

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía
Doctorado en Ciencias de la Nutrición



Efecto de la Dieta Alta En Sacarosa Sobre Indicadores Bioquímicos, Histopatológicos y Genéticos Asociados a Hígado Graso No Alcohólico En Ratones Macho Y Hembras De La Cepa C57BL/6N

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

Presenta

M.C. Melissa de Jesús Vega Burgueño

Directora de Tesis:

Dra. Marcela de Jesús Vergara Jiménez

Culiacán, Sinaloa, México,

Octubre de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, mi alma máter por 15 años. A la **Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía**, en donde tuve la dicha de iniciar mis estudios de licenciatura y de la que ahora orgullosamente formo parte como docente y laboratorista, por lo que no puedo dejar de lado a todos mis compañeros que conforman esta facultad, gracias por el apoyo. Al **Doctorado en Ciencias de la Nutrición**, al igual que a todos los maestros que la conforman por todo el aprendizaje, las experiencias y exigencias a lo largo de estos años. No fue nada fácil volver a ser una estudiante en tiempos de pandemia y fue un proceso de mucho esfuerzo pero también de muchos logros y momentos que se quedan en mi formación profesional. Asimismo, agradezco al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT)** por el apoyo económico otorgado.

Agradezco profundamente a mi directora de tesis, **Dra. Marcela Vergara**, por toda la confianza que ah depositado en mi a lo largo de estos años de formación, por caminar de la mano con este proyecto que no hubiera sido posible sin su guía, paciencia y apoyo incondicional. Muchas gracias por contribuir a mi formación profesional, y sobre todo a mi formación personal. Todos los momentos compartidos se quedan en un lugar muy especial en mi corazón. Así como también a mi comité de tesis por su asesoría y contribución al mejoramiento continuo de este proyecto.

Agradezco especialmente al **Dr. Edith Hilario Torres** y al **Dr. José Marcial Zazueta** de la **Facultad de Biología**, por su asesoría y apoyo para la realización de una parte de los experimentos de este proyecto de investigación. Asimismo, agradezco al **Dr. Ulises Osuna** de la **Facultad de Ciencias Químico Biológicas**, por permitirme realizar el análisis histopatológico en su laboratorio, por su apoyo y asesoría en este proyecto, y en la realización de la publicación científica.

Agradezco al **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD-CULIACAN)** a través del **Laboratorio Nacional para la Investigación en Inocuidad Alimentaria (LANIIA)**, por permitirme realizar los análisis de expresión

génica en sus instalaciones. Muchas gracias **Dr. Cristobal Chaidez** y **Dr. Daniel Lira** por su apoyo y asesoría durante esa estancia.

Al **laboratorio de Investigación 1** de la facultad de Ciencias de la Nutrición, un laboratorio que me ha visto crecer y en donde realicé la mayoría de mis trabajos experimentales, cada uno de sus integrantes ha contribuido de manera importante a mi formación profesional. A la **Dra. Elisa Barrón**, por siempre estar dispuesta a ayudar, por ser además de mi asesora, una compañera en este camino, por compartir tantos momentos, te quiero mucho amiga. A mis compañeros que han pasado por el laboratorio a lo largo de este tiempo de formación. **Daniela y Juliana**, mis compañeras de bioterio, **Amairany y Rosabel**, mis compañeras en experimentales. **Salma y Diana**, mis compañeras ¡en todo!, y demás compañeros. Gracias a todos por compartir las alegrías y angustias que conlleva este camino y haberlo hecho más llevadero.

A mis mafrens, **Malenny, María Fernanda y Blanca**. Por siempre ser mi lugar seguro, por todas las veces que han estado para decirme que va a pasar, que puedo lograrlo, que soy capaz, o simplemente para escucharme. Las quiero con el alma.

A mis padres **Oscar y Marlen** y mis suegros **Luz y Carlos**. Gracias por su apoyo incondicional, por su cariño y por ser los mejores abuelos para mis hijos. Espero algún día poder retribuir todo lo que han aportado para que yo hoy pueda culminar esta etapa de mi vida. También a mi hermano **Oscar**, a **Frida y José**, que también forman parte de mi familia, gracias por su apoyo y por querer tanto a mis hijos.

A mis tías **Olga y Macrina**, que son mis otras mamás, gracias por siempre estar en los momentos más importantes de mi vida.

A mi esposo **Carlos**, mi mayor apoyo y fuente inagotable de fuerza. Gracias por estar siempre a mi lado, por tu paciencia, comprensión y amor incondicional. Sin ti, este logro no habría sido posible. Te amo con todo mi corazón.

A mis hijos **Ana Sofía y Carlos Ernesto**, quienes han sido mi pilar de apoyo y fuente constante de inspiración. Gracias mis niños por siempre entender que su

mamá tiene que salir a trabajar todos los días, por recibirme siempre con un abrazo y un beso, por llenar mis días de luz y motivación para ser mejor para ustedes. Gracias por ser mi razón para seguir adelante y por darme la fuerza necesaria para alcanzar este logro. Esta tesis es para ustedes, con todo mi amor.

RESUMEN

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA), se considera actualmente el componente hepático del síndrome metabólico, ya que se relaciona a comorbilidades como obesidad, resistencia a la insulina y dislipidemias. La ingesta de sacarosa o fructosa y/o el consumo de bebidas azucaradas han recibido atención recientemente como posibles factores de riesgo para el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2. A su vez, estos factores pueden verse influenciados por características propias del individuo, como su sexo. Las diferencias de sexo sustentan la variación biológica fundamental en la enfermedad, así como su progresión. Los genes *CD36* y *ADIPOR1* han demostrado en estudios de modelos murinos, regular algunas de las vías de desarrollo de esta enfermedad, así como también de su progresión a esteatohepatitis no alcohólica. (EHNA). **Objetivo:** Evaluar la diferencia del efecto de una dieta alta en sacarosa sobre indicadores bioquímicos, histopatológicos y genéticos, relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N. **Metodología:** Los ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N, se dividieron en dos grupos controles (hembras y machos) y dos grupos sacarosa (hembras y machos) con 20 semanas de intervención. En la semana 20 se obtuvo suero a partir de punción intracardiaca para determinar algunas variables bioquímicas, y se extrajo tejido hepático para realizar la histopatología y la expresión génica de *CD36* y *ADIPOR1*, de cada ratón. **Resultados:** Se observaron mayores niveles de glucosa sérica, índice HOMA-IR, acumulación de triglicéridos en el hígado, esteatosis micro y macro vesicular y presencia de células balonadas en ratones hembras en comparación a los machos, así como un incremento de la expresión de *CD36* derivado de la diferencia de sexo, y una disminución de la expresión de *Adipor1* en respuesta a la dieta alta en sacarosa. Esto podría indicar que el sexo es un factor que puede condicionar el mecanismo por el cual se desarrolla EHGNA, pero que además la influencia de la dieta puede provocar alteraciones en marcadores reguladores de la aparición y progresión de la patología.

Palabras clave: Hígado graso no alcohólico, expresión génica, sacarosa, C57BL/6N, diferencia de sexo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Enfermedad por Hígado Graso No Alcohólico (EHGNA)	2
2.1.1. Prevalencia de la EHGNA.....	2
2.1.2. Factores de riesgo	3
2.1.3. Diagnóstico de EHGNA	4
2.1.4. Fisiopatología de la EHGNA	6
2.1.5. Progresión de EHGNA.....	8
2.1.6. Dimorfismo sexual en la EHGNA.....	11
2.1.7. Dieta alta en sacarosa en el desarrollo de EHGNA	16
2.2. Cd36	19
2.3. Adipor1.....	21
2.4. Biomarcadores en nutrición personalizada	23
2.5. Importancia de la Nutrición de precisión	23
3. JUSTIFICACIÓN.....	25
4. OBJETIVO GENERAL.....	26
4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.1. Diseño experimental	27
5.2. Peso corporal y consumo de alimento	29
5.3. Determinaciones bioquímicas	29
5.3.1. Colesterol Total.....	29
5.3.2. Lipoproteína de alta densidad (HDL)	29

5.3.3.	Triglicéridos.....	30
5.3.4.	Glucosa.....	30
5.3.5.	Insulina	31
5.3.6.	Cálculo de Evaluación del Modelo de Homeostasis de Resistencia a la insulina (HOMA-IR).....	31
5.4.	ANÁLISIS DE TEJIDO HEPÁTICO	31
5.4.1.	Histología.....	31
5.4.2.	Fijación de tejido hepático.	32
5.4.3.	Análisis histopatológico de tejido hepático.....	33
5.4.4.	Determinación de grado de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). 34	
5.4.5.	Acumulación de triglicéridos hepáticos	34
5.5.	Extracción de ARN.....	35
5.6.	Síntesis de ADNc (Transcripción reversa)	35
5.7.	Cuantificación relativa de los genes CD36 y ADIPOR1 mediante PCR en Tiempo Real con sondas TaqMan	36
5.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
6.	RESULTADOS	38
6.1.	Consumo de alimento y solución de sacarosa	38
6.2.	Peso corporal.....	38
6.3.	DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	42
6.3.1.	Perfil de lípidos.....	42
6.3.2.	Colesterol total	42
6.3.3.	Colesterol HDL y no HDL.....	43
6.3.4.	Triglicéridos séricos	45
6.3.5.	Glucosa	46
6.3.6.	Insulina e índice HOMA-IR	47

6.4.	DETERMINACIONES HISTOLÓGICAS	49
6.4.1.	Peso del hígado y acumulación de triglicéridos hepáticos	49
6.4.2.	Análisis histopatológico del tejido hepático	49
6.5.	DETERMINACIONES GENÉTICAS.....	56
6.5.1.	Expresión relativa de Cd36.....	56
6.5.2.	Expresión relativa de AdipoR1.....	58
6.5.3.	Asociación de la expresión de los genes Cd36 y AdipoR1 sobre indicadores bioquímicos relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.....	60
6.5.4.	Asociación de la expresión de los genes Cd36 y AdipoR1 sobre indicadores histológicos relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.....	62
7.	DISCUSIÓN.....	64
8.	CONCLUSIÓN.....	72
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
10.	ANEXOS.....	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grado de actividad de EHNA	52
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Teoría del doble hit en la EHGNA.	10
Figura 2. Vía de señalización de AdipoR1.	22
Figura 3. Diseño experimental.....	28
Figura 4. Diferencias en el consumo de alimento en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	39
Figura 5. Diferencias en el consumo de solución de sacarosa en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	40
Figura 6. Diferencias en el peso corporal en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N durante 20 semanas con una dieta alta en sacarosa.....	41
Figura 7. Diferencias en los niveles de colesterol total en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	42
Figura 8. Diferencias en los niveles de colesterol- HDL en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	43
Figura 9. Diferencias en los niveles de triglicéridos séricos en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	45
Figura 10. Diferencias en los niveles de glucosa sérica en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	46
Figura 11. Diferencias en los niveles de insulina sérica en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.....	47
Figura 12. Diferencias en el índice HOMA-IR de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.	48
Figura 13. Diferencias en el peso del hígado de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa.	50
Figura 14. . Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre niveles de triglicéridos hepáticos de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.....	51
Figura 15. Efecto del consumo de sacarosa en la morfología e histopatología del hígado de ratones macho.....	54

Figura 16. Efecto del consumo de sacarosa en la morfología e histopatología del hígado de ratones hembra.	55
Figura 17. Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre la expresión relativa del gen CD36 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.	56
Figura 18. Diferencia del sexo sobre la expresión relativa del gen CD36 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con dieta alta en sacarosa.	57
Figura 19. Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre la expresión relativa del gen CD36 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.	58
Figura 20. Diferencia del sexo sobre la expresión relativa del gen Adipor1 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con dieta alta en sacarosa.	59
Figura 21. Asociación entre los valores de insulina sérica y la expresión del gen Cd36 en ratones hembras de la cepa C57BL/6N.	60
Figura 22. Asociación entre los valores de colesterol no HDL y la expresión del gen Adipor1 en ratones machos de la cepa C57BL/6N.	61
Figura 23. Asociación entre el peso del hígado y la expresión del gen Adipor1 en ratones machos de la cepa C57BL/6N.	62
Figura 24. Asociación entre los valores de triglicéridos hepáticos y la expresión del gen Adipor1 en ratones hembras de la cepa C57BL/6N.	63

1. INTRODUCCIÓN

La masa grasa total constituye un componente esencial en el organismo, actuando como reserva energética y aislante nervioso. Este componente presenta variaciones en función de la edad, el sexo y el estilo de vida del individuo. La distribución regional de la grasa se encuentra estrechamente relacionada con el riesgo de desarrollar trastornos metabólicos, como la enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA). En este sentido, se observa que una mayor proporción de grasa subcutánea en la región gluteofemoral (tipo ginoide), más común en las mujeres, está asociada con un menor riesgo, mientras que la adiposidad visceral (tipo androide), predominantemente en los hombres, se vincula a un mayor riesgo de dichos trastornos. La EHGNA es una condición prevalente que se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa en el hígado en ausencia de consumo significativo de alcohol. Este trastorno se ha convertido en una preocupación de salud pública a nivel mundial debido a su asociación con obesidad, diabetes tipo 2 y otros componentes del síndrome metabólico. Además de la adiposidad, existen otros factores de riesgo como la resistencia a la insulina o hipertrigliceridemia, relacionados al síndrome metabólico. En este contexto, es importante resaltar la presencia de diversos genes que se encargan del desarrollo de EHGNA, así como de su progresión a esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Se destacan los genes *Cd36* y *Adipor1* como potenciales reguladores de la aparición temprana de EHGNA y EHNA, ya que en diversos reportes se ha asociado un aumento en la expresión de estos genes en relación con una dieta alta en sacarosa. Sin embargo, existen escasos estudios que se encarguen de analizar el efecto del sexo sobre la expresión de genes relacionados al desarrollo de EHGNA. En ese sentido, en este estudio se evaluó el comportamiento de genes claves en el desarrollo de esta enfermedad, con la finalidad de obtener biomarcadores que permitan la detección temprana de EHGNA, ya que actualmente la biopsia hepática es el estándar de oro en el diagnóstico de la enfermedad. A su vez, la evaluación de la influencia del sexo puede determinar las vías distintas por las cuales una mujer o un hombre pueden desarrollar EHGNA con la finalidad de implementar tratamientos nutrimentales con un enfoque preventivo y personalizado.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Enfermedad por Hígado Graso No Alcohólico (EHGNA)

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es un trastorno metabólico caracterizado por la acumulación de grasa en los hepatocitos, superando el 5%, en individuos que no presentan un consumo significativo de alcohol ni otras causas conocidas de esteatosis secundaria. Estas causas pueden incluir ciertas enfermedades metabólicas del hígado, como la enfermedad de Wilson y la lipodistrofia, así como la ingesta de fármacos hepatotóxicos, tales como la amiodarona, los esteroides, el tamoxifeno y el ácido valproico (Katsiki et al., 2016). Actualmente, la EHGNA representa la forma más prevalente de enfermedad hepática crónica a nivel mundial. Su espectro patológico puede progresar desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis, la cirrosis y el carcinoma hepatocelular (Chalasanani et al., 2020). Además, la EHGNA se considera el componente hepático del síndrome metabólico, que se define por la presencia de al menos tres de las siguientes alteraciones: resistencia a la insulina, obesidad central, hipertensión arterial y dislipidemias, que pueden manifestarse como hipertrigliceridemia o niveles bajos de colesterol HDL (Lonardo et al., 2015).

2.1.1. Prevalencia de la EHGNA

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 11% de los hombres y el 15% de las mujeres adultas en el mundo padecen obesidad, mientras que aproximadamente el 25% de los adultos con hígado graso presentan enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) (Younossi et al., 2016). En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2022 estima que la prevalencia del sobrepeso y la obesidad es del 38.3% y 36.9%, respectivamente. En la población con obesidad, la prevalencia de EHGNA puede alcanzar hasta el 72% (Campos-Nonato et al., 2023). En términos de género, la incidencia de EHGNA es del 32.3%

en hombres y del 41% en mujeres. Sin embargo, estudios poblacionales de los Estados Unidos destinados a estimar la prevalencia de EHGNA en la población general, demostraron que las mujeres post menopaúsicas mostraban mayor incidencia de EHGNA que las premenopáusicas, así como también las mujeres que recibían terapia de reemplazo hormonal, sugiriéndose un rol protector de los estrógenos para esta enfermedad (Lonardo *et al.*, 2019).

