



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

**“Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y el ejercicio de
intensidad moderada sobre la lipotoxicidad y la atrofia muscular
en ratas diabéticas”**

TESIS

Que presenta:

M. en C. Sarai Sánchez Duarte

Para obtener el grado de
**DOCTORA EN CIENCIAS EN
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

DIRECTORA DE TESIS: D. en C. Rocío del Carmen Montoya Pérez
Morelia, Michoacán, Junio de 2026

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1 Diabetes mellitus	6
1.2 Músculo esquelético	7
1.3 Músculo esquelético y diabetes	9
1.4 Atrofia muscular diabética	10
1.5 Lipotoxicidad y atrofia muscular	11
1.6 NADPH oxidasa	13
1.7 Ejercicio	16
1.8 Apocinina	19
2. JUSTIFICACIÓN	21
3. HIPÓTESIS	22
4. OBJETIVOS	22
4.1 Objetivo general	22
4.2 Objetivos específicos	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
5.1 Experimentación con animales y aprobación ética	23
5.2 Determinación del tamaño de la muestra	23
5.3 Inducción de diabetes y diseño experimental	24
5.4 Eutanasia y preparación de tejidos	25
5.5 Protocolo de ejercicio	25
5.6 Perfil lipídico	26
5.7 Medición de la actividad de la NADPH oxidasa	27
5.8 Contenido de triacilglicéridos musculares	28
5.9 Análisis histológico muscular	28
5.10 Determinación de la peroxidación lipídica	29
5.11 Aislamiento de ARN y RT-qPCR para el análisis de la expresión de ARNm	29
5.12 Análisis estadístico	30
6. RESULTADOS	31
6.1 Efecto de la apocinina y del ejercicio de intensidad moderada sobre la glucemia y el perfil lipídico	31

6.2 Efecto de la apocinina y del ejercicio de intensidad moderada sobre el peso corporal y la masa muscular.....	32
6.3 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada sobre la actividad de la NADPH oxidasa.....	34
6.4 La inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada disminuyen la peroxidación lipídica en el músculo esquelético.....	35
6.5 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada sobre el área de la sección transversal de las fibras musculares.....	36
6.6 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de moderada intensidad sobre el tamaño de las fibras musculares del músculo EDL y sóleo.....	37
6.7 La inhibición de la NOX y el ejercicio reducen el contenido de triglicéridos intramusculares.....	40
6.8 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de moderada intensidad sobre la expresión génica de reguladores de la masa muscular y la capacidad oxidativa en el músculo esquelético de ratas diabéticas.....	41
7. DISCUSIÓN.....	45
8. CONCLUSIÓN.....	51
9. LIMITACIONES.....	52
10. REFERENCIAS.....	52

RESUMEN

La atrofia muscular diabética es una complicación de la diabetes mellitus que deteriora la masa y la función del músculo esquelético, lo que afecta la calidad de vida. Su fisiopatología implica alteraciones metabólicas, activación de vías proteolíticas, acumulación lipídica intramuscular y aumento del estrés oxidante. Las enzimas NADPH oxidasas (NOX) constituyen una fuente importante de especies reactivas de oxígeno (ERO), lo que contribuye al daño oxidativo y a la resistencia a la insulina. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inhibición farmacológica de NOX mediante apocinina y del ejercicio aeróbico de intensidad moderada, tanto de forma individual como combinada, sobre la atrofia muscular asociada a la diabetes y a la hiperlipidemia concomitante. Se utilizó un modelo de diabetes inducido por estreptozotocina (60 mg/kg) en ratas macho Wistar, sometidas a tratamiento con apocinina (3 mg/kg) y a un protocolo de ejercicio aeróbico durante ocho semanas. Se analizaron parámetros metabólicos, perfil lipídico, contenido intramuscular de triacilglicéridos (TG), peroxidación lipídica (TBARS), actividad de NOX, análisis histológico y la expresión de genes asociados a la homeostasis muscular en los músculos EDL y sóleo. La inducción de diabetes provocó hiperglucemia, dislipidemia, aumento del contenido de TG intramusculares, incremento de la actividad de NOX y elevación de la expresión de Atrogin-1 y MuRF-1, acompañados de una reducción del área transversal de las fibras musculares. Estos efectos fueron más pronunciados en el músculo EDL que en el sóleo, lo que evidencia una respuesta diferencial según del tipo de fibra muscular. La apocinina atenuó parcialmente estas alteraciones, mientras que su combinación con el ejercicio potenció los efectos protectores, disminuyendo significativamente el estrés oxidante, la acumulación lipídica y la activación de vías catabólicas, además de incrementar la expresión de PGC-1 α y disminuir la de p47phox. Los efectos fueron más marcados en el músculo EDL, lo que sugiere una respuesta dependiente del tipo de fibra. En conjunto, nuestros resultados sugieren la participación de NOX2 en el estrés oxidante y en la disfunción del metabolismo lipídico asociados a la miopatía diabética. La modulación de esta vía, en particular en combinación con el ejercicio

aeróbico, podría contribuir a preservar la masa muscular en el contexto de la diabetes.

Palabras clave: diabetes, atrofia, triacilgliceroles, músculo esquelético, ejercicio, estrés oxidativo.

ABSTRACT

Diabetic muscle atrophy is a complication of diabetes mellitus that impairs skeletal muscle mass and function, thereby affecting quality of life. Its pathophysiology involves metabolic alterations, activation of proteolytic pathways, intramuscular lipid accumulation, and increased oxidative stress. NADPH oxidase (NOX) enzymes constitute an important source of reactive oxygen species (ROS), contributing to oxidative damage and insulin resistance. This study aimed to evaluate the effect of pharmacological NOX inhibition using apocynin and moderate-intensity aerobic exercise, both individually and in combination, on muscle atrophy associated with diabetes and concomitant hyperlipidemia. Diabetes was induced using streptozotocin (60 mg/kg) in male Wistar rats, which were treated with apocynin (3 mg/kg) and subjected to an aerobic exercise protocol for eight weeks. Metabolic parameters, lipid profile, intramuscular triacylglycerol (TG) content, lipid peroxidation (TBARS), NOX activity, histological analysis, and expression of genes associated with muscle homeostasis were evaluated in the EDL and soleus muscles. Diabetes induction led to hyperglycemia, dyslipidemia, increased intramuscular TG content, elevated NOX activity, and upregulation of Atrogin-1 and MuRF-1 expression, accompanied by a reduction in muscle fiber cross-sectional area. These effects were more pronounced in the EDL than in the soleus, indicating a fiber-type-dependent response. Apocynin partially attenuated these alterations, while its combination with exercise enhanced protective effects by significantly reducing oxidative stress, lipid accumulation, and activation of catabolic pathways, and by increasing PGC-1 α expression and decreasing p47phox expression. These effects were more evident in the EDL muscle, further supporting a fiber-type-dependent response. Overall, our results suggest that NOX2 is involved in oxidative stress and lipid metabolism

dysfunction associated with diabetic myopathy. Modulation of this pathway, particularly in combination with aerobic exercise, may help preserve muscle mass in the context of diabetes.

Keywords: diabetes, atrophy, triglycerides, skeletal muscle, exercise, oxidative stress.

1.INTRODUCCIÓN

1.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre que, con el tiempo, alteran el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas. Estas alteraciones son consecuencia de defectos en la secreción de insulina, en la acción de esta hormona o en ambos procesos (Antar et al., 2023; ADA, 2025). En la diabetes mellitus tipo 1 (DM1), la deficiencia de insulina y la hiperglucemia resultan de la destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas, mientras que en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) predominan la resistencia a la insulina y una disminución progresiva en la producción de insulina por las células beta (Matoori, 2022) La DM1 representa menos del 10 % de todos los casos de DM, y la DM2 representa más del 90 % (Shen et al. 2022).

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, más de 580 millones de personas adultas de 20 a 79 años viven actualmente con diabetes a nivel mundial. Se estima que esta cifra aumentará considerablemente en las próximas décadas, alcanzando aproximadamente 853 millones de personas en 2050, lo que representa un incremento del 46 % (IDF, 2025).

Las complicaciones crónicas asociadas a la diabetes afectan a múltiples órganos y sistemas, entre ellos los ojos, los riñones, el corazón y el cerebro. Asimismo, se ha reconocido la afectación del músculo esquelético como una complicación importante, aunque aún poco estudiada (Fujimaki y Kuwabara, 2017). La alta prevalencia y el rápido crecimiento de la diabetes representan desafíos significativos para los sistemas de atención médica. En este contexto, y considerando la elevada morbilidad y la carga económica asociada a esta enfermedad, numerosas iniciativas de investigación básica, aplicada y clínica se

han enfocado en la identificación de nuevas estrategias terapéuticas para la diabetes y sus complicaciones (Matoori, 2022).

1.2 Músculo esquelético

El tejido muscular representa aproximadamente el 50 % del peso corporal total y desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de funciones vitales como el movimiento, el soporte postural, la respiración y la termogénesis. En este sentido, el músculo se considera uno de los órganos más grandes del organismo y constituye entre el 50 % y el 75 % del contenido proteico total del cuerpo. Además, el músculo esquelético actúa como un sitio principal para la captación y el almacenamiento de glucosa, así como un importante reservorio de proteínas. Debido a su elevada masa y actividad metabólica, el músculo esquelético contribuye de manera significativa al metabolismo energético sistémico y es uno de los principales consumidores de glucosa del organismo (McCuller et al., 2023). En consecuencia, las alteraciones en su metabolismo desempeñan un papel central en el desarrollo de la resistencia a la insulina y de enfermedades metabólicas como la DM2 (Zhen et al., 2019).

El músculo esquelético es un tejido altamente organizado y especializado, conformado por diversos componentes estructurales y funcionales, entre los que se incluyen las fibras musculares o miofibras, los vasos sanguíneos, las fibras nerviosas y el tejido conectivo. Esta compleja organización es indispensable para la generación de la contracción, la fuerza y el movimiento voluntario (Ferraco et al., 2021).

Las fibras musculares esqueléticas son células largas, cilíndricas, estriadas y multinucleadas, con un diámetro de 10 a 100 micrómetros y una longitud de varios centímetros. Los núcleos se localizan en la periferia de la célula, adyacentes al sarcolema, una vaina tubular que rodea y delimita cada fibra muscular, separando los compartimentos extracelular e intracelular. El sarcolema está constituido por la membrana plasmática y una capa externa de polisacáridos que continúa con las fibras tendinosas. A partir del sarcolema se originan invaginaciones conocidas como

túbulos transversos o túbulos T, que desempeñan un papel fundamental en el intercambio iónico y en la transmisión del impulso eléctrico hacia el interior de la fibra. Cada fibra muscular está rodeada por una capa de tejido conectivo denominada endomisio, en cuyo interior se encuentran capilares sanguíneos y terminaciones nerviosas que garantizan la nutrición y la inervación de la fibra. Varias fibras musculares se agrupan para formar fascículos, los cuales están envueltos por otra capa de tejido conectivo llamada perimisio, que puede rodear entre 10 y 100 fascículos. A su vez, los fascículos se organizan para formar el músculo completo, que está recubierto por una capa externa de tejido fibroso denominada epimisio. En conjunto, el endomisio, el perimisio y el epimisio proporcionan soporte estructural, protección y organización al músculo esquelético (McCuller et al., 2023).

Desde el punto de vista microscópico, cada fibra muscular contiene cientos o miles de miofibrillas, estructuras cilíndricas compuestas por filamentos de actina (filamentos delgados) y miosina (filamentos gruesos), así como por proteínas de soporte estructural como titina, nebulina, α -actina y desmina. La disposición ordenada de estos filamentos confiere al músculo esquelético su aspecto estriado característico y da lugar a unidades funcionales repetitivas llamadas sarcómeros, que constituyen la unidad estructural y funcional básica de la miofibra (Campbell y Maani, 2023).

Una característica distintiva del músculo esquelético es su heterogeneidad, ya que está compuesto por diferentes tipos de fibras musculares con propiedades metabólicas y contráctiles específicas. En el músculo esquelético de los mamíferos se distinguen principalmente dos tipos de fibras: las fibras tipo I, también denominadas fibras oxidativas de contracción lenta o fibras de músculo rojo, y las fibras tipo II, conocidas como fibras glucolíticas de contracción rápida o fibras de músculo blanco (Schiaffino et al., 2018). Las fibras tipo I presentan un mayor contenido mitocondrial, una elevada capacidad oxidativa y una alta resistencia a la fatiga; en contraste, las fibras tipo II se caracterizan por una mayor dependencia del metabolismo glucolítico y una mayor susceptibilidad a la fatiga (Krause et al., 2012).

La proporción y la distribución de los diferentes tipos de fibras musculares determinan diversas propiedades funcionales del músculo esquelético, tales como la resistencia a la fatiga, la velocidad de contracción y el perfil metabólico (oxidativo o glucolítico). Estudios recientes han demostrado que las características específicas de cada tipo de fibra influyen en su susceptibilidad a distintas enfermedades musculares (Talbot et al., 2016; Sánchez-Duarte et al., 2022). En consecuencia, el estudio del músculo esquelético resulta fundamental para la comprensión de la fisiopatología metabólica y para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas

1.3 Músculo esquelético y diabetes

El músculo esquelético es uno de los tejidos corporales más sensibles a la insulina y constituye el principal sitio de captación de glucosa mediada por la insulina (Hulett et al., 2022). Las alteraciones en la salud del músculo esquelético pueden afectar la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo, ya que el músculo, junto con el hígado y el tejido adiposo, está principalmente involucrado en la regulación de la captación de glucosa y en su mantenimiento. Diversos estudios reportan que tanto la diabetes tipo 1 como la tipo 2 provocan alteraciones metabólicas y funcionales en el músculo esquelético, lo que conlleva una complicación conocida como miopatía diabética (Sánchez-Briones et al., 2026).

La miopatía diabética es una complicación frecuente de la diabetes mellitus que, aunque a menudo pasa desapercibida, afecta de manera significativa al músculo esquelético, esencial para la movilidad y el metabolismo energético. Se reconoce como un trastorno multifactorial que involucra alteraciones a nivel microvascular y metabólico, incremento del estrés oxidante, activación de vías proteolíticas y disfunción de la homeostasis muscular. Se caracteriza por una disminución de la capacidad física, la fuerza y la masa muscular (Sánchez-Duarte et al., 2022).

La diabetes mellitus induce atrofia muscular y una transición de fibras musculares oxidativas a fibras musculares glucolíticas, lo que reduce la capacidad oxidativa del músculo esquelético. Estos cambios afectan negativamente el

desarrollo y la función musculares, lo que exacerba la miopatía diabética, la debilidad muscular y la intolerancia al ejercicio. Esta condición contribuye a la persistencia de complicaciones secundarias (Sánchez-Duarte et al., 2025).

Desde el punto de vista molecular, la atrofia muscular asociada a la miopatía diabética se ve impulsada por una disminución de la síntesis de proteínas musculares y un aumento de la actividad de proteasas intramusculares dependientes de calcio. Estas proteasas favorecen la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), alteraciones en la síntesis de ATP y, finalmente, la muerte celular (Yin et al., 2021). A medida que la atrofia progresa, se observa una disfunción mitocondrial, caracterizada por la contracción mitocondrial, el incremento del estrés oxidante y la reducción de la capacidad oxidativa, evidenciada por la transición de fibras musculares de tipo I a tipo II (Gaur et al., 2024; Sánchez-Duarte et al., 2025).

