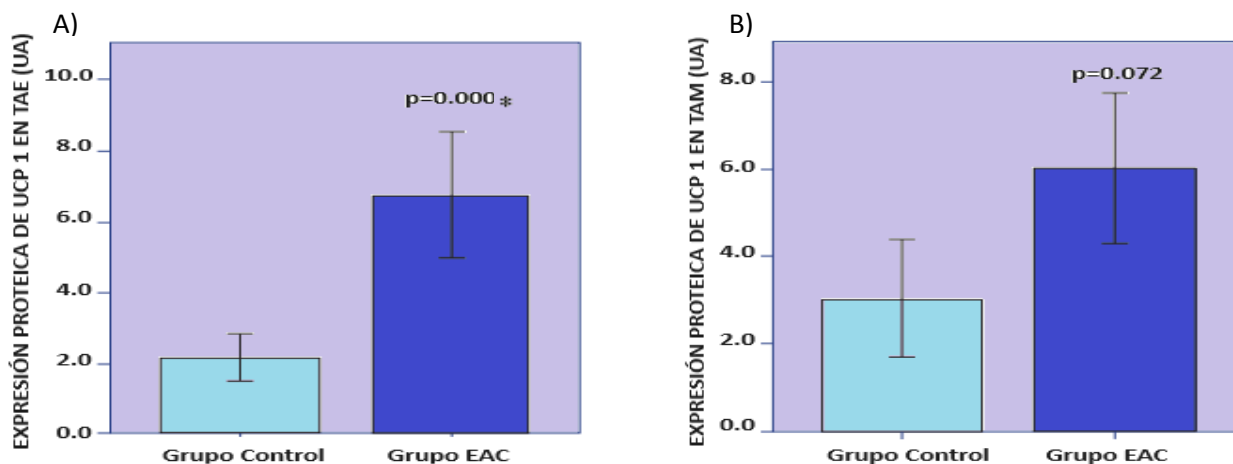
Expresión de UCP 1.



Nota: La imagen muestra la expresión de UCP 1 en el tejido adiposo epicárdico (TAE) y en tejido adiposo mediastinal (TAM), y de la proteína β -actina, como control de carga obtenidas por Western Blot.

Grafica 1

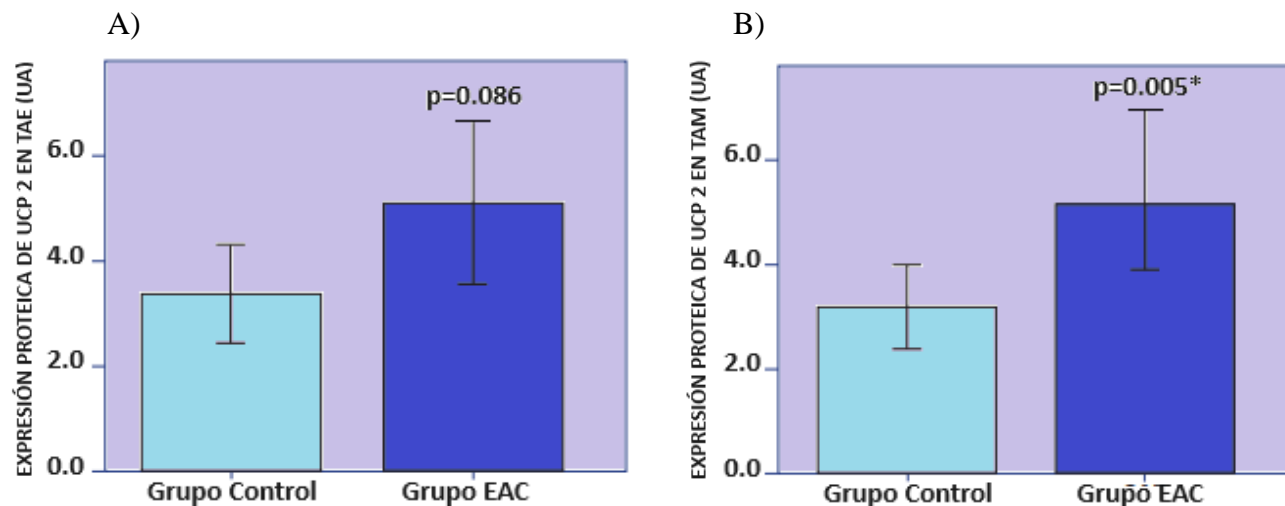
Expresión de proteína UCP 1



Nota: A) Tejido adiposo epicárdico (TAE) y B) Tejido adiposo mediastinal (TAM). Los datos se muestran como media \pm DS de UCP 1. EAC: Enfermedad arterial coronaria. β -actina fue usada como control de carga.

Grafica 2

Expresión de proteína UCP 2



Nota: A) Tejido adiposo epicárdico (TAE) y B) Tejido adiposo mediastinal (TAM). Los datos se muestran como media \pm DS de UCP 2. EAC: Enfermedad arterial coronaria. β -actina fue usada como control de carga.

Nosotros encontramos que el nivel de proteína UCP 1, fue mayor en el TAE del grupo EAC comparada con los sujetos control (6.8 ± 4.0 vs 2.2 ± 1.6 respectivamente, $p=1 \times 10^{-5}$) (Grafica 1). La concentración de la proteína UCP 2, fue mayor en el TAM del grupo EAC comparado con el grupo control (5.2 ± 3.8 vs 3.2 ± 2.0 respectivamente; $p=0.005$) (Grafica 2). En la concentración de la proteína UCP 3, no hubo diferencia significativa entre ambos grupos.

Después de categorizar a los pacientes por sexo, edad, uso de estatinas o fármacos antihipertensivos, no encontramos diferencias en el nivel de las UCP's.

Discusión

El objetivo del presente estudio fue medir la expresión de proteína de UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el TAE y el TAM de pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria. Los pacientes con EAC muestran niveles significativamente altos de glucosa, triglicéridos, cLDL y niveles significativamente más bajos de cHDL.

