

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

**Determinación de los niveles proteicos de componentes del
sistema RAS hepático de pacientes con obesidad y su asociación
con citocinas proinflamatorias hepáticas, variables
antropométricas y bioquímicas**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN CIENCIAS GENÓMICAS**

P R E S E N T A :

NORMA ARIZBETH HERNÁNDEZ CORONA

Directora: Dra. Helena Solleiro Villavicencio

Codirectora: Dra. Lucía Angélica Méndez García

**POSGRADO
EN CIENCIAS
GENÓMICAS**

Ciudad de México, octubre de 2024.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

**Universidad Autónoma de la Ciudad de México
Plantel Del Valle**

Integración de Jurado

Presidente Dra. Lilia López Canovas
Secretario Dra. Helena Solleiro Villavicencio
Vocal Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz

DIRECTORA



Dra. Helena Solleiro Villavicencio
Universidad Autónoma de la Ciudad de México

CODIRECTORA



Dra. Lucía Angélica Méndez García
Hospital General de México "Eduardo Liceaga"

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de la Ciudad de México UACM.

Al Posgrado en Ciencias Genómicas de la UACM Plantel del Valle.

Al Hospital General de México “Eduardo Liceaga”.

A mi directora de tesis, la Dra. Helena Solleiro Villavicencio.

A mi codirectora de tesis Dra. Angélica Méndez García.

A mis lectoras, la Dra. Ángeles Concepción Tecalco Cruz, Dra. Elisa Irene Azuara Liceaga y la Dra. Lilia López Cánovas.

Esta investigación fue apoyada por la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación a través del proyecto SECTEI-158-2023 y por el Colegio de Ciencia y Tecnología de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México a través del proyecto UACM CCYT-2023-IMP-06.

Dedicatoria

“Algunos dicen que la suerte está más allá de nuestro control, que no somos dueños del destino, pero yo sé que no es así, nuestro destino vive dentro de nosotros, solo hay que ser valiente para verlo”

- *Valiente (2012).*

A mi hija *Wendy Desirée*. Que, aunque te traje al mundo en una edad temprana para mí, hiciste que todos mis caminos se abrieran de mejor forma, a que tomara más fuerza para lograr todo lo que he logrado hasta la fecha y para darte lo mejor de estos frutos a ti. Gracias que desde mi vientre comprendiste cuando necesitaba concentrarme, caminar largas distancias o dormir, gracias porque entiendes todo lo que hago para que logremos nuestros sueños y te adaptes a todos los procesos que implican para lograrlo. Te mereces todo el cielo y las estrellas, te mereces todo de mí.

A mi mamá *Alma Celia Corona*, por estar siempre a mi lado luchando y persiguiendo mis sueños y metas directa e indirectamente, porque a pesar de todos los altibajos que presentamos en esta vida, siempre encontró la forma de levantarnos a mí y a mi hermana e impulsarnos a alcanzar todo lo que necesitamos y no dudo ni un poco que lo seguirá haciendo hasta el fin de nuestros días. Esta titulación es principalmente gracias a ella. Gracias por nunca dejarme caer, aunque varias veces estuve a punto de hacerlo.

A mi abuelita *Celia Morales Arcos*, porque siempre nos ha apoyado a seguir adelante, nos ha dado consuelo, consejos, sustento y amor cuando más lo necesitamos, la “célula madre” de toda nuestra familia.

A mi abuelo Victor que desde que soy una niña también me ha apoyado en todo lo que necesito, creando una figura paterna a lo largo de mi vida.

A mi hermana *Ingrid Desirée* por apoyarme en todo el proceso en el que estuve en la carrera, cuidando de mi hija, amándola y aconsejándola, ese para mí es el acto más puro de amor que me puedes dar como hermana, no dudes que siempre te lo regresaré.

A mi pareja *Alejandro Moyeda*, que conocí desde que entramos a nuestras respectivas carreras; me da mucha alegría que ambos sigamos juntos y apoyándonos hasta hoy en día. Te agradezco todo el amor, paciencia e impulso en todos nuestros momentos y hasta en los más difíciles, me has demostrado que juntos aprendemos mucho más mutuamente y que somos un gran equipo.

A mi mejor amiga y hermana de otra mamá, *Kenia Sánchez* por estar presente en cada etapa de mi vida por casi 15 años y ser un pilar importante en todos mis logros.

A mis amigas Karen y Mónica por todo el apoyo y ánimos durante la carrera y hasta ahora; siempre van a estar presentes en mi vida, son una pieza importante en ella y el símbolo de una verdadera amistad.

A mi tutora de Tesis la *Dra. Helena Solleiro Villavicencio* por enseñarme a ser mejor profesionala transmitiendo de una manera muy bonita y paciente todo su conocimiento y, además, a brindarme su ayuda para encontrar apoyos personales y empatía cuando más lo necesitaba. Todo mi respeto y admiración a usted como profesionala y persona.

A mi codirectora la *Dra. Lucía Angelica* por apoyarme y abrirme las puertas en este proyecto importante para todo el equipo. Por la guía y conocimiento durante todo este camino. También le doy todo mi respeto y admiración tanto en lo profesional como en lo humano.

Índice

Jurado	2
Agradecimientos.....	3
Dedicatoria.....	4
Índice	5
Índice de Tablas.....	7
Índice de figuras	8
1. Abreviaturas.....	9
2. Resumen	10
3. Introducción.....	12
3.1. Obesidad.....	12
3.2. Enfermedades asociadas con la obesidad.....	13
3.2.1 Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)	13
3.2.2 Hipertensión Arterial Sistémica (HAS).....	15
3.2.3 Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño (SAOS).....	16
3.2.4 Enfermedad Hepática Esteatósica Asociada a Disfunción Metabólica (MASLD)	17
3.3 Fisiología hepática	17
3.3.1 Lobulillo hepático.....	20
3.4 Enfermedades hepáticas asociadas con la obesidad	21
3.4.1 Enfermedad hepática esteatósica asociada a disfunción metabólica (MASLD)	22
3.5 Sistema Renina- Angiotensina- Aldosterona (RAAS).....	23
4 Antecedentes Particulares.....	25
4.2 Enzima convertidora de Angiotensina (ACE)	25
4.3 Enzima convertidora de Angiotensina 2 (ACE2)	26
4.4 Angiotensina 2 (Ang2)	28
4.5 Angiotensina 1-7 (Ang 1-7).....	29
4.6 El RAAS hepático.....	30
4.7 Asociación de RAAS, obesidad y MASLD.....	33
5 Hipótesis	37
6 Justificación	37
7 Objetivos.....	38
8 Estrategia experimental	39
9 Materiales y métodos.....	40
9.2 Sujetos y muestras de hígado.....	40
9.3 Cuantificación de las proteínas ACE, ACE2, Ang 1-7 y Ang2.....	40
9.4 Cuantificación de las citocinas hepáticas por inmunoensayo con perlas magnéticas (LUMINEX)	41
9.5 Análisis estadístico	42
10 Resultados.....	43

10.2	Análisis descriptivo de las variables antropométricas y bioquímicas de los pacientes con obesidad.....	43
10.3	Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con obesidad	44
10.4	Niveles de expresión hepática de moléculas clave de la vía RAAS en personas con obesidad mórbida con y sin HAS.....	45
10.5	Análisis de correlación de citocinas y moléculas clave de RAAS: ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7	46
10.6	Análisis de regresión lineal múltiple para la determinación de los principales predictores de los niveles hepáticos de ACE en los pacientes con obesidad mórbida	50
11	Discusión	51
12	Conclusión	57
13	Referencias	60

Índice de tablas

Tabla 1. Principales Funciones hepáticas

Tabla 2. Características bioquímicas y antropométricas de los pacientes con obesidad

Tabla 3. Porcentaje de comorbilidades de la población de estudio estratificado por sexo

Tabla 4. Análisis de correlación de citocinas con moléculas clave de la vía RAAS

Tabla 5. Análisis de correlación de la población de estudio estratificado por sexo de citocinas contra moléculas clave de la vía RAAS

Tabla 6. Modelo de regresión lineal múltiple para determinar los principales predictores de los niveles hepáticos de ACE en la población de estudio

Índice de figuras

Figura 1. Representación de un hígado sano

Figura 2. Principales estructuras del lobulillo hepático

Figura 3. Evolución patológica de un hígado sano a hepatocarcinoma

Figura 4. Sistema RAAS y sus dos vías

Figura 5. Estructura tridimensional de la proteína ACE

Figura 6. Proteína ACE2

Figura 7. Estructura química en 2D de la angiotensina 2

Figura 8. Estructura química en 2D de la angiotensina 2

Figura 9. Análisis de correlación de proteínas de la vía RAAS en pacientes con obesidad con y sin HAS.

Figura 10. Análisis de correlación de los niveles proteicos hepáticos de citocinas y ACE

Figura 11. Resultados de los análisis de correlación entre componentes de RAAS y citocinas

Figura 12. Resultados del modelo de regresión lineal múltiple

1. Abreviaturas

ACE	Enzima Convertidora de Angiotensina.
ACE2	Enzima Convertidora de Angiotensina 2.
Ang 1-7	Angiotensina 1-7.
Ang2	Angiotensina 2.
AT1R	Receptor de angiotensina 2 tipo 1.
AT2R	Receptor de angiotensina 2 tipo 2.
DM2	Diabetes mellitus tipo 2.
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas.
GGT	Gamma-Glutamil Transferasa.
HFHC	Alto Carbohidrato.
HAS	Hipertensión arterial sistémica.
HDL	Lipoproteína de Alta Densidad.
IL-4	Interleucina 4.
IL-6	Interleucina 6.
IL-10	Interleucina 10.
IL-13	Interleucina 13.
IMC	Índice de masa corporal.
LDL	Lipoproteína de Baja Densidad.
MASH	Esteatohepatitis.
MASLD	Enfermedad hepática esteatótica asociada a disfunción metabólica.
MasR	Receptor MAS.
MHC	Péptidos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
NAFLD	Enfermedad del hígado Graso No Alcohólico.
OMS	Organización mundial de la salud.
R	Coefficiente de correlación de Pearson.
R2	Coefficiente de determinación.
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona.
SAOS	Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño.
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral alfa.

2. Resumen

La obesidad es una enfermedad multifactorial que se deriva por una acumulación anormal de grasa en el organismo y es ocasionada por un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas por el aumento de la ingesta de los alimentos con alto contenido calórico y que son ricos en grasas.

Debido a los trastornos físicos y metabólicos que causa la obesidad, es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, trastornos del aparato locomotor y enfermedades hepáticas como la enfermedad hepática esteatósica asociada a disfunción metabólica (MASLD), antes conocida como enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD).

La MASLD se asocia con trastornos metabólicos como la obesidad y existen evidencias de que las alteraciones en el equilibrio del sistema renina- angiotensina- aldosterona (RAAS) tanto hepático como sistémico, pueden contribuir a la fisiopatología de la MASLD entre otras.

Además, se ha evidenciado que existe una relación entre la expresión de ACE2 y algunos marcadores séricos de daño hepático, y que este gen puede estar parcialmente regulado por citocinas como IL-13 o IL-4.

Para comprender a mayor profundidad las características del RAAS hepático en la obesidad y su asociación con citocinas, variables antropométricas y bioquímicas; en el presente estudio se analizaron los niveles proteicos de ACE2 y otros componentes de este sistema, como lo son ACE, Ang2 y Ang 1-7. Para ello, se recolectaron y analizaron 70 muestras de hígado de personas con obesidad que se sometieron a cirugía bariátrica, y se cuantificaron los niveles de dichos componentes, mediante kits comerciales de inmunoensayos enzimáticos (ELISA). Se realizaron los análisis estadísticos en grupos por sexo, grado de obesidad, presencia o ausencia de comorbilidades asociadas a la obesidad como HAS, SAOS, MASLD y DM2.

Posteriormente se obtuvieron coeficientes de correlación de las variables bioquímicas, clínicas y antropométricas, así como de interleucinas 6,4,10, 13 y TNF- α versus los niveles proteicos de ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7 y finalmente un análisis multivariado entre ACE2 y las citocinas.

Con este proyecto se evidencia que existe una relación entre la expresión de ACE2 y algunas citocinas en el daño hepático y que sus niveles proteicos pueden estar parcialmente regulados por las citocinas IL-13 o IL-4. Ya que al obtener los niveles proteicos y hacer los análisis de correlación y el multivariado se pudo evidenciar que ACE2 puede ser dependiente de los niveles proteicos de estas citocinas en el organismo de una persona con obesidad.

La información y resultados que se obtuvieron en este proyecto sentará un precedente para el desarrollo de una nueva línea de investigación que servirá para desarrollar mejores estrategias terapéuticas para prevenir el desarrollo o progresión de enfermedades hepáticas en personas con obesidad.

3. Introducción

3.1 Obesidad

La obesidad es una enfermedad multifactorial ocasionada por un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas que se debe al aumento de la ingesta de los alimentos con alto contenido calórico y que son ricos en grasas; en consecuencia, esta enfermedad causa la acumulación anormal de grasa y una inflamación crónica de bajo grado a nivel sistémico y local, por el incremento del tejido adiposo del cuerpo. Esta enfermedad se puede desarrollar con mayor facilidad con el descenso de la actividad física y un nivel de vida más sedentario. Las características o también llamados *hallmarks* de la obesidad son múltiples e incluye el exceso de grasa corporal, la resistencia a la insulina, inflamación crónica, estrés oxidativo, aumento de la presión arterial, el aumento del riesgo cardiovascular (IASO, 2022).

La obesidad se asocia con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, como la aterosclerosis y el infarto de miocardio y el impacto negativo en la calidad de y puede afectar negativamente la calidad de vida, la autoestima y la salud mental.

Es importante agregar que cada individuo puede tener *hallmarks* de manera diferente y no todos a la vez, ya que la obesidad es un estado complejo que implica múltiples factores.

En muchos países, gran parte de su población tiene obesidad, y esta cobra la vida de muchas personas. En el 2016 la OMS hizo un censo donde se informó que el 39% adultos a partir de los 18 años tenían sobrepeso, y el 13% eran obesos; 340 millones de niños y adolescentes de entre 5 a 19 años con sobrepeso y obesidad y 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos (OMS, 2016).

De igual forma en el 2016, el gobierno de México informó que el 70% de la población mexicana padece sobrepeso y una tercera parte sufre obesidad; además, esta enfermedad se asocia con enfermedades cardiovasculares, trastornos óseos, musculares, obesidad y diabetes (GOBMEX, 2016).

El diagnóstico de la obesidad se basa en el cálculo del índice de masa corporal (IMC), que se calcula dividiendo el peso de una persona en kilogramos por el cuadrado de su altura en metros, y se utiliza para categorizar el peso corporal en rangos como bajo peso, peso normal, sobrepeso y obesidad. (OMS, 2016). Se considera sobrepeso cuando hay un IMC igual o superior a 25, y para la obesidad un IMC igual o superior a 30. Debido a los trastornos físicos

y metabólicos que causa la obesidad, es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, trastornos del aparato locomotor y enfermedad hepática esteatósica asociada a disfunción metabólica (MASLD).

3.2 Enfermedades asociadas con la obesidad

La obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de varias enfermedades crónicas. La relación entre la obesidad y estas condiciones se debe en gran parte a los efectos adversos del exceso de grasa corporal en diversos sistemas y órganos del cuerpo.

La prevalencia de la obesidad ha aumentado dramáticamente en las últimas décadas, como ha informado la OMS, afectando a millones de personas en todo el mundo. Este incremento se ha asociado con un aumento significativo en la incidencia de diversas enfermedades crónicas que afectan la calidad y la expectativa de vida de los individuos. Entre las patologías más graves se encuentran la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la hipertensión arterial sistémica (HAS), el síndrome de apnea obstructiva del sueño, así como la MASLD.

3.2.1 Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)

La Diabetes Mellitus Tipo 2 es una enfermedad crónica que se caracteriza por niveles extremadamente altos de la glucosa en la sangre por la existencia de una resistencia a la insulina por parte del páncreas. La insulina es una hormona que facilita la entrada de glucosa en las células para ser utilizada como fuente de energía. En esta enfermedad, esta función se ve comprometida, por lo cual lleva a una acumulación de glucosa en el torrente sanguíneo. La etiología de la DM2 es multifactorial ya que incluye factores genéticos y ambientales que incluye una dieta inadecuada por el consumo excesivo de calorías, grasas saturadas y azúcares y el sedentarismo por falta de actividad física regular. Los factores socioeconómicos por el acceso limitado a alimentos saludables y recursos para la actividad física, además que por la edad el riesgo aumenta.

Es una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial y su incidencia ha aumentado de manera alarmante en las últimas décadas. Según la Federación Internacional de Diabetes (IDF), en 2021 aproximadamente 537 millones de adultos vivían con diabetes, la mayoría de ellos con DM2 (International Diabetes Federation, 2021). Además, la IDF advirtió que esta cifra aumentará a 643 millones para 2030 y a 783 millones para 2045. La DM2 es más común

en países de ingresos medios y bajos, y su prevalencia es mayor en áreas urbanas en comparación con las rurales (International Diabetes Federation, 2021).

En particular la DM2, es una de las enfermedades más comúnmente asociadas con la obesidad. La obesidad contribuye a la resistencia a la insulina, una condición en la cual las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina, lo que lleva a niveles elevados de glucosa en la sangre. El riesgo de desarrollar dicha patología aumenta significativamente con el incremento del índice de masa corporal (IMC).