1.4 Atrofia muscular diabética

La atrofia muscular diabética es considerada una complicación de la DM; se define como el desgaste o pérdida de tejido muscular, caracterizada por debilidad muscular proximal de las extremidades inferiores, atrofia, dolor, alteraciones sensoriales e incluso cuadriplejía en casos graves (Mahashabde et al., 2020; Lopez-Pedrosa et al., 2024). Diversos factores, entre ellos la hiperglucemia crónica, los niveles elevados de glucocorticoides, la inflamación, la resistencia a la insulina, el estrés oxidante y la dislipidemia, contribuyen de manera significativa al desarrollo y la progresión de esta condición (Shen et al., 2022).

A nivel molecular, la atrofia muscular diabética se debe a un desequilibrio entre la síntesis y la degradación de las proteínas musculares. El sistema ubiquitina–proteasoma (UPS) y la vía autofagia–lisosoma (ALP) constituyen las dos principales rutas de degradación proteica. Estos procesos están regulados negativamente por vías anabólicas implicadas en la síntesis de proteínas, entre las que destacan las vías de señalización del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y la vía fosfoinosítido 3-quinasa-Akt/proteína quinasa B-diana de la

rapamicina en mamíferos (PI3K–Akt/PKB–mTOR), así como la vía IGF-1–Akt–Forkhead box O (FoxO) (Shen et al., 2022).

En la DM2, se ha demostrado que la resistencia a la insulina inhibe la síntesis proteica al suprimir la vía IGF-1–PI3K–Akt/PKB–mTOR y, de manera concomitante, se activan el UPS y la ALP a través de la vía IGF-1–Akt–FoxO, lo que promueve la atrofia muscular. Por su parte, la atrofia muscular inducida por la DM1 está mediada principalmente por la activación de vías de degradación proteica dependientes de FoxO. Adicionalmente, el daño inducido por el estrés oxidante, la respuesta inflamatoria crónica y los niveles elevados de glucocorticoides pueden actuar como desencadenantes o amplificadores de la atrofia muscular en la DM (Ferretti et al., 2018; Gonçalves et al., 2019; Yadav et al., 2021; Di Meo et al., 2017; Alganti et al., 2021).

1.5. Lipotoxicidad y atrofia muscular

Los lípidos son biomoléculas esenciales para la supervivencia celular debido a su participación en múltiples procesos fisiológicos fundamentales, como la señalización intracelular, el transporte de moléculas, la respuesta inmunitaria, el mantenimiento de la integridad estructural celular y la regulación del metabolismo. En conjunto, estas funciones destacan por su papel clave en el mantenimiento de la homeostasis celular (Verderio et al., 2018; Vanni, 2017; Olzman et al., 2019; Nishi et al., 2019).

A nivel celular, los lípidos se almacenan predominantemente en forma de gotas lipídicas, que actúan como reservorios dinámicos de energía y pueden movilizarse en respuesta a las demandas metabólicas del organismo (Bobulescu, 2010). No obstante, cuando la homeostasis lipídica intracelular se altera, se produce una acumulación excesiva de lípidos, lo que da lugar a un fenómeno conocido como lipotoxicidad. En este estudio, la lipotoxicidad se entiende como la acumulación anormal de lípidos en el músculo esquelético, particularmente triacilglicéridos intramusculares, asociada a alteraciones sistémicas del perfil lipídico y al

incremento del daño oxidativo, evaluado mediante la peroxidación lipídica (TBARS). Esta condición se caracteriza por la activación de vías metabólicas, inflamatorias y oxidativas que pueden culminar en disfunción y en la muerte celular programada. Asimismo, evidencia reciente sugiere que el daño celular no depende exclusivamente de la cantidad de lípidos acumulados, sino también de la naturaleza y la composición de las especies lipídicas presentes (Opado-Ríos et al., 2020).

Diversos estudios han demostrado que la rigidez metabólica en tejidos como el hígado y el tejido adiposo favorece la acumulación ectópica de lípidos en tejidos no adiposos, entre ellos el músculo esquelético, lo cual se asocia estrechamente con procesos de lipotoxicidad (Goodpaster y Sparks, 2017). En este sentido, el aumento de los lípidos intramiocelulares (LIMC), en particular de los triacilglicéridos, se ha relacionado con el desarrollo de la resistencia a la insulina tanto en pacientes con diabetes tipo 1 como en modelos animales (Dotzert et al., 2016).

Si bien los LIMC desempeñan un papel esencial en el suministro de energía para la contracción muscular, su acumulación ectópica en el músculo esquelético promueve la generación de intermediarios lipotóxicos, como los diacilgliceroles (DAG) y las ceramidas (Li et al., 2019). Estos metabolitos contribuyen al deterioro de la señalización de la insulina al activar la proteína quinasa C (PKC), lo que agrava la resistencia a la insulina y puede establecer un ciclo de retroalimentación negativa que compromete la función muscular y favorece la pérdida progresiva de masa muscular (López-Pedrosa et al., 2024). Adicionalmente, se ha reportado que la exposición al palmitato en miotubos induce la acumulación de ceramidas, incrementa la expresión de genes proatróficos como atrogin-1/MAFbx, eleva la actividad del factor de transcripción FoxO3 y reduce la síntesis proteica, lo que contribuye al desarrollo de la atrofia muscular (Meex et al., 2016).

1.6 NADPH oxidasa

El estrés oxidante constituye un factor central en la patogénesis de las complicaciones diabéticas. Se caracteriza por una producción excesiva de ERO que supera la capacidad de los sistemas antioxidantes celulares, lo que provoca un desequilibrio redox (Coleman et al., 2015; Sánchez-Duarte et al., 2021). Este fenómeno constituye un evento temprano y relevante en el desarrollo de las complicaciones asociadas a la diabetes y en la instauración de la resistencia a la insulina, al activar múltiples vías fisiopatológicas. En el músculo esquelético, el exceso de ERO altera la señalización de la insulina, favorece la lipotoxicidad, la disfunción mitocondrial y la activación de vías inflamatorias, lo que contribuye a la disfunción muscular y a cambios en la expresión de genes involucrados en la defensa antioxidante y en el metabolismo (Yokota et al., 2009; Souto et al., 2015).

En este contexto, las nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasas (NADPH oxidasas, NOX) constituyen una de las principales fuentes de ERO en el músculo esquelético y desempeñan un papel clave en la regulación de la homeostasis redox (Sakellariou et al., 2013; Ferreira et al., 2016). No obstante, existe evidencia sólida de que la producción exacerbada de ERO derivada de NOX contribuye de manera significativa al daño oxidante en condiciones patológicas, incluida la diabetes, así como en diversas alteraciones musculares (Bechara et al., 2014; Hansen et al., 2018; Urner et al., 2020; Elumalai et al., 2021). La familia NOX está compuesta por siete isoformas (NOX1–NOX5 y Duox1–2), de las cuales NOX2 y NOX4 se expresan en el músculo esquelético y se localizan principalmente en el sarcolema y el retículo sarcoplásmico. La función principal de estas enzimas es la generación regulada de ERO (Ferreira y Laitano, 2016) (Véase la figura 1).

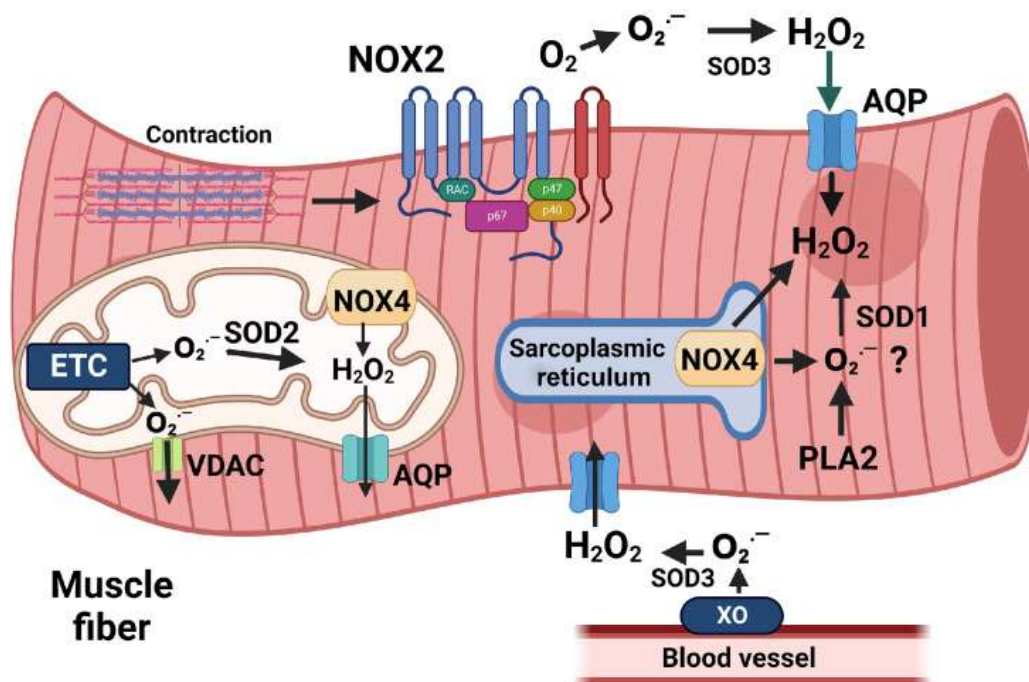


Imagen 1. Principales fuentes de especies reactivas de oxígeno (ERO) en el músculo esquelético durante la contracción. Se describen los mecanismos celulares involucrados en la generación y la regulación de ERO. AQP: acuaporina; ETC: cadena de transporte de electrones; H_2O_2 : peróxido de hidrógeno; NOX: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa; O_2 : oxígeno; $O_2^{\cdot-}$: radical anión de superóxido; PLA₂: fosfolipasa A₂; ROS: especies reactivas de oxígeno; SOD: superóxido dismutasa; VDAC: canal aniónico dependiente de voltaje; XO: xantina oxidasa (Tomada de Zhou et al., 2024).

El aumento de la expresión génica y de la actividad de NOX, así como de algunos de sus componentes reguladores, se ha asociado con la desregulación metabólica observada en la diabetes, incluida la resistencia a la insulina y las alteraciones del transporte de glucosa (Lee et al., 2020; Wang et al., 2023). La actividad de NOX puede ser modulada por diversos estímulos, entre ellos la angiotensina II, los factores de crecimiento, el estrés mecánico, así como por elevadas concentraciones de glucosa, insulina y ácidos grasos (Souto et al., 2015). En particular, NOX2 ha sido implicada en procesos de atrofia muscular inducida por desuso y por denervación, así como en modelos de distrofia muscular de Duchenne

y de atrofia muscular mediada por angiotensina II (Shieh et al., 2013; Kadoguchi et al., 2018), lo que sugiere su relevancia en la fisiopatología muscular.

A nivel molecular, la activación de NOX2 depende del ensamblaje de sus subunidades citosólicas y de membrana, proceso en el que la proteína adaptadora p47phox desempeña un papel central. En condiciones basales, p47phox se mantiene en una conformación cerrada e inactiva mediante interacciones intramoleculares que involucran su región autoinhibitoria polibásica (AIR), el dominio bis-SH3 y el dominio PX. La fosforilación de los residuos de serina en el AIR, mediada principalmente por PKC y PI3K, induce un cambio conformacional que expone los dominios bis-SH3 y PX, lo que permite la interacción con p22phox y con los fosfolípidos de membrana, respectivamente, y favorece la translocación de las subunidades citosólicas y la activación del complejo enzimático. Asimismo, p47phox facilita el reclutamiento de p67phox mediante interacciones específicas entre su región rica en prolina y el dominio SH3 de p67phox, esenciales para el ensamblaje funcional de NOX2 (Moghadam et al., 2021) (Figura 2).

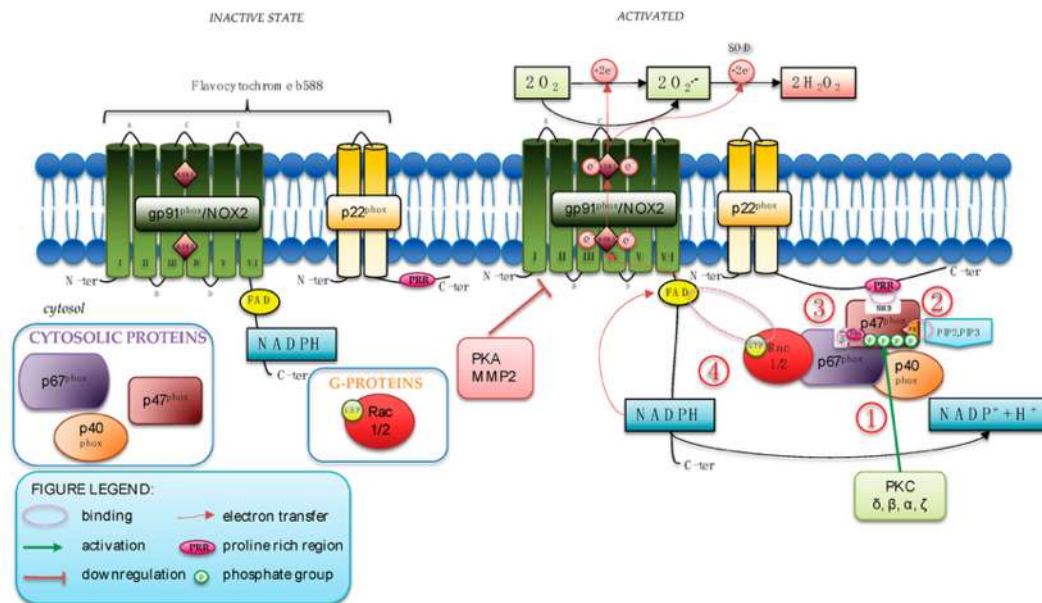


Imagen 2. Activación y regulación del complejo NOX2. (1) Tras su activación, la proteína cinasa C (PKC) fosforila los residuos de serina Ser304, Ser315, Ser320 y Ser328 de p47phox. (2) La fosforilación de p47phox expone su dominio SH3 N-terminal, lo que permite su unión a la región rica

en prolina (PRR) de p22phox; además, el dominio PX de p47phox interactúa con los productos de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K). (3) La activación de la GTPasa Rac2 media la translocación de p67^{phox}, la cual se asocia con p47phox al citocromo b₅₅₈. (4) Rac2 se une directamente al flavocitocromo, favoreciendo las etapas iniciales de la transferencia de electrones (Tomada de Nocella et al., 2023).

Desde una perspectiva terapéutica, la inhibición de NOX2 puede lograrse mediante la interferencia con estos mecanismos de ensamble, ya sea bloqueando la fosforilación de p47phox o interrumpiendo las interacciones proteína–proteína necesarias para la activación del complejo. En este sentido, se ha propuesto que compuestos como la apocinina ejercen sus efectos inhibitorios al interferir con la activación dependiente de p47phox, lo que posiciona a NOX2 como un blanco potencial para el tratamiento de las alteraciones musculares asociadas a la diabetes. No obstante, el papel específico de NOX2 en la atrofia muscular diabética aún no está aclarado.