Los resultados obtenidos sobre las características clínicas muestran un porcentaje más alto en diabetes tipo 2, tabaquismo, uso de estatinas y antihipertensivos, donde algunos de ellos representan factores modificables de mayor riesgo para el desarrollo de la misma (Almazán, 2020, p.429)

Se han descrito múltiples mecanismos que explican una aterosclerosis acelerada con el incremento de riesgo de EAC en pacientes con DM tipo 2. Uno de ellos es que la hiperglucemia puede activar al factor transcripcional NFkB, a través del Receptor para productos finales de glicación avanzada (RAGE), lo que desencadena vías proinflamatorias para la expresión de varios genes en las células endoteliales, musculares lisas y macrófagos derivados de monocitos. Por otro lado, la autooxidación de la glucosa estimula la formación de diversas ROS, la cual promueve la oxidación de las LDL que contribuye al daño tisular en la pared arterial. Además, estudios *in vitro* muestran que la hiperglicemia estimula la proliferación de CML que, a medida que las lesiones ateroscleróticas progresan, migran de la media a la íntima, donde generan factores de crecimiento y participan en la formación de la capa fibrosa (Alemán, 2018, p.45-47).

En nuestro grupo de estudio se observa una mayor incidencia de tabaquismo en el grupo EAC comparado con el grupo Control (63.6 vs 34.7 % respectivamente, $p=1 \times 10^{-5}$), además de concentraciones elevadas de triglicéridos y menor nivel de cHDL (dislipidemia), lo que explica la presencia de la patología coronaria con lesión aterosclerótica. Es bien conocido que el

tabaquismo activo o pasivo conlleva a un acelerado desarrollo de EAC. La exposición crónica a fumar cigarrillos está asociada con una disfunción de la vasodilatación dependiente del endotelio. La nicotina causa un incremento de dimetilarginina y la producción de radicales libres derivados de oxígeno, resultando en una baja disponibilidad de ON (vaso-relajador endotelial) (Heiss, 2015). Asimismo, varios estudios definen que fumar disminuye agudamente la quimiotaxis, mediante el bloqueo del Factor de crecimiento endotelial vascular estimulado por ON, lo que implica una significativa activación endotelial y lesión por alteración funcional del endotelio vascular. En conjunto, el tabaquismo parece no solo lesionar agudamente el endotelio y bloquear la actividad de la sintasa de ON sino también interferir con la capacidad regenerativa vascular (Fithra, 2021, p.454). La producción de radicales libres conlleva a un proceso inflamatorio con mayor expresión de moléculas de adhesión, que en presencia de monocitos y aunado a dislipidemia, lleva al desarrollo de la placa aterosclerótica (López, 2020).

Las concentraciones elevadas de triglicéridos y disminuidas de cHDL en el grupo EAC comparado con el grupo Control del presente estudio, llamada dislipidemia aterogénica, lleva a un incremento de lipoproteínas ricas en Tg, portadoras de apolipoproteína B, y habitualmente a un aumento moderado, o en ocasiones cercano a la normalidad, de cLDL, con predominio de partículas LDL pequeñas y densas. Los ácidos grasos liberados desde los triglicéridos conllevan a una disfunción del endotelio vascular con incremento de estrés oxidativo, uno de los primeros escenarios del desarrollo y progresión de la placa aterosclerótica (Bordeianu, 2022 p.2). Sin embargo, también se presentó una mayor incidencia en el consumo estatinas en el grupo EAC (52.3 vs 8.4 % respectivamente, $p=0.001$), lo que se traduce en las cifras normales en colesterol total y cLDL. Las terapias farmacológicas para los niveles altos de colesterol y de tensión arterial sistémica pueden influir en la disminución de EAC. El tratamiento con estatinas (antilipemiantes

que actúan inhibiendo a la enzima hidroximetilglutaril-CoA reductasa, la cual participa en la síntesis de colesterol) disminuyen los niveles de colesterol y cLDL, además de aumentar levemente el cHDL. Sus efectos cardiovasculares incluyen también la estabilización de la placa aterosclerótica, anti-inflamación, inhibición de la función plaquetaria y de la proliferación celular del músculo liso, mejorando la función del endotelio vascular (Lozano 2019, p.249).

Hay varios mecanismos responsables de la fuerte relación entre HAS y EAC, por ejemplo, los factores genéticos pueden predisponer ambas condiciones (por ejemplo, variantes de un solo nucleótido de genes de sistema Renina Angiotensina Aldosterona). Otros factores hemodinámicos, están relacionados con la velocidad de onda de pulso y poscarga incrementadas, que intensifican aún más la presión, resultando en una demanda incrementada de oxígeno por el miocardio, que conlleva al aumento de estrés oxidativo y la formación de mediadores inflamatorios e inactivación del NO. La interacción de estos factores causará una disfunción endotelial, por desequilibrio en la secreción y liberación de mediadores de vasoconstricción y vasodilatación, lo que afecta la actividad protrombótica y proaterogénica del endotelio vascular, provocando el deterioro del flujo sanguíneo capilar, contribuyendo a la aterosclerosis (Poulimenos 2018, p.1; Fithra 2021, p.454). En general, entre los 40 y 69 años, cada 20 mmHg incrementados en la TAS (o 10 mmHg en la TAD) duplican el riesgo de un evento coronario fatal (Lewington, 2002, como se citó en Poulimenos, 2018 p.1). En el presente trabajo, el grupo EAC mostró una mayor incidencia en el uso de medicamentos antihipertensivos (61.6 vs 41,5 % respectivamente, $p=0.012$) lo que explica la ausencia de HAS y niveles normales de TAS y TAD en este grupo.