La relación entre estas dos enfermedades se debe a varios mecanismos, como la resistencia a la insulina y la inflamación crónica. En personas obesas, el tejido adiposo produce citocinas inflamatorias que contribuyen a la resistencia a la insulina.

La disfunción de las células beta pancreáticas también es importante porque en personas obesas, estas células son responsables de producir la insulina y pueden volverse disfuncionales debido al estrés metabólico (International Diabetes Federation, 2021).

La diabetes no controlada puede llevar a complicaciones graves, incluyendo enfermedad cardiovascular, y neuropatías. En personas con obesidad y DM2, el aumento de la resistencia a la insulina promueve la acumulación de grasa en el hígado y esta acumulación puede progresar de una simple esteatosis (acumulación de grasa sin inflamación) a esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH), una condición más grave que incluye inflamación y daño hepático. Si no se controla, la MASH puede evolucionar a cirrosis e incluso a cáncer hepático.

El índice de personas con MASLD en pacientes con DM2 es alta, ya que se ha calculado que el 55% de las personas con DM2 también tienen MASLD, y si además tienen obesidad, este porcentaje asciende al 90%. La coexistencia de MASLD y diabetes tipo 2 también puede complicar el manejo de ambas condiciones, ya que la MASLD puede empeorar el control glucémico y aumentar el riesgo de complicaciones cardiovasculares (Clinical Diabetes and Endocrinology, 2020).

3.2.2 Hipertensión Arterial Sistémica (HAS)

La Hipertensión Arterial Sistémica es una condición crónica donde la presión arterial en las arterias se encuentra muy alta y persiste. La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias mientras el corazón bombea (Chobanian *et al.*, 2003). Se considera que una persona tiene hipertensión cuando sus niveles de presión arterial son consistentemente iguales o superiores a 140/90 mmHg (Chobanian *et al.*, 2003). Esta patología es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares si no se trata adecuadamente, ya que puede ocasionar un infarto de miocardio o accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal.

La etiología de la HAS al igual que la mayoría de las enfermedades asociadas con la obesidad es multifactorial, y también aumentan su riesgo con la edad. Entre los factores ambientales importantes para el desarrollo de esta enfermedad, se encuentran el consumo de sodio y el consumo de alcohol. El exceso de sodio en la dieta puede llevar a la retención de líquidos, lo que incrementa el volumen sanguíneo y, en consecuencia, la presión arterial. Por otro lado, el consumo excesivo de alcohol puede causar vasoconstricción y aumentar la actividad del sistema nervioso simpático, elevando también la presión arterial. Estos efectos negativos sobre la presión arterial se agravan cuando se combinan con el estrés, que puede desencadenar respuestas fisiológicas adicionales como la liberación de hormonas del estrés (como el cortisol), aumentando aún más la presión arterial. Por lo tanto, la combinación de una dieta alta en sodio, el consumo de alcohol y el estrés puede contribuir significativamente al desarrollo y la exacerbación de la hipertensión.

La HAS no controlada puede provocar daños en órganos vitales como el corazón, los riñones y el cerebro, y es un factor de riesgo importante para enfermedades cardiovasculares como el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular (Kim, S., y Park, H., 2018).

El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAAS) es importante en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de líquidos porque puede estar hiperactivado, lo que contribuye a la elevación de la presión arterial. Aquí en conjunto con la obesidad la renina puede aumentar la liberación de renina y sobre la angiotensina 2, que es una hormona que causa vasoconstricción y estimula la liberación de aldosterona puede elevar la presión arterial al estrechar los vasos sanguíneos.

En individuos que padecen obesidad, la actividad del RAAS es más elevada, contribuyendo así a la generación de la HAS. Además, la obesidad induce cambios en el tejido adiposo que promueven la activación del RAAS, como el aumento de la producción de angiotensinógeno por los adipocitos (International Diabetes Federation, 2021). Además, se sabe que existe una asociación entre la MASLD y la HAS, que se explica a través de varios mecanismos. En la MASLD se induce inflamación sistémica al acumular triglicéridos y causar daño a los hepatocitos, lo que a su vez promueve la producción de citocinas proinflamatorias. Esta inflamación puede activar el sistema nervioso simpático (SNS) y el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), ambos vinculados al desarrollo de la HAS. Además, la MASLD está asociada con resistencia a la insulina (IR), lo que agrava la hipertensión al promover la vasoconstricción y la retención de sodio y agua. Por otra parte, el estrés oxidativo, incrementado en la MASLD, también contribuye a la hipertensión al afectar la función endotelial y aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (Brown, L., y Green, P., 2019; Zhao, Y.C., *et al.* 2020).

3.2.3 Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS)

El síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) es un trastorno que se caracteriza por interrupciones repetidas de la respiración durante el sueño, lo que conduce a una mala calidad del sueño y diversos problemas de salud. Durante estos episodios de apnea, los músculos de la garganta se relajan excesivamente, causando una obstrucción parcial o completa de las vías respiratorias. Esta condición provoca ronquidos muy fuertes y sensaciones de ahogo que pueden despertar al individuo. La obesidad es el principal factor de riesgo para el SAOS debido a la acumulación de grasa en el área del cuello y la garganta, que puede obstruir las vías respiratorias. Otros factores de riesgo incluyen el envejecimiento, el género masculino, el consumo de alcohol y tabaco, y la anatomía de las vías respiratorias superiores (Williams, R., y Taylor, D., 2017).

El SAOS no solo afecta la calidad del sueño, sino que también se asocia con un mayor riesgo de HAS, enfermedad cardiovascular y DM2. Las interrupciones frecuentes en la respiración provocan estrés en el sistema cardiovascular, lo que puede conducir a la elevación persistente de la presión arterial. Además, el SAOS está vinculado a la inflamación crónica y a la resistencia a la insulina, ambos factores contribuyen al desarrollo de enfermedades

metabólicas. El tratamiento del SAOS puede incluir cambios en el estilo de vida, como la pérdida de peso y la evitación de alcohol y sedantes, así como el uso de dispositivos de presión positiva continua en las vías respiratorias (CPAP) y, en algunos casos, cirugía. La detección y el tratamiento adecuados del SAOS son cruciales para mejorar la calidad de vida del paciente y reducir el riesgo de complicaciones graves a largo plazo (Williams, R., y Taylor, D., 2017).

3.2.4 Enfermedad Hepática Esteatósica Asociada a Disfunción Metabólica (MASLD)

MASLD es el término general de un espectro de patologías hepáticas, que va desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (MASH) cuando en el hígado también hay fibrosis e inflamación de células del hígado (Anderson, H., Clark, R., 2020). El sobrepeso y la obesidad son algunos de los principales factores de riesgo para desarrollar la MASLD, la cual se considera la enfermedad hepática crónica más prevalente a nivel mundial. El principal impulsor de la MASLD es el tejido adiposo visceral disfuncional. Es raro que la MASLD se desarrolle en ausencia de acumulación de grasa visceral, y probablemente representa una entidad distinta. A pesar de que el IMC es un indicador pobre de adiposidad visceral y se observa frecuentemente una adiposidad visceral aumentada como un factor subyacente en personas con MASLD que son consideradas delgadas, las personas con sobrepeso u obesidad tienen un alto riesgo de desarrollar MASLD en comparación con las personas delgadas (Francque, S.M. y Dirinck, E., 2023). En el contexto de este estudio, se abordará en las siguientes secciones una explicación sobre la fisiología hepática, así como las principales afecciones que puede experimentar, especialmente en relación con la obesidad.

3.3 Fisiología hepática

El hígado pesa entre 1,200 y 1,500 g y recibe la sangre portal que drena el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el páncreas y el bazo. Este tiene un papel fundamental en el manejo de los nutrientes asimilados por el intestino delgado (Boron, *et al*, 2017). El hígado también sintetiza muchas sustancias esenciales de manera regulatoria para las

demandas metabólicas del organismo, como albúmina, factores de la coagulación y otras proteínas plasmáticas como lo son la glucosa, el colesterol, los ácidos grasos y los fosfolípidos.

Los productos de los alimentos digeridos, como hidratos de carbono, péptidos, vitaminas y algunos lípidos, son extraídos de la sangre por el hígado (**tabla 1**). Dependiendo de las necesidades metabólicas del organismo, estos sustratos pueden almacenarse en los hepatocitos o liberarse al torrente sanguíneo (p. ej., la glucosa) o bien, ser asociados con una molécula transportadora (p. ej., una molécula de triacilglicerol unida a una lipoproteína) (Boron, *et al*, 2017).

Un tipo de célula importante en el hígado para muchas funciones vitales son los hepatocitos, que son las células parenquimatosas principales y llevan a cabo las funciones específicas del hígado. Los hepatocitos son responsables de la síntesis de proteínas, produciendo varias proteínas esenciales como la albúmina, clave para mantener la presión osmótica del plasma sanguíneo. También participan en la síntesis de factores de coagulación como la protrombina y el fibrinógeno, desempeñando un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis corporal y la salud general del organismo.

El 6% del volumen del parénquima hepático está formado por células diferentes a los hepatocitos, como células endoteliales que tapizan los canales vasculares o sinusoides (2,8%), las células de Kupffer (2,1%) y las células estrelladas (1,4%) (Boron, *et al*, 2017).

Todas estas células forman una estructura fenestrada con extensiones somáticas y citoplasmáticas. Los solutos plasmáticos, no así las células hemáticas, pueden acceder libremente al espacio de Disse a través de los poros o fenestraciones de las células endoteliales. Algunas pruebas indican que las fenestraciones pueden regular el acceso al espacio perisinusoidal de Disse por medio de su capacidad contráctil (Boron, *et al*, 2017).

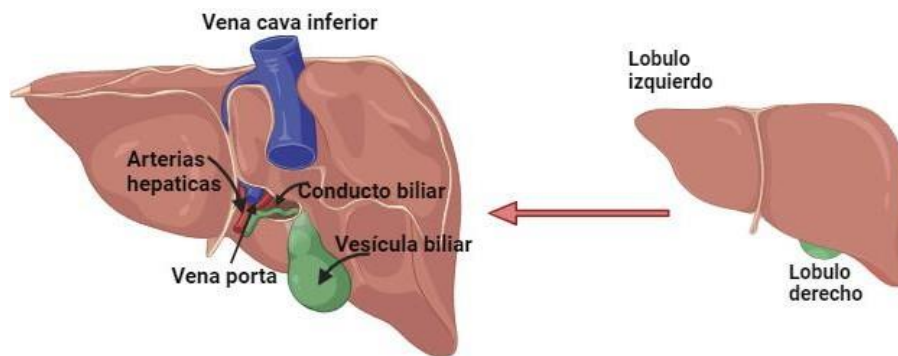


Figura 1. Representación de un hígado sano. De lado derecho se observa la estructura del hígado sano con sus respectivos lóbulos izquierdo y derecho, mientras que de lado izquierdo se observa la estructura interna del hígado, donde se aprecia la vesícula biliar (verde), la vena cava (azul) y sus arterias, venas y conductos biliares. Creado con BioRender.com.

El hígado puede metabolizar compuestos que acceden por la circulación portal y la circulación sistémica. Entre estos compuestos se encuentran moléculas endógenas (sales biliares) y moléculas exógenas (fármacos y toxinas). Las células encargadas de dicho metabolismo son los hepatocitos, los cuales procesan moléculas mediante cuatro pasos principales:

- 1) El hepatocito importa el compuesto del torrente sanguíneo a través de su membrana basolateral.
- 2) Transporta el material orgánico de los fármacos dentro de la célula.
- 3) Modifica o degrada compuestos endógenos y exógenos intracelularmente
- 4) Excreta la molécula o sus productos a la bilis a través de la membrana apical.

Tabla 1. Principales Funciones hepáticas

Tipo de Nutriente	Funciones Hepáticas	Referencias
Carbohidratos	<ul style="list-style-type: none"> - Almacena glucógeno como reserva de energía. - Convierte la galactosa y fructosa en glucosa. - Realiza gluconeogénesis. - Regula la glucemia mediante glucogenólisis y gluconeogénesis. 	Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). <i>Textbook of Medical Physiology</i> . Elsevier Saunders.
Proteínas	<ul style="list-style-type: none"> - Sintetiza proteínas plasmáticas como albúmina y factores de coagulación. - Convierte el amoníaco en urea (ciclo de la urea). - Metaboliza y sintetiza aminoácidos no esenciales. 	Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2014). <i>Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease</i> . Elsevier Saunders.
Lípidos	<ul style="list-style-type: none"> - Sintetiza y degrada ácidos grasos. - Gluconeogénesis - Produce colesterol y lipoproteínas. - Almacena y libera triglicéridos. 	Friedman, S. L. (2008). "Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis." <i>Gastroenterology</i> .
Vitaminas	<ul style="list-style-type: none"> - Almacena vitaminas liposolubles (A, D, E, K) y vitamina B12. - Contribuye a la activación de la vitamina D. 	Sherwood, L. (2012). <i>Human Physiology: From Cells to Systems</i> . Cengage Learning.
Minerales	<ul style="list-style-type: none"> - Almacena minerales como hierro y cobre. - Regula la producción de proteínas para el transporte de minerales. 	Sherwood, L. (2012). <i>Human Physiology: From Cells to Systems</i> . Cengage Learning.

3.3.1 Lobulillo hepático

El lobulillo hepático es la unidad estructural y funcional básica del hígado. Se trata de una región hexagonal que se encuentra organizada alrededor de una vena central (Junqueira, L. C., *et al.*,2014). Cada lobulillo está compuesto por hepatocitos, los principales tipos de células hepáticas, dispuestos en cordones radiales que irradian desde la vena central hacia la periferia del lobulillo (**figura 2**). Entre estos cordones se encuentran las sinusoides hepáticas, que son capilares especializados por donde fluye la sangre mixta (venosa y arterial) (Junqueira, L. C., *et al.*,2014).

Las estructuras principales del lobulillo hepático son:

-Vena Central: Situada en el centro del lobulillo, drena la sangre que ha pasado a través de las sinusoides hepáticas. (Ross, M. H., *et al.*, 2015).

-Hepatocitos: Células hepáticas que realizan la mayoría de las funciones metabólicas del hígado (Ross, M. H., *et al.*, 2015).

-Sinusoides Hepáticos: Espacios vasculares que permiten el intercambio de sustancias entre la sangre y los hepatocitos (Ross, M. H., *et al.*, 2015).

-Espacios de Disse: Espacios perisinusoidales donde ocurre el intercambio de materiales entre los hepatocitos y la sangre (Ross, M. H., *et al.*, 2015).

-Triada Portal: En los ángulos de los lobulillos, compuesta por una rama de la arteria hepática, una rama de la vena porta y un conducto biliar. (Ross, M. H., *et al.*, 2015).

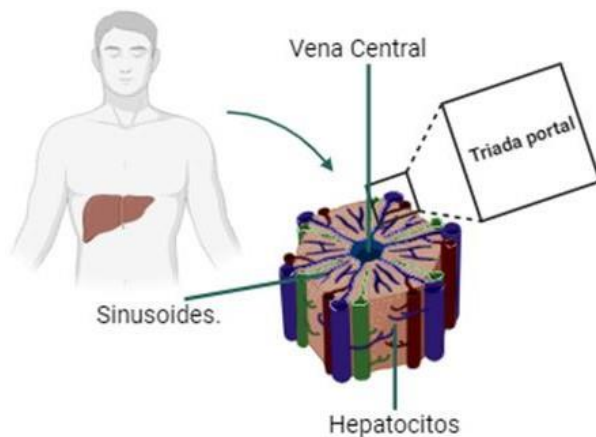


Figura 2. Principales estructuras del lobulillo hepático. El lobulillo hepático, la unidad funcional del hígado, está compuesto por hileras de hepatocitos organizadas en forma radial alrededor de la vena central. Entre las hileras de hepatocitos se encuentran las sinusoides hepáticas, donde fluye la sangre desde el triado portal hacia la vena central. El triado portal está formado por una rama de la arteria hepática, una rama de la vena porta y un conducto biliar. Creado con BioRender.com.

3.4 Enfermedades hepáticas asociadas con la obesidad

Los factores involucrados en la generación de las enfermedades hepáticas son el inadecuado consumo de nutrientes, el compromiso en la digestión y la absorción, disfunciones metabólicas, y la alteración en la capacidad hepática de almacenamiento de nutrientes (Boron, *et al.*, 2017).

La obesidad es un factor de riesgo para desarrollar enfermedades hepáticas por varios factores interrelacionados como lo son el exceso de grasa corporal que lleva a la acumulación de grasa en las células hepáticas, la resistencia a la insulina, que también puede contribuir al depósito de grasa en el hígado, y la inflamación sistémica del mismo órgano. Las enfermedades

hepáticas metabólicas representan otro grupo significativo de condiciones asociadas con la obesidad y la acumulación de grasa en el hígado puede llevar a una serie de patologías hepáticas que varían en gravedad como la MASLD, una de las enfermedades hepáticas más frecuentes.

3.4.1 Enfermedad hepática esteatótica asociada a disfunción metabólica (MASLD)

Como anteriormente se mencionó, la MASLD es un trastorno hepático caracterizado por la acumulación de grasa en el hígado en ausencia de consumo de alcohol. La patogénesis de la MASLD es multifactorial, es decir, que involucra factores de la vida cotidiana como la alimentación, el ambiente, la actividad física y factores como la genética (Anderson, H., Clark, R., 2020). Además, esta enfermedad se ha asociado con la obesidad, y la diabetes tipo 2.

