

Original

Efecto de la electroestimulación a baja frecuencia en E36, en un modelo murino de obesidad mediante un análisis proteómico del tejido adiposo



Claudia Guadalupe Benítez-Cardoza^a, Ana Itzel Galíndez-Fuentes^a,
Albertana Jiménez-Pineda^a, Mónica Luz Gómez-Esquivel^a y José Luis Vique-Sánchez^{b,*}

^a Especialidad en Acupuntura Humana ENMyH-Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

^b Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B. C., México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 3 de abril de 2020

Aceptado el 14 de julio de 2020

On-line el 30 de septiembre de 2020

Palabras clave:

Electroacupuntura

Efecto de E36

Sobreexpresión de proteínas

Proteómica

RESUMEN

Objetivo: Este estudio se realizó para investigar la efectividad y las características de la electroacupuntura (EA) en E36 en la sobreexpresión de proteínas en un modelo murino de obesidad.

Métodos: Se utilizó un modelo murino de obesidad con dieta hipercalórica, con una n=6 por grupo, un grupo de acupuntura simulada (Sham) y un grupo con electroacupuntura (EA) en el punto E36, en un ensayo experimental controlado no aleatorio de 7 semanas de tratamiento. Al final del tratamiento se evaluó el peso corporal, la glucosa y la expresión proteica del tejido adiposo blanco mediante un análisis proteómico.

Resultados: Este estudio demostró la regulación de cinco proteínas mediante el uso de la electroacupuntura, y estas proteínas cumplen una función que regula los procesos celulares que pueden conducir a la homeostasis y responder a los efectos de una dieta hipercalórica. Se muestra que el efecto de E36 genera cambios en el metabolismo de los lípidos y triglicéridos, así como mejoría en los procesos intercelulares hacia la homeostasis, proponiendo proteínas que se regulan mediante la acupuntura.

Conclusiones: Este estudio proporciona una comprensión preliminar de los efectos beneficiosos del efecto de la electroestimulación en el punto E36 sobre el tejido adiposo en un modelo murino con dieta hipercalórica. Las proteínas que se identificaron podrían ayudar a justificar el efecto regulador hacia la homeostasis celular y el efecto terapéutico que se puede obtener mediante el uso de esta terapia. Este trabajo representa los comienzos de la descripción de los mecanismos de acción a nivel de expresión de proteínas por tratamiento con electroacupuntura a baja frecuencia.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jvique@uabc.edu.mx (J.L. Vique-Sánchez).

<https://doi.org/10.1016/j.acu.2020.07.002>

1887-8369/© 2020 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Effect of electrostimulation at low frequency in ST36, in a murine model of obesity by proteomic analysis of adipose tissue

A B S T R A C T

Keywords:

Electroacupuncture
ST36 Effect
Overexpression of protein
Proteomics

Objective: This study was conducted to investigate the effectiveness and characteristics of electroacupuncture (EA) at ST36 in the overexpression of proteins in a murine model of obesity.

Methods: A murine model of obesity with hypercaloric diet was used, n=6 per group, a sham acupuncture group and a group with EA at ST36, in a 7-week non-randomized controlled experimental trial of treatment. At the end of the treatment body weight, glucose and protein expression of white adipose tissue was evaluated by proteomic analysis.

Results: This study demonstrated the regulation of five proteins using electroacupuncture, and these proteins fulfil a function regulating cellular processes that can lead to homeostasis and respond to the effects of a hypercaloric diet. It is shown that the effect of ST36 presents changes in the metabolism of lipids and triglycerides as well as improving the intercellular processes towards homeostasis, proposing proteins that are regulated using acupuncture.

Conclusions: This study provides a preliminary understanding of the beneficial effects of the effect of electrostimulation at the ST36 point on adipose tissue in a murine model with hypercaloric diet. The proteins that were identified could help to justify the regulatory effect towards cell homeostasis and the therapeutic effect that can be obtained by using this therapy. This work represents the beginnings of the description of the mechanisms of action at the level of protein expression by treatment with electroacupuncture at low frequency.

© 2020 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Factores como el sobrepeso, un estilo de vida sedentario y la hiperglucemia aumentan el riesgo de presentar enfermedades cronicodegenerativas¹. En 2016, la Organización Mundial de la Salud indicó que la obesidad mundial se había duplicado desde 1980. En 2016 se informó que en México el 72,5% de la población adulta mayor de 20 años presentaba sobrepeso u obesidad². Como problema de salud pública, se buscan estrategias terapéuticas coadyuvantes, entre ellas la acupuntura, que ha ganado importancia en el tratamiento de esta patología. Según la medicina tradicional china, la etiología de la obesidad corresponde a un desequilibrio nutricional, que involucra factores emocionales, y se ven involucrados una deficiencia de Bazo y Estómago, así como un estancamiento de la energía del Hígado³.