El desacoplamiento mitocondrial de la fosforilación oxidativa ha sugerido una estrategia cardioprotectora en condiciones de estrés oxidativo tales como diabetes, daño isquemia-

reperfusión o edad (Cardenas, 2018 p.944). La pérdida de UCP 1 causó blanqueamiento del TAP, disminuyendo su rol protector contra el desarrollo de resistencia a la insulina, DM tipo 2 y obesidad (Chondronokola, 2014 como se citó en Monteiro, 2021). La estimulación de la termogénesis por TAP dependiente de UCP 1 ya sea a través de frío o dieta ha demostrado un incremento en el gasto energético por aceleración del catabolismo. Cuando se encuentra activo, oxida cantidades significativas de sustratos metabólicos como ácidos grasos almacenados, así como glucosa y triglicéridos y, a través de su reducción en circulación, mostrando que el TAP es de gran interés en el tratamiento de desórdenes metabólicos como obesidad y DM tipo 2 (Busiello 2015; Monteiro, 2021 p.10). Bienengraeber (2003, como se citó en Cárdenas 2018, pag.944) reportó que células derivadas de corazón de ratas transgénicas con UCP 1 adquirieron mejorada resistencia a hipoxia/reoxigenación y limitada formación de ROS. Además, Hoerter (2004, como se citó en Cárdenas, 2018 p.944) encontró que las mitocondrias de corazones perfundidos aislados de ratones transgénicos que expresaban gran cantidad de UCP 1 tuvieron un reducido daño inducido por reperfusión comparados con los controles, mejorando así la recuperación de la función cardíaca y la reducción del nivel de estrés oxidativo. Nuestro estudio también presentó un incremento significativo de la proteína UCP 1 en el TAE en el grupo EAC comparado con el control, como una forma de controlar la incrementada generación de ROS en estados de hiperglucemia y dislipidemia causantes de la progresión acelerada de la lesión aterosclerótica presentes en la EAC.

Estudios previos han mostrado que las especies reactivas de oxígeno (ROS) son el factor más importante en la regulación de la actividad y expresión de ARNm *UCP 2* y *UCP 3* (Brand 2004, p.1; Ishizawa, 2006, p.1). Nosotros encontramos un incremento en los niveles de proteína UCP 2 en el TAM del grupo EAC, puesto que esta condición involucra la generación de gran

estrés oxidativo con liberación de ROS por la hiperglicemia y dislipidemia aterogénica presentes. Estudios *in vivo e in vitro* han mostrado “una expresión de UCP 2 incrementada durante el estrés oxidativo como una retroalimentación, actuando como un mecanismo protector para disminuir la producción de ROS” (Xie 2008, p.3229 como se citó en Huesca 2023, p.8).

“La lesión isquémica miocárdica es un problema clínico importante que conduce a disfunción cardíaca, en la cual el estrés oxidativo juega un papel clave. Varias evidencias indican que “la expresión de UCP 2 está regulada positivamente en el miocardio isquémico probablemente en respuesta al incremento de estrés oxidativo durante la hipoxia, ya sea con o sin reperusión” (Tian 2018, p.8). Además, “la expresión proteica de UCP 2 se incrementó en los ventrículos izquierdos poco después de la lesión aguda miocárdica por isquemia/reperusión en modelos de roedores, pero no cambió en los ventrículos derechos no isquémicos (Safari 2014, como se citó en Tian 2018, p.8). Asimismo, “la expresión de UCP 2 aumentó en el miocardio de un modelo porcino de isquemia/reperusión, durante su precondicionamiento isquémico tardío” (Cabrera 2012, p.14) y también se incrementó en el miocardio porcino con isquemia crónica (McFalls, 2006, como se citó en Tian, 2018, p.8). Además, “la expresión de UCP 2 permanece elevada dentro del miocardio durante la fase temprana después de la revascularización” (Holley, 2015, como se citó en Tian, 2018, p.8). Basados en estas evidencias, la regulación positiva de dicha proteína es una respuesta desencadenada por el cambio del estado redox inducido por la hipoxia o durante la fase temprana después de ésta, como un mecanismo protector de retroalimentación para restablecer el equilibrio redox (Tian 2018, p.8). Esto concuerda con nuestro resultado, donde hubo incremento significativo en la expresión de la proteína UCP 2 en el TAM del grupo EAC comparada con el grupo Control, debido a la condición hipóxica

implicada en la isquemia provocada por la lesión aterosclerótica y el IAM presentes en este tipo de patología.

“La expresión cardiaca de *UCP 2*, así como su expresión proteica, están incrementadas en pacientes con falla cardiaca. Sin embargo, las causas y las posibles consecuencias de estas alteraciones durante la transición desde hipertrofia a falla cardiaca aun no son claras” (Kutsche, 2020, p.1). Un estudio con cardiomiocitos ventriculares, aislados de un modelo de rata adulta demostró una menor expresión proteica de *UCP 2* con incrementada expresión del transportador de glucosa 4 (*Glut 4*) en la hipertrofia compensatoria, y viceversa durante la falla cardiaca terminal, encontrándose entonces una correlación inversa entre la expresión de ambas proteínas en esta transición. También se observó que el silenciamiento de *UCP 2* llevó a una disminución en los niveles de lactato en los cardiomiocitos, lo que sugiere que su expresión inhibe la entrada de piruvato y glucosa a la célula para el metabolismo glucolítico, con la consecuente disminución del ATP y acumulación de lactato (Kutsche 2020). En nuestro estudio, encontramos un mayor nivel de glucosa ($p= 0.001$) y más frecuencia de DM tipo 2 ($p=0.004$) en el grupo EAC, con un incremento en la expresión proteica de *UCP 2* en el TAM ($p=0.005$), lo que muestra el estado metabólico descompensado de este grupo y papel regulador de esta proteína sobre la homeostasis de la glucosa, ya que en condiciones de hiperglucemia, el metabolismo de la glucosa y el potencial de membrana mitocondrial están incrementados, con la consecuente producción elevada de superóxido, que conlleva a la mayor expresión de *UCP 2*, cuya actividad disminuirá la producción de ATP, reduciendo así el potencial de membrana y suprimiendo así la generación del superóxido (Sreedhar, 2018, p.5).

Conclusión

Los pacientes con EAC presentaron un incremento de la expresión proteica de UCP 1 en el tejido adiposo epicárdico y de UCP 2 en el tejido adiposo mediastinal en comparación al grupo Control. Dicho incremento sugiere un papel protector contra el daño oxidativo mitocondrial, reduciendo la producción de ROS, en los sujetos con EAC.

Cabe resaltar que la mayoría de los estudios de UCPs y EAC se han hecho en modelos animales y el presente estudio fue realizado en muestras de tejido adiposo de pacientes mexicanos.

