

**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 DE CIENCIAS GENÓMICAS**

**Asociación de la expresión de *ACE2* con citocinas  
del tejido hepático de pacientes con obesidad**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS GENÓMICAS**

PRESENTA:

**Biól. Nydia Angélica Ocampo Aguilera**

DIRECTOR

**Dra. Helena Solleiro Villavicencio**

CODIRECTOR

**Dra. Lucía Angélica Méndez García**

**POSGRADO  
EN CIENCIAS  
GENÓMICAS**

Ciudad de México, 16 de mayo, 2023.

## 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.

Jurado asignado

Dra. Elizabeth Álvarez- Presidenta

Dra. Helena Solleiro- Secretaria

Dr. Mauricio Castañón- Vocal.

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de la Ciudad de México UACM

Al Posgrado en Ciencias Genómicas

Al Hospital general de México “Dr. Eduardo Liceaga”

Agradezco el financiamiento otorgado por el CCyT, a través del proyecto UACM-CCYT-2023-IMP-06 de la Convocatoria 2023.

Al programa de Becas para posgrados del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico recibido (número de becario 1104485).

A mi directora de tesis, la Dra. Helena Solleiro Villavicencio y a mi codirectora de tesis Dra. Angélica Méndez García.

A mi comité tutor A el Dr. Galileo Escobedo Gonzáles, Dra. María Elizabeth Álvarez Sánchez, Dra. Lilia López Cánovas, Dr. Mauricio Castañón Arreola por sus observaciones y comentarios, así como su paciencia. También aprecio las observaciones e interés a mi proyecto a todo el PCG. Así como su apoyo.

## *Dedicatoria*

*Dios gracias por permitirme escribir y dedicarte este escrito y por qué me permitiste llegar hasta este punto de mi vida.*

*Angélica gracias a ti porque a pesar de cada uno de los retos que surgieron durante esta etapa, solo tú sabes que no te detuviste a que hubiera calma. Recuerda que la flor más bella es la que crece en la adversidad.*

*A mis padres Rodolfo Ocampo Galeana y Angélica Aguilera Ponce que me han enseñado a nunca darme por vencido y terminar con todo aquello que me proponga. Mamá sé que tú me guías desde el cielo.*

*Mi abuelita materna Ofelia Galeana Guadarrama sin tí mamá no sería quien soy gracias por ser valiente y cuidarme desde niña.*

*A mis hermanos Diana Laura Ocampo Aguilera y Abraham Ocampo Aguilera, aunque lejos siempre en mis están en mis pensamientos son pieza fundamental en mi forma de ser.*

*Tíos Fernando Ocampo, Martín Ocampo y Tías Heraclea Ocampo, Concepción Ocampo y Beatriz Ocampo que sería de mí sin su apoyo es fundamental y aunque no les tocaba fungieron como padres y madres demostrándome su paternidad de diversas formas.*

*Primos, gracias por aun revivir tantos momentos de la infancia, momentos que en verdad valen oro más que otro bien material.*

*A mi Suegra María Guadalupe Mejía López gracias por en momentos en los que no teníamos tiempo de nada, nos ayudaba a alimentarnos y cuidarnos. El apoyo moral nunca me faltó, eso no tiene precio.*

*A ti esposo Víctor Alán Alcántara Mejía que desde que iniciamos la carrera de Biología, sin imaginarlo terminarías siendo mi equipo de vida. Sabes que para mí eres un gran ejemplo. No sé cómo lo logras eso es digno de respetar. Sabes que te amo y siempre te llevo en mi corazón.*

*A ti bebé porque lograste pasar cada uno de los retos que me propuse, porque fuiste valiente, nunca interrumpiste mis planes, gracias por aguantar por todo lo que pasamos y cumplir el trato que hicimos cuando me enteré de que en mí crecías. Disculpa si no te puse atención como yo quería mientras te desarrollabas. Ya te amo y aún no te conozco.*

*Gracias, compañeros del laboratorio, José Alfonso Arreola, José Ángel Sotelo, y a Itzel Baltazar Pérez por su paciencia y preguntas a mis compañeros del PCG Paola Martínez Mares siempre me leíste y escuchaste*

*A mi directora de tesis, la Dra. Helena Solleiro Villavicencio y a mi codirectora de tesis Dr. Angélica Méndez García ya que me enseñaron el significado de trabajo en equipo, me guiaron paso a paso durante el desarrollo del proyecto y a sus observaciones para la formación de mi vida científica y laboral, pero sobre todo por su paciencia, sé que aún me queda mucho por aprender, gracias por su guía en este camino.*

## Índice

<b>1. Abreviaturas</b> .....	<b>9</b>
<b>2. Glosario términos clínicos</b> .....	<b>10</b>
<b>3. Resumen</b> .....	<b>11</b>
<b>4. Abstract</b> .....	<b>12</b>
<b>5. Introducción</b> .....	<b>13</b>
5.1. La obesidad.....	15
5.2. El papel de la inflamación en las personas con obesidad .....	16
5.3. Fisiología hepática .....	19
5.3.1 Organización del lobulillo hepático .....	22
5.4. Enfermedades hepáticas en personas con obesidad.....	24
5.5. Patogénesis de la NAFLD .....	24
<b>6. Antecedentes particulares</b> .....	<b>27</b>
6.1 El sistema RAS .....	27
6.2. Características de ACE2 .....	30
6.3. Expresión de ACE2 .....	31
6.4. Función de ACE2.....	32
6.5. Regulación de la expresión de ACE2 .....	33
6.6 RAS hepático y la participación de ACE2 en el hígado .....	36
<b>7. Hipótesis</b> .....	<b>38</b>
<b>8. Justificación</b> .....	<b>39</b>
<b>9. Objetivos</b> .....	<b>40</b>
9.1. Objetivo general .....	40
9.2. Objetivos particulares.....	40
<b>10. Estrategia experimental</b> .....	<b>41</b>
<b>11. Materiales y métodos</b> .....	<b>42</b>
11.1. Sujetos de estudio.....	42
11.2 Objetivos 1 y 2: RT-qPCR para medir la expresión de ARNm de ACE2 y citocinas .....	42
11.3 Objetivo 3: Ensayo de LUMINEX para la evaluación proteica de citocinas .....	43
11.4. Análisis estadístico .....	44
<b>12. Resultados</b> .....	<b>46</b>
12.1. Análisis descriptivo de variables antropométricas y bioquímicas de la población de estudio.....	46
12.2. Niveles de expresión de mRNA de ACE2 en tejido hepático de pacientes con obesidad con comorbilidades asociadas y datos antropométricos .....	48

<b>12.3. Correlación de variables bioquímicas, antropométricas y la expresión de ACE2</b>	<b>50</b>
<b>12.4. Correlaciones de la expresión de ACE2 y citocinas proinflamatorias</b>	<b>51</b>
<b>12.5 Análisis de regresión lineal múltiple del <math>\Delta</math>CT de ACE2 en función de <math>\Delta</math>CT TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-1<math>\beta</math>, IL-8, MCP-1, IL-4, IL-13 e IL-10</b>	<b>53</b>
<b>12.6 Correlación del <math>\Delta</math>CT de ACE2 y la concentración proteica de citocinas TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-13 e IL-10</b>	<b>55</b>
<b>12.7. Análisis de regresión lineal múltiple del <math>\Delta</math>CT de ACE2 y la expresión proteica de TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-1<math>\beta</math>, IL-10, IL-13 e IL-4</b>	<b>56</b>
<b>14. Mecanismo hipotético</b>	<b>63</b>
<b>15. Conclusiones</b>	<b>64</b>
<b>16. Recomendaciones</b>	<b>65</b>
<b>17. Bibliografía</b>	<b>66</b>
<b>18. Anexos</b>	<b>78</b>

Índice de tablas

<b>Tabla I.</b> Principales adipocinas: órgano secretor, función a nivel fisiológico y enfermedades con las que se le ha asociado.....	21
<b>Tabla II.</b> microRNAs dirigidos a la enzima convertidora de angiotensina 2 .....	35
<b>Tabla III.</b> Primers y tamaño de amplicón de los primers que se utilizaron para los genes evaluados en el presente estudio.....	43
<b>Tabla IV.</b> Características bioquímicas y antropométricas de la población de estudio.....	47
<b>Tabla V.</b> Modelo de regresión lineal múltiple $\Delta$ CT <i>ACE2</i> y $\Delta$ CT de citocinas	53
<b>Tabla VI.</b> Modelo de regresión lineal múltiple con el delta CT de <i>TNF- <math>\alpha</math></i> , <i>IL-6</i> , <i>IL-8</i> vs. delta CT de <i>ACE2</i> .....	54
<b>Tabla VII.</b> Modelo de regresión lineal múltiple $\Delta$ CT <i>ACE2</i> y niveles proteicos de citocinas .....	56
<b>Tabla VIII.</b> Modelo de regresión lineal simple $\Delta$ CT <i>ACE2</i> y niveles proteicos de <i>TNF- <math>\alpha</math></i> .....	57

Índice de figuras	
<b>Figura 1. Compartimentos del lobulillo hepático.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 2. Mecanismos patogénicos durante la progresión a NAFLD (hipótesis de los dos golpes) .....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 3. Vía clásica y vía alternativa del RAS.....</b>	<b>29</b>
<b>Figura 4. Localización de los genes colectrina, ACE y ACE2.....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 5. Expresión de ACE2 en el cuerpo humano.....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 6. Comparación de la expresión de ACE2.....</b>	<b>49</b>
<b>Figura 7. Correlación el <math>\Delta</math>CT de ACE2 x albúmina (U/L) y gama glutamil-transferasa (GGT) (g/dL).....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 8. Correlación del <math>\Delta</math>CT de ACE2 vs. TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, y IL-1 <math>\beta</math>, IL8 y MCP1, IL-4, IL-13 e IL-10. ....</b>	<b>52</b>
<b>Figura 9. Correlación del <math>\Delta</math>CT de ACE2 vs los niveles proteicos de TNF-<math>\alpha</math>, IL-6, IL-10 e IL-13.....</b>	<b>55</b>
<b>Figura 10. Resumen gráfico de los resultados .....</b>	<b>58</b>
<b>Figura 11. Mecanismo hipotético .....</b>	<b>63</b>

## 1. Abreviaturas

ACE	Enzima convertidora de angiotensina
ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2
Ang II	Angiotensina II
Ang (1-7)	Angiotensina 1-7
APN	Aminopectidasa N
AT1R	Receptor de angiotensina II, tipo 1 o receptor AT1
CCL2	Ligando 2 de quimiocina, proteína 1 quimioatrayente de monocitos
CCR2	Receptor de quimiocinas C-C tipo 2
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus 2
FFA	Ácidos grasos libres
GGT	Gamma guamil transferasa
ICAM	Molécula de adhesión molecular
IL-1	Interleucina 1
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-17	Interleucina 17
IKK	Cinasa I $\kappa$ B
IMC	Índice de masa corporal
JNK	Cinasa c-Jun N-terminal
LGI	Inflamación de bajo grado
MasR	Receptor MAS
M1	Macrófagos tipo 1
M2	Macrófagos tipo 2
MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
NAFLD	Hígado graso no alcohólico
NASH	Esteatohepatitis
NF $\kappa$ B	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NAFL	Esteatohepatitis no alcohólica
OMS	Organización mundial de la salud
RAS	Sistema renina angiotensina
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
RE	Retículo endoplásmico
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
VCAM	Moléculas de adhesión celular vascular
VSCM	Moléculas de adhesión celular intercelular

## 2. Glosario términos clínicos

- **Cáncer hepatocelular o hepatocarcinoma.** Enfermedad por la que algunas células del cuerpo se multiplican sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo, en este caso afecta primordialmente al hígado.
- **Cirrosis hepática.** Es una de las etapas finales de los procesos de reparación del proceso inflamatorio, que se caracteriza por la formación de fibras de colágeno que se forman en los sitios que se presentaron lesiones daños.
- **Esteatosis hepática.** Exceso en la acumulación de gotas lipídicas en el tejido hepático.
- **Esteatohepatitis.** Acumulación del exceso de lípidos que deriva a un incremento de proceso inflamatorios.
- **Estrés oxidativo.** Estado que se presenta cuando los sistemas antioxidantes no pueden contender con las especies oxidantes, por lo que hay un exceso de éstas en el medio intra y/o extracelular.
- **Fibrosis.** Formación de tejido conectivo fibroso en órganos o tejidos que se produce como consecuencia de un proceso de reparación, generalmente tras un proceso inflamatorio crónico.
- **Hipertensión arterial.** Condición patológica que se presenta cuando los vasos sanguíneos mantienen una presión mayor a 140/90 mm Hg; lo que significa que la fuerza ejercida por la sangre en venas y arterias es elevada.
- **Natriuresis.** Mecanismo por el que el sodio es excretado por la orina regulado por los riñones.
- **Presión sanguínea.** Es la fuerza que la sangre ejerce sobre las paredes arteriales. Esta presión se expresa con dos números, el primer número, llamado presión arterial sistólica, es la presión causada cuando el corazón se contrae y empuja la sangre hacia afuera. El segundo valor, llamado presión arterial diastólica, es la presión que ocurre cuando el corazón se relaja y se llena de sangre. La presión normal se considera menor a 120 y 80 (120/80).
- **Vasodilatación.** Proceso en el que los vasos sanguíneos se dilatan o expanden.

### 3. Resumen

La obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por una acumulación anormal o excesiva de grasa y la presencia de inflamación crónica de bajo grado a nivel sistémico y local. Esta enfermedad es un factor de riesgo para desarrollar enfermedades como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), que surge de la esteatosis y procesos proinflamatorios y/o fibróticos exacerbados. Además, se ha demostrado que la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2) hepática regula genes específicos para la oxidación de lípidos, el estrés oxidativo y la inflamación, lo que sugiere que su expresión está asociada con el desarrollo de esteatosis hepática en personas con obesidad propensas a desarrollar NAFLD. En este trabajo se evaluó la expresión de *ACE2* en muestras de hígado de pacientes con obesidad y se analizó si existe correlación entre los niveles de mRNA de este gen y la concentración de distintas citocinas proinflamatorias, así como con diferentes parámetros bioquímicos, clínicos y antropométricos. Se analizaron setenta muestras de tejido hepático de pacientes que se realizaron cirugía bariátrica. Para evaluar la expresión de *ACE2* y las citocinas proinflamatorias, se purificó el ARN y se realizó una RT-qPCR. Por otra parte, se evaluó la concentración de citocinas mediante un inmunoensayo con perlas magnéticas. Para determinar si existe correlación entre la expresión de *ACE2* y las distintas variables analizadas, la población de estudio fue estratificada por sexo, comorbilidades y puntuación de NAFLD, y se aplicaron pruebas estadísticas para analizar las diferencias entre grupos, la correlación entre variables y una regresión lineal para predecir el valor de datos desconocidos mediante el uso de otro valor de datos relacionado y conocido. Se encontró que la expresión génica de *ACE2* en hombres es significativamente menor (un mayor  $\Delta$ CT) a la observada en mujeres. Se encontró correlación entre el  $\Delta$ CT de *ACE2* con GGT y albúmina; sin embargo, *ACE2*-GGT presentó una correlación positiva más fuerte, lo cual sugiere que la expresión de *ACE2* influye en parámetros de daño hepático, o que el daño hepático influye en la expresión de *ACE2*. Además, los análisis de regresión nos indicaron que la expresión de *ACE2* podría depender de la expresión del TNF- $\alpha$ .

#### 4. Abstract

Obesity is a chronic disease characterized by abnormal or excessive fat accumulation and chronic low-grade inflammation at a systemic and local level. This disease is a risk factor for developing conditions such as NAFLD, which arises from steatosis and exacerbated pro-inflammatory and/or fibrotic processes. Furthermore, evidence has shown that hepatic ACE2 regulates genes specific for lipid oxidation, oxidative stress, and inflammation, suggesting that its expression is associated with developing hepatic steatosis in obese people prone to developing NAFLD. In this work, the expression of *ACE2* was determined in liver samples from patients with obesity, and it was analyzed whether there is a correlation between the mRNA levels of this gene and the protein levels of different cytokines, as well as different biochemical, clinical, and anthropometric parameters. Seventy liver tissue samples were included. RNA was isolated to assess the expression of *ACE2* and proinflammatory cytokines, and RT-qPCR was performed.

On the other hand, cytokines' concentration was evaluated by a magnetic bead immunoassay assay. Sex, comorbidities, and NAFLD score stratified patient samples. Statistical tests were applied to analyze the differences between groups, the correlation between variables, and linear regression to predict the value of unknown data using another value of related and known data. In this sense, statistically significant differences were found in gene expression, with a higher  $\Delta$ CT of *ACE2* in men than women, meaning lower mRNA expression in men. A correlation was found between the  $\Delta$ CT of *ACE2* with GGT and albumin; however, *ACE2*-GGT presented a stronger positive correlation, which suggests that *ACE2* expression influences parameters of liver damage, such as GGT. In addition, regression analyses indicated that *ACE2* gene expression could depend on TNF- $\alpha$  protein expression.

## 5. Introducción

La obesidad es una enfermedad crónica, de origen multifactorial y alta prevalencia que se caracteriza por la acumulación anormal o excesiva de grasa (OMS, 2021), y se caracteriza por la presencia de inflamación crónica de bajo grado a nivel sistémico y local que surge como una consecuencia del incremento y la disfunción del tejido adiposo. La inflamación crónica de bajo grado se origina por la infiltración y la activación de células inmunitarias (como los macrófagos, varios tipos de células T y B y otros leucocitos), y la consecuente secreción de factores proinflamatorios, tales como la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la interleucina 6 (IL-6), la interleucina 8 (IL-8) y la interleucina 1 $\beta$  (IL- 1 $\beta$ ). La respuesta inflamatoria sistémica de bajo grado afecta diversos órganos o sistemas, y se ha asociado con el desarrollo y progresión de diversas enfermedades no transmisibles, como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD por sus siglas en inglés) (Luo y Lin, 2021).

La NAFLD es un espectro de patologías hepáticas que van desde la esteatosis hasta la esteatohepatitis (NASH por sus siglas en inglés), y que han sido relacionadas con la obesidad. En ese sentido, en cohortes de pacientes con obesidad se ha reportado que la prevalencia de NAFLD va del 50 al 90% (Clarck *et al*, 2002, Bernal-Reyes *et al.*, 2019). La patogenia de esta enfermedad ha sido descrita por la “hipótesis de los dos golpes”. En donde, el primer golpe se caracteriza por el exceso de la acumulación de lípidos en el hígado (esteatosis), la cual causa que el hígado sea más propenso al segundo golpe, caracterizado por el incremento de la inflamación, el estrés oxidativo y la fibrogénesis (Simoes *et al*, 2017). Por otra parte, recientemente se ha asociado el origen y la progresión de la NAFLD con la disrupción del equilibrio del sistema renina-angiotensina (RAS por sus siglas en inglés) (Simoes *et al*, 2017).

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) se define como una cascada de moléculas con función de péptidos vasoactivos y algunos con función de mineralocorticoides que orquestan procesos clave en la fisiología de los mamíferos (Péiro *et al.*, 2020), principalmente el control de la presión arterial y el equilibrio hidroelectrolítico (Campbell, 2014). La clave del funcionamiento del RAS es que cuenta con dos vías con efectos “contrarios”, permitiendo así la homeostasis. La primera vía

(clásica) está conformada por la enzima convertidora de angiotensina (ACE), la angiotensina II (Ang II) y el receptor de angiotensina tipo 1 (AT1), como el principal efector que media las acciones biológicas de la Ang II (vasoconstricción, proliferación celular, profibrosis e inflamación) (Campbell, 2014). La segunda vía (alternativa o no clásica) está conformada por la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2), que actúa principalmente sobre la Ang II y la convierte en angiotensina 1-7 Ang (1-7), molécula peptídica que actúa activando los receptores Mas (MasR), causando efectos vasodilatadores, antiproliferativos, anti-fibróticos y antiinflamatorios (Campbell 2014; Arriero-Carrillo y Rueda-Sánchez 2020).

El ACE2 se encuentra ubicado en la región 22.2 del brazo corto del cromosoma X, con un tamaño de 40 kb, contiene 22 intrones y 18 exones. ACE2 es una enzima carboxipeptidasa, su principal función en el RAS es la contrarregulación de ACE (Lima *et al.*, 2021). Asimismo, ACE2 se ha asociado con diversas patologías, por ejemplo, la NAFLD (Yang *et al.*, 2021).

