



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

OPCIÓN EN INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

**Efecto del ejercicio a diferentes intensidades y diazóxido sobre
la capacidad de contracción, el estrés oxidante, las
características morfológicas de las fibras músculo-esqueléticas
y la resistencia a la insulina y dislipidemia de ratas obesas**

TESIS

Que presenta:

M. en C. MARIANA GÓMEZ BARROSO

Para obtener el grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
OPCIÓN EN INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

DIRECTORA DE TESIS: D. en C. Rocío del Carmen Montoya Pérez

CO-DIRECTOR DE TESIS: D. en C. Christian Cortés Rojo

Morelia, Michoacán, junio 2023

DEDICATORIA

A mi familia, el pilar más importante de mi formación personal, y a mis amigas y amigos que han formado parte y me han acompañado y apoyado en todo este proceso.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis la doctora rocío por siempre brindarme su apoyo y confianza profesional, además de sus consejos y amistad, por siempre brindar los recursos necesarios para que este proyecto se llevara a cabo. Así como sus conocimientos, revisiones, opiniones y críticas, para mejorar este trabajo y enriquecer mi formación académica.

A mi codirector de tesis, el doctor Christian Cortés, y a mis sinodales, los doctores, Joel López, Francisco Saavedra y Miguel Huerta, por contribuir con su tiempo para este proyecto y aportar sus conocimientos para la mejora del mismo y en mi formación.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por ser mí casa de estudios profesionales, y permitirme cumplir mis metas y propósitos académicos.

Al CONACYT por ser la institución encarga de financiar el proyecto bajo el cual se realizó este trabajo de tesis.

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
1. MARCO TEÓRICO	6
1.1 OBESIDAD.....	6
1.2 EFECTO FISIOLÓGICO DE LA OBESIDAD.....	7
1.3 EFECTOS DE LA OBESIDAD EN EL MÚSCULO.....	9
1.4 DIAZÓXIDO.....	11
1.4.1 diazóxido y obesidad	12
1.5 EJERCICIO	12
1.5.1 ejercicio y obesidad.....	14
2. JUSTIFICACION	16
3. HIPÓTEISIS	16
4. OBJETIVO GENERAL	17
5. OBJETIVOS PARTICULARES	17
6. ESTRATEGIA GENERAL	17
7. CAPÍTULO I: Efecto comparativo de tres diferentes intensidades de ejercicio en combinación con diazóxido sobre la capacidad de contracción y estrés oxidativo de músculo esquelético de ratas obesas.....	18
8. CAPÍTULO II: El ejercicio en combinación con el diazóxido promueven la sensibilidad a la insulina, reducen la dislipidemia y mejoran las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas.....	34
9. CAPÍTULO III: EL EJERCICIO ¿LA CURA A TODOS NUESTROS MALES?.....	60
10. CONCLUSIÓN GENERAL	66
11. REFERENCIAS	66

RESUMEN

La obesidad es una condición crónica que se relaciona con el mal funcionamiento del músculo esquelético. Los efectos nocivos de la obesidad sobre el tejido muscular se han asociado con la modificación negativa de las características morfológicas de las fibras musculares, lo que se relaciona directamente con la disminución de la fuerza de contracción y el incremento de la fatiga, así como del estrés oxidativo y con alteración en la sensibilidad a la insulina y el perfil lipídico. Por tales motivos se ha profundizado en el estudio de tratamientos para el manejo de los efectos nocivos de la obesidad sobre el tejido muscular, en este sentido, el tratamiento con diazóxido y diversos protocolos de ejercicio han sido propuestos activamente para la protección del músculo esquelético contra el estrés metabólico. Sin embargo, se desconoce si el ejercicio a diferentes intensidades en combinación con el diazóxido disminuyen la acumulación de grasa en el músculo y evitan el cambio en la morfología de las fibras musculares durante la obesidad, y el efecto que esto tiene sobre la sensibilidad a la insulina y el perfil lipídico, y como esto afecta la capacidad de contracción, la resistencia a la fatiga y el estado redox del músculo esquelético. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de tres diferentes intensidades de ejercicio en combinación con el diazóxido sobre el funcionamiento del músculo esquelético y el estrés oxidante, la resistencia a la insulina y el perfil lipídico, y las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas. Los resultados mostraron que el tratamiento con diazóxido y ejercicio a diferentes intensidades incrementó la capacidad de contracción muscular y disminuyó el estrés oxidante, mejoró el perfil de lípidos y la sensibilidad a la insulina y evitó la modificación de las características morfológicas de las fibras musculares durante la obesidad, obteniéndose los mejores resultados con el ejercicio de baja y moderada intensidad en combinación con el diazóxido. Por lo tanto, estos resultados sugieren que el ejercicio de baja y moderada intensidad, cuando se combinan con el diazóxido, mejoran la función muscular al tener un efecto positivo sobre el estado metabólico y morfológico de músculo esquelético durante la obesidad.

Palabras clave: Músculo esquelético, Obesidad, Diazóxido, Ejercicio.

ABSTRACT

Obesity is a chronic condition that is related to the malfunction of skeletal muscle. The harmful effects of obesity on muscle tissue have been associated with the negative modification of the morphological characteristics of muscle fibers, which is directly related to decreased contraction force and increased fatigue, as well as oxidative stress and alteration in insulin sensitivity and lipid profile. For these reasons, the study of treatments for managing the harmful effects of obesity on muscle tissue has been deepened, and treatment with diazoxide and various exercise protocols have been actively proposed to protect skeletal muscle against metabolic stress. However, it is unknown whether exercise at different intensities in combination with diazoxide decreases muscle fat accumulation and prevents the change in muscle fiber morphology during obesity and what effect this has on insulin sensitivity and the lipid profile, and how this affects the capacity for contraction, resistance to fatigue and the redox state of skeletal muscle. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of three different exercise intensities in combination with diazoxide on skeletal muscle functioning and oxidative stress, insulin resistance, lipid profile, and morphological characteristics of muscle fibers of obese rats. The results showed that treatment with diazoxide and exercise at different intensities increased muscle contraction capacity and decreased oxidative stress, improved lipid profile, and insulin sensitivity, and prevented modification of the morphological characteristics of muscle fibers during obesity, obtaining the best results with low and moderate intensity exercise in combination with diazoxide. Therefore, these results suggest that low and moderate-intensity exercises, when combined with diazoxide, more efficiently improve muscle function by positively affecting metabolic and morphological status during obesity.

Keywords: Skeletal muscle, Obesity, Diazoxide, Exercise.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 OBESIDAD

La obesidad es considerada como una enfermedad crónica, la cual se está convirtiendo en una epidemia mundial y casi se ha triplicado en todo el mundo desde la década de 1970 (Wu et al. 2020). Dicha enfermedad es desencadenada por numerosos factores, entre los que se encuentran los trastornos alimentarios, la falta de actividad física y el sedentarismo y alteraciones metabólicas, hormonales o genéticas (Erskine et al. 2016; Heo et al. 2018). Según la Organización Mundial de la Salud, el 52% de los adultos en todo el mundo se clasifican con sobrepeso u obesidad (Martinez-Huenchullan et al. 2017).

La obesidad se produce cuando existe un desequilibrio entre las calorías ingeridas y las gastadas, causado, ya sea por un incremento en el consumo de energía, un bajo gasto de energía o ambos. Se define como el depósito anormal de grasa que resulta perjudicial para la salud, y se caracteriza por una acumulación anormal de ácidos grasos o hipertrofia general del tejido adiposo (TA) (Bae et al. 2020). Existen diferentes formas de clasificar la obesidad, una de las más importantes es la distribución corporal del TA clasificándola en obesidad androide y ginecoide. La primera de ellas es característica del género masculino, la cual muestra acumulación de este tejido predominantemente en la región visceral y torácica del cuerpo; mientras que la obesidad ginecoide, propia del género femenino, se localiza en la parte inferior principalmente en caderas y muslos, redistribuida al compartimiento subcutáneo (Shuster et al. 2014).

La obesidad está catalogada como uno de los principales factores de riesgo de muerte humana, ocupando el quinto lugar a nivel mundial (Pompeani et al. 2014). Las personas con sobrepeso u obesas tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades subyacentes relacionadas con el síndrome metabólico (Martínez-Huenchullan et al. 2018), lo que incluye numerosas enfermedades entre ellas la resistencia a la insulina (RI), la diabetes mellitus tipo II (DM2), la dislipidemia, la cual se asocia con triglicéridos (TG) y colesterol elevados y alteraciones de las lipoproteínas, bajo HDL y aumento de LDL, enfermedades cardiovasculares, lo que se relaciona con una menor esperanza de vida (Brown et al. 2015; Cho et al. 2022). Sin embargo, los mecanismos subyacentes por los que se desarrollan estos trastornos a consecuencia de la obesidad siguen sin comprenderse por completo. En las últimas dos décadas, se ha reconocido que la obesidad está asociada con un estado de inflamación crónico de bajo grado, la inflamación provocada por la obesidad en una variedad de tejidos, incluido el TA, el músculo esquelético, el hígado, los islotes del páncreas, el intestino e incluso el cerebro, son un vínculo causal entre la obesidad y numerosas patológicas crónicas como: la RI, la DM2, hipertensión, entre muchas otras (Curley et al. 2020; Wu et al. 2020).

Los datos también indican que la obesidad es, después del tabaco, el principal factor de riesgo de cáncer a nivel mundial. Por lo tanto, dicha patología no solo atenta con reducir

la duración y la calidad de vida de las generaciones actuales y futuras, sino que también representa un reto importante para la economía de los diferentes países del mundo que emergen del subdesarrollo, y que deben asumir un creciente gasto en salud para hacer frente a los gastos de atención médica y la menor productividad laboral de la población afectada por la obesidad y las enfermedades asociadas con esta (Casanello et al. 2016).

1.2 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA OBESIDAD

El consumo crónico de una dieta alta en grasas aumenta el peso corporal y la masa grasa, que es un factor sumamente importante en la obesidad. El exceso de calorías en la ingesta dietética se almacena en forma de gotas lipídicas en el tejido adiposo; sin embargo, si se excede la capacidad de almacenamiento del TA, se produce una mayor acumulación de grasa en otros tejidos, como el hígado, los músculos y el corazón (Bae et al. 2020).

El incremento del TA durante la obesidad es sumamente relevante debido a que funciona como reservorio energético. El TA tiene un papel central en la adaptación del metabolismo energético al entorno nutricional debido a su capacidad para almacenar energía en forma de TG. El tejido adiposo es también la reserva de colesterol más grande del cuerpo, representando hasta el 25% del colesterol corporal total en humanos. En la obesidad, la acumulación excesiva de TG y los desequilibrios de colesterol pueden desencadenar y sostener la inflamación en las células metabólicas, incluidos los propios adipocitos, alterando el metabolismo (Curley et al. 2020).

Otro papel sumamente importante del tejido adiposo, es que por sí solo, es un órgano endocrino activo con propiedades bioquímicas específicas que influyen en las vías metabólicas (Cho et al. 2022). Anteriormente se creía que el TA era un órgano que cumplía únicamente funciones de almacenamiento de energía, pero ahora es reconocido por su participación activa en la homeostasis energética así como en la regulación de otras funciones fisiológicas como la inmunidad y la inflamación (Jung y Choi, 2014). La inflamación metabólica se define como una inflamación crónica de bajo grado establecida por células metabólicas, como los adipocitos y los miocitos, e inflamatorias durante la obesidad en defensa contra una sobrecarga de nutrientes y energía (Curley et al. 2020).

Los depósitos de TA se pueden dividir en tejido adiposo subcutáneo, que es el TA debajo de la piel y TA visceral que recubre los órganos internos. La acumulación de grasa abdominal, visceral y ectópica se ha asociado con un estado de inflamación sistémica y local de naturaleza crónica, así como con el desarrollo de RI y un perfil cardiometabólico desfavorable (Wu et al. 2020; Cho et al. 2022).

Aunque la inflamación, como consecuencia de la obesidad, tiene lugar en una variedad de tejidos, la mayoría de los estudios aún se centran en la inflamación del TA (Wu et al. 2020). Numerosos estudios han demostrado consistentemente la presencia de un aumento de la inflamación del TA en animales y humanos obesos, debido a que, el TA de los obesos posee un número aumentado de células inflamatorias. Durante la obesidad, se

presenta incremento de los adipocitos, células del TA, lo que desencadena incremento en la secreción de una variedad de moléculas inflamatorias, las adipocinas, principalmente TNF- α , interleucina 1, interleucina 6 y la proteína quimio-atrayente de monocitos (Jung y Choi, 2014). De igual manera, se ha atribuido la inflamación del TA, al aumento de macrófagos, característica de la inflamación relacionada con la obesidad (Gihring et al. 2020).

El TA es el tejido predominante de producción de citocinas en la obesidad; sin embargo, el hígado, el páncreas, el cerebro y los músculos también muestran un perfil inflamatorio elevado. El reclutamiento de células inflamatorias, como macrófagos y linfocitos, en el tejido adiposo exacerba aún más la carga inflamatoria en el entorno obeso y promueve un estado oxidativo (Curley et al. 2020).

La liberación elevada de estas adipocinas al torrente sanguíneo, ya sea por el adipocito o los macrófagos infiltrados en el TA, promueven un estado sub-inflamatorio crónico que juega un papel central en el desarrollo de la RI (Jung y Choi, 2014). Un cambio en el perfil de secreción de adipocinas es característico en pacientes obesos y con síndrome metabólico (Hugo y Ben-Jonathan, 2016).

La inflamación se ha identificado como el vínculo entre la obesidad y la RI; sin embargo, la dirección del efecto causal entre la obesidad y la RI sigue siendo difícil de determinar en humanos (Miao et al. 2020). La evidencia actual indica que la inflamación crónica de bajo grado en el TA puede ser un mecanismo contribuyente en la RI inducida por la obesidad (Pedersen et al. 2015).

En principio el TA cumple un papel crucial como órgano de almacenamiento de energía en forma de TG; por lo que tiene un papel muy importante como amortiguador del flujo de ácidos grasos en la circulación durante el periodo postprandial; sin embargo, al presentarse la obesidad, el cuerpo promueve la diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros (hiperplasia) para amortiguar el excesivo flujo de ácidos grasos en la circulación (Ebbert y Jensen, 2013). Cuando el TA ha alcanzado su máxima capacidad de almacenamiento (hipertrofia), el adipocito se hace resistente a la insulina, por lo que las moléculas de TG permanecerán mayor tiempo en sangre permitiendo que otros tejidos diferentes al adiposo queden expuestos a este flujo de lípidos, favoreciendo la aparición de la insulino resistencia en hígado, músculo esquelético y páncreas (Eriksson-Hogling et al. 2015; Wu et al. 2017).

Se cree que la alteración de la capacidad de respuesta de los adipocitos a la insulina en la obesidad, afecta secundariamente el metabolismo de todo el cuerpo, al limitar la capacidad del tejido adiposo para almacenar lípidos y secuestrar ácidos grasos lejos de los tejidos periféricos (Pedersen et al. 2015).

De manera general, en la obesidad existe un incremento de la lipólisis, consecuencia de un estado inflamatorio, que da como resultados una liberación excesiva de ácidos grasos no esterificados. El incremento intracelular de ácidos grasos y diacilgliceroles (DAG) activan

a la proteína quinasa C (PKC), proteína involucrada en la inhibición de las señales intracelulares de la insulina, por medio de la fosforilación del receptor del sustrato de insulina tipo 1 y 2 (IRS1/2). Además, la PKC activa a la enzima NADH oxidasa, que incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Nemes et al. 2018), y promueve la disfunción mitocondrial (Sangwung et al. 2020). Adicionalmente, los ácidos grasos intracelulares permiten la activación de vías de señalización relacionadas con la inflamación. Por ejemplo, la activación de NF κ B y JNK-1, las cuales tienen un papel importante en la producción sostenida de las citosinas pro inflamatorias (Small et al. 2019).

Los individuos con RI generalmente presentan hipertensión arterial, niveles disminuidos de colesterol HDL y niveles elevados de colesterol LDL y TG (dislipidemia) (Fazakerley et al. 2019). La RI ha mostrado una asociación cercana con el desarrollo y mantenimiento de la dislipidemia, la obesidad y la hipertensión, afecciones que sumadas con la intolerancia a la glucosa, constituyen los principales componentes del síndrome metabólico, el cual converge en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes (Klop et al. 2013).

En un panorama de RI e inflamación, los órganos blancos de la insulina (músculo esquelético y TA), tienen una respuesta casi nula a la acción de dicha hormona por una regulación negativa de la señalización de la misma (Samuel y Shulman, 2012), esto genera un aumento de la actividad de la lipasa sensible a la hormona en el TA, lo que aumenta aún más el flujo de ácidos grasos a tejidos periféricos, originando de este modo una localización ectópica de los mismos en el músculo e hígado, promoviendo a su vez un estado de RI (Eriksson-Hogling et al. 2015). La RI está asociada con un aumento en la deposición de lípidos ectópicos. Los metabolitos de ácidos grasos, como los DAG y las ceramidas, inhiben la señalización de la insulina y los DAG intracelulares son un desencadenante de la RI del músculo esquelético inducida por lípidos a través de la activación de la PKC (Sangwung et al. 2020).

1.3 EFECTOS DE LA OBESIDAD EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Se ha identificado a la obesidad como un estado patológico que afecta la función del músculo esquelético, su sensibilidad a la insulina, su capacidad de contracción y resistencia a la fatiga, así como el estado redox muscular y sus características morfológicas en general (Heo et al. 2018; Abrigo et al. 2016; Martínez Huenchullan et al. 2019).

Es de suma importancia el efecto que la obesidad tiene sobre el músculo esquelético, ya que además de ser un órgano encargado de brindar movilidad y estructura al organismo, es el órgano más importante para la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo, y es responsable de aproximadamente el 80% de la captación y eliminación de glucosa

estimulada por insulina en condiciones normales, por lo que cualquier mal funcionamiento de este órgano tendrá graves repercusiones metabólicas (Wu et al. 2017).

El aumento de grasa que se produce durante la obesidad está directamente asociado con la atrofia significativa el músculo esquelético (Pompeani et al. 2014), y con ello, la aparición de alteraciones en numerosos procesos metabólicos y fisiológicos del órgano, como son: La modificación en los tipos de fibras musculares, retrasos en la regeneración del músculo, lo que impide una correcta reparación y remodelación de los músculos dañados, además de presentarse un aumento de la proteólisis y con ello una disminución en la cantidad de fibras musculares y su diámetro, resultando en la pérdida de tejido muscular en general (Brown et al. 2015). Del mismo modo, la obesidad desencadena acumulación de grasa entre las fibras, lo que se ha atribuido al desencadenamiento de RI, un estado de inflamación crónica y alteraciones en el estado redox del músculo (Schmidt et al. 2015; Erskine et al. 2017; Small et al. 2019).

Si bien los estudios se han centrado en los roles de los lípidos intramiocelulares, los defectos mitocondriales y los efectos endocrinos de las adipocinas en la RI del músculo esquelético durante la obesidad, la evidencia emergente indica que la inflamación también ocurre en el músculo esquelético en el contexto de la obesidad y puede ejercer efectos autocrinos o parácrinos sobre las funciones metabólicas de los miocitos (Wu et al. 2017). Esta inflamación, producto de las miocinas inducen atrofia muscular al aumentar la apoptosis y aumentar la desintegración proteosómica de las proteínas del filamento (Hong y Choi, 2020).

Durante la obesidad se produce un aumento de TG, DAG y ceramidas que se almacenan en el músculo esquelético (Choi et al. 2015). La grasa intramuscular se acumula adentro (intramiocelular) y afuera (extramiocelular) de las fibras musculares (Rahemi et al. 2015). Los lípidos intramusculares actúan como un quimio-atrayente para macrófagos, que producen citocinas pro-inflamatorias, así como una disminución en la secreción de citocinas anti-inflamatorias (Erskine et al. 2016). En resumen, el aumento de la absorción de ácidos grasos y su acumulación en el músculo induce inflamación con adipocinas, miocinas pro-inflamatorias y un estado oxidativo a consecuencia del incremento de ERO, lo que produce efectos tóxicos en los miocitos y en última instancia, sarcopenia. La sarcopenia produce una disminución de la tasa metabólica, baja actividad física y deficiencia de miocina, lo que colectivamente conduce al efecto proinflamatorio y exacerba la obesidad (Hong y Choi, 2020).

El músculo sano contiene aproximadamente 1.5% de grasa intramiocelular y esto puede aumentar a más del 5% en las personas obesas (Rahemi et al. 2015). El incremento de la grasa almacenada en el tejido muscular, aunado al incremento del estado inflamatorio, disminuye la captación de glucosa y afecta la vía de señalización de la insulina, provocando RI, lo que genera hiperinsulinemia (Bae et al. 2016). Como ya se mencionó, el músculo esquelético es el órgano principal encargado de la eliminación (o depósito) de glucosa

posprandial a través de un mecanismo dependiente de insulina. La RI refleja el estado de la señalización de insulina alterada, lo que, en consecuencia, da como resultado el transporte de glucosa y el metabolismo alterado que están estrechamente relacionados con la obesidad sarcopénica (Hong y Choi 2020).

En conjunto, tanto un estado de inflamación crónicas como la RI del músculo esquelético, produce alteraciones metabólicas y funcionales del mismo, que se ven reflejadas en disfunción mitocondrial; en la cual, se reduce la biogénesis mitocondrial, se altera la mitofagia y se promueve la apoptosis, con lo que se induce estrés celular y mitocondrial y se altera la homeostasis (Heo et al. 2017), que eventualmente afecta la función contráctil normal (Espinosa et al. 2016) y favorece el desarrollo de fatiga (Choi et al. 2016), produciendo una disminución de la respiración mitocondrial y de la producción de adenosin trifosfato (ATP), así como un aumento de la producción de ERO y un desequilibrio de la defensa antioxidante (Heo et al. 2017, Nemes et al. 2018).

El aumento del estrés oxidativo se manifiesta de forma muy significativa en el músculo esquelético durante la obesidad con el aumento excesivo de los niveles de ERO, lo que produce daño a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, trastornos lipídicos y desregulación de las defensas antioxidantes, lo que se refleja directamente en el deterioro de la función muscular, reflejándose en alteraciones estructurales del músculo que afectan su capacidad de contracción y resistencia a la fatiga (Heo et al. 2017; Lipina et al. 2017).

Sin embargo, con la finalidad de combatir los efectos nocivos que se le atribuyen a la obesidad sobre el músculo esquelético, se ha profundizado tanto en el estudio como en la aplicación de tratamientos farmacológicos y no farmacológicos a los que se les atribuyen dichas propiedades, como son el tratamiento con diazóxido, un fármaco derivado de las benzotiadiazinas sin efecto diurético (Gómez-Barroso et al. 2020), así como la implementación de protocolos de entrenamiento a diferentes intensidades, caracterizados por su capacidad para promover adaptaciones metabólicas en el músculo esquelético (Pattanakuhar et al. 2016) y las respectivas combinaciones de estos tratamientos.

1.4 DIAZÓXIDO

El diazóxido ($C_8H_7ClN_2O_2S$) es un fármaco derivado de las benzotiadiazinas que se ha asociado a múltiples beneficios para la salud, debido a que este fármaco presenta una potente acción de apertura de los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) de la mitocondria, lo que le otorga un efecto protector en los tejidos, ya que estos canales están encargados de regular el volumen mitocondrial, regulando el transporte de electrones. Por lo tanto, los canales K_{ATP} se consideran efectores importantes de la bioenergética mitocondrial y todos los beneficios que el buen funcionamiento de esta estructura aporta (Nakagawa et al. 2012).

El diazóxido también es un vasodilatador, un anti-hipoglucemiante y un inhibidor de la secreción de insulina. Esta última propiedad se debe a que el diazóxido al ser un agonista eficaz de los canales K_{ATP} , interactúa con estos canales en las células beta de los islotes pancreáticos, lo que lo convierte en un fármaco útil en el tratamiento de la diabetes (Alemzadeh et al. 2008; Bischof et al. 2018).

Pero sus beneficios no se limitan a la diabetes, el diazóxido también se considera un fármaco benéfico para tratar la obesidad. Esto se debe a que reduce la ingesta de alimentos y el aumento de peso, evita la hiperinsulinemia, mejora la sensibilidad a la insulina, mejora el perfil lipídico y regula la capacidad del músculo esquelético para captar glucosa. En conjunto, estas propiedades contrarrestan la difusión mitocondrial y ayudan a controlar los niveles de glucemia (Alemzadeh et al. 2008; Bischof et al. 2018).

1.4.1 Diazóxido y obesidad

La utilización de diazóxido durante la obesidad ha demostrado ser eficaz en la reducción del almacenamiento de grasas en forma de tejido adiposo, al mejorar la oxidación de ácidos grasos. Estudios han demostrado que mejora la tasa metabólica basal y la oxidación de ácidos grasos en ratas Zucker obesas, catalogándolo como un tratamiento eficaz contra la obesidad. (Alemzadeh et al. 2008)

Este fármaco actúa a través de la activación de un receptor presente en las células del TA, lo que provoca un aumento en la liberación de ácidos grasos y su posterior oxidación. Además, el diazóxido también tiene un efecto sobre la inhibición de la producción de la insulina, lo que podría contribuir a la mejora de la sensibilidad a la misma en personas con obesidad (Loves et al. 2018).

En cuanto a sus efectos sobre el tejido muscular, investigaciones recientes han demostrado que el diazóxido mejora la contracción muscular y la resistencia a la fatiga, en modelos obesos, además de reducir los niveles de estrés metabólico y oxidativo al disminuir los niveles de ERO y aumentar la defensa antioxidante (Gómez-Barroso et al. 2020). Estos hallazgos son alentadores, ya que sugieren que el diazóxido podría tener un efecto beneficioso en la función muscular de personas con obesidad (Alemzadeh et al. 2008; Loves et al. 2018; Gómez-Barroso et al. 2020).

Sin embargo, es importante mencionar que algunas investigaciones han mencionado efectos secundarios con el tratamiento de diazóxido, sobre todo, cuando es utilizado en modelos humanos, efectos tales como, hipotensión e hiperglucemia, hipertriosis, retención de líquidos, reacción gastrointestinal, edema, neutropenia, por lo que es de suma importancia mantener un monitoreo y control mientras se administra (Chen et al. 2021).

1.5 EJERCICIO

El sedentarismo y la falta de actividad física se consideran actualmente como algunos de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas, como la diabetes y la obesidad, y cardiovasculares, como la hipertensión y accidentes cerebrovasculares, y algunas otras como el cáncer (de colon y mama), enfermedades osteoarticulares como la osteoporosis y la osteoartritis, y la depresión. Por el contrario, se considera que la actividad física regular produce efectos saludables, incluido un aumento de la capacidad cardiorrespiratoria, mejora del metabolismo tisular debido a la proliferación mitocondrial, un incremento de la sensibilidad a la insulina de los tejidos y una mejora del transporte y captación de glucosa (Di meo et al. 2017).