Referencias

- Abd-Alamir, M., Goyfman, M., Chaus, A., Dabbous, F., Tamura, L., Sandfort, V., Brown, A., Budoff, M. (2018). The correlation of dyslipidemia con extent of coronary artery disease in the multiethnic study of atherosclerosis. *Hindawi Journal of lipids*. ID 5607349.
<https://dx.doi.org/10.1155/2018/5607349>
- Alemán, L., Ramírez Sagredo, A., Ortiz Quintero, J., Lavandero, S. (2018): Diabetes mellitus tipo 2 y cardiopatía isquémica: fisiopatología, regulación génica y futuras opciones terapéuticas. *Revista Chilena de Cardiología*, 37: 42-54.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-85602018000100042>
- Almazán Ávila, M.A. (2020) Cardiovascular risk factors in young Mexican adults; *Archivos de Cardiología México*, 90(4): 427-435. <http://dx.doi.org/10.24875/ACM.20000258>
- Assman, G., Cullen, P., Schuttler, H. (1998). The Munsters Heart study (PROCAM): Results of follow up al 8 years. *European Heart Journal* (19).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9519336/>
- Bambace, C., Zamboni, M. (2012). *Characterization of epicardial adipose tissue and myocardial fat infiltration in humans*. (Tesis de Doctorado, Departamento de Medicina Interna, Universidad de Verona). <https://iris.univr.it/retrieve/handle/11562/556549/6453/PhD.pdf>
- Barbagelata, L. (2022). Enfermedad coronaria y dolor torácico crónico: abordaje actual según las últimas guías. *Acta de Gastroenterología Latinoamericana* 52(4): 418-423.
<https://dx.doi.org/10.52787/agl.v52i4.262>
- Bordeianu, G., Mitu, I., Stanescu, R.S., Ciobanu, C.P., Petrescu, D.E., Marlescu, A.D., Dimitriu, D. (2022). Circulating biomarkers for laboratory diagnostics of atherosclerosis. *Diagnostics*, 12(12), 3141. <https://dx.doi.org/10.3390/diagnostics12123141>

- Brand, M.D., Affourtit, C., Esteves, T.C., Green, K., Lambert, A.J., Miwa, S., Pakay, J.L., Parker, N. (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(6): 755-767.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.05.034>
- Brown, J.C., Gerhart, T.E., Kwon, E. (2023). *Risks factors for coronary artery disease*. NIH: National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554410/>
- Bryce Monclova, A., Alegría Valdivia, E., San Martín San Martín, G. (2017). Obesidad y riesgo cardiovascular. *Anales Facultad de Medicina*, 78(2): 202-206.
<http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i2.13218>
- Busiello, R. A., Savarese, S., Lombardi, A. (2015). Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. *Frontier in physiology* 6 (36). <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2015.00036>
- Cabrera, J. A., Ziemba, E. A., Colbert, R., Anderson, L. B., Sluiter, W., Duncker, D. J., Butterick, T.A., Sikora, J., Ward, H. B., Kelly, R.F., McFalls. E. O. (2012). Altered expression of mitochondrial electron transport chain proteins and improved myocardial energetic state during late ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology*, 302(10): H1974–H1982. <https://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00372.2011>
- Campos Nonato, I., Galván Valencia, O., Hernández Barrera, L., Oviedo Solís, C., Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: Resultados ENSANUT 2022. *Salud pública de México*, 65 (1).
<https://dx.doi.org/10.21149/14809>
- Campos Nonato, I., Oviedo Solís, C., Vargas Meza, J., Ramírez Villalobos, D., Medina García, C., Gómez Álvarez, E., Hernández Barrera, L., Barquera, S. (2023): Prevalencia,

- tratamiento y control de la hipertensión arterial en adultos mexicanos: resultados de la ENSANUT 2022; *Salud pública de México*, 65 (1). <https://dx.doi.org/10.21149/14779>
- Cano Megías, M., Guisado Vasco, P., Bouarich, H., Lara Aguilera, I., De Arriba de la Fuente, G., Rodríguez Puyol, D. (2021). Tejido graso epicárdico, calcificación arterial coronaria y mortalidad en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada y hemodiálisis. *Nefrología* 41(2): 174-181. <https://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2020.09.005>
- Cárdenas Susana (2018). Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. *Bioenergetics* 1859: 940-50. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.05.019>
- Castro Iglesia, M., Castro Iglesias, D., Seoane Piedra, J.M., Torres Pérez, J., González López, A., Aguirre Castro, M. (2021); Aterosclerosis subclínica en trabajadores de una institución de salud. Centro Internacional de Salud “La Pradera”, La Habana Cuba. *Revista Cubana de Medicina* 60(3): e2134. <http://revmedicina.sld.cu/index.php/med/article/view/2134>
- Castelli, W.P., Garrison, R.J., Wilson, P.W. (1986). Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: Framingham Study, *JAMA*, 256(20): 2835-8. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1986.03380200073024>
- Chechi, K., Voisine, P., Mathieu, P., Laplante. M., Bonnet, S., Picard F., Joubert, P., Richard, D. (2017). Funcional characterization of the UCP 1 associated oxidative phenotype of human epicardial adipose tissue. *Nature Scientific Reports* 7. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-15501-7>.
- Cheung, L., Gertow, J., Werngren, L., Folkersen, L., Petrovic, N., Nedergaard, J., Cerededa, A., Eriksson, P., Fisher, R. M. (2013). Human mediastinal adipose tissue displays certain characteristics of brown fat. *Nutrition and Diabetes*, 3:1-9. <http://dx.doi.org/10.1038/nutd.2013.6>.