Hasta el momento, pocos grupos han investigado el papel de la ACE2 en el hígado, sin embargo, existen reportes que sugieren que esta proteína puede estar asociada con procesos inflamatorios en este órgano que son críticos para el desarrollo y la progresión de las enfermedades hepáticas (Cao *et al.*, 2016; Fondevila *et al.*, 2021).

## 5.1. La obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido a la obesidad como una condición donde existe una acumulación anormal o excesiva de grasa corporal o tejido adiposo (OMS, 2021), y que se diferencia del sobrepeso por el valor del índice de masa corporal (IMC), el cual es un parámetro que se calcula dividiendo el peso en kg sobre la talla al cuadrado ( $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla (m}^2\text{)}$ ). Se ha establecido que el sobrepeso se presenta cuando existe un IMC de 25-29.9; las personas con obesidad grado 1 presentan un IMC de 30.0-34.9, la obesidad de grado 2 con un rango de 35.0-39.9 y la obesidad de grado 3 con un IMC mayor a 40 (OMS, 2021). Adicionalmente, la obesidad es considerada una enfermedad crónica y compleja, en la cual intervienen una multiplicidad de causas biológicas, genéticas, endocrinológicas y medioambientales (Conway *et al.*, 2004).

En el 2016 se informó que la prevalencia mundial del sobrepeso y la obesidad era de más de 1900 millones de adultos mayores de 18 años, de los cuales, más de 650 millones tenían obesidad (OMS, 2021). En ese sentido, la OMS ha declarado que la obesidad es una pandemia creciente, por lo que se estima que para el año 2025 uno de cada cinco adultos en el mundo la padecerá (OMS, 2018). Por su parte, desde hace dos décadas se reportó que México también transita por una epidemia de obesidad (Barquera *et al.* 2013). En estudios recientes se ha reportado que, del total de la población, el 39.1% de los adultos tienen sobrepeso y 36.1% obesidad (Barquera *et al.*, 2020) y, que estas condiciones tienen mayor prevalencia en sujetos dentro de la cuarta década de vida, ya que el 83.6% de las personas dentro de este grupo presentaron sobrepeso u obesidad. Asimismo, se ha estimado que la probabilidad de tener obesidad en este grupo de edad es 4.3 veces más que en la segunda década de la vida (Barquera *et al.*, 2020).

El tejido adiposo no sólo es un tejido que almacena grasa y proporciona protección a órganos y sistemas vitales, también es un órgano que secreta adipocinas que generan e integran señales endocrinas, paracrinas y autocrinas para regular el metabolismo, el almacenaje y la producción de triglicéridos y colesterol, el apetito, el gasto energético y la sensibilidad a hormonas clave del metabolismo de la insulina (Reyes, 2011). El

aumento del tamaño de este tejido estimula la secreción de citocinas inflamatorias, regulando así su propia celularidad, la angiogénesis y la migración de células inmunitarias. Asimismo, el incremento del índice de masa corporal (IMC) se ha relacionado con la presencia de estados patológicos en múltiples órganos y sistemas que se encuentran regulados por el tejido adiposo, tal es el caso del hígado. En ese sentido, se ha reportado que un elevado IMC, está relacionado con la activación de la respuesta inflamatoria, generando la sobreexpresión de genes proinflamatorios como *IKK*, *NFκB* y *JNK*, lo cual puede causar alteraciones metabólicas que conducen a la aparición de signos clínicos como lo es la resistencia a la insulina. La respuesta inflamatoria en la obesidad está presente a nivel sistémico, sin embargo, también lo está de manera local en distintos órganos, como el cerebro, riñones, tejido adiposo, músculo esquelético e hígado (Luo y Lin, 2021), el cual es el órgano de interés del presente trabajo.

Cabe destacar que una de las marcas características de la obesidad es la presencia de inflamación crónica de bajo grado, que se caracteriza por la elevación de los niveles circulantes de citocinas proinflamatorias, así como por el aumento de la infiltración de macrófagos en tejidos periféricos. Este estado inflamatorio no induce lesión o pérdida de la funcionalidad en el tejido infiltrado, lo cual constituye un rasgo distintivo de este tipo de inflamación (Popovic *et al.*, 2019).

## **5.2. El papel de la inflamación en las personas con obesidad**

La respuesta inflamatoria es considerada una respuesta tisular benéfica que es estimulada al presentarse un daño tisular debido a estímulos físicos, químicos o biológicos (Rock *et al.*, 2014). La inflamación se caracteriza por la producción de mediadores solubles que causan efectos vasculares y el reclutamiento de leucocitos (Marques *et al.*, 2014; Balusu *et al.*, 2016).

La inflamación es un proceso que actúa en los organismos en respuesta a diferentes agresiones endógenas o exógenas; es regulada tanto por la respuesta inmune innata como por la adquirida, interviniendo un amplio espectro de efectos locales y

sistémicos. Además, de acuerdo con el tiempo de evolución, la respuesta inflamatoria puede ser aguda o crónica (Balusu *et al.*, 2016).

La inflamación aguda se caracteriza por presentarse de forma inmediata (a los minutos u horas en que es detectada el antígeno endógeno o exógeno) y promueve mecanismos de respuesta inmune innata, principalmente tres fenómenos que son característicos de este tipo de inflamación: 1) alteraciones en el calibre vascular que dan lugar en el incremento del flujo sanguíneo, 2) cambios estructurales en la microvasculatura y, 3) migración de los leucocitos de la circulación a la microcirculación, permitiendo su acumulación en el foco de la infección para eliminar el agente agresor. Estas alteraciones promueven que se presenten los signos característicos de este tipo de inflamación: calor, rubor (enrojecimiento), tumoración (edema), dolor y la pérdida de la función del órgano o tejido que esté pasando por este proceso. Este tipo de inflamación puede presentarse ante factores como infecciones, traumatismos, agentes físicos y químicos, necrosis tisular, cuerpos extraños y reacciones inmunitarias (Nardi *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2008).

Por otro lado, la respuesta inflamatoria crónica tiene larga duración (días, semanas y hasta meses); en ésta los mecanismos de respuesta innata participan, pero es la adquirida la que mantiene el proceso de inflamación durante todo este tiempo (Wang *et al.*, 2015). Las características de este tipo de respuesta inflamatoria son: la infiltración de células mononucleadas, como lo son macrófagos, linfocitos y células plasmáticas; destrucción hística provocada en gran medida por células inflamatorias; reparación, que implica la proliferación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) y fibrosis, así como la transformación de células nucleadas en epitelioides (Arts *et al.*, 2018; Robbins y Cotran, 2010). Este tipo de inflamación puede presentarse por diferentes circunstancias: infecciones virales o microbianas crónicas, exposición prolongada a agentes potencialmente tóxicos, enfermedades autoinmunes, la persistencia de la inflamación aguda o por reacciones inmunitarias anormales a los tejidos normales o por estados patológicos como la obesidad (Kumar *et al.*, 2008).

De manera fisiológica, la inflamación es un mecanismo complejo que proporciona contención y resolución de los tejidos con la finalidad de restaurar la homeostasis

(Medzhitov, 2010). Una vez que la respuesta inflamatoria ha logrado restablecer la homeostasis, los mecanismos antiinflamatorios actuarán “apagando” las señales inflamatorias. Sin embargo, cuando la inflamación está presente de forma sostenida (debido a un desequilibrio entre las respuestas inflamatorias y antiinflamatorias), puede conducir a más daño tisular y al desarrollo y progresión de enfermedades inflamatorias crónicas, por ejemplo, la obesidad (Balusu *et al.*, 2016).

Como se mencionó anteriormente, la inflamación se activa como un mecanismo de protección en el individuo. En el caso de la obesidad se presenta inflamación crónica de bajo grado o parainflamación (Hernández-Rodríguez, 2018). La inflamación de bajo grado (LGI, por sus siglas en inglés) se caracteriza por una elevación en los niveles circulantes de proteínas y citocinas con actividad inflamatoria, tales como la proteína C reactiva (pCr), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y las interleucinas 1, 6 y 17, así un como aumento en la infiltración de células inmunitarias como macrófagos y linfocitos T (Dinh *et al.*, 2019). Durante un estado de obesidad se propicia la hipertrofia de los adipocitos y, en consecuencia, se libera una mayor cantidad de adipocinas, quimiocinas y citocinas proinflamatorias, las cuales son producidas por los adipocitos mismos o células que se encuentran en el tejido adiposo (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005).

Se ha determinado que son más de 50 adipocinas las que regulan el metabolismo (**Tabla I**). Una de las más ampliamente descritas es la leptina, la cual, a nivel fisiológico, induce sensibilización a la insulina, ya que estimula la oxidación de ácidos grasos libres y la reducción de la acumulación de grasa ectópica en tejidos no adiposos. No obstante, en un estado inflamatorio la leptina actúa directamente sobre los macrófagos para aumentar su actividad fagocítica y la producción de citocinas proinflamatorias (Stolarczyk, 2017).

Otra adipocina importante es la resistina, que promueve la expresión de moléculas de adhesión (VCAM e ICAM) en las células endoteliales vasculares (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005). En la obesidad, durante el proceso inflamatorio los macrófagos del tejido adiposo liberan quimioatrayentes para los macrófagos, que ocasionan la naturaleza crónica de inflamación; en relación con este proceso la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1), también conocida como CCL2, y su receptor CCR2, juegan un

papel importante, ya que tienen actividad quimioatrayente en el reclutamiento de leucocitos a los sitios donde se está llevando a cabo la respuesta inflamatoria (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005). La acumulación de macrófagos en el tejido adiposo trae como consecuencia el aumento en la concentración de mediadores inflamatorios como lo son las IL-8, IL-6, IL-1, y el TNF- $\alpha$ , entre otros. Lo que, unido a un alto grado de estrés oxidativo, hipoxia y lipólisis en los adipocitos, provoca un aumento en la producción de adipocinas, lo que promueve el desarrollo de enfermedades metabólicas e inmunológicas (Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005).

### **5.3. Fisiología hepática**

El hígado es un órgano “triangular” de color rojizo oscuro que, en los humanos, pesa en promedio 1.5 Kg. Se ubica en la parte superior derecha de la cavidad abdominal, debajo del diafragma y encima del estómago, el riñón derecho y los intestinos. El hígado realiza múltiples actividades metabólicas del organismo, regula el metabolismo de sustancias exógenas y secreta la bilis que ayuda a transportar los desechos y a descomponer grasas en el intestino delgado durante la digestión (Trefts *et al.*, 2017).

Distintos tipos de células conforman al hígado, incluidos los hepatocitos, las células epiteliales biliares (colangiocitos), las células estrelladas, las células de Kupffer y las células endoteliales sinusoidales (Trefts *et al.*, 2017). Todas estas células poseen una función única y, en conjunto, regulan la función hepática en múltiples niveles. Los hepatocitos son la principal población de células epiteliales del hígado, constituyendo la mayor parte del volumen hepático y realizan muchas de las funciones atribuidas al hígado. Los colangiocitos son la segunda población epitelial más abundante del hígado y tienen función epitelial relacionada con cubrir la luz de los conductos biliares (Trefts *et al.*, 2017). Por otro lado, a las células estrelladas se les conoce por ser una población dinámica que puede existir en estado activo e inactivo. Cuando se encuentran en estado de reposo almacenan vitamina A en forma de gotas lipídicas; sin embargo, hasta el momento es lo único que hasta ahora se sabe sobre este estado celular. La activación de las células estrelladas es inducida por el daño en el hígado; tras la activación, las células estrelladas proliferan y pierden progresivamente las reservas de vitamina A (Trefts *et al.*, 2017). Estas células también son responsables del depósito y organización de colágeno en el hígado cuando éste se encuentra lesionado. Este

proceso contribuye a la cicatrización del hígado, que puede progresar a cirrosis, una patología grave e irreversible que contribuye a la enfermedad hepática en etapa terminal (Trefts *et al.*, 2017).

Las células de Kupffer también son conocidas como la población de macrófagos hepáticos. Estas células tienen la capacidad de reconocer los numerosos estímulos de patógenos introducidos a través de la circulación portal y pueden desempeñar funciones proinflamatorias o antiinflamatorias en la cicatrización de heridas hepáticas, dependiendo de una serie de factores contribuyentes (Trefts *et al.*, 2017).

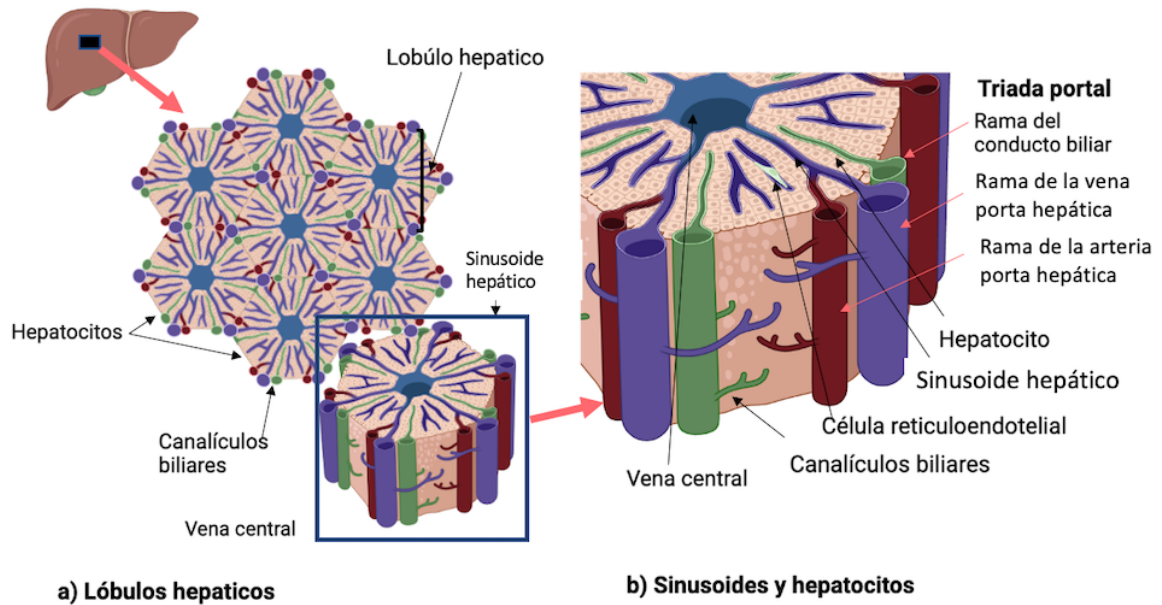
Finalmente, las células endoteliales sinusoidales del hígado, reconocidas como un tejido endotelial especializado con características únicas, se agrupan en forma de placas de tamiz fenestradas en la luz sinusoidal, formando poros que varían de 50 a 180 nm en el hígado humano (Trefts *et al.*, 2017). Esta disposición es crítica para el intercambio de proteínas y solutos entre el plasma y los tipos de células del hígado, ofreciendo una función de barrera (Trefts *et al.*, 2017).

**Tabla I.** Principales adipocinas: órgano secretor, función a nivel fisiológico y enfermedades con las que se les ha asociado

Adipocina	Órgano que la produce	Función (nivel fisiológico)	Enfermedad con la que se asocia	Referencias
Leptina	hipotálamo cerebro	Hormona adipocitaria Regula la ingesta de alimentos Regulación del sistema inmune	Mutaciones en los genes de leptina se relacionan con la aparición de obesidad mórbida. Su incremento se ha relacionado con la resistencia a la insulina, en personas con obesidad	(Matarase, <i>et al.</i> , 2002) (Stolarczyk, 2017)
Adiponectina	hígado	Mejora la sensibilidad a la insulina al aumentar la oxidación de ácidos grasos y reducir la producción de glucosa en el hígado. Su concentración en desequilibrio puede alterar la respuesta inmune, suprimiendo la activación de macrófagos M1 y promoviendo la proliferación de los macrófagos M2	La disminución promueve la obesidad. los polimorfismos en el gen de adiponectina causan disminución de los niveles de esta que se asociación con la aparición de diabetes tipo 2, resistencia a insulina, síndrome metabólico	(Kadowaki <i>et al.</i> , 2006) (Luo y Liu, 2016)
Interleucina 6 (IL6)	Tejido adiposo	La IL-6 tiene propiedades proinflamatorias antiinflamatorias y se ha demostrado que aumentan la resistencia a la insulina al inhibir la lipoproteína lipasa (LPL), la cual es responsable de la hidrólisis de los triglicéridos en los ácidos grasos libres (Greenberg <i>et al.</i> , 1992), lo que conduce a un mayor tamaño de las células grasas a medida que aumenta su almacenamiento de triglicéridos	Se ha demostrado que en ratones que carecen de IL-6 desarrollan tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, lo que puede reflejar una expresión excesiva de otras citocinas y adipocinas en respuesta a la inflamación hepática	(Greenberg <i>et al.</i> , 1992) (Matthews <i>et al.</i> , 2010).
Factor de necrosis tumoral $\alpha$ TNF- $\alpha$	Tejido adiposo	Metabolismo de los adipocitos participa en el desarrollo de resistencia a la insulina al inhibir a LPL y, por lo tanto, la captación de glucosa por parte de los adipocitos maduros durante la expansión de la masa de tejido adiposo	En personas con obesidad suele incrementar su concentración	(Bullo <i>et al.</i> , 2002) (Hu <i>et al.</i> , 1999).

### 5.3.1 Organización del lobulillo hepático

Las células que conforman al hígado se encuentran organizadas alrededor de una unidad estructural funcional denominada lobulillo hepático, que consiste en cordones de hepatocitos organizados en forma hexagonal alrededor de la vena central (**Figura 1**). En los vértices de este hexágono se encuentran las triadas portales que consisten en ramas estrechamente agrupadas de la arteria hepática, la vena porta y los conductos biliares. Las unidades circulatorias que se encuentran dentro de los cordones de hepatocitos difieren de un lecho capilar típico en que las células endoteliales del hígado no forman uniones estrechas (Trefts *et al.*, 2017). Esto crea una red sinusoidal que minimiza las barreras entre los hepatocitos y la sangre que atraviesa a la sinusoides. La sangre rica en oxígeno de la arteria hepática se mezcla con la sangre rica en nutrientes de la circulación portal en la sinusoides, antes de fluir sobre las células del lobulillo y drenar hacia la vena central. Esta disposición hace que la composición de la sangre que sale del lobulillo tenga características diferentes a las de la sangre que entra en el lobulillo. Conforme la sangre recorre el lóbulo, las células utilizan oxígeno y procesan nutrientes y, al mismo tiempo, crean metabolitos y productos de desecho. La sangre se desoxigenada y los subproductos metabólicos son secretados por las células a lo largo de la sinusoides. La formación de gradientes formados a través de las sinusoides del lóbulo da como resultado la formación de zonas dentro de otra estructura imaginaria denominada acino; cada zona tendrá funciones dependientes de su localización y está conformada por hepatocitos con expresión y funcionalidad de genes metabólicamente diferenciales; por ejemplo, hay un aumento del metabolismo oxidativo en áreas con mayor contenido de oxígeno en la sangre (Trefts *et al.*, 2017).



Creado con BioRender.com

**Figura 1. Compartimentos del lobulillo hepático.** (A) Lobulillos hepáticos como unidades constitutivas del hígado. (B) Acercamiento de los lobulillos hepáticos donde se muestra cada uno de los componentes. En azul se muestran la vena central, la rama de la vena portal hepática, células reticuloendoteliales, sinusoides hepáticas. En verde se muestra la rama de los conductos y los canalículos biliares. En rojo se muestra la rama de la arteria hepática.

A pesar del conocimiento que se tiene sobre el papel del hígado en el metabolismo y la coordinación tan compleja de su fisiología y sus estirpes celulares, las patologías hepáticas continúan teniendo altos índices de morbilidad y mortalidad. Lo que lleva a la necesidad de comprender mejor la fisiopatología de estas enfermedades, lo cual se traducirá en mejores tratamientos (Trefts *et al.*, 2017).

#### **5.4. Enfermedades hepáticas en personas con obesidad**

La NAFLD es una de las enfermedades hepáticas que tiene asociación con la obesidad más estudiadas. Se ha encontrado que la prevalencia de la NAFLD es de más de 50% en pacientes con obesidad, principalmente en mujeres (Clarck *et al.*, 2002; Bernal-Reyes *et al.*, 2019).