Uno de los puntos utilizados en el tratamiento de la obesidad es el E 36, que tiene la función de tonificar la energía del Bazo y del Estómago, regulando la función intestinal y dispersando la oclusión de los alimentos, mientras que en estudios actuales se ha demostrado un efecto antiinflamatorio⁴⁻⁶; esta acción terapéutica es relevante en esta patología. Por lo tanto, es interesante investigar el mecanismo de acción que tendrá este punto (E 36) y la implicación en la regulación de la expresión de proteínas, y así permitir proponer las vías a través de las cuales estos efectos contribuyen al tratamiento de la obesidad.

Tejido adiposo

El tejido adiposo es una variedad de tejido conectivo que se compone de adipocitos, que participan en la homeostasis

sistémica a través de la producción de adipocinas. Además, se encuentran diferentes tipos de adipocitos dentro de este tejido que permiten su clasificación según las células que lo constituyen, así como su distribución y función⁷. En los mamíferos, el tejido adiposo se clasifica por su aspecto morfológico en tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo marrón (TAM). El sitio primario de almacenamiento de energía se encuentra en el TAB y se compone principalmente de adipocitos uniloculares. Los depósitos de este tipo de tejido se encuentran en todo el cuerpo, comúnmente clasificados como viscerales y subcutáneos; sin embargo, esto puede variar según la genética, la edad y, en algunos casos, la sensibilidad a las hormonas y los glucocorticoides⁸. Cada depósito de grasa individual se compone de adipocitos maduros, células precursoras de adipocitos, fibroblastos, nervios, células vasculares, macrófagos y otros tipos de células (denominadas colectivamente fracción vascular estromal). La función de los tejidos adiposos difiere principalmente en que el TAB se enfoca en el almacenamiento de energía, mientras que el TAM se enfoca en el gasto de energía, que se disipa en forma de calor que resulta en termorregulación^{8,9}. El tejido adiposo juega un papel fundamental en la nutrición, el equilibrio y la homeostasis de la energía sistémica; actúa como un depósito calórico. Actualmente se considera al tejido adiposo como un órgano adiposo que participa en el metabolismo general y en la regulación de la función de varios ejes endocrinos^{10,11}. En este tejido se producen hormonas llamadas adipocinas, que son necesarias para llevar a cabo sus funciones dentro de la homeostasis energética, el metabolismo de las grasas y azúcares, el control de la termogénesis, la reproducción y la inmunidad. También influyen en la función cardiovascular por acción directa sobre la pared vascular a través de efectos paracrinos, o interviniendo

en la función endotelial a través de niveles alterados de plasma y adipocinas de acuerdo con la masa total de tejido adiposo en el cuerpo¹². Las células inmunes residen en el tejido adiposo, y tienen una influencia importante en la regulación de la homeostasis metabólica, así se explica como ante la presencia de obesidad o cuando se ingiere una dieta alta en grasas hay reclutamiento de monocitos en dicho tejido, que se diferencia en macrófagos proinflamatorios tipo M1, que producirán citocinas inflamatorias, como el TNF (factor de necrosis tumoral), que bloquea la acción de la insulina en los adipocitos, altera la diferenciación de los preadipocitos e induce la apoptosis del adipocito marrón. Por el contrario, en animales delgados, los macrófagos antiinflamatorios de tipo M2 producen citocinas como la interleucina (IL)-4 y la IL-10, que promueven la sensibilidad a la insulina y la diferenciación de adipocitos¹³.

Acupuntura y E 36 (Zusanli)

Dentro de la medicina tradicional china, la obesidad se identifica como una patología en la que intervienen varios síndromes, los principales son la deficiencia de Bazo y Estómago, el estancamiento de la energía de Hígado y la deficiencia de Yang de Riñón; que se desencadenan, en gran medida, por un desequilibrio alimentario y trastornos emocionales³. Uno de los puntos que se vuelven más importantes en los tratamientos de acupuntura dentro de la medicina tradicional china es el E 36 (Zusanli), este punto se encuentra a un cun debajo de la prominencia tibial anterior y un cun lateral de la cresta de la tibia. Entre las funciones de este punto, es importante resaltar los beneficios que tiene en los canales del Estómago y el Bazo, además de tonificar la sangre y la energía, armoniza la energía nutritiva, fortalece la energía de defensa y regula la función intestinal¹⁴.