MASLD es el término general de un espectro de patologías hepáticas, que va desde la esteatosis simple hasta una MASH cuando en el hígado también hay fibrosis e inflamación de células del hígado (Anderson, H., Clark, R., 2020). La enfermedad MASLD activa puede evolucionar a una lesión hepática más grave y en última instancia a la cirrosis. La cirrosis constituye un estado patológico muy avanzado del hígado, y se caracteriza por la formación de tejido cicatricial que reemplaza al tejido hepático sano. Este proceso ocurre poco a poco y puede ser el resultado de diversas enfermedades hepáticas crónicas, pero también en estas condiciones, el hígado puede seguir funcionando (cirrosis compensada). Sin embargo, otras personas con cirrosis evolucionarán a una función hepática deficiente (cirrosis descompensada).

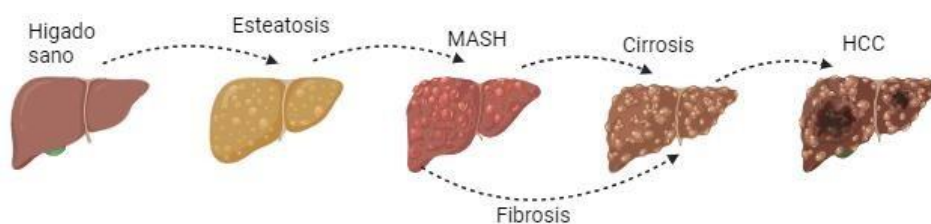


Figura 3. Evolución patológica de un hígado sano a hepatocarcinoma. Comenzando de izquierda a derecha se observa un hígado sano, que con el avance de la patología progresa a una esteatosis simple, posteriormente a una MASH (Esteatohepatitis) y pasando a una cirrosis donde también se desencadena la patogenia de fibrosis, hasta llegar a la etapa más crónica que es la HCC (Hepatocarcinoma). Creado con BioRender.com.

El diagnóstico de la MASLD se hace a través de una biopsia hepática y se determina que el paciente tiene la enfermedad cuando la grasa hepática excede el 5% de su peso, que correlaciona con la cantidad de hepatocitos llenos de grasa en el citoplasma (Sahuquillo Martínez A., *et al.*, 2020). El desarrollo de la MASLD se ha asociado con la DM2, la obesidad, la hipertrigliceridemia, la HAS, la hiperuricemia y la enfermedad de ovario poliquístico, que son enfermedades en las que predominan mecanismos patológicos como la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la inflamación, pero también existen otros factores secundarios que promueven el desarrollo de esta entidad patológica, como el uso de drogas, toxinas ambientales o la nutrición parenteral (Sahuquillo Martínez A., *et al.* 2020). Además, recientemente diversos grupos de investigación han reportado una relación entre MASLD y el sistema RAAS, ya que se ha demostrado activación y niveles altos de ciertos componentes del sistema RAAS en el hígado de pacientes con MASLD (Badr A.M., *et al.*, 2023).

El sistema RAAS puede contribuir al desarrollo y progresión de la MASLD mediante varios mecanismos: promueve la inflamación y fibrosis hepática al estimular la producción de citocinas proinflamatorias y activar células estrelladas hepáticas responsables de la cicatrización del hígado; facilita la acumulación de grasa hepática al aumentar la síntesis de lípidos y reducir la oxidación de ácidos grasos; y contribuye a la resistencia a la insulina debido a los efectos negativos de la angiotensina 2 sobre la sensibilidad a la insulina en diversos tejidos, incluyendo el hígado (Brilla, C. G., *et al.*, 2017).

3.5 Sistema Renina- Angiotensina- Aldosterona (RAAS)

El RAAS, es un sistema hormonal que sirve para regular diversas funciones en el organismo como lo son la presión arterial, la inflamación y la vasodilatación (Chappell MC 2012). Este sistema cuenta con dos ejes que han sido identificados tanto en la circulación como en los sistemas locales. El RAAS clásico se puede definir como el eje ACE-Ang2 -AT1R que promueve la vasoconstricción, la ingesta de agua, la retención de sodio y otros mecanismos para mantener la presión arterial, así como aumentar el estrés oxidativo, la fibrosis, el crecimiento celular y la inflamación en condiciones patológicas (Chappell M.C., 2012). Por su parte, el RAAS no clásico está compuesto principalmente por la vía Ang2/Ang III-AT2R y el eje ACE2-Ang 1-7 -AT2R. Generalmente se opone a las acciones de un Ang2 -AT1R,

estimulando el eje a través de un aumento del óxido nítrico y las prostaglandinas, mediante la vasodilatación y una reducción del estrés oxidativo (**figura 4**) (Henríquez, Palop, 2007).

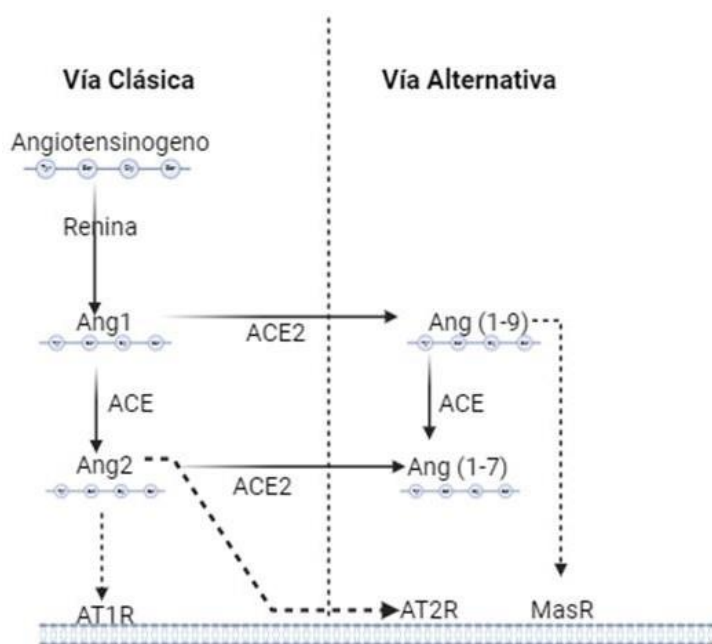


Figura 4. Sistema RAAS y sus dos vías. Representación esquemática del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) mostrando sus dos principales vías: la vía clásica (izquierda), que incluye la conversión de angiotensinógeno a angiotensina I (Ang) por acción de la renina, y de Ang a angiotensina 2 (Ang2), a través de la enzima convertidora de angiotensina (ACE). La Ang2 se une a los receptores AT1R y AT2R. La vía alternativa (derecha), que involucra la conversión de Ang2 en angiotensina 1-7 (Ang 1-7) mediante la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). La Ang 1-7 se une a sus receptores AT2R y MasR. Estas vías tienen efectos antagónicos sobre la regulación de la presión arterial, la homeostasis de líquidos y electrolitos, y la modulación de la inflamación y la fibrosis. Creado con BioRender.com

La presencia de un RAAS biológicamente activo en el hígado está respaldada por el hecho de que se han identificado múltiples componentes clave del RAAS en el hígado (Herath, 2007 ; Zhang 2013). Además, existe evidencia de que la desregulación del RAAS hepático condiciona el desarrollo de MASLD (Chappell MC 2012).

4. Antecedentes Particulares

4.1 Enzima convertidora de Angiotensina (ACE)

La enzima convertidora de angiotensina (ACE) es una metalopeptidasa de zinc conservada evolutivamente, compuesta por dos dominios enzimáticos: un dominio N-terminal y un dominio C-terminal, cada uno con un sitio activo capaz de hidrolizar péptidos. En los vertebrados, ACE se presenta en dos isoformas con distribuciones tisulares distintas (Riviere G, 2007), un ejemplo de su estructura química vista bidimensional y tridimensionalmente se muestra en la **figura 5**.

Esta enzima posee características fisicoquímicas que le permiten regular funciones cruciales en el organismo, sin embargo, su actividad puede ser influenciada por variaciones en el pH, la temperatura y la concentración de iones de zinc.

ACE es capaz de hidrolizar una amplia variedad de péptidos, actuando como peptidil dipeptidasa (carboxidipeptidasa) en el caso de sustratos como Ang, o como endopeptidasa en el caso de la sustancia P o la hormona liberadora de hormona luteinizante (Skidgel RA, 1984).

ACE puede actuar como endopeptidasa o carboxipeptidasa de tripéptidos, cortando dipéptidos o tripéptidos amida en el extremo C-terminal. Los dominios C y N de ACE tienen actividades catalíticas similares hacia angiotensina I, bradiquinina y sustancia P, aunque la actividad del dominio C-terminal depende de la concentración de cloruro, mientras que el dominio N-terminal es activo incluso en ausencia de cloruro (Tzakos, A.G., *et al.*, 2003).

Está presente en varios tejidos del cuerpo humano y su expresión puede variar en diferentes niveles dependiendo del tejido y del nivel fisiológico de la persona:

1. Los pulmones son uno de los principales sitios de expresión de la ACE y tiene efectos sobre la vasoconstricción pulmonar y la regulación de la presión arterial en la circulación pulmonar.
2. En el endotelio vascular, donde tiene un papel importante en la regulación del tono vascular y la presión arterial.
3. En los túbulos renales y en los glomérulos del riñón participa en la regulación del equilibrio de fluidos y electrolitos y en la homeostasis de la presión arterial a través de la angiotensina 2.

4. En el tejido cardíaco donde contribuye a la regulación de la presión arterial y la función cardíaca por la conversión de angiotensina en angiotensina 2.
5. En el sistema nervioso central, donde puede desempeñar un papel en la regulación de la presión arterial y la función cerebral.
6. En el hígado participa en la conversión de la angiotensina en angiotensina 2, lo que tiene efectos importantes en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de líquidos y electrolitos en el cuerpo.
7. En los macrófagos, tiene muchas funciones que afectan el metabolismo celular y la respuesta inmune de las células mieloides. Con una mayor expresión de ACE, la enzima tiene funciones intracelulares que incluyen el recorte de los péptidos MHC de clase I y clase II antes de la presentación antigénica (CAO. D., 2022).

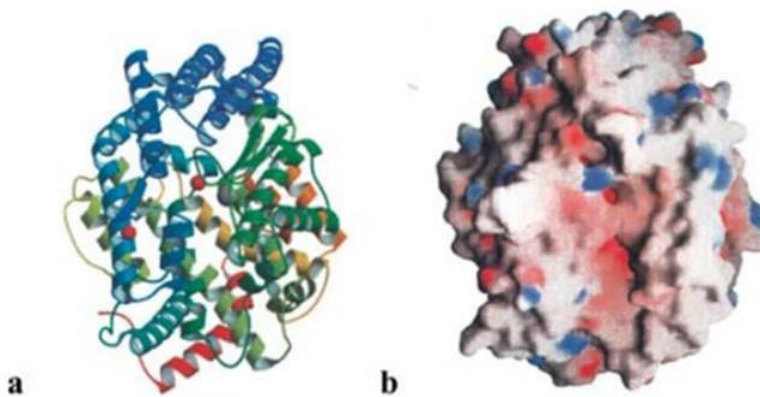


Figura 5. Estructura tridimensional de la proteína ACE. a) Representación en cinta b) Superficie (lado a lado) para ACE. (a, b) ACE: Muestra la estructura en cinta y superficie de ACE, destacando la forma elíptica de la proteína con su canal central característico. Tomada y modificada de Sturrock, E. D., Natesh, R., Van Rooyen, J. M., Acharya, K. R.,2004.

4.2 Enzima convertidora de Angiotensina 2 (ACE2)

ACE2 es una enzima aminopeptidasa descubierta en el año 2000 como un homólogo de la enzima ACE. Es una proteína integral de tipo I de membrana con actividad monocarboxipeptidasa y su estructura química consta de 805 aminoácidos y dos dominios como se representa en la **figura 6**. Dicha enzima está expresada en la superficie celular de diversos tipos de células y tejidos, incluyendo pulmón, hígado, intestino delgado, tejido adiposo, riñón, corazón y, en menor medida, cerebro. ACE2 es un regulador crítico del RAAS, ya que regula la homeostasis de la presión arterial convirtiendo el vasoconstrictor

Ang2 en el vasodilatador Ang 1-7, por la escisión de la fenilalanina terminal. La conversión de Ang2 a Ang 1-7 por ACE2 promueve la señalización a través del receptor AT1-7/MasR, produciendo efectos vasodilatadores, antiinflamatorios y antifibróticos sistémicos, opuestos a los efectos de ACE/Ang2/AT1R. Además, ACE2 desactiva los péptidos bioactivos apelina y des-Arg9-bradicinina, independientes de la vía RAAS. ACE2 se ha relacionado con múltiples enfermedades, incluyendo la obesidad, la DM2, enfermedades cardiovasculares, COVID-19 y las comorbilidades asociadas con malos resultados en COVID-19, así como con la fisiopatología del COVID-19 prolongado (Meyer, W.M., *et al.*, 2023).

En el hígado, ACE2 desempeña funciones vitales en la regulación de la homeostasis hepática. Esta enzima está involucrada en la modulación del tono vascular hepático, la fibrosis y la inflamación hepática. La Ang 1-7, producida por la acción de ACE2, ejerce efectos protectores al inhibir la activación de las células estrelladas hepáticas, reduciendo así la fibrogénesis y la inflamación (Paizis *et al.*, 2005).

En individuos obesos, la regulación de ACE2 puede modificarse, lo que lleva a un desequilibrio en el RAAS. Este desequilibrio se caracteriza por niveles elevados de Ang 2 y reducidos de Ang 1-7, promoviendo efectos proinflamatorios y pro fibróticos que contribuyen a la progresión de enfermedades hepáticas y otras complicaciones metabólicas (Gupte *et al.*, 2008).

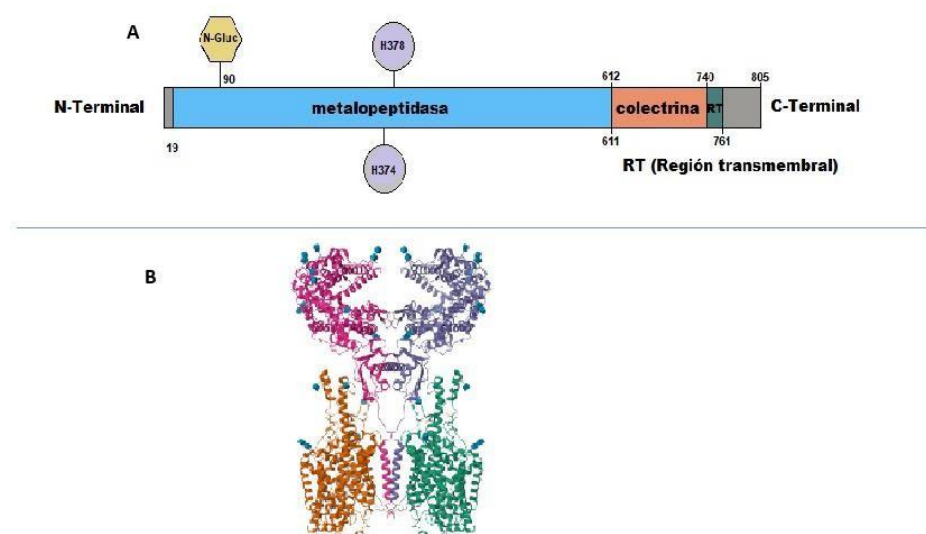


Figura 6. Proteína ACE2. **A)** Diagrama de ACE2 que consta de 805 aminoácidos, tiene una región extracelular en la que se encuentran dos dominios. **B)** Estructura tridimensional de ACE2 en su forma dimérica (las estructuras en color rosa y morado corresponden cada una a un monómero) obtenida por criomicroscopía electrónica con una alta resolución. Imagen obtenida de Protein Data Bank (código PDB: 6M18). Tomada y modificada en agosto 2024. La enzima convertidora de angiotensina 2 en hipertensión, diabetes y obesidad, y su participación en la vulnerabilidad ante el virus SARS-COV-2. Revista de Educación Bioquímica, 39 (4), 121-130.

4.3 Angiotensina 2 (Ang2)

La Ang2 es una proteína formada a partir de la Ang mediante la acción de la ACE. Es un péptido pequeño compuesto por ocho aminoácidos que determinan su capacidad para interactuar con receptores específicos en células blanco y se representa bidimensionalmente en la **figura 7**. Contiene grupos funcionales con cargas positivas y negativas debido a la presencia de aminoácidos ácidos (aspártico) y básicos (arginina, histidina), lo que le da una polaridad que puede influir en su interacción con otros compuestos, como receptores celulares (Kim y Puranik, 2015).

La Ang2 tiene una potente actividad biológica. Actúa principalmente a través de la unión a receptores específicos de la membrana celular, como los receptores de angiotensina tipo 1 (AT1R) que tiene una acción de vasoconstricción, promoviendo la contracción de los vasos sanguíneos y así aumenta la presión arterial, otra acción que hace este receptor es que exista una retención de Sodio y Agua ya que aumenta la reabsorción de sodio en los túbulos renales, lo que lleva a una mayor retención de agua y aumento del volumen sanguíneo. También AT1R está asociado con procesos inflamatorios y fibrogénicos, particularmente en el hígado, promoviendo la progresión de enfermedades hepáticas como la cirrosis (Kim y Puranik, 2015).