El ejercicio es un conjunto de acciones motoras músculo-esqueléticas que generan un gasto de energía, y que mejoran de manera no farmacológica el funcionamiento del cuerpo humano en general (Lavin et al. 2022). El ejercicio físico, es un subconjunto de la actividad física planificada, estructurada, repetitiva y realizada con la intención de mejorar la salud o el estado físico, el cual promueve diversas adaptaciones metabólicas y funcionales en el músculo esquelético (Theofilidis et al. 2018).

Hay una gran cantidad de beneficios asociados con el ejercicio regular, por lo que el ejercicio de resistencia se recomienda para el tratamiento y prevención de diversas patologías como la obesidad, DM2 y enfermedades cardíacas. Además, también puede mejorar el estado de ánimo, la calidad del sueño y la capacidad cognitiva y mantiene un estado general de salud óptimo (Martínez-Huenchullan et al. 2019), ya que promueve la biogénesis mitocondrial y proporciona una mejora significativa en la función del músculo esquelético (Lambertucci et al. 2006).

Comúnmente, el ejercicio se divide en ejercicio aeróbico (EA) y ejercicio de resistencia (ER). El EA generalmente implica ciclos de movimiento repetidos y se define en función de la contribución de la fosforilación oxidativa al metabolismo bioenergético. Mientras que el ER se llama así debido a los movimientos que se realizan contra una carga, que van desde el peso corporal hasta equipos con peso externo. Si bien los resultados primarios para EA y ER tienden a involucrar la aptitud cardiorrespiratoria y la masa/fuerza muscular, respectivamente, ambos modos tienen numerosos beneficios para múltiples sistemas fisiológicos debido a un conjunto único de desafíos impuestos por cada uno (Coffey et al. 2017).

De manera general, el ejercicio regular promueve la capacidad cardiorrespiratoria (CCR) mantenida o mejorada, la cual es un fuerte predictor de salud y mortalidad en adultos. La CCR se mide como el consumo máximo o pico de oxígeno ($VO_{2m\acute{a}x}$) y refleja un pico fisiológico real en el consumo de oxígeno, que puede alcanzarse por diferentes medios según el individuo. La $VO_{2m\acute{a}x}$ se refiere a la tasa más alta de consumo de oxígeno (Poole y Jones, 2017). Se han informado mejoras de $VO_{2m\acute{a}x}$ del 4 % al 13 % luego de tan solo dos semanas de entrenamiento. Los beneficios innegables del ejercicio continuo son evidentes

en la edad avanzada y en diversas patologías, ya que la $VO_{2m\acute{a}x}$ sufre disminuciones cuando estos trastornos están presentes. Sin embargo, cuando se aplican protocolos de ejercicio se observa aumentos significativos en el $VO_{2m\acute{a}x}$ pese a la presencia de estas condiciones (Lavin et al. 2022).

El músculo esquelético, como ya se mencionó es el principal órgano involucrado en las adaptaciones fisiológicas al ejercicio, es un tejido altamente plástico que adapta su morfología y metabolismo de acuerdo a los estímulos externos. Durante la contracción muscular, las vías metabólicas aeróbicas y anaeróbicas contribuyen al suministro de energía de acuerdo con la duración y la intensidad del esfuerzo muscular. Existe una relación inversa entre la duración y la intensidad del esfuerzo muscular, es decir, las contracciones musculares muy intensas pueden mantenerse solo durante un breve período, mientras que las contracciones menos intensas pueden mantenerse o repetirse durante períodos de tiempo más prolongados. La capacidad de un atleta para realizar trabajo físico está intrínsecamente ligada a las vías metabólicas que sustentan los requisitos de ATP para el rendimiento muscular dado (Theofilidis et al. 2018).

Durante la contracción del músculo esquelético, la carga de energía en el músculo disminuye según la duración y la intensidad del ejercicio. Como resultado, aumentan las proporciones intracelulares de AMP/ATP y ADP/ATP, lo que conduce a la activación de AMPK, una de las principales vías de señalización activas como resultados de las adaptaciones al ejercicio. La actividad de AMPK es estimulada por AMP y ADP e inhibida por la unión de ATP, esta cinasa se considera un sensor central del estado de energía intracelular y mantiene las reservas de energía mediante la regulación de anabólicos y vías catabólicas, asegurando así un equilibrio entre oferta y demanda de energía en el músculo esquelético. Se ha demostrado que la activación farmacológica de AMPK promueve el transporte de glucosa y la oxidación de ácidos grasos, mientras suprime la actividad de la glucógeno sintasa. Además, la activación crónica de AMPK reduce los marcadores de fragilidad del músculo esquelético y mejora la capacidad oxidativa de las fibras musculares al estimular la biogénesis mitocondrial (Kjøbsted et al. 2018).

1.5.1 Ejercicio y obesidad

Los efectos nocivos de la obesidad se ven claramente reflejados en el mal funcionamiento del músculo esquelético, que se caracteriza por una fuerza muscular baja (dinapenia), una cantidad o calidad muscular baja y un rendimiento funcional reducido (Bilski et al. 2022) y altera la dinámica y la distribución normal de las fibras musculares; sin embargo, se ha demostrado que la implementación de diversos protocolos de ejercicio pueden revertir las condiciones anormales de dichas fibras (Pattanakuhar et al. 2016).

Los componentes extracelulares e intracelulares del músculo esquelético cambian de expresión y composición en los trastornos metabólicos, particularmente en la obesidad, no obstante, después de la aplicación de ejercicio, disminuye la grasa almacenada en el músculo (Martínez-Huenchullan et al. 2017), con lo que se mejora la contracción muscular,

aumenta la sensibilidad a la insulina de las células de todo el organismo, principalmente del músculo esquelético, lo que evita la hiperinsulinemia y estimula el transporte de glucosa hacia el interior de la célula (Cartee et al. 2016).

De igual manera, el ejercicio aumenta el flujo sanguíneo a través del TA y la movilización de grasa, lo que lleva a la entrega de ácidos grasos a los músculos esqueléticos, que se basa principalmente en la intensidad del ejercicio y los requisitos metabólicos. Después de la aplicación de protocolos de ejercicio, la grasa dietética almacenada en el tejido adiposo disminuye como resultado de la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo a otros tejidos, como el músculo esquelético. Por lo tanto, la incorporación de rutinas de entrenamiento físico bien diseñadas en un programa de pérdida de peso son estrategias eficientes (Atakan et al. 2021).

De igual manera, se ha observado que la aplicación de protocolos de ejercicio mejoran el perfil lipídico, alterado durante la obesidad, reduce el colesterol, TG y lipoproteínas de baja densidad (LDL) y aumenta los niveles lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Stanton et al. 2022), y se contrarresta el estrés oxidativo, gracias a las adaptaciones a ERO que el músculo esquelético desarrolla durante el ejercicio y se explican por el concepto de hormesis, en el que una sustancia potencialmente dañina proporciona una adaptación a un agente dañino aumentando, por ejemplo, la capacidad antioxidante (Bouviere et al. 2021).

De manera general el ejercicio regular está asociado con numerosas adaptaciones que mejoran el funcionamiento del músculo en la obesidad; se ha observado como la grasa almacenada entre las fibras musculares disminuye (Martínez-Huenchullan et al. 2018), atenúa la inflamación muscular (Botezelli et al. 2016), mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye el estrés oxidativo tisular (He et al., 2016) y mejora la contracción muscular y la resistencia a la fatiga (Gómez-Barroso et al. 2020).

Es importante destacar que la respuesta fisiológica, metabólica y estructural que se obtenga al ejercicio dependerá de la intensidad, la duración y el tipo de ejercicio aplicado (Wang et al. 2021), el cual se puede clasificar en diferente intensidad, según la $VO_{2máx}$ y la frecuencia cardíaca alcanzadas. En el ámbito de la obesidad, se han reportado hallazgos contradictorios acerca de la intensidad óptima del ejercicio para tratar esta patología y sus efectos directos sobre la función muscular. Investigaciones recientes evidencian efectos similares entre el entrenamiento interválico de alta intensidad y el entrenamiento continuo de intensidad moderada; no obstante, no se establece con claridad cuál de los dos es más recomendable para mejorar el funcionamiento del músculo esquelético en pacientes obesos (Martínez-Huenchullan 2018, Wang et al. 2021).

Por lo tanto, es fundamental evaluar los efectos que tienen las diferentes intensidades de ejercicio sobre los perfiles estructurales, bioquímicos y fisiológicos del músculo esquelético durante la obesidad y analizar su efectividad cuando se combinan con otros tratamientos como el diazóxido, que contrarresta los efectos nocivos de la obesidad a nivel sistémico y local.

2. JUSTIFICACIÓN

La obesidad es un problema de salud pública creciente a nivel mundial. Es un estado patológico que deteriora el funcionamiento del músculo esquelético. Se ha observado que el tratamiento con diazóxido y ejercicio mejoran de manera general el funcionamiento muscular.

Sin embargo, se desconoce el efecto que las diferentes intensidades de ejercicio en combinación con el diazóxido tienen sobre la acumulación de grasa y las características morfológicas del músculo esquelético y el efecto que esto tiene sobre la capacidad de contracción, el estrés oxidante, la resistencia a la insulina y la dislipidemia durante la obesidad. Por ello, este trabajo se enfocó en analizar cual intensidad de ejercicio resulta más eficiente en combinación con el diazóxido en un modelo de ratas obesas, con la finalidad de obtener la mejora en el funcionamiento del tejido muscular y por ende de las capacidades metabólicas. Esperando con ello abrir una ventana de tiempo que permita la implementación de un protocolo de ejercicio constante y prolongado que reviertan totalmente los efectos de la obesidad y a la obesidad en sí.

3. HIPÓTESIS

El ejercicio de intensidad moderada en combinación con el diazóxido mejora la capacidad de contracción y disminuye el estrés oxidante al mejorar las características morfológicas de las fibras músculo-esqueléticas, incrementar la sensibilidad a la insulina y disminuir la dislipidemia en ratas obesas.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la intensidad del ejercicio y el diazóxido sobre la capacidad de contracción, el estrés oxidante, las características morfológicas de las fibras músculo-esqueléticas y la resistencia a la insulina y dislipidemia en un modelo de ratas obesas.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar el efecto de la intensidad del ejercicio y el diazóxido sobre la resistencia a la insulina en ratas obesas.
2. Analizar el efecto de la intensidad del ejercicio y el diazóxido sobre el perfil lipídico en ratas obesas.
3. Determinar el efecto de la intensidad del ejercicio y el diazóxido sobre la contracción muscular, la resistencia a la fatiga y el estrés oxidante en músculo esquelético de ratas obesas.
4. Evaluar el efecto de la intensidad del ejercicio y el diazóxido sobre las características morfológicas de las fibras musculares en ratas obesas.

6. ESTRATEGIA GENERAL






Para cumplir con los objetivos se planteó la estrategia experimental que consistió en analizar en ratas macho obesas de la sepa wistar, el efecto de tres diferentes protocolos de entrenamiento, solos y en combinación con diazóxido. Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre los marcadores alterados durante la obesidad, se realizaron una serie de pruebas, análisis de perfil de lípidos y sensibilidad a la insulina en suero sanguíneo, así como pruebas de tensión isométrica en el músculo esquelético, con el fin de evaluar el efecto de los tratamientos directamente sobre el músculo. Además, se realizaron pruebas bioquímicas en el homogenado de músculo, para analizar niveles de ERO, peroxidación lipídica y estado redox del glutatión. Finalmente se evaluaron las características morfológicas de las fibras musculares mediante histología. Todo con el propósito de determinar el protocolo con mejor efecto sobre las alteraciones ocasionadas en el músculo esquelético por la obesidad.

7. CAPÍTULO I

Efecto comparativo de tres diferentes intensidades de ejercicio en combinación con diazóxido sobre la capacidad de contracción y estrés oxidativo de músculo esquelético de ratas obesas

Article

Comparative Effect of Three Different Exercise Intensities in Combination with Diazoxide on Contraction Capacity and Oxidative Stress of Skeletal Muscle in Obese Rats

Mariana Gómez-Barroso ¹, Manuel A. Vargas-Vargas ¹, Donovan J. Peña-Montes ¹ , Christian Cortés-Rojo ¹ , Alfredo Saavedra-Molina ¹, Elizabeth Sánchez-Duarte ² , Alain R. Rodríguez-Orozco ³  and Rocío Montoya-Pérez ^{1,*} 

¹ Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Múgica S/N, Col. Felicitas del Río, Morelia 58030, Mexico

² Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo, Universidad de Guanajuato, Campus León, Eugenio Garza Sada 572, Lomas del Campestre Sección 2, León 37150, Mexico

³ Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chavez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Av. Dr. Rafael Carrillo S/N Esq. Dr. Salvador González Herrejon, Bosque Cuauhtémoc, Morelia 58020, Mexico

* Correspondence: rocio.montoya@umich.mx



Citation: Gómez-Barroso, M.; Vargas-Vargas, M.A.; Peña-Montes, D.J.; Cortés-Rojo, C.; Saavedra-Molina, A.; Sánchez-Duarte, E.; Rodríguez-Orozco, A.R.; Montoya-Pérez, R. Comparative Effect of Three Different Exercise Intensities in Combination with Diazoxide on Contraction Capacity and Oxidative Stress of Skeletal Muscle in Obese Rats. *Biology* **2022**, *11*, 1367. <https://doi.org/10.3390/biology11091367>

Academic Editors: Juana María Sanz and Luis Carrasco Páez

Received: 19 August 2022

Accepted: 14 September 2022

Published: 17 September 2022

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Obesity is a growing public health problem worldwide. It is a pathological state that degrades the proper functioning of skeletal muscle. Diazoxide treatment and exercise have been shown to generally improve muscle function. However, the effect that each of the different exercise intensities has when combined with diazoxide on the contraction capacity, resistance to fatigue and oxidative stress levels in rat skeletal muscle is unknown. Therefore, this work focused on analyzing which exercise intensity was more efficient in combination with diazoxide in improving muscle tissue and its metabolic capacities. The best results were obtained with low- and moderate-intensity exercise when combined with the drug. These results expected to open a window of time that allows the implementation of a constant and prolonged exercise protocol that completely reverses the harmful effects of obesity on muscle tissue and obesity itself.

Abstract: Obesity is a chronic disease that impairs skeletal muscle function, affects the ability to contract, and promotes the development of fatigue. For this reason, the study of treatments that seek to reduce the harmful effects of obesity on muscle tissue has been deepened. Diazoxide treatment and various exercise protocols have been proposed to protect skeletal muscle against oxidative stress and its effects. However, the intensity and duration of exercise combined with diazoxide that would obtain the best results for improving skeletal muscle function in obese rats is unknown. To this end, this study evaluated the effects of three different exercise intensities combined with diazoxide on contraction capacity, resistance to fatigue, markers of oxidative stress, lipid peroxidation, ROS, and glutathione redox status of skeletal muscle. The results showed that treatments with diazoxide and exercise at different intensities improved muscle contraction capacity by reducing oxidative stress during obesity, with the best results being obtained with low-intensity exercise in combination with diazoxide. Therefore, these results suggest that diazoxide and low-intensity exercise improve muscle function during obesity by decreasing oxidative stress with the same efficiency as a moderate-intensity exercise protocol.

Keywords: skeletal muscle; obesity; fatigue; oxidative stress; exercise; diazoxide

1. Introduction

Obesity is a chronic disease triggered by multiple factors, including disordered eating, lack of physical activity and sedentary lifestyle, or metabolic, hormonal, or genetic

alterations [1,2]. It occurs when there is an imbalance between the ingested calories and those spent and is defined as the abnormal deposition of body fat detrimental to health [3]. It is classified as one of the main risk factors for human death, ranking fifth worldwide; it is a pathological state that has been identified as affecting skeletal muscle function, its contraction capacity, and fatigue resistance [2,4]; mentioned damage is characterized by an increase in metabolic and oxidative stress, and cell damage [5].

The increase in body fat during obesity is directly associated with the appearance of numerous metabolic and physiological processes, such as the modification in fiber type from slow to fast, a decrease in the number of fibers and their diameter; an accumulation of fat between the fibers, trigger insulin resistance, and establish a state of chronic inflammation [1,6,7], eventually affecting normal contractile function [8] and favoring the development of fatigue [9]. Also, a decrease in mitochondrial respiration and adenosine triphosphate (ATP) production occurs, as well as an increase in the production of reactive oxygen species (ROS) [10].

The increase in oxidative stress manifests itself in a very significant way in skeletal muscle during obesity, with the excessive increase in ROS levels, lipid disorders, and deregulation of antioxidant defense, which is directly reflected in the deterioration of muscle function [10,11].

In order to combat the harmful effects that obesity has on muscle tissue, pharmacological and non-pharmacological treatments have been studied in depth. For this purpose, treatment with diazoxide, a drug derived from benzothiadiazines, has been proposed [12]. Diazoxide, being an effective agonist of ATP-sensitive K⁺ channels (K_{ATP}), inhibits insulin production and regulates the ability of skeletal muscle to take up glucose; it is a drug used in the treatment of dyslipidemia and obesity [13] since it decreases food consumption and body weight [14], improves fatty acid oxidation and decreases fat storage in the form of adipose tissue [13]. Studies such as that of Alemzadeh et al. in 2008 have shown that it improves the basal metabolic rate and fatty acid oxidation in obese Zucker rats, classifying it as an efficient anti-obesity treatment. Regarding its effects on the muscle tissue of obese models, it has been attributed to the improvement of muscle contraction and resistance to fatigue [12], as well as the decrease in metabolic and oxidative stress by reducing ROS levels and increasing antioxidant defense [13,15]. However, it is important to mention that recent studies have mentioned side effects with diazoxide treatment, mainly when used in human models, effects such as hypertrichosis, fluid retention, gastrointestinal reaction, edema, and neutropenia, so it is imperative to maintain monitoring and control while administering the drug.

In the case of non-pharmacological treatments for metabolic alterations associated with obesity, various exercise protocols have been suggested, with effective results obtained to prevent and counteract said alterations [16]. It has been observed that the application of exercise protocols promotes weight loss, prevents weight gain, and improves the lipid profile [17]. Improved glucose transport and insulin sensitivity are seen [18] and counteract oxidative stress [19,20].

Studies have identified that regular exercise is associated with numerous adaptations that improve the functioning of muscle tissue in obesity; it has been observed how fat stored between muscle fibers decreases [16], attenuates muscle inflammation [21], decreases oxidative tissue stress, and improves muscle contraction and resistance to fatigue [12].

However, the response obtained from the exercise will depend on the intensity, duration and the type of exercise applied [16]; the exercise can be classified in different intensities according to the VO₂ max and the heart rate that is obtained [22]. The exercise protocol applied, will be determine from the physiological and metabolic response obtained [23]. In the case of obesity, there is contradictory information about which exercise intensity would be most optimal to treat the pathology and its direct effects on the functioning of muscle tissue. Recent studies show similar effects between high-intensity interval training and continuous training of moderate intensity, but without making it clear which one is recommended to improve the functioning of muscle tissue during obesity [2,16,23].

Therefore, it is essential to evaluate the effects that different exercise intensities have on the biochemical and physiological profiles of skeletal muscle during obesity, and to analyze their effectiveness when combined with other treatments that counteract the harmful effects of obesity at the systemic and tissue level, i.e., diazoxide.

To this end, the objective was to evaluate the effect of exercise at different intensities in combination with diazoxide on muscle contraction, resistance to fatigue, and oxidative stress of skeletal muscle in obese rats.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Groups

Male rats of the Wistar strain, weighing 300–350 g, were used at the beginning of the experiments. They were kept in acrylic cages under vivarium conditions at room temperature with periods of 12 h of light/12 h of darkness, with free access to food and water. The animals were randomly assigned to sixteen experimental groups, with $n = 6$ per group (see Table 1).

Table 1. Experimental groups.

Groups	Diet	Diazoxide 35 mg/kg	Exercise
Control (C)	Standard rodent chow [®]	no	no
Diazoxide (D)	Standard rodent chow [®]	yes	no
Low-intensity exercise (E1)	Standard rodent chow [®]	no	yes
medium intensity exercise (E2)	Standard rodent chow [®]	no	yes
High-intensity exercise (E3)	Standard rodent chow [®]	no	yes
Low-intensity exercise diazoxide (E1D)	Standard rodent chow [®]	yes	yes
Medium intensity exercise diazoxide (E2D)	Standard rodent chow [®]	yes	yes
High-intensity exercise diazoxide (E3D)	Standard rodent chow [®]	yes	yes
Obese (O)	High-fat diet	no	no
Obese diazoxide (OD)	High-fat diet	yes	no
Obese low-intensity exercise (OE1)	High-fat diet	no	yes
Obese medium intensity exercise di (OE2)	High-fat diet	no	yes
Obese low-intensity exercise diazoxide (OE3)	High-fat diet	no	yes
Obese low-intensity exercise diazoxide (OE1D)	High-fat diet	yes	yes
Obese medium-intensity exercise diazoxide (OE2D)	High-fat diet	yes	yes
Obese low-intensity exercise diazoxide (OE3D)	High-fat diet	yes	yes

The diets were administered for 8 weeks, while the exercise protocols were applied individually at three different exercise intensities (low, medium, and high) for 8 weeks. Diazoxide was administered intraperitoneally for 14 days at a 35 mg/kg dose. Finally, combinations of treatments were performed, respectively.

The diets were administered for 8 weeks; the standard diet for chow[®] rodents had a content of 336 cal/100 g with a proportion of 28.507% protein, 13.496% fat, and 57.996% carbohydrate. The high-fat diet (surround chow[®] and 50% fat [4] presented content of

649.25 cal/100 g with a proportion of 14.05% protein, 69.5% fat, and 21.4% fat (Mexican equivalent food system). Exercise protocols were executed for 8 weeks at three different exercise intensities. The exercise protocols were applied once a day, five days a week, with two rest days. A modified Centurfit[®] treadmill was used with an acrylic box divided into 8 lanes and equipped with movement sensors to produce air-based stimuli when required, and thus promote mobility of the rats [16] (see Table 2). Diazoxide was administered intraperitoneally at a concentration of 35 mg/kg for 14 days [24]. All treatments were applied under the Federal Standard for the Use and Care of Animals (NOM-062-ZOO-1999) issued by the Ministry of Agriculture of Mexico.

Table 2. Exercise protocol.

Groups	E1	E2	E3
Week 1	10 m/min/10 min	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min
Week 2	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min	10 m/min/20 min
Week 3	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min 17 m/min/5 min	17 m/min/15 min
Week 4	10 m/min/15 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min	17 m/min/20 min
Week 5	10 m/min/15 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/10 min
Week 6	10 m/min/20 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/10 min
Week 7	10 m/min/15 min 17 m/min/5 min	10 m/min/20 min 17 m/min/15 min 22 m/min/5 min	17 m/min/5 min 22 m/min/20 min
Week 8	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min	10 m/min/20 min 17 m/min/15 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/25 min

Exercise protocol per week for groups: E1; low-intensity exercise, E2; moderate intensity exercise, E3; high-intensity exercise. The speed is displayed in meters per minute by the time during which this speed was applied.

2.2. Monitoring of Body Weight and Blood Glucose Levels

During the treatment application, weight and glucose were monitored each week. A blood sample was taken by tail puncture (Accu-Chek[®] Instant, Roche DC México S.A de C.V.); the visceral and perigonadal fat was obtained and quantified at the end of the treatment and after sacrifice.

2.3. Muscles Dissection

At the end of the treatment, the rats were subjected to a 12 h fast; after this period, they were sacrificed by decapitation. After sacrifice, the soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles of both hind limbs were dissected and harvested. A pair of muscles were held in Krebs-Ringer solution, and the isometric tension protocol was applied. Simultaneously, the other pair of muscles was stored at -80°C to later homogenize for future biochemical tests [12].

2.4. Isometric Tension Measurements

Soleus and EDL muscles were kept submerged and perfused with Krebs-Ringer solution (118 mM NaCl, 4.75 mM KCl, 1.18 mM MgSO₄, 24.8 mM NaHCO₃, 1.18 mM KH₂PO₄, 10 mM glucose and CaCl₂ 2.54 mM) and carbogen gas (95% O₂ and 5% CO₂). The muscle was cleaned and mounted as indicated in the methodology of Gómez-Barroso et al. 2020, in order to apply the fatigue induction protocol, which consisted of pulses of 100 V,

300 ms duration, and frequency of 45 Hz for soleus muscle and 50 Hz for EDL muscle. The stimulation was stopped once the fatigue and tension records were obtained, analyzed and quantified.

2.5. Reactive Oxygen Species Analysis

ROS production was determined by reacting these molecules with the fluorescent probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA). A total concentration of 0.5 mg/ml of protein was used, which was determined by the biuret method [25]. The protein was suspended in a buffer (HEPES 10 mM, KCl 100 mM, MgCl₂ 3 mM, and KH₂PO₄ 3 mM, pH 7.4) and incubated with the H2DCFDA probe at a concentration of 12.5 μM for 15 min at 4 °C [26]. The basal fluorescence was obtained; after reading, the samples were returned to incubation at room temperature for 60 min, and the fluorescence was obtained again. Wavelengths for measurements consisted of 485/520 nm excitation/emission on a Shimadzu RF-5301PC spectrofluorophotometer. These results are expressed as arbitrary units (AU) per mg of protein.

2.6. Lipid Peroxidation Measurement

To determine lipid peroxidation, the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were analyzed [27]. 0.5 mg/ml of homogenate was used, suspended in 1 ml of phosphate buffer (50 mM KH₂PO₄, pH 7.6), and 2 ml of acid solution (15% trichloroacetic acid, 0.375%, and hydrochloric acid 0.25 M), the mixture was subjected to three cycles of agitation at low temperatures and then incubated for 15 min in boiling water. Finally, the samples were placed on ice for 5 minutes; after this time, the samples were centrifuged at 7500 rpm for 5 min. The absorbance of each sample was measured at a wavelength of 532 nm on a Shimadzu UV-2550 spectrophotometer using a molar extinction coefficient of 156 mM⁻¹ cm⁻¹ [28].

2.7. Determination of Glutathione Status Redox

Muscle glutathione content was evaluated using 0.5 mg/ml sample protein. Samples were resuspended in 0.1 M phosphate buffer, 5.0 mM EDTA-Na₂, 0.10% Triton-100X, and 0.6% 5-sulfosalicylic acid pH 7.5 and mixed vigorously.

They were then sonicated three times for 20 s on ice, followed by two freeze/thaw cycles, and centrifuged for 10 min at 8000 rpm. For total glutathione, 100 μL of the resulting supernatant was mixed and incubated for 30 seconds with 0.1 M phosphate buffer containing 5 mM EDTA-Na₂, 0.1 mM 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, 100 μM glutathione reductase enzyme, and 50 μM NADPH (reduced form). Changes in absorbance were recorded on a Shimadzu spectrometer (model UV-2550 UV VIS) at 412 nm at room temperature. Oxidized glutathione (GSSG) was assayed in 100 μL of supernatant previously incubated with 0.2% 4-vinylpyridine for 60 min. GSH was calculated by subtracting GSSG from total glutathione [28].