2.1.2. Factores de riesgo

La EHGNA es una condición compleja influenciada tanto por factores ambientales interrelacionados como por una predisposición genética (De Oliveira *et al.*, 2019). Se observa una mayor prevalencia y un avance más significativo de la patología con el aumento de la edad (Koheler *et al.*, 2012). El sexo masculino representa un factor de riesgo significativo, con una prevalencia de EHGNA en hombres que casi duplica la observada en mujeres (Fattahi *et al.*, 2016). A lo largo del tiempo, la relación entre la EHGNA y la etnia ha mostrado cambios. Investigaciones realizadas en Estados Unidos revelan que los hispanos presentan una mayor prevalencia de EHGNA en comparación con los blancos no hispanos, mientras que los afroamericanos no hispanos exhiben una menor prevalencia (Masuoka & Chalasani, 2013). Actualmente, se reconoce que estas disparidades étnicas están asociadas a la variabilidad genética.

En la actualidad, la EHGNA se considera un marcador de resistencia a la insulina (RI) a nivel sistémico. La mayoría de los pacientes afectados presentan síndrome metabólico y experimentan comorbilidades metabólicas, tales como obesidad, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y dislipidemia, todos ellos factores de riesgo asociados con enfermedades cardiovasculares (Vernon *et al.*, 2011). Es crucial subrayar que la RI es la causa principal de esta condición, pudiendo estar presente incluso en ausencia de manifestaciones clínicas del síndrome metabólico.

El estilo de vida tiene un impacto significativo en el desarrollo de esta enfermedad. Dietas que son ricas en carne roja, granos refinados y bebidas

azucaradas, así como el sedentarismo y el tabaquismo, se consideran factores de riesgo independientes para la aparición de la EHGNA .

2.1.3. Diagnóstico de EHGNA

El diagnóstico de la EHGNA se fundamenta en una evaluación que combina factores clínicos y técnicas de imagen hepática. Esta evaluación incluye un historial detallado sobre el consumo de alcohol, un análisis de los hábitos alimentarios, la identificación de factores de riesgo metabólicos tanto personales como familiares, así como pruebas serológicas y antecedentes de uso de medicamentos (Narro & Escobar, 2023).

2.1.3.1. Transaminasas

Las enzimas hepáticas no forman parte de los criterios diagnósticos de la EHGNA, ya que un porcentaje significativo de personas con EHGNA pueden tener niveles normales de alanina aminotransferasa (ALT) y aun así presentar EHNA o fibrosis avanzada. De hecho, un porcentaje considerable de pacientes con EHGNA que muestran niveles elevados de ALT no necesariamente tienen EHNA o fibrosis avanzada. Además, las elevaciones en las enzimas hepáticas pueden deberse a otras causas que no están relacionadas con la EHGNA, lo que las convierte en un marcador poco confiable para su detección. Sin embargo, niveles elevados de estas enzimas podrían indicar la necesidad de realizar pruebas adicionales (Mofrad *et al.* 2003).

2.1.3.2. Ecografía abdominal

Los análisis séricos pueden revelar una anormalidad hepática, pero la ecografía es especialmente útil para determinar si la causa de dicha alteración se origina en el tejido hepático o en la vía biliar. Esto se debe a que la ecografía utiliza

ondas sonoras para generar imágenes detalladas de los conductos del hígado, la vesícula biliar y las vías biliares (Graffigna *et al*, 2017).

2.1.3.3. Resonancia magnética

Identifica diversos trastornos hepáticos, como la hepatitis, la hemocromatosis y la EHGNA, que afectan de manera uniforme a todo el hígado. Además, ofrece detalles sobre el flujo sanguíneo, lo que ayuda a entender mejor los problemas vasculares. Aunque esta herramienta es útil para medir la cantidad de grasa acumulada en el hígado, no es capaz de diferenciar entre la esteatosis simple (EHGNA) y la acumulación de lípidos que se acompaña de inflamación y fibrosis, es decir, EHNA (Muthiah *et al*, 2021)..

2.1.3.4. Tomografía computarizada

Ofrece imágenes nítidas del hígado y es particularmente útil para identificar tumores y EHGNA. Tanto la elastografía transitoria por ultrasonido (TE) como el fibroscan y la elastografía por resonancia magnética (MRE) son herramientas que pueden utilizarse para evaluar la EHGNA. Estas técnicas miden la rigidez del hígado, y para detectar la esteatosis hepática con estos métodos, es necesario que al menos el 30% del hígado esté afectado. Sin embargo, ninguna de las pruebas radiológicas convencionales es capaz de identificar la esteatohepatitis o fibrosis en sus etapas iniciales (Morales *et al*, 2022).

2.1.3.5. Biopsia hepática

La biopsia hepática es el método recomendado para identificar la esteatohepatitis. No obstante, debido a los riesgos asociados, como hemorragias e

infecciones, y su limitada disponibilidad, no se sugiere de manera rutinaria para todos los pacientes. Las directrices actuales restringen su uso a casos en los que el diagnóstico no es claro o cuando se sospecha la presencia de una enfermedad avanzada. Además, la biopsia hepática solo examina una pequeña fracción del órgano (aproximadamente 1/50,000), lo cual, sumado a la distribución irregular de la fibrosis, puede limitar su precisión (Hernández-Pérez *et al*, 2016). Por lo tanto, existe una necesidad de identificar nuevos biomarcadores que indiquen de manera sencilla pero clara la existencia o no de enfermedad, el riesgo o predisposición a sufrirla en el futuro, el grado de progresión o el mejor tratamiento dietético (Mahjoubin *et al*, 2021).

2.1.4. Fisiopatología de la EHGNA

La creciente evidencia respalda una relación bidireccional entre la EHGNA y los componentes del SM. La EHGNA se asocia con varios cambios fisiopatológicos: (1) un aumento en la lipogénesis *de novo* (LDN) y en la producción de lipoproteínas de muy baja densidad; (2) disminución en la oxidación de ácidos grasos en el hígado; (3) lipólisis descontrolada en el tejido adiposo; y (4) alteración en la supresión de la producción hepática de glucosa mediada por la insulina, lo que provoca esteatosis hepática, hipertrigliceridemia e hiperglucemia. A nivel molecular, se considera que la resistencia selectiva a la insulina en el hígado es un factor clave que impulsa el desarrollo de las alteraciones previamente mencionadas, la acumulación de triglicéridos resulta en esteatosis, que a su vez aumenta la susceptibilidad del hígado a daños adicionales, como el estrés oxidativo, la reducción de ATP y endotoxinas, lo que finalmente puede conducir al desarrollo de esteatohepatitis, desarrollo de fibrosis hepática y hepatocarcinoma (Eslam *et al*, 2020).

La característica principal que define a la EHGNA es la acumulación de triglicéridos en el hígado, debido a un desequilibrio entre la entrada y salida de ácidos grasos (Lonardo *et al*, 2017). Un factor clave que afecta la utilización de ácidos grasos es el malonil-CoA producido durante la LDN. Este compuesto inhibe

estéricamente a la carnitina-O-palmitoiltransferasa 1 (CPT1) en las mitocondrias, una enzima crucial para la β -oxidación. Aunque la excreción de triglicéridos mediante lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) parece estar aumentada en la EHGNA, no es suficiente para contrarrestar el exceso de ácidos grasos que entra al hígado (Arab et al, 2018).

2.1.4.1. Factores genéticos

Los estudios de asociación genómica y de expresión génica han vinculado diversos genes con la aparición y progresión de EHGNA. Estos genes desempeñan papeles clave en diferentes vías metabólicas, como la lipogénesis, oxidación de ácidos grasos, transporte de lipoproteínas, regulación de la glucosa e inflamación (Dongiovanni et al, 2014). Entre ellos se encuentra el gen del dominio que contiene una fosfolipasa similar a palatina (PNPLA3). Se ha reportado una fuerte asociación entre la presencia de la variación rs738409 en el gen *PNPLA3* y el desarrollo de hígado graso en población hispana, además se ha reportado que influye en el desarrollo de esteatosis sin afectar la sensibilidad a la insulina (Pelusi et al, 2019). Existen otras variantes, de genes como el regulador de glucoquinasa (GCKR), la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) y el miembro 2 de la superfamilia transmembrana 6 (TM6SF2), que se les ha relacionado con el desarrollo de esteatosis hepática e inflamación lobular. Dado que la patogenia de la EHGNA es multifactorial, la interacción con factores ambientales sigue siendo fundamental (Wang et al, 2015).

2.1.4.2. Resistencia a la insulina y factores metabólicos

La señalización de la insulina promueve la utilización de glucosa y favorece la acumulación de lípidos al actuar sobre órganos que son sensibles a esta hormona, tales como el músculo, el tejido adiposo y el hígado. Cuando se desarrolla resistencia a la insulina, la lipasa sensible a hormonas no se inhibe, lo que provoca que el tejido adiposo libere una cantidad significativa de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en el torrente sanguíneo. Este fenómeno resulta en la

deposición ectópica de grasa en órganos como el hígado y el páncreas (Grimm et al., 2008). Además de inhibir la lipólisis, la insulina también estimula la LDN hepática principalmente a través de la proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1c (SREBP1c) y el receptor X del hígado (LXR) y receptor X de retinoides (RXR). De hecho, los hepatocitos periportales parecen ser el principal factor responsable de la gluconeogénesis y la β -oxidación, mientras que las células pericentrales están principalmente involucradas en la LDN y glucólisis (Biddinger et al, 2015).

2.1.4.3. *Obesidad y sobrepeso*

Como se ha mencionado previamente, la obesidad está estrechamente relacionada con la EHGNA. El tejido adiposo actúa como un órgano endócrino muy activo, produciendo hormonas y citocinas conocidas como adipocinas, las cuales regulan interacciones endócrinas, inflamatorias e inmunitarias, pudiendo proteger o favorecer la resistencia a la insulina y la acumulación de grasa en el hígado (Tarantino et al, 2010). Diversos estudios han reportado una relación inversa entre los niveles de adiponectina y la esteatosis hepática, así como niveles de triglicéridos y LDL. Además de adipocinas, el tejido adiposo también produce citocinas proinflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), que ha demostrado estar elevado en casos de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), y la IL-6, la cual podría favorecer el desarrollo de carcinoma hepatocelular al inhibir la apoptosis y activar vías prooncogénicas. También se ha reportado, que la acumulación de grasa corporal puede aumentar el impacto de algunas variantes genéticas y posiblemente contribuir al desarrollo de EHGNA (Stender et al, 2017).

2.1.5. *Progresión de EHGNA*

El desarrollo de la enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA) es un fenómeno complejo y multifacético. Aún persiste la incertidumbre respecto a por qué

algunos pacientes con esta afección avanzan hacia la esteatohepatitis, mientras que otros no lo hacen. Una posible explicación radica en la predisposición genética. Se estima que aproximadamente el 10% de los pacientes con hígado graso progresa hacia la esteatohepatitis, de los cuales entre el 8% y el 26% puede evolucionar hacia cirrosis y hepatocarcinoma. Esta progresión hacia la esteatohepatitis se conceptualiza como un proceso en dos etapas, conocido como la teoría del "doble golpe". La primera etapa implica el depósito de grasa en el hígado, resultado de la resistencia a la insulina. La segunda etapa abarca el estrés oxidativo de la grasa hepática, inducido por la liberación de citocinas, la hiperinsulinemia y la lipoperoxidación (Buzzetti et al., 2016) **(Figura 1)**. Sin embargo, se ha informado que este proceso podría ser el resultado de múltiples factores interrelacionados.

2.1.5.1. Fibrosis hepática

La fibrosis hepática resulta de la formación de tejido cicatricial en respuesta a un daño, ya sea agudo o crónico. En el caso del daño agudo, los cambios en la arquitectura del hígado son temporales y reversibles, mientras que el daño crónico se caracteriza por una sustitución progresiva del parénquima hepático por tejido cicatricial. Desde el punto de vista histológico, esta condición se manifiesta por un incremento casi diez veces en el depósito de proteínas de la matriz extracelular, así como por alteraciones en su composición (Trautwein et al., 2015). Las células estelares hepáticas constituyen la principal población responsable de la fibrogénesis, actuando como una fuente significativa de matriz extracelular. Estas células experimentan un proceso denominado transdiferenciación, que se ve influenciado por la expresión de α -actina, la pérdida de retinoides y la producción de citocinas y factores de crecimiento con características inflamatorias (como la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral- α), así como mitogénicas (como el factor de crecimiento derivado de plaquetas) y profibrogénicas (como el factor de crecimiento transformante- β y la interleucina-6) (Seki y Schwabe, 2015).

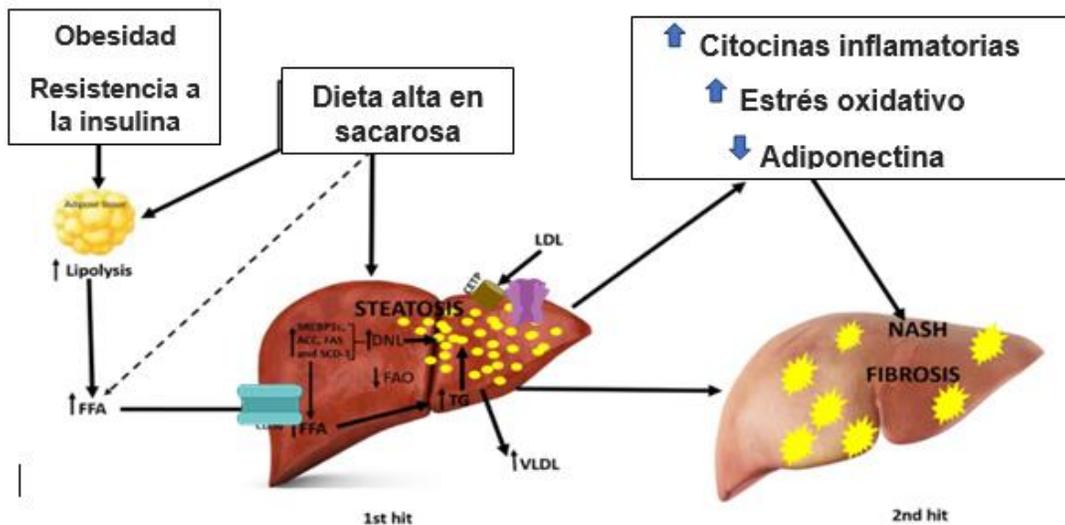


Figura 1. Teoría del doble hit en la EHGNA. Adaptado de Shabalala et al (2020). La patogénesis de la EHGNA se sugiere que ocurre en dos etapas: el primer y el segundo golpe. El primer golpe implica la acumulación de ácidos grasos libres (FFA) en el hígado, lo que provoca esteatosis simple. Se cree que los ácidos grasos libres circulantes y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) ingresan al hígado a través del receptor CD36 y la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP), respectivamente. El exceso de FFA puede activar la expresión de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), así como la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que lleva a inflamación crónica, estrés oxidativo, peroxidación de lípidos y activación de la fibrogénesis (segundo golpe). DNL: lipogénesis de novo, FAO: Oxidación de ácidos grasos, TG: triglicéridos, NASH: Esteatohepatitis no alcohólica.

2.1.6 Dimorfismo sexual en la EHGNA

La EHGNA surge debido a una combinación de factores de riesgo como el sobrepeso, la obesidad central, la dislipidemia, la resistencia a la insulina y la Diabetes Mellitus tipo 2, todos vinculados al síndrome metabólico (Lambis *et al.*, 2016). No obstante, estos factores pueden estar influenciados por características individuales, como el sexo. Las diferencias de sexo sustentan la variación biológica fundamental en la enfermedad, así como su progresión (Lonardo y Suzuki, 2019).

Por esta razón, la consideración del sexo es crucial para determinar la evaluación de riesgos, la prevención de enfermedades y el tratamiento. La mayoría de los estudios experimentales de EHGNA que usan ratones genéticamente modificados y/o alimentados con dietas alteradas, encuentran que la enfermedad es más grave en los machos (Lee *et al.*, 2016; Zhang *et al* 2020; Kucsera *et al*, 2021), sin embargo, las diferencias de sexo dependen según el modelo, la cepa del ratón y / o los criterios de resultado.

El hígado graso y la esteatohepatitis no alcohólica son enfermedades con dimorfismo sexual, con una prevalencia general más alta en hombres. Las mujeres antes de la menopausia, tienen un riesgo reducido de EHGNA en comparación con los hombres, sin embargo, después de la menopausia el riesgo suele igualarse entre hombres y mujeres. De hecho, el sexo, las hormonas sexuales y factores ambientales interactúan con numerosos factores, los cuales pueden alterar los perfiles de riesgo y fenotipos de desarrollo de la enfermedad (Burra *et al*, 2020).