- Creta, V., Higa, C., Masson, W. (2022). Tejido adiposo como predictor de enfermedad coronaria ¿Un nuevo parámetro para la estratificación del riesgo cardiovascular?. *Revista Argentina de Cardiología*, 90(4): 304-9. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v90.i4.20549>
- De Almeida, L., Assman. T. S., Coutinho, G., Duarte, K., Gross, J. L., Canani, L. H., Crispim. D. (2012). The role of uncoupling protein 1 (UCP 1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*, 56 (4).
<https://doi.org/10.1590/S0004-27302012000400001>
- Escobar Vega, H., Tamayo Carbón, A. M., Expósito Jalturin, A., Rodríguez Castro, M. F., Carpio Gálvez., C. D. (2022). Anatomía y fisiología del tejido adiposo. Importancia para el tratamiento de la obesidad. *Acta Médica* 23(3): e341.
<https://revactamedica.sld.cu/index.php/act/article/view/341>
- Faxon, D. P., Fuster V., Libby, P., Beckman, J.A., Hiatt, W.R., Thompson, R., Topper, J. N., Annex, B. H., Rundback, J. H., Fabunmi, R. P., Robertson, R. M., Loscalzo, J. (2004). Atherosclerotic vascular disease conference. *Circulation* 109: 2617-1625.
<https://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000128520.37674.EF>
- Fithra, E. E., Decroli, E., Nasrul, E., Yanwirasti, Y., Darwin, E. (2021). The risk factor of coronary heart disease and its relationship with endothelial nitric oxide synthase. *Macedonia Journal Medical Science Jun 18* 9(B): 451-456. <https://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2021.6062>
- Friquet, M. E., Gutiérrez Aguilar, R. (2020); Los colores del tejido adiposo, *Gaceta Médica de México*, 156. <http://dx.doi.org/10.24875/GMM.20005541>
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6): 499-502. <https://dx.doi.org/10.1093/clinchem/18.6.499>

- Guamán, C., Acosta, W., Alvarez, C., Hasbun, B. (2021). Diabetes y enfermedad cardiovascular; *Rev. Uruguaya de Cardiología*, 36: e36104:7-18. <http://dx.doi.org/10.29277/cardio.36.1.4>.
- Heaton, G. M., Wageenvoord, R., Kemp, A., Nicholls, D. (1978). Brown adipose tissue mitochondria: Photoaffinity labelling of the regulatory site of energy dissipation. *European Journal Biochemistry* 82:515-521. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1978.tb12045.x>
- Heiss (2015)
- Hernández, M., Calonge, M. L. (2021). *El tejido adiposo en la salud y la enfermedad* (Tesis de Licenciatura, Departamento de Fisiología, Universidad de Sevilla). <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/133400/HERNANDEZ%20MORENO%20MARIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Herz, C. T., Kulterer, O. C., Prager, M., Schmoltzer, C., Langer, F. B., Prager, G., Marculescu, R., Kautzky-Willer, A., Hacker, M., Haug, A. R., Kiefer, F. W., (2022). Active Brown adipose tissue is associated with a healthier metabolic phenotype in obesity, *Diabetes* 71(1): 93-103. <https://dx.doi.org/10.2337/db21-0475>
- Hoek, A. G., Van Oort, S., Mukamal, K. J., Beulens Joline, W. J. (2022): Alcohol consumption and cardiovascular disease risk: placing new data in context; *Current Atherosclerosis Reports* 24: 51-59. <https://dx.doi.org/10.1007/s11883-022-00992-1>.
- Hoerter, J., González-Barroso, M., Couplan, E., Mateo, P., Gelly, C., Cassard, A. M., Diolez, P., Bouilland, F. (2004). Mitochondrial uncoupling protein 1 expressed in the heart of transgenic mice protects against ischemic-reperfusion damage. *Circulation* 110:528-533. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000137824.30476.0E>
- Holley C. T., Duffy C. M., Butterick T. A., Long E. K., Lindsey M. E., Cabrera J. A., Ward, H. B., McFalls, E.O. (2015). Expression of uncoupling protein-2 remains increased within

hibernating myocardium despite successful coronary artery bypass grafting at 4 week post-revascularization. *Journal of Surgical Research* 193(1): 15-21.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2014.08.003>.

Huesca-Gómez, C., Gamboa-Ávila, R., Torres-Paz, Y. E., Fuentesvilla-Alvarez, G., González-Moyotl, N. J., Ramírez-Marroquín, E. S., Vásquez-Jimenes, X., Sainz-Escárcega, V., Soto, M. E., Samano, R. (2022). Expressions of mRNA and encoded proteins of mitochondrial uncoupling protein genes (UCP1, UCP2 and UCP3) in epicardial and mediastinal adipose tissue and associations with coronary artery disease. *Archives of Endocrinology and Metabolism* 67(2): 1-10. <https://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000582>

Ishizawa, M., Mizushige, K., Noma, T., Namba, T., Guo, P., Murakami, K., Tsuji, T., Miyatake, A., Ohmori, K., Kohno, M. (2006). An antioxidant treatment potentially protects myocardial energy metabolism by regulating uncoupling protein expression in a chronic beta-adrenergic stimulation rat model. *Life Sciences*, 78(25): 2974-2982.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2006.02.029>

Jezet, P., Holendova, B., Garlind, K.D., Jaburek, M. (2018). Mitochondrial uncoupling proteins: subtle regulator of cellular redox signaling. *Antioxidants y Redox signaling*, 29(7): 667-714. <https://dx.doi.org/10.1089/ars.2017.7225>

Kaufer-Horwitz, M., Pérez-Hernández, J. F. (2022). La obesidad: aspectos fisiopatológicos y clínicos. *Interdisciplina UNAM*, 10(26): 147-175.

<https://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485705e.2022.26.80973>

Kumar, R., Amruthanjali. T., Singothu, S., Bala Singh, S., Bandhari, V. (2022). Uncoupling proteins as a therapeutic target for the development of new era drugs against neurodegenerative disorder; *Biomedicine and Pharmacotherapy* 147, 112656.

<https://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112656>

Kutsche, H. S., Schreckenber, R., Weber, M., Hirschhauser, C., Rohrbach, S., Li, L., Niemann, B., Schulz, R., Klaus, D. S. (2020). Alterations in glucose metabolism during the transition to heart failure: The contribution of UCP2. *Journal Cellular* 9, 552.