La NAFLD se considera un espectro de daño hepático que va desde la esteatosis simple, que es denominada enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFL, por sus siglas en inglés), hasta el carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés) (Kim *et al.*, 2021).

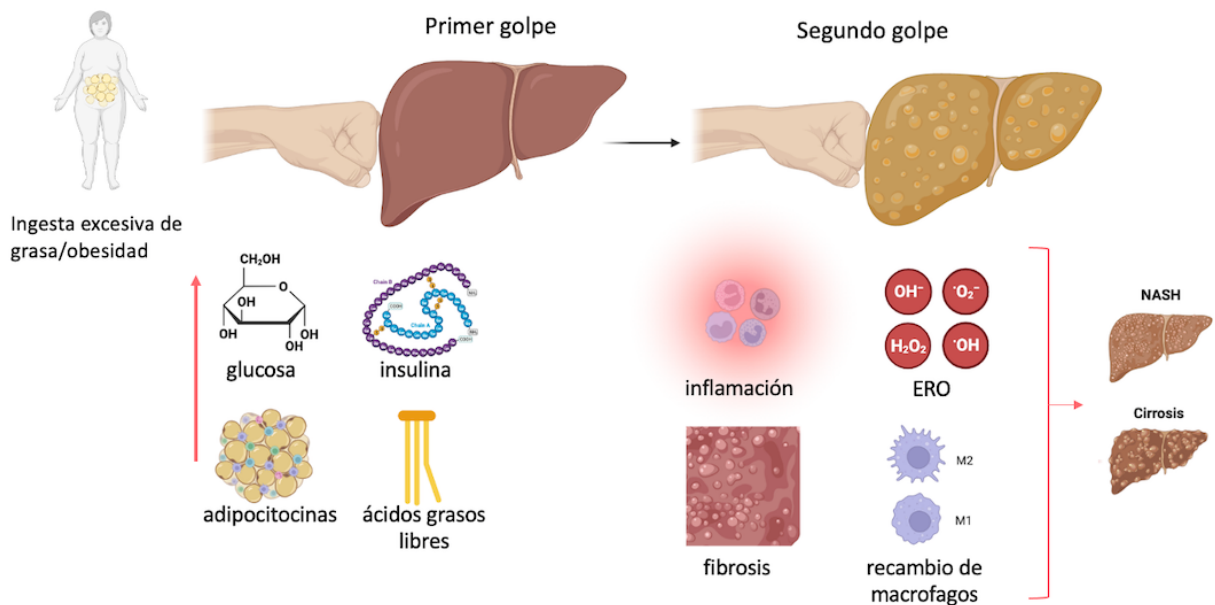
En la obesidad se genera un ambiente que propicia la sobreactivación de los procesos de inflamación, fibrosis y lipogénesis, de tal suerte que, cuando existe una sobreactivación de la lipogénesis se presenta un estado de esteatosis que puede conducir al desarrollo de NAFLD. A su vez, el incremento del proceso inflamatorio conduce a presentar NASH y, el aumento en los procesos de fibrosis favorece el desarrollo de la cirrosis hepática. Finalmente, estas enfermedades pueden desencadenar la aparición del HCC (Kim *et al.*, 2021).

#### **5.5. Patogénesis de la NAFLD**

La NAFLD se caracteriza por la acumulación de ácidos grasos libres y triglicéridos en el hígado (Townsend *et al.*, 2016). Se ha descrito que la patogénesis de la NAFLD es compleja y multifactorial, por lo que existen diversas teorías al respecto presentes en la literatura (Buzsetti *et al.*, 2014).

Una de las propuestas más aceptadas es la “hipótesis de los dos golpes de la NAFLD” (**Figura 2**). Ésta describe que el primer golpe en el desarrollo de esta enfermedad consiste en la acumulación de lípidos hepáticos, el desarrollo de la resistencia a la insulina y la obesidad, debida a una dieta alta en grasas y acompañada de un estilo de vida sedentario (Buzsetti *et al.*, 2014). En consecuencia, el hígado se vuelve más susceptible a presentar el segundo golpe, el cual se caracteriza por el incremento de

la respuesta proinflamatoria, fibrogénesis y estrés oxidativo (Peverill *et al.*, 2014). Este modelo sustenta que un factor clave para la aparición de la NAFLD es la resistencia a la insulina, lo que propicia una lipogénesis hepática *de novo* y, como consecuencia, una disminución en el proceso de lipólisis del tejido adiposo, lo que por ende permite la acumulación de ácidos grasos en el hígado (esteatosis) (Peverill *et al.*, 2014). Además, el proceso de resistencia a la insulina propicia que se rompa el equilibrio metabólico que posee el tejido adiposo, por lo que induce una mayor síntesis y secreción de adipocinas y citocinas inflamatorias. Al mismo tiempo se presenta la producción de especies reactivas de oxígeno, estrés en el retículo endoplásmico y el desequilibrio de la función mitocondrial (Cusi, 2019).



Creado con BioRender.com

**Figura 2. Mecanismos patogénicos durante la progresión a NAFLD (hipótesis de los dos golpes).** El desarrollo de NASH se inicia por varios factores de riesgo diferentes, que incluyen una dieta rica en grasas, inactividad física y predisposiciones genéticas que a menudo conducen a la obesidad y la resistencia a la insulina. La ingesta exagerada de grasas y la obesidad conducen a la hiperglucemia, la hiperlipidemia y la sobreexpresión de adipocinas y quimiocinas y contribuyen aún más a la resistencia a la insulina en el tejido adiposo y el hígado. La resistencia a la insulina da como resultado la síntesis de triglicéridos (TG) hepáticos y el aumento de la entrega de ácidos grasos libres (FFA) al hígado. Además, la esteatosis hepática actúa como un "primer golpe" seguido de un "segundo golpe" en el que los mediadores inflamatorios pueden causar NASH e incluso cirrosis. Un mayor almacenamiento de TG provoca una serie de consecuencias nocivas relacionadas con los hepatocitos, como la peroxidación lipídica descontrolada, el estrés oxidativo y el estrés del retículo endoplásmico (RE), que pueden activar las vías inflamatorias hepáticas. En particular, el reclutamiento de macrófagos/células de Kupffer y un cambio fenotípico dominante M1 en los macrófagos en el hígado juegan un papel clave en la progresión patológica de NASH.

## 6. Antecedentes particulares

### 6.1 El sistema RAS

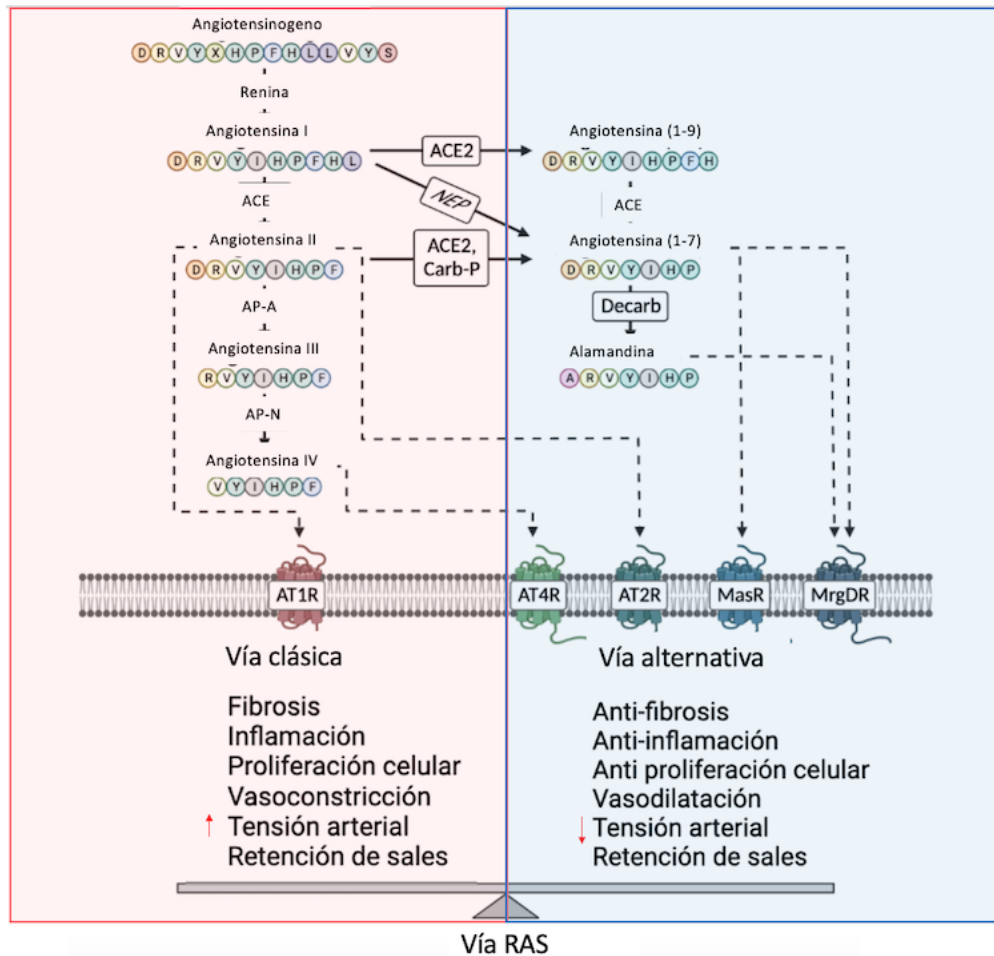
El RAS se concibe clásicamente como un sistema hormonal principalmente responsable del control de la presión arterial y el equilibrio hidroelectrolítico (Méndez-García *et al.*, 2022). Es un sistema conformado por dos vías que poseen efectos contrarios, siendo ésta la clave de la regulación del RAS (**Figura 3**).

La vía principal (la vía clásica) inicia por la catálisis del angiotensinógeno por la enzima renina (secretada por los hepatocitos), para formar el decapeptido angiotensina I (Ang I) y, en seguida, esta se convierte a Ang II por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) (Campbell *et al.*, 2014). Esta vía contribuye a cambios fisiopatológicos que incluyen una reabsorción renal excesiva de sodio, contracción de las células del músculo liso vascular, secreción excesiva de aldosterona y respuestas cardiovasculares inapropiadas (Méndez-García *et al.*, 2022). La segunda vía (vía alternativa) está regulada por la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2), la cual actúa principalmente sobre la Ang II para convertirla en angiotensina 1-7 Ang (1-7); esta actúa uniéndose los receptores Mas (MasR), produciendo efectos vasodilatadores, antiproliferativos, antifibróticos y antiinflamatorios (Campbell *et al.*, 2014, Méndez-García *et al.*, 2022).

A lo largo de varias décadas sólo se había identificado a un RAS circulante, el cual se caracteriza por desempeñar un papel endocrino en la regulación de la homeostasis hidroelectrolítica. Sin embargo, en años recientes se comenzó a incluir el concepto de “RAS locales”, los cuales están presentes en ciertos órganos y tejidos como el riñón, el pulmón, el cerebro, el tejido adiposo y el hepático (Méndez-García *et al.*, 2022). Los RAS locales pueden operar de manera autocrina, paracrina y/o intracrina, y exhibir múltiples efectos fisiológicos a nivel celular y tisular distintos e independientes del RAS circulante (Leung *et al.*, 2010). Además de las acciones hemodinámicas, los RAS locales tienen funciones múltiples que incluyen la regulación del crecimiento celular, la diferenciación, la proliferación, la apoptosis, la generación de especies reactivas de

oxígeno (ROS), la inflamación y fibrosis tisular y la secreción hormonal. Para ello, los RAS locales cuentan con sistemas y vías alternativas de péptidos biológicamente activos, receptores específicos adicionales, vías alternativas de generación de angiotensina Ang II y nuevas funciones para enzimas y componentes precursores distintos de los de la síntesis de Ang II. Un papel importante de los RAS locales es que pueden desempeñar un papel patógeno o protector en cada órgano (Campbell *et al.*, 2014). En particular, se ha observado que el RAS hepático posiblemente esté implicado en la regulación de la inflamación de enfermedades hepáticas (Warner *et al.*, 2020).

Con base en lo expuesto anteriormente se puede concluir que los RAS son sistemas con funciones duales, acciones vasoconstrictoras/proliferativas o vasodilatadoras/antiproliferativas, debido a la presencia de las dos vías antes descritas que presentan efectos opuestos. En estado fisiológico existe un equilibrio entre estas dos vías, sin embargo, se ha demostrado que el desequilibrio de éstas puede ser un factor crítico en el desarrollo y progresión de ciertas patologías. En ese sentido, existen evidencias de que un desequilibrio del RAS hepático puede conducir a enfermedades crónicas del hígado, por lo que los componentes de ambas vías del RAS pueden considerarse como dianas prometedoras para la descripción de la fisiopatología hepática, así como en la identificación de blancos moleculares en el diagnóstico y tratamiento de este tipo de enfermedades (Simoes *et al.*, 2017).



Reimpreso de “Brain Renin Angiotensin System”, por BioRender.com (2023). Obtenido de <https://app.biorender.com/biorender-templates>

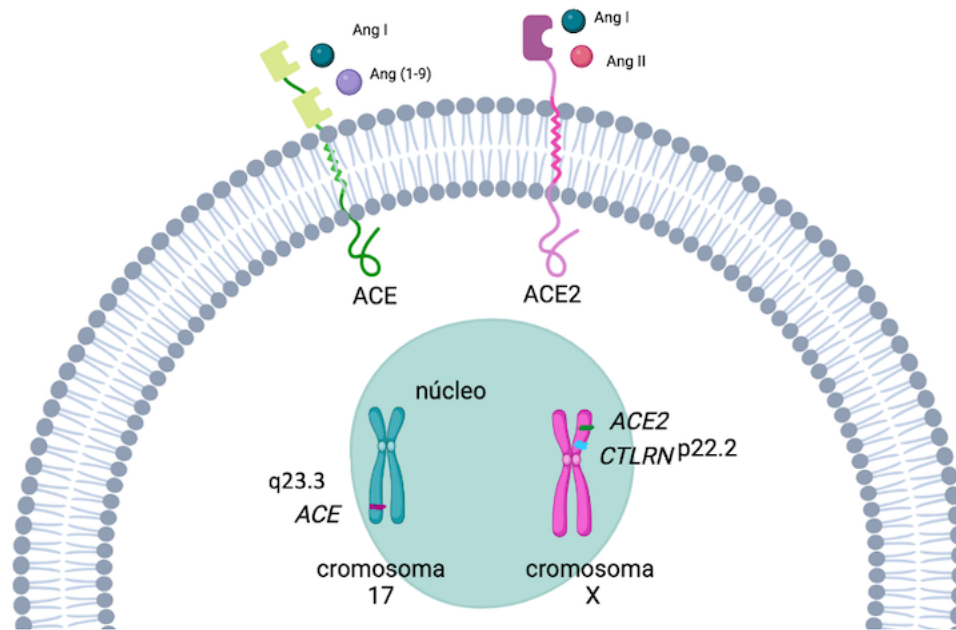
**Figura 3. Vía clásica y vía alternativa del RAS.** En el sistema clásico, la renina escinde el angiotensinógeno para producir angiotensina I. Este péptido puede ser procesado por la enzima convertidora de angiotensina (ACE) para formar angiotensina II, que a su vez puede unirse al receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1R) y AT2R. La activación de AT1R aumenta la producción de aldosterona y hormona antidiurética (ADH), el tono del sistema nervioso simpático (SNS), la presión arterial, la vasoconstricción, la hipertrofia cardíaca, la fibrosis, la inflamación, las células del músculo liso vascular (VSMC) desdiferenciación y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), mientras que disminuye el tono del sistema nervioso parasimpático (PSNS), la sensibilidad barorrefleja, la producción de óxido nítrico (NO) y la natriuresis. La angiotensina II puede ser procesada adicionalmente por la aminopeptidasa A (APA) para formar angiotensina III, que también actúa a través de AT1R. La angiotensina III puede ser escindida por la alanil aminopeptidasa N (APN) para generar angiotensina IV, que se une a AT4R, produciendo efectos cardioprotectores, aumentando la natriuresis y la producción de NO, así como reduciendo la vasoconstricción, inflamación y desdiferenciación de VSMC. La angiotensina I también puede ser

escindida por ACE2 y neprilisina (NEP) para producir angiotensina 1–9 y angiotensina 1–7, respectivamente. La angiotensina 1–9 puede activar AT2R para desencadenar la natriuresis y la producción de NO, mediando así los efectos vasodilatadores y reduciendo la presión arterial. Además, este péptido es cardioprotector y puede atenuar la inflamación, la hipertrofia cardíaca y la fibrosis. La angiotensina 1–7 se une al receptor Mas del protooncogén (MasR) y reduce tanto la presión arterial como la liberación de noradrenalina en roedores hipertensos. Por el contrario, la activación de MasR aumenta la generación de NO, la natriuresis, la vasodilatación, el tono PSNS y la sensibilidad barorrefleja. La angiotensina 1-7 también se puede formar a partir de la escisión de la angiotensina II por ACE2 y metabolizarse más a alamandina. Alternativamente, la angiotensina II puede ser procesada por el aspartato descarboxilasa (AD) para producir angiotensina A, que puede convertirse en alamandina por ACE2. Al unirse al miembro D del receptor acoplado a proteína G relacionado con Mas (MRGD), la alamandina puede promover los mismos efectos informados para la angiotensina 1–7, con la excepción de la natriuresis. RAS, sistema renina-angiotensina.

## **6.2. Características de ACE2**

El gen *ACE2* se encuentra mapeado en el brazo corto del cromosoma X en la región 22, consta de un tamaño de 40 kb y está constituido por 22 intrones y 18 exones, de los cuales los primeros 17 exones tienen gran parecido con los exones de *ACE* (Tipnis *et al.*, 2000). Este gen codifica una enzima metaloproteínasa de zinc, una proteína transmembrana tipo 1 compuesta por 805 aminoácidos con un peso de 120 kDa (**Figura 4**).

Se ha reportado que en humanos hay dos isoformas de ACE2, una forma grande de 805 aminoácidos y una forma corta o soluble (sACE2) con de 555 aminoácidos. sACE2 resulta del corte de ACE2 por la metaloproteínasa ADAM17 (Jia *et al.*, 2009).



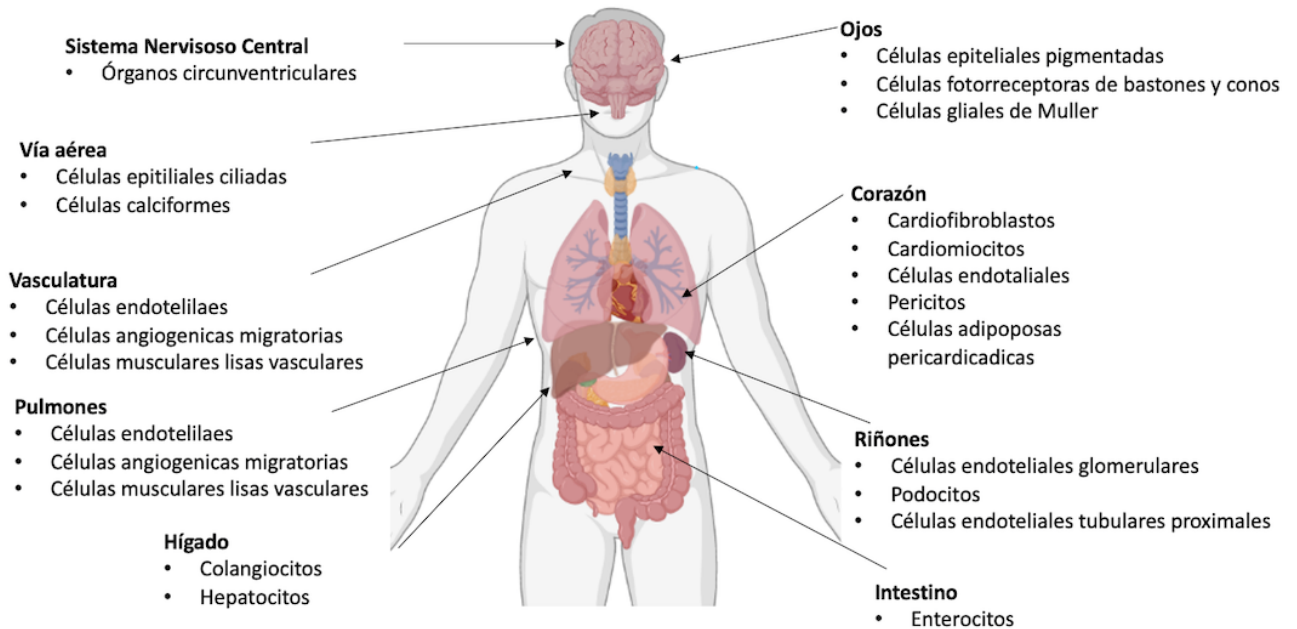
Creado con BioRender.com

**Figura 4. Localización de los genes colectrina, ACE y ACE2.** Los genes de ACE2 y colectrina ambos ubicados en el cromosoma X en la región 22.2, el gen de ACE localizado en el cromosoma 17. La ACE con actividad dipeptidil carboxipeptidasa con 2 sitios activos catalíticos uno para angiotensina I (Ang I) y la angiotensina 1-9 (Ang (1-9)).