2.1.6.1. Distribución de tejido adiposo, adipocitocinas y metabolismo lipídico

Las principales diferencias sexuales en la distribución adiposa se encuentran bien reconocidas: los hombres almacenan más tejido adiposo en sus depósitos intraabdominales, mientras que las mujeres tienden a una distribución mayor del tejido adiposo periférico, y estas diferencias están asociadas a consecuencias

metabólicas deletéreas en hombres y el menor riesgo cardiometabólico de mujeres. El estrógeno promueve y mantiene la grasa femenina típica al reducir la lipólisis de grasa subcutánea sin afectar la grasa visceral. El sexo también influye en el almacenamiento de lípidos en el hígado y el músculo. La grasa se puede almacenar en el tejido adiposo, el hígado y el músculo esquelético como triglicéridos (TG) (Chen et al, 2022). El almacenamiento excesivo de TG en el hígado conduce a NAFLD. Los estudios han encontrado que los hombres tienen niveles más altos de TG almacenados en el hígado que las mujeres, y las mujeres almacenan más lípidos intramiocelulares que los hombres, lo que explica la mayor prevalencia de NAFLD en los hombres (Ande et al, 2014).

El tejido adiposo libera una multitud de productos secretores, que en conjunto son llamadas adipocitocinas. Las diferencias relacionadas con el sexo se reflejan principalmente en los niveles de leptina, adiponectina y prohibitina. La leptina es un regulador metabólico que puede reducir la ingesta de alimentos e inhibir la síntesis de lípidos, y su secreción es proporcional a la cantidad de masa grasa. Sin embargo, en algunos casos, la hiperleptinemia puede provocar resistencia a la insulina y participa en la esteatosis hepática. Los estudios han demostrado repetidamente que la adiponectina mejora la sensibilidad a la insulina y aumenta la lipólisis, que se correlaciona inversamente con la masa grasa. Numerosos estudios han demostrado que los niveles de leptina y adiponectina en los hombres son más bajos que en las mujeres (Lambert et al, 2014). La retención de triglicéridos en el hígado es un requisito previo para el desarrollo de EHGNA. La síntesis de ácidos grasos (AG) en el hígado es un determinante importante del desarrollo de esteatosis hepática mientras que la oxidación de los AG elimina los triglicéridos del hígado. Como diversos estudios han revelado, las mujeres previo a la menopausia tienen un mejor perfil de lípidos que los hombres, con niveles más altos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad y niveles más bajos de colesterol de baja densidad, colesterol VLDL y niveles plasmáticos totales de TG. La eliminación de ácidos grasos a través de la vía de oxidación puede desempeñar un papel importante en la prevención de la acumulación de TG en el hígado, lo que puede explicar

parcialmente la diferencia de sexo en la prevalencia de NAFLD (Kaikaew et al, 2019).

2.1.6.2. Estrógenos y ER α hepático

Con base en las diferencias mencionadas anteriormente acerca de la prevalencia entre hombres y mujeres y los hallazgos de que las mujeres en edad postmenopáusia tienen un mayor riesgo de desarrollar EHGNA, además de que la terapia de reemplazo hormonal protege contra la patología después de la menopausia y que las mujeres tienen un mayor riesgo de desarrollar EHGNA después de usar un medicamento antiestrógeno o someterse a una ovariectomía quirúrgica, podemos suponer que la resistencia al desarrollo y progresión de la enfermedad en mujeres antes de la menopausia depende en gran medida de los estrógenos (Palmisano & Stafford, 2017). El estrógeno reduce la lipólisis de los adipocitos subcutáneos mediante la regulación positiva de los receptores adrenérgicos alfa_{2A} y, por lo tanto, reduce la captación de ácidos grasos al hígado. Asimismo, el estrógeno regula el metabolismo de los lípidos hepáticos a través del receptor de estrógeno alfa (ER α) (Meda et al, 2020). La señalización de estrógeno reduce la lipogénesis *de novo* para prevenir la esteatosis hepática. La falta de señalización de estrógeno reduce la producción de VLDL, promueve la acumulación de TG en el hígado y conducirá a la resistencia a la insulina hepática. Un estudio reciente encontró que el ER α hepático muestra una regulación opuesta del metabolismo de los lípidos en hombres y mujeres que consumen dietas ricas en lípidos: el hígado masculino excede su capacidad compensatoria, y el ER α hepático promueve la acumulación de lípidos hepáticos al estimular la entrada y síntesis de lípidos. Mientras que el hígado femenino puede manejar el exceso de lípidos, el ER α hepático puede reducir la síntesis y absorción de lípidos y promover la oxidación de ácidos grasos (Della Torre et al, 2016). En general, el ER α hepático juega un papel importante en la diferencia de sexo en la EHGNA.

2.1.6.3. Andrógenos

Se puede deducir que los elevados niveles de andrógenos desempeñan un papel significativo en la etiología de este proceso. Diversos estudios biológicos han demostrado que los andrógenos pueden inducir la detención del ciclo celular e iniciar la apoptosis de los hepatocitos. Los altos niveles de andrógenos pueden promover la inflamación al activar las células mononucleares. El aumento de los niveles de andrógenos aumenta la masa grasa visceral al disminuir la activación de adenosina 5' y proteína quinasa activada por monofosfato, aumentando la expresión de genes lipogénicos en grasa visceral (González et al, 2012). En los hombres, sin embargo, la disminución de los niveles de andrógenos se asocia de forma independiente con EHGNA. Niveles bajos de testosterona sérica aumentan la acumulación de grasa visceral y la inflamación, y estos efectos conducen a la resistencia a la insulina y esteatosis hepática. Sin embargo, son necesarios más estudios para aclarar el mecanismo relacionado con andrógenos y aparición de EHGNA (Kim *et al*, 2012).

2.1.6.4. Mitocondrias y piruvato quinasa hepática (LPK)

La disfunción mitocondrial contribuye al desarrollo de EHGNA, mediante la alteración en el metabolismo de la insulina y esteatosis hepática. Estudios han demostrado que el ejercicio puede mejorar la función mitocondrial. En general, las mujeres exhibieron una mejoría en la calidad de la función mitocondrial en comparación a los hombres. Regularmente los hombres necesitan realizar ejercicio para mantener una función respiratoria mitocondrial más fuerte, mientras que las mujeres pueden mantenerla incluso sin realizar ejercicio (Fletcher *et al*, 2014). En cuanto a LPK, estudios en modelos animales encontraron una relación entre esta y el desarrollo de EHGNA, afectando la concentración de lípidos hepáticos, respiración mitocondrial, metabolismo de la glucosa y sensibilidad a la insulina. La expresión de LPK se ve incrementada en hombres bajo la influencia de la testosterona. La sobreexpresión de LPK agrava la resistencia a la insulina, incrementa los niveles de colesterol en plasma, además que provoca cambios en la

respiración mitocondrial en el hígado, lo que provoca el desarrollo de EHGNA. Asimismo, se ha reportado una correlación positiva entre la expresión de LPK y niveles de TG en el hígado en hombres pero no en mujeres, lo que muestra que la LPK está solo levemente involucrada en el desarrollo de esteatosis en mujeres (Bellissimo *et al*, 2018).

2.1.6.5. Calidad del sueño, microbiota intestinal, Fructosa e ingesta dietaria,

La mala calidad del sueño impacta negativamente en la producción hormonal y aumenta el riesgo de desarrollar trastornos como el síndrome metabólico. Sin embargo, se ha observado que la alteración en la calidad del sueño puede tener un efecto más adverso en las mujeres que en los hombres, incrementando el riesgo de DM2 y enfermedades cardiovasculares. Este fenómeno puede estar relacionado con los niveles más elevados de testosterona en los hombres, así como con las diferencias sexuales en la activación del receptor- α por el proliferador del peroxisoma (Suarez *et al.*, 2018).

Las diferencias de sexo en la microbiota intestinal pueden estar influenciadas por la edad, la raza y la dieta. Los metabolitos dependientes de la microbiota intestinal, como los ácidos grasos de cadena corta y el N-óxido de trimetilamina, participan en la regulación del metabolismo del colesterol y la sensibilidad a la insulina. Las mujeres son más vulnerables a los efectos adversos. Los ácidos biliares son moléculas de señalización importantes que activan receptores como el receptor farnesoide X, y se ha demostrado que estos receptores promueven la esteatosis hepática. Los microorganismos intestinales pueden mediar en el metabolismo de los ácidos biliares. La microbiota intestinal difiere según el sexo, lo que conduce a diferencias en la síntesis y el metabolismo de los ácidos biliares y otros metabolitos entre hombres y mujeres y, por lo tanto, afecta el metabolismo de la grasa presente en el hígado (Razavi *et al*, 2019).

De acuerdo al estudio realizado por *Zaiou et al*, con respecto a la elección de alimentos, las mujeres tienden a comer más frutas, verduras y granos, mientras que los hombres prefieren los productos cárnicos, huevos y ciertos tipos de aves, por lo tanto, son las mujeres quienes tienen una mejor calidad de dieta. La correlación negativa entre la calidad de la dieta y la obesidad es similar tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, los aumentos inducidos por la dieta en los TG séricos son más significativos en las mujeres (Maskarinec et al, 2020). El papel de la fructosa en la inducción de la EHGNA se ha vuelto cada vez más importante. La fructosa puede aumentar la resistencia a la insulina e inducir el aumento de los TG hepáticos. En un estudio de una dieta alta en fructosa, ratones hembra que fueron alimentadas con esta dieta durante mucho tiempo mostraron un nivel moderado de esteatosis hepática y distensión abdominal, mientras que los machos mostraron sólo un ligero aumento en la esteatosis hepática. Estos hallazgos sugieren que después del consumo a largo plazo de alimentos ricos en fructosa, las mujeres son más propensas que los hombres a desarrollar EHGNA/EHNA (Hyer et al, 2019).

2.1.7. Dieta alta en sacarosa en el desarrollo de EHGNA

Aunque el consumo excesivo de cualquier alimento puede llevar al desarrollo de la EHGNA, los mono- y disacáridos, especialmente la fructosa, la sacarosa y el jarabe de maíz alto en fructosa, que es omnipresente en los alimentos procesados, pueden activar programas de lipogénesis *de novo* (LDN) en el hígado que agravan aún más la patología. Además, la fructosa se metaboliza casi exclusivamente en el hígado, por lo que la fructosa dietética es dirigida al hígado y se metaboliza principalmente en triglicéridos a través de la LDN.

La LDN es un proceso metabólico complejo y altamente regulado que convierte los carbohidratos ingeridos en ácidos grasos. Estos ácidos grasos se esterifican y almacenan como triglicéridos (TAG) en el tejido adiposo. El proceso comienza con la descomposición de carbohidratos como la glucosa a través de la glucólisis anaeróbica en el citoplasma, seguido por el ciclo del ácido tricarbóxico

dentro de la mitocondria, lo que genera energía (Yilmaz et al., 2016). Cuando hay un exceso de carbohidratos en la dieta, el cuerpo produce más energía de la que necesita, lo que lleva a un desequilibrio entre producción y consumo. Este exceso se destina a la síntesis de ácidos grasos fuera de la mitocondria, utilizando sustratos como acetil-CoA y ATP, productos de la degradación de la glucosa. Estos ácidos grasos se esterifican con glicerol, formando TAG que se almacenan en el tejido adiposo como reserva energética. En los seres humanos, esta vía está activa principalmente en el hígado y el tejido adiposo (Softic et al., 2016). La disfunción en la LDN en los tejidos especializados en la producción de lípidos, como el hígado y el tejido adiposo, se asocia con diversas enfermedades metabólicas, incluidas la obesidad, el hígado graso no alcohólico y el síndrome metabólico. Un exceso de LDN en el hígado tiene efectos adversos, ya que incrementa los triglicéridos en sangre y acumula lípidos en el hígado, lo que puede llevar al desarrollo de hígado graso y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) (Sanders y Griffin, 2016). Además, un aumento en la actividad de la LDN en el hígado está estrechamente vinculado con la resistencia a la insulina, mientras que un incremento de las enzimas relacionadas con la lipogénesis en el tejido adiposo se asocia con una mejor sensibilidad a la insulina y una mayor longevidad (Smith et al., 2019).

Estudios epidemiológicos recientes han demostrado que un elevado consumo de azúcares, especialmente de sacarosa o jarabe de maíz rico en fructosa, está relacionado con un mayor riesgo de enfermedades metabólicas, como enfermedades cardiovasculares y el síndrome metabólico (Low et al., 2018). Esto se debe a que la fructosa se metaboliza rápidamente a través de la fructoquinasa C, lo que aumenta la producción de sustratos para la LDN y eleva los niveles de ácido úrico.

La fructosa está sujeta a una rápida entrada no regulada en el hígado principalmente a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2). A nivel celular, este carbohidrato es convertido preferentemente en fructosa-1-fosfato (F1P) por la fructoquinasa, ya que esta presenta una alta afinidad por la fructosa, no está controlada por la insulina y es inducida por la fructosa. Posteriormente, las

fosfotriosas producidas a partir de F1P a través de la acción de la aldolasa B pueden convertirse en glucosa, lactato y ácidos grasos. Si bien la vía lipogénica es cuantitativamente menor en situaciones fisiológicas, se vuelve muy activa después de una carga aguda de fructosa a medida que aumenta el flujo de carbonos de fructosa hacia los precursores lipogénicos, ya que la formación de F1P pasa por alto el sitio regulador de la glucólisis de la fosfofructocinasa1. La entrada y el metabolismo descontrolado de la fructosa en los hepatocitos explican por qué, en el contexto de dietas ricas en este monosacárido, cantidades considerables de fructosa siguen ingresando a la glucólisis, lo que resulta en una alta producción de acetil CoA en relación con las capacidades oxidativas del hígado, favoreciendo así la LDN. Además, el elevado consumo de fructosa provoca la saturación de la vía glucolítica, lo que conduce a la acumulación de intermediarios glucolíticos que pueden ser convertidos en glicerol-3-fosfato, el cual es utilizado en la síntesis de TAG. Aunque tanto la glucosa como la fructosa se metabolizan a través de la vía glucolítica, la fosfofructoquinasa se pasa por alto y los pasos iniciales difieren en el metabolismo de la fructosa del de la glucosa (Federico *et al*, 2021). Se han encontrado diferencias entre el metabolismo de la fructosa y la glucosa a nivel molecular. Por ejemplo, una reducción en la actividad de la β -oxidación mitocondrial hepática por parte de la fructosa, pero no de la glucosa, se correlacionó con una disminución en la actividad del receptor α activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR α), un receptor nuclear que juega un papel fundamental en catabolismo graso, estrés oxidativo y respuesta inflamatoria (Chen *et al*, 2023).

Estudios de modelos murinos con dietas altas en grasas encontraron cambios histológicos hepáticos más graves en machos que en hembras (Wang *et al*, 2016). Por el contrario, en otro estudio con un modelo murino de la cepa C57bl/6 alimentados con una dieta rica en fructosa, las hembras tenían esteatosis hepática similar a los ratones macho, pero mayor inflamación hepática y disminución de la adiponectina en el tejido adiposo visceral a pesar del mayor aumento absoluto de peso en ratones macho (Choi *et al.*, 2017). Esta diferencia de sexo en los efectos metabólicos de una dieta alta en azúcares también se ha observado en humanos, con triglicéridos y alanina aminotransferasas aumentando significativamente en

hombres, pero no en mujeres (Tang et al., 2019). Por lo tanto, las diferencias en las características socioculturales, como los patrones dietéticos, el ejercicio y la calidad de vida, son tan importantes para considerarse en la EHGNA como las diferencias de sexo.

El hígado desempeña un papel crucial en el mantenimiento del equilibrio de los nutrientes para garantizar el control global del metabolismo en el organismo. La expresión de los genes hepáticos relacionados con el metabolismo de los lípidos está fuertemente influenciada y regulada por los niveles de glucosa e insulina. Dentro de las vías fisiopatológicas encargadas del desarrollo y progresión de EHGNA, existen diversos genes involucrados que pueden verse influenciados por la dieta. Estudios recientes han asociado a los genes *Cd36* y *Adipor1* como desencadenantes del desarrollo y progresión de EHGNA inducida por la dieta en ratones C57bl/6 (Pati et al., 2016; Jo et al., 2019).

2.2. Cd36

Como se mencionó anteriormente, un exceso de ácidos grasos circulantes es particularmente dañino para el hígado, ya que induce toxicidad e, incluso, apoptosis en los hepatocitos. La captación celular de ácidos grasos se basa en un simple proceso de difusión pasiva, por lo que depende de las concentraciones intracelulares y extracelulares; asimismo, también puede ser regulada por proteínas transportadoras en respuesta a estímulos mecánicos y hormonales. Varias proteínas de transporte se han implicado en la captación celular de ácidos grasos, incluida la familia de proteínas de transporte de ácidos grasos (FABP's), la proteína de unión a ácidos grasos de la membrana plasmática (FABPpm), la caveolina 1 y la translocasa de ácidos grasos Cd36 (Wang et al, 2019).