1.7 Ejercicio

La práctica regular del ejercicio físico ha sido ampliamente promovida por sus múltiples beneficios para la salud metabólica. En particular, el ejercicio aeróbico de intensidad moderada constituye una estrategia no farmacológica eficaz para la regulación y el control de la glucemia, así como para mejorar la sensibilidad a la insulina (Poblete-Aro et al., 2018; Onu et al., 2025). Diversos estudios han demostrado que el ejercicio regular induce respuestas adaptativas en el músculo esquelético que optimizan el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, incluso en reposo, lo que contribuye al mantenimiento de la homeostasis energética (Di Meo et al., 2017).

Durante la contracción muscular, el ejercicio incrementa de manera transitoria y controlada la producción de ERO a partir de múltiples fuentes celulares, incluidas las mitocondrias, la xantina oxidasa y las enzimas NOX (Henríquez-Olguín et al., 2019; Specht et al., 2021). En el músculo esquelético, las isoformas NOX2 y NOX4, localizadas en el sarcolema, los túbulos transversales y el retículo

sarcoplásmico, contribuyen de manera significativa a la generación de ERO, tanto en reposo como durante la contracción (Sakellariou et al., 2012; Powers et al., 2024). Lejos de representar un efecto deletéreo, esta producción moderada de ERO cumple un papel señalizador esencial en la regulación del equilibrio redox y en la activación de vías de señalización intracelular que modulan factores transcripcionales clave, como Nrf2, NF- κ B, AMPK y PGC-1 α , involucrados en la adaptación metabólica y mitocondrial inducida por el ejercicio (Zhou et al., 2024).

En este contexto, la actividad de NOX2 se reconoce como un componente central de la respuesta molecular al ejercicio, ya que participa en la regulación de la captación de glucosa durante el ejercicio aeróbico de intensidad moderada y en las adaptaciones inducidas tanto por estímulos agudos como por estímulos crónicos, incluyendo la remodelación y la biogénesis mitocondrial (Henríquez-Olguín et al., 2016; 2019). Estas adaptaciones contribuyen al aumento sostenido de la capacidad oxidativa del músculo esquelético y a la mejora de la eficiencia metabólica.

Existen distintas modalidades de ejercicio que inducen respuestas específicas en el músculo esquelético. El entrenamiento aeróbico se asocia con un aumento de la actividad de las enzimas oxidativas mitocondriales (Holloszy, 1967) y con mejoras en la sensibilidad a la insulina asociadas al envejecimiento (Lanza et al., 2008). Asimismo, la práctica continua de ejercicio regular potencia la biogénesis y los mecanismos de control de la calidad mitocondrial, como la mitofagia, la fisión y la fusión, aunque estos procesos han sido poco explorados (Joseph et al., 2016).

Evidencia sólida respalda que el ejercicio físico favorece el metabolismo lipídico al promover el transporte de ácidos grasos dietéticos desde los depósitos de almacenamiento hacia la oxidación mitocondrial, tanto en individuos con peso normal como en aquellos con sobrepeso. Este proceso se acompaña de un mayor recambio de triacilglicéridos intramusculares y de una reducción de la acumulación de intermediarios lipídicos bioactivos, como diacilglicerol y ceramidas, los cuales se han asociado con la resistencia a la insulina (Madan et al., 2024). Cabe destacar que el aumento en la utilización de glucosa por el músculo durante el ejercicio

requiere una regulación coordinada de la producción hepática de glucosa para evitar episodios de hipoglucemia. En este sentido, el ejercicio induce adaptaciones agudas y crónicas no solo en el músculo esquelético, sino también en el metabolismo hepático, lo que contribuye a la estabilidad de la glucemia durante y después del esfuerzo físico (Madan et al., 2024).

Por otro lado, el músculo esquelético también actúa como un órgano secretor activo durante el ejercicio, liberando una amplia variedad de mioquinas, vesículas extracelulares y metabolitos que pueden ejercer efectos autocrinos, paracrinos y endocrinos. Estas señales musculares participan en adaptaciones multisistémicas inducidas por el ejercicio que mejoran la salud metabólica; sin embargo, aunque se han identificado numerosos mediadores, las funciones específicas de muchos de ellos aún no se comprenden por completo (Hoffmann et al., 2017) (Véase la figura 3).

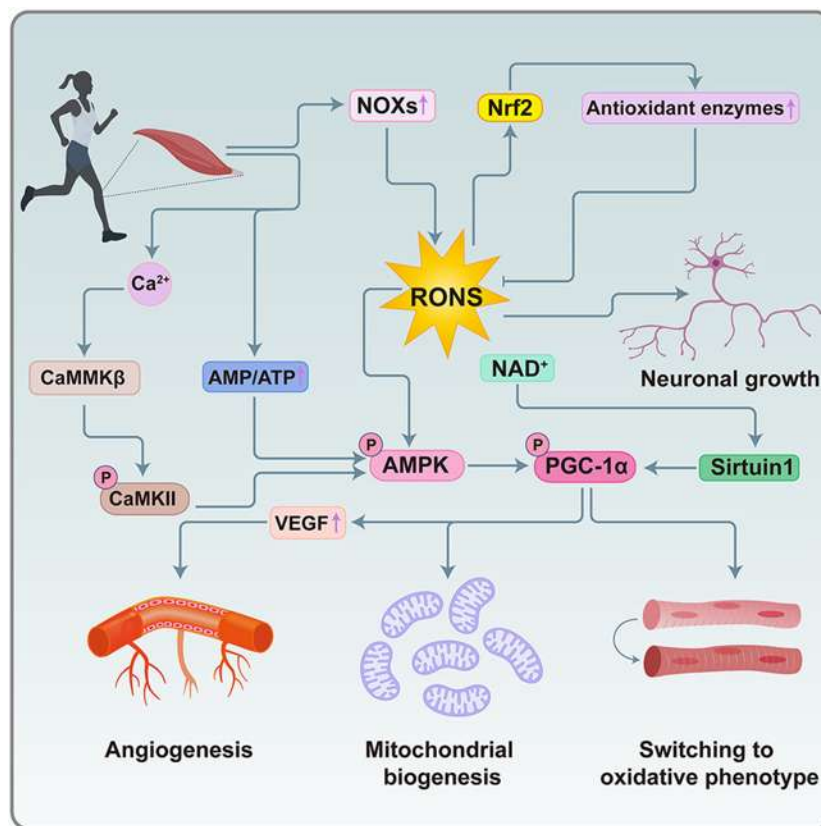


Imagen 3. Señalización redox y mecanismos de adaptación del músculo esquelético al ejercicio aeróbico (Tomada de Zhou et al., 2024).

1.8 Apocinina

La apocinina (4-hidroxi-3-metoxiacetofenona), también conocida como acetovanillona, es un compuesto fenólico aislado de la raíz de la planta medicinal *Picrorhiza kurroa*, una hierba perenne originaria del Himalaya. Diversos estudios en modelos animales y celulares han demostrado que la apocinina actúa como un inhibidor eficaz de la generación de ERO producidas por las enzimas NOX (Min et al., 2018; Du et al., 2018; Bravo-Sánchez et al., 2022). Debido a estas propiedades, la apocinina ha sido ampliamente utilizada en estudios experimentales, en los que ha demostrado un potencial terapéutico frente a diversas patologías y complicaciones asociadas a la diabetes, principalmente por sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Savla et al., 2021) (Véase la figura 4).

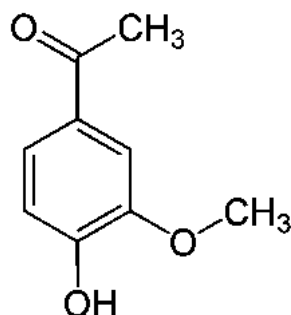


Imagen 4. Apocinina. La apocinina (4-hidroxi-3-metoxiacetofenona) es un catecol sustituido por metoxi derivado de la hierba medicinal *P. kurroa*. OH: hidroxilo; $-O-CH_3$: metoxilo; $CH_3-CO-CH_3$: acetona.

Entre los mecanismos propuestos mediante los cuales la apocinina ejerce sus efectos en las células musculares, se ha sugerido que su acción requiere una oxidación previa mediada por peroxidasas celulares, lo que genera intermediarios reactivos capaces de modificar covalentemente los grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína de la proteína reguladora activadora (RAI), particularmente en el sitio Cys196 de la subunidad p47phox. Esta modificación alteraría la capacidad de p47phox para interactuar con otras subunidades del complejo de la NADPH oxidasa y translocarse a la membrana plasmática, un paso crítico para el ensamblaje funcional de NOX2, inhibiendo así la liberación del anión superóxido mediada por esta enzima (Drummond et al., 2011).

En modelos experimentales, se ha observado que la apocinina reduce significativamente la hiperglucemia, la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina en ratones obesos inducidos por una dieta alta en grasas (HFD) (Meng et al., 2011). Asimismo, se ha demostrado que restaura la actividad de enzimas antioxidantes séricas, como la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD), en ratas diabéticas (Gimenes et al., 2018). Asimismo, se ha reportado que la apocinina mejora la sensibilidad a la insulina, atenúa el estrés oxidante y preserva la función mitocondrial en el músculo cardíaco de ratas diabéticas (Sánchez-Bravo et al., 2022).

En el músculo esquelético, la administración crónica de apocinina en ratones alimentados con una dieta alta en grasas ha demostrado mejorar significativamente la capacidad de ejercicio previamente limitada, así como revertir la disfunción mitocondrial (Yokota et al., 2009). De manera consistente, nuestro grupo de trabajo demostró previamente los efectos mioprotectores de la apocinina frente al estrés oxidante, al atenuar la disfunción muscular inducida por la diabetes tanto en músculos de contracción rápida como en los de contracción lenta, mediante la regulación de las vías de señalización del factor nuclear kappa B (NF-κB) y del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) (Sánchez-Duarte et al., 2022).

Sin embargo, aún no se ha investigado de manera integral el efecto combinado de la apocinina, como inhibidor de la NOX, y del ejercicio de intensidad moderada sobre la atrofia muscular diabética asociada a alteraciones del metabolismo lipídico en ratas diabéticas. Cabe destacar que la atrofia muscular diabética constituye una complicación poco explorada, pero con un impacto significativo en la funcionalidad y la calidad de vida de los pacientes con diabetes.

2. JUSTIFICACIÓN

La atrofia muscular observada en la diabetes mellitus se ha asociado con un aumento del almacenamiento de lípidos en el músculo esquelético, como consecuencia de una alteración de la señalización de la insulina y de un estado de estrés oxidante en el tejido. Esta condición conduce a una disfunción muscular, debilidad y una marcada intolerancia al ejercicio.

Aunque se ha documentado la participación de la NADPH oxidasa en el daño muscular diabético, aún no está claramente establecido si su inhibición mediante apocinina puede potenciar los efectos benéficos del ejercicio aeróbico moderado sobre la lipotoxicidad y la atrofia muscular. Asimismo, existe escasa evidencia sobre

la respuesta diferencial de músculos con distinto perfil metabólico, como el EDL y el sóleo, ante estas intervenciones.

Por lo tanto, evaluar el efecto combinado de la inhibición de NOX y el ejercicio moderado representa una aproximación novedosa para comprender los mecanismos implicados en la protección muscular durante la diabetes. Los resultados de este estudio podrían aportar evidencia preclínica relevante para el desarrollo de estrategias dirigidas a preservar la estructura y función del músculo esquelético y mejorar la funcionalidad metabólica en esta condición.

3. HIPÓTESIS

La inhibición de la NADPH oxidasa y el ejercicio de intensidad moderada reducen la lipotoxicidad, el estrés oxidante y la atrofia muscular en ratas diabéticas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y del ejercicio de intensidad moderada sobre la lipotoxicidad y la atrofia muscular en ratas con diabetes experimental.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio sobre el perfil lipídico plasmático en ratas diabéticas.
- Analizar el efecto del ejercicio y de la inhibición de la NOX sobre la atrofia del músculo esquelético en ratas diabéticas.
- Evaluar el efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio sobre el estrés oxidante en el músculo esquelético de ratas diabéticas.

- Analizar la implicación de la NOX en la expresión de genes reguladores de la masa muscular en el músculo esquelético de ratas diabéticas ejercitadas.
- Determinar la participación de la NOX en la lipotoxicidad durante la diabetes.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Experimentación con animales y aprobación ética

Para este estudio, se utilizaron ratas Wistar machos con un peso entre 230 y 250 g. Todos los animales se alojaron en un ambiente específico libre de patógenos, con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h a 22 ± 2 °C. Se les proporcionó alimento estándar para ratas y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos con los animales se llevaron a cabo de acuerdo con la Normativa Federal para el Uso y Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999), emitida por la Secretaría de Agricultura de México y aprobada por el Comité Institucional de Bioética y Bioseguridad del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Código-08-2022).

5.2 Determinación del tamaño de la muestra

Para determinar el tamaño de la muestra de este estudio, se utilizó la fórmula propuesta por Rojo-Amigo (2014). Como base para este cálculo, se consideraron resultados previos de nuestro grupo de trabajo en investigaciones anteriores, en las que se observó una incidencia del 80 % en la inducción de diabetes con estreptozotocina (STZ) (variable A), así como una incidencia del 80 % del cumplimiento del protocolo de entrenamiento (variable B).

Con base en estos antecedentes, se estableció que el número mínimo requerido (N) por grupo experimental fue de 5 animales. El cálculo del tamaño de muestra ajustado se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$X = N / [(A/100) \times (B/100)]$$

Donde:

X = número final de animales necesarios por grupo,

N = número mínimo de muestras para un análisis estadístico robusto (5),

A = tasa esperada de inducción de diabetes (80 %),

B = tasa esperada de cumplimiento del protocolo de entrenamiento (80 %).

Sustituyendo los valores:

$$X = 5 / [(0.8)(0.8)] = 5 / 0.64 = 7.81$$

Por lo tanto, se determinó que se requerían 8 ratas por grupo experimental. Este procedimiento de estimación se ajustó a las recomendaciones de las directrices ARRIVE 2.0 (Pierce et al., 2020). Y a los principios establecidos en la NOM-062-ZOO-1999, que establecen el uso del número mínimo de animales necesario para obtener resultados estadísticamente válidos, considerando la variabilidad esperada del modelo experimental.

5.3 Inducción de diabetes y diseño experimental

Tras este período de familiarización de las ratas con su entorno, se indujo la diabetes experimental mediante una dosis única de STZ. Tras 12 h de ayuno, se les indujo diabetes mediante una inyección intraperitoneal de STZ recién disuelto en buffer de citrato (0,1 M, pH 4,5; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) a una dosis de 60 mg/Kg de peso corporal. A las ratas de control (normoglucémicas) se les administró únicamente el buffer de citrato. Veinticuatro horas después de la inyección de STZ, se determinaron los niveles de glucosa en sangre con un glucómetro Accu-Check® Performa (Roche, Indianápolis, IN, EE. UU.). Solo las ratas con glucemia en ayunas ≥ 250 mg/dL se incluyeron en este estudio. Tras la confirmación de la diabetes, los animales se asignaron aleatoriamente a ocho grupos (n=8): ratas normoglucémicas (C), ratas normoglucémicas tratadas con apocinina (A), ratas ejercitadas (E), ratas ejercitadas tratadas con apocinina (EA),

ratas diabéticas no tratadas (D), ratas diabéticas tratadas con apocinina (DA), ratas diabéticas ejercitadas (DE) y ratas diabéticas ejercitadas tratadas con apocinina (DEA). Durante ocho semanas, se administró apocinina diariamente a una dosis de 3 mg/kg de peso corporal (vehículo: dimetilsulfóxido al 0.1 %), por vía intraperitoneal. Se evaluaron semanalmente las variaciones del peso corporal y de la glucosa.