<http://dx.doi.org/10.3390/cells9030552>

Lechner, K., Von-Schacky, C., McKenzie, A. L., Worm, N., Nixdorff, U., Lechner, B., Krankel, N., Halle, M., Kraus, R., Scherr, J. (2020): Lifestyle factors and high risk atherosclerosis: Pathways and mechanism beyond traditional risk factors. *European Journal of preventive cardiology*. 27(4):394-406. <http://dx.doi.org/10.1177/2047487319869400>

Li, Y., Maedler, K., Shu, L., Haataja, L. (2008). UCP 2 and UCP 3 proteins are differentially regulated in pancreatic beta cells. *Plos One* 3 (1).

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001397>

López Nelson, A., Saavedra-Torres, J. S., Zúñiga-Cerón, L., Pinzón-Fernández, M. V. (2020) Atherosclerosis, descripción de un método diagnóstico. *Morfología*, 12 (1): 83-87. https://www.researchgate.net/publication/344729158_Atherosclerosis_descripcion_de_un_metodo_diagnostico

Lozano-Montoya, I., Formiga, F. (2019). Tratamiento con estatinas en los pacientes de más edad en 2018: cuándo, cómo y porqué. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 54(5): 249-250. <https://dx.doi.org/10.1016/j.regg.2019.06.001>

McFalls E. O., Sluiter W., Schoonderwoerd K., Manintveld O. C., Lamers J. M., Bezstarosti K; Van Beusekom, H. M., Sikora, J., Ward, H. B., Merkus, D., Dunker, D. J. (2006). Mitochondrial adaptations within chronically ischemic swine myocardium. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 41: 980–988.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.07.008>

Mons, U., Müezziner, A., Gellert, C., Schöttker, B., Abnet, C. C., Bobak, M., De-Groot, L., Freedman, N.D., Jansen, E., Kee, F., Kromhout, D., Kuulasmaa, K., Laatikainen, T., O'Doherty, M. G., Bueno-de-Mezquita, B., Orfanos, P., Peters, A., Van-der-Schouw, Y. T., Wilsgaard, T., Wolk, A., ... Brenner, H. (2015). Impact of smoking and smoking cessation on cardiovascular events and mortality among older adults: meta-analysis of individual participant data from prospective cohort studies of the CHANCES consortium. *Thebmj*, 350:h1551. <https://dx.doi.org/10.1136/bmj.h1551>

Monteiro, B. S., Freire-Brito, L., Carrageta, D. E., Oliveira, P. F., Alves-G, M. (2021). Mitochondrial uncoupling proteins (UCPs) as key modulators of ROS homeostasis: a crosstalk between diabetes and male infertility. *Antioxidants*, 10, 1746:1-23.

<https://dx.doi.org/10.3390/antiox10111746>

Ndumele, C. E., Matsushita, K., Lazo, M., Bello, N., Blumenthal, R. S., Gerstenbith, G., Nambi, V., Ballantyne, C. M., Solomon, S. D., Selvin, E., Folsom, A. R., Coresh, J. (2016): Obesity and subtypes of incident cardiovascular disease. *Journal of the American Heart Association*, 5: e003921. <https://dx.doi.org/10.1161/JAHA.116.003921>

Obregón Perea María de Jesús (2007). Obesidad, termogénesis y hormonas tiroideas. *Revista Española de Obesidad*, 5(1): 27-38. <https://digital.csic.es/handle/10261/81814>

Organización Mundial de la Salud. (17/mayo/2017). Enfermedades cardiovasculares. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

Pan, A., Wang, Y., Talaei, M., Hu, F. B. (2015): Relation of smoking with total mortality and cardiovascular events among patients with diabetes mellitus. *Circulation*, 132: 1795-1804. <https://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017926>

- Patel Akash, Figueredo, V. M. (2023): Alcohol and cardiovascular disease: helpful or hurtful. *Reviews Cardiovascular Medicine*, 24(4):121. <http://dx.doi.org//10.31083/j.rcm2404121>
- Pravednikova, A. E., Shevchenko, S. Y., Kerchev, V. V., Skhirtladze, M. R., Larina, S. N., Kachaev, Z. M., Ergorov, A. D., Shidlovskii, Y. V. (2020). Association de uncoupling protein (UCP) gene polymorphisms with cardiometabolic diseases. *Molecular Medicine* 26(51): 1-19. <https://doi.org/10.1186/s10020-020-00180-4>
- Poulimenos, L. E., Kallistratos, M., Mancia, G., Manolis, A. (2018). Hypertension and coronary heart disease. *European Society of Hypertension 19nr 68*. <https://www.eshonline.org/esh-content/uploads/2018/06/Hypertension-and-Coronary-Heart-Disease.pdf>
- Ricquier Daniel, Bouillaud Frederic. (2000). The uncoupling proteins homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and tUCP. *Biochemical Journal*, 345 Pt (2): 161-179. <http://dx.doi.org/10.1042/0264-6021:3450161>
- Rodríguez González Rubén. (2018). *Regulación de la adipogénesis y termogénesis por APC/Cdh1: consecuencias fisiológicas in vivo*. (Tesis Doctoral, Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca). <http://hdl.handle.net/10261/183658>
- Sacks, Harold; Symonds, Michael E. (2013). Anatomical Locations of human brown adipose tissue functional relevance and implications in obesity and DM2. *Diabetes*, 62: 1783-1789. <http://dx.doi.org/10.2337/db12-1430>
- Sarre-Álvarez, D., Cabrera-Jardines, R., Rodríguez-Weber, F., Díaz, G. (2018): Enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Revisión de las escalas de riesgo y edad cardiovascular. *Medicina Interna de México*, 34(6): 910-23. <https://dx.doi.org/10.24245/mim.v34i6.2136>
- Sawar, N., Gao, P., Seshasai, S. R. K., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D. A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C. D. A., Lewington, S., Pennells, L.,