Teniendo en cuenta las funciones de este punto, es posible identificar su utilidad en la obesidad y la regulación del metabolismo, ya que una de sus principales acciones es inducir la homeostasis, lo que conduce a un equilibrio que permite recuperar el estado de salud del organismo.

Material y método

Animales

Se utilizaron 12 ratones macho (6 por grupo) de la cepa CD-1, de 8 a 10 semanas de edad, con un peso entre 28 y 31 g, en todos los grupos se utilizó dieta hipercalórica (HC) ENVIGO con un 60% de grasa (TD.06414) y agua, a una temperatura ambiente de 22 °C, con ciclos de luz/oscuridad de 12 h. Se formaron 2 grupos de 6 ratones cada uno, un grupo *sham* (acupuntura simulada) con una dieta HC (ENVIGO 60% de grasa, TD.06414), y un grupo con EA en E 36 con una dieta alta en calorías (ENVIGO 60% de grasa, TD.06414) y 14 sesiones de EA durante 20 min en E 36 (20 min/2 veces por semana). El abordaje de los animales cumplía con los procedimientos de alojamiento y alimentación establecidos por el comité de bioética de posgrado y cumplía con la norma de manejo y uso de animales de laboratorio NOM-062 (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999).

Electroacupuntura

El equipo de electroestimulación marca HWATO modelo SDZ-II se utilizó durante 14 sesiones, con una duración de 20 min cada una de ellas, a frecuencias de 4-6 Hz, con onda de frecuencia continua, aplicadas bilateralmente en el punto E 36.

En acupuntura simulada (*sham*) se realizaron las mismas sesiones que el grupo EA-E 36, solo se genera presión por 1 s en el punto E 36 con la punta roma de la aguja sin perforar la piel.

Electroforesis bidimensional

Se obtuvo TAB inmediatamente después del sacrificio de los ratones y se congeló con nitrógeno a -80 °C, y se obtuvo muestras de TAB (n = 3) de ambos grupos (grupo E 36 y *sham*). Las proteínas se aislaron del tejido adiposo, las muestras se centrifugaron a 15.000 rpm durante 30 min, y se separaron los sobrenadantes. Se usaron tiras (tira seca Immobiline pH 3-11, 11 cm - GE Healthcare), que se rehidrataron pasivamente con aproximadamente 150 µg del concentrado de proteína diluida en solución de rehidratación (urea 8 M, tiourea 2 M, CHAPS al 4% [p/v], DTT 65 mM, Tris-HCl 1 M y trazas de azul de bromofenol). El enfoque isoelectrico de primera dimensión se realizó a 20 °C a partir de 500 V, con un voltaje que aumentaba gradualmente a 8.000 V, con un total de 45.000 Vh acumulados. Después del enfoque isoelectrico, las tiras se equilibraron con *buffer* de equilibrio (DTT 1%, p/v) durante 15 min, y posteriormente con *buffer* de equilibrio II (yodoacetamida 2,5%, p/v) durante 15 min, para cargarse en un gel del 12% de poli-acrilamida para electroforesis SDS-PAGE. Los geles se procesaron a 15 mA durante 14 h a 15 °C.

Tinción de proteínas

Los geles se tiñeron siguiendo el protocolo modificado de Neuhoff, procedimiento adaptado de electroforesis (2004, 1327-1333). En esta metodología, llamada "Blue Silver" debido a su sensibilidad considerablemente mayor, las principales modificaciones, en comparación con el protocolo Neuhoff, fueron: un aumento del 20% en la concentración de colorante (del 0,1 al 0,12%), y un nivel mucho más alto de ácido fóscico en la receta (del 2 al 10%), que permite una absorción de tinte mucho más rápida y un aumento de la sensibilidad, con un límite de detección (relación señal/ruido > 3) de 1-3 ng de proteína. Esta tinción es ampliamente compatible con la espectrometría de masas (MS).

Análisis de imagen e identificación de proteínas

El análisis de imagen de los geles se realizó con el sistema de imágenes ChemiDoc MP (Bio Rad). Las imágenes se analizaron con el *software* PDQuest Advanced versión 8.0 (Bio Rad). Las intensidades puntuales se normalizaron a la densidad total de la imagen en cada gel. Los *spots* (manchas) de proteínas que mostraron cambios de intensidad significativos (2 veces) entre las muestras, se cortaron de los geles con el cortador de puntos Bio Rad EXQuest y se prepararon para el análisis de

MS. Para lo cual, las muestras se trataron para la digestión con tripsina y analizaron por MALDI-TOF/MS.