El otro receptor específico de la Ang2 es el receptor de angiotensina tipo 2 (ATR2), que hace la acción de un vasodilatador al promover la relajación de los vasos sanguíneos, contrarrestando los efectos vasoconstrictores del AT1R. y tiene efectos antiinflamatorios y antifibróticos, modulando la respuesta inflamatoria y reduciendo la fibrosis en diversos tejidos (Carey, 2017).

El balance que hay entre los receptores ATR1 y ATR2 es crucial para la homeostasis cardiovascular y hepática. En condiciones normales, ambos receptores trabajan en conjunto para mantener el equilibrio fisiológico, pero en estados patológicos como en la hipertensión, la diabetes y las enfermedades hepáticas, este equilibrio puede estar alterado, favoreciendo la activación del ATR1.

La Ang2 tiene un papel importante en la regulación de la presión arterial y la homeostasis de líquidos y electrolitos; estimula la liberación de la aldosterona por las glándulas suprarrenales para que actúe en los riñones y aumenta la reabsorción de sodio y agua, lo que contribuye a

la retención de líquidos y al aumento del volumen sanguíneo. También, estimula la liberación de vasopresina, una hormona que ayuda a conservar el agua en los riñones.

Por estas razones, los medicamentos que afectan la acción de Ang2, como los inhibidores de ACE, se utilizan comúnmente con el tratamiento de la hipertensión, enfermedades vasculares y enfermedades hepáticas.

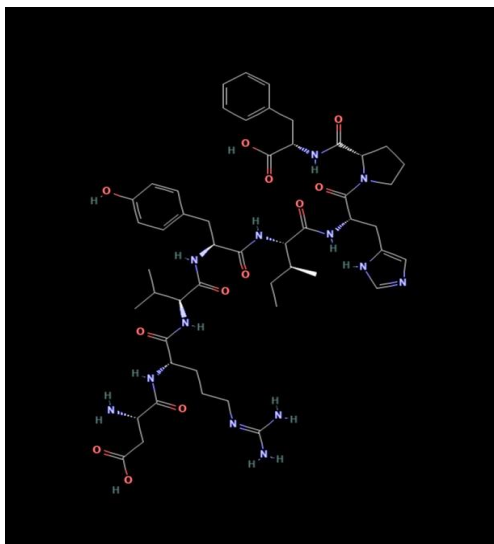


Figura 7. Estructura química en 2D de la angiotensina 2. Es un vasoconstrictor que se produce a partir de la angiotensina después de la eliminación de dos aminoácidos en el extremo C-terminal mediante la ACE. El aminoácido en la posición 5 varía en diferentes especies. Tomada y modificada del Centro Nacional de Información Biotecnológica (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 172198, angiotensina 2. Obtenido el 26 de junio de 2024 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Angiotensin-II-human>. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary.

4.4 Angiotensina 1-7 (Ang 1-7)

La Ang 1-7 es un componente endógeno y bioactivo del RAAS. Se forma a partir de la Ang mediante la acción de la ACE, la prolil-endopeptidasa (PEP) y la endopeptidasa neutra (NEP), o a partir de la Ang2 mediante la acción de la ACE2, PEP y la prolil-carboxipeptidasa (PCP) y tiene una secuencia hepta peptídica lineal vista bidimensionalmente en su estructura (**figura 8**).

Ang 1-7 muestra una afinidad débil por los receptores clásicos AT1R y AT2R. Estudios recientes han identificado al receptor acoplado a proteínas G (MasR) como mediador de las diversas funciones biológicas de Ang 1-7 (Dominska, K., *et al.*, 2018).

Algunas de las acciones que induce Ang 1-7 a través de la activación de MasR son:

- Antiproliferación: Puede ayudar a prevenir el crecimiento excesivo de células, un fenómeno asociado con enfermedades cardiovasculares.

- Antifibrosis: Puede tener propiedades para prevenir o reducir la formación excesiva de tejido fibroso en órganos como el corazón y los pulmones.

Esta angiotensina puede tener efectos benéficos en el metabolismo y la distribución de la grasa corporal. Se ha observado en diversos artículos que la administración de Ang 1-7 en modelos animales, reduce la acumulación de grasa visceral y mejora la sensibilidad a la insulina.

La obesidad a menudo se asocia con un estado inflamatorio crónico y Ang 1-7 podría tener propiedades antiinflamatorias. También, puede modular la respuesta inflamatoria asociada con la obesidad y contribuir a la mejora de la salud metabólica.

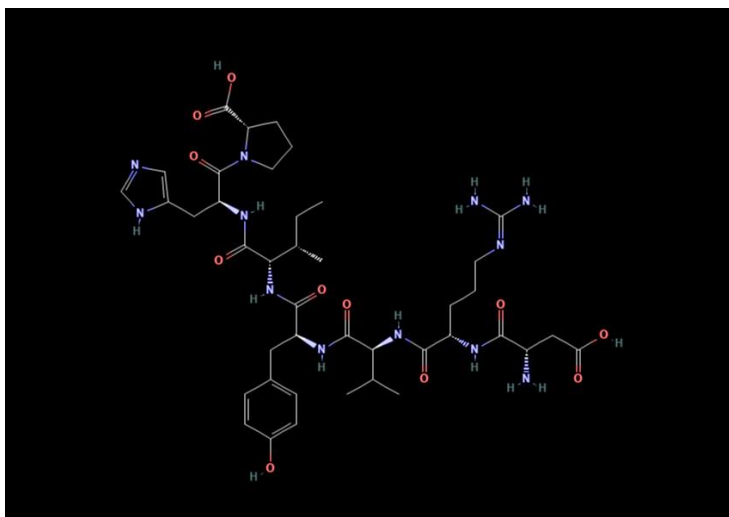


Figura 8. Estructura química en 2D de la angiotensina 2. Es un compuesto de angiotensina que consiste en la secuencia hepta peptídica lineal L-Asp-L-Arg - L-Val-L-Tyr - L-Ile-L-His -L-Pro, y tiene un papel como agente vasodilatador. Tomada y modificada del Centro Nacional de Información Biotecnológica (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 123805, angiotensina 1-7. Obtenido el 26 de junio de 2024 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Angiotensin-1-7>.

4.5 El RAAS hepático

El RAAS es importante en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de líquidos y electrolitos en el cuerpo. Además de su papel sistémico, el RAAS también se encuentra presente y activo en órganos específicos como en el hígado, a lo que llamamos RAAS hepático.

La evidencia científica sugiere que todos los componentes del RAAS podrían estar presentes en el tejido hepático. Recientes estudios muestran que los componentes locales del RAAS se encuentran en los colangiocitos y que las células de Kupffer y la región nuclear de los

hepatocitos también producen localmente Ang2. El angiotensinógeno, predominantemente es producido en el hígado por hepatocitos y células de Kupffer. En hígados cirróticos, se ha observado un aumento en los niveles y actividad del angiotensinógeno y la renina plasmática tanto en humanos como en estudios animales. Aunque no se ha encontrado producción de Ang a través de renina en el tejido hepático, existen indicios de que podría producirse localmente en los lechos vasculares hepático-mesentéricos y en el plasma circulante (Taskin, E. y Guven, C., 2017).

La renina también se expresa en el hígado. Sorprendentemente, la expresión de renina es mayor en hembras que en machos en el tejido hepático de ratones y ratas. Además, su expresión se ha encontrado en células hepáticas como colangiocitos, hepatocitos y células estrelladas hepáticas (HSC). Se ha informado que el receptor de renina tiene una baja expresión de ARNm en el hígado y los riñones, pero un nivel alto en el corazón, el cerebro y la placenta. Por su parte, las expresiones de ACE y AT1R se localizan en el endotelio vascular, los hepatocitos y las células epiteliales de los conductos biliares, y esta distribución puede variar en condiciones patológicas. En un hígado fibrótico, las HSC, los miofibroblastos y las células de Kupffer también generan ACE y AT1R. La expresión de AT1R es alta en el hígado, mientras que los genes de AT2R están presentes en cantidades muy pequeñas o no se detectan en el hígado normal y patológico. No obstante, se ha encontrado expresión del gen del receptor AT2R en hepatocitos y células estrelladas humanas aisladas. La elevada expresión de AT1R en el hígado podría estar relacionada con su participación en procesos inflamatorios, proliferativos y vasculares, como fibrosis y el grado de hipertensión portal en los miofibroblastos septales (Taskin, E. y Guven, C., 2017).

Respecto a la ACE, se ha informado que esta enzima puede estar presente únicamente en el hígado en animales con *ACE knockdown* en el tejido, pero no en el tracto gastrointestinal, corazón, vasos sanguíneos o bazo (Taskin, E. y Guven, C., 2017). La única excepción es el riñón, donde se puede observar actividad de ACE a un nivel muy bajo. Además de los hepatocitos, se encontró que los testículos también expresan ACE en ratones con reducción específica de ACE en el hígado. Aunque no se detectó ACE en los vasos sanguíneos, se informó que la presión arterial en estos ratones era normal. Los autores sugirieron que una concentración adecuada de ACE en el hígado es suficiente para controlar la función renal

esencial para mantener la homeostasis, sin necesidad de la expresión de ACE en los vasos sanguíneos (Taskin, E. y Guven, C., 2017).

Se ha observado *in vitro* e *in vivo* que la Ang2 puede estar presente en los colangiocitos y las HSC activadas, las cuales también expresan altos niveles de renina activa y ACE. Además, se ha demostrado que la producción de Ang2 por los colangiocitos probablemente aumenta con la ligadura del conducto biliar (BDL). Muchos componentes del RAAS, como la renina, ACE, Ang2, AT1R y ACE2, parecen estar regulados bajo condiciones patofisiológicas. La Ang2, presente en el tejido hepático, puede aumentar en estas circunstancias y está relacionada con la promoción de enfermedades hepáticas, como la fibrosis hepática, la proliferación y activación de las HSC (Taskin, E. y Guven, C., 2017).

Con relación al eje alternativo del RAAS, se sabe que la expresión de ACE2 se encuentra aumentada en el hígado de roedores diabéticos, lo que sugiere un mecanismo protector compensatorio (Mastoor, Z., *et al.*, 2022). Los niveles de ACE2, la producción de Ang 1-7 y la expresión de MasR están incrementados en los vasos esplácnicos de pacientes y ratas cirróticas en comparación con los controles sanos. Se cree que ACE2 es un regulador negativo del sistema RAAS y, en el hígado, esta enzima genera Ang 1-7 que puede inhibir la fibrosis hepática experimental. En muchos casos, el eje secundario ACE2/Ang 1-7/MasR parece contrarregulador los efectos del eje clásico del RAAS (Mastoor, Z., *et al.*, 2022).

Es importante señalar que la obesidad está fuertemente relacionada con la activación del RAAS hepático. La acumulación de tejido adiposo, sobre todo en región visceral, está asociada con un aumento en la producción del angiotensinógeno, que puede llevar a una mayor activación del RAAS clásico, contribuyendo a la disfunción hepática y a la progresión de enfermedades hepáticas (Souza-Mello, V., 2017). Asimismo, la obesidad induce resistencia a la insulina, lo que a su vez activa el RAAS. La Ang2 contribuye a la resistencia a la insulina al inhibir la señalización de la insulina en el hígado, creando un círculo vicioso que agrava la disfunción metabólica (Henriksen *et al.*, 2001).

4.6 Asociación de RAAS, obesidad y MASLD

La evidencia sugiere que el RAAS puede actuar como un fuerte vínculo entre la obesidad y la resistencia a la insulina. La desregulación del RAAS secundaria a la obesidad también ocurre en varios otros tejidos, principalmente en aquellos involucrados en la regulación de la glucosa, la sensibilidad a la insulina y el metabolismo lipídico, como el hígado (Ramalingam, L., *et al.*, 2017).

Por otra parte, las características patológicas de la MASLD incluyen aumento de la fibrosis, estrés oxidativo y marcadores inflamatorios, los cuales también son *hallmarks* de la obesidad. Estos procesos se asocian con la capilarización sinusal y el aumento de la resistencia vascular hepática, resultando eventualmente en hipertensión portal. El RAAS está asociado con todos estos procesos. En ese sentido, desde hace un par de décadas se cree que el RAAS hepático, además del RAAS sistémico, contribuye a la fisiopatología de MASLD (Simoes e Silva AC, *et al.*, 2017).

En un contexto de obesidad, la resistencia a la insulina impide que la insulina suprima eficazmente la lipólisis después de las comidas, lo que resulta en un aumento de los ácidos grasos libres circulantes. Este fenómeno se debe, parcialmente, a que la Ang2, que está aumentada en las personas con obesidad, tiene un efecto inhibitorio sobre la función de la insulina al aumentar el estrés oxidativo. Además, la Ang2 promueve el aumento del tamaño de los adipocitos y la masa del tejido adiposo al suprimir la lipólisis.

Por su parte, al activar los receptores AT1R, la Ang2 puede inducir la proliferación de las HSC y aumentar la expresión del factor de crecimiento transformante (TGF)- β 1, lo que indica que este péptido desempeña un papel importante en el desarrollo de la fibrosis hepática (Simoes e Silva AC, *et al.*, 2017), que es un proceso dinámico que comúnmente resulta de diferentes causas de lesión hepática crónica, y que involucra a varios tipos celulares y mediadores, incluyendo citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento. La remodelación del tejido hepático depende del equilibrio entre la degradación y la síntesis de colágeno. En ese sentido, varios mediadores están involucrados en este proceso, incluyendo los componentes del RAAS. Mientras que la Ang2 actúa como mediador proinflamatorio y profibrótico, la Ang 1-7 puede ejercer efectos opuestos en el tejido hepático (Simoes e Silva AC, *et al.*, 2017).

Además, también se ha asociado a la Ang 1-7 con la regulación de la esteatosis y la inflamación en el hígado. En ese sentido, en el 2016 Cao y colaboradores investigaron el papel de la ACE2 en la esteatosis hepática utilizando un modelo de ratones deficientes en ACE2 que recibían una dieta alta en grasas (Cao Y., *et al.*, 2016). Sus hallazgos demostraron que la deficiencia de ACE2 en estos ratones exacerbar la esteatosis hepática, promoviendo un aumento significativo del estrés oxidativo y la inflamación en el tejido hepático. Asimismo, la investigación también exploró los efectos de la sobreexpresión de ACE2 en estos ratones, encontrando una notable mejora en la esteatosis hepática que además correlacionó con la activación de la ruta de señalización AKT, una vía crucial para el metabolismo lipídico hepático que promueve la degradación de lípidos y reduce la acumulación de grasa en el hígado, evidenciando una mejora en la salud hepática de los ratones.

En un estudio reciente, se exploró el efecto terapéutico de ACE2 en ratones con diabetes y MASLD alimentados con una dieta alta en grasas (20%) y colesterol (2%) durante 40 semanas (Rajapaksha, I. G, 2022). A las 30 semanas de la dieta experimental (15 semanas después de desarrollar diabetes), los ratones recibieron una inyección única intraperitoneal usando un vector viral adeno-asociado para incrementar la expresión de ACE2 y fueron sacrificados 10 semanas después.

Este tratamiento redujo significativamente la lesión hepática y la fibrosis en comparación con los ratones que recibieron un vector de control. Esto coincidió con una disminución en la expresión de citocinas proinflamatorias, la activación de HSC y la producción de colágeno tipo 1 (Rajapaksha, I. G, 2022). Es probable que los efectos benéficos de los tratamientos con ACE2 se deban a que su actividad catalítica incrementa los niveles de Ang 1-7, ya que existe evidencia de que este péptido mejora la MASLD a través de la activación de MasR; así, Song y cols. en 2020 evaluaron la interacción y relevancia del eje hepático Ang 1-7/MasR en el metabolismo glucolipídico y la condición mitocondrial tanto *in vivo* como *in vitro*.

En este contexto, observaron que la eliminación de *Mas* en ratones contribuyó a una intolerancia grave a la glucosa, resistencia a la insulina y esteatosis hepática, acompañada de niveles elevados de alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y triglicéridos en suero/hepáticos, así como disfunción mitocondrial. Por otro lado, la sobreexpresión forzada de *Mas* o la administración de Ang 1-7 atenuó significativamente estos efectos nocivos, ya

que redujo la expresión de proteínas lipogénicas hepáticas y enzimas de gluconeogénesis (Song L.N., *et al.*, 2020).

Sin embargo, de forma inesperada, en nuestro grupo de trabajo se encontró que la expresión de ACE2 en personas con obesidad es significativamente menor en hombres en comparación con las mujeres; además, se encontró una correlación negativa entre el mRNA de ACE2 y los niveles de GGT, sugiriendo que la expresión de ACE2 puede influir en parámetros de daño hepático, o que el daño hepático podría influir en la expresión de ACE2 (Ocampo-Aguilera N.A., 2023, datos no publicados). Además, mediante análisis de regresión se encontró que los niveles de mRNA de ACE2 podrían depender de la expresión de la citocina proinflamatoria TNF- α , la cual, se sabe que está aumentada en la obesidad (Orbe-Orihuela Y.C., 2018).

Por otra parte, existen estudios que han demostrado que la sobreactivación del eje clásico del RAAS tanto sistémico como local (ACE/Ang2/AT1R) se asocia con la progresión de la MASLD, principalmente, favoreciendo la transición hacia MASH. Confirmando estos hallazgos, se ha reportado que tanto el Candesartán (antagonista del AT1R, ARB), el Perindopril (inhibidor de ACE) atenuaron significativamente la fibrosis y los marcadores patológicos asociados en un modelo animal de fibrosis (Simoies e Silva AC, *et al.*, 2017).