Cd36 es un receptor eliminador de clase B que juega un papel importante en diversas vías de utilización de ácidos grasos. Cd36 es una molécula de señalización multifuncional con varios ligandos conocidos, como la trombospondina 1, los ácidos grasos libres de cadena larga, las lipoproteínas nativas HDL, LDL y VLDL, y las

lipoproteínas modificadas, incluida la LDL oxidada (oxLDL). Por lo tanto, esta proteína puede funcionar en una amplia gama de procesos que incluyen apoptosis, angiogénesis, fagocitosis, trombosis, inflamación, aterosclerosis y captación de ácidos grasos libres. Esta proteína se expresa en muchos tipos de células, incluidas las células de las papilas gustativas, enterocitos, adipocitos, miocitos y células inmunes. En las células de la papila gustativa, Cd36 es importante para el reconocimiento de ácidos grasos y la percepción de grasa. En el músculo esquelético, el corazón y el tejido adiposo, Cd36 facilita la captación y utilización de ácidos grasos en el tejido (Glatz y Luiken, 2017). En el intestino delgado, es importante para la secreción de quilomicrones y para la liberación inducida por ácidos grasos de secretina y colecistoquinina. Actualmente, es bien sabido que Cd36 desempeña un papel importante en la facilitación de la captación y el tráfico de ácidos grasos intracelulares, así como en la esterificación de ácidos grasos en TG, principalmente en células de músculo esquelético y cardíaco. Sin embargo, es importante destacar que la sobreexpresión de *Cd36* confiere a los tejidos una mayor capacidad para la entrada y/o utilización de ácidos grasos y lipoproteínas. El gen *Cd36* está ubicado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21.11), consta de 17 exones y 18 intrones y puede generar cuatro isoformas de proteínas a través de corte y empalme alternativo. Un importante regulador de la expresión de Cd36 es el receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR- γ), que se une a las regiones potenciadoras de Cd36, pero otros factores de transcripción, como el factor de transcripción activador 2 (ATF2), también demostró que induce la expresión de *Cd36*. En el hígado, *Cd36* se expresa en las células endoteliales, parenquimatosas y de Kupffer. La expresión basal de *CD36* en hígado es baja, pero aumenta en los modelos experimentales de esteatosis hepática, como la obesidad y la alimentación con alto contenido de grasa (Niu et al., 2018). Se ha reportado que los ratones alimentados con una dieta alta en grasas han aumentado la expresión de *Cd36* en el hígado asociada con una mayor absorción hepática de ácidos grasos y acumulación de triglicéridos, y esto se previene mediante la eliminación del gen de *Cd36* (Zingg et al., 2017). Existen estudios que han asociado un comportamiento

similar del gen *Cd36* con una dieta alta en sacarosa, acompañado de resistencia a la insulina, tanto en modelos murinos como en humanos (Maldonado et al, 2017).

2.3. AdipoR1

La adiponectina es una hormona de 30 kD sintetizada por el tejido adiposo, y desempeña un papel crucial en la regulación de la sensibilidad a la insulina en todo el organismo (Ruan y Dong, 2016). El efecto sensibilizador a la insulina de la adiponectina parece estar mediado por un aumento en la oxidación de ácidos grasos, lo que lleva a una reducción en el contenido de lípidos del hígado y el músculo esquelético.

Dos tipos de receptores de adiponectina (AdipoR1 / R2) difieren claramente en sus vías de señalización. AdipoR2 está involucrado principalmente en la activación del receptor activado por el proliferador de peroxisomas vía α (PPAR α), mientras que AdipoR1 está estrechamente relacionado con la activación de la vía de la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK) y regula la inhibición de la producción de glucosa hepática junto con una mayor oxidación de ácidos grasos. La vía de la AMPK se activa parcialmente por la unión al AMP y se activa completamente tras la fosforilación en la treonina 172 por la quinasa de proteínas serina/treonina hepática B1 (LKB1). La AMPK activada promueve la inhibición de la transcripción de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y la glucosa 6-fosfatasa, lo que conduce a la disminución de la gluconeogénesis. Además la AMPK bloquea la síntesis de lípidos a través de la fosforilación inhibitoria de la acetil-CoA carboxilasa, que cataliza la síntesis de malonil-CoA. El malonil-CoA es tanto el precursor de la biosíntesis de ácidos grasos como un potente inhibidor de la carnitina palmitoiltransferasa I (CPT-1), la enzima que controla el transporte de Acil-CoA de cadena larga hacia las mitocondrias para la oxidación de ácidos grasos. Por lo tanto la señalización de adiponectina-AMPK promueve el catabolismo de lípidos y se opone a la formación de triglicéridos en el hígado. (Iwabu et al, 2015) (**Figura 2**). El gen del receptor *AdipoR1* se encuentra localizado en el cromosoma 1 (1q32.1), y consta de 11 exones. Spruss y col en el 2012 reportaron en un modelo murino que el grupo de ratas hembra presentaron una mayor susceptibilidad a

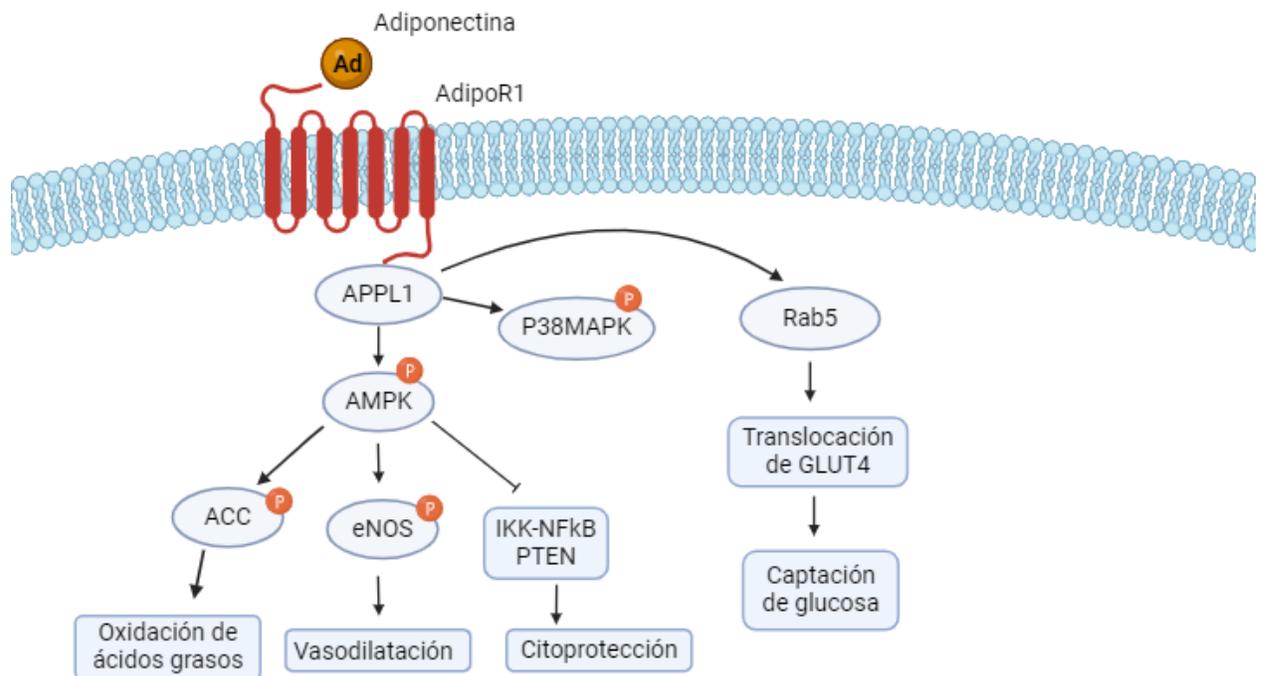


Figura 2. Vía de señalización de AdipoR1. APPL1 interactúa con AdipoR1 y media los efectos de la adiponectina en la activación de múltiples vías, incluyendo AMPK y p38MAPK. Ad: adiponectina, APPL1: proteína adaptadora, fosfotirosina que interactúa con el dominio PH y el zipper de leucina 1, AMPK: vía cinasa activada por monofosfato de adenina, ACC: Elaborada en biorender.

desarrollar EGHNA, gracias a la disminución de la expresión de AdipoR1. Esta susceptibilidad reportada la atribuyen al nivel de adiposidad en este grupo, ya que, aunque el grupo de hembras no tuvo un aumento de peso significativo, presentaron diferencias en el nivel de adiposidad respecto al grupo control (Spruss et al, 2012).

2.4. Biomarcadores en nutrición personalizada

Los biomarcadores nutricionales, están transformando nuestra comprensión del papel que desempeñan los nutrientes en la salud humana. Estos biomarcadores son herramientas valiosas en la prevención, diagnóstico temprano, y tratamiento de diversas enfermedades (Ballman, 2015). Además de su utilidad en el diagnóstico, también permiten evaluar la ingesta de alimentos en una persona, proporcionando información sobre las respuestas biológicas o fisiológicas a una dieta específica o a condiciones patológicas. También son fundamentales para medir la eficacia de intervenciones terapéuticas y para analizar las diferencias individuales en la respuesta a la dieta y la nutrición (Díaz-Rúa et al., 2016).

2.5. Importancia de la Nutrición de precisión

La llegada y aplicación de las técnicas de biología molecular y el éxito del Proyecto del Genoma Humano han marcado el comienzo de una nueva era tanto en la Medicina como en la Nutrición (Yoldi et al., 2015). En los últimos años, el concepto de nutrición de precisión ha ganado relevancia en el campo de la salud. Esta se define como la aplicación práctica de la investigación previamente realizada en el marco de la genómica nutricional, incluyendo tanto estudios de nutrigenética como de nutrigenómica (Corella y Ordovás, 2018). Numerosos genes codifican proteínas que median o controlan los procesos nutricionales, por lo que las variaciones genéticas individuales pueden modificar cómo el cuerpo absorbe, metaboliza, almacena o excreta los nutrimentos. Asimismo, Los nutrimentos influyen en diversos procesos moleculares como en la estructura del ADN, la

expresión genética y el metabolismo, los cuales pueden afectar el inicio, desarrollo y progresión de enfermedades (Laguado, 2018). Aunque se ha recopilado mucha información sobre los genes, sus ubicaciones cromosómicas, estructuras y funciones, el camino a comprender completamente los procesos metabólicos de manera orquestada aún se encuentra lejano. En la actualidad, las herramientas y métodos relacionados a la genómica nutricional, como el análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), perfiles de expresión génica, proteómica, metabolómica y la bioinformática, se están utilizando para estudiar las respuestas individuales a la alimentación. Se espera que el avance de la nutrigenómica y la nutrigenética conlleve el uso de dietas personalizadas para prevenir la aparición de diversas enfermedades y optimizar el mantenimiento de la salud humana.

En este sentido, es importante destacar el creciente desarrollo de investigaciones acerca de la influencia de la alimentación sobre la expresión de genes implicados en el desarrollo de enfermedades metabólicas como la EHGNA, debido a que ésta es fuertemente asociada a enfermedades como la obesidad y diabetes mellitus, una de las enfermedades con mayor morbilidad y mortalidad en México.

3. JUSTIFICACIÓN

El aumento exponencial en el consumo de azúcares simples, tanto añadidos como intrínsecos, ha demostrado tener un efecto significativo en el desarrollo de diversas enfermedades metabólicas, incluyendo la EHGNA, que ahora afecta a una proporción creciente de la población mundial debido a su estrecha relación con la obesidad y la Diabetes Mellitus tipo 2. Este escenario ha transformado a la EHGNA en una preocupación médica global. La acumulación de grasa hepática y la progresión hacia la esteatohepatitis (EHNA), fibrosis y cirrosis hacen que el diagnóstico y tratamiento temprano sean fundamentales para evitar complicaciones graves. El estudio de genes relacionados con la EHGNA, influenciados por la dieta, abre nuevas oportunidades para identificar biomarcadores específicos que permitan detectar la enfermedad en sus fases iniciales, cuando la intervención dietética y los cambios en el estilo de vida pueden ser más efectivos. En este sentido, la nutrigenómica se presenta como una herramienta poderosa, ya que permite entender cómo los nutrientes interactúan con los genes y cómo esa interacción puede influir en la salud hepática. La susceptibilidad al daño hepático inducido por factores nutricionales puede variar considerablemente entre los géneros, un área de investigación que aún no se ha comprendido del todo. Profundizar en los mecanismos dependientes del sexo no solo ampliará nuestro conocimiento sobre la EHGNA, sino que también permitirá diseñar tratamientos nutricionales personalizados, adaptados a las características biológicas de cada género, promoviendo la prevención y el tratamiento más efectivo de esta enfermedad. El desarrollo de estrategias de prevención basadas en el perfil genético y nutricional representa un avance hacia la medicina de precisión, un enfoque que puede reducir el riesgo de complicaciones a largo plazo y mejorar la calidad de vida de los pacientes con EHGNA.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la diferencia del efecto de una dieta alta en sacarosa sobre indicadores bioquímicos, histopatológicos y genéticos, relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N.

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar la diferencia entre ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N el efecto de una dieta alta en sacarosa sobre indicadores bioquímicos.
2. Evaluar la diferencia entre ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N el efecto de una dieta alta en sacarosa sobre indicadores histopatológicos.
3. Comparar entre ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N el efecto de una dieta alta en sacarosa sobre indicadores genéticos.
4. Determinar si existe una relación entre la expresión génica y el desarrollo de EHGNA en ratones machos y hembras.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Diseño experimental

Se utilizaron ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N, adquiridos en Bioinvert México. Los animales fueron alojados en jaulas de acero inoxidable y mantenidos a una temperatura de 22 a 24°C con ciclos de luz / oscuridad de 12 h. El manejo y mantenimiento de los animales se realizó con base a los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999. El protocolo del presente proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía (CE-UACNyG-2019-JUN-001).

Los animales se dividieron en cuatro grupos experimentales: Dos grupos control (Control machos, n=10 y control hembras n=10), los cuales fueron alimentados con una dieta estándar para ratón de laboratorio (Rodent Chow) y tomaron agua simple por 20 semanas y dos grupos sacarosa (Sacarosa machos, n=10 y sacarosa hembras, n=10) que además de alimentarse de la misma dieta estándar, consumieron una solución de agua y sacarosa al 50%. El peso corporal fue medido semanalmente y el agua y alimento consumido diariamente. Durante las semanas 0, 5, 10, 15 y 20 de la intervención, se analizaron muestras de sangre mediante la extracción de una gota de sangre de la cola del ratón, misma que posteriormente se usó para medir las concentraciones de glucosa utilizando un glucómetro Accucheck Active.

Después de la fase de intervención con sacarosa, los ratones fueron puestos en ayuno por 12 horas para su posterior sacrificio mediante sobredosis de pentobarbital. Se obtuvieron muestras sanguíneas a partir de punción intracardiaca para la posterior obtención de suero. Se extirparon secciones de tejido hepático y adiposo para su almacenamiento en formalina al 10% y ARNlater a -80°C hasta realizar los análisis (Figura 3).