Análisis de proteínas seleccionadas

Las identidades de proteínas se verificaron o revisaron utilizando el software en línea Mascot. Los parámetros de búsqueda se incluyeron como: MS base de datos: NCBI nr; taxonomía: *Mus musculus*.

Predicción de las vías metabólicas modificadas en el tejido adiposo blanco debido a la estimulación de E 36

Los resultados de la identificación de proteínas por MS se revisaron en la siguiente base de datos: UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Se buscó en la información de las proteínas identificadas por MALDI-TOF/MS ingresando el nombre de cada proteína obtenida del software Mascot.

Construcción de la red de interacción proteína-proteína para explicar las acciones dadas por el efecto de la estimulación de E 36

La base de datos STRING (<https://string-db.org/>), que contiene interacciones proteína-proteína conocidas, se utilizó para integrar nuestros resultados en un interactoma. Las asociaciones en STRING incluyen interacciones directas (físicas), así como interacciones indirectas (funcionales), siempre que ambas sean específicas y biológicamente significativas. El modo de visualización de red, svg interactivo y las imágenes de cada interactoma, se descargaron en formato PNG (resolución a 400 ppp).

Análisis estadístico

Los promedios y las desviaciones estándar se calcularon en Excel (Microsoft). Los valores atípicos, la prueba de la t de Student y los valores de p se calcularon con el software Graph Pad 7. Para designar si las comparaciones entre 2 grupos de muestra tienen significancia estadística, se consideró un valor $p < 0,05$.

Resultados

Peso de los ratones después del tratamiento

Después de 7 semanas con una dieta HC, el grupo sham aumentó en promedio 2,3 g y el grupo tratado con EA en E 36 aumentó en promedio 1,2 g, a pesar de estos resultados no hubo diferencias significativas en el peso corporal entre los dos grupos, según lo determinado por la prueba t ($p = 0,4186$; fig. 1), la diferencia de peso entre los grupos pudo estar relacionada con la obtención de tejido adiposo, menor en el grupo E 36 (10% menos), por lo que debe estar relacionado con la disminución del peso corporal. Los valores de glucosa de ambos grupos se encontraron sin cambios importantes en comparación con los valores normales (entre 80-125 mg/dl).

Geles bidimensionales

Los geles bidimensionales (2D) de cada grupo se hicieron por triplicado (fig. 2), con lo cual se realizó un gel 2D maestro para el análisis de los spots (manchas/puntos de proteínas).

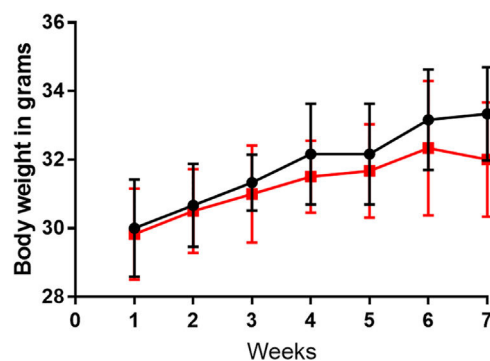


Figura 1 – Peso corporal en el grupo de ratones por semana. Negro: grupo simulado; rojo: grupo E 36 (n = 6 ratones en cada grupo). Los datos se presentan como media \pm error estándar de la media. No hay diferencia estadística entre ambos grupos, según lo determinado por la prueba t ($p = 0,4186$).

Los avances del análisis de proteómica, en el gel 2D maestro (fig. 2) muestran 5 spots que tienen un cambio entre ambos grupos (grupo sham y E 36), el PDquest determinó 5 puntos y el porcentaje de referencia entre puntos en un Gel maestro (fig. 2).

Los spots del grupo E 36 que mostraron una mayor diferencia de intensidad (medida como el número de píxeles) con respecto al grupo sham se dividieron y analizaron mediante MALDI-TOF/MS. Se informaron las identidades de 5 entidades electroforéticas que mostraron una modulación mayor de 2 (2 veces) entre el grupo sham y E 36 (esterasa-1 [Est1], regulador de glucosa de 78 kD [GRP78], microtúbulo RP/EB asociado [MARE1], albúmina [Albu] y lipoamidasa [Sir4]).

Estos 5 spots se extrajeron y se sometieron a digestión enzimática con tripsina para su identificación por MALDI-TOF/MS y se utilizó el motor de búsqueda Mascot para consultar la base de datos de proteínas Swiss-Prot y verificar la identidad de cada spot (tabla 1).