En un estudio reciente, se investigó a través de un estudio de cohorte prospectivo, el efecto del ACE y ARB en pacientes con MASLD. Se encontró que el tratamiento con ACE, pero no con ARB, redujo significativamente el riesgo de patología hepática, incluyendo carcinoma hepatocelular y complicaciones cirróticas. Este efecto protector fue más pronunciado en pacientes con enfermedad renal crónica (Zhang X., *et al.*, 2022).

Asimismo, en nuestro grupo de trabajo se encontró que en el hígado de pacientes con obesidad existe un desequilibrio del sistema RAAS, favoreciendo la expresión de ACE, la cual está relacionada con un aumento en los niveles séricos de transaminasas asociadas a daño hepático, y que la expresión de ACE está asociada con la regulación -directa o indirecta- de la expresión de los genes antioxidantes *NRF2* y *HO-1*, lo cual sugiere que ACE podría estar involucrado en la progresión de la MASLD, desregulando algunos mecanismos celulares que podrían conducir a un estado de estrés oxidativo (Arreola-Miranda, J.A., 2023, datos no publicados).

Los antecedentes mencionados en esta investigación nos demuestran que hay una conexión entre el RAAS y el desarrollo y progresión de la MASLD. Sin embargo, los estudios anteriores han caracterizado parcialmente al RAAS hepático, ya que no exploran a la mayor parte de los miembros del eje clásico y alternativo, además de que estos se limitan a analizar la expresión génica y no proteica de este. Por lo tanto, el presente estudio se enfocará en analizar los niveles proteicos de ACE2 y otros componentes de este sistema, como ACE, Ang2 y Ang 1-7 y su relación con las principales citocinas que son desreguladas en la obesidad. La información obtenida de este proyecto establecerá una base para el desarrollo de nuevas líneas de investigación, que en el futuro podrán contribuir a crear estrategias terapéuticas más efectivas para prevenir o tratar enfermedades hepáticas en individuos con obesidad.

5. Hipótesis

H1: A mayores niveles proteicos de ACE2 en el tejido hepático de personas con obesidad habrá mayor expresión de las citocinas proinflamatorias, Ang 1-7, así como una menor expresión proteica de ACE, Ang2.

H2: El hígado de personas con obesidad y comorbilidades asociadas, particularmente de pacientes con hipertensión arterial sistémica (HAS), presentará una mayor expresión de ACE, mayores niveles de Ang2 y menores de Ang 1-7 que los sujetos con obesidad sin comorbilidades.

6. Justificación

La obesidad se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa y la inflamación crónica de bajo grado, elevando citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-1 β . Esta inflamación está vinculada al desarrollo de enfermedades como la MASLD, con una prevalencia del 70% en personas con obesidad.

La MASLD es una enfermedad multifactorial cuya patogénesis está asociada a la esteatosis, la inflamación, la fibrosis, la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo. Además, desequilibrios en el RAAS hepático y sistémico pueden contribuir a su fisiopatología. El RAAS incluye un eje clásico (ACE, Ang2, AT1R) que promueve inflamación y fibrosis, y un eje alternativo (ACE2, Ang 1-7, MasR) con efectos antiinflamatorios y antifibróticos.

Evidencias indican que una mayor activación del eje clásico del RAAS o la inhibición del eje alternativo están asociadas con una mayor expresión de genes relacionados con la oxidación de lípidos, estrés oxidativo e inflamación en el hígado. Además, la obesidad podría desencadenar la pérdida del equilibrio en el sistema RAAS, exacerbando estas condiciones. Nuestro grupo ha observado que la expresión de ACE2 en el hígado de pacientes con obesidad está relacionada con niveles de citocinas proinflamatorias y parámetros clínicos. Estos hallazgos sugieren un papel crucial del RAAS en la obesidad y la MASLD.

En este estudio se analizaron los niveles de los principales componentes del RAAS hepático en pacientes con obesidad para comprender mejor su papel en la inflamación y la enfermedad

hepática, lo cual servirá como guía en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para prevenir enfermedades hepáticas en personas con obesidad.

7. Objetivos

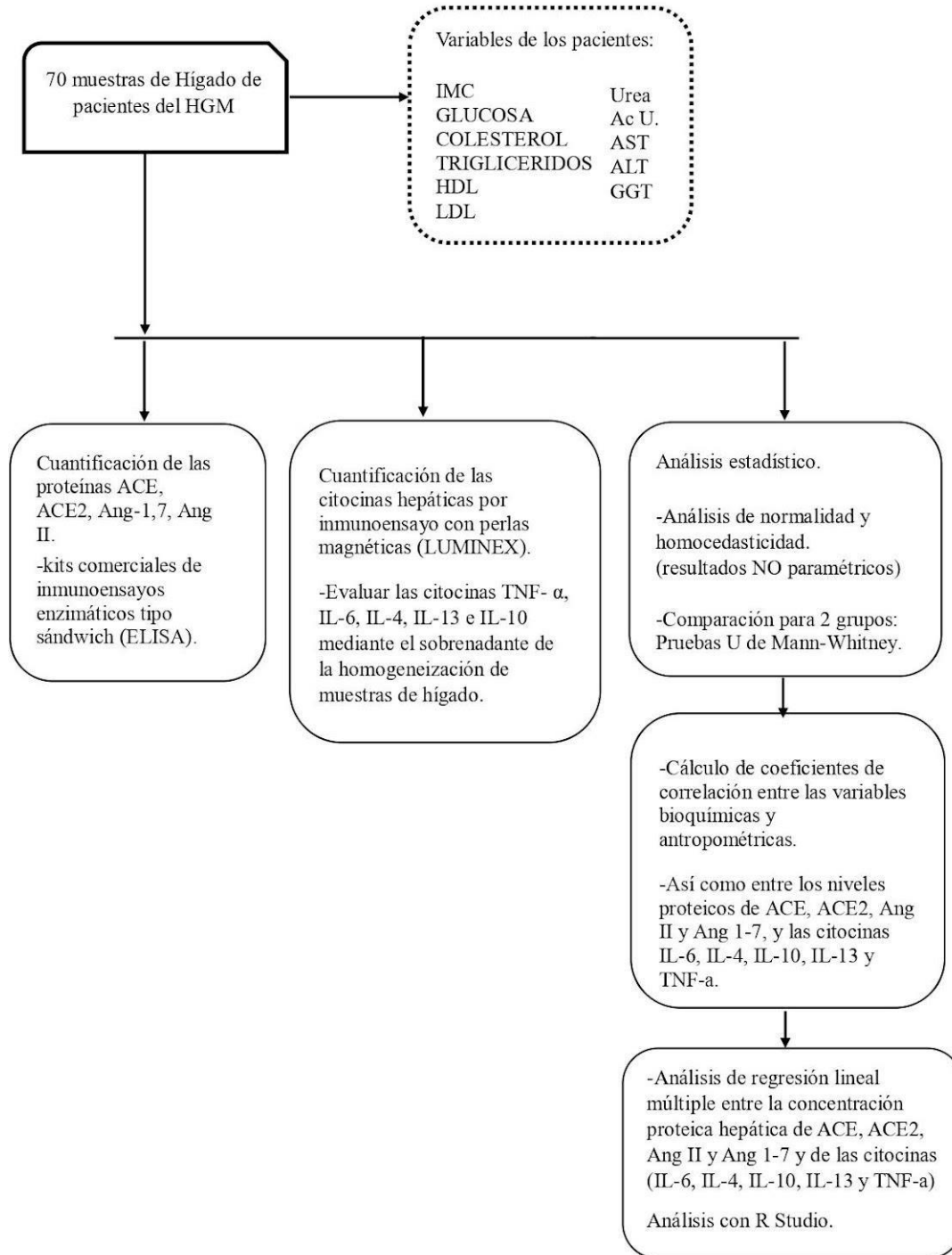
Objetivo general:

Determinar si hay asociación entre los componentes del RAAS hepático y las citocinas proinflamatorias, las variables antropométricas y bioquímicas de pacientes con obesidad.

Objetivos particulares:

1. Determinar los niveles proteicos de ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7 en biopsias de tejido hepático de pacientes con obesidad.
2. Evaluar los niveles proteicos de citocinas proinflamatorias en el tejido hepático de pacientes con obesidad.
3. Analizar la asociación de los niveles proteicos hepáticos de ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7 con los niveles de citocinas, los parámetros antropométricos y parámetros bioquímicos de pacientes con obesidad.

8. Estrategia experimental



9. Materiales y métodos

9.1 Sujetos y muestras de hígado

Se recolectaron 70 muestras de hígado de individuos con obesidad que se sometieron a cirugía bariátrica, realizando la biopsia durante la operación. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado previamente aprobado por el Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad del Hospital General de México (HGM). Las muestras se almacenaron en el Banco de Muestras del Laboratorio de Inmunometabolismo del HGM. Además, se utilizaron los valores de las variables bioquímicas y antropométricas de los pacientes para el análisis: índice de masa corporal (IMC), niveles de glucosa, colesterol total, triglicéridos, colesterol de alta densidad (HDL), colesterol de baja densidad (LDL), urea, ácido úrico y niveles de las transaminasas aspartato aminotransferasa (AST o GOT), alanina aminotransferasa (ALT o GPT) y gamma-glutamil transferasa (GGT).

9.2 Cuantificación de las proteínas ACE, ACE2, Ang 1-7 y Ang2

Para cuantificar los niveles de ACE, ACE2, Ang 1-7 y Ang2, se utilizaron kits comerciales de inmunoensayos enzimáticos tipo sándwich (ELISA), siguiendo las instrucciones del fabricante. El procedimiento detallado se describe a continuación:

Las muestras de hígado almacenadas se descongelaron a temperatura ambiente y se homogeneizaron en un tampón de lisis apropiado que contenía 500 mM Tris-HCl y un cóctel de inhibidores de proteasas (Merck, Darmstadt, Germany). Posteriormente, se centrifugaron a 20,800 g y 8 °C durante 15 minutos para obtener el sobrenadante que contiene las proteínas de interés. La concentración de proteínas en el sobrenadante se cuantificó mediante el ensayo de proteínas de Bradford (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA) a 595 nm.

Para el montaje del ensayo ELISA se añadieron las muestras diluidas y los estándares a los pocillos de la placa ELISA previamente revestida con anticuerpos específicos para ACE, ACE2, Ang 1-7 y Ang2. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora para permitir la unión de las proteínas diana a los anticuerpos de captura. Luego, se realizaron tres lavados sucesivos con 200 uL de buffer de lavado en cada pozo, para eliminar cualquier material no unido. A continuación, se añadieron anticuerpos de detección conjugados con peroxidasa de rábano picante (HRP) a cada pocillo. Tras otra incubación y lavado, se añadió

el sustrato enzimático tetrametilbencidina (TMB), que reacciona con la HRP para producir un cambio de color. La reacción se detuvo mediante la adición de una solución de parada, y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Microplate Reader PKL PPC 142) ajustado a la longitud de onda específica para cada ensayo. Para el análisis de los datos, se preparó una curva estándar utilizando datos obtenidos de diluciones en serie de los estándares suministrados en el kit. En esta curva, la concentración de los estándares se representó en el eje x (escala logarítmica) y la absorbancia medida en el eje y (escala lineal). Las concentraciones de las proteínas en las muestras se interpolaron a partir de la curva estándar utilizando un software de análisis de datos adecuado.

9.3 Cuantificación de las citocinas hepáticas por inmunoensayo con perlas magnéticas (LUMINEX)

El ensayo de LUMINEX se utilizó para evaluar las citocinas TNF- α , IL-6, IL-4, IL-13 e IL-10 mediante el sobrenadante de la homogeneización de muestras de hígado de los pacientes en estudio actual. Se empleó el kit Milliplex Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel de Millipore. Se procedió a preparar una placa de 96 pozos, donde se añadieron 200 μ L de buffer de lavado en todos los pozos y se incubó a temperatura ambiente con agitación baja durante 10 minutos. Luego, se retiró el buffer de lavado, invirtiendo la placa sobre una toalla absorbente, siguiendo el proceso de lavado. Se añadieron 25 μ L de solución estándar a los pozos designados como controles y 25 μ L de cada muestra a los demás pozos. A continuación, se agregaron 25 μ L de perlas magnéticas a cada pozo, y la placa se incubó durante toda la noche a 4°C con agitación baja.

Después de la incubación, se removió el contenido de la placa y se realizaron dos lavados. Se añadieron los anticuerpos de detección en cada pozo, seguido de una incubación de una hora. Luego, se agregaron 25 μ L del reactivo estreptavidina-ficoeritrina a cada pozo y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se retiró el contenido de la placa y se realizaron dos lavados más. Se añadieron 150 μ L de Sheath Fluid Plus a todos los pozos y se colocaron en agitación. Finalmente, la placa se leyó en el equipo Magpix utilizando el software xMAP.

9.4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de normalidad y homocedasticidad para determinar si la muestra seguía una distribución normal. Los pacientes se estratificaron por: a) sexo, b) grado de obesidad, c) presencia o ausencia de comorbilidades asociadas a la obesidad, y d) presencia o ausencia de HAS. Dado que todos los resultados fueron no paramétricos para la comparación entre más de dos grupos se empleó la prueba Kruskal-Wallis, mientras que para la comparación de dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney.

Posteriormente, se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables bioquímicas, clínicas y antropométricas, así como entre los niveles proteicos de ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7, y las citocinas IL-6, IL-4, IL-10, IL-13 y TNF- α .

Además, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal múltiple entre la concentración proteica hepática de ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7 y de las citocinas (TNF- α , IL-6, IL-4, IL-13 e IL-10) utilizando el paquete de programación R Studio (X64 4.0.2). Posteriormente, se desarrollaron modelos de regresión lineal simple utilizando los mejores predictores obtenidos de las variables mencionadas anteriormente. Se consideró significancia estadística cuando el valor de P fue menor que 0.05.

10. Resultados

10.1 Análisis descriptivo de las variables antropométricas y bioquímicas de los pacientes con obesidad

En la **Tabla 2** se presentan los promedios y la desviación estándar de las variables antropométricas y los valores bioquímicos de las muestras analizadas de cada uno de los pacientes. Los datos están estratificados por sexo. Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa (99.88 ± 20.46 , $P= 0.0349$) y albúmina (4.25 ± 0.30 , $P=0.0027$) entre hombres y mujeres, estos valores se encuentran dentro de un rango normal, por lo que no afectan los análisis posteriores, por lo que puede considerarse homogeneidad entre los grupos.

Es importante señalar que la proporción de mujeres (74.29%) es mayor que la de los hombres (25.71%), lo cual se debe a factores socioculturales, ya que más del 95% de los pacientes que se someten a cirugía bariátrica son mujeres.

Tabla 2. Características bioquímicas y antropométricas de los pacientes con obesidad

Variable	Total	Mujeres	Hombres	P (*)
n=70	70 (100%)	52 (74.29%)	18 (25.71%)	-
Edad (años)	39.01±10.70	39.36±11.27	37.17±8.75	0.3820
IMC (kg/m ²)	42.96±11.26	42.09±11.11	48.11±13.48	0.0626
Glucosa en suero (mg/dL)	99.88±20.46	101.97±22.94	94.11±9.44	0.0349
Colesterol total (mg/dL)	171.00±41.02	172.46±39.71	166.94±46.61	0.4463
Triglicéridos (mg/dL)	159.11±61.10	161.59±59.41	152.54±66.81	0.2988
HDL (mg/dL)	43.58±10.32	40.47±14.91	50.71±13.98	0.4463
LDL (mg/dL)	120.43±32.48	121.37±33.43	117.76±30.72	0.3095
Albúmina (g/dL)	4.25±0.30	4.18±0.26	4.46±0.26	0.0027
Fosfatasa alcalina (U/L)	81.03±33.29	78.35±31.02	85.58±32.43	0.2786
Gama glutamil transpeptidasa (U/L)	37.84±27.82	34.07±32.79	47.03±27.99	0.1870
Glutamato-oxalacetato transaminasa (U/L)	42.62±16.41	26.00±39.38	26.00±39.38	0.2499
Glutamato-piruvato transaminasa (U/L)	42.97±50.82	35.23±33.64	65±80.01	0.0122

Datos analizados con la prueba t de student, media ± (DE) y la significancia estadística de $P < 0.05$. IMC (Índice de Masa Corporal), HDL (lipoproteínas de alta densidad), LDL (lipoproteínas de baja densidad).

10.2 Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con obesidad

En la **Tabla 3** se presenta la frecuencia de las principales comorbilidades asociadas con la obesidad: DM2, SAOS, HAS y MASH. Aunque no fue posible realizar un análisis histopatológico de las muestras en este estudio, se utilizó el NAFLD score para predecir la presencia de MASH. Los resultados indicaron que solo el 13% de los pacientes tenían una puntuación que sugiere una probable MASH. Sin embargo, es crucial analizar la validez de este algoritmo, que tiene una sensibilidad del 86% y una especificidad del 71% (Graffigna M., *et al.*, 2017). Esto sugiere que el NAFLD score puede sobrediagnosticar algunos casos, lo que podría llevar a una infravaloración de la prevalencia real de MASH en la población estudiada. Por lo tanto, para obtener una evaluación más precisa y completa, que además contemple estadios menos avanzados de la MASLD, es fundamental realizar diagnósticos histopatológicos en estudios futuros.