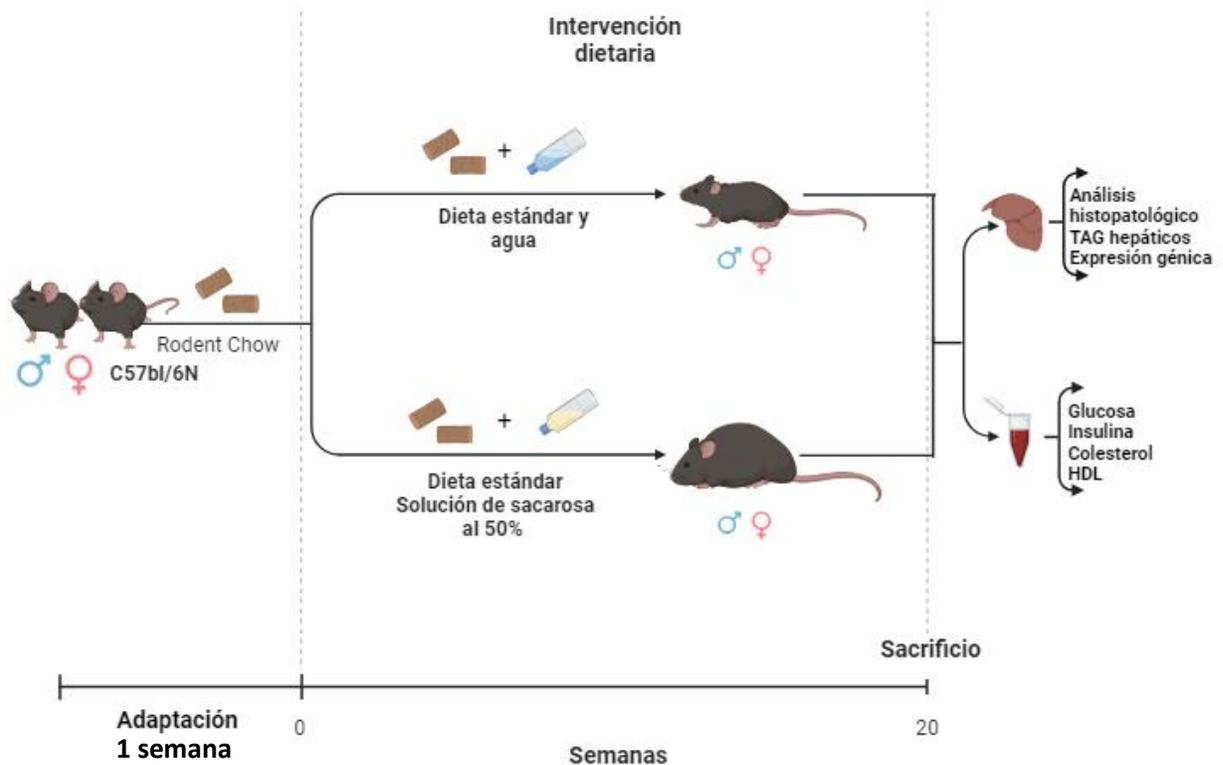


Figura 3. Diseño experimental. Los animales fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos experimentales que recibieron dos dietas diferentes durante 20 semanas. Los grupos machos y hembras control fueron alimentados con una dieta estándar de laboratorio y agua del grifo. Los grupos sacarosa recibieron la misma dieta de laboratorio y agua enriquecida con un 50% p/v de sacarosa. El peso corporal se midió semanalmente. El consumo de alimentos, macronutrientes y calorías totales se calculó de manera diaria. Al final del período de intervención, los animales fueron sacrificados. Se recolectaron muestras de sangre y tejidos hepáticos. Se determinaron los niveles de glucosa, insulina y el perfil lipídico. Los tejidos del hígado fueron teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) para evaluar diferentes parámetros, asimismo se guardó una parte en rna later para su posterior análisis de expresión génica.

5.2. Peso corporal y consumo de alimento

Los ratones fueron pesados semanalmente a lo largo del experimento utilizando una balanza diseñada específicamente para roedores (Sartorius Weighing Balance). Además, se registró diariamente el consumo de alimento y bebida durante todo el estudio.

5.3. Determinaciones bioquímicas

5.3.1. Colesterol Total

El colesterol total en suero se determinó utilizando un método enzimático colorimétrico y fue cuantificado mediante un espectrofotómetro. Para el análisis, se empleó un kit de la marca RANDOX (ref CH201) según las instrucciones del fabricante. Se pipetearon 10 μ l de suero y 1000 μ l de reactivo en un microtubo, se mezcló suavemente y se dejó reposar durante 10 minutos a una temperatura de 20°C. Después de ese tiempo, la mezcla se transfirió a una cubeta de 2 ml de capacidad, y la absorbancia se midió en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

5.3.2. Lipoproteína de alta densidad (HDL)

La determinación de HDL en suero se llevó a cabo utilizando un método enzimático colorimétrico cuantificado por un lector de placas. Se empleó un kit de la marca RANDOX (ref: CH203) según las instrucciones del fabricante, con algunas modificaciones. Para obtener el sobrenadante, se realizó un proceso de precipitación. En un microtubo, se agregaron 90.91 μ l de reactivo de precipitación (Reactivo I) y 36.36 μ l del Reactivo CHOL para el estándar, mientras que para las muestras de suero se añadieron 90.91 μ l del mismo reactivo y 36.36 μ l de suero. La mezcla se incubó durante 10 minutos y luego se centrifugó a 12 rpm durante 2 minutos. Posteriormente, se dispuso el sobrenadante en los pocillos de una

microplaca para diferentes determinaciones. Para el blanco, se agregaron 181.82 μ l de Reactivo CHOL y 18.18 μ l de agua destilada, y para el estándar y los sueros se agregaron 181.82 μ l del Reactivo CHOL y 18.18 μ l del sobrenadante. Después de incubar 10 minutos, se colocó la placa en el lector, se agitó y finalmente se leyó la absorbancia a 500 nm.

5.3.3. Triglicéridos

Se utilizó un método enzimático colorimétrico, cuantificado mediante un espectrofotómetro. Se empleó un kit de la marca RANDOX (ref: TR1697) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se pipetearon 10 μ l de suero y 1000 μ l de reactivo en un microtubo, agitando suavemente la mezcla, que posteriormente se dejó reposar durante 10 minutos a una temperatura de 20°C. Después del tiempo de incubación, la muestra se transfirió a una cubeta con una capacidad de 2 ml y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Todas las mediciones se realizaron por duplicado para garantizar la precisión.

5.3.4. Glucosa

Para la determinación de glucosa en suero se empleó un método enzimático colorimétrico, cuantificado mediante espectrofotometría. El análisis se realizó utilizando un kit de la marca RANDOX (ref: GL2623), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se colocaron 10 μ l de suero y 1000 μ l de reactivo en un microtubo, agitándolo suavemente. Posteriormente, se dejó reposar durante 10 minutos a una temperatura de 20 °C. Después de ese tiempo, la mezcla se transfirió a una cubeta de 2 ml de capacidad y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 500 nm, previa calibración del equipo con un blanco y un estándar. Todas las pruebas fueron realizadas por duplicado.

5.3.5. Insulina

Se llevó a cabo un inmunoensayo de ELISA tipo sándwich utilizando el kit de ALPCO (ref: 80-INSHU-E01.1), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La microplaca de 96 pocillos está recubierta con un anticuerpo monoclonal específico para la insulina. Se añadieron los estándares, controles y muestras a los pocillos junto con el conjugado. Luego, la microplaca se incubó a temperatura ambiente en un agitador de microplacas a 700-900 rpm. Tras completar la primera incubación, los pocillos se lavaron con un tampón de lavado y se dejaron secar. A continuación, se agregó sustrato TMB, y la microplaca fue incubada nuevamente a temperatura ambiente en el agitador de microplacas a la misma velocidad. Al finalizar la segunda incubación, se incorporó la solución stop y se midió la densidad óptica (OD) con un espectrofotómetro a 450 nm. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de insulina en la muestra.

5.3.6. Cálculo de Evaluación del Modelo de Homeostasis de Resistencia a la insulina (HOMA-IR)

Para determinar la resistencia a la insulina se realizó la evaluación del HOMA-RI de acuerdo con la siguiente ecuación (Matthews *et al.* 1985):

$$\text{HOMA-RI} = [\text{glucemia ayuno (mg/dL)} \times \text{insulina en ayuno (\mu IU/mL)}] / 405]$$

5.4. ANALISIS DE TEJIDO HEPÁTICO

5.4.1. Histología

Para la obtención del hígado, se realizó un corte sagital que separó la piel y el tejido muscular para extraer el órgano. El hígado se dividió en dos partes: una se almacenó en un tubo Falcon con formaldehído al 10% para evaluar la esteatosis

hepática, mientras que la otra parte se conservó en condiciones de frescura a -80° centígrados para la cuantificación de triglicéridos hepáticos.

5.4.2. Fijación de tejido hepático.

El hígado se mantuvo en formaldehído durante 72 horas para permitir su impregnación y fijación. Posteriormente, se llevó a cabo un proceso de deshidratación, y el tejido fue colocado en un cassette de inclusión, así como en varios contenedores con las siguientes soluciones en un periodo de 1h cada uno:

1. Alcohol 70% (1 h)
2. Alcohol 70% (1 h)
3. Alcohol 80% (1 h)
4. Alcohol 95% (1 h)
5. Alcohol absoluto (1 h)
6. Alcohol absoluto (1 h)
7. Xileno-Etanol 1:1 (1h)
8. Xileno puro (1 h)
9. Xileno puro (1 h)
10. Parafina (1h)
11. Parafina (1h)

Una vez finalizado el proceso de deshidratación, se procedió a la formación de bloques de parafina. Se vertió parafina en un molde, y se colocó el tejido en el centro del mismo. A continuación, se colocó la parte rotulada del cassette sobre el tejido con parafina, y se añadió más parafina. Se posicionó cuidadosamente en una

plancha fría durante 15 minutos para permitir que se solidificara. Tras solidificarse, se separó del molde y se almacenó el tejido para su uso posterior.

Para llevar a cabo el corte de los tejidos, los bloques de parafina se almacenaron en un congelador antes de ser seccionados con un microtomo. El bloque de parafina se posicionó adecuadamente en la faceta de la cuchilla, asegurando que la superficie del bloque y el borde de la cuchilla estuvieran correctamente alineados. Se realizó un corte de 7 μm , y se tomó cuidadosamente el borde del corte para transferirlo a un portaobjetos, utilizando etanol al 50% entre el portaobjetos y la sección para facilitar la impregnación. Posteriormente, el tejido se colocó en un flotador a una temperatura de 41-43 °C, con media cucharadita de gelatina bacteriológica, y se recolectaron los cortes de mejor calidad utilizando el portaobjetos. Después de dejar secar, las laminillas fueron colocadas en un horno a 65-70 °C durante 10-15 minutos. Antes de proceder con las tinciones utilizando hematoxilina y eosina, se realizó un proceso de desparafinado.

Desparafinado:

Los portaobjetos se sumergieron en xilol durante un periodo de 5 minutos, seguido de 20 inmersiones en xilol. A continuación, se colocaron en etanol al 100% por 15 a 20 inmersiones. Posteriormente, se realizaron baños con etanol al 95%, se añadió agua y se procedió a la tinción con hematoxilina-eosina. Se tiñó con hematoxilina durante 3 minutos, luego se lavó con agua destilada y se realizó una inmersión en alcohol ácido (1-2 inmersiones). Se incorporó bicarbonato de sodio al 0.1% y se lavó nuevamente con agua destilada. Después, se sumergió en etanol al 96% y se llevó a cabo la tinción con eosina. Finalmente, la muestra se colocó en etanol al 96%.

5.4.3. Análisis histopatológico de tejido hepático

El análisis histopatológico del hígado se llevó a cabo mediante la observación de 25 campos de cada una de las muestras de los grupos experimentales, las cuales

fueron teñidas con hematoxilina y eosina. En la sección de resultados se presentan las imágenes más representativas de cada grupo experimental, destacando el parénquima, la vena central y la triada portal de cada muestra. Las imágenes fueron capturadas utilizando el software Zeiss Zen Imaging Blue Edition (Carl Zeiss Göttingen, Alemania) a un aumento de 40X, empleando un microscopio ZEISS Primo Star LED (Carl Zeiss Göttingen, Alemania).

5.4.4. Determinación de grado de esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)

La determinación del grado de actividad de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) se llevó a cabo conforme al sistema de puntuación histológica establecido por la red de investigación clínica sobre EHNA (LaBrecque & UU, 2012). Para ello, fue necesario evaluar el porcentaje de esteatosis de las muestras, así como la presencia y cantidad de células balonadas e infiltrados inflamatorios en 25 campos de cada una de las muestras de los grupos experimentales, las cuales fueron teñidas con hematoxilina y eosina. Los resultados se presentan como el grado de actividad de EHNA correspondiente a cada grupo experimental, calculado mediante la suma de las puntuaciones de esteatosis, inflamación lobular y balonamiento hepático.

5.4.5. Acumulación de triglicéridos hepáticos

La cuantificación de los triglicéridos hepáticos se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Zhou y sus colaboradores (Zhou et al., 2017), con algunas modificaciones menores. En resumen, se pesaron 0.15 g de tejido hepático, que fueron picados y sometidos a un proceso de extracción lipídica mediante la adición de 3 ml de una mezcla de cloroformo y metanol en proporción 2:1 (v/v). La mezcla se homogeneizó durante 2 minutos, se sometió a sonicación por 30 segundos y se agitó durante 2 horas. Posteriormente, se incorporaron 1 ml de agua bidestilada y las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 3500 rpm. Al finalizar la

centrifugación, se separó la fase lipídica, que correspondía a la fase inferior, y se incubó durante 12 horas. Tras este período, los lípidos se disolvieron en etanol absoluto. Finalmente, los niveles de triglicéridos se determinaron mediante un método enzimático colorimétrico utilizando un kit comercial de la marca RANDOX (ref: TR1697). Los resultados se expresan como mg de triglicéridos por g de hígado, y se incluye también el peso promedio del hígado de los grupos experimentales.

5.5. Extracción de ARN

El ARN total se obtuvo a partir de tejido hepático estabilizado por RNAlater. 0.15 g de tejido hepático se homogenizó y suspendió en TRIzol (Invitrogen) y se incubó a temperatura ambiente por 5 min. Se añadió 0.3 mL de cloroformo, para agitar por 15 s, y después de 3 min las muestras fueron centrifugadas a 12,000 rpm por 15 min a 4°C. Se recuperó la fase acuosa. El ARN fue precipitado con 1 mL de isopropanol para incubar a temperatura ambiente por 10 min, para su posterior centrifugación a 12,000 rpm por 20 min a 4°C. El ARN se lavó con etanol al 75% y se resuspendió en agua con DEPC para su conservación a -80°C hasta su uso. La concentración y la pureza del ARN se evaluaron mediante el uso de un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) por cuantificación de densidad óptica a 260 y 280 nm. La presencia de proteínas e inhibidores de la PCR se estimó mediante las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230 considerando valores oscilados de $1,8 \pm 0,2$ y $2,0 \pm 0,2$ respectivamente como aceptable.

5.6. Síntesis de ADNc (Transcripción reversa)

Para realizar la reacción, se emplearon 100 ng de ARNm previamente aislado de cada muestra, así como la enzima M-MLVRT, primers aleatorios y dNTPs de la marca Invitrogen. La transcripción reversa se llevó a cabo en dos etapas:

Fase 1. Preparación de la mezcla maestra:

ARNm	10 μ l
oligo dT	1.0 μ l
dH2O	4 μ l

15.0 μ l total

Los componentes de la mezcla se dispusieron en un microtubo de 200 μ l. La reacción se expuso a un ciclo de desnaturalización a 70 °C durante 5 minutos en el termociclador de punto final. Una vez concluida la incubación, el microtubo se colocó de inmediato en hielo para prevenir la renaturalización. Posteriormente, se añadieron los reactivos siguientes para alcanzar un volumen final de 25 μ l en la reacción:

Buffer enzima	5.0 μ l
dNTPs	1.5 μ l
dH2O	2.5 μ l
Enzima M-MLVRT	1.0 μ l

25.0 μ l totales

La mezcla fue sometida a un ciclo de síntesis de ADN complementario (ADNc) a 50 °C durante 60 minutos, seguido de un paso final para inactivar y desnaturalizar la enzima a 85 °C durante 5 minutos. El ADNc obtenido se almacenó a -80 °C para su uso posterior.

5.7. Cuantificación relativa de los genes *Cd36* y *AdipoR1* mediante PCR en Tiempo Real con sondas TaqMan

La expresión del ARNm de los genes *Cd36* y *AdipoR1* fue estimada por cuantificación del ADNc de *Cd36*, *AdipoR1* y de β -*actina* como gen de referencia por medio de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real.

La expresión relativa se estimó cuantificando el ADNc de *Cd36* y *Adipor1*, utilizando β -*Actina* como gen de referencia mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; todos los ensayos se realizaron por duplicado. Se utilizaron sondas TaqMan pre-diseñadas por Life Scientifics de los genes *Cd36* (Mm00432403_m1) y *Adipor1* (Mm01291334_mH). Se utilizó un termociclador CFX96 (BIO-RAD™, EE.UU). Se realizó una curva de eficiencia a diferentes concentraciones (1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10000) de las sondas de interés respecto al gen de referencia. Las condiciones de la PCR fueron: 10 minutos a 95°C y 45 ciclos de 15 segundos a 95°C y 60 segundos a 60°C. La expresión relativa se cuantificó utilizando el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ con el software de cuantificación relativa CFX de Bio-Rad.