Interactomas

Se generaron 2 interactomas en String, uno para el efecto del grupo E 36 (fig. 3) y otro para el grupo sham (fig. 3), en el que se genera un análisis de las 20 probables interacciones, prediciendo los procesos biológicos y las funciones moleculares que tienen el efecto de estas interacciones.

En el interactoma del grupo E 36 (las proteínas Est1 y GRP78), las funciones en conjunto están relacionadas con la respuesta al estrés celular, la regulación de la apoptosis, la regulación del proceso celular, la regulación del plegamiento de proteínas, las funciones del retículo endoplásmico, la regulación del metabolismo de los lípidos/triglicéridos, etc., asociando la tendencia de las funciones y procesos celulares hacia la homeostasis celular en el grupo E 36 (tabla 2).

En el interactoma del grupo sham (proteínas MARE1, Albu y Sir4), las funciones en conjunto tienen que ver con una mayor síntesis de proteínas de transporte y mayor secreción de componentes intracelulares, regulación negativa de la vía de señalización apoptótica extrínseca, proteólisis negativa de

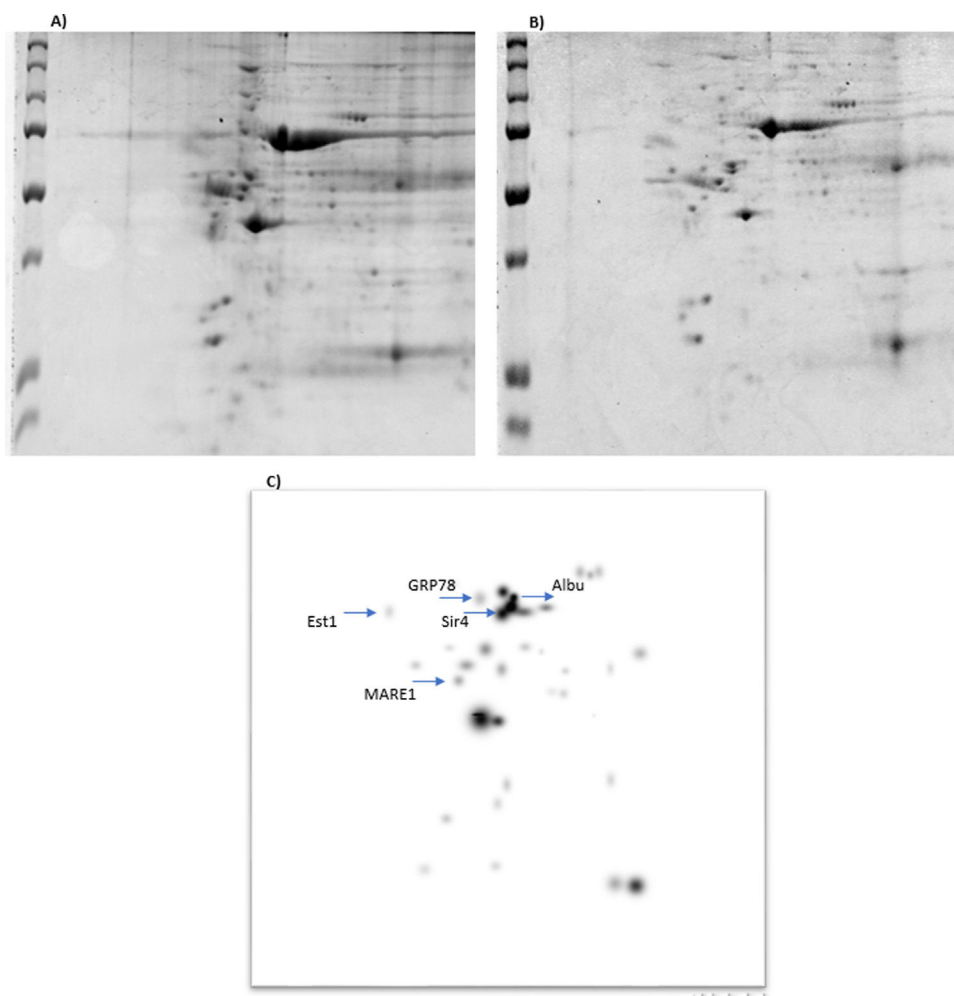


Figura 2 – Geles bidimensionales (2D). A) Grupo simulado 2D. B) Grupo E 36. C) Gel maestro; las manchas que se identificaron en el gel maestro fueron Ces1g (esterasa-1), GRP78 (regulado por glucosa de 78 kD), Sir4 (lipoamidasa). Se muestran Albu (albúmina) y MARE1 (RP/EB asociado a microtúbulos).