- Thompson, A., Sattar, N., White, I. R., Ray, K. K., Danesh, J. (2010): Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis 102 prospective studies. *Lancet* 375(9733):2215-22.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60484-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60484-9)
- Secretaría de salud, Gobierno de México. (28 de septiembre de 2022). Infarto al miocardio es la principal causa; ocasionó 177 mil decesos en 2021. <https://www.gob.mx/salud/prensa/490-cada-ano-220-mil-personas-fallecen-debido-a-enfermedades-del-corazon>
- Sreedhar, Annapoorna; Zhao, Yunfeng. (2017); Uncoupling protein 2 and metabolic disease. *Mitochondrion*, 34:135-140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2017.03.005>.
- Stanzione, R., Forte, M., Cotugno, M., Bianchi, F., Marchiti, S., Busceti, C. L., Fornai, F., Rubattu, S. (2022). Uncoupling protein 2 as a pathogenic determinant and therapeutic target in cardiovascular and metabolic diseases; *Current Neuropharmacology*, 20: 662-674.
<http://dx.doi.org/10.2174/1570159X19666210421094204>
- Suarez-Carmona Walter, Sánchez-Oliver Antonio Jesús (2018). Índice de masa corporal: ventajas y desventajas de su uso en la obesidad. Relación con la fuerza y actividad física. *Nutrición Clínica en Medicina*, XII (3): 128-139. <http://dx.doi.org/10.7400/NCM.2018.12.3.5067>
- Tandros, T. M., Massaro, J. M., Rosito, G. A., Hoffmann, U., Vasan, R. S., Larson, M. G., Keane, J. F., Lipinska, I., Meigs, J., Kathiresan, S., O'Donnell, C. J., Fox, C. S., Benjamín, E. J. (2010). Pericardial fat volume correlates with inflammatory markers, The Framingham Heart Study. *Obesity*, 18: 1039-1045. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2009.343>.
- Tian, X. Y., Wong, W. T., Xu, A., Lu, Y., Zhang, Y., Wang, L., Cheang, W. S., Wang, Y., Yao, X., Huang, Y. (2012). Uncoupling proteins protects endothelial function in diet-induced obese mice. *Circulation Research* 110: 1211-1216.

. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.262170>

Vargas-Castillo, A., Torres y Torres, N., Tovar-Palacio, A. R. (2021). La termogénesis; alimentos que la estimulan y sus implicaciones en la salud. *Red Nutrición*, 12, núm. 1:803-810.

<https://edicionesberit.com/publicaciones/revistas/red-nutricion/la-termogenesis-alimentos-que-la-estimulan-y-sus-implicaciones-en-la-salud/>

Wang, Q., Chi, J., Wang, C., Yang, Y., Tian, R., Chen, X. (2022). Epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease: A metaanálisis. *Journal Cardiovascular Development and Disease*, 9. <https://dx.doi.org/10.3390/jcdd9080253>

Xie, Z., Zhang, J., Wu, J., Viollet, B., Zou Ming, H. (2008). Upregulation of mitochondrial UCP 2 by AMP activated protein kinase in endothelial cells attenuates oxidative stress in diabetes. *Diabetes*, 57: 3222-30. <http://dx.doi.org/10.2337/db08-0610>

Zanovich Ángel A. (2005) Rol de las proteínas desacoplantes UCP 1, UCP 2 y UCP 3 en el gasto energético, diabetes tipo 2 y obesidad. *Medicina* 65:163-169.

ID: lil-425483

Apéndice A: Extracción de proteína por el método de Tripure™

- 1) El tejido congelado (-70 a -80 °C) una vez fuera del congelador debe mantenerlo en nitrógeno líquido y colocarlo en baño de hielo para su extracción.
- 2) Colocarla en un mortero frío donde será triturada en congelación con nitrógeno líquido.
- 3) Recolectar el tejido machacado (50-100 mg) y transferirlo a un tubo eppendorf. Adicionar 1 mL de Reactivo Tripure™ y realizar su homogenización con un Politrón. Congelar a -70 °C de inmediato hasta su procesamiento.
- 4) Descongelar las muestras a temperatura ambiente.
- 5) Agregar 600 uL de cloroformo por cada mL de Tripure™, homogenizar vigorosamente en el vortex por 15 segundos e incubar 20 min a temperatura ambiente.
- 6) Centrifugar a 12,000 g durante 15 min a 4 °C. Se deben formar tres fases: una fase acuosa transparente donde está el ARNm, una interfase blanca y otra de color rojo.

FASE DE PRECIPITACION.

- 7) Añadir al sobrenadante 650 uL de isopropanol frío por cada mL de Tripure™, tapar bien los tubos e invertir varias veces.
- 8) Incubar las muestras a temperatura ambiente 15 minutos para precipitar la proteína.
- 9) Centrifugar las muestras a 12,000 g a 4 °C durante 15 minutos, eliminar el sobrenadante.
Lavados de los precipitados de proteínas (repetir 3 veces)
- 10) Resuspender cada pellet en 1,5 ml de hidrocloreuro de guanidina. Tapar bien el tubo e invertir para que el pellet suba y baje en el tubo.
- 11) Mezclar las muestras e incubarlas a temperatura ambiente durante 20 minutos.
- 12) Centrifugar a 7500 g durante 5 minutos a 4 °C. Eliminar el sobrenadante

13) Si la muestra se va a utilizar en el momento ponerla en hielo, Si no se va a utilizar el momento, congelar rápidamente a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Después de los lavados a cada pellet:

14) Anadir 1,5 ml de etanol absoluto. Invertir el eppendorff e incubar las muestras a temperatura ambiente durante 20 minutos.

15) Centrifugar a 7500 g durante 5 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Eliminar el sobrenadante.

16) Resuspender los pellets en SDS al 1.1 %. Calentarlos a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos.

17) Guardar las proteínas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Apéndice B: Cuantificación de proteínas por el Método de Bradford.

- 1) Preparar del reactivo concentrado de Biorad Protein Assay (No. Catalogo 500-0002) una dilución 1:4 con agua destilada. Su estabilidad es de dos semanas a temperatura ambiente.
- 2) Preparar en tubos eppendorf (por duplicado) tres o cinco diluciones de una proteína estándar (albúmina), la cual es representativa de la proteína a ser cuantificada, para crear una curva de calibración. El rango lineal de la microtitulación es de 0.05 a 0.50 mg/mL.
- 3) Pipetear en un tubo eppendorf (por duplicado) 2.5 uL de la muestra con 7.5 uL de agua destilada (volumen final 10 uL).
- 4) Adicionar 200 uL de reactivo diluido en cada tubo de muestra y estándar. Mezclar exhaustivamente por inversiones repetidas.
- 5) Traspasar el contenido de cada tubo a cada uno de los pozos de una microplaca de titulación e incubar a temperatura ambiente 5 minutos. El color es estable por 1 hora.
- 6) Medir la absorbancia a 595 nm en X-mart microplate spectrophotometer Biorad.