2.8. Data Analysis

Results were expressed as the mean ± standard error of independent experiments using samples from different animals. Statistical differences between groups were determined by one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test. A $p \leq 0.05$ was established. The analysis was performed with GraphPad Prism version 6.0 software (San Diego, CA, USA).

3. Results

3.1. Effect of Different Exercise Intensities and Diazoxide on Weight, Glucose, and Visceral and Perigonadal Fat in Obese Rats

The effect of different exercise intensities, diazoxide, and their respective combinations on body weight, fasting serum glucose levels at the end of each treatment and after sacrifice, and the weight of visceral and perigonadal fat was quantified. After applying the various

treatments for 8 weeks, phenotypic and biochemical were observed. Table 3 shows these values. As expected, in the obese group, body weight, plasma glucose levels, and visceral and perigonadal fat increased; however, in the treated obese rats, a decrease in these parameters was observed, and such effect was observed with all the protocols applied. The best results were obtained with low-intensity and moderate-intensity exercise combined with the drug, registering a 30% ($p = 0.024, 0.018$) reduction in body weight, between 61–67.5% ($p = 0.022, 0.016$) in plasma glucose levels and 40% ($p = 0.042, 0.039$) in visceral and perigonadal fat weight vs. the obese group without treatment.

Table 3. Body weight and visceral and perigonadal fat, plasma glucose levels.

Groups	Bodyweight (g)	Glucose (mg/dL)	Visceral and Perigonadal Fat (g)
C	408.245 ± 18.18 ^D	73.83 ± 6.04 ^E	11.07 ± 6.04 ^D
D	413.5 ± 15.23 ^D	86.66 ± 3.66 ^C	9.84 ± 2.84 ^D
E1	425.33 ± 39.62 ^{CD}	77 ± 5.09 ^{EF}	6.2 ± 2.24 ^E
E2	435.8 ± 15.75 ^{CD}	69.2 ± 4.08 ^G	6.28 ± 3.43 ^E
E3	417.5 ± 11.18 ^D	69 ± 2.73 ^G	5.8 ± 2.49 ^E
E1D	588.83 ± 32.86 ^A	111 ± 4.09 ^A	43.32 ± 4.38 ^A
E2D	483.8 ± 23.92 ^B	73.83 ± 2.22 ^E	18.47 ± 3.33 ^C
E3D	497 ± 16.68 ^B	82.85 ± 6.25 ^{CD}	21.39 ± 4.60 ^C
O	455.14 ± 40.71 ^C	85.71 ± 4.75 ^C	21.61 ± 3.79 ^C
OD	515 ± 67.32 ^B	105.16 ± 6.55 ^B	30.88 ± 8.14 ^B
OE1	441.16 ± 30.43 ^C	74.5 ± 2.88 ^E	19.16 ± 4.84 ^C
OE2	441.75 ± 19.55 ^C	68.83 ± 3.54 ^G	20.11 ± 5.94 ^C
OE3	461.13 ± 17.03 ^C	79 ± 2.58 ^D ^F	11.25 ± 3.61 ^D
OE1D	406.4 ± 10.23 ^D	81.8 ± 2.38 ^D	11.85 ± 2.17 ^D
OE2D	404.25 ± 7.45 ^D	70.5 ± 4.66 ^G	10.30 ± 3.12 ^D
OE3D	402.75 ± 10.56 ^D	73.6 ± 3.43 ^{EG}	6.62 ± 1.23 ^E

Effect of different exercise intensities and diazoxide on weight, glucose, and visceral and perigonadal fat in obese rats: C: control; D: diazoxide; E1: low-intensity exercise; E2: moderate-intensity exercise; E3: high-intensity exercise; E1D: low-intensity diazoxide exercise; E2D: moderate-intensity diazoxide exercise; E3D: high-intensity diazoxide exercise O: obese; OD: obese diazoxide; OE1: obese low-intensity exercise; OE2: obese moderate-intensity exercise; OE3: high-intensity exercise obese; OE1D: obese low-intensity exercise diazoxide; OE2D: obese exercise moderate intensity; OE3D: obese high-intensity diazoxide exercise. Data are represented as mean ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) 1-way ANOVA, Tukey's posthoc test, $n = 6$.

3.2. Different Exercise Intensities and Diazoxide Enhance Contraction and Promote Fatigue Resistance of Skeletal Muscle in Obese Rats

To explore the effect of treatment with diazoxide, the different exercise intensities, the combination of both the maximum and total tension, and the time of resistance to fatigue, recording of the isometric tension in soleus muscle and EDL of the different groups was performed. Figure 1 shows the soleus muscle's maximum and total tension and endurance time (Figure 1A,B) and EDL (Figure 1C,D). The graphs show how muscle contraction and fatigue resistance are affected by obesity in both types of muscle, presenting significant decreases compared to the control group ($p = 0.036, 0.017, 0.0058, 0.041, 0.011, 0.0078$). The treatment with the different exercise protocols, combined with diazoxide, increased the force of contraction and the time of resistance to fatigue in both types of muscle during obesity ($p < 0.05$), observing the best results with moderate-intensity exercise in combination with diazoxide and presenting significant increases of than 60% ($p = 0.016, 0.013, 0.0058, 0.0096, 0.0088, 0.0023$) vs. the obese group without treatment.

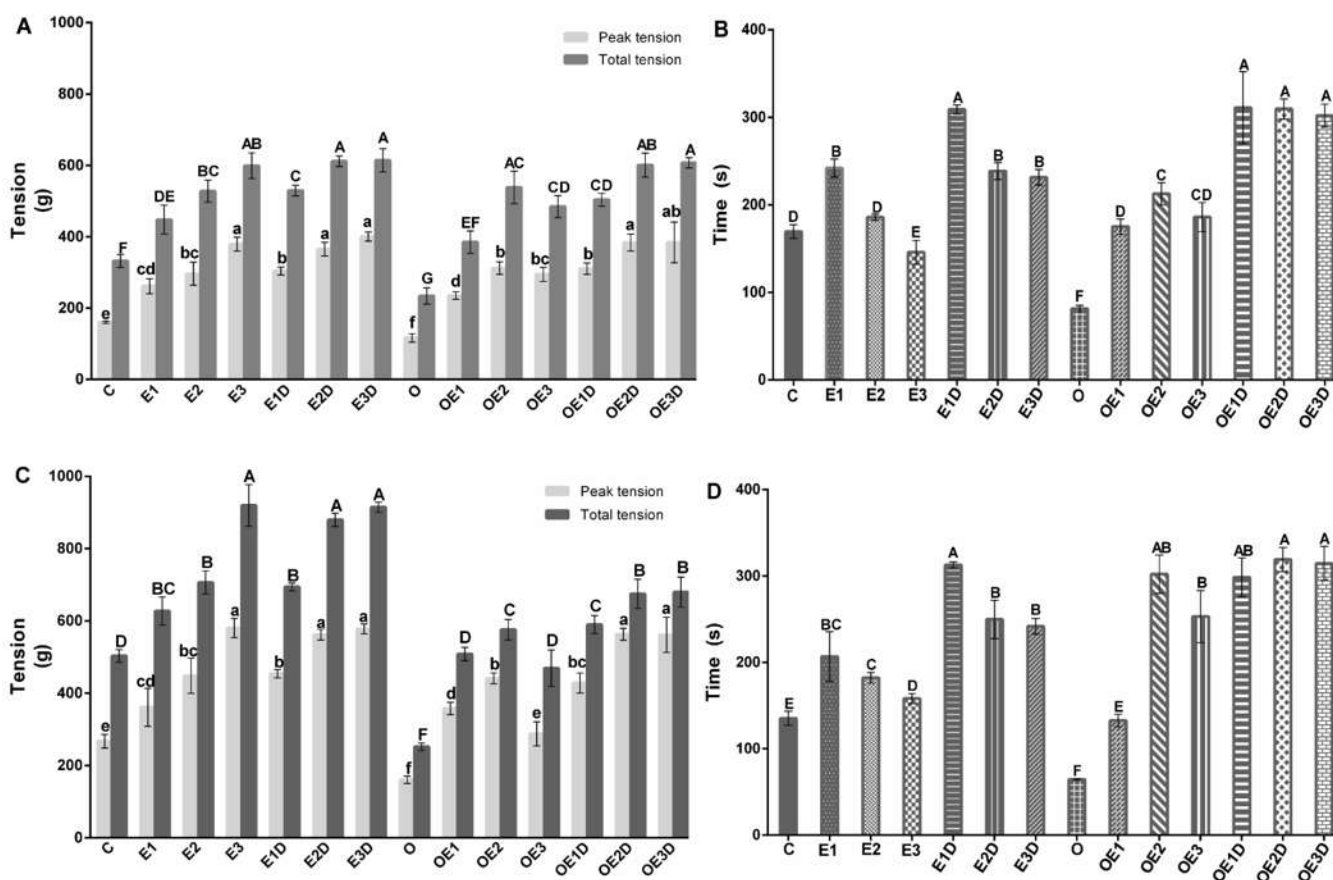


Figure 1. Effect of different intensities of exercise and diazoxide on muscle contraction and resistance to fatigue. (A) Maximum tension and total tension of the soleus muscle, (B) Endurance time to fatigue of the soleus muscle, (C) Maximum and total tension of the EDL muscle, (D) Endurance time to fatigue of the EDL muscle. C: control; D: diazoxide; E1: low-intensity exercise; E2: moderate-intensity exercise; E3: high-intensity exercise; E1D: low-intensity diazoxide exercise; E2D: exercise with moderate intensity diazoxide; E3D: exercise with high-intensity diazoxide; O: obese; OD: obese diazoxide; OE1: low-intensity exercise for obese; OE2: obese athlete of moderate-intensity; OE3: obesity due to high-intensity exercise; OE1D: low-intensity exercise diazoxide in obese; OE2D: moderate-intensity exercise for obese; OE3D: high-intensity diazoxide exercise for obese. Data are represented as mean ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) 1-way ANOVA, Tukey’s posthoc test, $n = 6$.

3.3. Different Intensities of Exercise and Diazoxide Decrease Oxidative Stress and Improve Antioxidant Defense in Skeletal Muscle of Obese Rats

To evaluate the oxidative stress in skeletal muscle of obese rats, we determined the levels of TBARS as an indicator of lipid peroxidation and the levels of ROS. Figure 2 shows the TBARS levels for soleus muscle (2A) and EDL muscle (2B), and Figure 3 shows the ROS levels for soleus muscle (3A) and EDL muscle (3B). The graphs show an increase of over 40% ($p = 0.029, 0.016$) in lipid peroxidation levels and 300% ($p = 0.0067, 0.0074$) in ROS levels during obesity. Notwithstanding the treatments applied, the three different exercise protocols and their respective combinations with diazoxide showed beneficial effects on these parameters, with slight variations between them. They present a decrease in both TBARS and ROS levels in both muscles; the low-intensity and moderate-intensity exercise protocols in combination with diazoxide showed the most significant results, presenting reductions greater than 100% ($p < 0.05$) vs. the obese group without treatment.

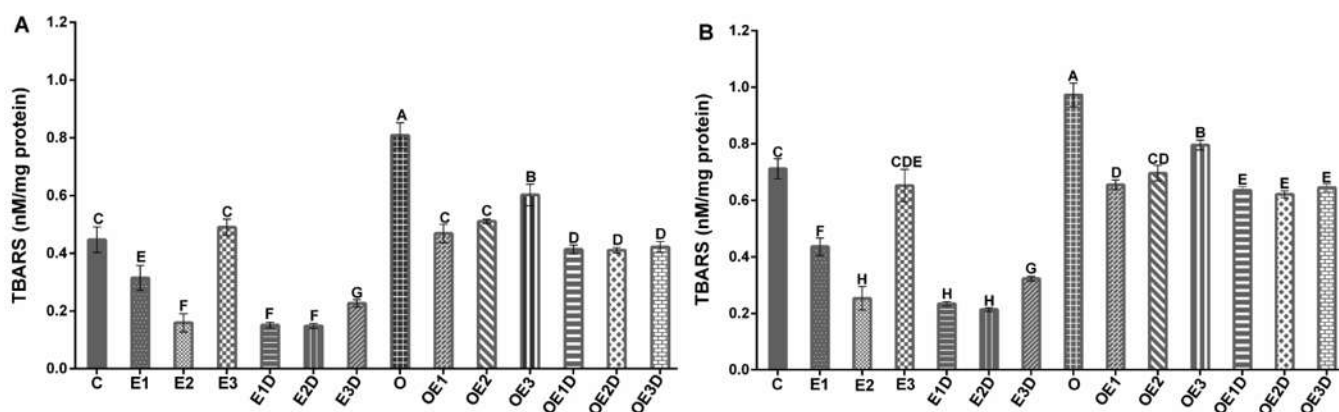


Figure 2. Effect of different exercise intensities and diazoxide on ROS of skeletal muscle in obese rats. (A) Soleus muscle (B) EDL muscle. C: control; D: diazoxide; E1: low-intensity exercise; E2: moderate-intensity exercise; E3: high-intensity exercise; E1D: low-intensity diazoxide exercise; E2D: exercise with moderate intensity diazoxide; E3D: exercise with high-intensity diazoxide; O: obese; OD: obese diazoxide; OE1: low-intensity exercise for obese; OE2: obese athlete of moderate-intensity; OE3: obesity due to high-intensity exercise; OE1D: low-intensity exercise diazoxide in obese; OE2D: moderate-intensity exercise for obese; OE3D: high-intensity diazoxide exercise for obese. Data are represented as mean ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) 1-way ANOVA, Tukey’s posthoc test, $n = 6$.

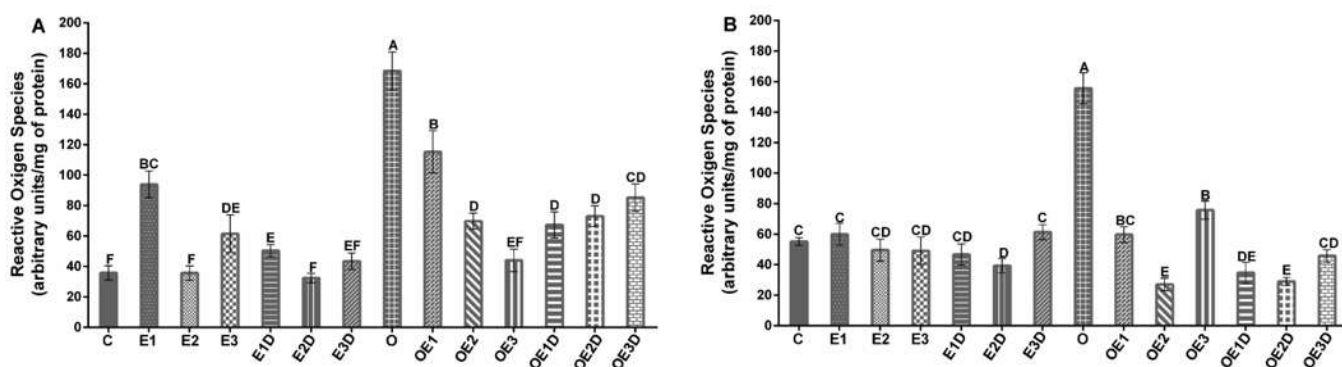


Figure 3. Effect of different exercise intensities and diazoxide on lipid peroxidation of skeletal muscle in obese rats. (A) Soleus muscle (B) EDL muscle. C: control; D: diazoxide; E1: low-intensity exercise; E2: moderate-intensity exercise; E3: high-intensity exercise; E1D: low-intensity diazoxide exercise; E2D: exercise with moderate intensity diazoxide; E3D: exercise with high-intensity diazoxide; O: obese; OD: obese diazoxide; OE1: low-intensity exercise for obese; OE2: obese athlete of moderate-intensity; OE3: obesity due to high-intensity exercise; OE1D: low-intensity exercise diazoxide in obese; OE2D: moderate-intensity exercise for obese; OE3D: high-intensity diazoxide exercise for obese. Data are represented as mean ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) 1-way ANOVA, Tukey’s posthoc test, $n = 6$.

To determine if the lower levels of lipid peroxidation and ROS caused by the different exercise and diazoxide protocols in the muscles of obese rats were directly proportional to the changes in the redox state, the glutathione antioxidant defense system (Figure 4) was analyzed in soleus muscle (Figure 4A,B) and EDL muscle (Figure 4C,D). The redox status of glutathione changed considerably in the muscles of obese rats compared to the muscles of control rats, with a decrease in both total glutathione and the ratio of reduced glutathione/oxidized glutathione (GSH/GSSG). A decrease in total glutathione of 52.3% ($p = 0.021$) was observed, and a decrease in the GSH/GSSG ratio of 71.3% ($p = 0.012$) in soleus muscle and 66.88% ($p = 0.018$) and 54.9% ($p = 0.036$) in EDL muscle. The various treatments applied in the groups of obese rats improved both total glutathione and the

GSH/GSSG ratio. However, the low-intensity exercise treatment in combination with diazoxide presented the best results in both muscles, with significant increases of more than 200% in total glutathione and the GSH/GSSG ($p < 0.05$). These results show how diazoxide potentiates the effects of low-intensity exercise, increasing antioxidant defense and, therefore, decreasing oxidative stress.

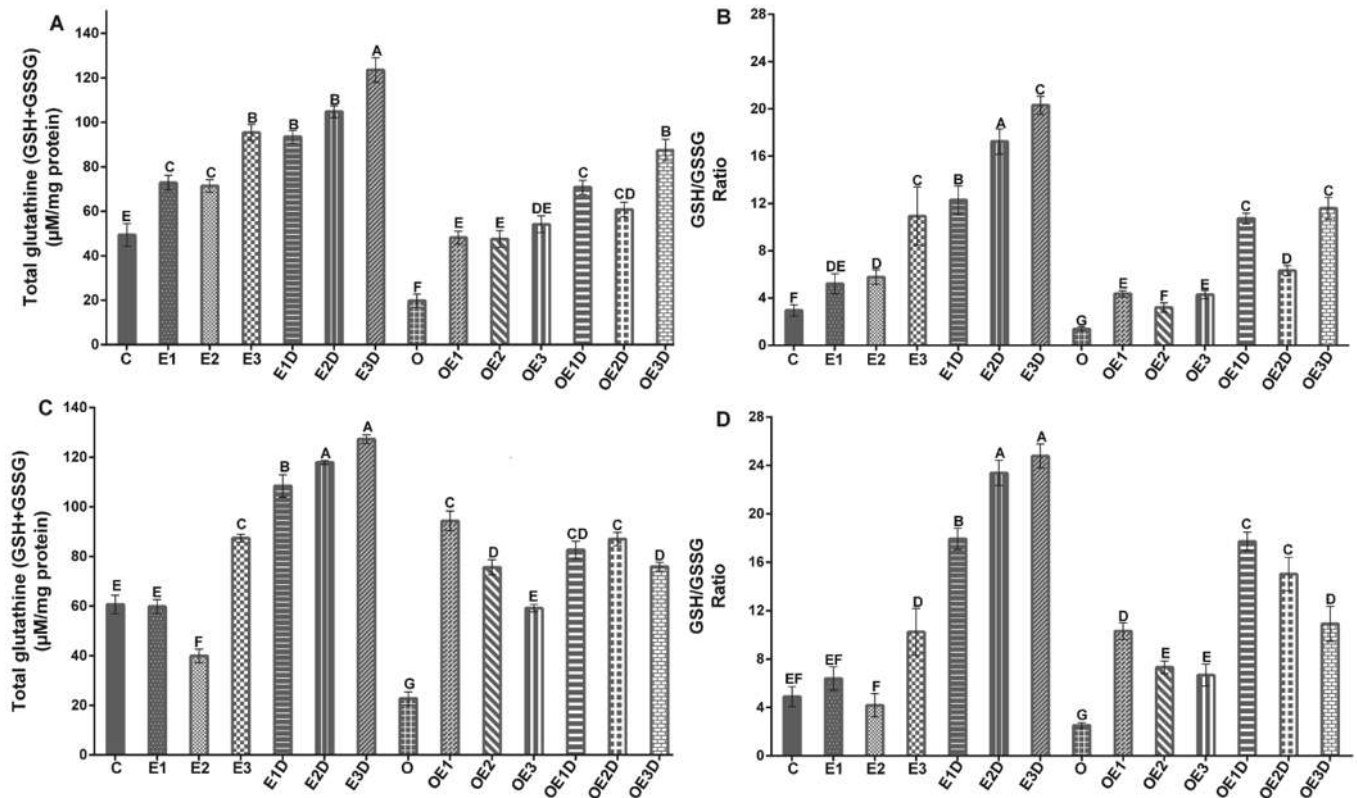


Figure 4. Effect of different exercise intensities and diazoxide on the glutathione redox state of skeletal muscle in obese rats. (A) Total glutathione soleus muscle, (B) Ratio soleus muscle, (C) Total glutathione EDL muscle, (D) Ratio EDL muscle, C: control; D: diazoxide; E1: low-intensity exercise; E2: moderate-intensity exercise; E3: high-intensity exercise; E1D: low-intensity diazoxide exercise; E2D: exercise with moderate intensity diazoxide; E3D: exercise with high-intensity diazoxide; O: obese; OD: obese diazoxide; OE1: low-intensity exercise for obesity; OE2: obese moderate-intensity exerciser; OE3: obesity due to high-intensity exercise; OE1D: low-intensity exercise diazoxide in obesity; OE2D: moderate-intensity exercise for obesity; OE3D: high-intensity diazoxide exercise for obese. Data are represented as mean \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$) 1-way ANOVA, Tukey's posthoc test, $n = 6$.

4. Discussion

The anatomical and functional alterations of skeletal muscle during obesity are complex: this pathology causes muscle atrophy [29], metabolic alterations, and oxidative stress, which leads to a diminution in the capacity of muscle contraction and fatigue resistance [3,9]. Eventually, this alteration will have adverse effects on the entire system, altering the metabolism and triggering other pathologies, such as diabetes, hypertension and even some types of cancer [5,19,30].

In order to counteract the harmful effects of obesity on skeletal muscle tissue, this study compares the effects of three different exercise protocols, which differed from each other in intensity and duration [16], together with the application of diazoxide, a drug derived from benzothiadiazines, which has substantial effects on metabolism during obesity and on the functioning of muscle tissue in general [12,14].

This experimental series was applied to analyze the muscle response to these treatments in the context of diet-induced obesity. The study sought to determine which exercise protocol was most efficient in combination with diazoxide to improve the functioning of muscle tissue and, therefore, its metabolic capacities, thereby opening a window of time that allows the implementation of a constant and prolonged exercise protocol that fully reverses the effects of obesity on skeletal muscle, and eventually obesity itself.

Previous studies have shown that obesity induced by a high-fat diet alters many biochemical and physiological parameters, increases body weight and plasma glucose, triggers insulin resistance, and alters the lipid profile in Wistar rats [1,11,14,30]. We have verified this with our results (Table 3). We observed how weight, glucose, and fat are altered during obesity concerning control. These altered parameters are indicators of alterations in muscle cell metabolism, which is eventually associated with obesity, deterioration of muscle strength, and resistance to fatigue [31]. However, in this study, it was perceived that the treatment with the different exercise protocols and their respective combinations with diazoxide decreased body weight, plasma glucose, and visceral and perigonadal fat during obesity (Table 3). The mentioned effects are associated with the improvement of the basal metabolic rate, the increase in sensitivity to insulin and glucose transport and suppression of hyperinsulinemia, and the increase in the capacity of oxidation of fats [3,14,18,21].

In healthy models, the literature has reported the best effects for moderate-intensity exercise [2,5,32], which is consistent with our results (Table 3). During obesity, it was observed that moderate-intensity exercise shows the best effects on these parameters; however, when combining exercise with diazoxide, this effect was potentiated, showing the best results with low- and moderate-intensity exercise when combined with the drug (Table 3). The results obtained with low-intensity exercise in combination with diazoxide should be highlighted since they are similar to those obtained with moderate-intensity exercise when combined with the drug, which is beneficial and outstanding because the low-intensity protocol is easier to execute.

As we have already mentioned, the alteration of the biochemical and physiological parameters produced by obesity triggers dysfunction of the skeletal muscle tissue [9]. In this experimental series, a decrease in muscular contraction and fatigue resistance was observed in soleus skeletal muscle and EDL of fat rats (Figure 1). The results show off how obesity affects the contractility of both muscles, which is associated with a rise in intramuscular fat [1,9], change in muscle fiber type, metabolic alterations, and an increase in oxidative stress during exercise [2,3,10,33].

However, prior studies have shown that diazoxide has positive effects by preventing and even reversing metabolic disorders that are related to obesity, such as improving insulin sensitivity, which has been associated with a rectification in glucose transport and lipid metabolism [13–15], favoring muscle function. In previous works of our group, the beneficial action of diazoxide treatment on the muscle function of obese rats was confirmed [12]. Improving the muscle metabolic capacities and promoting the opening of KATP channels by diazoxide generates a rise in cellular respiration through better functioning of the electron transport chain (ETC) and, therefore, an improvement in the production of ATP [34,35]. This has a direct effect on improving muscle contraction and reducing muscle fatigue [36,37].

Similarly, exercise has a significant effect on promoting adaptations that improve the metabolic capacities of muscle and its functioning [2,17,38], among which are the reduction in intramuscular fat resulting from an increase in skeletal muscle metabolism [2,5,20], regulation of signaling pathways involved in the optimization of insulin sensitivity and glucose transportation, and the reduction in the lipid outline and stress markers [3,19]. Our results show how the three exercise protocols improve the contraction capacity and resistance to fatigue in the healthy model's two types of muscle. However, in the case of muscle contraction, high-intensity exercise presented the best results, while, in the case of fatigue resistance, we observed that it was low-intensity exercise that presented them (Figure 2). This is dependent on the type of exercise applied, the muscular adaptations

promoted, and the physiological and metabolic response that is obtained [16,22]. At the time of implementing diazoxide into the exercise protocols, it was possible to see how the beneficial effects of exercise were potentiated by presenting with greater capacity for contraction and resistance to fatigue compared to its individual application.

In the pathology case, we observed how all the protocols improved the contraction capacity and the fatigue resistance in both types of muscle, which indicates the plasticity capacity of the muscular tissue to adapt to the exercise type [20,38]. Better results were seen when moderate-intensity exercise in combination with diazoxide was applied (Figure 2), this is consistent with what had been previously reported in our previous study [12]. However, the effect of low-intensity exercise in combination with diazoxide should be highlighted since, when combining this type of exercise with the drug, the effect obtained significantly exceeded, the effects obtained with moderate-intensity exercise applied alone. These results are very relevant since they show that a type of exercise that is easier to apply, such as low-intensity exercise, when combined with the drug equals the results that can be obtained with moderate-intensity exercise.