Tabla 1 – Spots/puntos con cambios significativos seleccionados del grupo de comparación con E 36 frente a sham. Se seleccionaron 5 puntos con mayor diferencia de intensidad entre E 36 y sham

Proteína	Cambio de intensidad	Funciones (tablas 2 y 3)
Ces1g/Est1, esterasa-1	3,16 más en E 36	Regulación de lípidos y triglicéridos
GRP78.RATÓN, 78-kd	3,65 más en E 36	Mejora la homeostasis celular
Albu_ratón	0,16 más en sham	Para más tejido adiposo
Sir4.Ratón, lipoamidasa	48,43 más en sham	Para el desarrollo de lipogénesis
MARE1.Ratón, RP/EB asociado a microtúbulos	2,26 más en sham	Más microtúbulos para más componentes celulares

Albu: albúmina; Est1: esterasa 1; GRP78: regulador de glucosa de 78 kD; MARE1: microtúbulo RP/EB asociado; Sir4: lipoamidasa.

regulación, regulación negativa de endopeptidasas, cicatrización, apoptosis y los procesos celulares, que aumentan la actividad de transporte de colesterol y la lipogénesis (tabla 3). Aumento de la actividad celular, con tendencia a aumentar la síntesis de proteínas para responder al exceso de funciones celulares.

Discusión

Este estudio demostró el cambio en la expresión de 5 proteínas, 2 en el grupo E 36 y 3 en el grupo sham, lo que demuestra el gran impacto que tiene el efecto de este punto en la expresión de proteínas directamente en los tejidos, en este caso

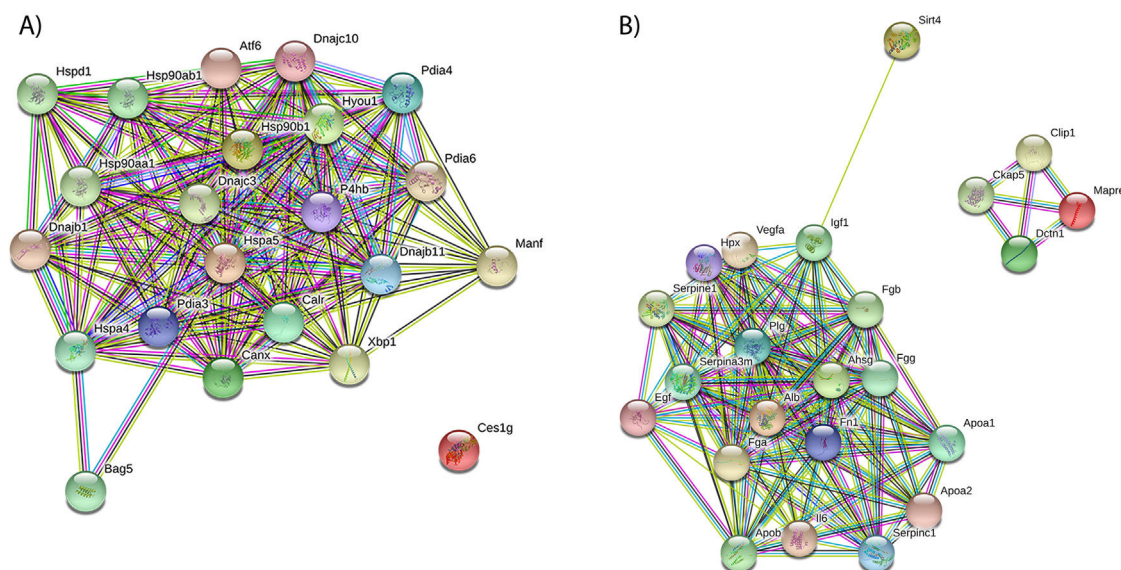


Figura 3 - A) Interacciones probables de Est1.Mouse y GRP78.Mouse y proteínas cercanas a ellas. B) Interacciones probables de MARE1.Mouse, Sir4.Mouse y Albu.Mouse y proteínas cercanas a ellas.