5.4 Eutanasia y preparación de tejidos

Una vez finalizado el tratamiento, los animales de todos los grupos permanecieron en ayunas durante 8 h y fueron sacrificados mediante decapitación rápida. Este método se seleccionó para evitar el uso de anestésicos que pudieran interferir con los efectos farmacológicos de la apocinina o alterar los parámetros redox y metabólicos del músculo esquelético. Inmediatamente después de la decapitación, se tomaron muestras de sangre para determinar el perfil lipídico. Posteriormente, se diseccionaron cuidadosamente los músculos EDL y el sóleo de ambas extremidades. Una porción de cada músculo se fijó de inmediato en paraformaldehído al 10 % a temperatura ambiente para su análisis morfológico, mientras que la porción restante se almacenó a -80°C hasta su posterior procesamiento, que incluyó la cuantificación de triglicéridos intramusculares, la evaluación de la peroxidación lipídica y el análisis de la expresión de ARNm mediante RT-qPCR.

5.5 Protocolo de ejercicio

Las ratas realizaron ejercicio en una cinta de correr Centurfit®, equipada con una cámara acrílica dividida en ocho carriles individuales y con sensores de movimiento que emitían estímulos suaves de aire comprimido cuando era necesario para promover el desplazamiento. Los animales fueron condicionados progresivamente para evitar dicho estímulo, sin presentar signos observables de angustia. Con el fin

de minimizar el estrés biomecánico y estandarizar la carga mecánica, la cinta se mantuvo con una inclinación constante de 0°. Previo al inicio de la fase experimental, las ratas fueron sometidas a un período de familiarización de 2 días en la cinta fija (1 h/día). Posteriormente, se realizó una fase de acondicionamiento de cuatro días, durante la cual la velocidad y la duración del ejercicio se incrementaron progresivamente de 10 a 15 m/min (5–20 min/día), con el objetivo de reducir el estrés y facilitar la adaptación al ejercicio (Aoyagi et al., 2021; Araki et al., 2024).

El programa de entrenamiento aeróbico fue diseñado como un protocolo de intensidad moderada, basado en velocidades previamente reportadas que corresponden aproximadamente al 60–70 % del consumo máximo de oxígeno ($VO_{2\text{máx}}$) en ratas Wistar adultas sin inclinación (Bedford et al., 1979; Armstrong et al., 1983; Powers & Howley, 2018). El protocolo consistió en una fase inicial de 5 min a 15 m/min, seguida de una fase central de 20 min a 20 m/min y de una fase final de 5 min a 15 m/min, con una duración total de 30 min por sesión.

El entrenamiento se llevó a cabo durante 8 semanas, 5 días por semana (de lunes a viernes), en un horario fijo (17:00–18:00 h). Todos los animales completaron el mismo volumen total de ejercicio y no se registraron exclusiones, ya que ninguno presentó signos de fatiga excesiva ni incapacidad para completar las sesiones.

5.6 Perfil lipídico

El suero se obtuvo mediante centrifugación de muestras de sangre a 4500 rpm durante 5 minutos (centrífuga Thermo Scientific Sorvall RC 6+, St. Louis, MO, EE. UU.). Posteriormente, los niveles séricos de triacilglicéridos, colesterol total y lipoproteínas de alta densidad (HDL) se determinaron mediante un sistema automatizado Fujifilm NX500i (Tokio, Japón). Las concentraciones de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) se estimaron mediante

fórmulas derivadas del modelo de Friedewald ($VLDL = \text{triacilglicéridos}/5$; $LDL = \text{colesterol total} - [\text{HDL} + VLDL]$) (Islam et al., 2022).

Las ecuaciones fueron originalmente desarrolladas para suero humano; su aplicación en modelos animales se considera una aproximación indirecta; sin embargo, han sido ampliamente utilizadas en estudios experimentales con roedores para estimar el perfil lipoproteico en ausencia de métodos directos (Bauer et al., 2010; Dias et al., 2018). Por lo tanto, los valores obtenidos deben interpretarse teniendo en cuenta esta limitación metodológica.

5.7 Medición de la actividad de la NADPH oxidasa

La actividad de la NADPH oxidasa se determinó mediante la evaluación de la reducción del citocromo c, con algunas modificaciones respecto del método descrito por Someya et al. (1997). Se utilizaron 0.5 mg/mL de homogeneizado de los músculos EDL y sóleo, que se resuspendieron en un medio que contenía NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na_2HPO_4 8.1 mM y KH_2PO_4 1.5 mM (pH 7.4). La mezcla de ensayo se incubó en presencia de KCN (1 mM), antimicina A (1 μg), rotenona (1 mM) y TTFA (1 mM). Después de 5 minutos, se añadieron CaCl_2 (1 mM) y MgCl_2 (1 mM) y se continuó la incubación durante 5 minutos adicionales. Posteriormente, se agregó citocromo c (60 μM) y se registró la absorbancia a 550 nm durante 1 minuto en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2550. A continuación, se añadió NADPH y se monitoreó la reacción durante 4 minutos. La reacción se detuvo mediante la adición de difenileneiodonio (DPI), un inhibidor de la NADPH oxidasa.

La actividad enzimática se calculó como la diferencia entre las pendientes del trazos en presencia de NADPH y de DPI, utilizando un coeficiente de extinción molar de $21 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ para el citocromo c.

5.8 Contenido de triacilglicéridos musculares

El contenido de triacilglicéridos musculares se determinó a partir de muestras homogeneizadas de los músculos EDL y del sóleo, utilizando el método descrito por Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía (2012), con algunas modificaciones. Las muestras se ajustaron a una concentración de 0.5 mg de proteína y se resuspendieron en 1 mL de una solución de Triton X-100 al 5 % preparada en tampón PBS. Posteriormente, las muestras se incubaron en un baño de agua a 60 °C durante 5 minutos y se enfriaron gradualmente hasta alcanzar la temperatura ambiente. A continuación, se centrifugaron a 13 300 rpm durante 15 minutos. La concentración de triacilglicéridos se cuantificó en el sobrenadante mediante un kit comercial (Spinreact, BSIS49-E, Sant Esteve de Bas, España).

5.9 Análisis histológico muscular

Las muestras de músculo esquelético de los músculos EDL y del sóleo se fijaron en paraformaldehído al 10 % y, posteriormente, se incluyeron en parafina. Se obtuvieron cortes transversales de 5 µm de espesor utilizando un micrótomos (Leica, Wetzlar, Alemania), los cuales se tiñeron con hematoxilina-eosina (H&E) para su análisis histológico (Villa Villaseñor et al., 2022). Para el análisis morfométrico, se seleccionaron aleatoriamente 12 campos transversales por animal, distribuidos a lo largo de cada músculo. Las imágenes se adquirieron mediante fotomicrografía digital a un aumento de 400x con un microscopio Leica DM3000. El área de la sección transversal (AST) de las fibras musculares se determinó manualmente con el software ImageJ (NIH, versión 1.54).

En cada animal, se analizaron al menos 50 fibras musculares por cada tipo de músculo, obtenidas de cuatro campos representativos (0.31 mm² cada uno), seleccionados con base en criterios de calidad histológica: ausencia de artefactos, cortes transversales adecuados y fibras con morfología poligonal u ovalada bien definida. El análisis se realizó de manera ciega respecto al grupo experimental para minimizar sesgos.

5.10 Determinación de la peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica en el músculo esquelético se evaluó mediante la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), empleadas como marcadores de daño oxidativo en homogenados de los músculos EDL y del sóleo. El procedimiento se realizó según el método descrito por Ratajczak-Wrona et al. (2013), con algunas modificaciones. La concentración de proteína en los homogenados musculares se determinó previamente mediante el método de Biuret (Gornall et al., 1949), utilizando albúmina sérica bovina como estándar, para normalizar los resultados. Posteriormente, los homogenados se ajustaron a una concentración de 0.5 mg/mL y se resuspendieron en 1 mL de tampón fosfato (50 mM KH_2PO_4 , pH 7.6). A continuación, se añadieron 2 mL de una solución ácida compuesta por ácido tricloroacético, ácido tiobarbitúrico y ácido clorhídrico. Las muestras se incubaron en baño María durante 30 minutos y posteriormente, se enfriaron en hielo durante 5 minutos. Después, se centrifugaron a 7500 rpm durante 5 minutos y se midió la absorbancia del sobrenadante a 532 nm en un espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 18 UV/Vis. Los resultados se expresaron como picomoles de TBARS por miligramo de proteína (pmol TBARS/mg de proteína).

5.11 Aislamiento de ARN y RT-qPCR para el análisis de la expresión de ARNm

El ARN total se aisló a partir de muestras musculares de los músculos EDL y sóleo, siguiendo el protocolo del reactivo TRIzol (TRI Reagent, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.), descrito originalmente por Chomczynski y Sacchi (2006), con modificaciones menores. La cantidad y la pureza del ARN se evaluaron espectrofotométricamente mediante la determinación de la relación de absorbancia 260/280 con un BioPhotometer (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). De acuerdo con las instrucciones del fabricante, el ADN complementario (cADN) se sintetizó a partir de 2 µg de ARN total mediante un kit comercial de síntesis de cADN (QIAGEN,

Hilden, Alemania). Posteriormente, el análisis de la expresión génica se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa (RT-qPCR), conforme al método descrito previamente por nuestro grupo (Sánchez-Duarte et al., 2022). La tabla 1 muestra las secuencias de los cebadores utilizados. La expresión relativa de los genes de interés se calculó mediante el método comparativo del umbral de ciclo ($\Delta\Delta CT$), descrito por Livak y Schmittgen (2001), empleando el gen 18S como control endógeno.

Tabla 1. Secuencias de los cebadores empleados en la RT-qPCR.

<i>Genes</i>	<i>Secuencias de cebadores</i>
MuRF-1	Sentido: 5'-GAAGTGATCATGGACCGGCA-3'
	Antisentido: 5'-ACAAGGAGCAAGTAGGCACC-3'
Atrogin-1	Sentido: 5'-AGCTTGTCGATGTTACCCA-3'
	Antisentido: 5'-GGTGAAAGTGAGACGGAGCA-3'
Miostatina	Sentido: 5'-ATCACGCTACCACGGAAACA-3'
	Antisentido: 5'-AGCTGGGCCTTTACCACTTT-3'
Folistatina	Sentido: 5'-TGTGAAGACATCCAGTGCGG-3'
	Antisentido: 5'-TCCGAGATGGAGTTGCAAGA-3'
PGC-1 α	Sentido: 5'-GAGGACACGAGGAAAGGAAGACT-3'
	Antisentido: 5'-ACTGGCTTGAATCTGTGGAAGAAC-3'
p47phox	Sentido: 5'-CTTCATTCGCCACATCGCCCTCC-3'
	Antisentido: 5'-CACCTTCTCCGACAGGTCCTGCC-3'
18s	Sentido: 5'-GCAAATTACCCACTCCCGAC-3'
	Antisentido: 5'-CCGCTCCCAAGA TCCAATA-3'

5.12 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software GraphPad Prism versión 10.3.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE. UU.). La normalidad de los datos se

evaluó mediante la prueba de Shapiro–Wilk. Posteriormente, los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, considerando como factores independientes el tratamiento con apocinina (ausencia/presencia) y el ejercicio (sedentario/entrenado). Se evaluaron tanto los efectos principales de cada factor como su interacción, con el propósito de determinar posibles efectos combinados entre ambas intervenciones. Cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Los resultados se expresan como media $\pm$ error estándar de la media (EEM). Se consideró diferencia estadísticamente significativa cuando $p \leq 0.05$.

6.RESULTADOS

6.1 Efecto de la apocinina y del ejercicio de intensidad moderada sobre la glucemia y el perfil lipídico

Se evaluó el efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio aeróbico de intensidad moderada sobre los niveles de glucosa en ayuno (figura 1A). El grupo diabético presentó una hiperglucemia marcada (447 ± 68.2 mg/dL) en comparación con el grupo control (73.5 ± 2.96 mg/dL; $p = 0.0002$), lo que confirma el establecimiento del modelo experimental de diabetes. En comparación con el grupo diabético no tratado, se observó una disminución significativa de la glucemia en los grupos diabéticos tratados con apocinina (152.3 ± 43.95 mg/dL; $p \leq 0.05$), con ejercicio ($p = 0.0018$) y con ejercicio más apocinina ($p \leq 0.05$).

El perfil lipídico se presenta en las figuras 1B–F. En comparación con el grupo control, las ratas diabéticas mostraron un aumento significativo en los niveles de triglicéridos, colesterol total y VLDL ($p \leq 0,05$), lo que evidencia una dislipidemia diabética. La administración de apocinina y el ejercicio, de manera individual y combinada, previnieron este aumento y mostraron valores cercanos a los del grupo de control. En particular, los niveles de triglicéridos se redujeron significativamente en los grupos DA ($p \leq 0,05$), DE ($p \leq 0,05$) y DEA ($p = 0,003$) (figura 1B); el colesterol

total disminuyó en los grupos DA y DEA ($p \leq 0,05$) (figura 1C), mientras que los niveles de VLDL se redujeron en los grupos DA ($p = 0,0002$) y DE ($p = 0,0001$) (figura 1D). No se observaron cambios significativos en los niveles de LDL ni de HDL entre los grupos experimentales (figuras 1E y 1F). En conjunto, estos resultados sugieren un efecto hipolipemiante de los tratamientos, especialmente cuando se combinan el ejercicio y la inhibición de la NOX.

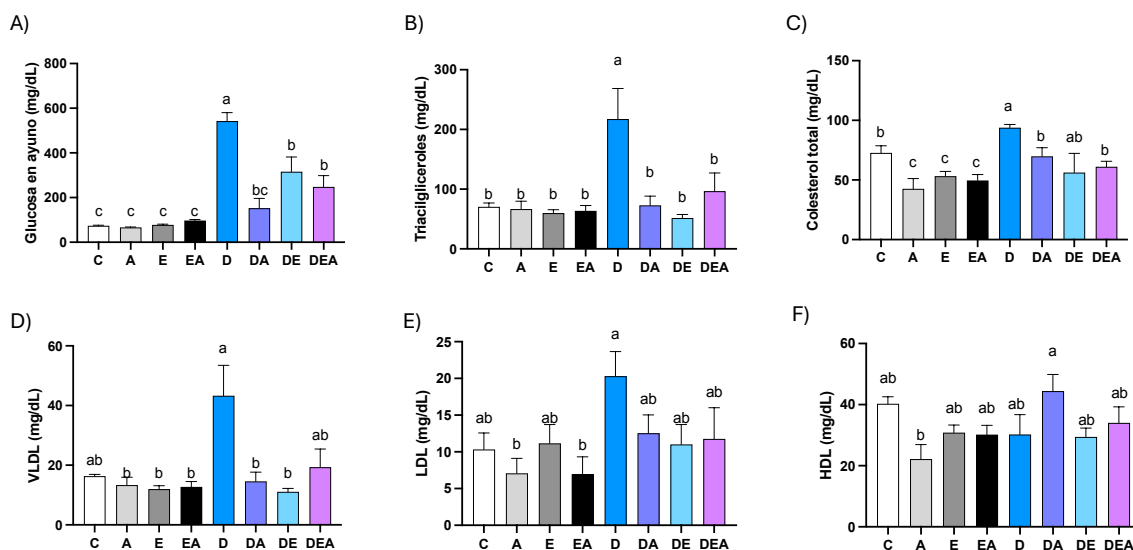


Figura 1. Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y del ejercicio de intensidad moderada sobre los biomarcadores metabólicos. (A) Glucosa, (B) Triglicéridos, (C) Colesterol total, (D) VLDL: lipoproteína de muy baja densidad, (E) LDL: lipoproteína de baja densidad, y (F) HDL: lipoproteína de alta densidad. C = grupo de control; A = grupo de apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM ($n = 8$ por grupo). * $p < 0,05$

6.2 Efecto de la apocinina y del ejercicio de intensidad moderada sobre el peso corporal y la masa muscular

El grupo diabético mostró una reducción significativa del peso corporal (231.7 ± 8.58 g) en comparación con el grupo control (391.8 ± 10.68 g; $p = 0.0001$) (figura 2A). Esta pérdida de peso se revertió únicamente en el grupo diabético tratado con

apocinina, que presentó un aumento significativo del peso corporal ($309,0 \pm 22,38$ g; $p = 0,0050$) respecto al grupo diabético no tratado. Los grupos sanos tratados con apocinina, con ejercicio o con su combinación no mostraron cambios significativos en este parámetro.