Obesity increases oxidative stress, eventually damaging muscle tissue function [11,39]. For the proper functioning of skeletal muscle certain concentrations of ROS are needed which are generated both under conditions of rest and during contractile activity [6,40,41]. However, excessive ROS concentrations produced in muscle under certain circumstances cause increased oxidative stress and eventually compromise muscle function [41,42]. During obesity, the increase in free fatty acids and fat storage in skeletal muscle has been related to the development of insulin resistance and a chronic inflammatory state involved in increased ROS levels, lipid peroxidation, and decreased antioxidant defense [6,10].

In this work, different oxidative stress markers were evaluated to analyze their presence during obesity and determine the effects of the different treatments on these markers. For this, the levels of ROS (Figure 2), the levels of TBARS (Figure 3), and the redox state of glutathione (Figure 4) were analyzed.

ROS is one of the primary markers of oxidative stress, the excessive accumulation of these molecules is associated with structural and functional damage to cells. During obesity, there is excessive production of ROS [19,23]. There is a relationship between the amount of ROS produced at the systemic level and in the muscle, and the reduction in muscle contractility and appearance of fatigue [43]. In our results, we can observe how during obesity, there is an overproduction of ROS in muscle tissue (Figure 2). During the pathology, it can have various sources of origin, including hyperglycemia, excess free fatty acids, cytokine production, and excess tissue that must be oxygenated [19]. The application of regular exercise protocols decreases ROS levels [17]. In the case of obesity, it can be seen how the different protocols applied decreased ROS levels, with low- and moderate-intensity exercise presenting the best results. In combination with diazoxide (Figure 2), this effect of exercise had been observed in other studies, mainly when applied at moderate intensity [10,44,45]; however, our results show that similar results are obtained with low-intensity exercise when combined with the drug.

One of the main effects of the increase in ROS is the damage to muscle cell biomolecules, such as proteins, lipids, and nucleic acids [46]. Therefore, in this study the levels of TBARS, an indicator of peroxidation, lipid and oxidative stress were quantified. When there is an increase in ROS production, as in the case of obesity, damaging effects can be produced on the membrane's phospholipids, and as a result, malondialdehyde (MDA) is formed, which is toxic to cells [19,47]. This has been reported to alter the functioning of the ETC, affecting its activity and therefore the production of ATP, which contributes to the fatigue and stress of muscle cells [12,48]. In our results, we can observe in the healthy models for both types of muscle that moderate-intensity exercise presented the best result by decreasing TBARS levels (Figure 3), consistent with what has been reported in the literature where said effect is attributed to this type of exercise [19,49].

On the other hand, obesity increases the levels of lipid peroxidation in muscle tissue; this is associated with the increase in ROS, the increase in adipose tissue and its lipolysis,

triggering of lipid peroxidation and causing structural and functional damage of the muscle cell, which interferes with its ability to contract and resist fatigue [17]. However, when applying the different treatments during obesity in both muscles, a decrease in lipid peroxidation was observed with the three exercise protocols showing the best results in the combination with diazoxide (no statistical differences) (Figure 3), showing how the drug potentiates the effects of exercise. It should be mentioned that this effect is more compatible when combined with low-intensity exercise. The decrease in lipid peroxidation during obesity is associated with the improvement in metabolic and functional capacities of the muscle and, above all, its capacity for contraction and fatigue resistance (Figure 1) [23].

Antioxidant systems in the cells protect them against oxidative stress. Glutathione is included in this system, whose synthesis can be altered by exercise, diet, and age [17,43]. In this study, it was possible to observe how oxidative stress increased as a consequence of obesity-induced skeletal muscle atrophy and vice versa and how, during this pathology, the antioxidant response is insufficient, which promotes the overproduction of ROS and the oxidation of lipids in the cells of the muscle fibers [6,23,47]. Our results showed that total glutathione and the GSH/GSSG ratio of the soleus and EDL muscle (Figure 4) were decreased during obesity, suggesting that obesity interferes with the synthesis of this antioxidant, possibly because the ROS that are overproduced during this disease are related in the activation of signaling pathways that adversely affect glutathione synthesis such as NF-Kb, Sp1, E [11,23,50].

However, the different treatments applied during obesity improve the levels and ratio of glutathione in soleus muscle and EDL, with low-intensity exercise combined with diazoxide presenting the best results (Figure 4). By increasing the antioxidant defense, the oxidative stress caused by obesity is combated, and the harmful effects caused by it can be reversed; that is, it improves muscle function, increases the contraction capacity, and promotes resistance to obesity fatigue [19,51].

In healthy models, it can be seen how high-intensity exercise presented the most significant increase in antioxidant defense (Figure 4), proving how high-intensity exercise attenuates oxidative damage by increasing glutathione levels [23]. However, when combining the protocols with diazoxide, the effects of all of them were potentiated, presenting in this model very similar results between moderate- and high-intensity exercise.

5. Conclusions

Diazoxide potentiates the effects of exercise, regardless of its intensity and duration. The best results during obesity were obtained by combining the drug with low-intensity exercise, resulting in the treatment with the best effects on muscle contraction and fatigue resistance by reducing ROS levels, lipid peroxidation, and enhancing the redox state of glutathione. In healthy models, we rectified that the best effects occur when a moderate intensity protocol is applied and how diazoxide also potentiates these effects.

Author Contributions: Conceptualization, M.G.-B., E.S.-D. and R.M.-P.; methodology, M.G.-B., M.A.V.-V. and D.J.P.-M.; formal analysis, M.G.-B., C.C.-R. and R.M.-P.; investigation, M.G.-B. and A.S.-M.; resources, R.M.-P.; writing—original draft preparation, M.G.-B., C.C.-R. and R.M.-P.; writing—review and editing, M.G.-B., C.C.-R., E.S.-D., A.R.R.-O. and R.M.-P.; supervision, R.M.-P.; project administration, R.M.-P.; funding acquisition, R.M.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was partially funded by Coordinación de la Investigación Científica-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, R.M.P. CIC-UMSNH-2021.

Institutional Review Board Statement: This work was evaluated by the Ethics and Biosafety Committee of the Chemical-Biological Research Institute of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. The committee granted the guarantee of the use of rats (*Ratus norvegicus*) of the Wistar strain following the general provisions of the Official Mexican Standard for the use and maintenance of laboratory animals (NOM-062-ZOO-1999).

Informed Consent Statement: Not applicable, does not involve humans.

Data Availability Statement: This article finds all the data analyzed and obtained.

Acknowledgments: We thank the Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo for allowing the experiments to be carried out at its facilities, and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Erskine, R.M.; Tomlinson, D.J.; Morse, C.I.; Winwood, K.; Hampson, P.; Lord, J.M.; Onambélé, G.L. The individual and combined effects of obesity- and aging-induced systemic inflammation on human skeletal muscle properties. *Int. J. Obes.* **2017**, *41*, 102–111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Heo, J.W.; Yoo, S.Z.; No, M.H.; Park, D.H.; Kang, J.H.; Kim, T.W.; Kim, C.J.; Seo, D.Y.; Han, J.; Yoon, J.H.; et al. Exercise Training Attenuates Obesity-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Mitochondria-Mediated Apoptosis in the Skeletal Muscle. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 2301. [[CrossRef](#)]
3. Bae, J.Y. Resistance Exercise Regulates Hepatic Lipolytic Factors as Effective as Aerobic Exercise in Obese Mice. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 8307. [[CrossRef](#)]
4. Abrigo, J.; Rivera, J.C.; Aravena, J.; Cabrera, D.; Simon, F.; Ezquer, F.; Ezquer, M.; Cabello-Verrugio, C. High Fat Diet-Induced Skeletal Muscle Wasting Is Decreased by Mesenchymal Stem Cells Administration: Implications on Oxidative Stress, Ubiquitin Proteasome Pathway Activation, and Myonuclear Apoptosis. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2016**, *2016*, 9047821. [[CrossRef](#)]
5. Martinez-Huenchullan, S.F.; Ban, L.A.; Olaya-Agudo, L.F.; Maharjan, B.R.; Williams, P.F.; Tam, C.S.; Mclennan, S.V.; Twigg, S.M. Constant-Moderate and High-Intensity Interval Training Have Differential Benefits on Insulin Sensitive Tissues in High-Fat Fed Mice. *Front Physiol.* **2019**, *10*, 459. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Schmidt, F.M.; Weschenfelder, J.; Sander, C.; Minkwitz, J.; Thormann, J.; Chittka, T.; Mergl, R.; Kirkby, K.C.; Faßhauer, M.; Stumvoll, M.; et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0121971. [[CrossRef](#)]
7. Small, L.; Brandon, A.E.; Parker, B.L.; Deshpande, V.; Samsudeen, A.F.; Kowalski, G.M.; Reznick, J.; Wilks, D.L.; Preston, E.; Bruce, C.R.; et al. Reduced insulin action in muscle of high fat diet rats over the diurnal cycle is not associated with defective insulin signaling. *Mol Metab.* **2019**, *25*, 107–118. [[CrossRef](#)]
8. Espinosa, A.; Henríquez-Olguín, C.; Jaimovich, E. Reactive oxygen species and calcium signals in skeletal muscle: A crosstalk involved in both normal signaling and disease. *Cell Calcium* **2016**, *60*, 172–179. [[CrossRef](#)]
9. Choi, S.J.; Files, D.C.; Zhang, T.; Wang, Z.M.; Messi, M.L.; Gregory, H.; Stone, J.; Lyles, M.F.; Dhar, S.; Marsh, A.P.; et al. Intramyocellular Lipid and Impaired Myofiber Contraction in Normal Weight and Obese Older Adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2016**, *71*, 557–564. [[CrossRef](#)]
10. Heo, J.W.; No, M.H.; Park, D.H.; Kang, J.H.; Seo, D.Y.; Han, J.; Neuffer, P.D.; Kwak, H.B. Effects of exercise on obesity-induced mitochondrial dysfunction in skeletal muscle. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **2017**, *21*, 567–577. [[CrossRef](#)]
11. Lipina, C.; Hundal, H.S. Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2017**, *8*, 190–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Gómez-Barroso, M.; Moreno-Calderón, K.M.; Sánchez-Duarte, E.; Cortés-Rojo, C.; Saavedra-Molina, A.; Rodríguez-Orozco, A.R.; Montoya-Pérez, R. Diazoxide and Exercise Enhance Muscle Contraction during Obesity by Decreasing ROS Levels, Lipid Peroxidation, and Improving Glutathione Redox Status. *Antioxidants* **2020**, *9*, 1232. [[CrossRef](#)]
13. Alemzadeh, R.; Karlstad, M.D.; Tushaus, K.; Buchholz, M. Diazoxide enhances basal metabolic rate and fat oxidation in obese Zucker rats. *Metabolism* **2008**, *57*, 1597–1607. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Bischof, J.M.; Wevrick, R. Chronic diazoxide treatment decreases fat mass and improves endurance capacity in an obese mouse model of Prader-Willi syndrome. *Mol. Genet. Metab.* **2018**, *123*, 511–517. [[CrossRef](#)]
15. Loves, S.; van Groningen, L.; Filius, M.; Mekking, M.; Brandon, T.; Tack, C.J.; Hermus, A.; de Boer, H. Effects of Diazoxide-Mediated Insulin Suppression on Glucose and Lipid Metabolism in Nondiabetic Obese Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2018**, *103*, 2346–2353. [[CrossRef](#)]
16. Martinez-Huenchullan, S.F.; Maharjan, B.R.; Williams, P.F.; Tam, C.S.; Mclennan, S.V.; Twigg, S.M. Differential metabolic effects of constant moderate versus high intensity interval training in high-fat fed mice: Possible role of muscle adiponectin. *Physiol. Rep.* **2018**, *6*, e13599. [[CrossRef](#)]
17. Botezelli, J.D.; Cambri, L.T.; Ghezzi, A.C.; Dalia, R.A.; MScariot, P.P.; Ribeiro, C.; Voltarelli, F.A.; Mello, M.A. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. *Diabetol. Metab. Syndr.* **2011**, *3*, 35. [[CrossRef](#)]
18. Cartee, G.D.; Arias, E.B.; Yu, C.S.; Pataky, M.W. Novel single skeletal muscle fiber analysis reveals a fiber type-selective effect of acute exercise on glucose uptake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2016**, *311*, E818–E824. [[CrossRef](#)]

19. Effting, P.S.; Brescianini, S.M.S.; Sorato, H.R.; Fernandes, B.B.; Fidelis, G.D.S.P.; Silva, P.R.L.D.; Silveira, P.C.L.; Nesi, R.T.; Ceddia, R.B.; Pinho, R.A. Resistance Exercise Modulates Oxidative Stress Parameters and TNF- α Content in the Heart of Mice with Diet-Induced Obesity. *Arq. Bras. Cardiol.* **2019**, *112*, 545–552. [[CrossRef](#)]
20. Bouviere, J.; Fortunato, R.S.; Dupuy, C.; Werneck-de-Castro, J.P.; Carvalho, D.P.; Louzada, R.A. Exercise-Stimulated ROS Sensitive Signaling Pathways in Skeletal Muscle. *Antioxidants* **2021**, *10*, 537. [[CrossRef](#)]
21. Botezelli, J.D.; Coope, A.; Ghezzi, A.C.; Cambri, L.T.; Moura, L.P.; Scariot, P.P.; Gaspar, R.S.; Mekary, R.A.; Ropelle, E.R.; Pauli, J.R. Strength Training Prevents Hyperinsulinemia, Insulin Resistance, and Inflammation Independent of Weight Loss in Fructose-Fed Animals. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 31106. [[CrossRef](#)]
22. Hannan, A.L.; Hing, W.; Simas, V.; Climstein, M.; Coombes, J.S.; Jayasinghe, R.; Byrnes, J.; Furness, J. High-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training within cardiac rehabilitation: A systematic review and meta-analysis. *Open Access J. Sports Med.* **2018**, *9*, 1–17. [[CrossRef](#)]
23. Wang, L.; Lavier, J.; Hua, W.; Wang, Y.; Gong, L.; Wei, H.; Wang, J.; Pellegrin, M.; Millet, G.P.; Zhang, Y. High-Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training Attenuate Oxidative Damage and Promote Myokine Response in the Skeletal Muscle of ApoE KO Mice on High-Fat Diet. *Antioxidants* **2021**, *10*, 992. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Moghtadaei, M.; Habibey, R.; Ajami, M.; Soleimani, M.; Ebrahimi, S.A.; Pazoki-Toroudi, H. Skeletal muscle post-conditioning by diazoxide, anti-oxidative and anti-apoptotic mechanisms. *Mol. Biol. Rep.* **2012**, *39*, 11093–11103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Gornall, A.G.; Baradawill, C.J.; David, M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* **1949**, *177*, 751. [[CrossRef](#)]
26. Ortiz-Avila, O.; Sámano-García, C.A.; Calderón-Cortés, E.; Pérez-Hernández, I.H.; Mejía-Zepeda, R.; Rodríguez-Orozco, A.R.; Saa-vedra-Molina, A.; Cortés-Rojo, C. Dietary avocado oil supplementation attenuates the alterations induced by type I diabetes and oxidative stress in electron transfer at the complex II-complex III segment of the electron transport chain in rat kidney mitochondria. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2013**, *45*, 271–287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Buege, J.A.; Aust, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* **1978**, *52*, 302–310.
28. Peña-Montes, D.J.; Huerta-Cervantes, M.; Ríos-Silva, M.; Trujillo, X.; Cortés-Rojo, C.; Huerta, M.; Saavedra-Molina, A. Effects of dietary iron restriction on kidney mitochondria function and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. *Mitochondrion* **2020**, *54*, 41–48. [[CrossRef](#)]
29. Pompeani, N.; Rybalka, E.; Latchman, H.; Murphy, R.M.; Croft, K.; Hayes, A. Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *J. Negat. Results Biomed.* **2014**, *13*, 19. [[CrossRef](#)]
30. Lu, Y.; Li, H.; Shen, S.W.; Shen, Z.H.; Xu, M.; Yang, C.J.; Li, F.; Feng, Y.B.; Yun, J.T.; Wang, L.; et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids Health Dis.* **2016**, *15*, 93. [[CrossRef](#)]
31. Hong, S.H.; Choi, K.M. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 494. [[CrossRef](#)]
32. Liubaoerjijin, Y.; Terada, T.; Fletcher, K.; Boulé, N.G. Effect of aerobic exercise intensity on glycemic control in type 2 diabetes: A meta-analysis of head-to-head randomized trials. *Acta Diabetol.* **2016**, *53*, 769–781. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Brown, D.A.; Chicco, A.J.; Jew, K.N.; Johnson, M.S.; Lynch, J.M.; Watson, P.A.; Moore, R.L. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *J. Physiol.* **2005**, *569 Pt 3*, 913–924. [[CrossRef](#)]
34. Andrukhiv, A.; Costa, A.D.; West, I.C.; Garlid, K.D. Opening mitoKATP increases superoxide generation from complex I of the electron transport chain. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2006**, *291*, H2067–H2074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Costa, A.D.; Quinlan, C.L.; Andrukhiv, A.; West, I.C.; Jabůrek, M.; Garlid, K.D. The direct physiological effects of mitoK_{ATP} opening on heart mitochondria. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2006**, *290*, H406–H415. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. García, M.C.; Hernández, A.; Sánchez, J.A. Role of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels on fatigue in mouse muscle fibers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, *385*, 28–32. [[CrossRef](#)]
37. Sánchez-Duarte, E.; Trujillo, X.; Huerta, M.; Ortiz-Mesina, M.; Cortés-Rojo, C.; Manzo-Ávalos, S.; Saavedra-Molina, A.; Mon-toya-Pérez, R. Mitochondrial KATP channels in skeletal muscle: Are protein kinases C and G, and nitric oxide synthase involved in the fatigue process? *Open Access Animal Physiol.* **2012**, *4*, 21–28.
38. Powers, S.K.; Bomkamp, M.; Ozdemir, M.; Hyatt, H. Mechanisms of exercise-induced preconditioning in skeletal muscles. *Redox Biol.* **2020**, *35*, 101462. [[CrossRef](#)]
39. Persson, M.; Steinz, M.M.; Westerblad, H.; Lanner, J.T.; Rassier, D.E. Force generated by myosin cross-bridges is reduced in myofibrils exposed to ROS/RNS. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2019**, *317*, C1304–C1312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Reid, M.B. Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radic. Biol. Med.* **2008**, *44*, 169–179. [[CrossRef](#)]
41. Powers, S.K.; Ji, L.L.; Kavazis, A.N.; Jackson, M.J. Reactive oxygen species: Impact on skeletal muscle. *Compr. Physiol.* **2011**, *1*, 941–969. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Westerblad, H.; Bruton, J.D.; Katz, A. Skeletal muscle: Energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. *Exp. Cell Res.* **2010**, *316*, 3093–3099. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Fernández, J.M.; Da Silva-Grigoletto, M.E.; Túnez-Fiñana, I. Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Rev. Andal. Med. Deporte* **2009**, *2*, 19–34.

44. Ji, L.L. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.* **2008**, *44*, 142–152. [[CrossRef](#)]
45. Lambertucci, R.H.; Levada-Pires, A.C.; Rossoni, L.V.; Curi, R.; Pithon-Curi, T.C. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech. Ageing Dev.* **2007**, *128*, 267–275. [[CrossRef](#)]
46. Beckendorf, L.; Linke, W.A. Emerging importance of oxidative stress in regulating striated muscle elasticity. *J. Muscle Res. Cell Motil.* **2015**, *36*, 25–36. [[CrossRef](#)]
47. Nonaka, K.; Une, S.; Tatsuta, N.; Ito, K.; Akiyama, J. Changes in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in extensor digitorum longus muscles of streptozotocin-diabetic rats may contribute to muscle atrophy. *Acta Physiol. Hung.* **2014**, *101*, 421–428. [[CrossRef](#)]
48. Estepa, V.; Ródenas, S.; Martín, M.C. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm.* **2001**, *67*, 1–17.
49. Kim, H.K.; Ando, K.; Tabata, H.; Konishi, M.; Takahashi, M.; Nishimaki, M.; Xiang, M.; Sakamoto, S. Effects of Different Intensities of Endurance Exercise in Morning and Evening on the Lipid Metabolism Response. *J. Sports Sci. Med.* **2016**, *15*, 467–476.
50. Marotte, C.; Zeni, S.N. Reactive oxygen species on bone cells activity. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* **2013**, *47*, 661–674.
51. Theofilidis, G.; Bogdanis, G.C.; Koutedakis, Y.; Karatzaferi, C. Monitoring Exercise-Induced Muscle Fatigue and Adaptations: Making Sense of Popular or Emerging Indices and Biomarkers. *Sports* **2018**, *6*, 153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

8. CAPÍTULO II

El ejercicio en combinación con el diazóxido promueven la sensibilidad a la insulina, reducen la dislipidemia y mejoran las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas

RESUMEN

La obesidad es una patología crónico-degenerativa que afecta negativamente el funcionamiento del músculo esquelético. Los efectos adversos de la obesidad sobre el tejido muscular se han relacionado con cambios negativos en las características morfológicas de las fibras musculares, modificaciones asociadas a la disminución de la sensibilidad a la insulina y alteraciones en el perfil lipídico. Por esta razón, se han investigado tratamientos que atenúen los efectos perjudiciales de la obesidad sobre el músculo, como son el tratamiento con diazóxido y diferentes intensidades de ejercicio. No obstante, se desconoce cuál intensidad de ejercicio en combinación con el diazóxido puede disminuir con mayor eficiencia la acumulación de grasa en el músculo y evitar cambios en la morfología de las fibras, y como esto afecta la sensibilidad a la insulina y el perfil lipídico durante la obesidad. Con este objetivo este estudio evaluó diferentes intensidades de ejercicio combinados con diazóxido y sus efectos sobre la resistencia a la insulina y el perfil lipídico y las características morfológicas de las fibras musculares en ratas obesas. Los resultados del estudio indicaron que el tratamiento con diazóxido y ejercicio a diferentes intensidades mejoró el perfil lipídico y la sensibilidad a la insulina y evitó la modificación de las características morfológicas de las fibras musculares durante la obesidad. Obteniéndose los mejores resultados con el ejercicio de baja intensidad en combinación con el diazóxido. Por lo tanto, el diazóxido y el ejercicio de baja intensidad pueden mejorar la función muscular durante la obesidad al mejorar las características morfológicas del tejido y el estado metabólico local y sistémico.

Palabras clave: Músculo esquelético, fibras musculares, obesidad, resistencia a la insulina, diazóxido, ejercicio

1. INTRODUCCIÓN

Los casos de obesidad siguen aumentando de manera severa a nivel mundial y es poco probable que se produzca un estancamiento en las próximas décadas. La obesidad es una condición que tiene graves efectos sobre la salud física, resultando un detonante para numerosas enfermedades (Gihring et al. 2020). Es una patología crónica desencadenada por la desordenada alimentación, falta de actividad física y sedentarismo o bien por alteraciones metabólicas, hormonales o genéticas (Erskine et al. 2016).

Se ha identificado a la obesidad como una condición que afecta el funcionamiento de numerosos órganos, debido al incremento que se presenta en esta condición del tejido adiposo (TA) en el área abdominal, visceral y ectópica y al lipólisis de este (Cho et al. 2022). Además, se presenta una secreción alterada de adipocinas, principalmente TNF- α , Interleucina 1, interleucina 6 y la proteína quimio-atrayente de monocitos (Jung y choi, 2014) y al aumento de macrófagos (Curley et al. 2020; Gihring et al. 2020), lo que desencadena un estado inflamatorio crónico en una variedad de tejidos, incluidos el mismo TA, el músculo esquelético, el hígado, los islotes del páncreas, el intestino e incluso el cerebro. Este estado de inflamación de bajo grado se considera un vínculo causal entre la obesidad y la resistencia a la insulina (RI) (Heo et al. 2018; Miao et al. 2020; Wu et al. 2020).

En principio el papel más importante del TA es el almacenamiento de energía en forma de Triacilglicéridos (TG); sin embargo, al presentarse la obesidad, el cuerpo promueve la diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros (hiperplasia) (Ebbert y Jensen, 2013; Imierska et al. 2020). Cuando el TA ha alcanzado su máxima capacidad de almacenamiento (hipertrofia), el adipocito se hace resistente a la insulina, por lo que las moléculas TG permanecerán mayor tiempo en sangre, promoviendo la dislipidemia y permitiendo que otros tejidos diferentes al adiposo queden expuestos a este flujo de lípidos favoreciendo la aparición de la insulino resistencia en hígado, músculo esquelético y páncreas (Eriksson-Hogling et al. 2015; Wu et al. 2017). Se cree que la alteración de la capacidad de respuesta de los adipocitos a la insulina en la obesidad afecta secundariamente el metabolismo al limitar la capacidad del tejido adiposo para almacenar lípidos y secuestrar ácidos grasos lejos de los tejidos periféricos (Pedersen et al. 2015, Imierska et al., 2020).

Los individuos con RI generalmente presentan dislipidemia, debido a una mayor disponibilidad de ácidos grasos libres, presentando niveles elevados de colesterol y TG, así como de lipoproteínas LDL y niveles disminuidos de lipoproteínas HDL (Klop et al. 2013; Fazakerley et al. 2019). Esto promueve la RI y

un estado inflamatorio, que a su vez promueve la aparición de otras patologías como la diabetes, aterosclerosis, hígado graso, entre otras (Qbal et al. 2017).

De manera general, en la obesidad existe incremento de la lipólisis, consecuencia de un estado de inflamación y dislipidemia, que da como resultados una liberación excesiva de ácidos grasos no esterificados y su eventual almacenamiento ectópico. El incremento intracelular de ácidos grasos y diacilgliceroles (DAG) activan a la proteína cinasa C (PKC), lo que promueve RI e incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) lo que promueve la disfunción mitocondrial (Sangwung et al. 2020). Adicionalmente, los ácidos grasos intracelulares permiten la activación de vías de señalización intracelular relacionadas con la inflamación. Por ejemplo, la activación de NFKB y JNK-1, los cuales tienen un papel importante en la producción sostenida de las citocinas proinflamatorias (Small et al. 2019; Sangwung et al. 2020).

El efecto que la obesidad tiene sobre el músculo esquelético resulta de gran importancia, ya que además de ser un órgano encargado de brindar las características de estructura y movimiento al cuerpo humano, es el órgano más importante para la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo, por lo que cualquier mal funcionamiento de este órgano tendrá graves repercusiones metabólicas (Wu et al. 2017).

El aumento de grasa que se produce durante la obesidad ya sea en forma de TA, ácidos grasos libres o TA ectópico, está directamente asociado con atrofia significativa el músculo esquelético (Pompeani et al. 2014; Ahn y kim, 2020) y con ello, la aparición de alteraciones en numerosos procesos metabólicos y fisiológicos del órgano, como son:

La modificación en los tipos de fibras musculares, retrasos en la regeneración del músculo, lo que impide una correcta reparación y remodelación de los músculos dañados, además de presentarse un aumento de la proteólisis y con ello una disminución en la cantidad de fibras musculares y su diámetro, resultando en la pérdida de tejido muscular en general (Brown et al. 2015; Polyzos y Margioris, 2018).