5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables numéricas se presentan como medias y desviaciones estándar, o en forma de medianas y rangos intercuartílicos, dependiendo de la distribución de los datos. Para determinar la significancia entre las variables dieta, sexo y la interacción entre ambas, se aplicó un ANOVA de dos vías, con la prueba de Tukey para las variables con distribución paramétrica, y una prueba de Kruskal-Wallis con el test post hoc de Dunn para las variables no paramétricas. Asimismo, se realizaron análisis de correlación de Pearson entre la expresión de los genes *Cd36* y *Adipor1* y las diferentes variables bioquímicas e histológicas relacionadas al desarrollo de EHGNA. Los análisis estadísticos fueron efectuados utilizando el software GraphPad Prism versión 8.0. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

6. RESULTADOS

6.1. Consumo de alimento y solución de sacarosa

En la **figura 4** se presenta el consumo de alimento de los distintos grupos. Se observaron diferencias significativas respecto a la dieta ($p=0.0001$), el sexo ($p<0.0001$) y la interacción entre ambas variables ($p=0.0047$). El consumo de una dieta alta en sacarosa disminuyó significativamente ya que la ingesta de alimentos en los grupos sacarosa machos (11.66 g) y sacarosa hembras (6.75 g), disminuyó un 55% y un 65% respecto a sus grupos control al final de la intervención. Además, hubo diferencias significativas entre el grupo sacarosa machos y sacarosa hembras, siendo los ratones machos quienes consumieron una mayor cantidad de alimento ($p<0.0001$). En la **figura 5** se reporta el consumo de solución de sacarosa al 50% de los distintos grupos. En términos de consumo de solución de agua/sacarosa, se encontraron diferencias significativas ($p<0.0001$). Los grupos sacarosa machos y hembras presentaron una diferencia significativa en comparación con sus respectivos grupos control, con un aumento del 111% y 126% del consumo de la solución de sacarosa respectivamente.

6.2. Peso corporal

En la **figura 6** se describe el peso corporal en las 20 semanas de inducción de los distintos grupos. Se observó un incremento significativo del peso corporal en el grupo de machos con dieta alta en sacarosa a partir de la semana 10 y se mantuvo hasta el final de la inducción en comparación a su grupo control, mientras que en el grupo de hembras, no se observaron diferencias significativas respecto a su grupo control en las 20 semanas de intervención.

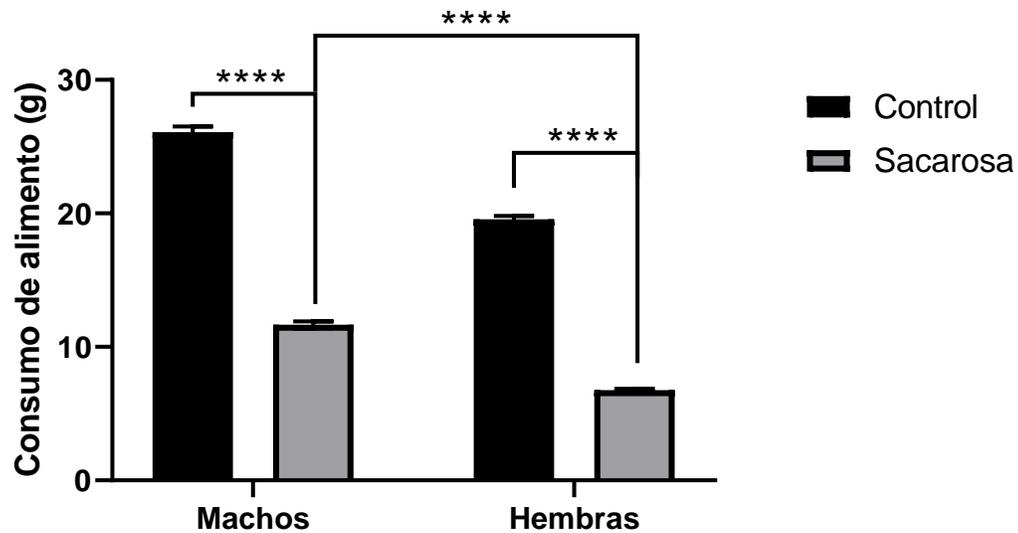


Figura 4. Diferencias en el consumo de alimento en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. Los resultados se expresan como el consumo diario promedio de alimento. **** $p < 0.0001$.

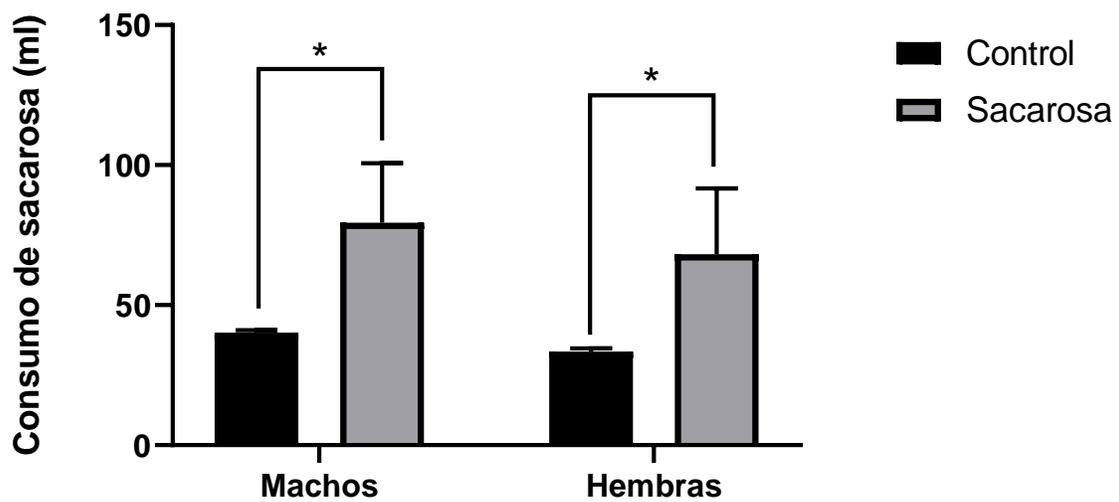


Figura 5. Diferencias en el consumo de agua en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. Los resultados se expresan como el consumo diario promedio de sacarosa. * $p < 0.05$.

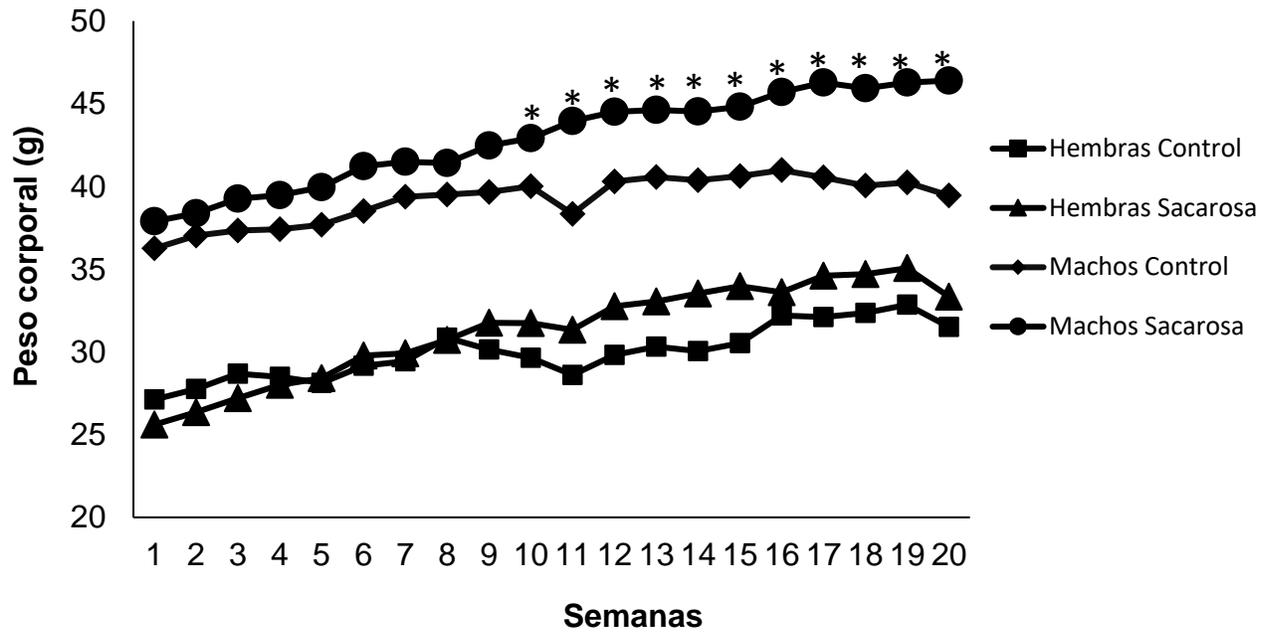


Figura 6. Diferencias en el peso corporal en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N durante 20 semanas con una dieta alta en sacarosa. * $p < 0.05$.

6.3. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

6.3.1. Perfil de lípidos

6.3.2. Colesterol total

En la **figura 7** se describen los niveles de colesterol total de los diferentes grupos de estudio. Se observaron diferencias significativas respecto al efecto de la dieta alta en sacarosa en los niveles totales de colesterol sérico ($p < 0.0001$). Estos niveles fueron significativamente más altos en los grupos sacarosa machos ($p = 0.0243$) y sacarosa hembras ($p = 0.0008$), en comparación con los grupos control, respectivamente, después de 20 semanas de intervención.

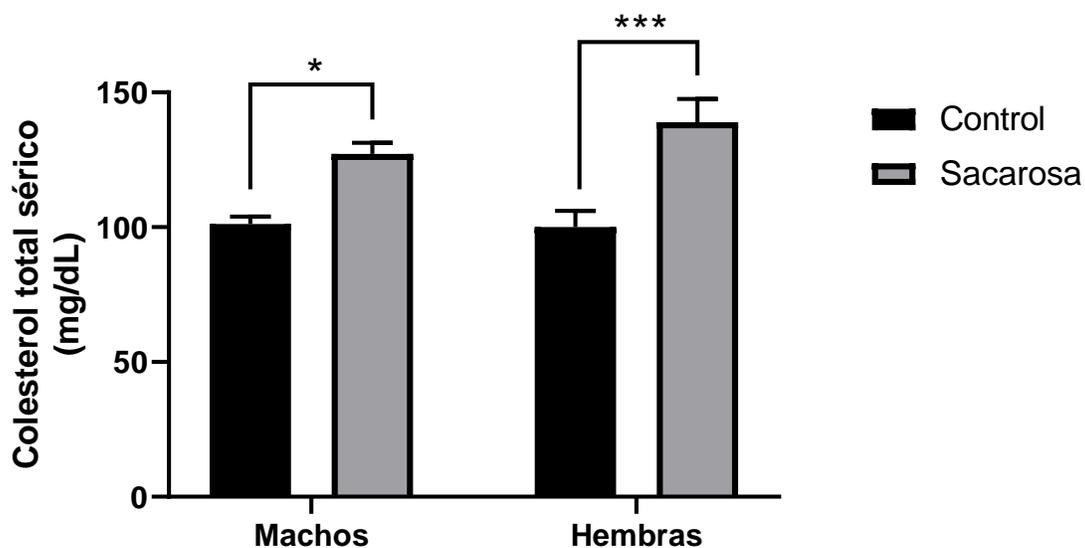


Figura 7. Diferencias en los niveles de colesterol total en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

6.3.3. Colesterol HDL y no HDL

En la **figura 8** se observan los niveles obtenidos de colesterol HDL de los diversos grupos. Se observó un ligero incremento del colesterol HDL en el grupo de machos sacarosa, sin embargo no se encontró una diferencia significativa entre los grupos con dieta alta en sacarosa respecto a su control, y entre machos y hembras con las distintas dietas. Respecto a los niveles de colesterol no-HDL (**figura 9**), se observaron diferencias significativas entre los grupos con dieta alta en sacarosa en comparación con su grupo control ($p=0.0002$).

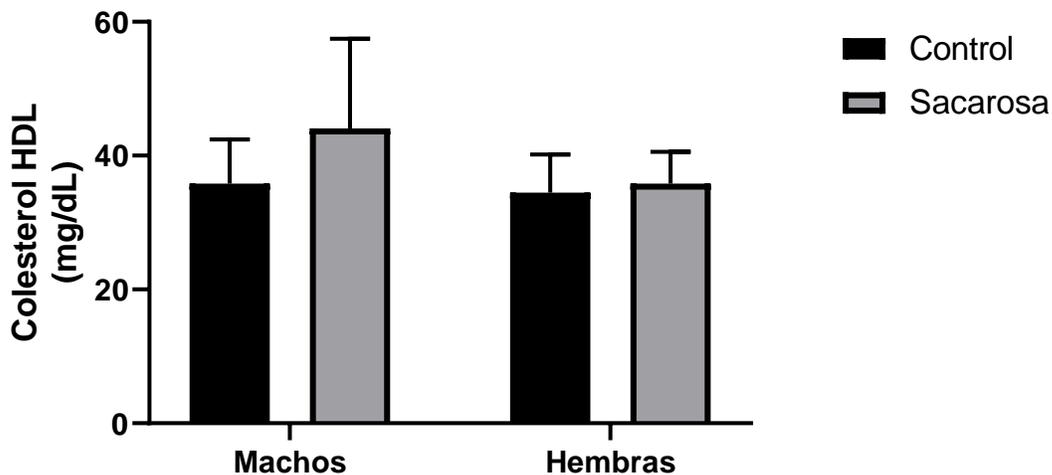


Figura 8. Diferencias en los niveles de colesterol- HDL en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica.

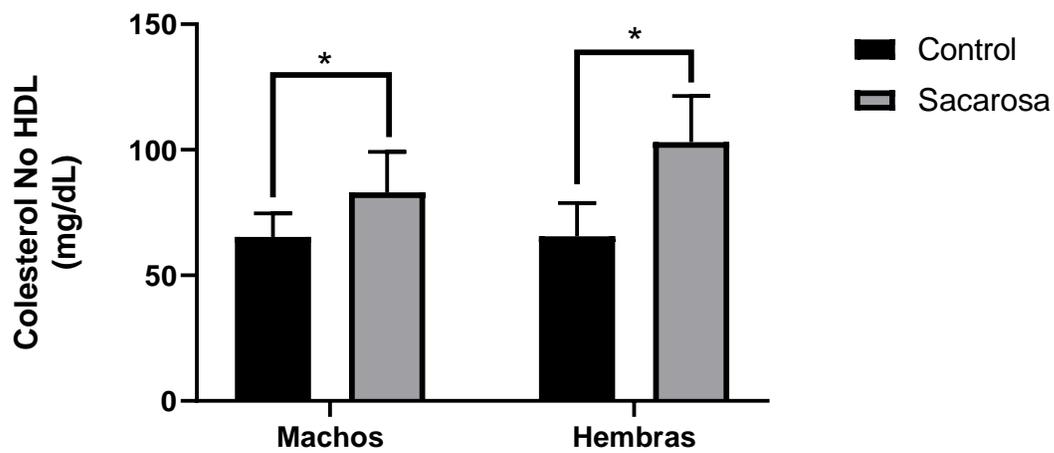


Figura 9. Diferencias en los niveles de colesterol no-HDL en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$.

6.3.4. Triglicéridos séricos

En la **figura 10** se observan las diferencias en los niveles de triglicéridos séricos entre los diferentes grupos. En los resultados obtenidos por el ANOVA, se observó un efecto significativo por parte del sexo ($p < 0.0001$) y la interacción entre sexo y dieta ($p = 0.0064$). Aunque los niveles de TG séricos no fueron significativamente diferentes en el grupo de sacarosa machos en comparación con su grupo control, se encontró una diferencia significativa entre el grupo sacarosa machos vs sacarosa hembras ($p < 0.0001$), Sacarosa machos vs Control hembras ($p = 0.0034$) y Control machos vs Sacarosa hembras ($p = 0.0132$).

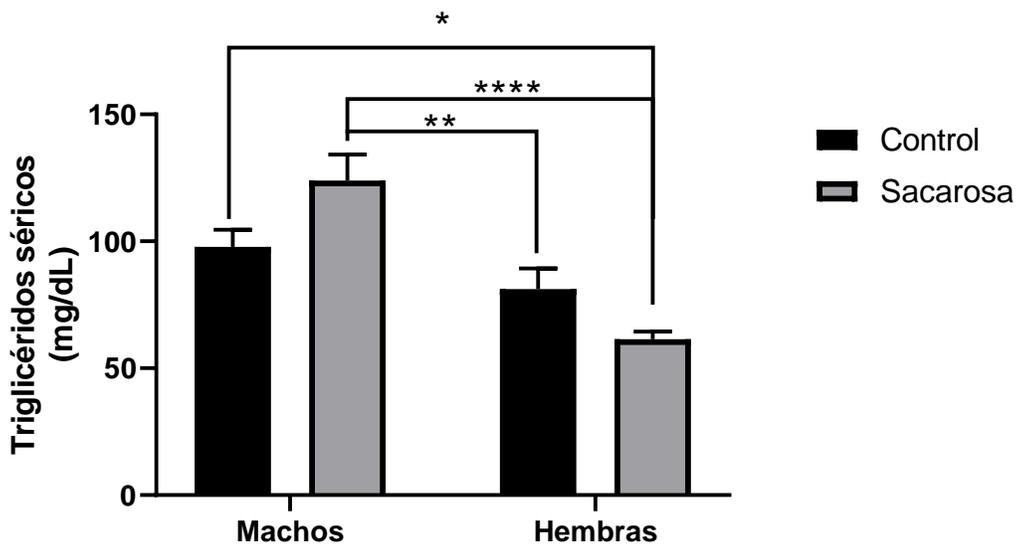


Figura 10. Diferencias en los niveles de triglicéridos séricos en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$.