Tabla 2 – Proteínas asociadas con la estimulación de E 36

Nombre de entrada	GRP78.RATÓN y Est1.RATÓN
Procesos biológicos	<p>Respuesta al estrés del retículo endoplásmico</p> <p>Respuesta al estrés</p> <p>Respuesta celular al estrés</p> <p>Respuesta de proteína desplegada</p> <p>Regulación de la respuesta al estrés del retículo endoplásmico</p> <p>Regulación del proceso apoptótico</p> <p>Plegamiento de proteínas mediado por chaperona</p> <p>Homeostasis de células redox</p> <p>Respuesta al estímulo abiótico</p> <p>Regulación de la respuesta al estrés</p> <p>Regulación de la respuesta celular al estrés</p> <p>Regulación negativa del proceso apoptótico</p> <p>Regulación del proceso celular</p> <p>Regulación negativa de la respuesta al estrés del retículo endoplásmico</p> <p>Regulación de plegamiento de proteínas</p> <p>Respuesta proteica desplegada desde el retículo endoplásmico</p> <p>Ensamblaje de complejo proteico mediado por chaperona</p> <p>Respuesta química</p> <p>Respuesta a la sustancia orgánica</p>
Función molecular	<p>Unión a proteínas desplegadas</p> <p>Unión a proteínas ubiquitina ligasa</p> <p>Actividad disulfuro de oxidoreductasa</p> <p>Actividad del péptido disulfuro oxidoreductasa</p> <p>Actividad de la proteína disulfuro de isomerasa</p> <p>Unión enzimática</p> <p>Unión de acompañantes</p> <p>Unión de proteínas mal plegadas</p> <p>Enlace proteico</p> <p>Trifosfato de citidina vinculante</p> <p>Vinculante al receptor de señalización</p>

en el TAB. Como se mencionó en los antecedentes, el E 36 es un punto “macrotonificante”, que juega un papel importante en la regulación de la homeostasis. Según la evidencia reportada sobre los mecanismos de acción de la acupuntura, se ha demostrado que colocar una aguja en la superficie del tejido subcutáneo favorece la activación de las células proinflamatorias y antiinflamatorias Th1 y Th2^{15,16}, y con EA a bajas frecuencias se produce la liberación de encefalinas¹⁷, con efectos en el sistema nervioso central y el tracto digestivo. Tomando como punto de partida los interactomas reportados en este trabajo, es posible identificar algunas de las acciones de la acupuntura, que provoca cambios en procesos biológicos (en las funciones moleculares y los componentes celulares), ya que dentro de las proteínas encontradas se produce una asociación de su sobreexpresión con los efectos que produce, que tiene acción sobre el metabolismo de los lípidos, la organización del citoesqueleto, la organización de los componentes celulares y el transporte vesicular, entre otros.

Las proteínas identificadas en este estudio son la Est1, que tiene una acción sobre la regulación de lípidos y triglicéridos, también se encontró GRP78, que está involucrado en la homeostasis celular. Otro hallazgo importante fue que en el grupo de acupuntura simulada, el tejido adiposo era más abundante, por lo tanto se expresaron más proteínas como la Albu y la Sir4, esta última con una acción que favorece la lipogénesis; también se encontró MARE1, que es responsable de generar un mayor flujo de componentes intracelulares, probablemente volviéndose más activo y posiblemente condicionando un aumento por el estrés oxidativo aumentado.

Al analizar todos los hallazgos y evidencias en este trabajo, es posible demostrar que después de la estimulación con EA en el punto E 36 a bajas frecuencias, se podría estar provocando una estimulación en las célula y la liberación de encefalinas, este último desempeña un papel importante en la regulación del metabolismo, que favorece una modifica-

Tabla 3 – Proteínas asociadas con el grupo simulado

Nombre de entrada	Mare1.Ratón, Sir4.Ratón Y Albu.Ratón
Procesos biológicos	Regulación de calidad biológica Regulación del transporte de proteínas Regulación de la secreción de proteínas Cicatrización de la herida Regulación de la localización de proteínas Regulación de la respuesta al estímulo externo Regulación del proceso metabólico proteico Regulación negativa de la actividad de la hidrolasa Regulación de transporte Regulación de la coagulación de la sangre Regulación de la adhesión celular Regulación positiva del proceso biológico Regulación negativa del proceso orgánico multicelular Regulación negativa de la vía de señalización apoptótica extrínseca Regulación del proceso metabólico de la proteína celular Regulación de proteólisis Regulación de proteólisis negativa Regulación negativa del proceso apoptótico de las células epiteliales Regulación positiva del proceso orgánico multicelular Regulación de ubicación Regulación positiva de la adhesión celular Fibrinólisis Regulación negativa de la actividad endopeptidasa Regulación negativa de la cicatrización de heridas Regulación de la actividad peptidasa Regulación de la respuesta al estrés Regulación negativa del proceso apoptótico Regulación del proceso orgánico multicelular Regulación positiva de la organización del componente celular Regulación de la adhesión celular heterotípica Regulación negativa del proceso biológico Regulación en cascada de ERK1 y ERK2 Regulación positiva de transporte
Función molecular	Vinculación al receptor de señalización Regulador de la función molecular Enlace proteico Microtúbulos más unión final Actividad de transporte de colesterol Actividad inhibidora de enzimas Actividad del regulador de peptidasa Unión de moléculas de adhesión celular Actividad del regulador enzimático Unión de acompañantes Unión idéntica a proteínas Unión al receptor de partículas de lipoproteína