El incremento de la grasa almacenada en el tejido muscular, aunado al incremento del estado inflamatorio, promueve la RI del músculo, generando hiperinsulinemia (Bae et al. 2016), lo que está estrechamente relacionados con la obesidad sarcopénica (Polyzos y Margioris, 2018; Hong y Choi 2020), en la cual, se reduce la biogénesis mitocondrial, se altera la mitofagia y se promueve la apoptosis, con lo que se induce estrés celular y mitocondrial y se pierde la composición y estructura del músculo esquelético (Heo et al. 2017).

Sin embargo, con la finalidad de combatir los efectos nocivos que se le atribuyen a la obesidad a nivel sistémico y local, se ha profundizado en la implementación de tratamientos farmacológicos y no farmacológicos a los que se les atribuyen efectos positivos sobre las alteraciones producidas por la obesidad, como son el tratamiento con diazóxido, un fármaco derivado de las benzotiadiazinas sin efecto diurético (Gómez-Barroso et al. 2020), así como la implementación de diferentes intensidades de ejercicio, que se caracterizan por su capacidad de promover adaptaciones metabólicas en el organismo en general y más específicamente en el músculo esquelético (Pattanakuhar et al. 2016) y las respectivas combinaciones de estos tratamientos.

El diazóxido es un fármaco asociado a múltiples beneficios para la salud, debido a que este fármaco presenta una potente acción de apertura de los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) de la mitocondria (Nakagawa et al. 2012).

El diazóxido también es un vasodilatador, un anti-hipoglucemiante y un inhibidor de la secreción de insulina. Por lo que se considera un fármaco benéfico para tratar la obesidad. Esto se debe a que reduce la ingesta de alimentos y el aumento de peso, evita la hiperinsulinemia, mejora la sensibilidad a la insulina, mejora el perfil lipídico y regula la capacidad del músculo esquelético para captar glucosa. En conjunto, estas propiedades contrarrestan la difusión mitocondrial y ayudan a controlar los niveles de glucemia (Alemzadeh et al. 2008; Bischof et al. 2018).

La utilización de diazóxido durante la obesidad ha demostrado ser eficaz al disminuir el almacenamiento de grasas en forma de TA al mejorar la oxidación de ácidos grasos (Alemzadeh et al. 2008; Loves et al. 2018; Cowen y bathnagar, 2020). Sobre su efecto en el músculo esquelético, investigaciones recientes, han demostrado que el diazóxido mejora la contracción muscular y la resistencia a la fatiga, en modelos obesos, además de reducir los niveles de estrés oxidativo (Alemzadeh et al. 2008; Loves et al. 2018; Gómez-Barroso et al. 2020).

Sin embargo, es importante mencionar que algunas investigaciones han mencionado efectos secundarios con el tratamiento de diazóxido, sobre todo, cuando es utilizados en modelos humanos, efectos tales como, hipotensión e hiperglucemia, hipertricosis, retención de líquidos, reacción gastrointestinal, edema, neutropenia, por lo que es de suma importancia mantener un monitoreo y control mientras se administra el fármaco (Chen et al. 2021).

En cuanto a tratamientos no farmacológicos para la obesidad se ha planteado la implementación de protocolos de ejercicio. El ejercicio es un conjunto de acciones motoras músculo-esqueléticas, que generan un gasto de energía y que mejoran de manera no farmacológica el funcionamiento del cuerpo humano en general (Lavin et al. 2022). El ejercicio físico, es un subconjunto de la actividad física planificada,

estructurada, repetitiva y realizada con la intención de mejorar la salud o el estado físico, el cual promueve diversas adaptaciones metabólicas y funcionales en el músculo esquelético (Theofilidis et al. 2018).

Los efectos nocivos de la obesidad se ven claramente reflejados en el mal funcionamiento del músculo esquelético, que se caracteriza por una fuerza muscular baja (dinapenia), una cantidad o calidad muscular baja y un rendimiento funcional reducido (Bilski et al. 2022), se ha demostrado que la implementación de diversos protocolos de ejercicio pueden revertir las condiciones anormales de dichas fibras (Pattanakuhar et al. 2016), se evita la alteración morfológica de las fibras musculares (Martínez-Huenchullan et al. 2018), con lo que se mejora la contracción muscular, aumenta la sensibilidad a la insulina de las células de todo el organismo, principalmente del músculo esquelético, lo que evita la hiperinsulinemia y estimula el transporte de glucosa hacia el interior de la célula (Cartee et al. 2016).

De igual manera, el ejercicio evita la dislipidemia (Atakan et al. 2021), reduce el colesterol y TG y aumenta los niveles lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Imierska et al., 2020, Stanton et al. 2022).

Es importante destacar que la respuesta fisiológica, metabólica y estructural que se obtenga al ejercicio dependerá de la intensidad, la duración y el tipo de ejercicio aplicado (Wang et al. 2021), el ejercicio se puede clasificar en diferente intensidad, según la $VO_{2m\acute{a}x}$ y la frecuencia cardiaca alcanzadas. En el ámbito de la obesidad, se han reportado hallazgos contradictorios acerca de la intensidad óptima del ejercicio para tratar esta patología y sus efectos directos sobre la función muscular. Investigaciones recientes evidencian efectos similares entre el entrenamiento interválico de alta intensidad y el entrenamiento continuo de intensidad moderada (Kim et al. 2016), no obstante, no se establece con claridad cuál de los dos es más recomendable para mejorar el funcionamiento del músculo esquelético en pacientes obesos (Martínez-Huenchullan 2018; Wang et al. 2021).

Por lo tanto, es fundamental evaluar los efectos que el ejercicio presenta sobre los perfiles estructurales, bioquímicos y fisiológicos del músculo esquelético durante la obesidad y analizar su efectividad cuando se combinan con otros tratamientos como el diazóxido. Con este objetivo se planteó evaluar el efecto del ejercicio a tres diferentes intensidades en combinación con el diazóxido sobre la sensibilidad a la insulina, el perfil lipídico y las características morfológicas de las fibras musculares en ratas obesas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Animales experimentales y grupos

Se utilizaron ratas Wistar macho de entre 300-350 g. Los animales se mantuvieron en jaulas acrílicas en condiciones de bioterio a temperatura ambiente en un período de 12 h de luz/12 h de oscuridad, con libre acceso a alimento y agua. Los animales fueron asignados aleatoriamente a dieciséis grupos (ver tabla 1).

Tabla 1. Grupos experimentales

Grupos	Dieta	Diazóxido 35 mg/kg	Ejercicio
Control (C)	Estandard rodent chow®	no	no
Diazóxido (D)	Estandard rodent chow®	si	no
Ejercicio baja intensidad (E1)	Estandard rodent chow®	no	si
Ejercicio moderada intensidad (E2)	Estandard rodent chow®	no	si
Ejercicio alta intensidad (E3)	Estandard rodent chow®	no	si
Ejercicio baja intensidad diazóxido (E1D)	Estandard rodent chow®	si	si
Ejercicio moderada intensidad diazóxido (E2D)	Estandard rodent chow®	si	si
Ejercicio alta intensidad diazóxido (E3D)	Estandard rodent chow®	si	si
Obesas (O)	Dieta alta en grasas	no	no
Obesas diazóxido (OD)	Dieta alta en grasas	si	no
Obesas ejercitadas baja intensidad (OE1)	Dieta alta en grasas	no	si
Obesas ejercitadas moderada intensidad (OE2)	Dieta alta en grasas	no	si
Obesas ejercitadas alta intensidad (OE3)	Dieta alta en grasas	no	si
Obesas ejercitadas baja intensidad diazóxido (OE1D)	Dieta alta en grasas	si	si
Obesas ejercitadas moderada intensidad diazóxido (OE2D)	Dieta alta en grasas	si	si
Obesas ejercitadas alta intensidad diazóxido (OE3D)	Dieta alta en grasas	si	si

Chow® tiene un contenido calórico de 336 cal/100 g con una proporción de 28.507% de proteínas, 13.496% de grasas y 57.996% de carbohidratos. La dieta alta en grasas (surround Chow®) y 50% grasa (Abrigo et al. 2016), presentó un contenido calórico de 649.25 cal/100 g con una proporción de 14.05% proteína, 69.5% grasa y 21.4% de carbohidratos (equivalente mexicano sistema alimentario). Se aplicó el protocolo de ejercicio durante 8 semanas a tres diferentes intensidades: baja, media y alta (ver tabla 2) y se aplicó diazóxido a una dosis de 35 mg/kg por vía intraperitoneal durante 14 días. Todos los procedimientos con animales se realizaron por el Reglamento Federal para el Uso y Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999) emitida por la Secretaría de Agricultura de México.

Tabla 2. Protocolos de ejercicio

Grupos	E1	E2	E3
Semana 1	10 m/min/10 min	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min
Semana 2	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min	10 m/min/20 min
Semana 3	10 m/min/10 min	10 m/min/15 min 17 m/min/5 min	17 m/min/15 min
Semana 4	10 m/min/15 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min	17 m/min/20 min
Semana 5	10 m/min/15 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/10 min
Semana 6	10 m/min/20 min	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/10 min
Semana 7	10 m/min/15 min 17 m/min/5 min	10 m/min/20 min 17 m/min/15 min 22 m/min/5 min	17 m/min/5 min 22 m/min/20 min
Semana 8	10 m/min/15 min 17 m/min/10 min	10 m/min/20 min 17 m/min/15 min 22 m/min/5 min	17 m/min/10 min 22 m/min/25 min

2.1 Prueba de tolerancia a la insulina (TTI)

Al final de los protocolos experimentales se realizó una prueba de tolerancia a la insulina (TTI) para todos los grupos. Las ratas ayunaron durante 12 h, la concentración de glucosa se determinó al $t = 0$, antes de la administración de insulina (i.p. 0.75 U/kg de peso corporal), se monitorearon los niveles de glucosa (Accu-Chek® Instant) a los 30, 60, 90 y 120 min posteriores a la aplicación. La respuesta de glucosa en sangre se calculó como el área bajo la curva (AUC-ITT) según el modelo matemático TAI33 (Sánchez-Duarte et al. 2021).

2.2 Perfil lipídico

A lo largo del experimento cada semana se monitoreó el peso y la glucosa (Accu-Chek® Instant). Al finalizar los tratamientos y posterior al sacrificio se realizó la obtención de suero sanguíneo para la medición del perfil de lípidos por métodos enzimáticos con el kit de VITROS Chemistry Products (Ortho Clinical Diagnostics Inc. Rochester, NY, EE. UU.), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

2.3 Disección del músculo

Al final del experimento, las ratas ayunaron durante 12 h y fueron sacrificadas por decapitación. Se realizó una disección para obtener los músculos sóleo y extensor largo de los dedos (EDL) de las dos extremidades posteriores (Gómez-Barroso et al. 2020).

2.4 Histología

Las secciones de músculo esquelético fueron fijadas en formalina al 10%, se incluyeron en bloques de parafina y se seccionaron con un micrótopo a un espesor de 5 μm . La tinción se realizó con hematoxilina y eosina (H&E). Se analizó la histología, la acumulación de grasa entre y alrededor de las fibras musculares y el tamaño y superficie de las mismas y se tomó un registro fotográfico. Las mediciones se realizaron con el software ImageJ y los resultados fueron analizados estadísticamente (Montalvo, 2010; Megías et al. 2018; García-Berumen et al. 2022).

3. RESULTADOS

3.1 *El ejercicio a diferentes intensidades en combinación con el diazóxido mejora la sensibilidad a la insulina en ratas obesas*

La obesidad se considera una patología con severos efectos sobre la sensibilidad a la insulina y la capacidad de asimilar la glucosa, mecanismos que a la larga deterioran el funcionamiento general del organismo y promueven el desarrollo de otras patologías subyacentes. Por tales motivos, se muestra en la figura 1 los resultados del test de tolerancia a la insulina (TTI) realizado en ratas obesas, así como los resultados que se obtuvieron al aplicar diferentes intensidades de ejercicio y sus respectivas combinaciones con diazóxido. En la figura 1A se muestran los resultados de los niveles de glucosa en sangre posterior a la aplicación de la dosis de insulina, a los 30, 60, 90 y 120 min para cada uno de los grupos experimentales. Mientras que en la figura 1B se muestra el área bajo la curva de la prueba TTI (ITT-AUC). En la figura 1A se apreció como durante la obesidad se desencadenó el mecanismo de resistencia a la insulina, ya que la disminución de los niveles de glucosa no se presentó de manera eficiente en comparación al grupo control. Sin embargo, se observó que todos los tratamientos mejoraron la sensibilidad a la insulina durante la obesidad, ya que se pudo apreciar cómo, posterior a la aplicación de la dosis única de insulina, los niveles de glucosa descendieron a través del tiempo, de manera similar a como ocurrió en el grupo control y en algunos casos de manera más eficiente, como en el caso del grupo de ratas obesas ejercitadas con moderada intensidad y diazóxido, y el grupo obesas ejercitadas alta intensidad diazóxido, Esto se aprecia con mayor claridad en la figura 1B, donde se trazó el ITT-AUC para todos los grupos. Se aprecia como todos los tratamientos mejoraron la sensibilidad a la insulina, presentándose los mejores resultados en el grupo obeso

tratado con diazóxido y con las tres intensidades de ejercicio cuando se combinan con el fármaco, obteniéndose resultados similares al grupo control y sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre ellos, con una reducción estimada que osciló entre 60% ($P < 0.05$) para cada tratamiento vs el grupo obeso sin tratamiento. Lo que sugiere que el ejercicio, sin importar su intensidad, cuando es combinado con el diazóxido mejora la sensibilidad a la insulina durante la obesidad en comparación a cuando se aplica solo.

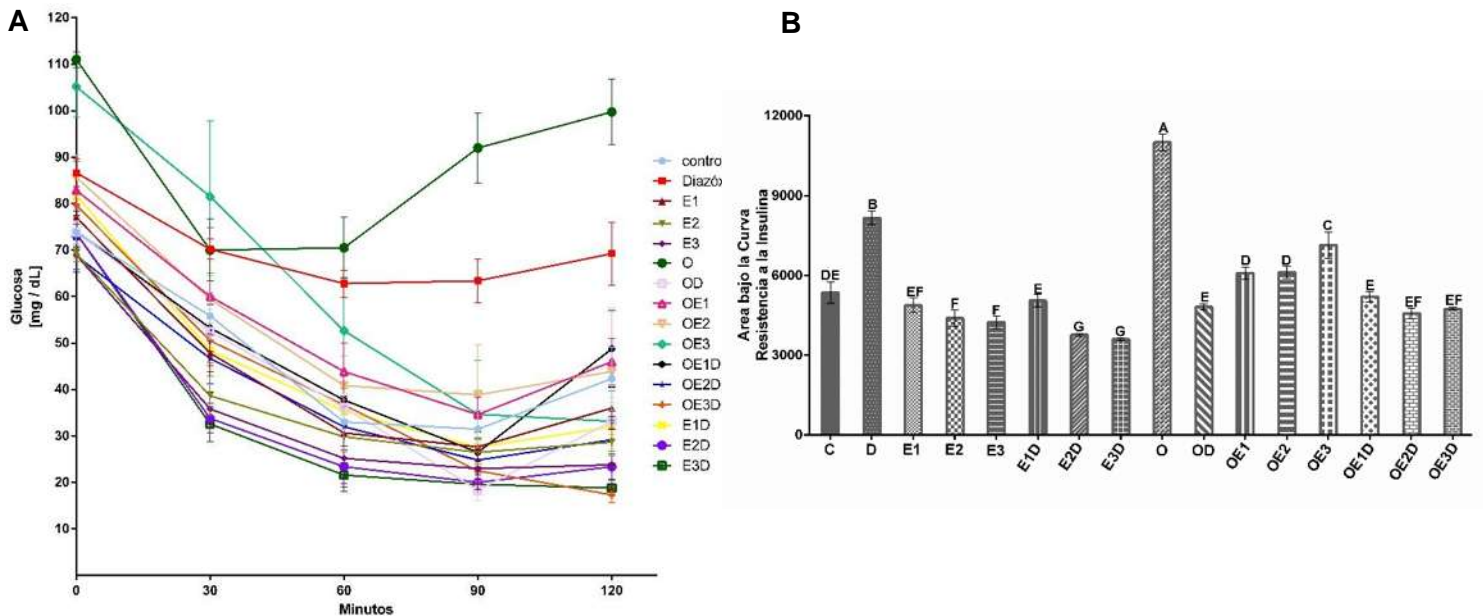


Figura 1. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre la sensibilidad a la insulina de ratas obesas. (A) Tolerancia a la insulina a través del tiempo. (B) Área bajo la curva de la TTI C: control; D: diazóxido; E1: ejercicio de baja intensidad; E2: ejercicio de intensidad moderada; E3: ejercicio de alta intensidad; E1D: ejercicio con diazóxido de baja intensidad; E2D: ejercicio con diazóxido de intensidad moderada; E3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad; O: obeso; OD: obeso diazóxido; OE1: ejercicio de baja intensidad para obesos; OE2: atleta obeso de intensidad moderada; OE3: obesidad por ejercicio de alta intensidad; OE1D: diazóxido de ejercicio de baja intensidad en obesos; OE2D: ejercicio de intensidad moderada para obesos; OE3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad para obesos. Los datos se representan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($P < 0,05$) ANOVA de 1 vía, prueba posthoc de Tukey, $n = 6$.

3.2 Efecto del ejercicio a diferentes intensidades en combinación con diazóxido sobre el perfil de lípidos

Al igual que la sensibilidad a la insulina, los parámetros del perfil lipídico se ven alterados durante la obesidad, sobre todo a consecuencia del incremento del tejido adiposo y la lipólisis de este y a consecuencia de la resistencia a la insulina desencadenada por la obesidad. En la figura 2 y en la tabla 3 se muestran los resultados del perfil lipídico en plasma sanguíneo para cada tratamiento. En la figura

2 se muestra la concentración de colesterol (2A) y de triglicéridos (2B), mientras que en la tabla 3 se muestran las concentraciones de lipoproteínas. En este trabajo se observó como la obesidad generó un estado de dislipidemia. Se aprecia como durante la patología los niveles de colesterol (2A) y triglicéridos (2B) se encuentran incrementados con respecto al grupo control, observándose incrementos en estos parámetros superiores al 10% ($P < 0.05$), de igual manera los niveles de lipoproteínas se encontraron alterados, se pudo observar una disminución significativa del 40 % ($P < 0.05$) de los niveles de HDL y un incremento muy superior al 100 % ($P < 0.05$) en las lipoproteínas LDL y VLDL.

Empero, cuando los modelos de ratas obesas fueron tratados con diazóxido, las diferentes intensidades de ejercicio y las respectivas combinaciones de estas con el fármaco, se apreció mejora general en el perfil de lípidos. Los resultados más eficientes se obtuvieron con el ejercicio de moderada intensidad cuando se combinaron con el diazóxido, presentándose disminuciones mayores al 70 % ($P < 0.05$) vs el grupo obeso sin tratamiento en los niveles de colesterol y triglicéridos. De igual manera se observó la mejora en las lipoproteínas, presentándose incrementos mayores al 200 % ($P < 0.05$) en las HDL y disminuciones superior al 90 % ($P < 0.05$) en LDL y VLDL. Estos resultados sugieren como el fármaco potencializó los efectos de los protocolos de entrenamiento especialmente los de baja y modera intensidad.

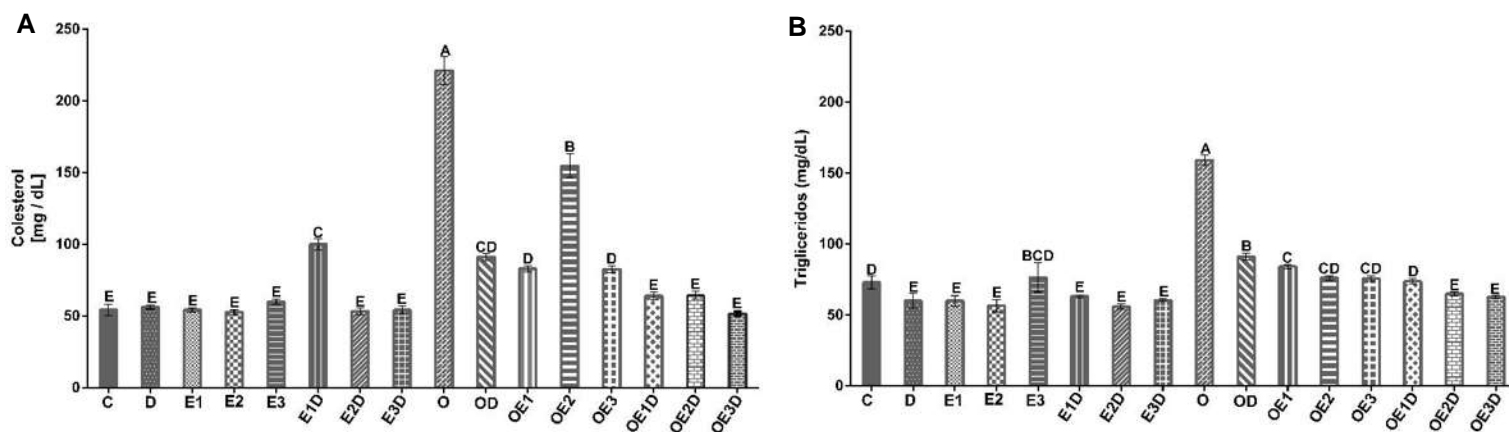


Figura 2. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre los niveles de colesterol y triglicéridos de ratas obesas. C: control; D: diazóxido; E1: ejercicio de baja intensidad; E2: ejercicio de intensidad moderada; E3: ejercicio de alta intensidad; E1D: ejercicio con diazóxido de baja intensidad; E2D: ejercicio con diazóxido de intensidad moderada; E3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad; O: obeso; DO: obeso diazóxido; OE1: ejercicio de baja intensidad para obesos; OE2: atleta obeso de intensidad moderada; OE3: obesidad por ejercicio de alta intensidad; OE1D: diazóxido de ejercicio de baja intensidad en obesos; OE2D: ejercicio de intensidad moderada para obesos; OE3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad para obesos. Los datos se representan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($P < 0,05$) ANOVA de 1 vía, prueba posthoc de Tukey, $n = 6$.

Tabla 3. Lipoproteínas

	HDL	LDL	VLDL
Control	27.22 ± 4.35 ^E	12.4 ± 4.30 ^G	14.6 ± 1.75 ^C
Diazóxido	33.71 ± 2.87 ^{CD}	10.5 ± 4.56 ^G	12 ± 2.01 ^E
E1	32.12 ± 3.77 ^D	10 ± 5.20 ^G	12 ± 1.48 ^E
E2	32.32 ± 2.5 ^D	8.7 ± 3.60 ^G	11.3 ± 1.8 ^E
E3	31 ± 3.56 ^D	13.7 ± 5.28 ^{GF}	15.3 ± 4.13 ^{CD}
E1D	33 ± 1.41 ^D	6.1 ± 2.14 ^G	12.65 ± 2.13 ^E
E2D	31.66 ± 2.64 ^D	10.8 ± 5.63 ^G	11.2 ± 3.21 ^E
E3D	35.38 ± 3.78 ^C	6.4 ± 4.58 ^G	12.1 ± 1.41 ^E
OBESAS	17.5 ± 5.06 ^F	171.9 ± 19.68 ^A	31.85 ± 1.35 ^A
OD	34.27 ± 2.64 ^{CD}	47.22 ± 5.53 ^C	18.23 ± 2.12 ^B
OE1	35.71 ± 3.59 ^{CD}	39.34 ± 5.50 ^{CD}	16.85 ± 1.59 ^C
OE2	42 ± 1.82 ^B	26.2 ± 5.32 ^E	15.13 ± 2.72 ^D
OE3	50.74 ± 4.78 ^A	91.15 ± 13.11 ^B	15.15 ± 1.53 ^D
OE1D	37.11 ± 4.04 ^C	30.18 ± 5.06 ^E	14.72 ± 2.76 ^D
OE2D	30.81 ± 3.59 ^{DE}	20.22 ± 6.14 ^F	13 ± 1.58 ^E
OE3D	31.5 ± 2.88 ^{DE}	20.44 ± 7.60 ^F	12.55 ± 1.44 ^E

Tabla 3. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre los niveles de lipoproteínas de ratas obesas: C: control; D: diazóxido; E1: ejercicio de baja intensidad; E2: ejercicio de intensidad moderada; E3: ejercicio de alta intensidad; E1D: ejercicio con diazóxido de baja intensidad; E2D: ejercicio con diazóxido de intensidad moderada; E3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad O: obeso; OD: diazóxido obeso; OE1: ejercicio de baja intensidad para obesos; OE2: obesos ejercicio de intensidad moderada; OE3: obesidad por ejercicio de alta intensidad; OE1D: diazóxido de ejercicio de baja intensidad en obesos; OE2D: ejercicio de intensidad moderada para obesos; OE3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad para obesos. Los datos se representan como media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos (P < 0,05) ANOVA de 1 vía, prueba posthoc de Tukey, n = 6.

3.3 El ejercicio a diferentes intensidades en combinación con diazóxido mejoraron las características morfológicas de las fibras músculo-esqueléticas de ratas obesas

Para explorar el efecto del tratamiento con diazóxido, las diferentes intensidades de ejercicio y la combinación de ambos sobre las características morfológicas de las fibras musculares, se realizó la prueba histológica del tejido muscular de los diferentes grupos. En la figura 3 se muestran las variaciones en el peso húmedo tanto de músculo sóleo (3A) como de músculo EDL (3B). En las gráficas se observa como en ambos tipos de músculo, incrementó su peso casi en un 100 % ($P < 0.05$), esto se debe principalmente al incremento de la grasa que se almacena dentro y alrededor de las fibras musculares, como se puede apreciar en la figura 4, donde se observó el incremento de las vacuolas lipídicas dentro de la fibra muscular y el incremento del tejido conectivo que rodea a la fibra, aunado a la disminución de la cantidad de células en la misma superficie y la disminución en el área de las fibras. Sin embargo, se pudo observar como los diferentes tratamientos presentaron resultados estadísticamente significativos sobre dichas características, cuando se aplicaron durante la obesidad. Se aprecia como el diazóxido disminuyó el peso del músculo sóleo (3A) y del músculo EDL (3B), en casi un 50 % ($P < 0.05$), obteniendo resultados similares al control. En músculo sóleo se observaron resultados similares con las tres intensidades de ejercicio cuando se combinaron con diazóxido, pero no así en el músculo EDL.