6.3.5. Glucosa

La dieta alta en sacarosa ($p < 0.0001$) y el sexo ($p = 0.0156$) fueron significativos en los niveles de glucosa. El grupo sacarosa hembras tuvo un aumento significativo en los niveles de glucosa sérica en contraste con el grupo control ($p = 0.0005$). También se observó una diferencia significativa entre el grupo sacarosa hembras vs machos sacarosa ($p = 0.0169$) y sacarosa hembras vs machos control ($p = 0.0002$) (**Figura 11**).

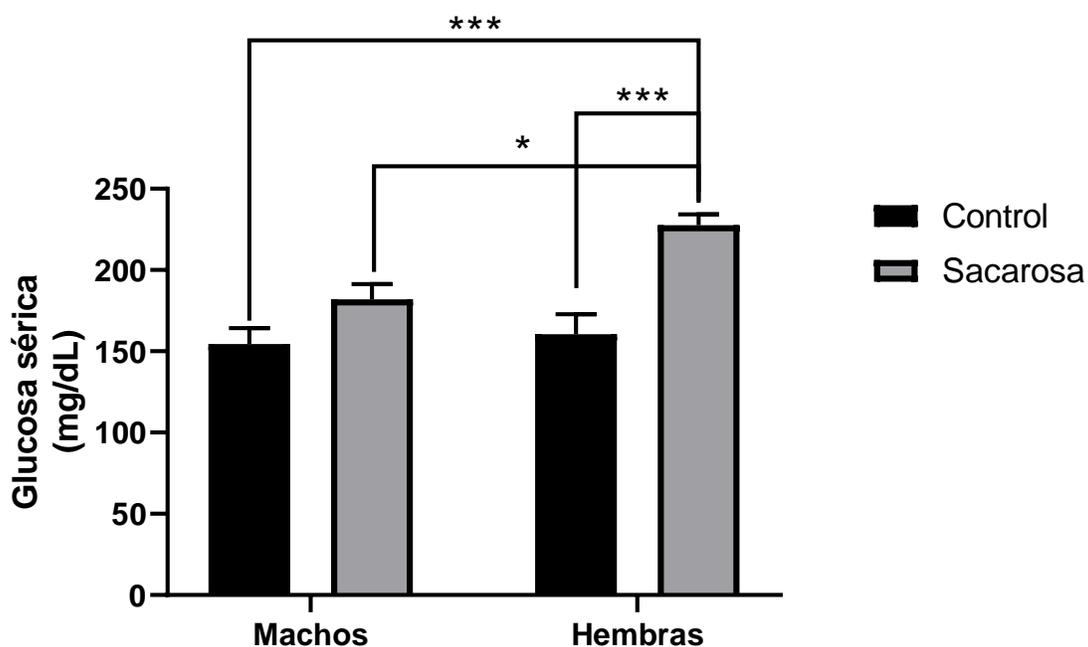


Figura 11. Diferencias en los niveles de glucosa sérica en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

6.3.6. Insulina e índice HOMA-IR

En la **figura 12** se observan los niveles de insulina sérica de ratones machos y hembras con una dieta alta en sacarosa. Se encontró que tanto la dieta como el sexo fueron significativos. Se observó un aumento en el grupo sacarosa machos ($p=0.0002$), como en el grupo sacarosa hembras ($p=0.0189$) en comparación con sus respectivos grupos control. Además, la comparación entre el grupo sacarosa hembras y el grupo control machos también fue significativa ($p= 0.0002$).

Respecto al índice HOMA-IR, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, sin embargo, se observó un comportamiento a la alza en los grupos sacarosa (**Figura 13**).

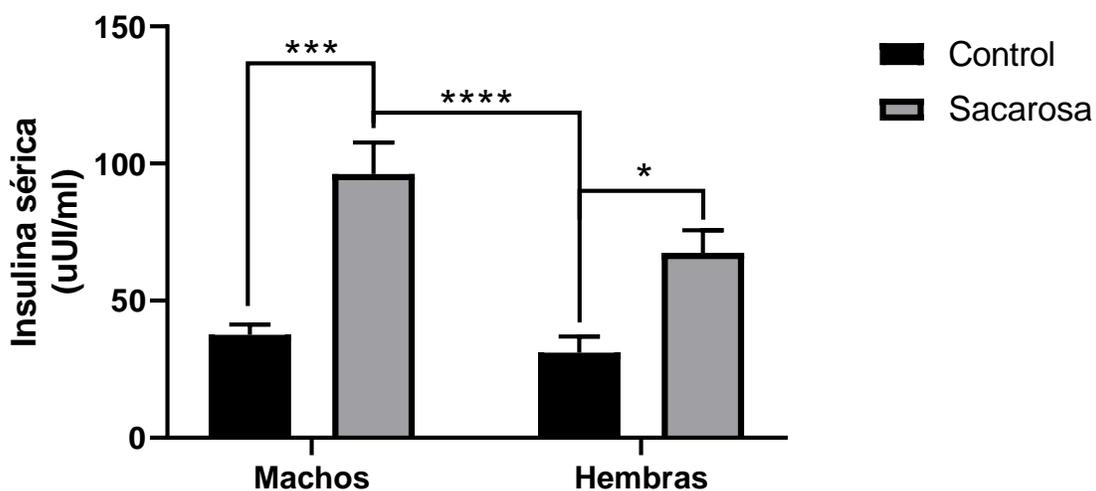


Figura 12. Diferencias en los niveles de insulina sérica en ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

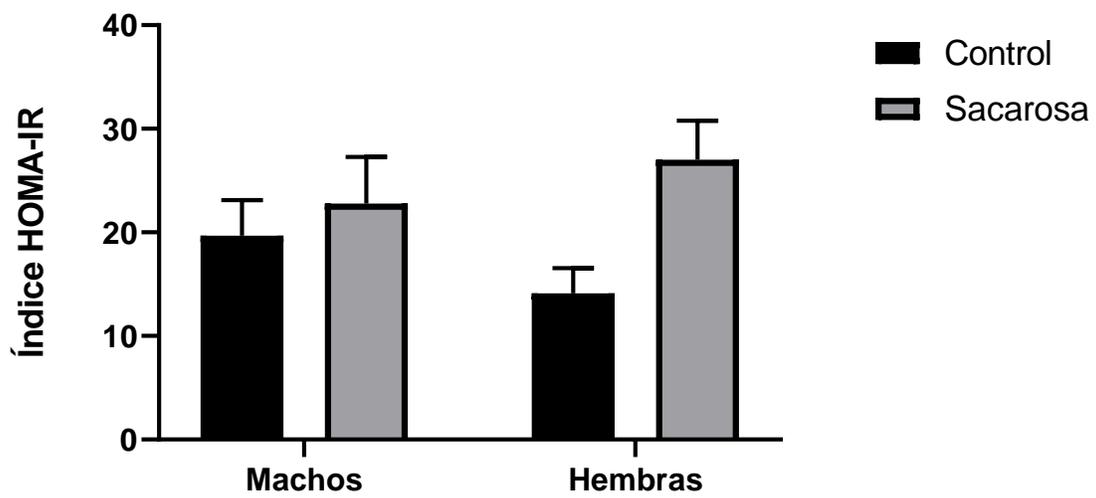


Figura 13. Diferencias en el índice HOMA-IR de ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica.

6.4. DETERMINACIONES HISTOLÓGICAS

6.4.1. *Peso del hígado y acumulación de triglicéridos hepáticos*

En términos de peso hepático, se reportó que tanto el sexo ($p=0.0006$) como la dieta ($p= 0.0003$) tuvieron un efecto significativo en el modelo. Hubo un aumento significativo en ambos grupos de ratones alimentados con sacarosa, machos ($p= 0.0303$) y hembras ($p=0.0273$), en comparación con el grupo control. Además, se encontró una diferencia significativa entre el grupo sacarosa hembras y sacarosa machos ($p= 0.0169$) (**Figura 14**).

En la **figura 15** se presentan los niveles de triglicéridos hepáticos de los diferentes grupos de estudio. El sexo ($p= 0.0020$), la dieta ($p<0.0001$), y la interacción entre el sexo y dieta ($p= 0.0001$) obtuvieron una diferencia significativa. Se encontró un aumento significativo en ambos grupos machos ($p= 0.0307$) y hembras ($p<0.0001$) alimentados con sacarosa en comparación con su grupo control. Además, hubo un aumento significativo en hembras sacarosa en comparación con el grupo machos sacarosa ($p<0.0001$).

6.4.2. *Análisis histopatológico del tejido hepático*

En la **tabla 1** se describe el grado de actividad de EHNA según el sistema de puntuación histológica de la Red de Investigación Clínica de la EHNA. Se encontraron diferencias entre ambos grupos de ratones con dieta alta en sacarosa en comparación con su grupo control, siendo el grupo de hembras quien presentó el grado mas alto de EHNA con presencia de esteatosis macro y microvesicular, infiltrados inflamatorios, granulomas y pérdida de la arquitectura histológica .

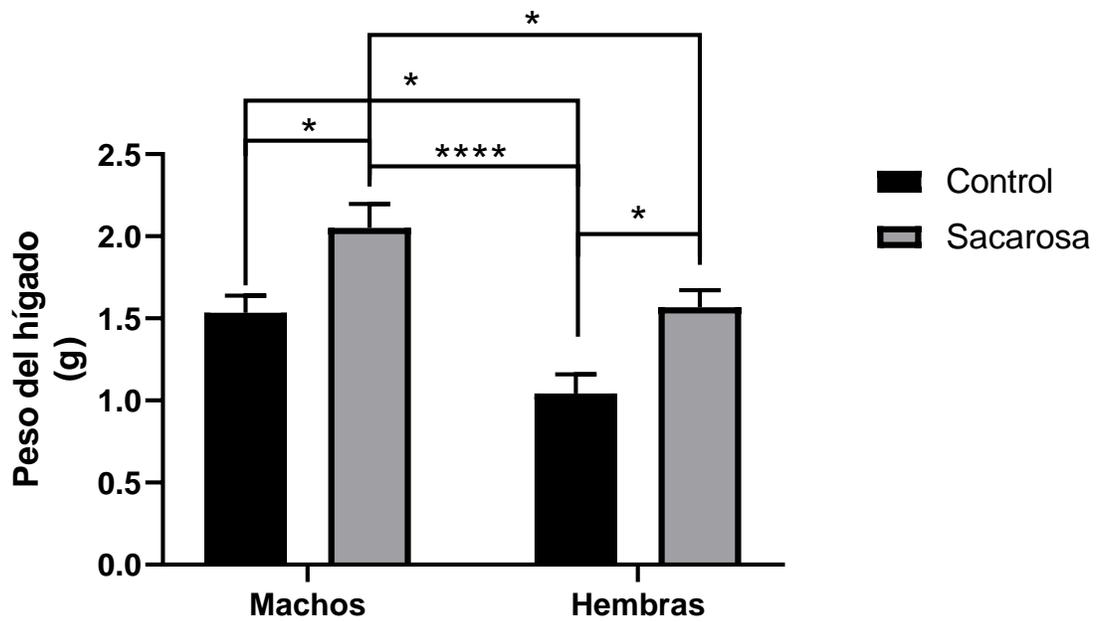


Figura 14. Diferencias en el peso del hígado de ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con una dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, **** $p < 0.0001$.

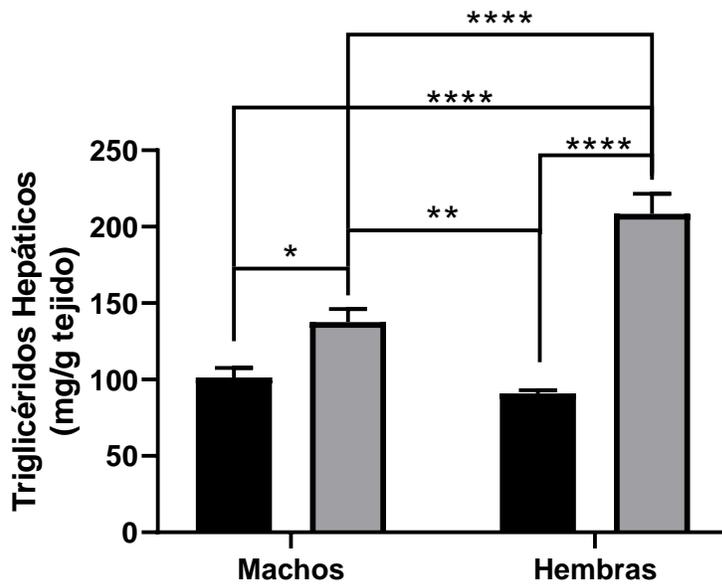


Figura 15. Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre niveles de triglicéridos hepáticos de ratones machos y hembras de la cepa C5BL6/N. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$.

Tabla 1. Grado de actividad de EHNA según el sistema de puntuación histológica de la Red de Investigación Clínica de la EHNA.

Grupo	Esteatosis	Inflamación lobular	Células balonadas	EHNA (Grado)
Machos control	0	0	0	0
Machos sacarosa	2	2	0	4
Hembras control	1	0	0	1
Hembras sacarosa	3	2	1	6

En la **figura 16** se muestra el análisis histopatológico de hígado en los grupos de ratones machos. En muestras hepáticas del grupo machos control, se observó un parénquima normal formado por hepatocitos con arquitectura conservada, en el que se aprecia el citoplasma y el núcleo. Por lo tanto, no se consideró un grado NASH. En cuanto al grupo con dieta alta en sacarosa, se observó esteatosis microvesicular moderada, estrés metabólico moderado y condensación de glucógeno. No hay presencia de infiltrados inflamatorios, inflamación o granulomas, desarrollando grado 4 de EHNA.

En cuanto al grupo de hembras control mostró pocas microvesículas en el parénquima, desarrollando grado 1 de EHNA con esteatosis microvesicular, no considerada patológica. Sin embargo, el grupo con dieta alta en sacarosa, mostró esteatosis macrovesicular generalizada (zonas 1, 2 y 3), presencia de infiltrado inflamatorio y granulomas en el parénquima hepático. Estrés metabólico elevado en las tres zonas y condensación de glucógeno, con pérdida de la arquitectura histológica, desarrollando grado 6 de EHNA (**Figura 17**).

Respecto a los resultados obtenidos en el grupo de hembras, se encontró la presencia de infiltrados inflamatorios y granulomas, identificando un proceso inflamatorio inicial. Choi y col identificaron en ratones hembras de la cepa C57BL/6J un incremento significativo de la presencia de esteatosis e inflamación en respuesta al consumo de la solución de fructosa por 6 semanas. Estos resultados pueden sugerir la predisposición en mujeres hacia el desarrollo de EHGNA y su progresión a EHNA debido al consumo de una dieta alta en azúcar (Choi *et al*, 2017).