El peso muscular se redujo significativamente en las ratas diabéticas tanto en el músculo sóleo (figura 2B) como en el EDL (figura 2C) ($p = 0,0002$ y $p = 0,0001$, respectivamente). El tratamiento con apocinina incrementó el peso muscular en ratas diabéticas en un 51,3 % en el EDL ($p = 0,0300$) y en un 78,2 % en el sóleo ($p = 0,0210$), mientras que la combinación de ejercicio y apocinina no produjo cambios significativos en el peso muscular húmedo. Al analizar la relación peso muscular/peso corporal, se observó una disminución significativa del peso muscular en el grupo diabético en comparación con el grupo control ($p \leq 0,05$). De manera relevante, la combinación de ejercicio y apocinina incrementó esta relación en un 69,27 % en las ratas diabéticas ($p \leq 0,05$) (figura 2D), mientras que en el músculo sóleo no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales (figura 2E).

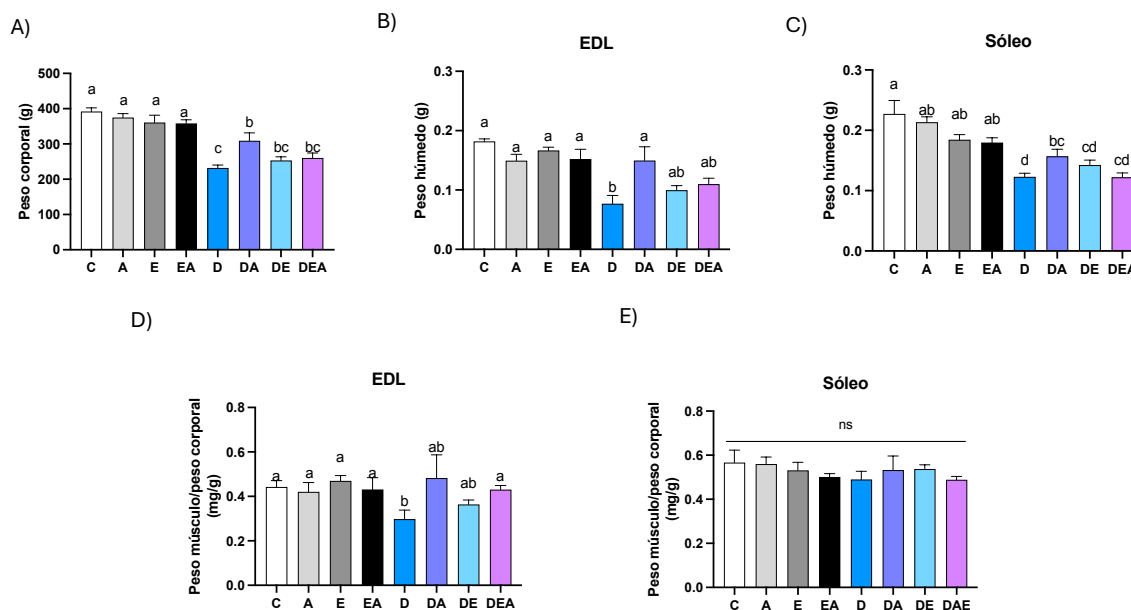


Figura 2. Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y del ejercicio de intensidad moderada sobre el peso corporal (A), el peso del músculo EDL (B), el peso del músculo sóleo (C), el peso normalizado del músculo EDL respecto al peso corporal (D) y la relación entre el peso del músculo sóleo y el peso corporal (E). C = grupo de control; A = grupo de apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM (n = 8 por grupo). * $p < 0,05$

6.3 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada sobre la actividad de la NADPH oxidasa

La actividad de la NOX se evaluó mediante la reducción del citocromo c (figura 3). En el músculo EDL, las ratas diabéticas mostraron un incremento significativo de la actividad de la NOX en comparación con el grupo control ($p = 0.0003$). Esta actividad se redujo significativamente en el grupo diabético ejercitado (DE) ($p \leq 0.05$; -23.9%) y de forma más pronunciada en el grupo diabético tratado con ejercicio más apocinina (DEA) ($p = 0.0056$; 33.0%) (figura 3A). En contraste, en el músculo sóleo no se observaron diferencias significativas en la actividad de NOX entre los distintos grupos experimentales (figura 3B).

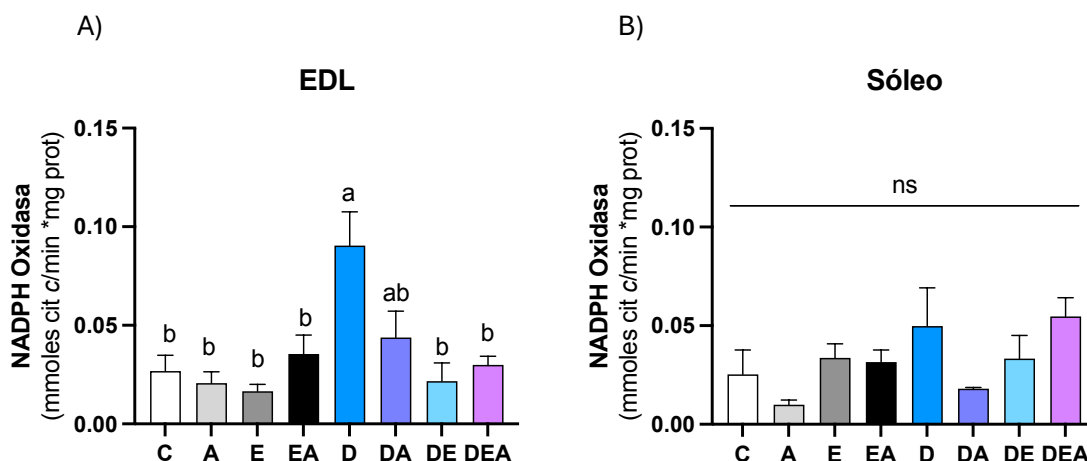


Figura 3. Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre la actividad enzimática de la NADPH oxidasa. Músculo EDL (A) y sóleo (B). C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM (n = 8 por grupo). * $p < 0,05$

6.4 La inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada disminuyen la peroxidación lipídica en músculo esquelético

Los niveles de TBARS, como indicador de la peroxidación lipídica, se muestran en la figura 4. Se observó un aumento significativo de los TBARS en los músculos EDL y sóleo de ratas diabéticas en comparación con el grupo control ($p = 0,0020$). El tratamiento con apocinina previno este incremento, reduciendo los niveles de TBARS en un 28,8 % en el EDL ($p = 0,0001$) y en un 46,1 % en el sóleo ($p = 0,0116$). El ejercicio redujo la peroxidación lipídica en el músculo EDL ($-31,6$ %; $p \leq 0,05$), pero no en el músculo sóleo. La combinación de ejercicio y apocinina disminuyó significativamente los niveles de TBARS tanto en el EDL ($-30,0$ %; $p \leq 0,05$) como en el sóleo ($-47,89$ %; $p = 0,0053$). En los grupos sanos, ni la apocinina ni el ejercicio modificaron de manera significativa los niveles de TBARS.

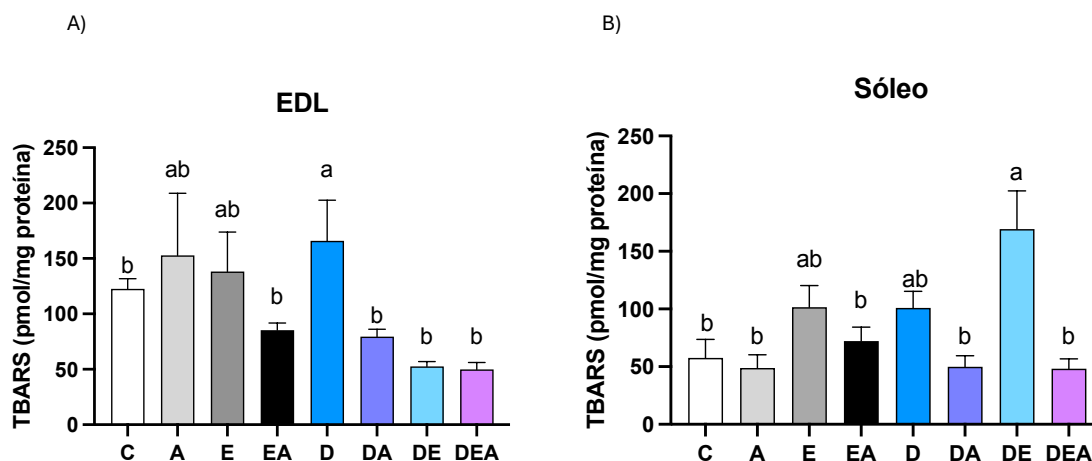


Figura 4. Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en (A) EDL y (B) Sóleo. C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM (n = 8 por grupo). * $p < 0,05$

6.5 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada sobre el área de la sección transversal de las fibras musculares

El análisis histológico reveló una reducción significativa del área de sección transversal (AST) en los músculos EDL y sóleo del grupo diabético, en comparación con el grupo control ($p = 0.0008$ y $p = 0.0004$, respectivamente) (figura 5). El tratamiento con apocinina aumentó el AST en el músculo EDL ($p = 0,0112$), sin efectos significativos en el músculo sóleo. El ejercicio incrementó el AST en ratas diabéticas tanto en el EDL ($p = 0,0084$) como en el sóleo ($p = 0,0018$). De manera consistente, la combinación de ejercicio con inhibición de la NOX mostró un efecto significativo sobre el AST en ambos músculos (EDL: $p \leq 0,05$; sóleo: $p = 0,0031$).

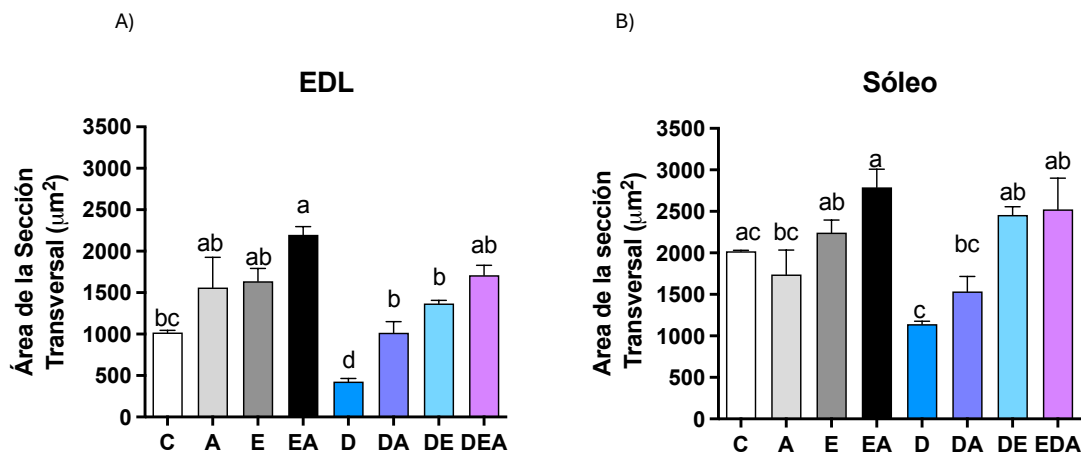


Figura 5 . Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre la morfología muscular. Se observaron cambios morfológicos en el músculo EDL (A) y el músculo sóleo (B) en el área de sección transversal (μm^2) Barra de escala: 50 μm . Las fibras musculares (teñidas de rosa) presentan tamaños homogéneos en cada grupo experimental. Se observa tejido conectivo en el perimio (flechas blancas) y en el endomio (punta de flecha blanca). Los núcleos (tinción en púrpura oscura) se encuentran en la periferia de las fibras musculares (flechas negras). C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM ($n = 8$ por grupo). * $p < 0,05$.

6.6 Efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de moderada intensidad sobre el tamaño de las fibras musculares del músculo EDL y sóleo

El análisis histológico del músculo EDL mostró diferencias morfológicas entre los grupos experimentales (Figura 6). En los grupos control, apocinina, ejercicio y ejercicio + apocinina se observó una organización regular de las fibras musculares, con contornos bien definidos y tamaño relativamente homogéneo. En contraste, el grupo diabético presentó mayor heterogeneidad en el tamaño de las fibras, con presencia de fibras de menor diámetro y espacios interfibrilares más evidentes. En los grupos diabéticos sometidos a tratamiento (DA, DE y DEA) se observó una mejor

conservación de la arquitectura muscular respecto al grupo diabético, con una disposición más uniforme de las fibras musculares. En todos los grupos, los núcleos se localizaron predominantemente en la periferia de las fibras y se identificó tejido conectivo correspondiente al endomisio y perimisio.