### 6.3. Expresión de ACE2

En el 2002 se realizó un perfil transcripcional detallado de ACE2 en tejidos humanos; dicho estudio reveló que el ACE2 se expresa en 72 tejidos y presenta mayor expresión en los sistemas cardiovascular y renal (Harmer *et al.*, 2002).

Hikmet y colaboradores han informado mediante un análisis bioinformático de datos disponibles públicamente de muestras humanas que ACE2 se encuentra expresada en más de 150 tipos de células humanas, donde la expresión más alta se observó principalmente en los enterocitos, cardiomiocitos y túbulos renales y la expresión en los pulmones sólo se limitó a unos pocos subconjuntos de células (principalmente las células alveolares de tipo 2) (Hikmet *et al.*, 2020) (**Figura 5**).



### Expresión de ACE2

Creado con BioRender.com

**Figura 5. Expresión de ACE2 en el cuerpo humano.** ACE2 se expresa en células endoteliales, células angiogénicas migratorias y células del músculo liso vascular (sistema vascular), cardiofibroblastos, cardiomiocitos, células endoteliales, pericitos y células adiposas epicárdicas (corazón), células endoteliales glomerulares, podocitos y células del túbulo proximal (riñones), células epiteliales pigmentadas, células fotorreceptoras de conos y bastones y células gliales de Müller (retina), células epiteliales calciformes y ciliadas (enterocitos de los intestinos, órganos circunventriculares del sistema nervioso central, vías respiratorias) y células epiteliales alveolares (Tipo II) (de los pulmones y la vasculatura pulmonar). ACE2 también se expresa colangiocitos y hepatocitos (hígado) como regulador del RAS local del hígado

### 6.4. Función de ACE2

La ACE2 tiene distintas funciones; su principal función es en el RAS contra regulando los procesos desencadenados por la vía clásica de RAS (Cheblawi *et al.*, 2020). Sin embargo, recientemente ha sido ampliamente estudiada por ser el receptor de la proteína Spike del SARS-CoV-2, es decir, ACE2 es una de las vías de acceso del virus a las células humanas (Yan *et al.*, 2020). Otra función descrita es que actúa como chaperona molecular uniéndose a los transportadores de aminoácidos en el intestino

cuando la proteína colectrina se encuentra ausente, regulando el tráfico de aminoácidos en los túbulos proximales (Yan *et al.*, 2020).

### **6.5. Regulación de la expresión de ACE2**

Se ha reportado que las modificaciones epigenéticas pueden alterar la expresión de ACE2 (Yamada *et al.*, 2014). Por ejemplo, distintas publicaciones han mostrado que la transcripción de ACE2 puede estar regulada por el proceso de metilación y que los niveles de metilación cambian en función del tipo de célula, la edad y el sexo. En ese sentido, se ha encontrado una tasa baja de metilación en los pulmones y tasas altas de metilación en neuronas en donde, prácticamente no se detecta a la proteína ACE2 (Corley *et al.*, 2020).

Otros estudios han señalado que en los pulmones humanos la expresión de ACE2 muestra una correlación con los perfiles de expresión de genes relacionados con la modificación de histonas (Pinto *et al.*, 2020). Por otra parte, se ha encontrado que el promotor de ACE2 está hipermetilado en pacientes hipertensos con una diferencia significativa entre hombres y mujeres (Fan *et al.*, 2017).

Otra forma en la que el transcrito de mRNA puede alterarse es a nivel post-transcripcional, mediante la participación de los microRNA (miRNA), los cuales se unen a la región 3' UTR del mRNA, alterando la secuencia del mRNA original. Por lo que son conocidos como microrreguladores de la expresión génica en una gran variedad de tipos celulares y procesos fisiológicos.

Con relación a ACE2, se han reportado distintos miRNA involucrados en la expresión de ACE2 (Wicik *et al.*, 2020). En un estudio bioinformático reciente se identificaron miRNA implicados en la red reguladora de ACE2 (Wicik *et al.*, 2020). Se puede modificar la expresión del mRNA mensajero de ACE2 de forma directa sobre el transcrito en la región en la región 3' UTR, pero también se ha reportado la existencia de miRNA que actúan de forma indirecta, ya que afectan a otras moléculas del RAS (Lambert *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2020). En la **Tabla II** se muestran algunos de los miRNA que pueden regular la expresión de ACE2.

De manera interesante hay otros factores que pueden modificar la transcripción de *ACE2*, tal es el caso de las hormonas sexuales, e incluso el tabaquismo. Se descubrió que el esteroide sexual femenino  $17\beta$ - estradiol (E2) disminuye la expresión de *ACE2* en órganos como el riñón, células epiteliales diferenciadas de las vías respiratorias (Liu *et al.*, 2010; Stelzig *et al.*, 2020). También se reportó que la expresión de *ACE2* se incrementa en el tejido auricular del corazón a través de la vía activada por el receptor de estrógeno E2 alfa (Bukowska *et al.*, 2017). En cuanto a las hormonas masculinas, la testosterona incrementa la expresión de *ACE2* (Bukowska *et al.*, 2017; Kalidhindi *et al.*, 2020).

Por otra parte, Keewan y colaboradores informaron que en personas artritis reumatoide, al recibir tratamiento anti-TNF- $\alpha$  mostraron una disminución de la expresión de *ACE2*, fenómeno que es modulado a través de la vía de señalización Notch-1 (Keewan *et al.*, 2021). Por su parte, Mokuda y colaboradores reportaron que al administrar IL-6 a fibroblastos de personas con artritis reumatoide se observó una disminución de la expresión de *ACE2* mediado por la vía de STAT3 (Mokuda *et al.*, 2020). Además, se ha observado que cuando se administra IL-1 $\beta$  a células A549, estas muestran un incremento en la expresión de *ACE2* (Cioccarelli *et al.*, 2021).

**Tabla II.** microRNAs dirigidos a la enzima convertidora de angiotensina 2

miRNA	Efecto en <i>ACE2</i>	Referencia
miRNA-18a	Inhibe parcialmente los efectos benéficos en el modelo celular endotelial hipoxia/reoxigenación	(Zhang <i>et al.</i> , 2002)
miRNA-21	Media la inhibición de los efectos antifibróticos de <i>ACE2</i>	(Sun <i>et al.</i> , 2017)
miR-29	Incrementa los niveles de expresión de <i>ACE2</i> en miocitos/fibroblastos cardíacos cuando se presenta cardiomiopatía hipertrófica	(Huang <i>et al.</i> , 2016)
miR-98 y miR-223	La disminución de estos conduce a una baja expresión de <i>ACE2</i> en células bronquiales por infección de SARS	(Mallick <i>et al.</i> , 2009)
miR-125b	Regula una menor expresión de <i>ACE2</i> en la enfermedad de nefropatía diabética	(Huang <i>et al.</i> , 2016)
miR-483-3p	Regula la expresión de AT1R regulando a su vez los componentes principales del RAS, incluyendo a <i>ACE2</i>	(Kempt <i>et al.</i> , 2014)
miR-421	Regula a la baja la expresión de <i>ACE2</i> en pacientes urémicos	(Lambert <i>et al.</i> , 2014; Trojanowicz <i>et al.</i> , 2019)
miR-143	Al reportar bajos niveles de expresión en ratas con hipertensión sometidas a ejercicios aeróbicos mostraron un incremento en la expresión de <i>ACE2</i> .	(Wang <i>et al.</i> , 2015)
mir-4262	En proceso de daño pulmonar incrementa la expresión de <i>ACE2</i> lo que conduce a una regulación positiva de Bcl2 apoptótica y, en consecuencia, a la inhibición de la apoptosis.	(Bao <i>et al.</i> , 2015)
miR-9-5p y miR-218-5p	Reguladores del SARS-CoV-2 mediante la unión a la región 3'UTR de <i>ACE2</i> .	(Pierce <i>et al.</i> , 2020)

## 6.6 RAS hepático y la participación de ACE2 en el hígado

El RAS hepático aún no está bien descrito, sin embargo, los estudios que demuestran la implicación del RAS en enfermedades hepáticas sugieren un papel crítico de este sistema en el desarrollo de éstas. En ese sentido, se ha identificado que la Ang II es un agente proinflamatorio, prooxidante y protrombótico que interfiere en varios pasos de la señalización de la insulina intracelular (Simoes *et al.*, 2017). En contraste, la Ang- (1-7) mejora la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina, la captación de glucosa estimulada por la insulina, y disminuye los niveles de triglicéridos y colesterol, y reduce la masa grasa abdominal. En el contexto del hígado, se ha demostrado que la Ang-(1-7) reduce la gluconeogénesis hepática y que el receptor Mas participa en la vía de señalización del receptor de insulina (Simoes *et al.*, 2017).

Hoy en día, son pocos los estudios en los que se ha analizado el papel de ACE2 en el hígado, sin embargo, existen evidencias que muestran que es un factor crítico en la aparición del proceso inflamatorio hepático que conduce al desarrollo y progresión de la NAFLD. En ese sentido, en un estudio de Cao y colaboradores (Cao *et al.*, 2016) se utilizaron ratones knockout para ACE2 (ACE2 KO), encontrando que la delección de este gen causa la acumulación de ácidos grasos libres (AGL) en el hígado de los animales, provocando un estado de esteatosis. Asimismo, los autores describieron que la delección de ACE2 está asociada con un aumento en la expresión de genes lipogénicos hepáticos, incluidos los de la sintasa de ácidos grasos (FAS), la esteroil-CoA desaturasa-1 (SCD1) y la acetil-CoA carboxilasa  $\alpha$  (ACC $\alpha$ ), así como una expresión disminuida de genes relacionados con la oxidación de ácidos grasos, como la carnitina palmitoiltransferasa  $1\alpha$  (CPT-1 $\alpha$ ), el receptor alfa activado por proliferador de peroxisomas (PPAR $\alpha$ ), PPAR gamma (PPAR $\gamma$ ) y el coactivador de PPAR $\gamma$  1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) (Cao *et al.*, 2016). Además, se reportó que los ratones ACE2 KO presentaban un aumento en la expresión de las citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL-8, así como en marcadores de estrés oxidativo; que en conjunto agravó la enfermedad hepática de estos animales. Por el contrario, la sobreexpresión de ACE2 en ratones disminuyó la enfermedad de hígado graso y la

expresión de genes relacionados con la oxidación de ácidos grasos aumentó. Estos mismos resultados fueron observados *in vitro* en células HepG2 tratadas con AGL. También fue reportado que la adición de Ang-(1-7) disminuye la esteatosis hepática en estas células, así como la expresión de genes de estrés oxidativo e inflamación. Estos resultados sugieren que la vía Ang-(1-7) /ACE2/Mas tiene un papel crítico en el metabolismo de lípidos en el hígado y, que la subexpresión de *ACE2* se asocia con la acumulación hepática de lípidos en este órgano, lo que puede conducir a enfermedades como la NAFLD, en parte mediante la regulación de los genes del metabolismo de lípidos (Cao *et al.*, 2016).

En un estudio realizado por Fondevila y colaboradores (Fondevila *et al.*, 2021) en el que evaluaron la expresión *ACE2* hepático, se encontró una mayor expresión en personas diabéticas del sexo femenino comparado con mujeres obesas no diabéticas, además, encontraron que en pacientes con NASH había una mayor expresión de *ACE2* comparado con personas obesas que no tenían NASH (Fondevila *et al.*, 2021).

Los anterior sugiere que *ACE2* puede estar involucrada en la regulación de la expresión de citocinas proinflamatorias a través de las vías RAS. Además, la expresión de *ACE2* puede modificarse en función de la presencia de obesidad y comorbilidades asociadas. Sin embargo, estas son solo hipótesis que deben ser probadas. En ese sentido, en el presente estudio se buscará contribuir a dilucidar algunas de estas interrogantes analizando muestras de tejido hepático de pacientes mexicanos con obesidad.

## **7. Hipótesis**

H<sub>1</sub>. A mayor expresión de *ACE2* en el tejido hepático de personas con obesidad habrá menor expresión de las citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$  IL-6, y IL-1  $\beta$ , IL-8 y MCP-1.

H<sub>2</sub>. A mayor IMC, habrá una mayor expresión de *ACE2*.

H<sub>3</sub>. Las personas con obesidad y comorbilidades asociadas, particularmente los pacientes con HAS, presentarán una mayor expresión de *ACE2* que los sujetos con obesidad sin comorbilidades.

H<sub>4</sub>. El grupo de mujeres con obesidad presentará una mayor expresión de *ACE2* que el de hombres.

## **8. Justificación**

La obesidad es una enfermedad de muy alta prevalencia a nivel mundial y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. La obesidad se acompaña de reacciones inflamatorias en varios órganos y tejidos, entre ellos, el hígado. Los altos niveles de factores proinflamatorios sistémicos causan una acumulación excesiva de lípidos en el hígado (esteatosis), que a su vez desencadenan lipotoxicidad, muerte de los hepatocitos, inflamación del hígado y fibrosis.

Comprender el impacto de la obesidad en la respuesta inflamatoria, así como en las vías de señalización celular, es fundamental para la prevención o el tratamiento de enfermedades hepáticas de origen metabólico como la NAFLD.

Actualmente existen evidencias de que el sistema RAS hepático juega un papel crítico en el metabolismo de lípidos; en particular, se ha encontrado que ACE2 está implicada en la regulación de ciertos genes de la oxidación de lípidos, el estrés oxidativo y la inflamación, lo cual sugiere que la expresión de este gen puede estar asociada con la de factores proinflamatorios en el hígado de sujetos con obesidad, sin embargo, a la fecha esto no se ha determinado. Por lo que, en este estudio se propone investigar la asociación de los niveles de ACE2 con el perfil de citocinas del tejido hepático en pacientes con obesidad.

## **9. Objetivos**

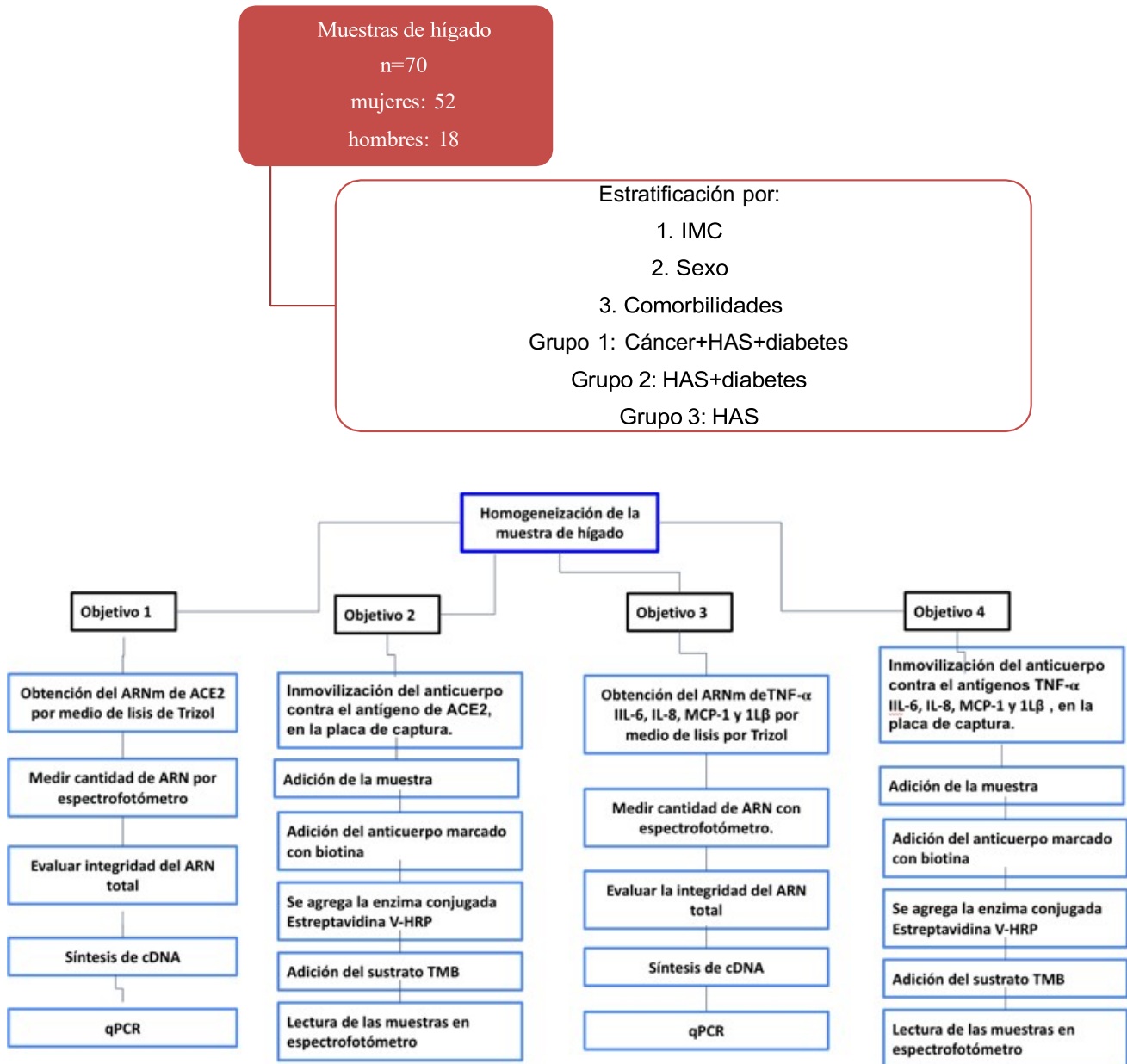
### **9.1. Objetivo general**

Determinar si existe asociación entre la expresión de *ACE2* con la expresión de genes que codifican para citocinas proinflamatorias y la respectiva proteína en tejido hepático de pacientes con obesidad.

### **9.2. Objetivos particulares**

1. Determinar los niveles de expresión de *ACE2* en tejido hepático de pacientes con obesidad.
2. Evaluar la expresión de genes de citocinas proinflamatorias en tejido hepático de pacientes con obesidad.
3. Evaluar los niveles proteicos de citocinas proinflamatorias en el tejido hepático de pacientes con obesidad.
4. Analizar la asociación entre la expresión de *ACE2* con la expresión de citocinas, comorbilidades asociadas a la obesidad y parámetros bioquímicos y antropométricos en pacientes con obesidad.

## 10. Estrategia experimental



## **11. Materiales y métodos**

### **11.1. Sujetos de estudio**

Las muestras de hígado de personas con obesidad procedían de sujetos que se sometieron a cirugía bariátrica (la biopsia fue tomada al momento de la cirugía). Todos los participantes firmaron un consentimiento informado, previamente aprobado por el Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad del hospital. Las muestras colectadas fueron almacenadas en el banco de muestras del Laboratorio de Inmunometabolismo de la Dirección General de Investigación del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga". Se analizaron 52 muestras de mujeres y 18 de hombres con edades de 21 a 52 años. Asimismo, se utilizaron para el análisis los valores de las variables bioquímicas y antropométricas de los pacientes del actual estudio: índice de masa corporal, niveles de glucosa, colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL, urea, ácido úrico, niveles de transaminasas.