Es importante destacar que, al examinar si los datos bioquímicos y antropométricos correlacionaban con los niveles de proteínas hepáticas de los componentes de la vía RAAS, no se encontró ninguna correlación con significancia estadística (datos no mostrados). Este hallazgo sugiere que las variaciones en los parámetros bioquímicos y antropométricos no están directamente asociadas con las concentraciones de las proteínas de la vía RAAS en el hígado en nuestra muestra de estudio.

Debido a la falta de significancia estadística en estas correlaciones, hemos decidido centrar nuestro análisis y discusión únicamente en aquellos análisis de correlación que demuestran una significancia tanto estadística como biológica. Esta aproximación nos permite proporcionar conclusiones más sólidas y relevantes, basadas en datos que muestran relaciones claras y verificables entre las variables.

Tabla 3. Porcentaje de comorbilidades de la población de estudio estratificado por sexo

<u>Porcentaje de comorbilidades entre los pacientes por sexo</u>		
Pacientes= 70 (100%)		
Comorbilidades	Hombres= 18 (25.71%)	Mujeres= 52 (74.29%)
Diabetes Mellitus (DM)	5 (19.44%)	9 (12.11%)
Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño (SAOS)	3 (11.67%)	3(4.04%)
Hipertensión Arterial Sistémica (HAS)	7 (27.22%)	18 (24.23%)
Enfermedad hepática esteatósica asociada a disfunción metabólica (MASLD)	3 (11.67%)	6 (8.08%)

Diabetes mellitus (DM), Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño (SAOS), Hipertensión Arterial Sistémica (HAS), Esteatohepatitis Asociada Metabólica (MASH).

10.3 Niveles de expresión hepática de moléculas clave de la vía RAAS en personas con obesidad mórbida con y sin HAS

Dado que la HAS fue la comorbilidad más frecuente asociada a la obesidad en el grupo de estudio, y considerando que HAS se caracteriza por un desequilibrio en el sistema RAAS, decidimos investigar si existen diferencias en los componentes hepáticos del RAAS entre pacientes con obesidad y HAS y aquellos con obesidad sin HAS. Nuestra hipótesis inicial postulaba que habría diferencias significativas en los niveles hepáticos de las moléculas del RAAS (ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7) entre estos dos grupos de pacientes.

Contrario a nuestra hipótesis, el análisis comparativo no reveló diferencias estadísticamente significativas en los niveles de estas moléculas del RAAS hepático entre pacientes con obesidad mórbida y HAS y aquellos con obesidad mórbida sin HAS (**Figura 9**).

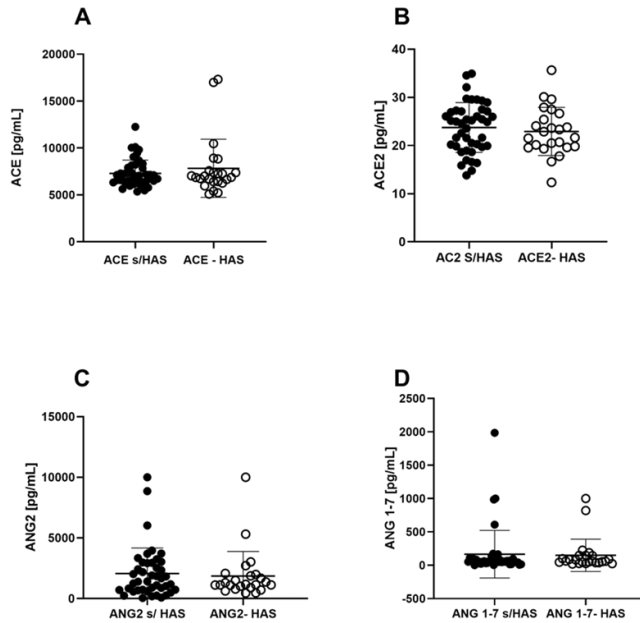


Figura 9. Análisis de correlación de proteínas de la vía RAAS en pacientes con obesidad con y sin HAS. Análisis de U de Mann-Whitney, todos los resultados tienen una $P < 0.005$.

10.4 Análisis de correlación de citocinas y moléculas clave de RAAS: ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7

Se realizó un análisis de correlación de las moléculas hepáticas de la vía RAS (ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7) y las citocinas TNF- α , IL-6, IL-4, IL-13 e IL-10. Los resultados se presentan en la **Tabla 4**, donde se observa una correlación significativa y positiva entre la proteína ACE y todas las citocinas mencionadas. Es destacable la correlación encontrada entre ACE2 e IL-4 ($r = 0.212$, $P = 0.042$) e IL-13 ($r = 0.264$, $P = 0.015$), lo que indica que a medida que aumentan los niveles de ACE y ACE2, los valores de estas citocinas también incrementan proporcionalmente.

Contrariamente a lo esperado, se encontró una correlación inversa entre los niveles de Ang2 y las citocinas TNF- α , IL-4 e IL-10, así como entre Ang 1-7 e IL-4. Esto sugiere que a medida que aumentan los niveles de estas citocinas, los niveles de Ang2 y Ang 1-7 disminuyen, y viceversa.

Entre las correlaciones más notables, destaca la fuerte relación entre ACE y las citocinas de tipo Th2 (IL-4, IL-13 e IL-10), así como con TNF- α (**tabla 4**).

Tabla 4. Análisis de correlación de citocinas con moléculas clave de la vía RAAS

Tabla de análisis de correlación de citocinas contra proteínas ACE, ACE2, ANG2 y ANG 1-7				
Citocinas	ACE	ACE2	ANG2	ANG 1-7
TNF- α	0.5988 0.0001	0.037 0.382	-0.270 0.014	-0.142 0.126
IL-6	0.4627 0.0001	0.196 0.056	-0.179 0.073	-0.150 0.113
IL-4	0.5530 0.0001	0.212 0.042	-0.304 0.006	-0.261 0.017
IL-13	0.6707 0.0001	0.264 0.015	-0.234 0.028	-0.169 0.085
IL-10	0.5164 0.0001	0.095 0.222	-0.213 0.042	-0.127 0.152

En cada recuadro, los valores superiores indican la r (coeficiente de correlación de Spearman) y los valores inferiores indican el valor de P. Los resultados obtenidos se expresan en pg/mL. Los valores estadísticamente significativos tienen una $P < 0.05$.

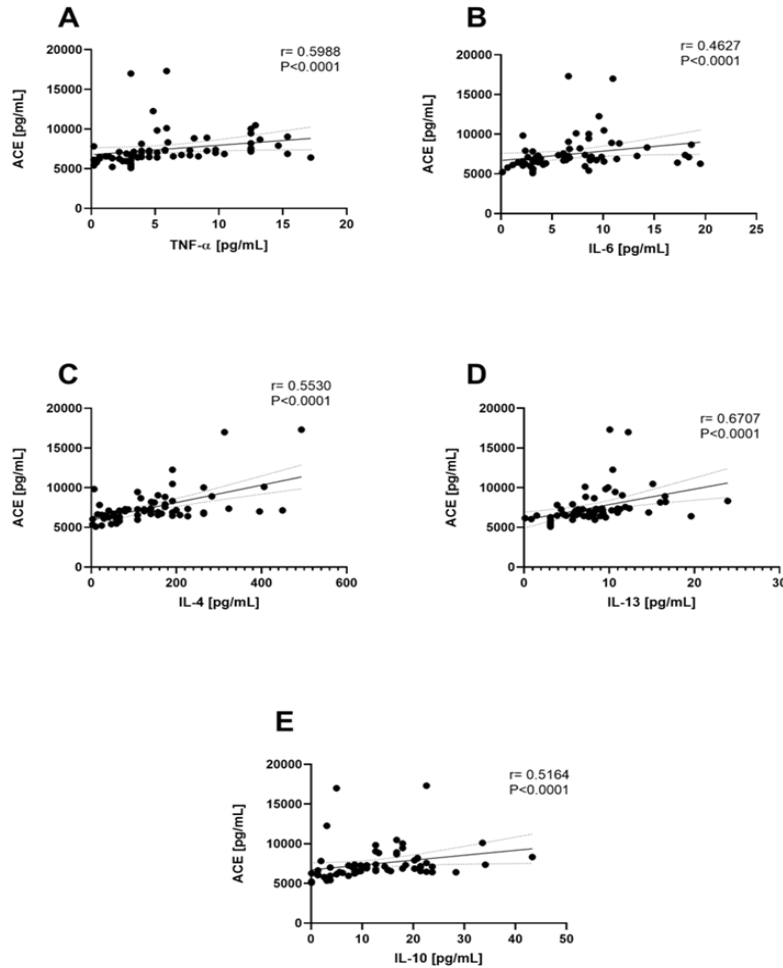


Figura 10. Análisis de correlación de los niveles proteicos hepáticos de citocinas y ACE. Correlación de Spearman ($P < 0.05$).

En estudios previos de nuestro grupo de trabajo (Ocampo-Aguilera, N.A., 2023; Arreola-Miranda, J.A., 2023, datos no publicados), se encontraron diferencias significativas en la expresión hepática de ACE2, siendo más abundante en mujeres que en hombres. En este contexto, para el presente estudio se estratificó a los pacientes por sexo y se realizó un análisis de correlación entre los niveles hepáticos de las moléculas clave del RAAS y las citocinas analizadas (**Tabla 5**).

El análisis reveló nuevamente que la proteína ACE se correlaciona positivamente con varias citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias en ambos sexos. Específicamente, se observaron correlaciones positivas entre ACE e IL-6 (hombres: $r = 0.601$, $P = 0.004$; mujeres: $r = 0.505$, $P = 6.673 \times 10^{-5}$), IL-4 (hombres: $r = 0.856$, $P = 2.957 \times 10^{-6}$; mujeres: $r = 0.545$,

P=1.478e-005), IL-13 (hombres: $r=0.752$, $P=1.603e-004$; mujeres: $r=0.646$, $P=1.191e-007$) e IL-10 (hombres: $r=0.750$, $P=1.670e-004$; mujeres: $r=0.523$, $P=3.542e-005$). Aunque estas correlaciones ya se habían observado en análisis previos, es notable que la estratificación por sexo muestra valores más robustos y coeficientes de correlación mayores en el grupo de hombres.

Además, tanto en hombres como en mujeres, ACE2 mostró una correlación positiva con IL-4 (hombres: $r=0.505$, $P=0.016$; mujeres: $r=0.247$, $P=0.039$) e IL-13 (hombres: $r=0.505$, $P=0.016$; mujeres: $r=0.358$, $P=0.005$). Estos resultados sugieren un papel significativo de las citocinas de tipo Th2 en la regulación, directa o indirecta, de la expresión proteica de ACE y ACE2.

El hecho de que los coeficientes de correlación sean más altos en hombres podría indicar diferencias de sexo en la interacción entre el RAAS y la respuesta inflamatoria hepática. Estas diferencias podrían estar relacionadas con factores hormonales o genéticos que modulan la expresión y actividad de las moléculas del RAAS y las citocinas.

Tabla 5. Análisis de correlación de la población de estudio estratificado por sexo de citocinas contra moléculas clave de la vía RAAS

Tabla de análisis de correlación entre pacientes hombres y mujeres de citocinas contra proteínas ACE, ACE2, ANG2 y ANG 1-7								
PACIENTES TOTAL= 70 MUJERES= 52 HOMBRES= 18								
Citocinas	ACE		ACE2		ANG2		ANG 1-7	
	H	M	H	M	H	M	H	M
TNF- α	0.661 0.001	0.667 3.334e-008	0.433 0.036	0.097 0.246	0.002 0.497	-0.103 0.234	0.247 0.162	-0.031 0.414
IL-6	0.601 0.004	0.505 6.673e-005	0.327 0.093	0.334 0.008	0.266 0.143	-0.108 0.222	0.330 0.091	-0.061 0.334
IL-4	0.856 2.957e-006	0.545 1.478e-005	0.505 0.016	0.247 0.039	0.286 0.125	-0.205 0.072	0.113 0.328	-0.079 0.288
IL-13	0.752 1.603e-004	0.646 1.191e-007	0.505 0.016	0.358 0.005	-0.074 0.386	-0.006 0.483	0.274 0.135	-0.095 0.253
IL-10	0.750 1.670e-004	0.523 3.542e-005	0.417 0.043	0.151 0.142	0.149 0.278	-0.071 0.308	0.291 0.120	-0.030 0.415

En cada recuadro, los valores superiores indican la r (coeficiente de correlación de Spearman) y los valores inferiores indican el valor de P . Los resultados obtenidos se expresan en pg/mL. Los valores estadísticamente significativos tienen una $P < 0.05$.

10.5 Análisis de regresión lineal múltiple para la determinación de los principales predictores de los niveles hepáticos de ACE en los pacientes con obesidad mórbida

Debido a la fuerte relación encontrada entre los niveles proteicos de las citocinas y ACE, se llevó a cabo un modelo de regresión lineal múltiple para identificar los principales predictores de los niveles hepáticos de ACE en pacientes con obesidad mórbida.

Los resultados del modelo mostraron significancia estadística ($P = 0.0002068$), indicando que las variables IL-4 e IL-13 son los mejores predictores de los niveles de ACE ($P = 7 \times 10^{-7}$ y $P = 0.03$, respectivamente). Este hallazgo confirma que ACE depende principalmente de los niveles de estas citocinas.

Específicamente, el análisis reveló que por cada aumento de 1 pg/mL en IL-13, los niveles de ACE incrementan en 162.66 pg/mL. De manera similar, un aumento de 1 pg/mL en IL-4 resulta en un incremento de 10.50 pg/mL en ACE, como se muestra en el valor β de la **Tabla 6**.

Estos resultados subrayan la influencia crítica de las citocinas Th2, particularmente IL-4 e IL-13, en la regulación de ACE en el hígado de pacientes con obesidad mórbida. La fuerte dependencia de ACE en estas citocinas sugiere que las vías inflamatorias mediadas por Th2 juegan un papel significativo en la modulación del sistema RAAS en estos pacientes.

Variable	β (CI 2.5% - CI 97.5%)	P
TNF- α	-58.01 (-192.31 - 76.29)	0.39
IL-6	34.83 (-73.01 - 142.68)	0.52
IL-10	46.24 (-117.24 - 24.75)	0.19
IL-13	162.66 (15.87 - 309.45)	0.03*
IL-4	10.50 (5.59 - 15.42)	7.17×10^{-5} ****
ACE2	5.85 (-90.77 - 102.48)	0.90
ANG 2	0.06 (-0.17 - 0.29)	0.60
ANG 1-7	-0.62 (-2.13 - 0.88)	0.41

Tabla 6. Modelo de regresión lineal múltiple para determinar los principales predictores de los niveles hepáticos de ACE en la población de estudio. Se realizó el modelo según los siguientes criterios: IC, 2.5%-97.5%, error estándar residual, 1810 en 58 grados de libertad. R cuadrada múltiple 0.3898, R cuadrada ajustada 0.3057, estadístico F 4.632 en 8 y 58 grados de libertad, $P= 0.0002068$. β (valor beta), IC (intervalo de confianza).

11. Discusión

La obesidad es una enfermedad de alta prevalencia a nivel mundial, asociada con el desarrollo de múltiples enfermedades no transmisibles, entre las cuales destaca la MASLD, que, abarca un espectro de afecciones hepáticas que van desde la esteatosis simple hasta la MASH. La relación entre la obesidad y MASLD está mediada por diversos mecanismos celulares, incluyendo la inflamación sistémica de bajo grado, que es característica de la obesidad y puede inducir procesos como el estrés oxidativo, la apoptosis y el estrés del retículo endoplásmico, todos ellos fundamentales en el desarrollo y progresión de MASLD.

Además, la evidencia sugiere que el RAAS puede desregularse en la obesidad, tanto a nivel sistémico como local. Esta desregulación de este sistema influye en el estado inflamatorio sistémico y local, afectando la progresión del daño hepático. En este contexto, nuestro estudio se propuso investigar la relación entre los principales componentes del RAAS y las citocinas a nivel hepático en pacientes con obesidad mórbida.

Para ello, analizamos biopsias hepáticas de pacientes mexicanos con obesidad mórbida. Las muestras fueron obtenidas durante cirugías bariátricas, momento en el cual los niveles séricos de las variables bioquímicas de los pacientes fueron estabilizados para la intervención quirúrgica. Además, no se contaba con información sobre los tratamientos de estos pacientes, entre los cuales podría haber ACE o ARB, que podrían modificar los niveles de ciertos componentes de RAAS. Esto resultó en valores homogéneos y dentro de los rangos normales, lo cual representa un sesgo en nuestra investigación, ya que no refleja el estado basal de los pacientes. Por otra parte, al examinar si los datos bioquímicos y antropométricos correlacionaron con los niveles de proteínas hepáticas de los componentes de RAAS, no se encontró ninguna correlación con significancia estadística.

Este hallazgo sugiere que las variaciones en los parámetros bioquímicos y antropométricos no están directamente asociadas con las concentraciones de las proteínas de la vía RAAS en el hígado en nuestra muestra de estudio.

Además, es importante destacar que la mayoría de las muestras (74.29%) provinieron de mujeres, debido a que ellas son quienes con mayor frecuencia se someten a cirugías bariátricas. Este desequilibrio de género en nuestra muestra sugiere la necesidad de equilibrar

el porcentaje de ambos sexos en estudios futuros para obtener resultados más representativos y generalizables.