Apéndice C: Inmunoelectrotransferencia (Western Blot)

- 1) Preparar un gel de poliacrilamida al 12% de 1.0 mm de espesor con un gel concentrador de aproximadamente 2 cm de largo.
- 2) 20 ug de muestras a analizar son calentadas a 100 °C durante 5 minutos.
- 3) Cargar las muestras en el gel en una cámara de electroforesis (Biorad Mini Protean). Se utilizó Precisión Plus Standard Protein Kaleidoscope (Biorad) como marcador.
- 4) Correr electroforesis a 80 V durante 30 min, luego cambiar a 120V durante 60 min y finalizar a 70V durante 30 min.

TRANSFERENCIA DE PROTEÍNAS A MEMBRANA.

- 5) Colocar el soporte de la transferencia y sobre el lado gris de éste una esponja, a continuación 2 papeles Whatman y el gel extraído sin romper se coloca sobre el Whatman.
- 6) Se toma con pinzas la membrana de nitrocelulosa y se coloca sobre el gel.
- 7) Se colocan 2 papeles Whatman y la otra esponja,
- 8) Colocar el sándwich en el contenedor de electroforesis, la parte gris dirigida hacia el cátodo.
- 9) Realizar la transferencia toda la noche a 200 mA a 4 °C o a 400 mA durante 2 horas.
- 10) Una vez finalizada la transferencia, tomar la membrana de nitrocelulosa y teñirla con Rojo de Ponceau para ver la transferencia de proteínas, desteñirla con agua.

INCUBACIÓN CON ANTICUERPOS.

- 11) Durante todo el proceso, la membrana debe estar con las proteínas hacia arriba.
- 12) Bloquear la membrana con BLOTO (TBS+ 5% de leche desnatada) durante 1 hora a temperatura ambiente y en agitación.
- 13) Retirar la solución de bloqueo.

- 14) Incubar la membrana con Anticuerpo primario humano anti UCP 1 o UCP 2 o UCP 3 o β -actina (Abcam Laboratories), la dilución del anticuerpo varía en función del mismo, en BSA 5%-TBS durante toda la noche, en refrigeración y con agitación suave.
- 15) Retirar el anticuerpo primario y lavar la membrana 2 veces con TBS-Tween 0.05 % y 2 veces con TBS (de 15 minutos cada uno) sobre un agitador orbital. Por último, se hacen 2 lavados con TBS para eliminar el Tween.
- 16) Incubar la membrana con Ac Secundario Mouse o Rabbit (Abcam Laboratories) 1:5000 en BSA al 5 %-TBS durante 1 hora, a temperatura ambiente y con agitación suave.
- 17) Retirar el anticuerpo secundario y lavar la membrana 2 veces con TBS-Tween 0.05 % y 2 veces con TBS (8 min cada uno), en agitación fuerte y escurrir perfectamente entre cada lavado
- 18) Sobre un papel plástico transparente se coloca la membrana y se le añade la solución de revelado (Super Signal West de Thermo Scientific).
- 19) Se observa en un analizador para geles Chemidoc MP (Biorad) con incubación de 3 min previa a tomar imágenes.
- 20) Realizar la cuantificación utilizando el programa Image (Biorad).

Apéndice D: Soluciones

- Hidrocloruro de guanidina 0.3 M

Pesar 5.73 g de Hidrocloruro de guanidina, aforar a 200 mL con etanol al 95%.

- SDS al 1.1%

Pesar 0.11 g SDS, aforar a 10 mL con agua destilada.

- TRIS HCL 1M pH 7.5

Pesar 121.1 g Tris Base, aforar a 1000 con agua destilada. Ajustar pH 7.5 con HCL.

- TRIS HCL 1.5 M pH 8.8

Pesar 181.6 g Tris Base, aforar a 1000 con agua destilada. Ajustar pH 8.8 con HCL.

- TRIS 0.5 M pH 6.8

Pesar 60.5 g Tris Base, aforar a 1000 con agua destilada. Ajustar pH 6.8 con HCL.

- Solución Acril-Bisacrilamida al 30%

Pesar 9 g Acrilamida, 1 g Bisacrilamida, aforar a 100 mL con agua destilada. Diluir 50 mL, calentar hasta disolver y aforar a 100 mL.

- SDS al 10 %.

Pesar 10 g SDS, aforar a 100 mL con agua destilada.

- Persulfato de amonio al 10 %.

Pesar 0.1 g de Persulfato de amonio, aforar a 1 mL con agua destilada.

- Buffer de carga

Mezclar 1 mL Glicerol al 10%, 0.00004 g Azul de bromofenol en 1 ml de agua destilada, 2 β mercaptoetanol al 5%, 1 mL SDS al 10%, Tris HCL 50 mM. Preparar 10 mL y alicuotar.

- Buffer de corrida de proteínas

Pesar 14.4 g de Glicina, 3.0 g de Tris base y 1.0 g SDS, aforar a 1000 mL con agua destilada y ajustar a pH 8.3

- Buffer de transferencia

Pesar 14.4 g Glicina y 3.66 g Tris base, aforar a 800 mL con agua destilada. Adicional 200 mL de Metanol al 20% (40 mL metanol y cbp 200 mL con agua destilada).

- TBS pH 7.5

Pesar 5.84g NaCl y 1.21g Tris base, aforar a 1000 mL con agua destilada, ajustar pH 7.5.

- TBS pH 7.5 con Tween.

Pesar 5.84g NaCl y 1.21g Tris base, aforar a 1000 mL con agua destilada, ajustar pH 7.5 y añadir 500 uL de Tween 20.