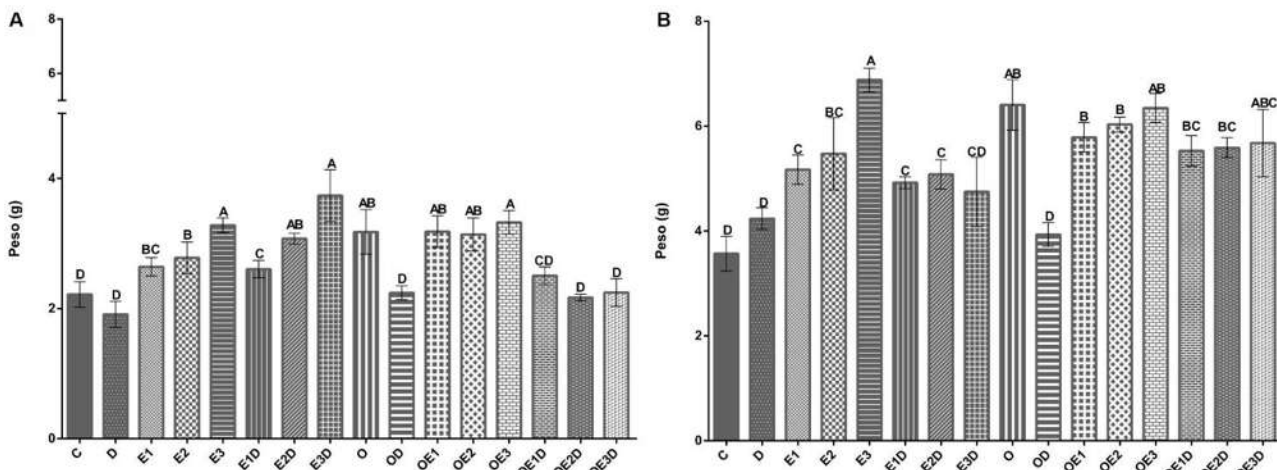


Figura 3. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre el peso húmedo del músculo esquelético de ratas obesas. (A) Músculo sóleo (B) Músculo EDL. C: control; D: diazóxido; E1: ejercicio de baja intensidad; E2: ejercicio de intensidad moderada; E3: ejercicio de alta intensidad; E1D: ejercicio con diazóxido de baja intensidad; E2D: ejercicio con diazóxido de intensidad moderada; E3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad; O: obeso; DO: obeso diazóxido; OE1: ejercicio de baja intensidad para obesos; OE2: atleta obeso de intensidad moderada; OE3: obesidad por ejercicio de alta intensidad; OE1D: diazóxido de ejercicio de baja intensidad en obesos; OE2D: ejercicio de intensidad moderada para obesos; OE3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad para obesos. Los datos se representan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($P < 0.05$) ANOVA de 1 vía, prueba posthoc de Tukey, $n=6$

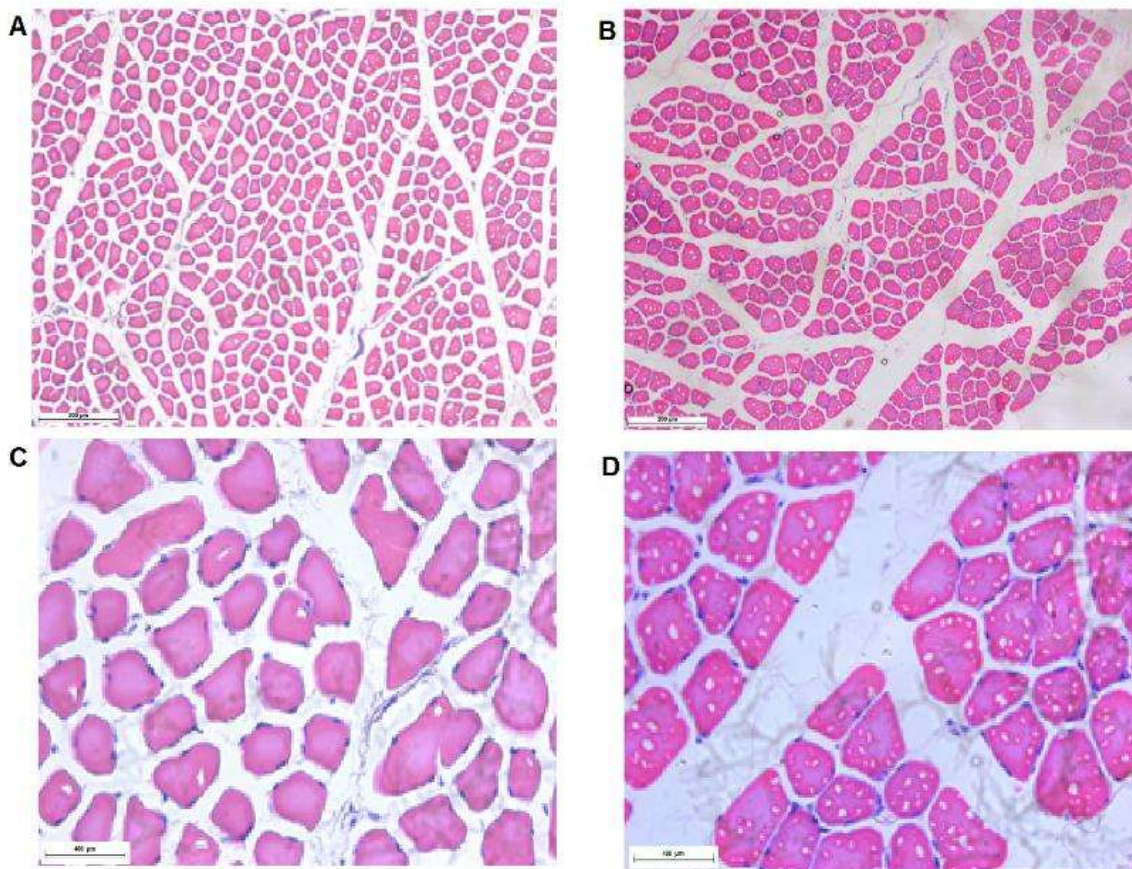


Figura 4. Efecto de la obesidad sobre las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas. Secciones transversales representativas del tejido muscular, con tinción de hematoxilina y eosina con aumentos para cada condición, (A) Músculo ratas control 10X, (B) Músculo ratas obesas 10X, (C) Músculo ratas control 40X, (D) Músculo ratas obesas 40X.

En la figura 5 se pudo apreciar como al aplicar cada uno de los tratamientos de manera individual durante la obesidad, prácticamente desaparecen las vacuolas lipídicas, disminuye el tejido conectivo e incrementa el tamaño y cantidad de las fibras musculares. Mientras que en la figura 6 se observan resultados muy similares cuando se combinaron los tratamientos, no obstante, se aprecia como la combinación de los tratamientos potencializaron los efectos sobre la acumulación de grasa.

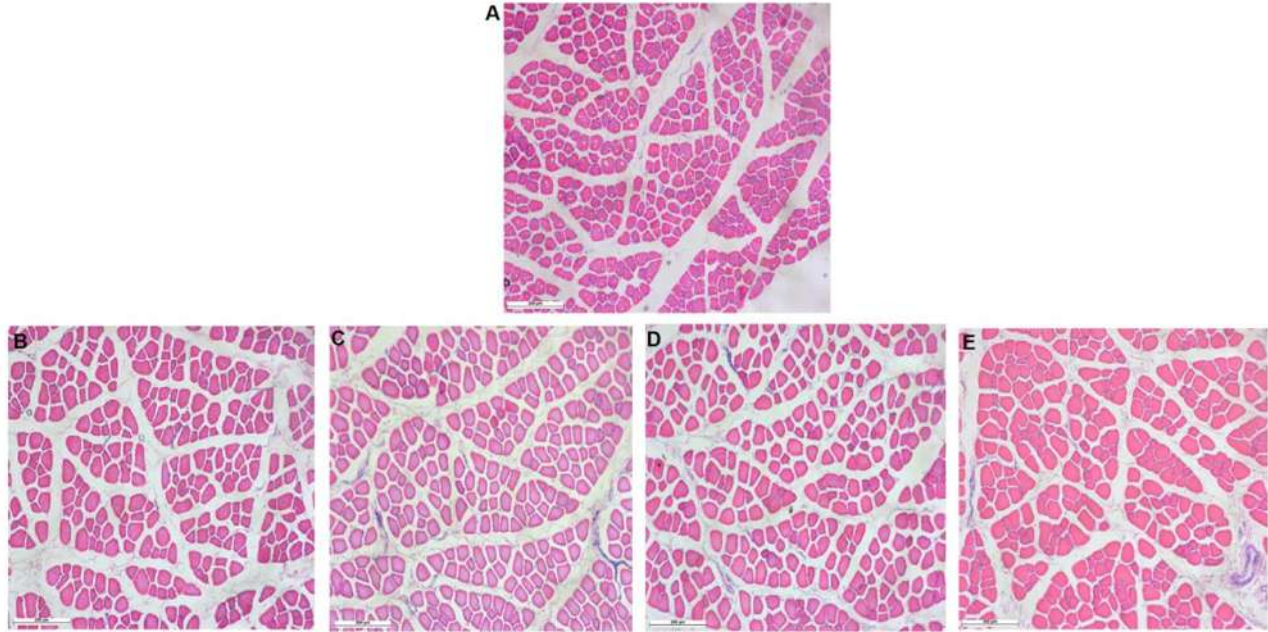


Figura 5. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas. Secciones transversales representativas del tejido muscular, con tinción de hematoxilina y eosina con aumentos para cada condición, (A) Músculo ratas obesas 10X, (B) Músculo ratas obesas tratadas con diazóxido 10X, (C) Músculo ratas obesas tratadas con ejercicio de baja intensidad 10X, (D) Músculo ratas obesas tratadas con ejercicio de moderada intensidad 10X, (E) Músculo de ratas obesas tratadas con ejercicio de alta intensidad.

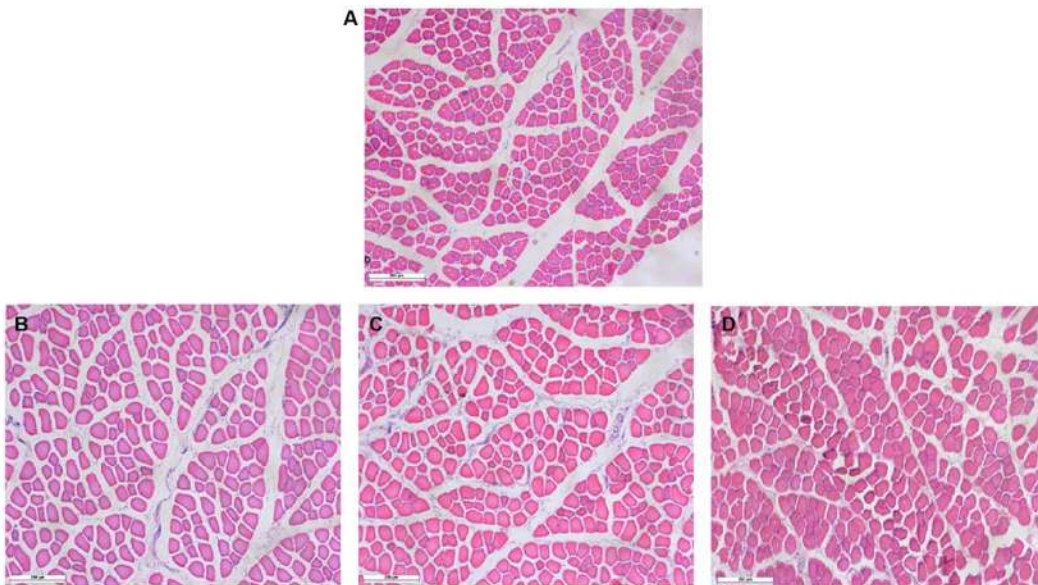


Figura 6. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio en combinación con diazóxido sobre las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas. Secciones transversales representativas del tejido muscular, con tinción de hematoxilina y eosina con aumentos para cada condición, (A) Músculo ratas obesas 10X, (B) Músculo ratas obesas tratadas con diazóxido y ejercicio de baja intensidad 10X, (C) Músculo ratas obesas tratadas con diazóxido y ejercicio de moderada intensidad 10X, (D) Músculo ratas obesas tratadas con diazóxido y ejercicio de alta intensidad 10X.

Para corroborar los resultados anteriores se observaron en la figura 7 los gráficos que cuantifican las características morfológicas de las fibras musculares, en la figura 7A, podemos apreciar el número de miocitos por sección de músculo esquelético, mientras que en la figura 7B se cuantifica el área de los miocitos en cada uno de los grupos, se observó cómo durante la obesidad hay una disminución estadísticamente significativa, tanto del número de miocitos por sección, como del área de los miocitos, superior al 25 % ($P < 0.05$), no obstante, al aplicar los tratamientos, se percibió recuperación estadísticamente significativa, en estos parámetros con algunos de ellos, en el caso del número de miocitos por sección, la recuperación se presentó con el ejercicio de baja y moderada intensidad y de igual manera cuando estos se combinaron con diazóxido, la recuperación osciló entre un 25-30 % ($P < 0.05$), en cuanto al área de los miocitos se observó recuperación estadísticamente significativa con cada uno de los tratamientos superior al 25 % ($P < 0.05$), presentándose los mejores resultados con el ejercicio de baja y moderada intensidad cuando se aplican de manera individual.

En cuanto a la cuantificación de la grasa, se muestra en la figura 7C el área del tejido conectivo y en la figura 7D el porcentaje de grasa dentro y alrededor de las fibras musculares, se puede apreciar como durante la obesidad incrementó tanto el área del tejido conectivo como el porcentaje de grasa, presentándose incrementos superior al 50 % ($P < 0.05$) para ambos parámetros, sin embargo, al aplicar los diferentes tratamientos observamos disminuciones estadísticamente significativas con cada uno de ellos, disminuciones mayores al 20 % ($P < 0.05$) en el área del tejido conectivo para todos los grupos e incluso obteniéndose una disminución del 70 % ($P < 0.05$) en el caso del grupo obeso ejercicio de alta intensidad diazóxido. Mientras que en el porcentaje de grasa se apreciaron disminuciones que oscilaron entre el 30-35 % ($P < 0.05$) con cada tratamiento, mostrando los mejores resultados el ejercicio de moderada intensidad cuando se aplicó solo y cuando se aplicó en combinación con el diazóxido.

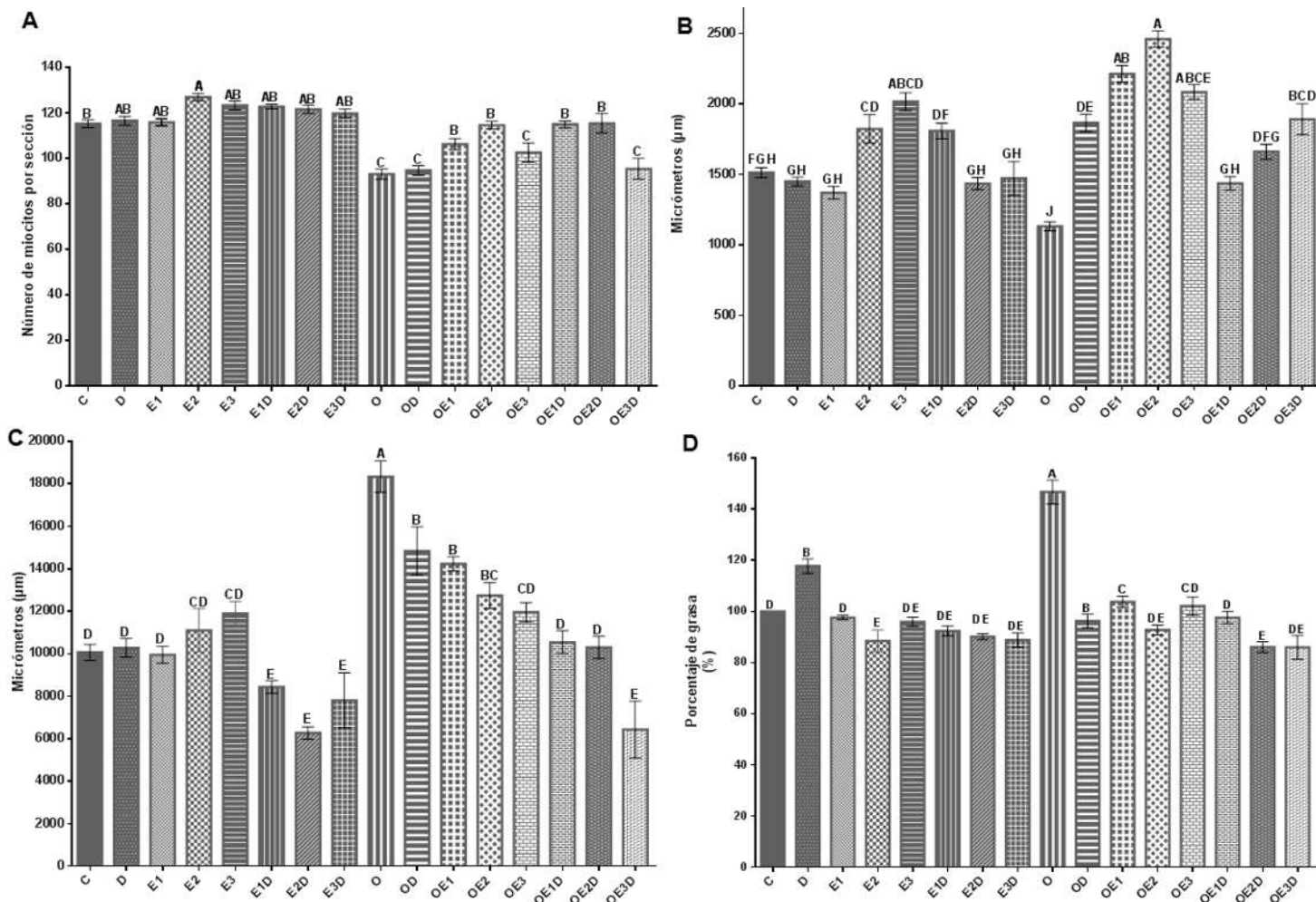


Figura 7. Efecto de diferentes intensidades de ejercicio y diazóxido sobre las características morfológicas de las fibras musculares de ratas obesas. (A) Número de miocitos por sección, (B) Área de los miocitos, (C) Área del tejido conectivo, (D) Porcentaje de grasa. C: control; D: diazóxido; E1: ejercicio de baja intensidad; E2: ejercicio de intensidad moderada; E3: ejercicio de alta intensidad; E1D: ejercicio con diazóxido de baja intensidad; E2D: ejercicio con diazóxido de intensidad moderada; E3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad; O: obeso; DO: obeso diazóxido; OE1: ejercicio de baja intensidad para obesos; OE2: atleta obeso de intensidad moderada; OE3: obesidad por ejercicio de alta intensidad; OE1D: diazóxido de ejercicio de baja intensidad en obesos; OE2D: ejercicio de intensidad moderada para obesos; OE3D: ejercicio con diazóxido de alta intensidad para obesos. Los datos se representan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($P < 0,05$) ANOVA de 1 vía, prueba posthoc de Tukey, $n = 6$.

4. DISCUSIÓN

La obesidad es un problema de salud pública creciente a nivel mundial, considerada como una pandemia que cada año cobra la vida de más de 2.5 millones de personas, debido a consecuencias directas o indirectas (Gihring et al. 2020). La disfunción del músculo esquelético se ha identificado como una importante complicación de la obesidad, debido a la atrofia que promueve, lo que conduce a un estado de inflamación crónica y de resistencia a la insulina a nivel sistémico y local (Wu et al. 2017) y favorece la alteración morfológica y estructural de las fibras musculares (Brown et al. 2015, Polyzos y Margioris, 2018), lo que se ve reflejado en la disminución de la fuerza de contracción muscular y menor capacidad para soportar la fatiga, así como estrés metabólico y oxidativo (Choi et al. 2015; Pompeani et al. 2014; Bae et al. 2016; Martínez-Huenchullan et al. 2018).

Por tales motivos, este estudio se centró en comparar los efectos de tres diferentes intensidades de ejercicio: baja, media y alta, de manera individual y en combinación con el diazóxido, con el fin de analizar la respuesta sistémica y local a estos tratamientos, en el contexto de la obesidad inducida por la dieta. Con el objetivo de identificar cuál protocolo de entrenamiento resultaba más eficiente, sobre todo cuando se combina con el diazóxido, sobre la mejora de las capacidades metabólicas sistémicas y de las características morfológicas de las fibras. Esperando con ello abrir una ventana de tiempo que permita la implementación de un protocolo de ejercicio constante y prolongado que reviertan totalmente los efectos de la obesidad y a la obesidad en sí.

Estudios anteriores han demostrado que la obesidad inducida con una dieta rica en grasas altera numerosos parámetros bioquímicos y fisiológicos, debido en gran medida al incremento de TA que se presenta en esta condición (Cho et al. 2022) y a su secreción desregulada de adipocinas (Jung y Choi, 2014) y aumento de macrófagos (Curley et al. 2020; Gihring et al. 2020), lo que desencadena un estado inflamatorio crónico. Este estado de inflamación de bajo grado se considera un vínculo causal entre la obesidad y la RI (Heo et al. 2018; Miao et al. 2020; Wu et al. 2020). Por lo tanto, la RI y el perfil lipídico alterados durante la obesidad, son característicos de esta condición y sumamente nocivos para todos los sistemas del organismo, siendo el músculo esquelético uno de los más afectados (Martínez-Huenchullan et al. 2017). Estas alteraciones se comprobaron con los resultados de este trabajo, ya que la sensibilidad a la insulina (figura 1), los niveles de colesterol y triglicéridos (figura 2) y los niveles de lipoproteínas (tabla 3) se alteraron en las ratas obesas con respecto al control. Estos parámetros alterados, además de ser marcadores de obesidad, indican alteraciones en el metabolismo de las células,

especialmente de la célula muscular, lo que eventualmente se asocia con el deterioro de la fuerza muscular y la aparición temprana de fatiga (Hong-Choi et al. 2020).

Entre las más importantes alteraciones desencadenadas por la obesidad se encuentra la RI (figura 1), durante la obesidad, ésta es promovida por varios mecanismos, los cuales pueden estar mediados por un estado inflamatorio crónico, muy característico de la obesidad, aunado a un estado oxidativo, detonado de igual manera por la inflamación y la activación de vías de señalización, asociadas a esta condición, como por ejemplo NFκB y JNK-1 (Wu et al. 2020).

A manera de ejemplo, el exceso de ácidos grasos libres y su incremento intracelular, característicos de la obesidad, activan la vía de la PKC que inhibe al receptor de insulina (Lipina-Hundal 2016), promoviendo así su resistencia. Además, la PKC activa la enzima NADPH oxidasa, que incrementa la producción ERO y promueve la disfunción mitocondrial (Sangwung et al. 2020). Cuando se presenta RI es un indicador de que las células musculares no trabajan correctamente y por ende no se está transportando de manera correcta la glucosa al interior de las células (Small et al. 2019), lo que afecta el metabolismo del tejido muscular, promueve un estado inflamatorio y oxidativo y a su vez se promueve la RI en este (Sangwung et al. 2020).

Durante un estado de RI inducido por la obesidad, se promueve que las moléculas de TG permanezcan mayor tiempo en sangre, promoviendo la dislipidemia y permitiendo que otros tejidos diferentes al adiposo queden expuestos a este flujo de lípidos (Eriksson-Hogling et al. 2015; Wu et al. 2017). Lo que podemos claramente apreciar en nuestros resultados (figura 2), donde se observa como durante la obesidad los niveles de TG y colesterol se encuentran drásticamente incrementados, mientras que en la tabla 3 se observan los niveles de lipoproteínas alteradas, niveles bajos de HDL y elevados de LDL y VLDL. Los individuos con RI generalmente presentan dislipidemia, debido al incremento de TA y a una mayor disponibilidad de ácidos grasos libres, caracterizado por niveles de colesterol y TG aumentados (Klop et al. 2013, Fazakerley et al. 2019), así como de lipoproteínas LDL y VLDL y niveles disminuidos de lipoproteínas HDL (Iqbal et al. 2017; Azmi et al. 2021).

No obstante, en este estudio se observó que el tratamiento con los diferentes protocolos de ejercicio, diazóxido y sus respectivas combinaciones mejoraron la tasa metabólica basal, al incrementar la sensibilidad a la insulina y el transporte de glucosa y al incrementar la capacidad de oxidación de las grasas (Alamzadeh et al. 2008; Bae et al. 2016; Botezelli et al. 2016; Cartee et al. 2016).

En modelos sanos se ha reportado los mejores efectos para la mejora de la sensibilidad a la insulina y el transporte de glucosa, al ejercicio de moderada intensidad (iubaoerjijin et al. 2016; Georsa-neto et al. 2019), lo cual es consistente con lo observado en nuestros resultados (figura 1). No obstante, podemos apreciar como todos los protocolos de ejercicio presentaron efectos positivos y como al combinar los protocolos de ejercicio con diazóxido, dichos efectos se potencializaron y se obtuvieron los mejores resultados, destacándose el efecto del ejercicio de moderada intensidad en combinación con el fármaco. Dichos resultados están estrechamente relacionados con las adaptaciones metabólicas al ejercicio, donde resalta la activación de la vía AMPK, la cual promueve la sensibilidad a la insulina, el transporte de glucosa y la oxidación de ácidos grasos (Kjøbsted et al. 2018) y con la mejora de la sensibilidad a la insulina que se le atribuye al diazóxido (Alemzadeh et al. 2008).

En el caso de la patología, pudimos observar como todos los tratamientos presentaron efectos benéficos sobre la sensibilidad a la insulina, destacando el efecto de los protocolos de ejercicio cuando se combinaron con diazóxido (figura 1) demostrándose como los efectos se potencializan cuando se combinan con el fármaco. Empero, cabe resaltar los resultados del ejercicio de baja intensidad en combinación con el diazóxido ya que son resultados similares a los obtenidos con el ejercicio de moderada intensidad cuando esta y no combinado con el fármaco, lo que resulta benéfico debido a que el protocolo de baja intensidad resulta más fácil de ejecutar.

Estos datos son sobresalientes ya que hasta el momento la literatura reportaba el mejor efecto en cuanto a este parámetro para el ejercicio de moderada intensidad (Martínez-Huenschullán et al. 2018), sin embargo, nuestros resultados indican que, si se combina con el fármaco, el ejercicio de baja intensidad iguala estos resultados.

Al mejorar la sensibilidad a la insulina, se evita la hiperinsulinemia y con ello los trastornos metabólicos que desencadena, los cuales afectan el buen funcionamiento del tejido muscular (Garneau y Aguer 2019). Tanto el ejercicio como el diazóxido, promueven la oxidación de los ácidos grasos, evitan la acumulación del TA, el flujo de ácidos grasos libres y la respectiva activación, a causa de estos, de las vías de señalización involucradas en la RI (Malin et al. 2016). De manera general esta potencialización del efecto que tienen los protocolos de ejercicio cuando se combinan con el fármaco pueden deberse a las propiedades que se le atribuyen al diazóxido durante la obesidad, es decir, su capacidad de mejorar la

sensibilidad a la insulina y regular la capacidad del músculo esquelético para captar la glucosa (Alemzadeh et al. 2008; Bischof et al. 2018).