En la **Tabla 3** se presenta la frecuencia de las principales comorbilidades asociadas con la obesidad: DM2, SAOS, HAS y MASH. Aunque no se realizó un análisis histopatológico de las muestras en este estudio, se utilizó el NAFLD score para predecir la presencia de MASH. Los resultados indicaron que solo el 13% de los pacientes tenían una puntuación que sugiere una probable MASH. Sin embargo, es importante analizar la validez de este algoritmo, que tiene una sensibilidad del 86% y una especificidad del 71% (Graffigna M., *et al.*, 2017). Esto sugiere que el NAFLD score podría sobrediagnosticar algunos casos, llevando a una infravaloración de la prevalencia real de MASH en la población estudiada. La utilización del NAFLD score como herramienta de diagnóstico para MASH tiene sus limitaciones. La sensibilidad del 86% indica que es relativamente bueno para identificar casos verdaderos de MASH, pero una especificidad del 71% sugiere que hay una proporción significativa de falsos positivos. Esto puede inflar la percepción de la prevalencia de MASH en nuestra muestra. Para obtener una evaluación más precisa y completa, que además contemple estadios menos avanzados de MASLD, es fundamental realizar diagnósticos histopatológicos en estudios futuros. El uso de biopsias hepáticas proporciona una medida directa y más confiable de la presencia y gravedad de la enfermedad hepática.

La HAS fue la comorbilidad más frecuente asociada a la obesidad en el grupo de estudio, lo cual tiene congruencia con lo reportado en estudios epidemiológicos que muestran una prevalencia de NAFLD del 49.5% en pacientes con hipertensión (Ma, C., *et al.*, 2021). Dado que HAS se caracteriza por un desequilibrio en el RAAS, se consideró pertinente investigar las posibles diferencias en los componentes hepáticos del RAAS entre pacientes con obesidad y HAS y aquellos con obesidad sin HAS.

Nuestra hipótesis inicial postulaba que existirían diferencias significativas en los niveles hepáticos de las moléculas del RAAS (ACE, ACE2, Ang2 y Ang 1-7) entre estos dos grupos de pacientes. Para probar esta hipótesis, se llevó a cabo un análisis comparativo de los niveles de estas moléculas en muestras hepáticas de pacientes con obesidad mórbida con y sin HAS. Esta aproximación buscaba identificar si la presencia de HAS en pacientes obesos estaba asociada con alteraciones específicas en la vía RAAS a nivel hepático. Contrario a nuestra hipótesis, el análisis comparativo no reveló diferencias estadísticamente significativas en los

niveles de las moléculas del RAAS hepático entre pacientes con obesidad mórbida y HAS y aquellos con obesidad mórbida sin HAS. Este resultado sugiere que, al menos en el contexto de la obesidad mórbida, los niveles hepáticos de estas moléculas del RAAS no varían significativamente en función de la presencia o ausencia de HAS. Estos hallazgos indican que la disfunción del RAAS hepático no es el principal mecanismo diferenciador entre los pacientes con obesidad mórbida que presentan HAS y aquellos que no la presentan.

La literatura sugiere que la HAS y la MASLD, comparten varios mecanismos patofisiológicos comunes, incluidos la inflamación, la activación del sistema nervioso simpático y la resistencia a la insulina (Ma, C., *et al.*, 2021). Estos mecanismos pueden no estar reflejados únicamente en el hígado, sino en otros órganos y sistemas que regulan la presión arterial y el metabolismo, además, la MASLD se asocia con la hipertensión incidente y la disfunción endotelial, y parece ser un factor de riesgo independiente para la prehipertensión y la hipertensión. Una limitación importante de nuestro estudio es la falta de análisis de los componentes del RAAS en otros tejidos además del hígado. El RAAS es un sistema complejo que opera en múltiples órganos y sistemas, y es posible que las diferencias significativas entre pacientes con y sin HAS puedan encontrarse en otros tejidos, como los riñones, el corazón o el tejido adiposo.

Con respecto a los análisis de correlación de los componentes proteicos de RAAS con las citocinas hepáticas en personas con obesidad, se observó una correlación positiva significativa entre ACE y todas las citocinas analizadas (TNF- α , IL-6, IL-4, IL-13, IL-10). Esto sugiere que a medida que aumentan los niveles de ACE, también lo hacen los niveles de estas citocinas. Asimismo, ACE2 mostró una correlación positiva notable con IL-4 e IL-13. Esto implica que niveles más altos de ACE2 se corresponden con niveles elevados de estas citocinas tipo Th2, sugiriendo un posible papel regulatorio de ACE2 en la inflamación hepática o de las citocinas en RAAS. En el estudio se estratificó a los pacientes por sexo y encontró que las correlaciones entre las moléculas del RAS y las citocinas diferían entre hombres y mujeres. Por ejemplo, las correlaciones entre ACE y las citocinas fueron generalmente más fuertes en hombres, sugiriendo una modulación específica según el sexo en el RAS hepático y las respuestas inflamatorias. Inesperadamente, se encontró una correlación inversa entre los niveles de Ang2 y TNF- α , IL-4 e IL-10. Esto sugiere que a medida que aumentan los niveles de estas citocinas, disminuyen los niveles de Ang2, indicando un

posible mecanismo de contrarregulación entre Ang2 y estas citocinas. De manera similar, Ang 1-7 mostró una correlación inversa con IL-4, indicando un posible papel antiinflamatorio.

Los hallazgos de este trabajo están respaldados por la literatura existente, que destaca las complejas interacciones entre los componentes del RAAS y las citocinas inflamatorias (Oosthuizen, D., y Sturrock, E.D., 2022).

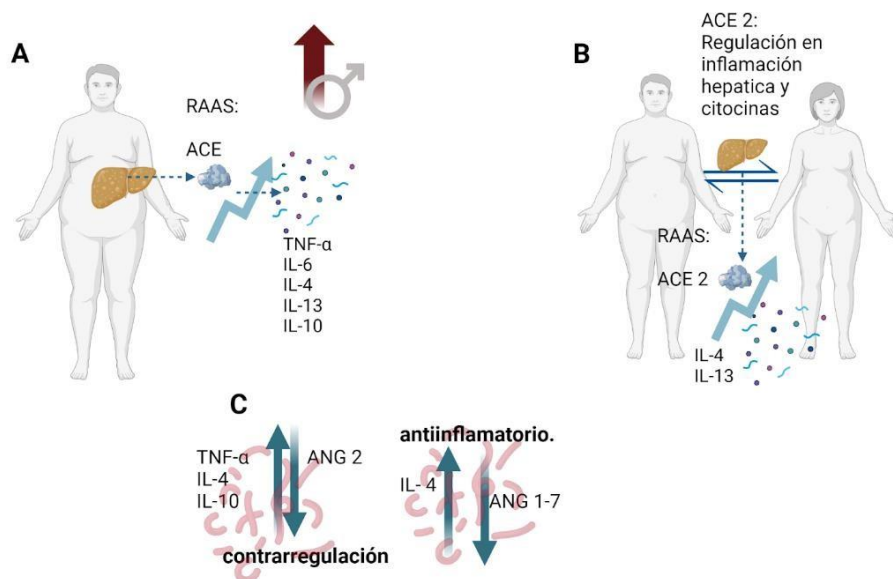


Figura 11. Resultados de los análisis de correlación entre componentes de RAAS y citocinas. A) correlación positiva entre ACE y citocinas TNF- α , IL-6, IL-4, IL-13 e IL-10, es decir que mientras los niveles de ACE suban, las citocinas también y mayoritariamente en pacientes masculinos. **B)** Correlación positiva entre ACE2 con IL-4 e IL-13, es decir, mientras los niveles de ACE2 suban, también los niveles de las dos citocinas, lo que sugiere una regulación en la inflamación hepática. **C)** correlación inversa entre Ang2 con IL-4 e IL-10 y TNF- α ; y sobre IL-4 con Ang 1-7, esto indica que mientras el nivel de las citocinas aumenta, los niveles de los dos mencionados componentes de RAAS van a disminuir. Creado con BioRender.com

Se ha demostrado que el TNF- α en el contexto de artritis reumatoide, aumenta la expresión de ACE, lo cual podría explicar la correlación positiva observada entre ACE y TNF- α en su estudio. Esta relación subraya la compleja interacción entre los mediadores inflamatorios y los componentes del RAAS en la inflamación hepática. Contrariamente a lo observado en este estudio, Ang2, un producto de la actividad enzimática de ACE, ha sido asociada con la promoción de respuestas Th1 y Th17, al tiempo que suprime las respuestas Th2. Sin embargo, la literatura reporta correlaciones inversas entre Ang2 e IL-4, lo cual concuerda con nuestros

hallazgos. A pesar de ciertas discrepancias con estudios previos, nuestros resultados son significativos ya que representan el primer análisis a nivel hepático en pacientes con obesidad sobre la relación entre citocinas y componentes del RAAS. Además, este estudio es pionero al identificar correlaciones sólidas que destacan la relación entre la respuesta tipo Th2 y el RAAS hepático.

Por otra parte, en este estudio se estratificó a los pacientes por sexo y se encontraron diferencias significativas en las correlaciones entre las moléculas del RAAS y las citocinas según el sexo. Por ejemplo, las correlaciones entre ACE y las citocinas fueron más robustas en hombres como se observa en la **figura 9**, indicando una posible modulación específica por sexo en las respuestas inflamatorias hepáticas mediadas por el RAAS. Las diferencias observadas entre sexos en las correlaciones RAAS-citocina subrayan la necesidad de investigar más a fondo los factores hormonales y genéticos que podrían modular estas interacciones y sus implicaciones en la salud hepática.

Finalmente, los resultados obtenidos del modelo de regresión lineal múltiple revelan una relación significativa entre los niveles hepáticos de ACE y las citocinas IL-4 e IL-13 en pacientes con obesidad mórbida ($P = 0.0002068$). Estos hallazgos indican que IL-4 e IL-13 son los principales predictores de los niveles de ACE en este grupo de pacientes. Este análisis proporciona una perspectiva integral sobre cómo las citocinas, específicamente IL-4 e IL-13, influyen en los niveles hepáticos de ACE en pacientes con obesidad mórbida. La identificación de IL-4 e IL-13 como predictores claves de ACE subraya la importancia de las respuestas inflamatorias mediadas por Th2 en la modulación del sistema RAAS en el contexto de la obesidad. Estos resultados no solo contribuyen al entendimiento de los mecanismos subyacentes de la enfermedad hepática en la obesidad, sino que también sugieren nuevas vías para la investigación y el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a estas vías inflamatorias específicas.

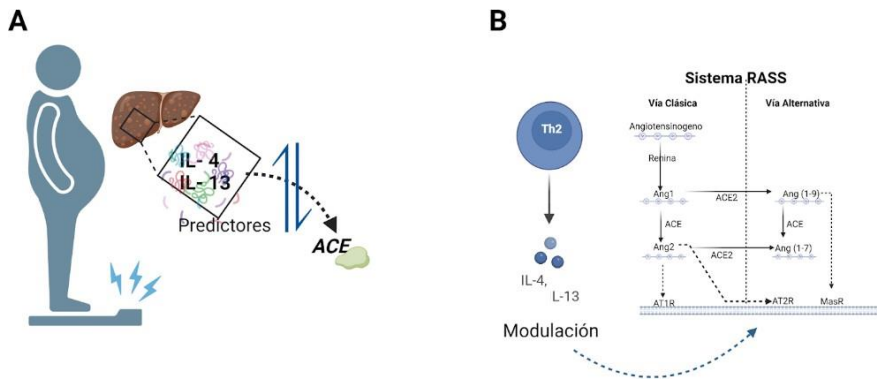


Figura 12. Resultados del modelo de regresión lineal múltiple. **A)** Relación significativa entre citocinas IL-4 e IL-13 como predictores de la modulación de los niveles de ACE hepático en pacientes con obesidad. **B)** Indicación de la modulación de la respuesta Th2 sobre el sistema RASS hepático. Creado con BioRender.com.

A pesar de las limitaciones de este estudio, nuestros hallazgos resaltan el papel crucial de las respuestas inflamatorias tipo Th2, especialmente IL-4 e IL-13, en la regulación de ACE hepático en pacientes obesos. Estos resultados no solo profundizan nuestro entendimiento de los mecanismos pato fisiológicos subyacentes a la enfermedad hepática en la obesidad, sino que también ofrecen nuevas perspectivas para el desarrollo de terapias dirigidas a estas vías inflamatorias específicas. Para futuros estudios, es crucial explorar más a fondo los efectos diferenciales por sexo y considerar métodos diagnósticos más precisos, como biopsias hepáticas, para una evaluación detallada de la severidad y progresión de la MASLD.

12. Conclusión

Basándonos en los resultados obtenidos en este estudio, podemos concluir que existe una relación significativa y compleja entre los componentes del sistema RAAS, las citocinas inflamatorias y la enfermedad hepática en pacientes con obesidad mórbida. Nuestros hallazgos destacan la influencia crítica de las citocinas tipo Th2, específicamente IL-4 e IL-13, en la regulación de la expresión hepática de ACE. Estas citocinas emergieron como predictores claves de los niveles de ACE en el hígado, subrayando su papel fundamental en la modulación del RAAS en el contexto de la obesidad mórbida.

Además, observamos diferencias significativas en las correlaciones entre los componentes del RAAS y las citocinas según el sexo de los pacientes, lo cual sugiere una posible modulación por factores hormonales o genéticos en las respuestas inflamatorias hepáticas mediadas por el RAAS. Este hallazgo destaca la importancia de considerar el sexo como un factor relevante en futuras investigaciones sobre esta temática.

No obstante, nuestro estudio presenta limitaciones importantes que deben ser consideradas. La muestra, predominantemente femenina, y el sesgo introducido por la estabilización de los niveles bioquímicos para la cirugía bariátrica podrían haber influido en nuestros resultados. Asimismo, la falta de análisis histopatológico directo para evaluar la presencia y gravedad de la esteatosis hepática es una limitación significativa que indica la necesidad de futuros estudios con diagnósticos más detallados.

Nuestros hallazgos, en conclusión, nos ofrecen una base sólida para continuar explorando los mecanismos subyacentes que conectan el RAAS, las citocinas inflamatorias y la enfermedad hepática en pacientes con obesidad mórbida. Las futuras investigaciones deberían dirigirse hacia la elucidación de estos mecanismos a nivel molecular y celular, así como hacia la validación clínica de los biomarcadores identificados, con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas personalizadas y mejorar la gestión de la enfermedad hepática asociada a la obesidad en la práctica clínica.

Perspectivas

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, surgen varias preguntas de investigación que deberán responderse para profundizar nuestro entendimiento sobre la relación entre el

sistema RAAS, las citocinas inflamatorias y la enfermedad hepática en pacientes con obesidad mórbida:

1. Exploración de Mecanismos Subyacentes: Investigar los mecanismos moleculares y celulares específicos mediante los cuales las citocinas tipo Th2, como IL-4 e IL-13, regulan la expresión de ACE en el hígado. Esto podría incluir estudios *in vitro* utilizando cultivos celulares y modelos animales que permitan manipular selectivamente los niveles de estas citocinas y observar su impacto en la actividad del RAAS.
2. Evaluación de otras comorbilidades: Ampliar el análisis para incluir otras comorbilidades comunes asociadas con la obesidad mórbida, como la DM2 y SAOS. Investigar cómo estas condiciones adicionales pueden modular la relación entre el sistema RAAS y la inflamación hepática, proporcionando una comprensión más completa de los factores de riesgo y los mecanismos patofisiológicos involucrados.
3. Estudios Longitudinales: Realizar estudios longitudinales para seguir la progresión de la enfermedad hepática en pacientes con obesidad mórbida a lo largo del tiempo, integrando evaluaciones periódicas de los componentes del RAAS y las citocinas. Esto permitiría establecer relaciones causales y determinar si cambios en los niveles de citocinas preceden a alteraciones en el sistema RAAS o viceversa.
4. Comparación por Sexo y Edad: Ampliar la estratificación por sexo y considerar también la edad como un factor relevante. Investigar cómo la edad y los factores hormonales pueden influir en las interacciones entre el sistema RAAS, las citocinas y la enfermedad hepática en pacientes con obesidad, permitiendo una personalización más precisa de las estrategias terapéuticas.
5. Validación de Biomarcadores: Validar biomarcadores específicos identificados en este estudio, como IL-4 e IL-13, como predictores de la progresión de la enfermedad hepática en cohortes más amplias y diversificadas. Esto podría incluir estudios multicéntricos que evalúen la utilidad clínica de estos biomarcadores para mejorar el diagnóstico y la estratificación del riesgo en pacientes con MASLD asociada a la obesidad.

6. Enfoque en Terapias Dirigidas: Explorar el potencial terapéutico de intervenciones que modulen selectivamente las respuestas inflamatorias tipo Th2 o los componentes del RAAS en el tratamiento de la enfermedad hepática relacionada con la obesidad. Estos estudios podrían incluir ensayos clínicos para evaluar la eficacia y seguridad de agentes farmacológicos que actúen sobre estos blancos específicos.

En conjunto, estas líneas de investigación podrían proporcionar una base científica sólida para el desarrollo de nuevas estrategias preventivas y terapéuticas dirigidas a mitigar los efectos adversos del desequilibrio del sistema RAAS y la inflamación hepática en pacientes con obesidad mórbida.