### **11.2 Objetivos 1 y 2: RT-qPCR para medir la expresión de ARNm de ACE2 y citocinas**

Para evaluar la expresión del gen *ACE2* y las citocinas en estas muestras, el ARN de las muestras de hígado se obtuvo mediante extracción con el reactivo de TRIzol (Ambion by Life Technologies catálogo 15596018) siguiendo las instrucciones del fabricante: se tomó una porción del tejido, aproximadamente 3 mm<sup>2</sup>, se homogeneizó (homogeneizador Fisher Brand 850 Fisher Scientific) hasta evitar la presencia de cúmulos. Se realizó un paso adicional en este punto, ya que las muestras de hígado de los pacientes presentan un alto contenido de grasa, se centrifugó a 4 °C a 12,000 g por 5 minutos. Se añadieron 200 µL de cloroformo, se agitó la muestra y se dejó reposar a temperatura ambiente por 2-3 minutos; se centrifugó a 4 °C a 12,000 g por 20 minutos, se extrajo la fase acuosa a un nuevo tubo y se añadieron 500 µL de isopropanol; se agitó la muestra y se dejó incubando en hielo por 10 minutos para después centrifugarse a 4°C a 12,000 g por 15 minutos lo que resultó en la formación de un "botón" de RNA el cual se lavó con 1 mL de etanol al 70 %, se centrifugó a 4 °C a 7,500 g por 5 minutos, se decantó el etanol y se dejó secar por 10 minutos. Posteriormente se resuspendió con 30 µL de agua

grado molecular libre de RNAsas, se cuantificó y se evaluó su integridad. Se realizó una retrotranscripción del mRNA (síntesis de DNA complementario o cDNA) mediante la enzima transcriptasa reversa MMLV (Invitrogen, número de catálogo 28025) y se realizó la evaluación de la expresión de *ACE2* utilizando como los oligonucleótidos que aparecen en la **Tabla III**.

Se llevó a cabo una PCR cuantitativa mediante el uso del reactivo SYBR Green (15 µL por reacción), 200 ng de cDNA de cada muestra y 0.6 µL de cada oligonucleótido en una concentración de 100 mM para *ACE2*. Las condiciones de termociclador fueron las siguientes: 95°C por 10' en un ciclo; 95 °C por 15", 60 °C por 30" y 72 °C por 45" en 40 ciclos; 72 °C por 7 minutos un solo ciclo. Se determinó el CT o Cq de *ACE2* en cada muestra, así como el CT del gen endógeno (18s) con lo que se realizó un análisis de Delta CT para determinar los niveles de expresión de *ACE2* en cada muestra.

**Tabla III.** Primers y tamaño de amplicón de los primers que se utilizaron para los genes evaluados en el presente estudio

Gen	Primer forward	Primer reverse	Tamaño del amplicón (pb)
<i>ACE-2</i>	GATCTTGGCTCACAGGGGAC	TCTGGGACTCCAAAATCAGGG	353
<i>TNF-α</i>	GAGGCCAAGCCCTGGTATG	CGGGCCGATTGATCTCAGC	91
<i>IL-1β</i>	TGTCCCTAACCACAAGACCC	TAAGTGGTAGCAGGAGGCTGA	216
<i>IL-8</i>	GGAAAGTTCCAGGTGTTAGGA	CACCCAGTTTTCTTGGGGT	256
<i>IL-6</i>	CATCCCATAGCCCAGAGCATC	GGGTCAGGGGTGGTTATTGC	118
<i>MCP-1</i>	GTGAGTTCAGCACACCAACC	CCAGGGCAAACCTGCTCCTAT	258
<i>IL-4</i>	CTGTGCTCCGGCAGTTCTAC	TAGAAGTGAGGCTGCTGTCCA	206
<i>IL-10</i>	GAAGCCAGGATCACCAACACT	AGGTTCCCACACTCTCTCCAA	231
<i>IL-13</i>	CAGTGCCATCGAGAAGACCC	GGATATTCAGCCAGCTTCCC	150

### 11.3 Objetivo 3: Ensayo de LUMINEX para la evaluación proteica de citocinas

Se realizó la cuantificación de las citocinas utilizando el sobrenadante de la homogeneización de las muestras de hígado de los pacientes del actual estudio, por medio del kit Milliplex Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (Millipore).

Se utilizó una placa de 96 pozos, a la que se añadieron 200 µL de buffer de lavado en todos los pozos de la placa y se incubó en agitación baja durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se retiró el buffer de lavado, invirtiendo la placa de golpe y se colocó sobre una toalla absorbente (proceso de lavado). Se añadió a los pozos asignados como controles 25 µL de solución estándar y a los demás pozos 25 µL de cada muestra. Se añadieron 25 µL de las perlas magnéticas a cada pozo, y se incubó la placa a 4°C en agitación baja durante toda la noche. Una vez pasado el tiempo se removió el contenido de la placa y realizaron dos lavados. Posteriormente añadieron los anticuerpos de detección en cada pozo y se realizó la incubación de la placa por una hora. Al término se añadieron 25 µL del reactivo estreptavidina-ficoeritrina en cada pozo y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. En seguida se retiró el contenido de la placa y se realizaron dos lavados. Se añadieron 150 µL de sheath fluid plus a todos los pozos y se colocaron en agitación. Finalmente se leyó la placa en el equipo Magpix con ayuda del software xMAP.

#### **11.4. Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico por medio del paquete estadístico GraphPad Prism 6.0 se realizó una prueba de normalidad Kolmogórov-Smirnov. Se obtuvo una distribución no normal de los datos ( $P = 0.543$ ), por lo que se utilizaron pruebas no paramétricas para las comparaciones entre los grupos, los cuales se estratificaron de la siguiente manera: 1) con comorbilidades y sin comorbilidades; 2) con y sin hipertensión arterial; 3) por sexo; 4) de acuerdo con el NAFLD score<sup>1</sup>, es decir “presencia (de NAFLD)” y “score indeterminado”. Para las comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney y para la comparación para más de dos grupos se utilizó Kruskal-Wallis corregido mediante la prueba estadística de

---

<sup>1</sup> El índice de hígado graso (NAFLD score) es una herramienta simple para predecir el riesgo de fibrosis en pacientes por medio de parámetros bioquímicos y antropométricos como la edad, el IMC, presencia o ausencia de diabetes, el número de plaquetas, la cantidad de AST y ALT; a través de la siguiente fórmula:  $\text{NAFLD score} = -1,675 + 0,037 \times \text{edad (años)} + 0,094 \times \text{IMC (kg / m}^2) + 1,13 \times \text{IFG / diabetes (sí= 1, no = 0)} + 0,99 \times \text{relación AST / ALT} - 0,013 \times \text{plaquetas (} \times 109 / \text{l)} - 0,66 \times \text{albúmina (g /dl)}$ . La fórmula nos permite clasificar los resultados en  $< -1.455$ , se clasifica en F0- F2 determinado (presencia de NAFLD),  $-1.455 - 0.675$  indeterminado (es decir no se puede saber con certeza),  $> 0.675$  se clasifica en F3-F4 (ausencia de NAFLD); el NAFLD score es una puntuación (un valor) que te indica una probabilidad de tener NAFLD de forma no invasiva (Chalasaní *et al.*, 2018).

múltiples comparaciones de Dunns; así como para el análisis de correlación se utilizó una prueba de Spearman.

Por otro lado, con el paquete de programación R Studio (X64 4.0.2) se realizó un modelo de regresión lineal múltiple entre el  $\Delta\text{Ct}$  de *ACE2* y el  $\Delta\text{Ct}$  de las citocinas ( $\text{TNF-}\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , MCP-1, IL-8, IL-4, IL-10 e IL-13). Además, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple entre el  $\Delta\text{Ct}$  de *ACE2* y la concentración (pg/mL) de las citocinas  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , MCP-1, IL-8, IL-10 e IL-13. Posteriormente, se realizaron modelos de regresión lineal simple con los mejores predictores obtenidos a partir de las variables anteriormente mencionadas. La significancia estadística se consideró cuando el valor de *P* fue  $< 0.05$ .

## **12. Resultados**

### **12.1. Análisis descriptivo de variables antropométricas y bioquímicas de la población de estudio**

En la **Tabla IV** se muestran los promedios y la desviación estándar (DE) de las características antropométricas y valores bioquímicos de la muestra estudiada. Los datos se muestran divididos entre hombres y mujeres. A pesar de que se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de glucosa, albúmina y GGT entre hombres y mujeres, estos están dentro de un rango normal, por lo que no representan un sesgo para los análisis posteriores. Por lo tanto, encontramos homogeneidad entre los hombres y las mujeres. Asimismo, es importante destacar que, dado que los valores corresponden a los obtenidos en los estudios preoperatorios, estos -en general- son fisiológicos, pues los pacientes fueron estabilizados previo a la cirugía bariátrica.

Sin embargo, no se cuenta con información referente a los tratamientos que recibieron previo a la cirugía, lo cual constituye una limitación de este estudio. Cabe señalar que hay una mayor proporción de mujeres que de hombres; este hecho se debe a un factor sociocultural, ya que más del 95% de los pacientes que se someten a una cirugía bariátrica son mujeres.

**Tabla IV.** Características bioquímicas y antropométricas de la población de estudio

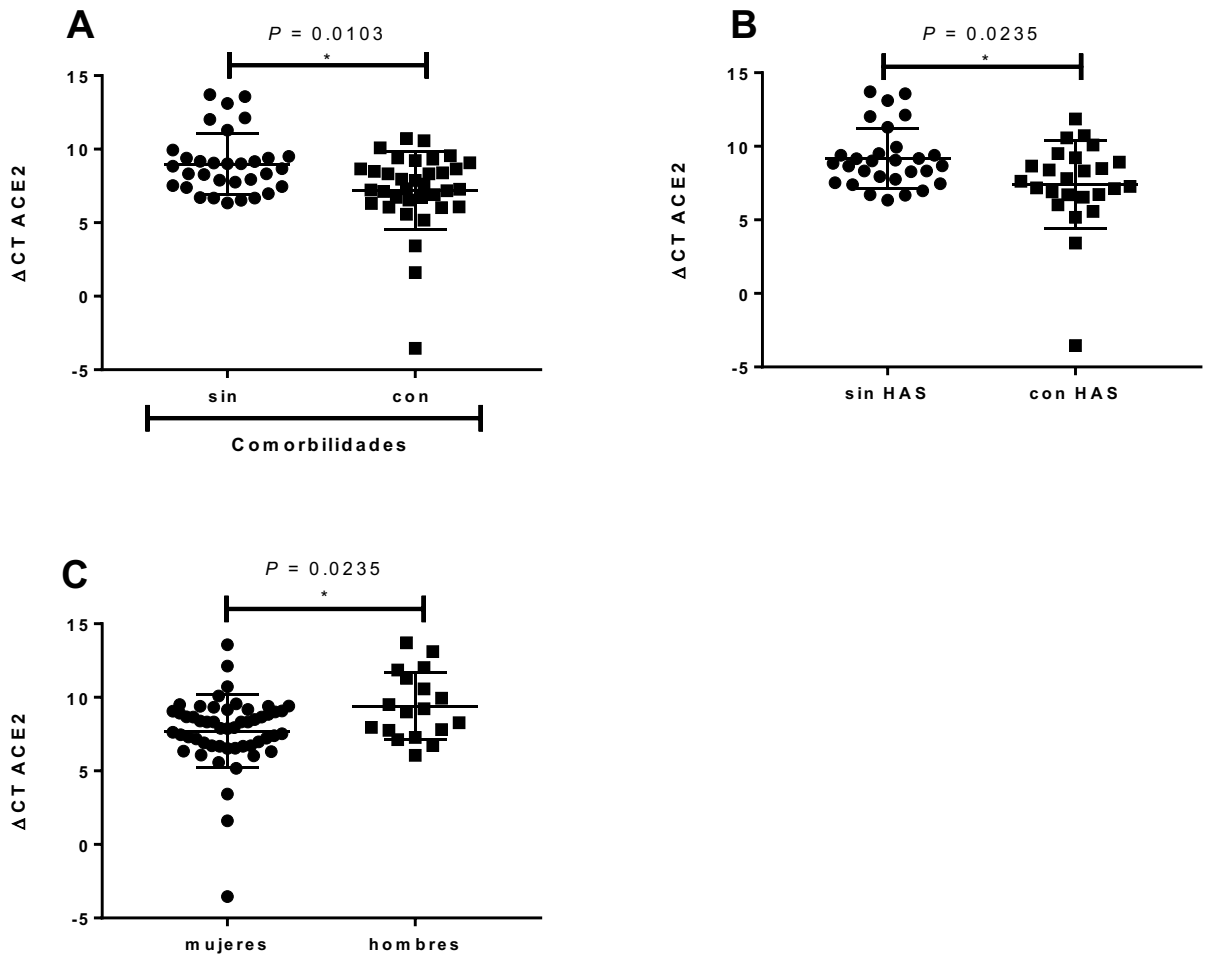
Variable	Total	<sup>a</sup> Mujeres	<sup>b</sup> Hombres	<i>P</i> <sup>(a,b)</sup>
n=70	70 (100%)	53 (25.7%)	18 (74.28%)	
Edad (años)	39.01±10.70	39.6± 11,27	37.17±8.75	0.3820
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	43.64±12.16	42.09±11.41	48.11±13.48	0.0626
Glucosa en suero (mg/dL)	99.88±20.46	101.97±22.94	94.11±9.44	<b>0.0349</b>
Colesterol total (mg/dL)	171.00±41.02	172.46±39.71	166.9±45.61	0.4463
Triglicéridos (mg/dL)	159.11±61.10	161.59±59.41	152.54±66.81	0.2988
HDL (mg/dL)	40.68±15.15	40.76±15.44	40.47±14.91	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±0.28	4.46±0.26	<b>0.0027</b>
Fosfatasa alcalina (U/L)	81.03±23.33	79.42±23.44	85.58±23.42	0.2786
Gama glutamil transferasa (U/L)	37.88±27.96	34.93±26.08	47.0±32.79	0.1870
Glutamato-oxalacetato transaminasa (U/L)	26.62±16.41	26.84±18.31	26.00±9.38	0.2499
Glutamato-piruvato transaminasa (U/L)	42.97±50.82	35.23±33.84	65±80.01	<b>0.0122</b>

Media ± DE, media y desviación estándar. \**P* < 0.5 (t de Student)

## 12.2. Niveles de expresión de mRNA de *ACE2* en tejido hepático de pacientes con obesidad con comorbilidades asociadas y datos antropométricos

Se compararon los niveles de expresión de *ACE2* entre los grupos que se mencionaron anteriormente: hombres vs. mujeres, con comorbilidades vs. sin comorbilidades, con HAS vs. sin HAS, con NAFLD vs. con score indeterminado, por grado de obesidad (en función del IMC). De acuerdo con lo esperado, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo sin comorbilidades vs. el grupo con comorbilidades, observando que *ACE2* tuvo una mayor expresión en el grupo de comorbilidades ( $P=0.0103$ ) (**Figura 6A**). Asimismo, al comparar los grupos sin hipertensión vs. con hipertensión; se encontró una mayor expresión de este gen en el grupo de personas con hipertensión en comparación a sin hipertensión ( $P=0.0235$ ) (**Figura 6B**). Por otra parte, al comparar los niveles de expresión de *ACE2* entre hombres y mujeres, se encontró una mayor expresión de *ACE2* en el grupo de mujeres ( $P=0.0235$ ) (**Figura 6C**).

Los grupos de acuerdo con el NAFLD score no presentaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, vale la pena mencionar que en este caso la n se redujo a 43 debido a que no se contaba con la información completa para calcular dicho parámetro. Por otra parte, al categorizar a los pacientes por el grado de obesidad, notamos que la gran mayoría de estos pacientes tenían obesidad mórbida y que su expresión no variaba de forma significativa, por lo que es probable que exista un punto del IMC en el cual ya no se modifiquen los valores de expresión de *ACE2*; no obstante, esto podría corroborarse al comparar con sujetos normopeso.



**Figura 6. Comparación de la expresión de ACE2.** (A) en los grupos sin y con comorbilidades, (B) grupos sin HAS (hipertensión), con HAS (hipertensión) y (C) hombres y mujeres (U de Mann-Whitney,  $P < 0.05$ ).

### 12.3. Correlación de variables bioquímicas, antropométricas y la expresión de ACE2

Como parte del objetivo 4, se realizó una prueba de Spearman para explorar si existe una correlación entre el delta CT de ACE2 y las distintas variables bioquímicas y antropométricas descritas en la **Tabla V**. En la **Figura 7** se muestran las correlaciones que presentan una *P* estadísticamente significativa. Se presenta una correlación positiva entre el delta CT de ACE2 y los niveles séricos de GGT ( $R=0.4946$ ,  $P=0.0006$ ) (**Figura 7A**) y albúmina ( $R=0.3752$ ,  $P=0.0033$ ) (**Figura 7B**), esto indica que al haber menor expresión de ACE2, hay mayor expresión de albúmina y GGT, y viceversa. Es importante tomar en cuenta que la correlación de delta CT de ACE2 y albúmina es débil, en tanto que la encontrada entre el delta CT de ACE2 y GGT es moderada con una alta significancia estadística.

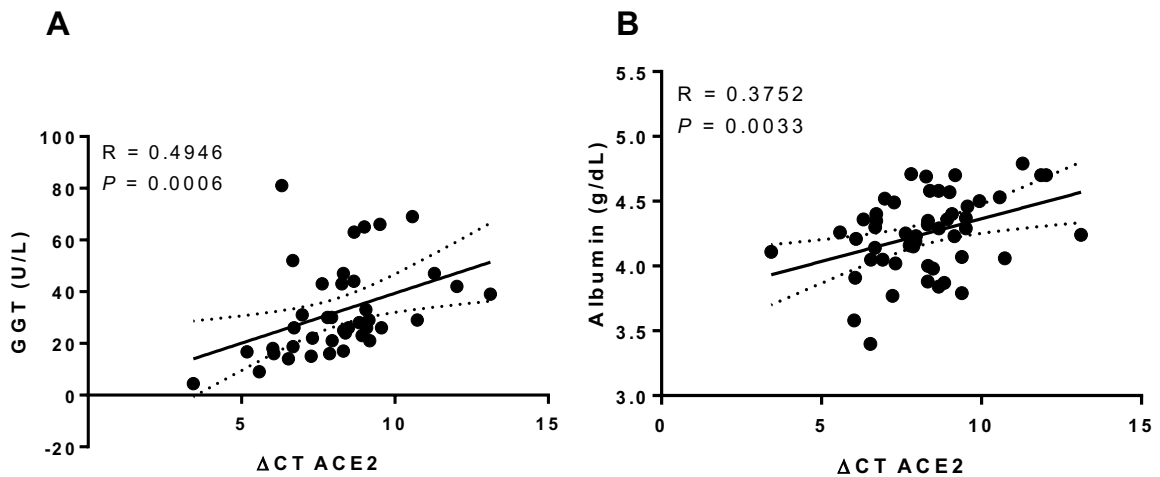


Figura 7. Correlación el  $\Delta$ CT de ACE2 x albúmina (U/L) y gama glutamil-transferasa (GGT) (g/dL). (Correlación de Spearman,  $P < 0.05$ )

#### **12.4. Correlaciones de la expresión de ACE2 y citocinas proinflamatorias**

Se realizaron las correlaciones entre la expresión de ACE2 y las citocinas *TNF- $\alpha$* , *IL-6*, *IL-1 $\beta$* , *IL-8*, *MCP-1*, *IL-13*, *IL-4* e *IL-10* (**Figura 8**). Sin embargo, la única correlación con una *P* estadísticamente significativa fue la de ACE2 con *IL-1 $\beta$*  ( $R=-0.2251$  y una  $P=0.0315$ ). Dadas las características del  $\Delta$ CT resulta en una correlación positiva, es decir que, cuando disminuye la expresión *IL-1 $\beta$*  disminuye la expresión de ACE2, y viceversa (**Figura 8C**).