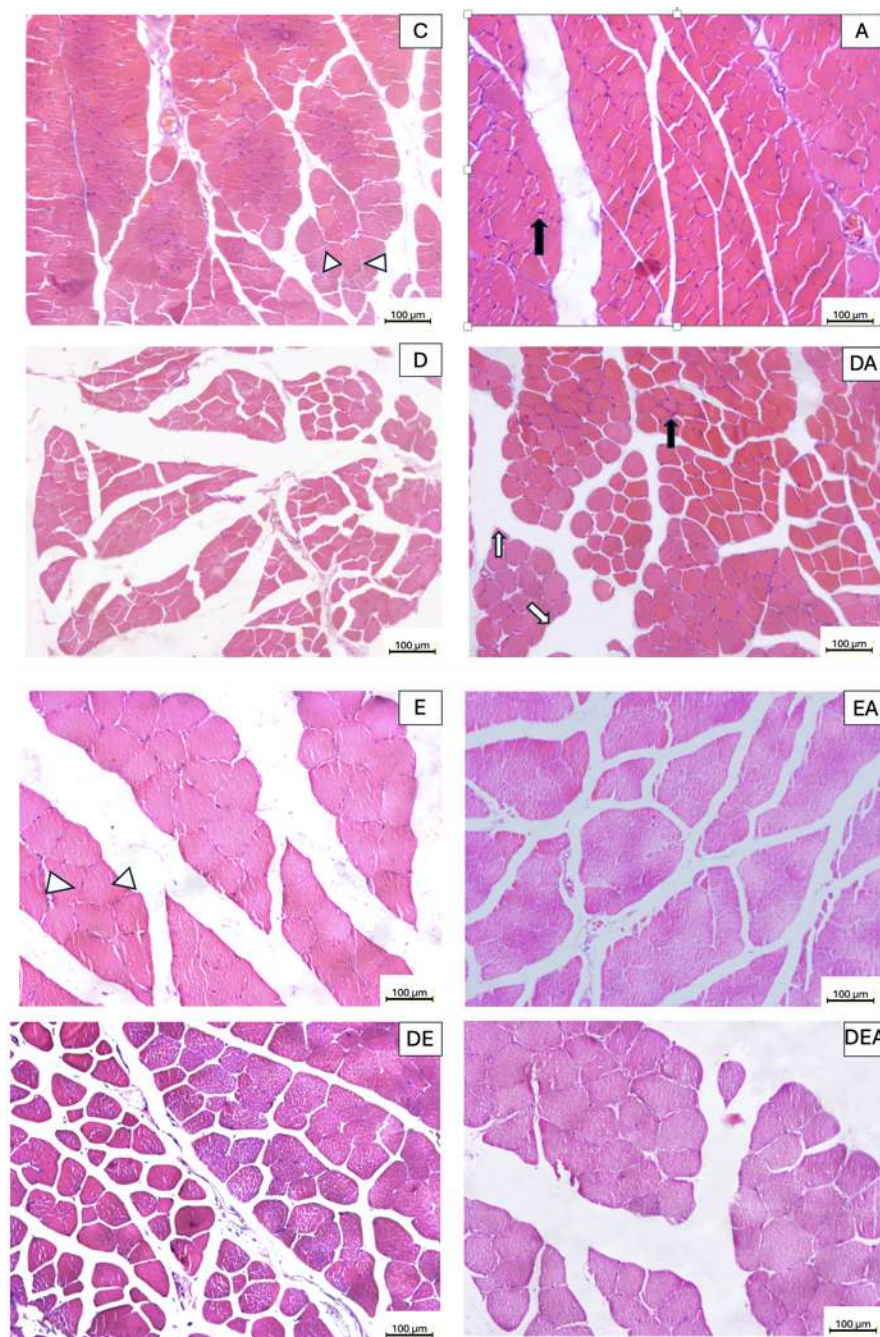
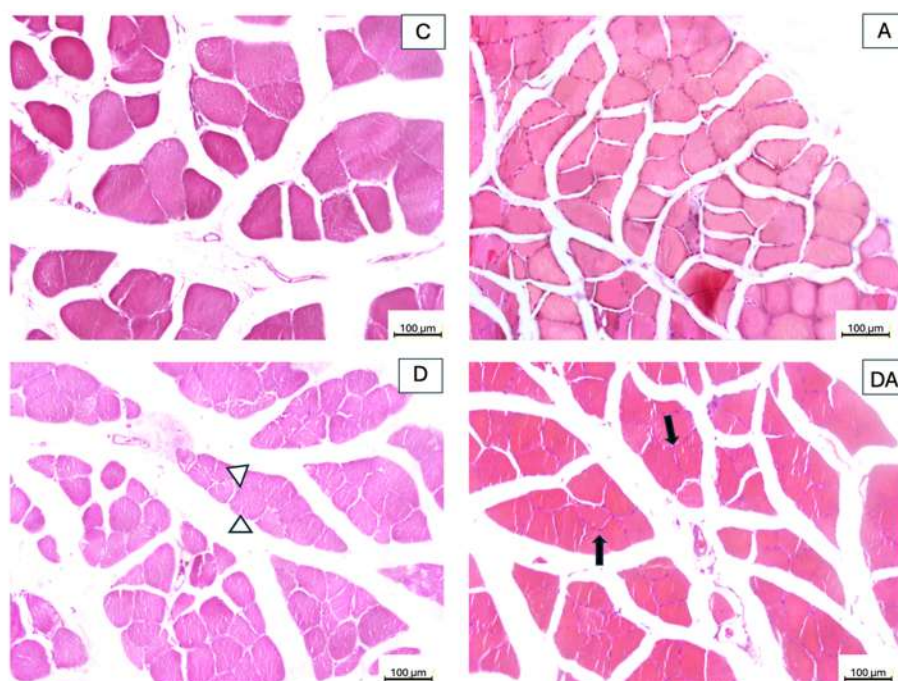


Figura 6. Cambios morfológicos en el músculo EDL. Barra de escala, 100 μ m. Las fibras musculares (teñidas de rosa) presentan tamaños homogéneos en cada grupo experimental. Se observa tejido conectivo en el perimysio (**flechas blancas**) y en el endomisio (**punta de flecha blanca**). Los núcleos (**tinción en púrpura oscura**) se encuentran en la periferia de las fibras musculares (**flechas negras**). C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina.

El análisis histológico del músculo sóleo mostró una organización general conservada de las fibras musculares entre los distintos grupos experimentales (Figura 7). En los grupos no diabéticos se observó una disposición regular de las fibras, con contornos bien definidos y distribución relativamente homogénea. En contraste, el grupo diabético presentó mayor variabilidad en el tamaño de las fibras, así como un aparente incremento de los espacios interfibrilares y presencia de vacuolización compatible con acumulación lipídica. En los grupos diabéticos sometidos a tratamiento (DA, DE y DEA) se observó una mejor preservación de la arquitectura muscular, con fibras de disposición más uniforme en comparación con el grupo diabético. En todos los grupos, los núcleos se localizaron predominantemente en la periferia de las fibras musculares.



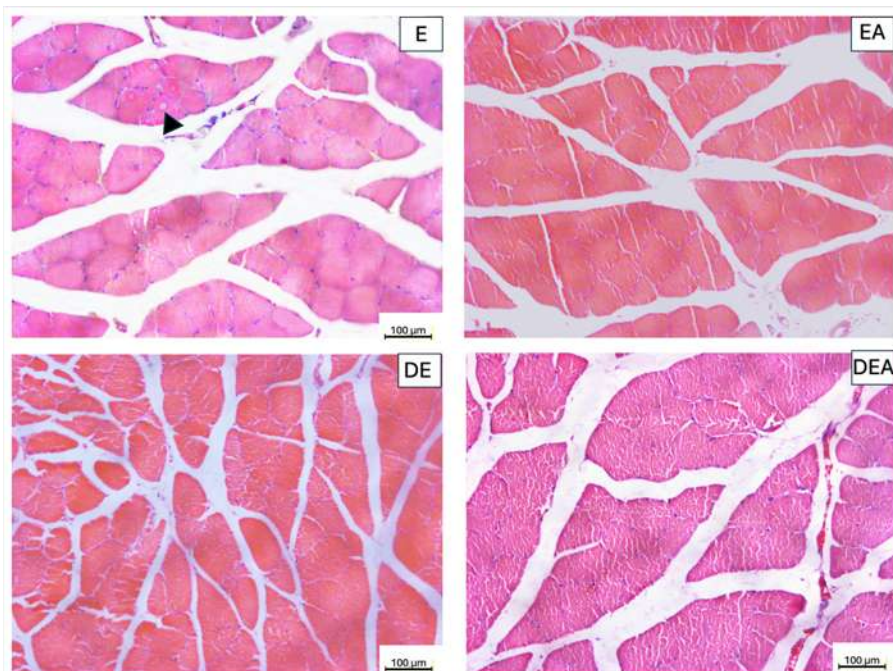


Figura 7. Cambios morfológicos en el músculo sóleo. Barra de escala, 100 μ m. Las fibras musculares (teñidas de rosa) presentan tamaños homogéneos en cada grupo experimental. Se observa tejido conectivo en el perimysio (**flechas blancas**), en el endomisio (**punta de flecha blanca**) y áreas de vacuolización compatibles con acumulación lipídica (**puntas negras**). Los núcleos (**tinción en púrpura oscura**) se encuentran en la periferia de las fibras musculares (**flechas negras**). C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina.

6.7 La inhibición de la NOX y el ejercicio reducen el contenido de triacilglicéridos intramusculares

El contenido de triacilglicéridos intramusculares se muestra en la figura 8. En el músculo EDL, las ratas diabéticas presentaron un aumento significativo en

comparación con el grupo control ($p < 0.05$). Este incremento se redujo con el tratamiento con apocinina ($p < 0.05$) y, de forma más marcada, con la combinación de ejercicio y apocinina ($p < 0.05$). En el músculo sóleo no se observaron cambios significativos asociados a la diabetes; sin embargo, el grupo sano ejercitado presentó un aumento en la acumulación de triglicéridos, que se revertió con la administración de apocinina ($p = 0,008$), lo que sugiere un posible papel de la NOX en la regulación del metabolismo lipídico en condiciones de ejercicio en este músculo.

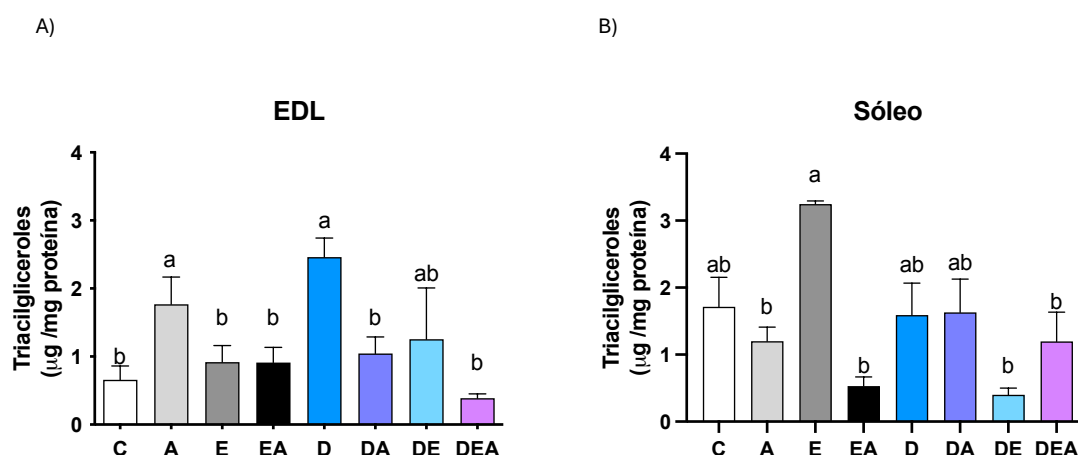


Figura 8. Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre el contenido intramuscular de triglicéridos en ratas diabéticas, tanto en el músculo EDL (A) como en el músculo sóleo (B). La inhibición de la NOX redujo significativamente el contenido intramuscular de triglicéridos en el músculo EDL de ratas diabéticas ejercitadas. C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM ($n = 8$ por grupo). * $p < 0,05$

6. 8 Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de moderada intensidad sobre la expresión génica de reguladores de la masa muscular y de la capacidad oxidativa en el músculo esquelético de ratas diabéticas

Los cambios en la expresión génica se evaluaron mediante RT-qPCR en músculos esqueléticos de contracción rápida (EDL) y de contracción lenta (sóleo), como se

muestra en la Figura 9. En el grupo diabético se observó un aumento significativo en la expresión de los atrogenes MuRF-1 (Figura 9A) y Atrogin-1 (Figura 9B) en ambos músculos en comparación con el grupo control. Específicamente, los niveles de MuRF-1 fueron mayores en EDL ($p = 0.0221$) y en el sóleo ($p = 0.0001$), mientras que Atrogin-1 mostró incrementos significativos en EDL ($p = 0.0042$) y en el sóleo ($p = 0.0062$). El tratamiento con apocinina redujo significativamente la expresión de ambos atrogenes en comparación con el grupo diabético. En el caso de MuRF-1, se observó una disminución del 24,6 % en EDL ($p = 0,0001$) y del 18,6 % en el sóleo ($p = 0,0001$). Para Atrogin-1, la reducción fue del 33,1 % en EDL ($p = 0,0336$) y del 47,7 % en el sóleo ($p = 0,0062$). Por su parte, la combinación de ejercicio e inhibición de NOX disminuyó significativamente la expresión de MuRF-1 en ambos músculos, con reducciones del 25,25 % en EDL ($p < 0,05$) y del 25,53 % en el sóleo ($p = 0,0001$) en comparación con el grupo diabético. En cuanto a Atrogin-1, esta combinación solo redujo significativamente su expresión en el músculo sóleo (19,16 %; $p = 0,0001$), mientras que en el EDL no se observaron cambios significativos respecto al grupo diabético.

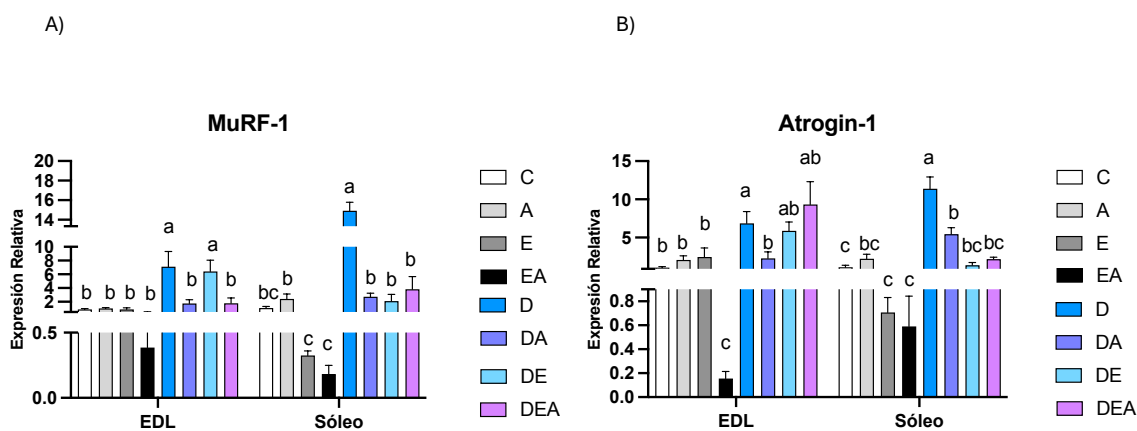


Figura 9. Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de expresión de ARNm de MuRF-1 (A) y Atrogin-1 (B) en los músculos EDL y sóleo. C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D =

grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM (n = 8 por grupo) * $p < 0,05$.

En la figura 10A, la expresión del ARNm de miostatina aumentó significativamente en el grupo diabético tanto en el músculo EDL (33.6 %; $p = 0.0335$) como en el músculo sóleo (32,9 %; $p = 0,0112$) en comparación con el grupo control. La inhibición de NOX2 mediante apocinina redujo significativamente los niveles de miostatina en el EDL (43,3 %; $p < 0,05$) respecto al grupo diabético; sin embargo, ni el ejercicio ni su combinación con la inhibición de NOX2 modificaron la expresión de miostatina en ninguno de los dos músculos. En cuanto a la folistatina (figura 10B), se observó un aumento significativo de su expresión en el grupo tratado con apocinina (23 %; $p = 0,0038$) en comparación con el grupo control. En el músculo EDL del grupo diabético se observó una disminución significativa de la expresión ($p < 0,05$) en comparación con el grupo control. En contraste, el grupo diabético tratado con apocinina mostró un incremento significativo de folistatina en el EDL (22 %; $p = 0,0271$), que no se observó en el sóleo. Ni el ejercicio ni su combinación con la inhibición de NOX2 produjeron cambios significativos en la expresión de folistatina en ambos músculos en comparación con el grupo diabético.