En cuanto al perfil de lípidos de los individuos sanos (figura 2, tabla 3), los tratamientos de ejercicio y los tratamientos de ejercicio con diazóxido, a las diferentes intensidades, no presentaron efectos en los niveles de colesterol, no así, en los niveles de triglicéridos, donde pudimos apreciar una evidente disminución estadísticamente significativa con cada uno de ellos, sin importar la intensidad o si estaban o no combinados con diazóxido. De igual manera se observó una mejora en las concentraciones de lipoproteínas, incremento de HDL y disminución de VLDL. Lo cual se debe a que al diazóxido se le atribuye la mejora del perfil lípido a través de la oxidación de las grasas (Alemzadeh et al. 2008; Bischof et al. 2018). Lo mismo que al ejercicio donde, a través de la oxidación de grasas que promueve la activación de la vía AMPK, se evita la dislipidemia (Atakan et al. 2021), lo que reduce el colesterol y TG (Harrison et al. 2012; Imierska et al., 2020; Stanton et al. 2022) y aumenta los niveles lipoproteínas HDL en una forma de respuesta a la dosis y al volumen del ejercicio (Ruiz-Ramie et al. 2019; Antunes et al. 2020).

Durante obesidad, observamos como todos los tratamientos aplicados, el diazóxido, las diferentes intensidades de ejercicio y las respectivas combinaciones, cumplieron sus efectos benéficos (figura 2, tabla 3). Se aprecia como todos los tratamientos disminuyeron los niveles de colesterol y triglicéridos, incrementaron los niveles de lipoproteínas HDL y disminuyeron los niveles de LDL y VLDL, presentándose los mejores resultados con las tres intensidades de ejercicio cuando se combinaron con diazóxido, sin mostrar diferencias estadísticas entre ellas, resultados que se atribuyen a las características benéficas del ejercicio y el diazóxido, ya que disminuyen la ingesta de alimento, evitan la ganancia de peso y promueve la oxidación de las grasas, evitando el incremento del TA y su lipólisis, contrarrestando así la dislipidemia (Alemzadeh et al. 2008; Stanton et al. 2022), a la vez que promueven la sensibilidad a la insulina (Kim et al. 2016), mediante la activación de diferentes vías de señalización (Imierska et al. 2020; Atakan et al. 2021), efectos positivos que se han identificado se potencializan durante la obesidad.

De manera general, como consecuencia de la RI y la dislipidemia, en la obesidad se desencadena incremento del TA y de su lipólisis, promoviéndose la acumulación de grasa no solo en este tejido, sino de manera ectópica en uno de los órganos más afectados por la obesidad, el tejido muscular (Gihring et al. 2020), fenómeno que está directamente relacionado con el desarrollo de atrofia en músculo esquelético y el desarrollo eventual de RI y un estado inflamatorio del tejido (Choi

et al. 2015; Rahemi et al. 2015). La grasa se acumula adentro (intramiocelular) y alrededor (perimiocelular) de las fibras musculares (Renzini et al. 2021).

Estudios como el de Martínez-Huenchullan y colaboradores en el 2018, han demostrado que durante la obesidad se presenta esta acumulación excesiva de tejido graso alrededor de las fibras musculares, con nuestro estudio lo hemos podido corroborar. En la figura 4 y en la figura 7 se aprecia y cuantifica el incremento de las vacuolas lipídicas dentro de las fibras musculares y el incremento de la grasa alrededor de estas, acompañado de la disminución del número de miocitos y del área de las fibras individuales, características que se ven reflejadas en el incremento del peso húmedo de los músculos durante la obesidad (figura 3). Esto puede deberse a que durante la obesidad las moléculas TG permanecen fluyendo a altos niveles en el torrente sanguíneo durante periodos muy prolongados, promoviendo la dislipidemia y permitiendo que el músculo esquelético quede expuesto a este flujo favoreciendo la acumulación (Eriksson-Hogling et al. 2015; Wu et al. 2017).

Esta acumulación excesiva de grasa en el músculo esquelético, como consecuencia de la obesidad, se asocia con la alteración morfológica de las fibras musculares, retrasos en la regeneración del músculo y aumento de la proteólisis, provocando disminución en la cantidad de fibras musculares y su diámetro (Brown et al. 2015; Polyzos y Margioris, 2018; Ahn y kim, 2020), como lo hemos podido observar en este estudio (figura 4, figura 7).

No obstante los diferentes tratamientos que han demostrado un efecto sumamente eficiente sobre estos parámetros, como lo pudimos observar en la figura 5, donde al aplicar cada uno de los tratamientos de manera individual, se apreció disminución de las vacuolas lipídicas y del porcentaje de grasa en general, aunado al incremento de la cantidad de miocitos y su área (figura 7) y un efecto potencializado cuando los protocolos de ejercicio se combinaron con el diazóxido (figura 6), sobre todo en cuanto a la acumulación de grasa. Con estos resultados es importante resaltar las similitudes obtenidas entre los tratamientos, ya que este papel benéfico se le había atribuido principalmente al ejercicio de moderada intensidad (Hannan et al., 2018; Martínez-Huenchullan et al. 2018), con nuestros resultados avalamos que el ejercicio de baja intensidad puede presentar la misma eficiencia cuando se combina con diazóxido.

Estos resultados pueden deberse principalmente a que el diazóxido durante la obesidad ha demostrado ser un tratamiento eficaz para disminuir el almacenamiento de grasas, al mejorar la oxidación de ácidos grasos y mejorar la sensibilidad a la insulina (Alemzadeh et al. 2008; Loves et al. 2018; Cowen y Bathnagar, 2020). Características que comparte con el ejercicio, promovidas

principalmente por adaptaciones metabólicas asociadas a la vía AMPK (Imierska et al., 2020; Stanton et al. 2022),

5. CONCLUSIÓN

El ejercicio de moderada intensidad, demostró ser, el tratamiento más eficiente para mejorar la sensibilidad a la insulina y el perfil de lípidos durante la obesidad y mejorar las características morfológicas de las fibras musculares; no obstante, el dióxido potencializó los efectos del ejercicio de baja intensidad; mostrando resultados muy similares al ejercicio de moderada intensidad.

6. REFERENCIAS

1. Gihring A, Gärtner F, Liu C, Hoenicka M, Wabitsch M, Knippschild U, Xu P. Influence of Obesity on the Organization of the Extracellular Matrix and Satellite Cell Functions After Combined Muscle and Thorax Trauma in C57BL/6J Mice. *Front Physiol.* 2020 Jul 28;11:849. doi: 10.3389/fphys.2020.00849. PMID: 32848828; PMCID: PMC7399228.
2. Erskine RM, Tomlinson DJ, Morse CI, Winwood K, Hampson P, Lord JM, Onambélé GL. The individual and combined effects of obesity- and aging-induced systemic inflammation on human skeletal muscle properties. *Int J Obes (Lond).* 2017 Jan;41(1):102-111. doi: 10.1038/ijo.2016.151. Epub 2016 Aug 29. PMID: 27569681; PMCID: PMC5220159.
3. Cho YK, Lee Y, Jung CH. Pathogenesis, Murine Models, and Clinical Implications of Metabolically Healthy Obesity. *Int J Mol Sci.* 2022 Aug 25;23(17):9614. doi: 10.3390/ijms23179614. PMID: 36077011; PMCID: PMC9455655.
4. Jung, U. J., y Choi, M.-S. (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *International journal of molecular sciences*, 15(4), 6184–6223.
5. Curley S, Gall J, Byrne R, Yvan-Charvet L, McGillicuddy FC. Metabolic Inflammation in Obesity-At the Crossroads between Fatty Acid and Cholesterol Metabolism. *Mol Nutr Food Res.* 2021 Jan;65(1):e1900482. doi: 10.1002/mnfr.201900482. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32754976.
6. Heo, J.W.; Yoo, S.Z.; No, M.H.; Park, D.H.; Kang, J.H.; Kim, T.W.; Kim, C.J.; Seo, D.Y.; Han, J.; Yoon, J.H.; et al. Exercise Training Attenuates Obesity-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Mitochondria-Mediated Apoptosis in the Skeletal Muscle. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018, 15, 2301.
7. Miao Z, Alvarez M, Ko A, Bhagat Y, Rahmani E, Jew B, Heinonen S, Muñoz-Hernandez LL, Herrera-Hernandez M, Aguilar-Salinas C, Tusie-Luna T, Mohlke KL, Laakso M, Pietiläinen KH, Halperin E, Pajukanta P. The causal effect of obesity on

- prediabetes and insulin resistance reveals the important role of adipose tissue in insulin resistance. *PLoS Genet.* 2020 Sep 14;16(9):e1009018. doi: 10.1371/journal.pgen.1009018. PMID: 32925908; PMCID: PMC7515203.
8. Wu H, Ballantyne CM. Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circ Res.* 2020 May 22;126(11):1549-1564. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315896. Epub 2020 May 21. PMID: 32437299; PMCID: PMC7250139.
 9. Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients.* 2013 Feb 7;5(2):498-508. doi: 10.3390/nu5020498. PMID: 23434905; PMCID: PMC3635208.
 10. Imierska M, Kurianiuk A, Błachnio-Zabielska A. The Influence of Physical Activity on the Bioactive Lipids Metabolism in Obesity-Induced Muscle Insulin Resistance. *Biomolecules.* 2020 Dec 12;10(12):1665. doi: 10.3390/biom10121665. PMID: 33322719; PMCID: PMC7764345.
 11. Eriksson-Hogling D, Andersson DP, Bäckdahl J, Hoffstedt J, Rössner S, Thorell A, Arner E, Arner P, Rydén M. Adipose tissue morphology predicts improved insulin sensitivity following moderate or pronounced weight loss. *Int J Obes (Lond).* 2015 Jun;39(6):893-8. doi: 10.1038/ijo.2015.18. Epub 2015 Feb 10. PMID: 25666530.
 12. Wu H, Ballantyne CM. Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *J Clin Invest.* 2017 Jan 3;127(1):43-54. doi: 10.1172/JCI88880. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28045398; PMCID: PMC5199705.
 13. Pedersen DJ, Guilherme A, Danai LV, Heyda L, Matevossian A, Cohen J, Nicoloso SM, Straubhaar J, Noh HL, Jung D, Kim JK, Czech MP. A major role of insulin in promoting obesity-associated adipose tissue inflammation. *Mol Metab.* 2015 May 1;4(7):507-18. doi: 10.1016/j.molmet.2015.04.003. PMID: 26137438; PMCID: PMC4481426.
 14. Klop B, Elte JW, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients.* 2013 Apr 12;5(4):1218-40. doi: 10.3390/nu5041218. PMID: 23584084; PMCID: PMC3705344.
 15. Fazakerley DJ, Krycer JR, Kearney AL, Hocking SL, James DE. Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism? *J Lipid Res.* 2019 Oct;60(10):1720-1732. doi: 10.1194/jlr.R087510. Epub 2018 Jul 27. PMID: 30054342; PMCID: PMC6795081.
 16. Iqbal J, Walsh MT, Hammad SM, Hussain MM. Sphingolipids and Lipoproteins in Health and Metabolic Disorders. *Trends Endocrinol Metab.* 2017 Jul;28(7):506-518. doi: 10.1016/j.tem.2017.03.005. Epub 2017 Apr 24. PMID: 28462811; PMCID: PMC5474131.
 17. Sangwung P, Petersen KF, Shulman GI, Knowles JW. Mitochondrial Dysfunction, Insulin Resistance, and Potential Genetic Implications. *Endocrinology.* 2020 Apr 1;161(4):bqaa017. doi: 10.1210/endocr/bqaa017. PMID: 32060542; PMCID: PMC7341556.
 18. Small, L.; Brandon, A.E.; Parker, B.L.; Deshpande, V.; Samsudeen, A.F.; Kowalski, G.M.; Reznick, J.; Wilks, D.L.; Preston, E.; Bruce, C.R.; et al. Reduced insulin action

- in muscle of high fat diet rats over the diurnal cycle is not associated with defective insulin signaling. *Mol Metab.* 2019, 25, 107–118.
19. Pompeani N, Rybalka E, Latchman H, Murphy RM, Croft K, Hayes A. Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *J Negat Results Biomed.* 2014 Dec 30;13:19. doi: 10.1186/s12952-014-0019-z. PMID: 25547587; PMCID: PMC4296544.
 20. Ahn N, Kim K. Effects of Aerobic and Resistance Exercise on Myokines in High Fat Diet-Induced Middle-Aged Obese Rats. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Apr 14;17(8):2685. doi: 10.3390/ijerph17082685. PMID: 32295130; PMCID: PMC7215661.
 21. Brown DA, Chicco AJ, Jew KN, Johnson MS, Lynch JM, Watson PA, Moore RL. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *J Physiol.* 2005 Dec 15;569(Pt 3):913-24. doi: 10.1113/jphysiol.2005.095729. PMID: 16223762; PMCID: PMC1464258.
 22. Polyzos SA, Margioris AN. Sarcopenic obesity. *Hormones (Athens).* 2018 Sep;17(3):321-331. doi: 10.1007/s42000-018-0049-x. Epub 2018 Jul 16. PMID: 30014320.
 23. Rahemi H, Nigam N, Wakeling JM. The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. *J R Soc Interface.* 2015 Aug 6;12(109):20150365. doi: 10.1098/rsif.2015.0365. PMID: 26156300; PMCID: PMC4535407.
 24. Bae JY, Shin KO, Woo J, Woo SH, Jang KS, Lee YH, Kang S. Exercise and dietary change ameliorate high fat diet induced obesity and insulin resistance via mTOR signaling pathway. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2016 Jun;20(2):28-33. doi: 10.20463/jenb.2016.06.20.2.4. Epub 2016 Jun 30. PMID: 27508151; PMCID: PMC4977908.
 25. Hong, S.H.; Choi, K.M. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 494.
 26. Gómez-Barroso, M.; Moreno-Calderón, K.M.; Sánchez-Duarte, E.; Cortés-Rojo, C.; Saavedra-Molina, A.; Rodríguez-Orozco, A.R.; Montoya-Pérez, R. Diazoxide and Exercise Enhance Muscle Contraction during Obesity by Decreasing ROS Levels, Lipid Peroxidation, and Improving Glutathione Redox Status. *Antioxidants* 2020, 9, 1232.
 27. Pattanakuhar S, Pongchaidecha A, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The effect of exercise on skeletal muscle fibre type distribution in obesity: From cellular levels to clinical application. *Obes Res Clin Pract.* 2017 Sep-Oct;11(5 Suppl 1):112-132. doi: 10.1016/j.orcp.2016.09.012. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27756527.
 28. Nakagawa Y, Yoshioka M, Abe Y, Uchinami H, Ohba T, Ono K, Yamamoto Y. Enhancement of liver regeneration by adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel opener (diazoxide) after partial hepatectomy. *Transplantation.* 2012 Jun 15;93(11):1094-100. doi: 10.1097/TP.0b013e31824ef1d1. PMID: 22466787.

29. Alemzadeh, R.; Karlstad, M.D.; Tushaus, K.; Buchholz, M. Diazoxide enhances basal metabolic rate and fat oxidation in obese Zucker rats. *Metabolism* 2008, 57, 1597–1607.
30. Bischof JM, Wevrick R. Chronic diazoxide treatment decreases fat mass and improves endurance capacity in an obese mouse model of Prader-Willi syndrome. *Mol Genet Metab.* 2018 Apr;123(4):511-517. doi: 10.1016/j.ymgme.2018.02.018. Epub 2018 Feb 27. PMID: 29506955.
31. Loves, S.; van Groningen, L.; Filius, M.; Mekking, M.; Brandon, T.; Tack, C.J.; Hermus, A.; de Boer, H. Effects of Diazoxide-Mediated Insulin Suppression on Glucose and Lipid Metabolism in Nondiabetic Obese Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018, 103, 2346–2353.
32. Cowen N, Bhatnagar A. The Potential Role of Activating the ATP-Sensitive Potassium Channel in the Treatment of Hyperphagic Obesity. *Genes (Basel)*. 2020 Apr 21;11(4):450. doi: 10.3390/genes11040450. PMID: 32326226; PMCID: PMC7230375.
33. Chen X, Feng L, Yao H, Yang L, Qin Y. Efficacy and safety of diazoxide for treating hyperinsulinemic hypoglycemia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2021 Feb 11;16(2):e0246463. doi: 10.1371/journal.pone.0246463. PMID: 33571197; PMCID: PMC7877589.
34. Lavin KM, Coen PM, Baptista LC, Bell MB, Drummer D, Harper SA, Lixandrão ME, McAdam JS, O'Bryan SM, Ramos S, Roberts LM, Vega RB, Goodpaster BH, Bamman MM, Buford TW. State of Knowledge on Molecular Adaptations to Exercise in Humans: Historical Perspectives and Future Directions. *Compr Physiol*. 2022 Mar 9;12(2):3193-3279. doi: 10.1002/cphy.c200033. PMID: 35578962; PMCID: PMC9186317.
35. Theofilidis, G.; Bogdanis, G.C.; Koutedakis, Y.; Karatzaferi, C. Monitoring Exercise-Induced Muscle Fatigue and Adaptations: Making Sense of Popular or Emerging Indices and Biomarkers. *Sports* 2018, 6, 153.
36. Bilski J, Pierzchalski P, Szczepanik M, Bonior J, Zoladz JA. Multifactorial Mechanism of Sarcopenia and Sarcopenic Obesity. Role of Physical Exercise, Microbiota and Myokines. *Cells*. 2022 Jan 4;11(1):160. doi: 10.3390/cells11010160. PMID: 35011721; PMCID: PMC8750433.
37. Martinez-Huenchullan, S.F.; Maharjan, B.R.; Williams, P.F.; Tam, C.S.; Mclennan, S.V.; Twigg, S.M. Differential metabolic effects of constant moderate versus high intensity interval training in high-fat fed mice: Possible role of muscle adiponectin. *Physiol. Rep.* 2018, 6, e13599.
38. Cartee, G.D.; Arias, E.B.; Yu, C.S.; Pataky, M.W. Novel single skeletal muscle fiber analysis reveals a fiber type-selective effect of acute exercise on glucose uptake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2016, 311, E818–E824.
39. Atakan MM, Koşar ŞN, Güzel Y, Tin HT, Yan X. The Role of Exercise, Diet, and Cytokines in Preventing Obesity and Improving Adipose Tissue. *Nutrients*. 2021 Apr 25;13(5):1459. doi: 10.3390/nu13051459. PMID: 33922998; PMCID: PMC8145589.
40. Stanton KM, Kienzle V, Dinnes DLM, Kotchetkov I, Jessup W, Kritharides L, Celermajer DS, Rye KA. Moderate- and High-Intensity Exercise Improves

- Lipoprotein Profile and Cholesterol Efflux Capacity in Healthy Young Men. *J Am Heart Assoc.* 2022 Jun 21;11(12):e023386. doi: 10.1161/JAHA.121.023386. Epub 2022 Jun 14. PMID: 35699182; PMCID: PMC9238648.
41. Wang, L.; Lavier, J.; Hua,W.;Wang, Y.; Gong, L.;Wei, H.;Wang, J.; Pellegrin, M.; Millet, G.P.; Zhang, Y. High-Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training Attenuate Oxidative Damage and Promote Myokine Response in the Skeletal Muscle of ApoE KO Mice on High-Fat Diet. *Antioxidants* 2021, 10, 992.
 42. Abrigo, J.; Rivera, J.C.; Aravena, J.; Cabrera, D.; Simon, F.; Ezquer, F.; Ezquer, M.; Cabello-Verrugio, C. High Fat Diet-Induced Skeletal MuscleWasting Is Decreased by Mesenchymal Stem Cells Administration: Implications on Oxidative Stress, Ubiquitin Proteasome Pathway Activation, and Myonuclear Apoptosis. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016, 2016, 9047821.
 43. Sánchez-Duarte, S., Márquez-Gamiño, S., Montoya-Pérez, R., Villicaña-Gómez, E. A., Vera-Delgado, K. S., Caudillo-Cisneros, C., Sotelo-Barroso, F., Melchor-Moreno, M. T., & Sánchez-Duarte, E. (2021). Nicorandil decreases oxidative stress in slow- and fast-twitch muscle fibers of diabetic rats by improving the glutathione system functioning. *Journal of diabetes investigation*, 12(7), 1152–1161. <https://doi.org/10.1111/jdi.13513>.

9. CAPÍTULO III

EL EJERCICIO ¿LA CURA A TODOS NUESTROS MALES?

ARTÍCULO

El ejercicio ¿La cura a todos los males?

Mariana Gómez Barroso y Rocío del Carmen Montoya Pérez



M.C. Mariana Gómez Barroso. Estudiante del Programa de Doctorado Institucional en Ciencias Biológicas, opción en Investigaciones Químico-Biológicas, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
marianicha_13@hotmail.com

D.C. Rocío del Carmen Montoya Pérez. Profesor Investigador del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
biochio@gmail.com

¿Qué es el ejercicio?

Definir este término tiene como finalidad identificar si lo estamos realizando de manera correcta y así, eventualmente, podamos obtener los mejores resultados al realizar esta práctica. En este sentido, el ejercicio se define como la **unión de acciones** que realizan en conjunto el **sistema muscular y óseo** del cuerpo y que tienen como resultado un gasto energético. Entendamos que es cualquier actividad física planeada que se realiza con la finalidad de mejorar y mantener el correcto funcionamiento del cuerpo.

La implementación del ejercicio en la vida cotidiana, se ha realizado por diversas razones. Desde

hace miles de años la caza, agricultura, ganadería y construcción, han sido las actividades que el humano común ha realizado y que indirectamente involucran actividades músculo-esqueléticas, las cuales, ahora definimos como ejercicio.

Sin embargo, el término ha sido mayormente empleado para referirse al desarrollo y mejora de las habilidades atléticas y deportivas, para mejorar la apariencia física, o bien, para buscar el bienestar emocional o simplemente como actividad recreativa en solitario o en familia.

La evolución del ejercicio a través del tiempo

La forma de entrenar y realizar ejercicio se ha modificado con el paso del tiempo. Estos cambios principalmente se basan en lo que se esperaba obtener al realizar estas prácticas, por ejemplo, en los primeros siglos de la existencia humana se buscaba básicamente la **supervivencia**, y aunque tal vez no era de manera consciente, su régimen de actividades cotidianas les brindaba velocidad, fuerza, resistencia y coordinación.

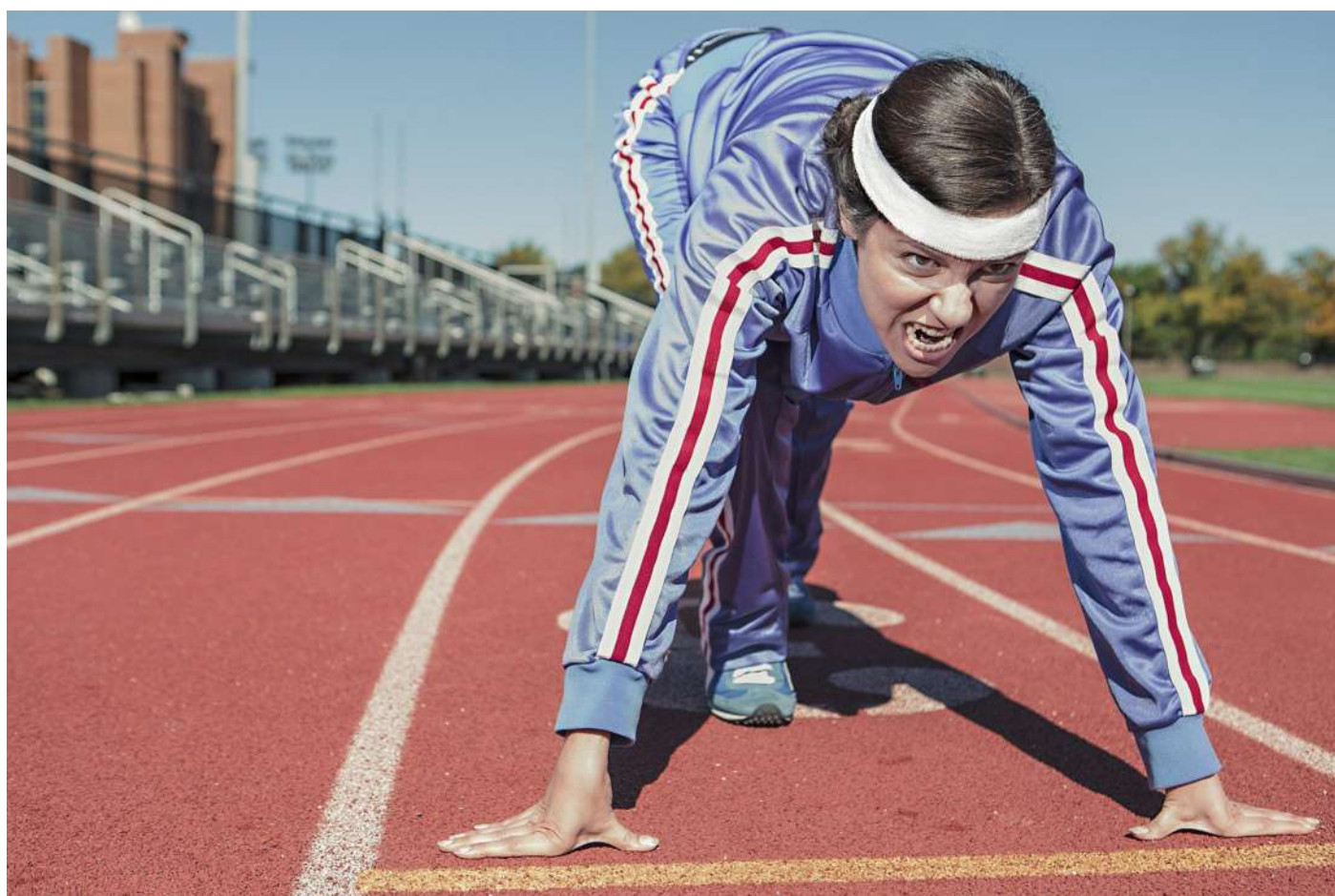
El verdadero reconocimiento y valoración a quienes realizaban actividades físicas y deportivas tuvo su auge en la Antigua Grecia, donde se pro-

movía la competición para mejorar tanto el **bienestar físico como emocional**. Se consideraba una mejor persona a quien hacía deporte y se mantenía en forma, surgiendo de esto la creación de los **Juegos Olímpicos**, donde se le brindaba al vencedor un gran respeto y admiración.

Durante la Edad Media, el ejercicio y la práctica de los deportes fueron relegados y dejados a un lado, solo ciertos grupos selectos tenían la posibilidad de realizar estas actividades de dispersión. No obstante, con el fin de esta época y el surgimiento del Renacimiento, reapareció y creció el interés por los deportes y las actividades físicas, es así como a lo largo y ancho del mundo, se consideraba al ejercicio como una buena forma de armonizar el cuerpo y el alma, incluso **surge la Medicina Deportiva** que converge el gusto e interés por los deportes con su relación con el cuerpo humano.