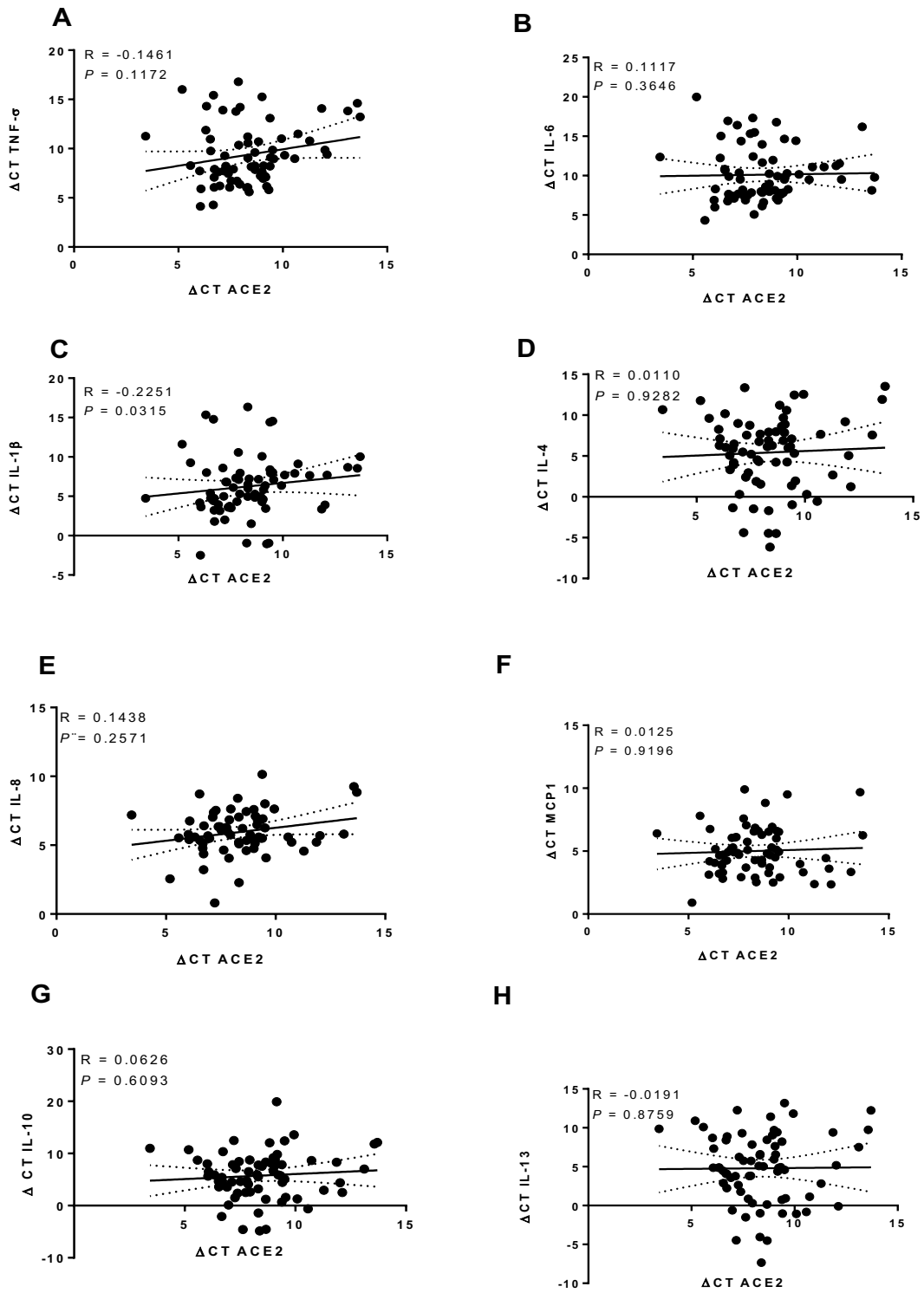


Figura 8. Correlación del  $\Delta CT$  de *ACE2* vs. *TNF- $\alpha$* , *IL-6*, *IL-1 $\beta$* , *IL-8*, *MCP-1*, *IL-4*, *IL-13* e *IL-10*. (Correlación de Spearman,  $P < 0.05$ ).

## 12.5 Análisis de regresión lineal múltiple del $\Delta$ CT de ACE2 en función de $\Delta$ CT TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, MCP-1, IL-4, IL-13 e IL-10

Para predecir los valores del  $\Delta$ CT de ACE2 en función de  $\Delta$ CT TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8, MCP-1, IL-4, IL-13 e IL-10 se aplicó un modelo de regresión lineal múltiple utilizando los datos de las 70 muestras de hígado (**Tabla V**).

**Tabla V.** Modelo de regresión lineal múltiple  $\Delta$ CT ACE2 y  $\Delta$ CT de citocinas Residuales

Min	1er. Q	Mediana	3er. Q	Max
-5.02367	-1.0914	0.0047	1.0538	4.8248
Coeficientes				
	Estimado	Error Est.	Valor-t	Valor de P
(Interceptor)	6.586702	1.22057	5.396	1.13 e-10 ***
$\Delta$ CT TNF- $\alpha$	0.363344	0.150725	2.411	0.0189**
$\Delta$ CT IL-6	-0.255133	0.126688	-2.08	0.0417*
$\Delta$ CT IL-8	0.221169	0.16761	1.32	0.1918
$\Delta$ CT IL-1 $\beta$	0.009952	0.081088	0.123	0.9027
$\Delta$ CT IL-10	0.094902	0.085153	1.114	0.2964
$\Delta$ CT IL-13	-0.101778	0.140757	-0.723	0.4724
$\Delta$ CT IL-4	0.003679	0.149902	0.025	0.9805
$\Delta$ CT MCP-1	-0.089745	0.151725	-0.591	0.5563

Códigos de significancia 0`\*\*\*` 0.001`\*\*` 0.01`\*\*` 0.05`\*` 0.1`\*` 1`  
 Error estándar residual: 1.891 en 61 grados de libertad (GL)  
 R-cuadrada múltiple: 0.1486, R-cuadrada ajustada: 0.05089.  
 Estadístico F: 1.521 en 7 y 61 GL, Valor de P: 0.1773.

El modelo no mostró significancia estadística ( $P=0.1773$ ), lo que muestra en conjunto que los valores de  $\Delta$ CT de las citocinas evaluadas no son buenos predictores de  $\Delta$ CT ACE2. No obstante, observamos que la  $P$  de algunas de las citocinas es limítrofe a la significancia estadística, por lo que se ingresó un comando al entorno de programación con la finalidad de conocer qué variables (dentro todo

el conjunto de variables) podrían ser los mejores predictores de los valores de  $\Delta CT$  *ACE2*.

Así, encontramos que los mejores predictores de este conjunto de variables son *TNF- $\alpha$* , *IL-6* e *IL-8*. Con base en este resultado, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple entre  $\Delta CT$  *ACE2* y los  $\Delta CT$  de *TNF- $\alpha$* , *IL-8* e *IL-6*. En la **Tabla VI** se muestran los resultados obtenidos:

**Tabla VI.** Modelo de regresión lineal múltiple con el delta CT de *TNF- $\alpha$* , *IL-6*, *IL-8* vs. delta CT de *ACE2*

Variable	Valor	(IC 2.5% a IC 97.5%)	Valor de <i>P</i>
$\Delta CT$ <i>TNF-<math>\alpha</math></i>	0.3214	0.07213249 - 0.570685219	0.0123
$\Delta CT$ <i>IL-6</i>	-0.2251	- 0.45812387 - 0.007940904	0.0581 .
$\Delta CT$ <i>IL-8</i>	0.2086	-0.08453592 - 0.501745060	0.1601

Modelo de regresión lineal simple desarrollado bajo los siguientes criterios: Intervalo de Confianza (IC) de 2.5%- 97.5%; error estándar residual de 2.341 con 68 grados de libertad; R-cuadrada múltiple de 0.1436; R cuadrada ajustada de 0.1312; valor de *P* de 0.02058.

Este modelo de regresión tuvo significancia estadística (*P* = 0.02058) y una R cuadrada ajustada de 0.1312, es decir, que indican que por cada unidad que aumentó el  $\Delta CT$  de *TNF- $\alpha$* , los valores del  $\Delta CT$  de *ACE2* aumentaron 0.3214 (*P*= 0.0123), por cada unidad que aumente el  $\Delta CT$  de *IL-8* los valores del  $\Delta CT$  de *ACE2* aumentaron 0.2086 y por cada unidad de  $\Delta CT$  de *IL-6* disminuyó 0.2251 (*P*= 0.0581). Este análisis se realizó de forma exploratoria, sin embargo, es importante considerar que la significancia estadística no es lo suficientemente robusta como para buscar un significado biológico a esta observación.

## 12.6 Correlación del $\Delta$ CT de *ACE2* y la concentración proteica de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-13 e IL-10

Se realizaron las correlaciones entre la expresión de *ACE2* y los niveles proteicos de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-13 e IL-10 (**Figura 9**). Únicamente la correlación entre el  $\Delta$ CT de *ACE2* y los niveles proteicos de TNF- $\alpha$  mostraron una significancia estadística ( $P=0.0203$ ) y una R negativa ( $R=-0.2919$ ); es decir que a menor  $\Delta$ CT de *ACE2*, mayores niveles proteicos de TNF- $\alpha$ , por lo tanto, en términos de  $\Delta$ CT, a menores niveles de mRNA, menores niveles de TNF- $\alpha$ , y viceversa.

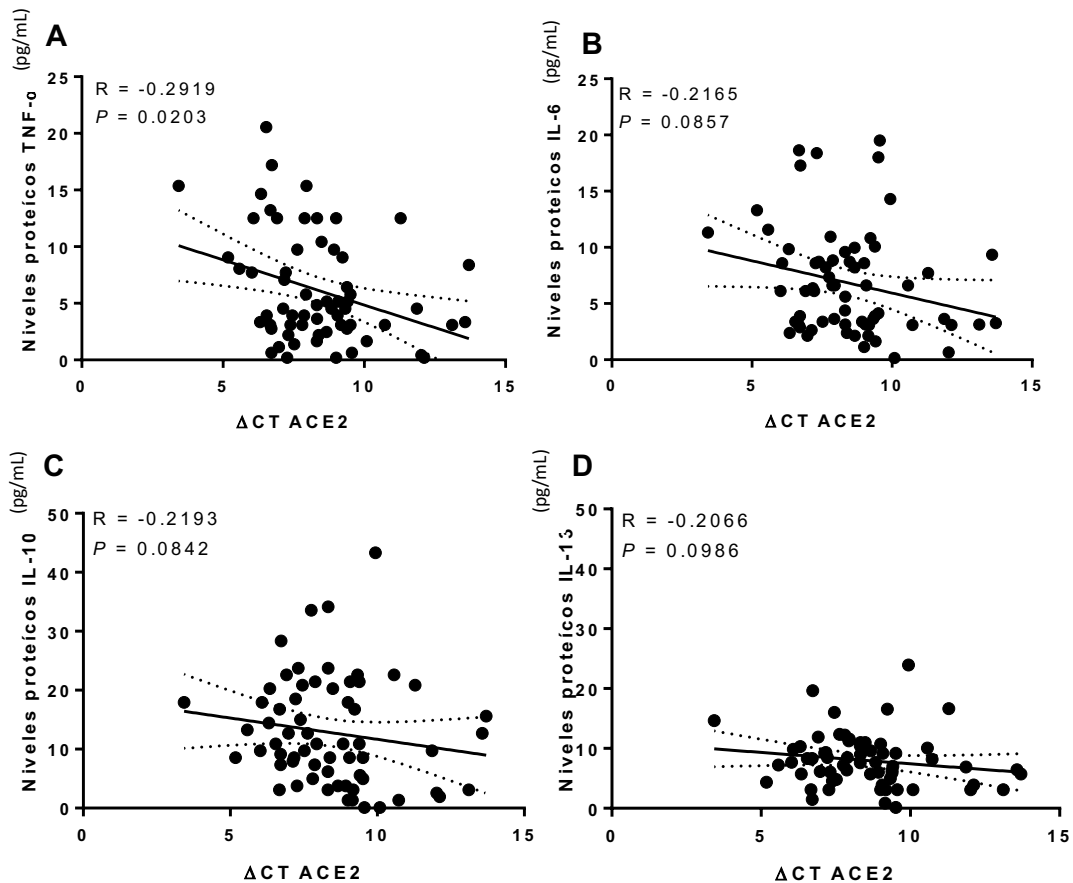


Figura 9. Correlación del  $\Delta$ CT de *ACE2* vs. los niveles proteicos de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 e IL-13. (Correlación de Spearman,  $P < 0.05$ )

## 12.7. Análisis de regresión lineal múltiple del $\Delta$ CT de ACE2 y la expresión proteica de TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-13 e IL-4

Para predecir los valores del  $\Delta$ CT de ACE2 en función de las proteínas TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-13 e IL-10 se aplicó un modelo de regresión lineal múltiple utilizando los datos de las 70 muestras de hígado (**Tabla VII**).

**Tabla VII.** Modelo de regresión lineal múltiple  $\Delta$ CT ACE2 y niveles proteicos de citocinas

Residuales				
Min	1er. Q	Mediana	3er. Q	Max
-5.051	-0.084	0.084	1.03	4.771
Coeficientes				
	Estimado	Error Est.	Valor- t	Valor de P
(Interceptor)	9.372006	0.526145	17.83	< 2e-16 ***
proteína TNF- $\alpha$	-0.0133668	0.6862	-1.984	0.056
proteína IL-6	-0.074901	0.056104	-1.335	0.187
proteína IL-10	-0.003033	0.036206	-0.084	0.934
proteína IL-13	0.017299	0.7327	0.236	0.814
proteína IL-4	0.002084	0.02511	0.83	0.41

Signif. Codes 0`\*\*\*` 0.001 `\*\*`0.01 `\*`0.05`. `0.1 ` `1

Error estándar residual: 1.889 en 61 grados de libertad (GL)  
R-cuadrada múltiple: 0.1227, R-cuadrada ajustada: 0.05078.  
Estadístico F: 1.706 en 5 y 61 GL, Valor de P: 0.1468

El modelo no mostró significancia estadística ( $P=0.01468$ ), sin embargo, se evaluó cuáles son los mejores predictores de este conjunto de variables, indicando que el mejor predictor es TNF- $\alpha$ . Con base en este resultado, se realizó un modelo de regresión lineal simple entre  $\Delta$ CT ACE2 y TNF- $\alpha$ . En la **Tabla VII** se muestran los resultados obtenidos.

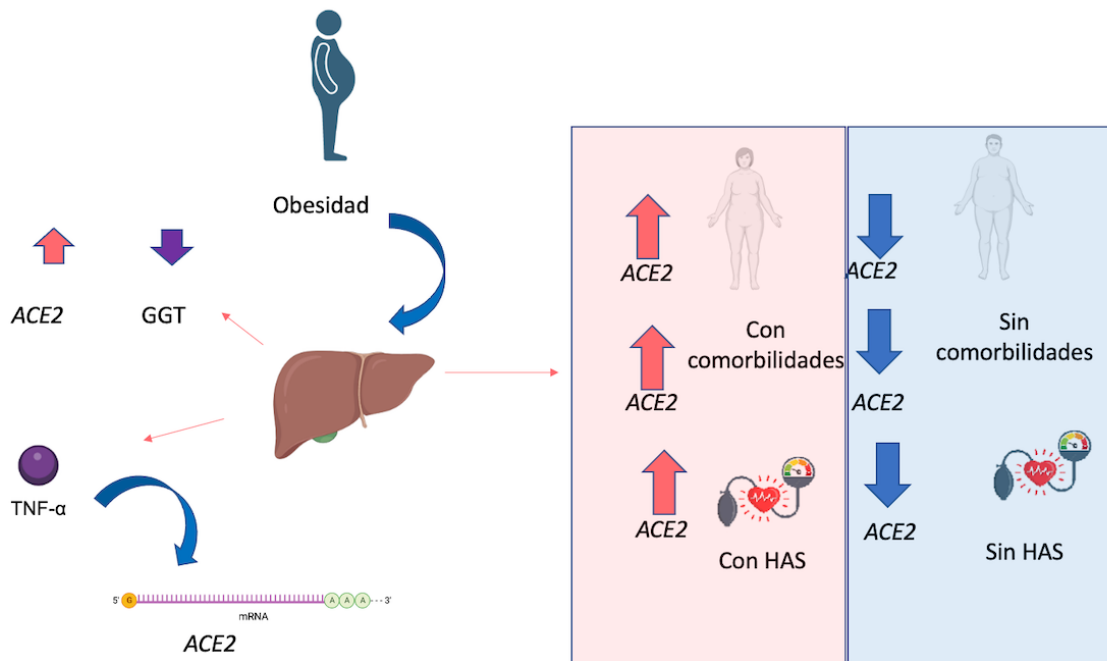
**Tabla VIII.** Modelo de regresión lineal simple  $\Delta$ CT *ACE2* y niveles proteicos de TNF- $\alpha$

Variable	Valor	(IC 2.5% a IC 97.5%)	P
Proteína TNF- $\alpha$	-0.013169	0.23644078 - 0.02758152	0.014*

IC 2.5%- IC 97.5%; error estándar residual de 2.341 con 68 grados de libertad; R-cuadrada múltiple de 0.1436; R cuadrada ajustada de 0.1312; valor de P de 0.00112.

Estos resultados mostraron una relación causal estadística entre  $\Delta$ CT *ACE2* y TNF- $\alpha$ , donde, la primera es la variable dependiente, en tanto que la segunda es la independiente. Además, el modelo indica que por cada unidad que aumente la proteína de TNF- $\alpha$  los valores del  $\Delta$ CT de *ACE2* disminuirán 0.013169 ( $P= 0.014$ ). Es decir, por cada unidad que aumenten los valores de TNF- $\alpha$ , el mRNA de *ACE2* aumentará 0.013169 unidades.

En la **Figura 10** se muestra un resumen gráfico de los principales hallazgos de este estudio.



Creado con BioRender.com

**Figura 10. Representación gráfica de los resultados obtenidos.** En este estudio encontramos que la expresión de *ACE2* es mayor en hombres que en mujeres, en personas con comorbilidades vs. sin comorbilidades y en sujetos con HAS vs. sin HAS. Asimismo, se halló una correlación inversa entre los niveles de expresión de *ACE2* y la concentración sérica de GGT. Finalmente, encontramos que  $TNF-\alpha$  influye positivamente sobre los niveles de mRNA de *ACE2*.

### 13. Discusión

En este trabajo se encontró que los sujetos con comorbilidades presentan una mayor expresión de *ACE2* al compararse con el grupo de pacientes sin comorbilidades. En concordancia con estos resultados, en un estudio en donde se analizó el transcriptoma de más de 700 muestras de tejido pulmonar de pacientes con COVID-19, se determinó que *ACE2* tenía una mayor expresión en el tejido de sujetos con comorbilidades (HAS, diabetes, enfermedad cerebrovascular, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y enfermedad coronaria) al compararse con el grupo control (sin comorbilidades) (Pinto *et al.*, 2020). Es decir, que las enfermedades no transmisibles, condiciones en donde se altera la homeostasis, son factores que podrían condicionar una mayor expresión de *ACE2*.

La HAS es una de las enfermedades en la que el sistema RAS se encuentra más desregulado. Por lo tanto, en este estudio estratificamos las muestras de los pacientes por presencia o ausencia de HAS, para identificar si, dentro del grupo de comorbilidades, la HAS podría tener mayor influencia sobre la expresión de *ACE2*. Nuestros datos indican que los pacientes con HAS tienen una mayor expresión de *ACE2* en comparación con los que no tienen HAS (**Figura 6B**). En ese sentido, se ha propuesto que la disrupción de la vía ACE/ACE2 en algunos tejidos, altera la regulación de la presión sanguínea, así como que la deficiencia de la expresión de *ACE2* contribuye al desarrollo de la HAS (Patel *et al.*, 2014). Asimismo, en estudios en los que se inhibe la expresión de *ACE2* en corazón o riñón, se encontró que la inhibición o delección de este gen representa un riesgo para padecer HAS y, por el contrario, cuando su expresión está incrementada, disminuye el riesgo de padecer HAS (Patel y Verma *et al.*, 2020).

En el presente trabajo se demostró que en el tejido hepático de pacientes mexicanos con obesidad hay diferencias en la expresión de *ACE2* de acuerdo con el sexo; en el caso de las mujeres se mostró una mayor expresión en comparación de los hombres (**Figura 6C**). Esto podría deberse a una mayor dosis génica de *ACE2* en mujeres, ya que este gen está ubicado en una región (locus Xp22.2) que escapa a la inactivación del cromosoma X; asimismo, los alelos heterocigotos ligados al

cromosoma X podrían activar en las mujeres una ventaja de mosaico y mayor dimorfismo sexual (Gemmati *et al.*, 2020). Otra razón que puede explicar estas diferencias de expresión de *ACE2* es la producción de estrógenos en el sexo femenino, la cual promueve la expresión de este gen (Foresta *et al.*, 2021). Además, en los hombres se ha observado que la obesidad está asociada con el hipogonadismo, resultando en una menor producción de testosterona. En un estudio se mostró que al disminuir los niveles de testosterona disminuyen los niveles de expresión de *ACE2* (Sun *et al.*, 2021; Giagulli *et al.*, 2021). Por lo tanto, en estudios posteriores sería interesante evaluar el efecto de las hormonas sexuales en la expresión de *ACE2*.