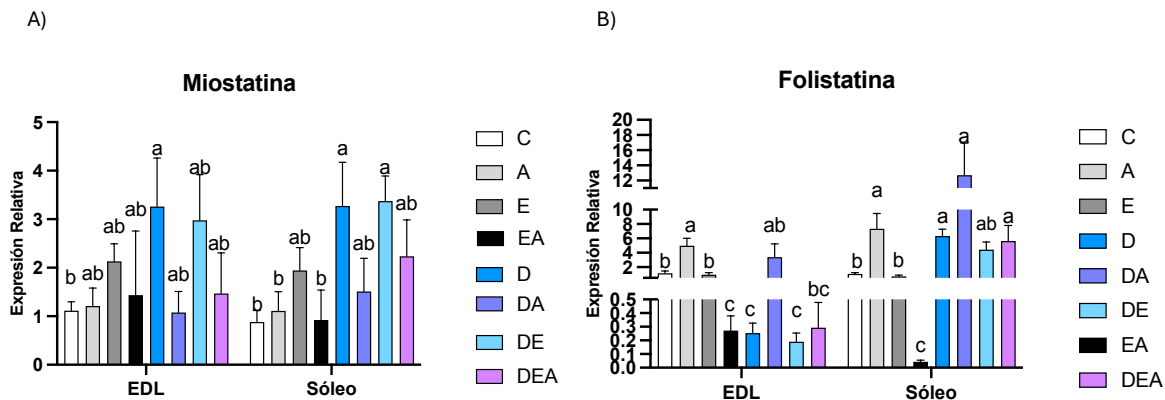


Figura 10. Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de expresión de los ARNm de *miostatina* (A) y de *folistatina* (B) en los músculos EDL y sóleo. C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM (n = 8 por grupo). * $p < 0,05$

También se evaluaron los cambios en la expresión del ARNm de PGC-1 α (figura 11A). El grupo diabético mostró una disminución significativa de PGC-1 α tanto en el músculo EDL (50,3 %; $p = 0,0033$) como en el músculo sóleo (47 %; $p = 0,0002$) en comparación con el grupo control. El tratamiento con apocinina incrementó significativamente la expresión de PGC-1 α en el EDL (33,3 %; $p = 0,0210$) y en el sóleo (11,1 %; $p = 0,0445$) respecto al grupo diabético. De manera similar, la combinación de ejercicio e inhibición de NOX aumentó significativamente su expresión en el EDL (32,91 %; $p < 0,05$) y en el sóleo (5,59 %; $p = 0,0013$) en comparación con el grupo diabético. Por otra parte, la expresión del ARNm de p47phox (figura 11B) aumentó significativamente en el grupo diabético en ambos músculos en comparación con el grupo control ($p < 0,05$). El tratamiento con apocinina redujo la expresión de p47phox en el músculo sóleo en un 49,9 % ($p =$

0,0305) respecto al grupo diabético, mientras que en el EDL no se observaron diferencias significativas. Asimismo, la combinación de ejercicio y apocinina disminuyó significativamente la expresión de p47phox tanto en el EDL ($p = 0,0199$) como en el sóleo ($p = 0,0013$), respecto al grupo diabético.

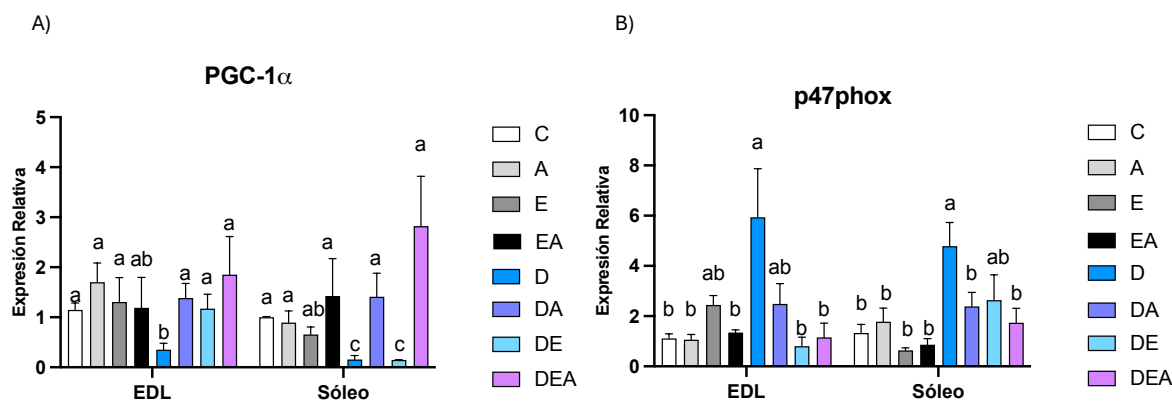


Figura 11. Efecto de la inhibición de la NOX y del ejercicio de intensidad moderada sobre los niveles de expresión de ARNm de *PGC-1α* (A) y *p47phox* (B) en los músculos EDL y sóleo. C = grupo control; A = grupo apocinina; E = grupo ejercitado; EA = grupo ejercitado + apocinina; D = grupo diabético; DA = grupo diabético + apocinina; DE = grupo diabético + ejercicio; DEA = grupo diabético + ejercicio + apocinina. Los datos se presentan como media $\pm$ EEM ($n = 8$ por grupo). * $p < 0,05$

7. DISCUSIÓN

La miopatía diabética es un trastorno muscular asociado a la diabetes, caracterizado por alteraciones en el metabolismo de la glucosa, los lípidos y las proteínas, que comprometen la integridad estructural y la capacidad funcional del músculo esquelético y contribuyen al desarrollo de otras complicaciones diabéticas (Gaur et al., 2024). Diversos estudios han señalado que el manejo eficaz de la diabetes debe enfocarse en mejorar el control glucémico, corregir las alteraciones del metabolismo lipídico y mitigar el estrés oxidativo (Das et al., 2023; Caturano et al., 2023; Chen et al., 2025). Hasta donde sabemos, el presente estudio evalúa por primera vez el efecto combinado de la inhibición de la NADPH oxidasa y del ejercicio de intensidad moderada sobre los mecanismos de atrofia muscular inducidos por la diabetes y la

hiperlipidemia concomitante. La combinación de ambos tratamientos mitigó la atrofia muscular, asociándose con una regulación negativa de genes atrogénicos (Atrogin-1 y MuRF-1), una disminución de la expresión de la subunidad citosólica p47phox y de la actividad de NOX, así como con una regulación positiva de factores protectores como folistatina y PGC-1 α . Además, se observó un efecto hipolipemiante, acompañado de una reducción de la peroxidación lipídica en el músculo esquelético.

El modelo de diabetes experimental inducido por estreptozotocina se caracterizó por hiperglucemia en ayuno y una disminución del peso corporal, atribuibles a la destrucción de las células β pancreáticas y al aumento del catabolismo proteico secundario a la deficiencia de insulina (Wu et al., 2015; Winiarska et al., 2011). En este contexto, la administración de apocinina durante ocho semanas (3 mg/kg) mejoró significativamente la glucemia en ayuno y la ganancia de peso corporal, respaldando su efecto antidiabético previamente reportado por nuestro grupo (Sánchez-Duarte et al., 2022), atribuible en parte a su acción hipoglucemiante (Winiarska et al., 2011). En contraste, la combinación de ejercicio aeróbico de intensidad moderada con la administración de la apocinina redujo los niveles de glucosa sin inducir cambios en el peso corporal, lo que sugiere que el impacto del ejercicio sobre estos parámetros depende del tipo e intensidad del estímulo, así como de la duración del protocolo y la gravedad de la diabetes (Zahalka et al., 2000; Syeda et al., 2023).

La pérdida de masa muscular es un predictor clave de la atrofia muscular (Gaur et al., 2024). En la diabetes, la deficiencia de insulina y la hiperglucemia crónica favorecen el desgaste muscular y la disminución de la función contráctil (Coleman et al., 2015). En nuestro estudio, la apocinina incrementó el peso muscular, mientras que su combinación con el ejercicio no produjo cambios significativos en el peso corporal absoluto. No obstante, en el músculo EDL se observó un aumento de la relación peso muscular/peso corporal, un indicador sensible de la masa muscular relativa (Albadrani et al., 2021). Dado que el EDL es un músculo de contracción rápida, con mayor plasticidad metabólica y respuesta al

estímulo mecánico (Kwon et al., 2024), estos resultados sugieren un efecto dependiente del tipo de fibra, posiblemente mediado por la modulación del recambio proteico alterado en la diabetes (Liu et al., 2016; Gaur et al., 2024).

En relación con el metabolismo lipídico, la dislipidemia observada en el grupo diabético, caracterizada por la elevación de triacilglicéridos, colesterol total y VLDL, es consistente con reportes previos (Vergés, 2020; Nwosu, 2022). La apocinina atenuó estas alteraciones, mientras que su combinación con el ejercicio potenció la reducción de los triacilglicéridos y del colesterol total, lo que sugiere un efecto sinérgico. Este efecto podría explicarse por estudios previos que atribuyen a la apocinina efectos hepatoprotectores y antiinflamatorios en modelos de obesidad (Park et al., 2023; Rahman et al., 2017; Meng et al., 2011), así como por la optimización del metabolismo lipídico inducida por el ejercicio (Di Meo et al., 2017).

La rigidez metabólica en el hígado y en el tejido adiposo favorece la acumulación ectópica de lípidos en tejidos no adiposos, como el músculo esquelético, lo que se asocia con la lipotoxicidad en contextos patológicos. Aunque los triacilglicéridos no son especies lipotóxicas directas, reflejan la carga lipídica intracelular total (Tamilarasan et al., 2012). El almacenamiento excesivo de TG en el músculo esquelético se ha relacionado con resistencia a la insulina; sin embargo, en condiciones de ejercicio aeróbico, se asocia con una mayor sensibilidad a la insulina como mecanismo adaptativo (Elley et al., 2022; Li et al., 2019). En el contexto patológico, la acumulación de grasa intramuscular (LIMC) se asocia con pérdida de fuerza y atrofia muscular (Coleman et al., 2015; Gaur et al., 2024; Wang et al., 2024). En el músculo EDL del grupo diabético se observó un aumento del contenido de TG intramuscular, a diferencia del músculo sóleo, lo que confirma una susceptibilidad diferencial dependiente del tipo de fibra (Umek et al., 2021). La combinación de ejercicio y apocinina redujo significativamente estos niveles en el músculo EDL, lo que sugiere una mejora del metabolismo lipídico en las fibras glucolíticas, más vulnerables a la lipotoxicidad.

Se ha reportado que la NOX participa en adaptaciones metabólicas inducidas por el ejercicio crónico en el músculo esquelético; específicamente, NOX2 interviene en la translocación de GLUT4 y NOX4 participa en la oxidación de ácidos grasos (Henríquez-Olguín et al., 2019; Meneses-Valdés et al., 2024). No obstante, la apocinina también indujo alteraciones del metabolismo lipídico en los músculos de animales sanos, lo que sugiere un papel fisiológico de la NOX en condiciones basales, como durante el ejercicio.

A pesar de las diferencias observadas en el metabolismo lipídico, la combinación de apocinina y ejercicio atenuó el estrés oxidante en ambos músculos. La peroxidación lipídica es un marcador de daño oxidativo que compromete la integridad de las membranas celulares y la señalización metabólica (Kozakowska et al., 2015) y se asocia con la resistencia a la insulina (Diniz et al., 2016). La disminución de los niveles de TBARS observada en este estudio indica una reducción de la peroxidación lipídica en el músculo esquelético de ratas diabéticas, atribuible tanto al efecto antioxidante de la apocinina, relacionado con la reducción de ERO y el aumento del estado redox (Sánchez-Duarte et al., 2022), como a las adaptaciones antioxidantes inducidas por el ejercicio crónico (Zhou et al., 2024). Los niveles reducidos de TBARS podrían contribuir a prevenir el daño oxidativo del músculo esquelético, a disminuir la atrofia muscular y a preservar la función muscular (Sánchez-Duarte et al., 2021; Ding et al., 2023). Dado que la NADPH oxidasa es una fuente relevante de ERO en el músculo esquelético, se evaluó su actividad para determinar su asociación con los cambios observados en los LIMC (lípidos intramiocelulares) y en la peroxidación lipídica.

La apocinina se reconoce como un inhibidor de la NADPH oxidasa (Du et al., 2019). En el presente estudio, la actividad de la NOX se encontró significativamente aumentada en el músculo EDL de ratas diabéticas y fue significativamente reducida por los tratamientos; en contraste, en el músculo sóleo no se observaron cambios significativos en la actividad de la NOX, lo cual podría explicarse por su perfil metabólico predominantemente oxidativo y por una mayor capacidad antioxidante

(Lourerio et al., 2016; Sánchez-Duarte et al., 2022). Este resultado respalda el papel central de esta enzima en el desequilibrio redox asociado a la miopatía diabética.

La modulación de la actividad de NOX se reflejó a nivel molecular mediante cambios en la expresión de genes asociados a la atrofia y a la homeostasis muscular. La atrofia muscular se vincula principalmente con dos vías de degradación proteica: el sistema ubiquitina-proteasoma y la vía autofagia-lisosoma. Este proceso está contrarregulado por vías anabólicas implicadas en la síntesis de proteínas, como las rutas de señalización IGF-1–PI3K–Akt/mTOR e IGF-1–Akt–FoxO (Wang et al., 2022). Diversos estudios han asociado la actividad desregulada de NOX2 con alteraciones funcionales y estructurales del músculo esquelético en diversas condiciones patológicas (DeVallance et al., 2019). Aunque la metodología empleada en nuestro estudio no permite discriminar entre isoformas específicas de NOX, se ha demostrado previamente que tanto NOX2 como NOX4 participan en la disfunción muscular en la diabetes (Sánchez-Duarte et al., 2022). Además, factores metabólicos como la hiperglucemia y la sobrecarga lipídica pueden modular la expresión y la actividad de NOX2. En este sentido, Bechara et al. (2014) demostraron que la atrofia muscular en un modelo de insuficiencia cardíaca se asocia con un aumento de la expresión de ARNm de NOX2, lo que sugiere que esta isoforma podría ser una de las principales responsables del incremento de la actividad de NOX observado en diversos estados patológicos del músculo esquelético. En este estudio, se observó un aumento significativo en la expresión de los atrogenes Atrogin-1 y MuRF-1 en ambos músculos de ratas diabéticas, marcadores de atrofia muscular en modelos experimentales de diabetes inducida por STZ, lo cual concuerda con nuestros estudios previos (Mexx et al., 2019; Liu et al., 2023). Esto fue revertido parcialmente por la inhibición de la NOX y, de forma más marcada, por la combinación de dicha inhibición con el ejercicio. La reducción diferencial de Atrogin-1 en el músculo EDL sugiere nuevamente una regulación dependiente del tipo de fibra muscular.