13. Referencias

1. Aguilera-Méndez, A. (2018). Esteatosis hepática no alcohólica: una enfermedad silente. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 56(6), 544-549.
2. Alvaredo, F., Chancel, L., Piketty, T., Saez, E., y Zucman, G. (2018). Informe sobre desigualdad mundial. Laboratorio de Desigualdad Mundial. Recuperado el 30 de julio de 2018. Disponible en: [\[http://wir2018.wid.world\]](http://wir2018.wid.world)(<http://wir2018.wid.world>).
3. Anderson, H., y Clark, R. (2020). Metabolic associated fatty liver disease in obese patients. *Liver International*, 38(5), 789-799.
4. Badr, A.M., Sherif, I.O., Mahran, Y.F., Attia, H.A. (2023). Role of Renin-Angiotensin System in the Pathogenesis and Progression of Non-alcoholic Fatty Liver. In: Bhullar, S.K., Tappia, P.S., Dhalla, N.S. (eds) *The Renin Angiotensin System in Cancer, Lung, Liver and Infectious Diseases. Advances in Biochemistry in Health and Disease*, vol 25. Springer, Cham.
5. Bataller, R., y Brenner, D. A. (2005). Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 115(2), 209-218.
6. Bugianesi, E., Marchesini, G., Gentilcore, E., Ciaravella, M. F., y Lenzi, M. (2005). Review article: non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Alimentary Pharmacology y Therapeutics*, 22(s2), 68-70.
7. Caballero, B. (2019). Humans against Obesity: Who Will Win? *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, 10(suppl_1), S4-S9. [\[https://doi.org/10.1093/advances/nmy055\]](https://doi.org/10.1093/advances/nmy055)(<https://doi.org/10.1093/advances/nmy055>).
8. Cao, D., Veiras, L., Ahmed, F., Shibata, T., Bernstein, E. A., Okwan-Duodu, D., Giani, J. F., Khan, Z., y Bernstein, K. E. (2022). The non-cardiovascular actions of ACE. *Peptides*, 152, 170769. [\[https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170769\]](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170769)(<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170769>).
9. Cao, X., Yang, F., Shi, T., Yuan, M., Xin, Z., Xie, R., Li, S., Li, H., & Yang, J. K. (2016). La enzima convertidora de angiotensina 2/angiotensina-(1-7)/eje Mas activa la señalización Akt para mejorar la esteatosis hepática. *Informes científicos*, 6, 21592. [\[https://doi.org/10.1038/srep21592\]](https://doi.org/10.1038/srep21592)(<https://doi.org/10.1038/srep21592>).
10. Canicoba, M., Domínguez, N., y Gutiérrez, S. (2014). Nutrición en las enfermedades hepáticas crónicas. *Nutr Clín Med*, 8, 121-35.
11. Carey, R. M. (2017). The intrarenal renin-angiotensin system in hypertension. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 22(3), 204-210.
12. Chappell, M. C. (2012). Sistema renina-angiotensina no clásico y función renal. *Fisiología Integral*, 2(4), 2733-2752. [\[https://doi.org/10.1002/cphy.c120002\]](https://doi.org/10.1002/cphy.c120002)(<https://doi.org/10.1002/cphy.c120002>).

13. Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., ... y Sanyal, A. J. (2018). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 67(1), 328-357.
14. Chobanian, A. V., Bakris, G. L., Black, H. R., Cushman, W. C., Green, L. A., Izzo, J. L., ... y National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. (2003). The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*, 289(19), 2560-2571.
15. Domińska, K., Okła, P., Kowalska, K., Habrowska-Górczyńska, D. E., Urbanek, K. A., Ochędalski, T., y Piastowska-Ciesielska, A. W. (2018). Angiotensin 1–7 modulates molecular and cellular processes central to the pathogenesis of prostate cancer. *Scientific Reports*, 8(1), 15772..
16. Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N., ... y Acton, S. (2000). A novel angiotensin-converting enzyme–related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation Research*, 87(5), e1-e9.
17. Fan, J., Nishanian, P., Breen, E. C., McDonald, M., y Fahey, J. L. (1998). Expresión del gen de citoquinas en linfocitos humanos normales en respuesta a la estimulación. *Inmunología clínica y de laboratorio de diagnóstico*, 5(3), 335–340. [\[https://doi.org/10.1128/CDLI.5.3.335-340.1998\]](https://doi.org/10.1128/CDLI.5.3.335-340.1998)(<https://doi.org/10.1128/CDLI.5.3.335-340.1998>).
18. *Fisiología Médica* (3.a ed., Vol. 1). (2017). Walter F. Boron y Emile L. Boulpaep.
19. Francque, S. M., y Dirinck, E. (2023). NAFLD prevalence and severity in overweight and obese populations. *The Lancet Gastroenterology y Hepatology*, 8(1), 2-3.
20. Francque, S. M., Marchesini, G., Kautz, A., Walmsley, M., Dorner, R., Lazarus, J. V., Zelber-Sagi, S., Hallsworth, K., Busetto, L., Frühbeck, G., Dicker, D., Woodward, E., Korenjak, M., Willemsse, J., Koek, G. H., Vinker, S., Ungan, M., Mendive, J. M., y Lionis, C. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP reports : innovation in hepatology*, 3(5), 100322. [\[https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322\]](https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322)(<https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322>).
21. Gobierno de México. (2016). Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado. Recuperado de [\[https://www.gob.mx/issste/articulos/la-obesidad-en-mexico#:~:text=En%20M%C3%A9xico%2C%20el%2070%25%20de,y%20algunos%20tipos%20de%20c%C3%A1ncer\]](https://www.gob.mx/issste/articulos/la-obesidad-en-mexico#:~:text=En%20M%C3%A9xico%2C%20el%2070%25%20de,y%20algunos%20tipos%20de%20c%C3%A1ncer)(<https://www.gob.mx/issste/articulos/la-obesidad-en-mexico#:~:text=En%20M%C3%A9xico%2C%20el%2070%25%20de,y%20algunos%20tipos%20de%20c%C3%A1ncer>).
22. Graffigna, M., Catoira, N., Soutelo, J., Azpelicueta, A., Berg, G., Perel, C., ... y Farias, J. (2017). Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Revista argentina de endocrinología y metabolismo*, 54(1), 37-46
23. Gupte, M., Thatcher, S. E., Boustany-Kari, C. M., Shoemaker, R., Yiannikouris, F., Zhang, X., y Cassis, L. A. (2008). ACE2 is expressed in mouse adipocytes and regulated by a high-

- fat diet. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 295(3), R781-R788.
24. Henriksen, E. J., Jacob, S., y Fogt, D. L. (2001). The anti-diabetic actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists. *Current Diabetes Reports*, 1(2), 167-172.
 25. Henríquez, F., Rodríguez Perez, J. C., Hernández Perera, O. (2017, abril). El brazo izquierdo del sistema renina angiotensina (RAS). Un viejo sistema con una visión nueva. *Nefrología*. Recuperado 16 de mayo de 2022, de <https://www.revistanefrologia.com/es-el-brazo-izquierdo-del-sistema-articulo-X0211699507020916>.
 26. Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
 27. International Diabetes Federation. (2021). IDF Diabetes Atlas. Recuperado de <https://diabetesatlas.org/>.
 28. Johnson, M., y Lee, K. (2021). Obesity as a major risk factor for hypertension. *Cardiovascular Health Journal*, 29(3), 345-357.
 29. Junqueira, L. C., *et al.* (2014). *Histología Básica: Texto y Atlas*. Elsevier, 14a edición.
 30. Keating, S. E., Hackett, D. A., Parker, H. M., O'Connor, H. T., Gerofi, J. A., Sainsbury, A., y Baker, M. K. (2012). Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *Journal of Hepatology*, 57(2), 505-512.
 31. Kim, S., y Park, H. (2018). Hypertension and obesity: A critical review. *International Journal of Hypertension*, 11(1), 89-101.
 32. Kim, S., y Puranik, A. S. (2015). The renin-angiotensin system in hepatic fibrosis. *Liver Research*, 4(2), 137-145.
 33. King, E., y Brooks, G. (2021). Inflammation and fibrosis in MASH patients. *Liver Research and Treatment*, 9(1), 98-107.
 34. Lambert, D. W., *et al.* (2006). Functional Relevance of the Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Human Liver. *Hepatology*, 44(5), 1093-1102.
 35. Manual MSD. (s. f.). Figure: Regulación de la presión arterial: sistema renina-angiotensina-aldosterona. Manual MSD versión para público general. Recuperado 15 de mayo de 2022, de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/hogar/multimedia/figure/regulaci%C3%B3n-de-la-presi%C3%B3n-arterial-sistema-renina-angiotensina-aldosterona>.

36. Martínez, J., & Rodríguez, L. (2019). The prevalence of sleep apnea in obese individuals. *Respiratory Health*, 13(2), 145-152.
37. Martín-Domínguez, V. (2013, agosto). Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. Recuperado 2 de junio de 2022, de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082013000700006&script=sci_arttext&tlng=es](https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082013000700006&script=sci_arttext&tlng=es).
38. Mastoor, Z., Diz-Chaves, Y., González-Matías, L. C., y Mallo, F. (2022). Renin-angiotensin system in liver metabolism: Gender differences and role of incretins. *Metabolites*, 12(5), 411.
39. Meyers, W. M., Hong, R. J., Sin, W. C., Kim, C. S., y Haas, K. (2023). A cell-based assay for rapid assessment of ACE2 catalytic function. *Scientific Reports*, 13(1), 14123.
40. Owei, I., Umekwe, N., Provo, C., Wan, J., Dagogo-Jack, S. (2017). Fenotipos obesos y no obesos sensibles a la insulina y resistentes a la insulina: papel en la predicción de la incidencia de prediabetes en una cohorte birracial longitudinal. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 5(1): e000415. [Artículo gratuito de PMC] [PubMed] [Google Scholar].
41. Organización Mundial de la Salud. (2016). Prevención de enfermedades cardiovasculares. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
42. Orbe-Orihuela, Y. C., Lagunas-Martínez, A., Bahena-Román, M., Madrid-Marina, V., Torres-Poveda, K., Flores-Alfaro, E., ... y Burguete-García, A. I. (2018). High relative abundance of firmicutes and increased TNF- α levels correlate with obesity in children. *Salud publica de Mexico*, 60, 5-11.
43. Paizis, G., Gilbert, R. E., Cooper, M. E., Murthi, P., Schembri, J. M., Wu, L. L., & Tikellis, C. (2005). Effect of angiotensin II type 1 receptor blockade on hepatic steatosis in a rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 42(1), 102-109.
44. Pessayre, D., Mansouri, A., y Fromenty, B. (2001). Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. *Vitamins y Hormones*, 63, 381-396.
45. Rajapaksha, I. G., Gunarathne, L. S., Asadi, K., Laybutt, R., Andrikopoulos, S., Alexander, I. E., Watt, M. J., Angus, P. W., y Herath, C. B. (2022). Angiotensin Converting Enzyme-2 Therapy Improves Liver Fibrosis and Glycemic Control in Diabetic Mice With Fatty Liver. *Hepatology communications*, 6(5), 1056-1072. <https://doi.org/10.1002/hep4.1884>.
46. Ramalingam, L., Menikdiwela, K., LeMieux, M., Dufour, J. M., Kaur, G., Kalupahana, N., y Moustaid-Moussa, N. (2017). The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1106-1114.
47. Reyes, J. Marcela. (2012). Características biológicas del tejido adiposo: el adipocito como célula endocrina. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 136-144. ISSN 0716-8640. [[https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70290-0](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70290-0)]([https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70290-0](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70290-0))

8640(12)70290-0).

[\[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012702900\]](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012702900)(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012702900>).

48. Riviere, G., Michaud, A., Corradi, H. R., Sturrock, E. D., Ravi Acharya, K., Cogez, V., Bohin, J. P., Vieau, D., y Corvol, P. (2007). Caracterización de la primera enzima convertidora de angiotensina en bacterias: el ancestro ACE ya está activo. *Gene*, 399, 81–90. doi: [10.1016/j.gene.2007.05.010](<https://doi.org/10.1016/j.gene.2007.05.010>). [Artículo gratuito de PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
49. Ross, M. H., *et al.* (2015). *Histology: A Text and Atlas*. Lippincott Williams y Wilkins, 7a edición.
50. Sahuquillo Martínez, Alicia, Ramírez Manent, José Ignacio, Torres Moreno, M^a Pilar, Solera Albero, Juan, y Tárraga López, Pedro J. (2020). La ecografía, técnica diagnóstica en esteatosis hepática no alcohólica. *Journal of Negative and No Positive Results*, 5(4), 392-427. Epub 13 de octubre de 2020. [\[https://dx.doi.org/10.19230/jonnpr.3261\]](https://dx.doi.org/10.19230/jonnpr.3261)(<https://dx.doi.org/10.19230/jonnpr.3261>).
51. Sanchez-Valle, V., Chavez-Tapia, N. C., Uribe, M., & Mendez-Sanchez, N. (2012). Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: A review. *Current Medicinal Chemistry*, 19(33), 5425-5440.
52. Schrier, R. W., y Arroyo, V. (2016). The acute vs. chronic adrenergic nervous system and renin-angiotensin-aldosterone system responses to cirrhotic liver disease. *Journal of Hepatology*, 65(5), 1023-1034.
53. Simões e Silva AC, Miranda AS, Rocha NP, Teixeira AL. Renin angiotensin system in liver diseases: Friend or foe? *World J Gastroenterol* 2017; 23(19): 3396-3406 [PMID: 28596676 DOI: 10.3748/wjg.v23.i19.3396]
54. Skidgel, R. A., Engelbrecht, S., Johnson, A. R., & Erdos, E. G. (1984). Hydrolysis of substance P and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. *Peptides*, 5, 769–776. doi: [10.1016/0196-9781(84)90020-2]([https://doi.org/10.1016/0196-9781\(84\)90020-2](https://doi.org/10.1016/0196-9781(84)90020-2)). [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
55. Sofi, F., Abbate, R., Gensini, G. F., & Casini, A. (2010). Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 92(5), 1189-1196.
56. Song, L. N., Liu, J. Y., Shi, T. T., Zhang, Y. C., Xin, Z., Cao, X., & Yang, J. K. (2020). Angiotensin-(1-7), the product of ACE2 ameliorates NAFLD by acting through its receptor Mas to regulate hepatic mitochondrial function and glycolipid metabolism. *The FASEB Journal*, 34(12), 16291-16306.
57. Stanford Children’s Health. (s. f.). Anatomía y función del hígado. Recuperado 15 de mayo de 2022, de [\[https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=anatomyandfunctionoftheliver-90-P06162\]](https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=anatomyandfunctionoftheliver-90-P06162)(<https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=anatomyandfunctionoftheliver-90-P06162>).

58. Sturrock, E. D., Natesh, R., Van Rooyen, J. M., & Acharya, K. R. (2004). Structure of angiotensin I-converting enzyme. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(21), 2677-2686. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4239-0>.
59. Taskin, E., & Guven, C. (2017). Local renin-angiotensin system at liver and crosstalk with hepatic diseases. In *Renin-Angiotensin System-Past, Present and Future*. IntechOpen.
60. Thompson, P., & Evans, J. (2018). The connection between metabolic syndrome and liver disease. *Journal of Hepatology*, 40(3), 256-267.
61. Timmermans, P. B., Wong, P. C., Chiu, A. T., Herblin, W. F., Benfield, P., Carini, D. J., & Lee, R. J. (2018). Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacological Reviews*, 45(2), 205-251.
62. Tipnis, S. R., Hooper, N. M., Hyde, R., Karran, E., Christie, G., & Turner, A. J. (2000). A human homolog of angiotensin-converting enzyme: Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *Journal of Biological Chemistry*, 275(43), 33238-33243.
63. Tzakos, A. G., Galanis, A. S., Spyroulias, G. A., Cordopatis, P., Manessi-Zoupa, E., & Gerothanassis, I. P. (2003). Structure–function discrimination of the N-and C-catalytic domains of human angiotensin-converting enzyme: implications for Cl–activation and peptide hydrolysis mechanisms. *Protein engineering*, 16(12), 993-1003.
64. Vidwans, H. B., & Watve, M. G. (2017). ¿Cuánta variación en la resistencia a la insulina se explica por la obesidad? *J Insul Resist*, 2(1):5. [Google Académico].
65. Vilar-Gomez, E., Martinez-Perez, Y., Calzadilla-Bertot, L., Torres-Gonzalez, A., Gra-Oramas, B., Gonzalez-Fabian, L., ... & Adams, L. A. (2015). Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 149(2), 367-378.
66. White, M., & Hall, S. (2019). Progression from MASLD to MASH: A clinical perspective. *Hepatology Today*, 15(4), 332-341.
67. Yang, M., Ma, X., Xuan, X., Deng, H., Chen, Q., & Yuan, L. (2020). La liraglutida atenúa la enfermedad del hígado graso no alcohólico en ratones mediante la regulación del sistema local de renina-angiotensina. *Fronteras en farmacología*, 11, 432. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00432>.
68. Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L., & Wymer, M. (2016). Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, 64(1), 73-84.
69. Zhao, Y. C., Zhao, G. J., Chen, Z., She, Z. G., Cai, J., & Li, H. (2020). Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging driver of hypertension. *Hypertension*, 75(2), 275-284.
70. Zhang, X., Wong, G. L. H., Yip, T. C. F., Tse, Y. K., Liang, L. Y., Hui, V. W. K., & Wong, V. W. S. (2022). Angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent liver-related events in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 76(2), 469-482.