Otro hallazgo importante es la correlación que encontramos entre *ACE2* y GGT y albúmina (**Figura 7**). A pesar de que se encontró una correlación con significancia estadística entre la expresión de *ACE2* y la albúmina (**Figura 7A**), ésta no es fuerte y carece de significado biológico. Por otra parte, se encontró una correlación positiva entre los niveles séricos de GGT y el  $\Delta$ CT de *ACE2*, la cual muestra que al disminuir la expresión de *ACE2*, aumenta GGT, y viceversa (**Figura 7B**). La GGT es una enzima que se ha utilizado como biomarcador de daño hepático; es una proteína ubicada en la membrana celular de colangiocitos y hepatocitos, es decir, que cuando existe un daño hepático que comprometa la integridad de dicha celular, los niveles séricos de GGT pueden aumentar significativamente (Nuñez *et al.*, 2019). Nuestros datos sugieren que el mRNA de *ACE2* podría estar -directa o indirectamente- relacionado con el daño hepático, el cual se refleja en los valores de GGT. Sin embargo, esta asociación debe corroborarse con los valores proteicos de *ACE2*, asimismo, debe estudiarse más a fondo en cohortes más grandes, en estudios prospectivos, así como con estudios funcionales.

Con respecto a la correlación entre mRNA de *ACE2* y de citocinas, la única correlación con significancia estadística fue la de la expresión de *ACE2* e *IL-1 $\beta$*  (**Figura 8A**), ésta fue positiva, es decir al disminuir la expresión de *IL-1 $\beta$*  disminuye la expresión de *ACE2*, y viceversa. Sin embargo, la correlación es débil. Asimismo,

se encontró una significancia estadística al evaluar al delta CT de *TNF- $\alpha$* , *IL-6*, *IL-8* como predictores de los valores del delta CT de *ACE2*. No obstante, tanto estos resultados como la correlación antes expuesta (delta CT de *ACE2* vs. delta CT de *IL-1 $\beta$* ) probablemente carezcan de significado biológico, ya que no existen evidencias que respalden cómo un mRNA puede influir sobre la expresión de otro gen. No obstante, es un aspecto que puede explorarse a mayor profundidad en estudios futuros.

Existen evidencias de que las citocinas pueden regular la expresión de *ACE2*. En ese sentido, el modelo de regresión lineal múltiple nos indicó que la citocina que influye más en los valores de expresión hepática de *ACE2* es *TNF- $\alpha$* . En la literatura existen evidencias de que *TNF- $\alpha$*  es capaz de modular los niveles de mRNA de *ACE2* de células tiroideas humanas sanas (Coperchini *et al.*, 2021) y cardiomiocitos humanos (Lee *et al.*, 2021). En ambos estudios, se observó que al agregar *TNF- $\alpha$*  al cultivo con dichas células, aumentaban los niveles de mRNA de *ACE2*. Por otra parte, *TNF- $\alpha$*  es una citocina proinflamatoria que aumenta significativamente en la obesidad, pero también es un factor clave del segundo golpe en el desarrollo de la NAFLD. Por lo tanto, es probable que, con el incremento de *TNF- $\alpha$*  por la obesidad, aumenta la susceptibilidad de desarrollar NAFLD y, de forma colateral, conforme aumentan los niveles de *TNF- $\alpha$*  en el hígado, incrementa la expresión hepática de *ACE2*, lo cual, explicaría -parcialmente- por qué en los estadios de más gravedad de la NAFLD hay una mayor expresión hepática de *ACE2* (Fondevila *et al.*, 2020) (**Figura 11**). No obstante, este mecanismo propuesto es hipotético, por lo que estudios posteriores, deberán dirigirse a comprender a nivel molecular la relación que hemos encontrado, a través de análisis de enriquecimiento de vías las redes moleculares de interacción/reacción/relación que existen entre *ACE2* y *TNF- $\alpha$* , estudios funcionales *in vitro* e *in vivo*, así como en estudios de cohorte prospectivos.

Este estudio presenta diversas limitaciones entre las cuales se destacan:

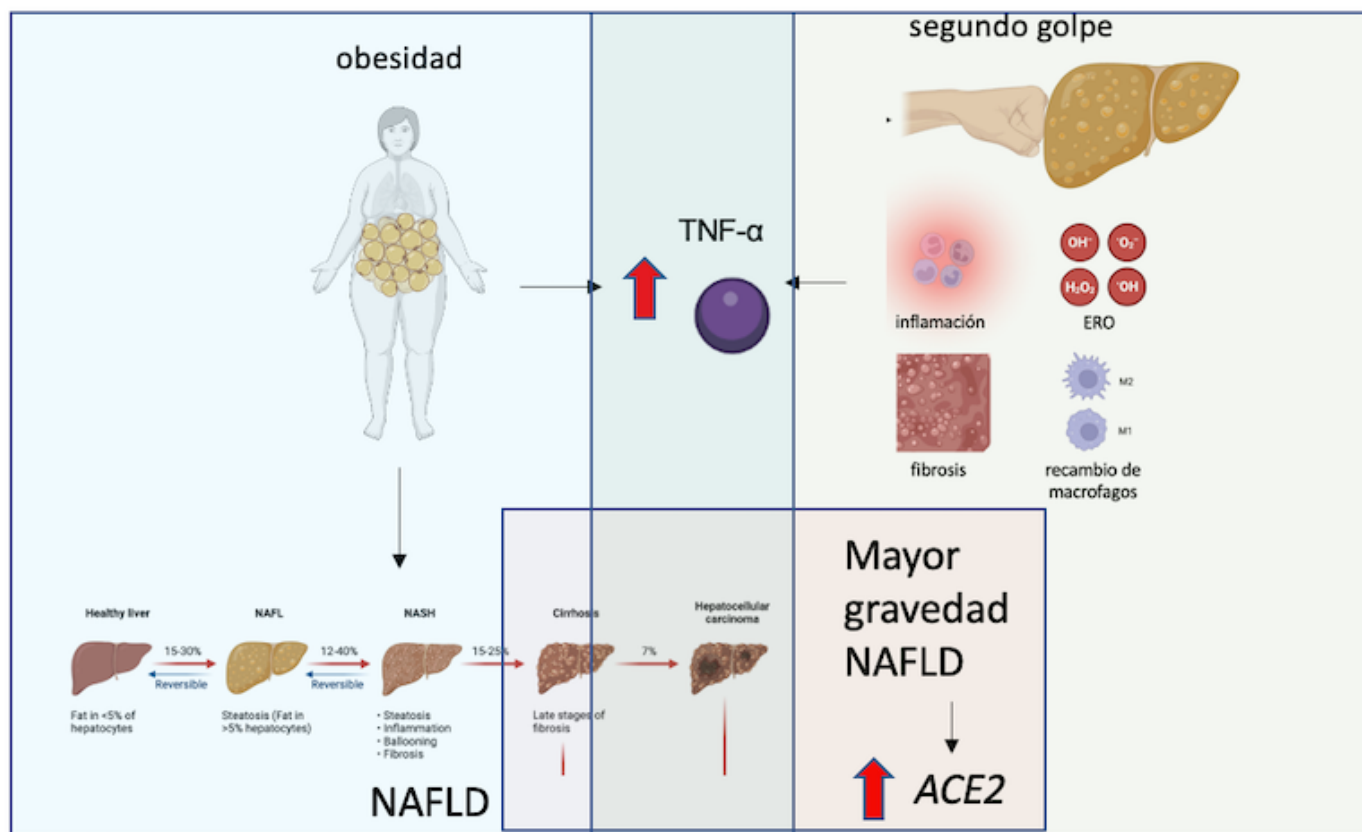
-Una desproporción entre el número de hombres y mujeres.

-No tuvimos acceso a la información sobre los tratamientos que recibían los pacientes, particularmente, si estos consumían antihipertensivos cuyo blanco molecular es algún elemento de RAS.

-No se contaba con muestras de controles con normopeso.

A pesar de estos aspectos, una de las fortalezas de este estudio es que es el primero en describir la relación entre la expresión hepática de *ACE2* y citocinas de origen hepático, así como con el sexo y las comorbilidades en pacientes mexicanos con obesidad. Los resultados obtenidos son relevantes, pues destacan una relación entre la expresión de *ACE2*, comorbilidades asociadas con la obesidad, el sexo y  $\text{TNF-}\alpha$ .

## 14. Mecanismo hipotético



Creado con BioRender.com

**Figura 11.** Mecanismo hipotético de los resultados obtenidos.  $TNF-\alpha$  es una citocina proinflamatoria que aumenta significativamente en la obesidad y un factor crítico en la fisiopatogenia de la NAFLD. Con el incremento de  $TNF-\alpha$  por la obesidad, aumenta la susceptibilidad de desarrollar NAFLD y, de forma colateral, conforme incrementan los niveles de  $TNF-\alpha$  en el hígado, incrementa la expresión hepática de  $ACE2$

## 15. Conclusiones

Este estudio permitió identificar que existe una correlación positiva entre la expresión hepática de *ACE2* y los niveles proteicos de TNF- $\alpha$ , y los datos derivados de la regresión lineal simple sugieren que esta citocina puede modular la expresión del gen que codifica para dicha enzima. Sin embargo, en estudios futuros con alcance explicativo deberán enfocarse en demostrar esta relación causal y comprender los mecanismos moleculares asociados.

Asimismo, se encontró que los niveles de mRNA de *ACE2* en el hígado son mayores en mujeres que en hombres. El dimorfismo sexual observado puede estar asociado con la localización cromosómica del gen, así como por la influencia de las hormonas sexuales.

Por otra parte, se encontró una correlación negativa entre los niveles de expresión de mRNA de *ACE2* y GGT hepáticos, la cual pueda relacionar la expresión de este gen con el daño hepático.

A pesar de las deficiencias de este estudio, los datos generados son únicos, innovadores y abren el camino a diversas preguntas de investigación que deberán ser resueltas a futuro mediante estudios bioinformáticos, funcionales y en cohortes más grandes, de carácter prospectivo, en las que -en la medida de lo posible- puedan evitarse los factores identificados como limitaciones.

## **16. Recomendaciones**

- Tener el alcance de todos los estudios clínicos de todos los pacientes, así como el conocimiento de si estos antes de ser sometidos a cirugía recibían algún tratamiento.
- Tener una homogeneidad de las muestras con respecto al sexo, aunque es complicado en estudios clínicos poder elegir a los sujetos que se estudiarán.
- La realización de estudios futuros que se enfoquen en demostrar la relación causal y comprender los mecanismos moleculares asociados.

## 17. Bibliografía

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Transport from the ER through the golgi apparatus. In *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. Garland Science.
- Al-Roub, A., Al Madhoun, A., Akhter, N., Thomas, R., Miranda, L., Jacob, T., & Ahmad, R. (2021). IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  Cooperativity in Regulating IL-6 Expression in Adipocytes Depends on CREB Binding and H3K14 Acetylation. *Cells*, 10(11), 3228.
- Arriero, CCJ, Rueda SVA. (2020) La enzima convertidora de angiotensina 2 en hipertensión, diabetes y obesidad, y su participación en la vulnerabilidad ante el virus SARS-COV-2. *Rev Educ Bioquímica*. 39(4):121-130.
- Arts, R. J. W. (2018). Joosten LAB, Netea MG. The potential role of trained immunity in autoimmune and autoinflammatory disorders. *Front Immunol*, 9(298), 10-3389.
- Arzola, J., Zavala, L., Díaz, E., Pastorello, M., Garrido, M. D. R., & Israel, A. (2005). La Oxitocina media la natriuresis inducida por la Angiotensina II administrada centralmente. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 24(2), 22-30.
- Badawi, S. y Ali, BR (2021). ACE2 birth, trafficking and pathogenesis of SARS-CoV-2: the saga continues. *human genomic*, 15 (1), 1-14.
- Balusu, S., Van Wonterghem, E., De Rycke, R., Raemdonck, K., Stremersch, S., Gevaert, K., ... & Vandembroucke, RE (2016). Identificación de un nuevo mecanismo de comunicación sangre-cerebro durante la inflamación periférica a través de vesículas extracelulares derivadas del plexo coroideo. *Medicina molecular EMBO*, 8 (10), 1162-1183.
- Barquera, S., Hernández-Barrera, L., Trejo-Valdivia, B., Shamah, T., Campos-Nonato, I., & Rivera-Dommarco, J. (2020). Obesidad en México, prevalencia y tendencias en adultos. *Salud Pública de México*, 62(6), 682-692.
- Bao, H., Gao, F., Xie, G., & Liu, Z. (2015). Angiotensin-converting enzyme 2 inhibits apoptosis of pulmonary endothelial cells during acute lung injury through suppressing MiR-4262. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37(2), 759-767.
- Bernal-Reyes, R., Castro-Narro, G., Malé-Velázquez, R., Carmona-Sánchez, R., González-Huezo, M. S., García-Juárez, I., ... & Velasco, J. V. R. (2019). Consenso mexicano de la enfermedad por hígado graso no alcohólico. *Revista de Gastroenterología de México*, 84(1), 69-99.
- Bukowska, A., Spiller, L., Wolke, C., Lendeckel, U., Weinert, S., Hoffmann, J., &

- Goette, A. (2017). Protective regulation of the ACE2/ACE gene expression by estrogen in human atrial tissue from elderly men. *Experimental Biology and Medicine*, 242(14), 1412-1423.
- Bullo, M., Garcia-Lorda, P., Peinado-Onsurbe, J., Hernandez, M., Del Castillo, D., Argiles, J. M., & Salas-Salvado, J. (2002). TNF $\alpha$  expression of subcutaneous adipose tissue in obese and morbid obese females: relationship to adipocyte LPL activity and leptin synthesis. *International journal of obesity*, 26(5), 652-658.
- Buzzetti, E., Pinzani, M., & Tsochatzis, E. A. (2016). The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 65(8), 1038-1048.
- Camacho, F. D. I., Ramos, R. S. M., Quinchuela, L. M. V., Morocho, E. A. A., Quimbiulco, C. I. H., Acosta, E. C. T., ... & Caiza, E. D. C. (2022). Inflamación crónica de bajo grado y riesgo cardiovascular. *Revista Latinoamericana de Hipertension*, 17(3), 235-239.
- Cao, X., Yang, F., Shi, T., Yuan, M., Xin, Z., Xie, R., Li, S., Li, H., Yang, J. K. (2016). Angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/Mas axis activates Akt signaling to ameliorate hepatic steatosis. *Scientific reports*, 6(1), 1-11.
- Campbell DJ (2014). Clinical relevance of local Renin Angiotensin systems. *Frontiers in endocrinology*, 5, 113
- Cappello, M., Busacca, A., & Guida, L. (2021). The course of COVID-19 in inflammatory Bowel disease: protective role of TNF antagonists. *Gastroenterology*, 160(5), 1885-1886.
- Calzadilla Bertot, L., & Adams, L. A. (2016). The natural course of non-alcoholic fatty liver disease. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 774.
- Castaner, O., Goday, A., Park, Y. M., Lee, S. H., Magkos, F., Shiow, S. A. T. E., & Schröder, H. (2018). The gut microbiome profile in obesity: a systematic review. *International journal of endocrinology*, 2018.
- Ceballos-Macías, J. J., Negrón-Juárez, R. P., Flores-Real, J. A., Vargas-Sánchez, J., Ortega-Gutiérrez, G., Madriz-Prado, R., & Hernández-Moreno, A. (2019). Obesity. Pandemia of the century xxi. *Revista de Sanidad Militar*, 72(5-6), 332-338.
- Chacín, M., Rojas, J., Pineda, C., Rodríguez, D., Pacheco, M. N., Gómez, M. M., ... & Pirela, V. B. (2011). Predisposición humana a la Obesidad, Síndrome Metabólico y Diabetes: El genotipo ahorrador y la incorporación de los diabetogénes al genoma humano desde la Antropología Biológica/Human predisposition to obesity, Metabolic syndrome and diabetes: saving genotype

and the incorporation to diabetes genes to human genoma. *Diabetes Internacional*, 3(2), 36.

Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018 Jan;67(1):328-357. doi: 10.1002/hep.29367. Epub 2017 Sep 29. PMID: 28714183.

Chen, J., Jiang, Q., Xia, X., Liu, K., Yu, Z., Tao, W., ... & Han, J. D. J. (2020). Individual variation of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 gene expression and regulation. *Aging cell*, 19(7), e13168.

Cigarroa, I., Sarqui, C., & Zapata-Lamana, R. (2016). Efectos del sedentarismo y obesidad en el desarrollo psicomotor en niños y niñas: Una revisión de la actualidad latinoamericana. *Universidad y salud*, 18(1), 156-169.

Cioccarelli, C., Sánchez-Rodríguez, R., Angioni, R., Venegas, F. C., Bertoldi, N., Munari, F., ... & Viola, A. (2021). IL1 $\beta$  promotes TMPRSS2 expression and SARS-CoV-2 cell entry through the p38 MAPK-GATA2 axis. *Frontiers in Immunology*, 12, 781352.

Clark, J. M., Brancati, F. L., & Diehl, A. M. (2002). Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 122(6), 1649-1657.

Conway, B, Rene A. Obesity as a disease: no lightweight matter. *Obes Rev*. 2004 Aug;5(3):145-51. doi: 10.1111/j.1467-789X.2004.00144.x. PMID: 15245383.

Coperchini, F., Ricci, G., Croce, L., Denegri, M., Ruggiero, R., Villani, L. & Rotondi, M. (2021). Modulation of ACE-2 mRNA by inflammatory cytokines in human thyroid cells: a pilot study. *Endocrine*, 74, 638-645.

Corley, M. J., & Ndhlovu, L. C. (2020). DNA methylation analysis of the COVID-19 host cell receptor, angiotensin I converting enzyme 2 gene (ACE2) in the respiratory system reveal age and gender differences.

Cusi, K. (2009). Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clinics in liver disease*, 13(4), 545-563.

Dai, YJ., Hu, F., Li, H., Huang, HY., Wang, DW. & Liang, Y. (2020) A profiling analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different type of cancers vulnerable to SARS-CoV-2 infection. *Ann Transl Med*. 8(7):481.

Devarajan, A., Shih, D., & Reddy, S. T. (2014). Inflammation, infection, cancer and all that... the role of paraoxonases. *Oxidative Stress and Inflammation in Non-*

*communicable Diseases-Molecular Mechanisms and Perspectives in Therapeutics*, 33-41.

- Di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S. N., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., de Gonzalez, A. B. & Hu, F. B. (2016). Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *The Lancet*, 388(10046), 776-786.
- Dinh, K. M., Kaspersen, K. A., Mikkelsen, S., Pedersen, O. B., Petersen, M. S., Thørner, L. W. & Erikstrup, C. (2019). Low-grade inflammation is negatively associated with physical Health-Related Quality of Life in healthy individuals: Results from The Danish Blood Donor Study (DBDS). *PLoS One*, 14(3), e0214468.
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E., Godbout, K., Gosselin, M., Stagliano, N. & Acton, S. (2000). A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation research*, 87(5), e1-e9.
- Fan, Z., Wu, G., Yue, M., Ye, J., Chen, Y., Xu, B. & Tan, X. (2019). Hypertension and hypertensive left ventricular hypertrophy are associated with ACE2 genetic polymorphism. *Life sciences*, 225, 39-45.
- Fan, R., Mao, S. Q., Gu, T. L., Zhong, F. D., Gong, M. L., Hao, L. M., ... & Zhang, L. N. (2017). Preliminary analysis of the association between methylation of the ACE2 promoter and essential hypertension. *Molecular medicine reports*, 15(6), 3905-3911.
- Ferris, S. P., Kodali, V. K., & Kaufman, R. J. (2014). Glycoprotein folding and quality-control mechanisms in protein-folding diseases. *Disease models & mechanisms*, 7(3), 331-341.
- Fondevila M.F., Mercado-Gómez M., Rodríguez A., Gonzalez-Rellan M.J., Iruzubieta P., Valent V. y Nogueiras R. (2021). Obese patients with NASH have increased hepatic expression of SARS-CoV-2 critical entry points. *Journal of Hepatology*. 74:469–471.
- Frühbeck, G., Toplak, H., Woodward, E., Yumuk, V., Maislos, M. y Oppert, JM (2013). Obesidad: la puerta de entrada a la mala salud: una declaración de posición de la EASO sobre un creciente desafío científico, clínico y de salud pública en Europa. *Datos sobre la obesidad*, 6 (2), 117-120.
- Gamboa, Y. L., Pellicier, Y. G., & Cantillo, Y. R. (2021). Microbiota intestinal y obesidad. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(6), 11033-11043.

- Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J. C., Turner, A. J., ... & Oudit, G. Y. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. *Circulation research*, 126(10), 1456-1474.
- Giagulli VA, Guastamacchia E, Magrone T, Jirillo E, Lisco G, De Pergola G, Triggiani V. Worse progression of COVID-19 in men: Is testosterone a key factor? *Andrology*. 2021.
- González-Costa, M., & González, AAP (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: un desafío para la medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18 (1), 30-44.
- Greenberg, A. S., Nordan, R. P., McIntosh, J., Calvo, J. C., Scow, R. O., & Jablons, D. (1992). Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer research*, 52(15), 4113-4116.
- Guy, JL, Jackson, RM, Acharya, KR, Sturrock, ED, Hooper, NM y Turner, AJ (2003). Enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2): modelado comparativo del sitio activo, requisitos de especificidad y dependencia del cloruro. *Bioquímica*, 42 (45), 13185-13192.
- Harmer, D., Gilbert, M., Borman, R., & Clark, K. L. (2002). Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS letters*, 532(1-2), 107-110.
- Hernández Rodríguez, J. (2018). La obesidad y la inflamación crónica de bajo grado. *Revista Cubana de Endocrinología*, 29(3), 1-3.
- Hikmet, F., Méar, L., Edvinsson, Å., Micke, P., Uhlén, M., & Lindskog, C. (2020). The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Molecular systems biology*, 16(7), e9610.
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
- Huang, Y. F., Zhang, Y., Liu, C. X., Huang, J., & Ding, G. H. (2016). microRNA-125b contributes to high glucose-induced reactive oxygen species generation and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells by targeting angiotensin-converting enzyme 2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20(19), 4055-4062.
- Jia, HP, Look, DC, Tan, P., Shi, L., Hickey, M., Gakhar, L., ... y McCray Jr, PB (2009). Eliminación de ectodominios de la enzima convertidora de angiotensina 2 en el epitelio de las vías respiratorias humanas. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 297 (1), L84-L96.

- Kanter Coronel, I. (2021). Magnitud del sobrepeso y la obesidad en México: un cambio de estrategia para su erradicación.
- Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., & Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 116(7), 1784-1792.
- Kalidhindi, R. S. R., Borkar, N. A., Ambhore, N. S., Pabelick, C. M., Prakash, Y. S., & Sathish, V. (2020). The Pathophysiology of COVID-19 and SARS-CoV-2 Infection: Sex steroids skew ACE2 expression in human airway: a contributing factor to sex differences in COVID-19?. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 319(5), L843.
- Kanwar, P., & Kowdley, K. V. (2016). The metabolic syndrome and its influence on nonalcoholic steatohepatitis. *Clinics in liver disease*, 20(2), 225-243.
- Keewan, E., Beg, S., & Naser, S. A. (2021). Anti-TNF- $\alpha$  agents modulate SARS-CoV-2 receptors and increase the risk of infection through Notch-1 signaling. *Frontiers in Immunology*, 12, 1662.
- Kemp, J. R., Unal, H., Desnoyer, R., Yue, H., Bhatnagar, A., & Karnik, S. S. (2014). Angiotensin II-regulated microRNA 483-3p directly targets multiple components of the renin-angiotensin system. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 75, 25-39.
- Kumar, V., Cotran, R. S., & Robbins, S. L. (2008). *Patología humana*. Elsevier Health Sciences.
- Kumar, V., & Abbas, A. K. (2021). Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. Elsevier Health Sciences.
- Lambert, D. W., Lambert, L. A., Clarke, N. E., Hooper, N. M., Porter, K. E., & Turner, A. J. (2014). Angiotensin-converting enzyme 2 is subject to post-transcriptional regulation by miR-421. *Clinical Science*, 127(4), 243-249.
- Lee, C. Y., Huang, C. H., Rastegari, E., Rengganaten, V., Liu, P. C., Tsai, P. H., ... & Chien, Y. (2021). Tumor necrosis factor-alpha exacerbates viral entry in SARS-CoV2-infected iPSC-derived cardiomyocytes. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 9869.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2010). Principios de bioquímica. Ediciones Omega.
- Leon-Pedroza, J. I., Rodriguez-Cortes, O., Flores-Mejia, R., Gaona-Aguas, C. V., & Gonzalez-Chavez, A. (2021). Impact of Metabolic Syndrome in the Clinical Outcome of Disease by SARS-COV-2. *Archives of Medical Research*, 52(7), 738-745.

- Leung P.S. (2010). Local RAS. En: *The Renin-Angiotensin System: Current Research Progress in The Pancreas*. 69-87.
- Li, X. Z., Qiu, Y., Jeffery, L., Liu, F., Feng, R., He, J. S., ... & Mao, R. (2021). Down-Regulation of Colonic ACE2 expression in patients with inflammatory bowel disease responding to Anti-TNF Therapy: Implications for COVID-19. *Frontiers in medicine*, 7, 613475.
- Liu BC, Gao J, Li Q, Xu LM. (2008). Albumin caused the increasing production of angiotensin II due to the dysregulation of ACE/ACE2 expression in HK2 cells. *Clin Chim Acta*. 2009 May;403(1-2):23-30
- Liu, J., Ji, H., Zheng, W., Wu, X., Zhu, J. J., Arnold, A. P., & Sandberg, K. (2010). Sex differences in renal angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) activity are 17 $\beta$ -oestradiol-dependent and sex chromosome-independent. *Biology of sex differences*, 1, 1-11.
- Liu, J., Yu, C., Yang, Q., Yuan, X., Yang, F., Li, P., ... & Yang, Y. (2021). The clinical implication of gamma-glutamyl transpeptidase in COVID-19. *Liver research*, 5(4),209-216.
- Lord, G. M., Matarese, G., Howard, J. K., Bloom, S. R., & Lechler, R. I. (2002). Leptin inhibits the anti-CD3-driven proliferation of peripheral blood T cells but enhances the production of proinflammatory cytokines. *Journal of leukocyte biology*, 72(2), 330-338.
- Lumangtad, L. A., & Bell, T. W. (2020). The signal peptide as a new target for drug design. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 30(10), 127115.
- Luo, Y., & Liu, M. (2016). Adiponectin: a versatile player of innate immunity. *Journal of molecular cell biology*, 8(2), 120-128.
- Luo, Y., Liu, C., Guan, T., Li, Y., Lai, Y., Li, F., ... & Zeyaweiding, A. (2019). Association of ACE2 genetic polymorphisms with hypertension-related target organ damages in south Xinjiang. *Hypertension Research*, 42(5), 681-689.
- Luo, Y., & Lin, H. (2021). Inflammation initiates a vicious cycle between obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Immunity, Inflammation and Disease*, 9(1), 59-73.
- Marcela, R. J. (2012). Características biológicas del tejido adiposo: el adipocito como célula endocrina. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 136-144.
- Marqués, R. E., Guabiraba, R., Cisalpino, D., Teixeira, M. M., & Souza, D. G. (2014, February). Dengue. In *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease* (Vol. 6, No. 1, pp. 1-104). Morgan & Claypool Life Sciences.

- Matthews, V. B., Allen, T. L., Risis, S., Chan, M. H. S., Henstridge, D. C., Watson, N., ... & Febbraio, M. A. (2010). Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. *Diabetologia*, 53, 2431-2441.
- Malard, L., Kakinami, L., O'Loughlin, J., Roy-Gagnon, M. H., Labbe, A., Pilote, L., ... & Paradis, G. (2013). The association between the angiotensin-converting enzyme-2 gene and blood pressure in a cohort study of adolescents. *BMC medical genetics*, 14(1), 1-7.
- Mallick, B., Ghosh, Z., & Chakrabarti, J. (2009). MicroRNome analysis unravels the molecular basis of SARS infection in bronchoalveolar stem cells. *PLoS one*, 4(11), e7837.
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
- Méndez-García, L. A., Escobedo, G., Minguier-Urbe, A. G., Viurcos-Sanabria, R., Aguayo-Guerrero, J. A., Carrillo-Ruiz, J. D., & Solleiro-Villavicencio, H. (2022). Role of the renin-angiotensin system in the development of COVID-19-associated neurological manifestations. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16.
- MEROP, EMBL-EBI (2021). <https://www.ebi.ac.uk/merops/about/availability.shtml>
- Mohammed MS, Sendra S, Lloret J, Bosch I. (2018). Systems and WBANs for Controlling Obesity. *J Healthc Eng.* Feb 1;2018:1564748.
- Mokuda, S., Tokunaga, T., Masumoto, J., & Sugiyama, E. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2, a SARS-CoV-2 receptor, is upregulated by interleukin 6 through STAT3 signaling in synovial tissues. *The Journal of Rheumatology*, 47(10), 1593-1595.
- Muoio, D. M., & Newgard, C. B. (2005). A is for adipokine. *Nature*, 436(7049), 337-338.
- Nardi, G. M., Januario, A. G. F., Freire, C. G., Megiolaro, F., Schneider, K., Perazzoli, M. R. A., ... & Locatelli, C. (2016). Anti-inflammatory activity of berry fruits in mice model of inflammation is based on oxidative stress modulation. *Pharmacognosy research*, 8(Suppl 1), S42.
- National Institutes of Health. (1998). Clinical guidelines for the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-the evidence report. *Obes res*, 6(2), 51S-209S.
- National Human Genome Research Intitute (Ed) (2023). Traducción.<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Traduccion>.

Hua, Z., & Graham, T. R. (2013). The Golgi apparatus. In Madame Curie Bioscience Database [Internet]. *Landes Bioscience*.

Organización Mundial de la Salud. OMS. (2021). Obesidad y sobrepeso. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>(OMS 2021). alcoholic fatty liver disease. *Immun Inflamm Dis*. 2021 Mar;9(1):59-73

Onabajo, O. O., Banday, A. R., Stanifer, M. L., Yan, W., Obajemu, A., Santer, D. M., ... & Prokunina-Olsson, L. (2020). Interferons and viruses induce a novel truncated ACE2 isoform and not the full-length SARS-CoV-2 receptor. *Nature Genetics*, 52(12), 1283-1293.

Paz Ocaranza, M., Riquelme, J. A., García, L., Jalil, J. E., Chiong, M., Santos, R. A., & Lavandero, S. (2020). Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*, 17(2), 116-129.

Petta, S., Valenti, L., Bugianesi, E., Targher, G., Bellentani, S., Bonino, F., ... & Vella, S. (2016). A “systems medicine” approach to the study of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive and Liver Disease*, 48(3), 333-342.

Peiró, C., & Moncada, S. (2020). Substituting angiotensin-(1-7) to prevent lung damage in SARS-CoV-2 infection?. *Circulation*, 141(21), 1665-1666.

Pierce, J. B., Simion, V., Icli, B., Pérez-Cremades, D., Cheng, H. S., & Feinberg, M. W. (2020). Computational analysis of targeting SARS-CoV-2, viral entry proteins ACE2 and TMPRSS2, and interferon genes by host microRNAs. *Genes*, 11(11), 1354

Pinto, B. G., Oliveira, A. E., Singh, Y., Jimenez, L., Gonçalves, A. N., Ogava, R. L., ... & Nakaya, H. I. (2020). ACE2 expression is increased in the lungs of patients with comorbidities associated with severe COVID-19. *The Journal of infectious diseases*, 222(4), 556-563.

Popovic, M., Sartorius, G. y Christ-Crain, M. (2019). Inflamación crónica de bajo grado en el síndrome de ovario poliquístico: ¿existe un papel fisiopatológico de la interleucina-1?. En *Seminars in immunopathology* (Vol. 41, No. 4, pp. 447-459). Berlín/Heidelberg: Springer Berlín Heidelberg.

Rovira, L. C., Montserrat, P. T., Llorens, M. A. A., & Blanco, G. P. (2008). Esteatosis hepática no alcohólica. Puesta al día. *Atención primaria*, 40(8), 419.

Rock, K. L., Latz, E., Ontiveros, F., & Kono, H. (2009). The sterile inflammatory response. *Annual review of immunology*, 28, 321-342.

Romero-Martínez, M., Shamah-Levy, T., Vielma-Orozco, E., Heredia-Hernández, O., Mojica-Cuevas, J., Cuevas-Nasu, L., & Rivera-Dommarco, J. (2021).

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: metodología y perspectivas. *salud pública de méxico*, 61, 917-923.

Romettiv, A. Torre-Delgadillo, G. Torres-Villalobos, R. Trejo-Estrada, M. Uribe-Esquivel y J.A. Velarde-Ruiz Velasco. (2019). Consenso mexicano de la enfermedad por hígado graso. *Revista de Gastroenterología de México*.84(1):69.

Sánchez-Muñoz, F., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F., & Cruz, M. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta médica de México*, 141(6), 505-512.

Sayiner, M., Koenig, A., Henry, L., & Younossi, Z. M. (2016). Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in the United States and the rest of the world. *Clinics in liver disease*, 20(2), 205-214.

Simões E Silva, AC, Miranda, AS, Rocha, NP y Teixeira, AL (2017). Renin angiotensin system in liver diseases: Friend or foe?. *Revista mundial de gastroenterología* , 23 (19), 3396–3406. *gastroenterology*, 23(19), 3396–3406

Stelzig, K. E., Canepa-Escaro, F., Schiliro, M., Berdnikovs, S., Prakash, Y. S., & Chiarella, S. E. (2020). Estrogen regulates the expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 in differentiated airway epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 318(6), L1280-L1281.

Stolarczyk, E. (2017). Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response?. *Current opinion in pharmacology*, 37, 35-40.

Smith, J. C., Sausville, E. L., Girish, V., Yuan, M. L., Vasudevan, A., John, K. M., & Sheltzer, J. M. (2020). Cigarette smoke exposure and inflammatory signaling increase the expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in the respiratory tract. *Developmental cell*, 53(5), 514-529

Sun, N. N., Yu, C. H., Pan, M. X., Zhang, Y., Zheng, B. J., Yang, Q. J., ... & Meng, Y. (2017). Mir-21 mediates the inhibitory effect of Ang (1–7) on AngII-induced NLRP3 inflammasome activation by targeting Spry1 in lung fibroblasts. *Scientific reports*, 7(1), 14369.

Sun, Z., Ren, K., Zhang, X., Chen, J., Jiang, Z., Jiang, J., ... & Li, L. (2021). Mass spectrometry analysis of newly emerging coronavirus HCoV-19 spike protein and human ACE2 reveals camouflaging glycans and unique post-translational modifications. *Engineering*, 7(10), 1441-1451.

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

- Trojanowicz, B., Imdahl, T., Ulrich, C., Fiedler, R., & Girndt, M. (2019). Circulating miR-421 targeting leucocytic angiotensin converting enzyme 2 is elevated in patients with chronic kidney disease. *Nephron*, 141(1), 61-74.
- Townsend, S. A., & Newsome, P. N. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease in 2016. *British medical bulletin*, 119(1), 143.
- Warner, F. J., Rajapaksha, H., Shackel, N., & Herath, C. B. (2020). ACE2: from protection of liver disease to propagation of COVID-19. *Clinical Science*, 134(23), 3137-3158.
- Wang, W. Y., Tan, M. S., Yu, J. T., & Tan, L. (2015). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease. *Annals of translational medicine*, 3(10). of proinflammatory cytokines. *Journal of leukocyte biology*, 72(2), 330-338.
- Wang, H. B., & Yang, J. (2015). The role of renin-angiotensin aldosterone system related micro-ribonucleic acids in hypertension. *Saudi Medical Journal*, 36(10), 1151.
- Wang, X., Oishi, N., Shimakami, T., Yamashita, T., Honda, M., Murakami, S., & Kaneko, S. (2017). Hepatitis B virus X protein induces hepatic stem cell-like features in hepatocellular carcinoma by activating KDM5B. *World Journal of Gastroenterology*, 23(18), 3252.
- Wicik, Z., Eyileten, C., Jakubik, D., Simões, S. N., Martins Jr, D. C., Pavão, R., ... & Postula, M. (2020). ACE2 interaction networks in COVID-19: a physiological framework for prediction of outcome in patients with cardiovascular risk factors. *Journal of clinical medicine*, 9(11), 3743.
- Whitfield, J. B. (2001). Gamma glutamyl transferase. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 38(4), 263-355.
- Xu, H., Sethi, J. K., & Hotamisligil, G. S. (1999). Transmembrane tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  inhibits adipocyte differentiation by selectively activating TNF receptor 1. *Journal of Biological Chemistry*, 274(37), 26287-26295.
- Xu, L., Kitade, H., Ni, Y., & Ota, T. (2015). Roles of chemokines and chemokine receptors in obesity-associated insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease. *Biomolecules*, 5(3), 1563-1579.
- Yamada, Y., Nishida, T., Horibe, H., Oguri, M., Kato, K., & Sawabe, M. (2014). Identification of hypo- and hypermethylated genes related to atherosclerosis by a genome-wide analysis of DNA methylation. *International Journal of Molecular Medicine*, 33(5), 1355-1340.

- Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., ... & Kadowaki, T. (2001). The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature medicine*, 7(8), 941-946.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444-1448.
- Younossi, Z. M., Stepanova, M., Negro, F., Hallaji, S., Younossi, Y., Lam, B., & Srishord, M. (2012). Nonalcoholic fatty liver disease in lean individuals in the United States. *Medicine*, 91(6), 319-327.
- Zhao, Y., Zhao, Z., Wang, Y., Zhou, Y., Ma, Y., & Zuo, W. (2020). Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 202(5), 756-759.
- Zhang, C., Wang, J., Ma, X., Wang, W., Zhao, B., Chen, Y., ... & Bihl, J. C. (2018). ACE2-EPC-EXs protect ageing ECs against hypoxia/reoxygenation-induced injury through the miR-18a/Nox2/ROS pathway. *Journal of cellular and molecular medicine*, 22(3), 1873-1882.

## 18. Anexos

Éste trabajo fue presentado parcialmente en:

**Evento:** Congreso Nacional de Genética 2022 en Chapala, Jalisco.

**Título de la ponencia:** Expresión de ACE2 en el hígado de pacientes con obesidad: asociación con marcadores bioquímicos, citocinas proinflamatorias y datos clínicos

**Autores:** Ocampo Aguilera NA, Méndez García LA, Escobedo G, Solleiro Villavicencio H.

**Premio:** Segundo lugar en el concurso de carteles del nivel de maestría



Sociedad Mexicana de Genética A.C.



## La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras

Otorgan la presente

# CONSTANCIA A:

**Ocampo Aguilera NA, Méndez García LA,  
Escobedo G, Solleiro Villavicencio H.**

Por su participación como PONENCIA EN CARTEL *“Expresión de ACE2 en el hígado de pacientes con obesidad: asociación con marcadores bioquímicos, citocinas proinflamatorias y datos clínicos”* en el Congreso Nacional de Genética 2022 realizado del 25 al 28 de octubre de 2022.

M. EN C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ  
DIRECTORA DEL ITTJ.

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA  
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

DRA. GRACIELA GUDIÑO CABRERA  
RECTORA DEL CUCBA, UDEG.



## **La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras**

Otorgan el presente

# *DIPLOMA*

**A: OCAMPO AGUILERA N. A., MÉNDEZ-GARCÍA L.A., ESCOBEDO G., SOLLEIRO-VILLAVICENCIO H.**

Por haber obtenido el SEGUNDO LUGAR EN EL CONCURSO AL MEJOR CARTEL DR. LINO DÍAZ DE LEÓN en la modalidad (Maestría), con el título "*Expresión de ACE2 en el hígado de pacientes con obesidad: asociación con marcadores bioquímicos, citocinas proinflamatorias y datos clínicos*".

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA  
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

LUIS FELIPE SANTOS CRUZ  
SECRETARIO DE LA SMG AC 2022-2023.