Las ERO actúan como mediadores clave en la activación de vías proinflamatorias, como la de NF- κ B, que promueve la expresión de miostatina en

las células musculares. En relación con los reguladores clásicos del crecimiento muscular, la miostatina actúa como un inhibidor negativo del desarrollo del músculo esquelético al limitar el número y el tamaño de las fibras musculares. Se ha reportado una expresión aumentada en modelos de diabetes inducida por STZ, lo cual es consistente con nuestros hallazgos en los músculos sóleo y EDL, así como con lo descrito previamente (Zhang et al., 2011; Schiaffino, 2011). El tratamiento con apocinina redujo la expresión de miostatina, especialmente en el músculo EDL, lo que sugiere un efecto diferencial en las fibras de contracción rápida. Asimismo, se ha descrito que la apocinina puede inducir una regulación positiva de la folistatina, una mioquina que antagoniza la señalización de la miostatina al impedir la unión de esta a los receptores de activina tipo IIB, lo que inhibe la activación de la vía Smad2/3 y la transcripción de Atrogin-1 y MuRF-1. En este estudio, el tratamiento con apocinina indujo una regulación positiva de la expresión de folistatina en el músculo EDL. Estos hallazgos coinciden con los informados por Chan et al. (2021) , quienes demostraron que la apocinina redujo la expresión de miostatina en miofibras expuestas a H₂O₂ en un modelo de atrofia muscular inducida por EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica). Este efecto puede estar mediado, al menos en parte, por la inhibición de la vía NF-κB, cuya activación transcripcional se ha asociado con la atrofia de las fibras de contracción rápida y la degeneración de las fibras de contracción lenta (Wang et al. 2013). Estudios previos también han demostrado que la apocinina reduce la expresión de ARNm de NF-κB en ratas diabéticas (Sánchez-Duarte et al. 2022), lo que puede estar relacionado con los efectos observados en la expresión de miostatina .

Sin embargo, en nuestro modelo experimental de DM1 no se detectaron cambios significativos en la expresión de miostatina ni de folistatina tras la combinación del ejercicio con la inhibición de NOX. Esto sugiere que, a diferencia de lo reportado en otros modelos, la recuperación del área transversal inducida por la combinación de ejercicio e inhibición de NOX no estuvo mediada por la vía miostatina–folistatina, lo que apunta a la posible participación de mecanismos alternativos en la adaptación muscular observada.

PGC-1 α es un coactivador transcripcional clave en la regulación del fenotipo muscular, ya que promueve el metabolismo oxidativo, incrementa el contenido mitocondrial y protege frente a la atrofia muscular (Kang et al., 2012; Wicks et al., 2015). Se ha reportado que tanto el ejercicio agudo como el crónico inducen la expresión de PGC-1 α , lo que favorece adaptaciones que preservan la masa muscular. Además, se ha demostrado que PGC-1 α puede antagonizar los efectos de FoxO3 en la activación de vías catabólicas, incluida la expresión de las ligasas de ubiquitina Atrogin-1 y MuRF-1 (Sandri et al., 2006). En este estudio, el incremento significativo de PGC-1 α en ambos músculos constituye un hallazgo relevante, consistente con una mayor capacidad oxidativa y con la activación de mecanismos asociados a la biogénesis mitocondrial y a la adaptación metabólica, lo cual podría contribuir a atenuar la atrofia muscular observada.

Por otra parte, se ha descrito que la apocinina inhibe la translocación de la subunidad p47phox, un paso necesario para la activación de NOX2 en la membrana plasmática (Wang et al., 2023; Shieh, 2013; Kadoguchi et al., 2018). En este estudio, la disminución de la expresión de p47phox tras los tratamientos sugiere una posible modulación de dicha vía. Sin embargo, dado que este resultado corresponde a niveles de expresión génica, no permite inferir directamente una disminución de la activación funcional de la NADPH oxidasa. Por lo tanto, estos hallazgos deben interpretarse con cautela y complementarse con estudios que evalúen la proteína y su ensamblaje activo, a fin de confirmar su papel en la respuesta observada.

8. CONCLUSIÓN

El ejercicio aeróbico de intensidad moderada y la inhibición de la NADPH oxidasa mediante apocinina atenúan la lipotoxicidad y la atrofia muscular en la diabetes experimental. Estos efectos son consistentes con un menor estrés oxidante, una menor acumulación lipídica y cambios en la expresión génica muscular. Los resultados sugieren la participación de la NOX2 en la miopatía diabética. No obstante, la respuesta dependió del tipo de fibra, con un efecto mayor en el EDL que en el sóleo.

9. LIMITACIONES

Este estudio presenta algunas limitaciones. El modelo de diabetes inducida por STZ reproduce principalmente características de la DM1, por lo que la extrapolación a otros contextos, como la DM2, debe realizarse con cautela. Además, aunque la apocinina se utiliza como inhibidor de NOX, también puede ejercer efectos antioxidantes independientes.

Por otro lado, el análisis se basó principalmente en la expresión de ARNm, sin validación a nivel proteico ni funcional, lo que limita la interpretación de los hallazgos. Asimismo, la peroxidación lipídica se evaluó mediante la formación de TBARS, un marcador indirecto. Finalmente, la lipotoxicidad se valoró de manera parcial, considerando únicamente los triacilglicéridos intramusculares y no otros intermediarios lipídicos relevantes. Sin embargo, consideramos que los resultados del estudio validan los objetivos de esta investigación y amplían nuestro conocimiento sobre el efecto de la inhibición de la NOX y el ejercicio de intensidad moderada como un enfoque terapéutico potencialmente eficaz para contrarrestar las alteraciones musculares inducidas por la diabetes.

10. REFERENCIAS

1. Antar SA, Ashour NA, Sharaky M, Khattab M, Zaid RT, Roh EJ, et al. Diabetes mellitus: classification, mediators, and complications; a gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomed Pharmacother.* 2023;168:115734.
2. Albadrani H, Ammar T, Bader M, Renaud JM. Angiotensin 1-7 prevents the excessive force loss resulting from 14- and 28-day denervation in mouse EDL and soleus muscle. *J Gen Physiol.* 2021;153:e201912556.
3. Agrawal S, Chakole S, Shetty N, Prasad R, Lohakare T, Wanjari M. Exploring the role of oxidative stress in skeletal muscle atrophy: mechanisms and implications. *Cureus.* 2023;15:e42178.
4. Aoyagi A, Ishikura K, Nabekura Y. Exercise intensity during Olympic-distance triathlon in well-trained age-group athletes: an observational study. *Sports (Basel).* 2021;9(2):18.

5. Araki Y, Soya S, Hiraga T, Murakumo K, Inoue K, Soya H, et al. Setting treadmill intensity for rat aerobic training using lactate and gas exchange thresholds. *Med Sci Sports Exerc.* 2024;57(2):434-46.
6. Bechara LR, Moreira JB, Jannig PR, Voltarelli VA, Dourado PM, Vasconcelos AR, et al. NADPH oxidase hyperactivity induces plantaris atrophy in heart failure rats. *Int J Cardiol.* 2014;175(3):499-507.
7. Bobulescu IA. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(4):393-402.
8. Bravo-Sánchez E, Peña-Montes D, Sánchez-Duarte S, Saavedra-Molina A, Sánchez-Duarte E, Montoya-Pérez R. Effects of apocynin on oxidative stress in the cardiac muscle of rats with experimental diabetes: implications for mitochondria. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(3):335.
9. Campbell NJ, Maani CV. Histology, muscle. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
10. Caturano A, D'Angelo M, Mormone A, Russo V, Mollica MP, Salvatore T, et al. Oxidative stress in type 2 diabetes: impacts from pathogenesis to lifestyle modifications. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45:6651-66.
11. Chan SMH, Bernardo I, Mastronardo C, Mou K, De Luca SN, Seow HJ, et al. Apocynin prevents cigarette smoking-induced loss of skeletal muscle mass and function in mice by preserving proteostatic signaling. *Br J Pharmacol.* 2021;178(15):3049-66.
12. Chen X, Xie N, Feng L, Huang Y, Wu Y, Zhu H, et al. Oxidative stress in diabetes mellitus and its complications: from pathophysiology to therapeutic strategies. *Chin Med J (Engl).* 2025;138:15-27.
13. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat Protoc.* 2006;1(2):581-5.
14. Coleman SK, Rebalka IA, D'Souza DM, Hawke TJ. Skeletal muscle as a therapeutic target to delay type 1 diabetes complications. *World J Diabetes.* 2015;6(17):1323-36.
15. Das AK, Kalra S, Punyani H, Deshmukh S, Taur S. Oxidative stress: a new target in the management of diabetes mellitus. *J Fam Med Prim Care.* 2023;12:2552-7.
16. Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol.* 2017;233(1):R15-R42.
17. Ding Q, Sun B, Wang M, Li T, Li H, Han Q, et al. N-acetylcysteine alleviates oxidative stress and apoptosis and prevents skeletal muscle atrophy in type 1 diabetes mellitus through the NRF2/HO-1 pathway. *Life Sci.* 2023.
18. Dotzert MS, Murray MR, McDonald MW, Olver TD, Velenosi TJ, Hennop A, et al. Metabolomic response of skeletal muscle to aerobic exercise training in insulin-resistant type 1 diabetic rats. *Sci Rep.* 2016;6:26379.
19. Drummond GR, Selemidis S, Griendling KK, Sobey CG. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;10(6):453-71.
20. Duncan BB, Magliano DJ, Boyko EJ. IDF Diabetes Atlas 11th edition 2025: global prevalence and projections for 2050. *Nephrol Dial Transplant.* 2025;41:7-9.

21. Du ZD, Yu S, Qi Y, Qu TF, He L, Wei W, et al. The NADPH oxidase inhibitor apocynin decreases mitochondrial dysfunction and apoptosis in the ventral cochlear nucleus of a D-galactose-induced aging model in rats. *Neurochem Int.* 2019;124:31-40.
22. Feraco A, Gorini S, Armani A, Camajani E, Rizzo M, Caprio M. Exploring the role of skeletal muscle in insulin resistance: lessons from cultured cells to animal models. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9327.
23. Goodpaster BH, Sparks LM. Metabolic flexibility in health and disease. *Cell Metab.* 2017;25(5):1027-36.
24. Hulett NA, Scalzo RL, Reusch JEB. Glucose uptake by skeletal muscle within the contexts of type 2 diabetes and exercise: an integrated approach. *Nutrients.* 2022;14(3):647.
25. Krause MP, Moradi J, Nissar AA, et al. Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 restores skeletal muscle regeneration in untreated type 1 diabetic mice. *Diabetes.* 2011;60:1964-72.
26. Li X, Li Z, Zhao M, Nie Y, Liu P, Zhu Y, et al. Skeletal muscle lipid droplets and the athlete's paradox. *Cells.* 2019;8(3):249.
27. Lopez-Pedrosa JM, Camprubi-Robles M, Guzman-Rolo G, Lopez-Gonzalez A, Garcia-Almeida JM, Sanz-Paris A, et al. The vicious cycle of type 2 diabetes mellitus and skeletal muscle atrophy: clinical, biochemical, and nutritional bases. *Nutrients.* 2024;16(1):172.
28. Matoori S. Diabetes and its complications. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2022;5(8):513-5.
29. McCuller C, Jessu R, Callahan AL. Muscle. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
30. Meex RCR, Blaak EE, van Loon LJC. Lipotoxicity plays a key role in the development of both insulin resistance and muscle atrophy in patients with type 2 diabetes. *Obes Rev.* 2019;20:1205-17.
31. Nishi H, Higashihara T, Inagi R. Lipotoxicity in kidney, heart, and skeletal muscle dysfunction. *Nutrients.* 2019;11(7):1664.
32. Olzmann JA, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20:137-55.
33. Opazo-Ríos L, Mas S, Marín-Royo G, Mezzano S, Gómez-Guerrero C, Moreno JA, et al. Lipotoxicity and diabetic nephropathy: novel mechanistic insights and therapeutic opportunities. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):2632.
34. Sánchez-Briones LA, Sánchez-Duarte S, Márquez-Gamiño S, Vera-Delgado KS, Vera-Delgado MG, Montoya-Pérez R, et al. Aerobic training modulates the expression of components of the mPTP through the reduction of oxidative stress in the soleus muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetology.* 2026;7:18.
35. Sánchez-Duarte S, Márquez-Gamiño S, Montoya-Pérez R, Vera-Delgado KS, Caudillo-Cisneros C, Sotelo-Barroso F, et al. Apocynin attenuates diabetes-induced skeletal muscle dysfunction by mitigating ROS generation and boosting antioxidant defenses in fast-twitch and slow-twitch muscles. *Life (Basel).* 2022;12(5):674.
36. Schiaffino S. Muscle fiber type diversity revealed by anti-myosin heavy chain antibodies. *FEBS J.* 2018;285:3688-94.

37. Shen Y, Li M, Wang K, Qi G, Liu H, Wang W, et al. Diabetic muscular atrophy: molecular mechanisms and promising therapies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:917113.
38. Urner S, Ho F, Jha JC, Ziegler D, Jandeleit-Dahm K. NADPH oxidase inhibition: preclinical and clinical studies in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal*. 2020;33:415-34.
39. Verderio C, Gabrielli M, Giussani P. Role of sphingolipids in the biogenesis and biological activity of extracellular vesicles. *J Lipid Res*. 2018;59:1325-40.
40. Vanni S. Intracellular lipid droplets: from structure to function. *Lipid Insights*. 2017;10:1178635317745518.
41. Wang D, Li J, Luo G, Zhou J, Wang N, Wang S, et al. Nox4 as a novel therapeutic target for diabetic vascular complications. *Redox Biol*. 2023;64:102781.
42. Yin L, Li N, Jia W, Wang N, Liang M, Yang X, et al. Skeletal muscle atrophy: from mechanisms to treatments. *Pharmacol Res*. 2021;172:105807.
43. Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Matsushima S, Inoue N, Ohta Y, et al. Oxidative stress in skeletal muscle impairs mitochondrial respiration and limits exercise capacity in type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:H1069-H1077.
44. Yadav A, Singh A, Phogat J, Dahuja A, Dabur R. Magnoflorine prevents skeletal muscle atrophy via Akt/mTOR/Foxo signaling pathway. *J Ethnopharmacol*. 2021;267:113510.
45. Zhou Y, Zhang X, Baker JS, Davison GW, Yan X. Redox signaling and skeletal muscle adaptation during aerobic exercise. *iScience*. 2024;27(5):109643.

Sarai Sánchez Duarte

Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y el ejercicio de intensidad moderada sobre la lipotoxicidad y la atrofia muscu...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:593500014

Fecha de entrega

21 may 2026, 7:24 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

21 may 2026, 7:27 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Efecto de la inhibición de la NADPH oxidasa y el ejercicio de intensidad moderada sobre la lipoto....pdf

Tamaño del archivo

18.8 MB

55 páginas

15.433 palabras

83.459 caracteres

18% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 18%  Fuentes de Internet
- 10%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
18 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Doctorado en Ciencias en Biología Experimental	
Título del trabajo	Efecto de la inhibición de la NADPH Oxidasa y el ejercicio de intensidad moderada sobre la lipotoxicidad y la atrofia muscular en ratas diabéticas	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Sarai Sánchez Duarte	1315649c@umich.mx
Director	Dra. Rocío Del Carmen Montoya Pérez	rocio.montoya@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	Dr. Ernesto García Pineda	doc.cs.biologia.experimental@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	Si	Se utilizo la plataforma quillbot para revisar ortografía, puntuación y errores gramaticales

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	no	
Revisión y corrección de estilo	no	
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro		

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Sarai Sánchez Duarte 
Lugar y fecha	25 de marzo de 2026 