Con la llegada de la Revolución Industrial, el desarrollo técnico y científico también se vio reflejado en los diferentes deportes, además, proliferó una visualización de estas prácticas desde un punto de vista mucho más comercial.

Actualmente, el ejercicio y los deportes son practicados por diversas razones: recreativo, para





obtener bienestar físico y mental, para mejorar la apariencia, o incluso, por intereses económicos. Sin importar los motivos por los que se lleven a cabo estas prácticas, la mayoría del tiempo resultan benéficas para la salud; no obstante, nada en exceso es bueno, ni siquiera el ejercicio.

¿Qué pasa si no hago ejercicio?

La falta de actividad física y el exceso de sedentarismo por parte de la población, han producido un deterioro en la calidad de vida. La proliferación de diferentes patologías como el síndrome metabólico, la diabetes y el cáncer, han sido atribuidas a estas malas prácticas. Se estima que en el mundo, alrededor de cinco millones de muertes al año, están asociadas con el sedentarismo.

El sedentarismo es un factor de riesgo para la gran mayoría de las enfermedades crónicas, contribuyendo en la aparición de complicaciones para la salud. En la actualidad, existe mayor evidencia de que la falta de actividad física y de ejercicio están relacionados con el desarrollo de trastornos y enfermedades crónicas y son causa importante de

mortalidad e incapacidad. El desarrollo industrial y tecnológico, aunado al estrés laboral y familiar y a los malos hábitos de vida, han influido para que las personas caminen poco y, en general, realicen menos actividad física, ejercicio y deportes.

La falta de actividad física además de deteriorar el funcionamiento músculo-esquelético, deteriora la función metabólica e incrementa el estrés oxidante, lo que conlleva a un daño general de todos los órganos y sistemas, lo que se relaciona con el desarrollo de las diferentes enfermedades antes mencionadas. Pese a todos los efectos negativos del sedentarismo, los niveles de actividad física a nivel mundial apenas han mejorado desde hace 20 años. Según la Organización Mundial de la Salud, para el año 2016 se registró que más de un cuarto de la población del mundo —lo que equivale a mil cuatrocientos millones de personas—, no hacen el suficiente ejercicio físico recomendado para mantener una salud óptima.

La media global de inactividad física es del 27.5 % de la población. Por género, es del 23.4 % para los hombres y del 31.7 % para las mujeres. A



nivel mundial, el país del mundo donde se hace más actividad física es Uganda, que nada más registra 5.5 % de inactividad. Mientras que los países más sedentarios son Kuwait, con un índice de inactividad física del 67 % y Arabia Saudita 53 %. En el caso de México, las cifras arrojan un 29 % de inactividad en adultos. Para entender un poco mejor estas estadísticas, con base en numerosas investigaciones científicas realizadas a nivel mundial, se consideran como personas inactivas a los adultos entre 19 y 64 años que hacen menos de 150 minutos de ejercicio moderado a la semana.

El ejercicio: la cura de nuestros males

La realización de ejercicio y actividad física más allá de ser recreativas y de entretenimiento, se enmarcan y proyectan como los **pilares para una vida más sana**. Actualmente, la implementación de un régimen de ejercicio en el día a día de las personas debe ser imprescindible, esto, debido a las numerosas atribuciones de naturaleza benéfica que el ejercicio ha adquirido. Se sabe que no solo mejora el rendimiento físico, sino que promueve un sistema fisiológico saludable, mejora la fuerza

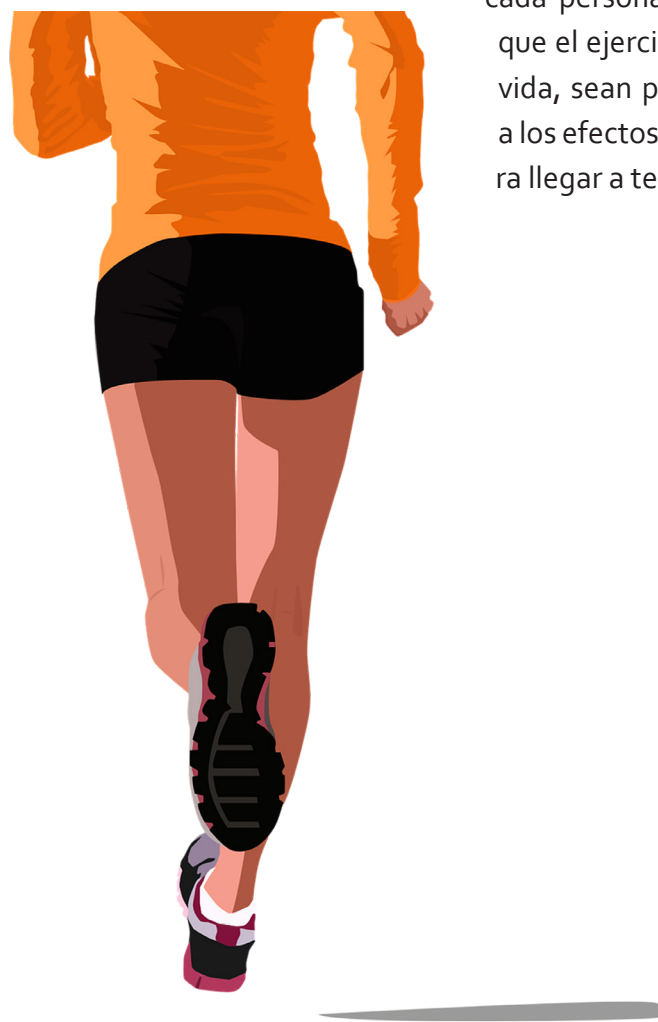
de contracción muscular y la masa muscular, mejora la conducción neuromuscular, la flexibilidad, la coordinación y los reflejos, así como la capacidad ósea, la movilidad de las articulaciones, mejora el metabolismo, el sistema inmune, el sistema nervioso, entre muchos otros beneficios, esto, gracias a la activación de diversos genes y vías de señalización celular.

Se ha reportado una reducción de la incidencia de diabetes mellitus tipo 2 en las personas que realizan actividad física de leve a moderada, al mejorar la sensibilidad a la insulina y mejorar el transporte de glucosa. Además, se ha observado que la práctica de ejercicio regular, se asocia a una mejoría de los estados depresivos, favorece el rendimiento intelectual, las relaciones sociales y la tolerancia al estrés. También puede ser utilizado como soporte en programas contra el exceso de la ingesta de alimentos. En las personas de la tercera edad se ha demostrado que la actividad física moderada ayuda a enlentecer el envejecimiento. En ciertos tipos de cáncer se ha documentado que un régimen de ejercicio moderado, disminuye la recidiva de la enfermedad. Además, garantiza un sistema cardiorres-

piratorio más eficiente, mejora el perfil sanguíneo integral, el tránsito intestinal, el filtrado glomerular, entre muchas otras bondades.

Sin embargo, en el ejercicio no todo lo que brilla es oro

Pese a todos los reportes que posicionan al ejercicio como un tratamiento no farmacológico para numerosas patologías, así como para mantener una óptima calidad de vida, es importante tener en cuenta que el **ejercicio en exceso no es cien por ciento benéfico**. Dependiendo de la edad, el peso, o bien de si las personas presentan alguna patología, el régimen de ejercicio debe ser dentro de lo posible personalizado, esto, con la finalidad de que se aproveche y se obtengan al máximo sus beneficios. No obstante, estos factores pueden



ser considerados únicamente cuando se da inicio con el entrenamiento, ya que posteriormente con un periodo de adaptación, la persona mejorará su condición física y podrá realizar la actividad sin importar estos factores.

Algunos de los factores por los que el ejercicio de muy alta intensidad puede resultar contraproducente, es debido a que puede provocar **rabdomiólisis**, condición que se caracteriza por la alteración de las células musculares, o bien, lesiones musculares, articulares u óseas, incluso problemas cardiacos y descenso del sistema inmune.

Por todo esto, es importa mantener un régimen de **entrenamiento adecuado** dependiendo de las condiciones físicas y emocionales de cada persona, para que los beneficios que el ejercicio ofrezca a la calidad de vida, sean predominantes en relación a los efectos negativos que este pudiera llegar a tener.



Barrett K.E., Barman S.M., Boitano S. y Brooks H. (2010). *Ganong Fisiología Médica*. 23ª. Edición. Mcgraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. <https://www.univermedios.com/wp-content/uploads/2018/08/Fisiologia-medica-ganong.pdf>

Hernández G.D. y Recoder R.A.G. (2015). *Historia de la actividad física y el deporte. Bases Conceptuales. Premisas Ordenadoras. Síntesis. Literatura*. México, Impresos Chávez de la Cruz, S.A. de C.V.

<http://ened.conade.gob.mx/Documentos/Manuales/HISTORIA%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20F%C3%80SICA%20Y%20EL%20DEPORTE.pdf>

Pancorbo Sandoval A.E. (2008). *Medicina y ciencias del deporte y la actividad física*. Madrid, Ergon. https://ergon.es/wp-content/uploads/2015/08/164_medicina_ciencias_deporte.pdf

10. CONCLUSIÓN GENERAL

Los efectos de los diferentes protocolos de ejercicio se ven potencializados por el diazóxido de manera independiente a su intensidad y duración. Los mejores resultados durante la obesidad se obtuvieron al combinar el fármaco con el ejercicio de baja y moderada intensidad, tratamientos con los que se mejoraron las características morfológicas de las fibras musculares alteradas por la obesidad, lo que aumentó la capacidad de contracción muscular y la resistencia a la fatiga al mejorar la sensibilidad a la insulina y el perfil lipídico a nivel sistémico y reducir de manera local los niveles de ERO, la peroxidación de lípidos y mejorar el estado redox del glutati6n. En individuos sanos se ratific6 que los mejores efectos se dan cuando se aplica un protocolo de intensidad moderada y c6mo el diazóxido potencializa estos efectos.

11. REFERENCIAS

1. Wu H, Ballantyne CM. Metabolic Inflammation and Insulin Resistance in Obesity. *Circ Res.* 2020 May 22;126(11):1549-1564. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315896. Epub 2020 May 21. PMID: 32437299; PMCID: PMC7250139.
2. Erskine RM, Tomlinson DJ, Morse CI, Winwood K, Hampson P, Lord JM, Onamb6l6 GL. The individual and combined effects of obesity- and aging-induced systemic inflammation on human skeletal muscle properties. *Int J Obes (Lond).* 2017 Jan;41(1):102-111. doi: 10.1038/ijo.2016.151. Epub 2016 Aug 29. PMID: 27569681; PMCID: PMC5220159.
3. Heo JW, Yoo SZ, No MH, Park DH, Kang JH, Kim TW, Kim CJ, Seo DY, Han J, Yoon JH, Jung SJ, Kwak HB. Exercise Training Attenuates Obesity-Induced Skeletal Muscle Remodeling and Mitochondria-Mediated Apoptosis in the Skeletal Muscle. *Int J Environ Res Public Health.* 2018 Oct 19;15(10):2301. doi: 10.3390/ijerph15102301. PMID: 30347719; PMCID: PMC6210945.
4. Martinez-Huenchullan S, McLennan SV, Verhoeven A, Twigg SM, Tam CS. The emerging role of skeletal muscle extracellular matrix remodelling in obesity and exercise. *Obes Rev.* 2017 Jul;18(7):776-790. doi: 10.1111/obr.12548. Epub 2017 May 5. PMID: 28474421.
5. Bae JY. Resistance Exercise Regulates Hepatic Lipolytic Factors as Effective as Aerobic Exercise in Obese Mice. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Nov 10;17(22):8307. doi: 10.3390/ijerph17228307. PMID: 33182720; PMCID: PMC7696611.
6. Shuster, A., Patlas, M., Pinthus, J. H., y Mourtzakis, M. (2014). The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose

- tissue analysis. *The British journal of radiology*. Recuperado de <http://www.birpublications.org/doi/full/10.1259/bjr/38447238> (Original work published)
7. Pompeani N, Rybalka E, Latchman H, Murphy RM, Croft K, Hayes A. Skeletal muscle atrophy in sedentary Zucker obese rats is not caused by calpain-mediated muscle damage or lipid peroxidation induced by oxidative stress. *J Negat Results Biomed*. 2014 Dec 30;13:19. doi: 10.1186/s12952-014-0019-z. PMID: 25547587; PMCID: PMC4296544.
 8. Martinez-Huenschullan SF, Maharjan BR, Williams PF, Tam CS, Mclennan SV, Twigg SM. Differential metabolic effects of constant moderate versus high intensity interval training in high-fat fed mice: possible role of muscle adiponectin. *Physiol Rep*. 2018 Feb;6(4):e13599. doi: 10.14814/phy2.13599. PMID: 29446245; PMCID: PMC5812883.
 9. Brown DA, Chicco AJ, Jew KN, Johnson MS, Lynch JM, Watson PA, Moore RL. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *J Physiol*. 2005 Dec 15;569(Pt 3):913-24. doi: 10.1113/jphysiol.2005.095729. PMID: 16223762; PMCID: PMC1464258.
 10. Cho YK, Lee Y, Jung CH. Pathogenesis, Murine Models, and Clinical Implications of Metabolically Healthy Obesity. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 25;23(17):9614. doi: 10.3390/ijms23179614. PMID: 36077011; PMCID: PMC9455655.
 11. Curley S, Gall J, Byrne R, Yvan-Charvet L, McGillicuddy FC. Metabolic Inflammation in Obesity-At the Crossroads between Fatty Acid and Cholesterol Metabolism. *Mol Nutr Food Res*. 2021 Jan;65(1):e1900482. doi: 10.1002/mnfr.201900482. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32754976.
 12. Casanello P., Krause B. J., Castro-Rodríguez J. A. y Uauy R. Epigenética y obesidad. *ev. chil. pediatr.* vol.87 no.5 Santiago oct. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rchipe.2016.08.009>.
 13. Gihring A, Gärtner F, Liu C, Hoenicka M, Wabitsch M, Knippschild U, Xu P. Influence of Obesity on the Organization of the Extracellular Matrix and Satellite Cell Functions After Combined Muscle and Thorax Trauma in C57BL/6J Mice. *Front Physiol*. 2020 Jul 28;11:849. doi: 10.3389/fphys.2020.00849. PMID: 32848828; PMCID: PMC7399228.
 14. Hugo, E. R., y Ben-Jonathan, N. (2016). . Endocrine Disruptors, Adipokines and the Metabolic Syndrome. *Adipokines*, 228. (Original work published).
 15. Miao Z, Alvarez M, Ko A, Bhagat Y, Rahmani E, Jew B, Heinonen S, Muñoz-Hernandez LL, Herrera-Hernandez M, Aguilar-Salinas C, Tusie-Luna T, Mohlke KL, Laakso M, Pietiläinen KH, Halperin E, Pajukanta P. The causal effect of obesity on prediabetes and insulin resistance reveals the important role of adipose tissue in insulin resistance. *PLoS Genet*. 2020 Sep 14;16(9):e1009018. doi: 10.1371/journal.pgen.1009018. PMID: 32925908; PMCID: PMC7515203.
 16. Pedersen DJ, Guilherme A, Danai LV, Heyda L, Matevossian A, Cohen J, Nicoloso SM, Straubhaar J, Noh HL, Jung D, Kim JK, Czech MP. A major role of insulin in promoting obesity-associated adipose tissue inflammation. *Mol Metab*. 2015 May

- 1;4(7):507-18. doi: 10.1016/j.molmet.2015.04.003. PMID: 26137438; PMCID: PMC4481426.
17. Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients*. 2013 Feb 7;5(2):498-508. doi: 10.3390/nu5020498. PMID: 23434905; PMCID: PMC3635208.
 18. Eriksson-Hogling D, Andersson DP, Bäckdahl J, Hoffstedt J, Rössner S, Thorell A, Arner E, Arner P, Rydén M. Adipose tissue morphology predicts improved insulin sensitivity following moderate or pronounced weight loss. *Int J Obes (Lond)*. 2015 Jun;39(6):893-8. doi: 10.1038/ijo.2015.18. Epub 2015 Feb 10. PMID: 25666530.
 19. Wu H, Ballantyne CM. Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *J Clin Invest*. 2017 Jan 3;127(1):43-54. doi: 10.1172/JCI88880. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28045398; PMCID: PMC5199705.
 20. Sangwung P, Petersen KF, Shulman GI, Knowles JW. Mitochondrial Dysfunction, Insulin Resistance, and Potential Genetic Implications. *Endocrinology*. 2020 Apr 1;161(4):bqaa017. doi: 10.1210/endo/bqaa017. PMID: 32060542; PMCID: PMC7341556.
 21. Small, L.; Brandon, A.E.; Parker, B.L.; Deshpande, V.; Samsudeen, A.F.; Kowalski, G.M.; Reznick, J.; Wilks, D.L.; Preston, E.; Bruce, C.R.; et al. Reduced insulin action in muscle of high fat diet rats over the diurnal cycle is not associated with defective insulin signaling. *Mol Metab*. 2019, 25, 107–118.
 22. Fazakerley DJ, Krycer JR, Kearney AL, Hocking SL, James DE. Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism? *J Lipid Res*. 2019 Oct;60(10):1720-1732. doi: 10.1194/jlr.R087510. Epub 2018 Jul 27. PMID: 30054342; PMCID: PMC6795081.
 23. Klop B, Elte JW, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*. 2013 Apr 12;5(4):1218-40. doi: 10.3390/nu5041218. PMID: 23584084; PMCID: PMC3705344.
 24. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*. 2012 Mar 2;148(5):852-71. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.017. PMID: 22385956; PMCID: PMC3294420.
 25. Abrigo, J.; Rivera, J.C.; Aravena, J.; Cabrera, D.; Simon, F.; Ezquer, F.; Ezquer, M.; Cabello-Verrugio, C. High Fat Diet-Induced Skeletal Muscle Wasting Is Decreased by Mesenchymal Stem Cells Administration: Implications on Oxidative Stress, Ubiquitin Proteasome Pathway Activation, and Myonuclear Apoptosis. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2016, 2016, 9047821.
 26. Martinez-Huenchullan, S.F.; Ban, L.A.; Olaya-Agudo, L.F.; Maharjan, B.R.; Williams, P.F.; Tam, C.S.; Mclennan, S.V.; Twigg, S.M. Constant-Moderate and High-Intensity Interval Training Have Differential Benefits on Insulin Sensitive Tissues in High-Fat Fed Mice. *Front Physiol*. 2019, 10, 459.
 27. Schmidt, F.M.; Weschenfelder, J.; Sander, C.; Minkwitz, J.; Thormann, J.; Chittka, T.; Mergl, R.; Kirkby, K.C.; Faßhauer, M.; Stumvoll, M.; et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *PLoS ONE* 2015, 10, e0121971.

28. Hong, S.H.; Choi, K.M. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 494.
29. Choi, S.J.; Files, D.C.; Zhang, T.; Wang, Z.M.; Messi, M.L.; Gregory, H.; Stone, J.; Lyles, M.F.; Dhar, S.; Marsh, A.P.; et al. Intramyocellular Lipid and Impaired Myofiber Contraction in NormalWeight and Obese Older Adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2016, 71, 557–564.
30. Rahemi H, Nigam N, Wakeling JM. The effect of intramuscular fat on skeletal muscle mechanics: implications for the elderly and obese. *J R Soc Interface.* 2015 Aug 6;12(109):20150365. doi: 10.1098/rsif.2015.0365. PMID: 26156300; PMCID: PMC4535407.
31. Bae JY, Shin KO, Woo J, Woo SH, Jang KS, Lee YH, Kang S. Exercise and dietary change ameliorate high fat diet induced obesity and insulin resistance via mTOR signaling pathway. *J Exerc Nutrition Biochem.* 2016 Jun;20(2):28-33. doi: 10.20463/jenb.2016.06.20.2.4. Epub 2016 Jun 30. PMID: 27508151; PMCID: PMC4977908.
32. Espinosa, A.; Henríquez-Olguín, C.; Jaimovich, E. Reactive oxygen species and calcium signals in skeletal muscle: A crosstalk involved in both normal signaling and disease. *Cell Calcium* 2016, 60, 172–179.
33. Choi, S.J.; Files, D.C.; Zhang, T.; Wang, Z.M.; Messi, M.L.; Gregory, H.; Stone, J.; Lyles, M.F.; Dhar, S.; Marsh, A.P.; et al. Intramyocellular Lipid and Impaired Myofiber Contraction in NormalWeight and Obese Older Adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2016, 71, 557–564.
34. Lipina, C.; Hundal, H.S. Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017, 8, 190–201.
35. Gómez-Barroso, M.; Moreno-Calderón, K.M.; Sánchez-Duarte, E.; Cortés-Rojo, C.; Saavedra-Molina, A.; Rodríguez-Orozco, A.R.; Montoya-Pérez, R. Diazoxide and Exercise Enhance Muscle Contraction during Obesity by Decreasing ROS Levels, Lipid Peroxidation, and Improving Glutathione Redox Status. *Antioxidants* 2020, 9, 1232.
36. Pattanakuhar S, Pongchaidecha A, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The effect of exercise on skeletal muscle fibre type distribution in obesity: From cellular levels to clinical application. *Obes Res Clin Pract.* 2017 Sep-Oct;11(5 Suppl 1):112-132. doi: 10.1016/j.orcp.2016.09.012. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27756527.
37. Nakagawa Y, Yoshioka M, Abe Y, Uchinami H, Ohba T, Ono K, Yamamoto Y. Enhancement of liver regeneration by adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel opener (diazoxide) after partial hepatectomy. *Transplantation.* 2012 Jun 15;93(11):1094-100. doi: 10.1097/TP.0b013e31824ef1d1. PMID: 22466787.
38. Alemzadeh, R.; Karlstad, M.D.; Tushaus, K.; Buchholz, M. Diazoxide enhances basal metabolic rate and fat oxidation in obese Zucker rats. *Metabolism* 2008, 57, 1597–1607.
39. Bischof JM, Wevrick R. Chronic diazoxide treatment decreases fat mass and improves endurance capacity in an obese mouse model of Prader-Willi syndrome.

- Mol Genet Metab. 2018 Apr;123(4):511-517. doi: 10.1016/j.ymgme.2018.02.018. Epub 2018 Feb 27. PMID: 29506955.
40. Loves, S.; van Groningen, L.; Filius, M.; Mekking, M.; Brandon, T.; Tack, C.J.; Hermus, A.; de Boer, H. Effects of Diazoxide-Mediated Insulin Suppression on Glucose and Lipid Metabolism in Nondiabetic Obese Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018, 103, 2346–2353.
 41. Chen X, Feng L, Yao H, Yang L, Qin Y. Efficacy and safety of diazoxide for treating hyperinsulinemic hypoglycemia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021 Feb 11;16(2):e0246463. doi: 10.1371/journal.pone.0246463. PMID: 33571197; PMCID: PMC7877589.
 42. Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol.* 2017 Apr;233(1):R15-R42. doi: 10.1530/JOE-16-0598. PMID: 28232636.
 43. Lavin KM, Coen PM, Baptista LC, Bell MB, Drummer D, Harper SA, Lixandrão ME, McAdam JS, O'Bryan SM, Ramos S, Roberts LM, Vega RB, Goodpaster BH, Bamman MM, Buford TW. State of Knowledge on Molecular Adaptations to Exercise in Humans: Historical Perspectives and Future Directions. *Compr Physiol.* 2022 Mar 9;12(2):3193-3279. doi: 10.1002/cphy.c200033. PMID: 35578962; PMCID: PMC9186317.
 44. Theofilidis, G.; Bogdanis, G.C.; Koutedakis, Y.; Karatzaferi, C. Monitoring Exercise-Induced Muscle Fatigue and Adaptations: Making Sense of Popular or Emerging Indices and Biomarkers. *Sports* 2018, 6, 153.
 45. Lambertucci, R.H.; Levada-Pires, A.C.; Rossoni, L.V.; Curi, R.; Pithon-Curi, T.C. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech. Ageing Dev.* 2007, 128, 267–275.
 46. Coffey VG, Hawley JA. Concurrent exercise training: Do opposites distract? *J Physiol* 595: 2883–2896, 2017. DOI: 10.1113/JP272270.
 47. Poole DC, Jones AM. Measurement of the maximum oxygen uptake $\dot{V}O_{2\max}$: $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ is no longer acceptable. *J Appl Physiol* (1985) 122: 997–1002, 2017. DOI: 10.1152/jappphysiol.01063.2016.
 48. Kjøbsted R, Hingst JR, Fentz J, Foretz M, Sanz MN, Pehmøller C, Shum M, Marette A, Mounier R, Trebak JT, Wojtaszewski JFP, Viollet B, Lantier L. AMPK in skeletal muscle function and metabolism. *FASEB J.* 2018 Apr;32(4):1741-1777. doi: 10.1096/fj.201700442R. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29242278; PMCID: PMC5945561.
 49. Bilski J, Pierzchalski P, Szczepanik M, Bonior J, Zoladz JA. Multifactorial Mechanism of Sarcopenia and Sarcopenic Obesity. Role of Physical Exercise, Microbiota and Myokines. *Cells.* 2022 Jan 4;11(1):160. doi: 10.3390/cells11010160. PMID: 35011721; PMCID: PMC8750433.
 50. Cartee, G.D.; Arias, E.B.; Yu, C.S.; Pataky, M.W. Novel single skeletal muscle fiber analysis reveals a fiber type-selective effect of acute exercise on glucose uptake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2016, 311, E818–E824.

51. Atakan MM, Koşar ŞN, Güzel Y, Tin HT, Yan X. The Role of Exercise, Diet, and Cytokines in Preventing Obesity and Improving Adipose Tissue. *Nutrients*. 2021 Apr 25;13(5):1459. doi: 10.3390/nu13051459. PMID: 33922998; PMCID: PMC8145589.
52. Bouviere J, Fortunato RS, Dupuy C, Werneck-de-Castro JP, Carvalho DP, Louzada RA. Exercise-Stimulated ROS Sensitive Signaling Pathways in Skeletal Muscle. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Mar 30;10(4):537. doi: 10.3390/antiox10040537. PMID: 33808211; PMCID: PMC8066165.
53. Botezelli, J.D.; Coope, A.; Ghezzi, A.C.; Cambri, L.T.; Moura, L.P.; Scariot, P.P.; Gaspar, R.S.; Mekary, R.A.; Ropelle, E.R.; Pauli, J.R. Strength Training Prevents Hyperinsulinemia, Insulin Resistance, and Inflammation Independent of Weight Loss in Fructose-Fed Animals. *Sci. Rep.* 2016, 6, 31106.
54. Wang, L.; Lavier, J.; Hua,W.;Wang, Y.; Gong, L.;Wei, H.;Wang, J.; Pellegrin, M.; Millet, G.P.; Zhang, Y. High-Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training Attenuate Oxidative Damage and Promote Myokine Response in the Skeletal Muscle of ApoE KO Mice on High-Fat Diet. *Antioxidants* 2021, 10, 992.