ción en la expresión de proteínas, en este caso, optimizando la expresión de la Est1 y el GRP78. Estas proteínas tienen un efecto sobre la regulación en el metabolismo celular, proponiendo una explicación de los mecanismos de acción por los cuales la acupuntura actúa después de la estimulación del E 36, y el efecto que dicho punto tiene sobre la homeostasis celular.

Conclusiones

Este estudio proporciona una comprensión preliminar de los efectos beneficiosos del efecto de la electroestimulación en el punto E 36 sobre el TAB en un modelo murino con dieta HC. Las proteínas que se identificaron podrían ayudar a justificar el efecto regulador hacia la homeostasis celular y el efecto terapéutico que se puede obtener mediante el uso de esta terapia. Este trabajo representa los comienzos de la descripción de los mecanismos de acción a nivel de expresión de proteínas en el tratamiento con EA a bajas frecuencias.

Aprobación ética

El manejo de los animales cumplía con los procedimientos de alojamiento y alimentación establecidos por el comité de bioética de posgrado, así como con la norma de manejo y uso de animales de laboratorio NOM-062 (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio).

Financiación

Los autores han recibido apoyo financiero de la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional de México (20181942, 20195880), COFAA-IPN, EDI-IPN y SNI-CONACyT.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Malnick SD, Knobler H. The medical complications of obesity. *QJM*. 2006;99:565-79.
2. ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición - MC 2016. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2016/index.php>.
3. China ES de MT. Acupuntura - Medicina Interna. Fundacion europea de medicina tradicional china.
4. Güçel F, Bahar B, Demirtas C, Mit S, Çevik C. Influence of Acupuncture on Leptin, Ghrelin, Insulin and Cholecystokinin in Obese Women: A Randomised, Sham-Controlled Preliminary Trial. *Acupunct Med*. 2012;30:203-7.
5. Cho SH, Lee JS, Thabane L, Lee J. Acupuncture for obesity: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33:183-96.
6. Cho WC, Li C, Chen HY. Clinical efficacy of acupoint embedment in weight control. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97:e12267.
7. Sánchez JC, Romero CR, Muñoz LV, Rivera RA. El órgano adiposo, un arcoiris de regulación metabólica y endocrina. *Rev Cubana Endocrinol*. 2016;27:105-19.
8. Sanchez-Gurmaches J, Guertin DA. Adipocyte lineages: tracing back the origins of fat. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842:340-51.
9. Keipert S, Jastroch M. Brite/beige fat and UCP1 — is it thermogenesis? *Biochim Biophys Acta*. 2014;1837:1075-82.

10. Qiu Y, Nguyen KD, Odegaard JI, Cui X, Tian X, Locksley RM, et al. Eosinophils and type 2 cytokine signaling in macrophages orchestrate development of functional beige fat. *Cell*. 2014;157:1292-308.
11. Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7, 30.
12. Smekal A, Vaclavik J. Adipokines and cardiovascular disease: A comprehensive review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2017;161:31-40.
13. Wang W, Seale P. Control of brown and beige fat development. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;17:691-702.
14. Vas J, Crítica de libro. *The Foundations of Chinese Medicine. A comprehensive Tex*. 3rd ed. Edimburgh: Elsevier; 2015. *Rev Int Acupuntura*. 2016;10:33.
15. Wang Z, Chen T, Long M, Chen L, Wang L, Yin N, et al. Electro-acupuncture at Acupoint ST36 Ameliorates Inflammation and Regulates Th1/Th2 Balance in Delayed-Type Hypersensitivity. *Inflammation*. 2017;40:422-34.
16. Liu Y, Feng H, Mao H, Mo Y, Yin Y, Liu W, et al. [Impact on serum 5-HT and TH1/TH2 in patients of depressive disorder at acute stage treated with acupuncture and western medication]. *Zhongguo Zhen Jiu*. 2015;35:539-43.
17. Cobos Romana R. Acupuntura, electroacupuntura, moxibustión y técnicas relacionadas en el tratamiento del dolor. *Rev Soc Esp Dolor*. 2013;20:263-77.