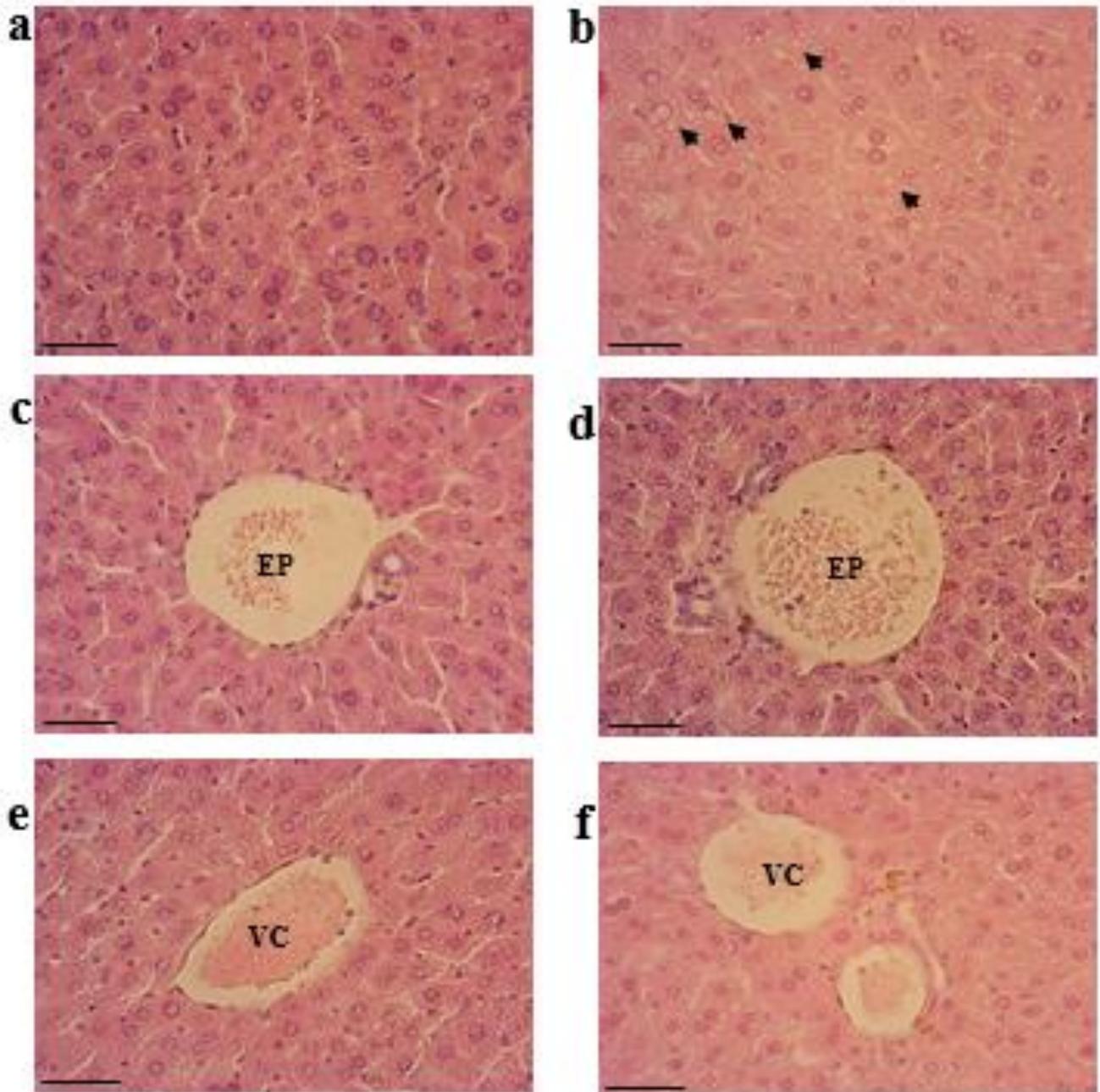


Figura 16. Efecto del consumo de sacarosa en la morfología e histopatología del hígado de ratones macho. GC: grupo control, GS: grupo sacarosa. Izquierda las imágenes de la columna (a, c y e) pertenecen a GC, y las imágenes de la columna derecha (b, d y f) pertenecen a GS. Parénquima (a y b), estructura porta (c y d), y vena central (e y f) de ambos grupos experimentales. La esteatosis microvesicular se indica con flechas. La esteatosis macrovesicular se indica mediante círculos y células balonadas en cuadrados. Hematoxilina y eosina, aumento 40X. Barras de escala = 50 μ m.

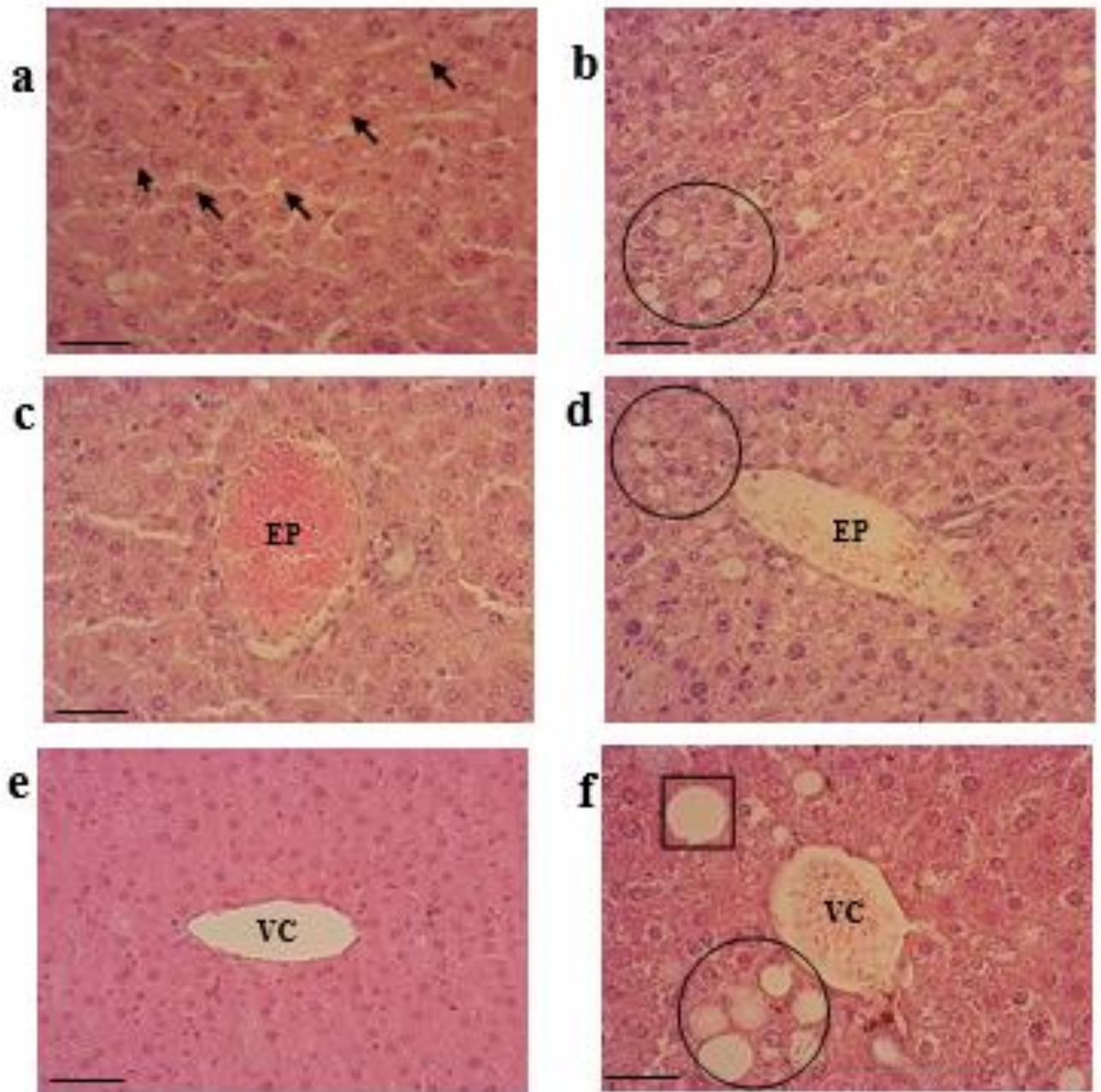


Figura 17. Efecto del consumo de sacarosa en la morfología e histopatología del hígado de ratones hembra. GC: grupo control, GS: grupo sacarosa. Izquierda las imágenes de la columna (a, c y e) pertenecen a GC, y las imágenes de la columna derecha (b, d y f) pertenecen a GS. Parénquima (a y b), estructura porta (c y d), y vena central (e y f) de ambos grupos experimentales. La esteatosis microvesicular se indica con flechas. La esteatosis macrovesicular se indica mediante círculos y células balonadas en cuadrados. Hematoxilina y eosina, aumento 40X. Barras de escala = 50 μm .

6.5. DETERMINACIONES GENÉTICAS

6.5.1. Expresión relativa de Cd36

En la **figura 18** se muestra la expresión relativa del gen del receptor *Cd36* en tejido hepático en los grupos de machos y hembras con una dieta alta en sacarosa, respecto a su grupo control. No se observaron diferencias significativas entre los grupos analizados.

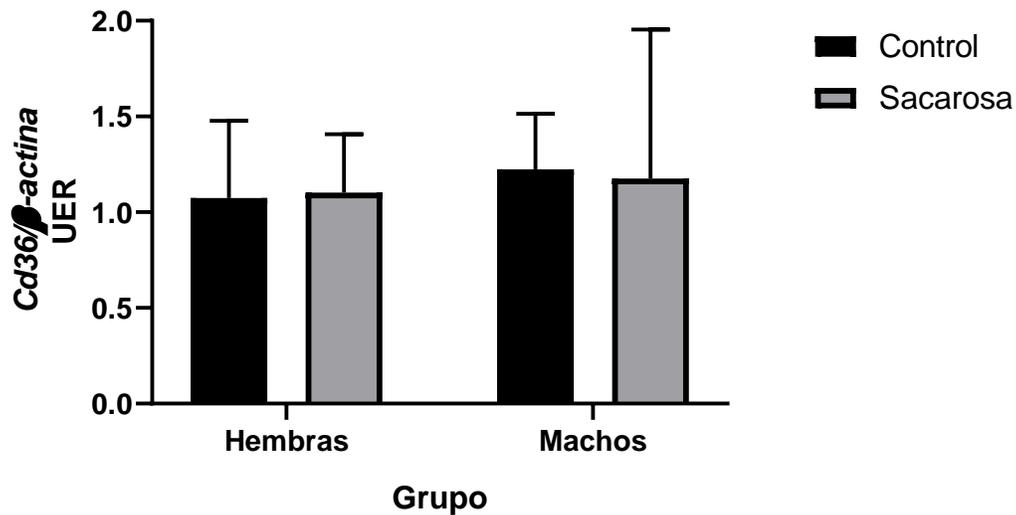
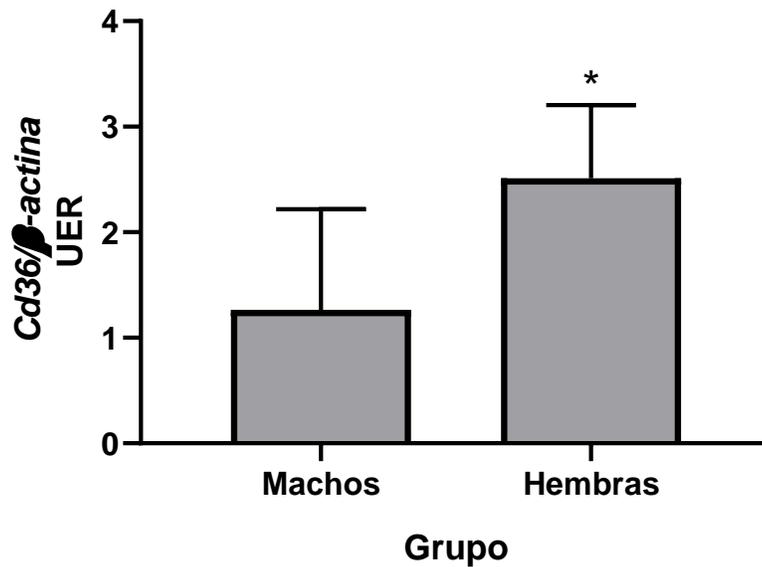


Figura 18. Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre la expresión relativa del gen Cd36 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. UER: Unidades de expresión relativa.

En la **figura 19** se muestra la cuantificación relativa de la expresión del gen *Cd36* en tejido hepático de los grupos de machos y hembras con dieta alta en sacarosa. Se observó una diferencia significativa (* $p= 0.0269$) siendo el grupo de hembras quienes presentaron un incremento de la expresión (+ ~ 1.2 veces en comparación al grupo de machos con dieta alta en sacarosa).



*Figura 19. Diferencia del sexo sobre la expresión relativa del gen Cd36 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL6/N con dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$. UER: Unidades de expresión relativa.*

6.5.2. Expresión relativa de *AdipoR1*

En la **figura 20** se observa la cuantificación relativa de la expresión del gen *AdipoR1* en tejido hepático de los grupos de machos y hembras con dieta alta en sacarosa respecto a su propio grupo control. Se encontró una diferencia significativa entre el grupo de hembras con dieta alta en sacarosa y su grupo control (* $p=0.0333$), sugiriendo un efecto de la sacarosa sobre la disminución de la expresión del gen *AdipoR1* (- ~ 1.3 veces en comparación a su grupo control).

En cuanto al efecto del sexo sobre la expresión del gen de *AdipoR1*, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (**Figura 21**).

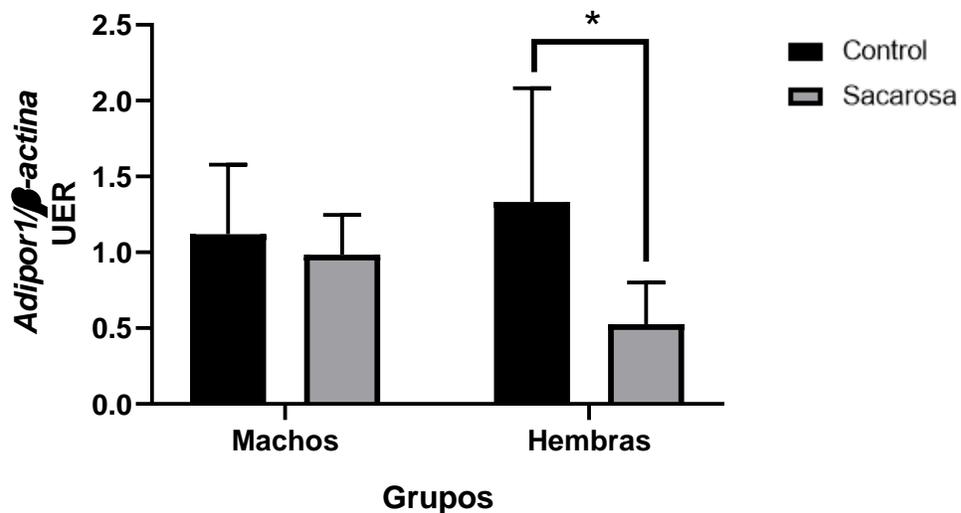


Figura 20. Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre la expresión relativa del gen *AdipoR1* de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. * $p < 0.05$. UER: Unidades de expresión relativa.

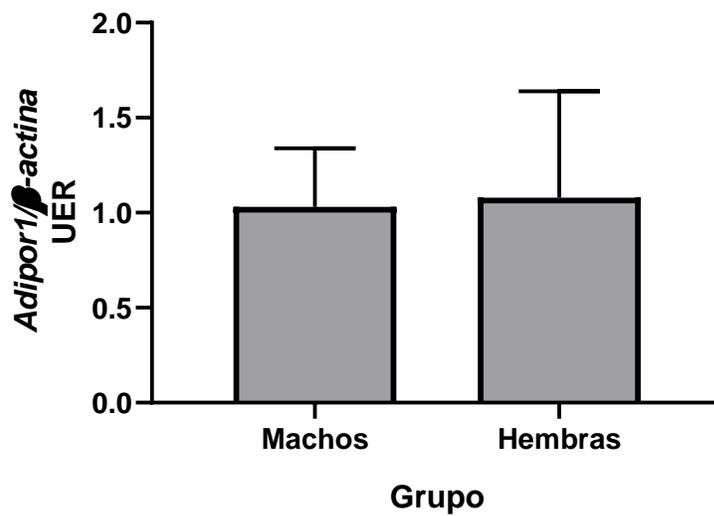


Figura 21. Diferencia del sexo sobre la expresión relativa del gen Adipor1 de ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con dieta alta en sacarosa. Los valores de media \pm error estándar (ES) están representados en la gráfica. UER: Unidades de expresión relativa.

6.5.3. Asociación de la expresión de los genes *Cd36* y *Adipor1* sobre indicadores bioquímicos relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.

Se realizaron análisis de correlación entre la expresión relativa de los genes *Cd36* y *Adipor1* y diferentes variables bioquímicas relacionadas al desarrollo de EHGNA. Se analizaron niveles séricos de glucosa, insulina e índice HOMA-IR. No se encontró una correlación entre los valores de glucosa e índice HOMA-IR y la expresión de los genes de interés, sin embargo, respecto a los niveles de insulina, el grupo de hembras sacarosa obtuvo una correlación positiva ($r= 0.8467$) estadísticamente significativa ($p=0.033$) con la expresión del gen *Cd36*, es decir, al aumentar la expresión del gen *Cd36*, aumentan los niveles séricos de insulina en hembras con dieta alta en sacarosa (**Figura 22**).

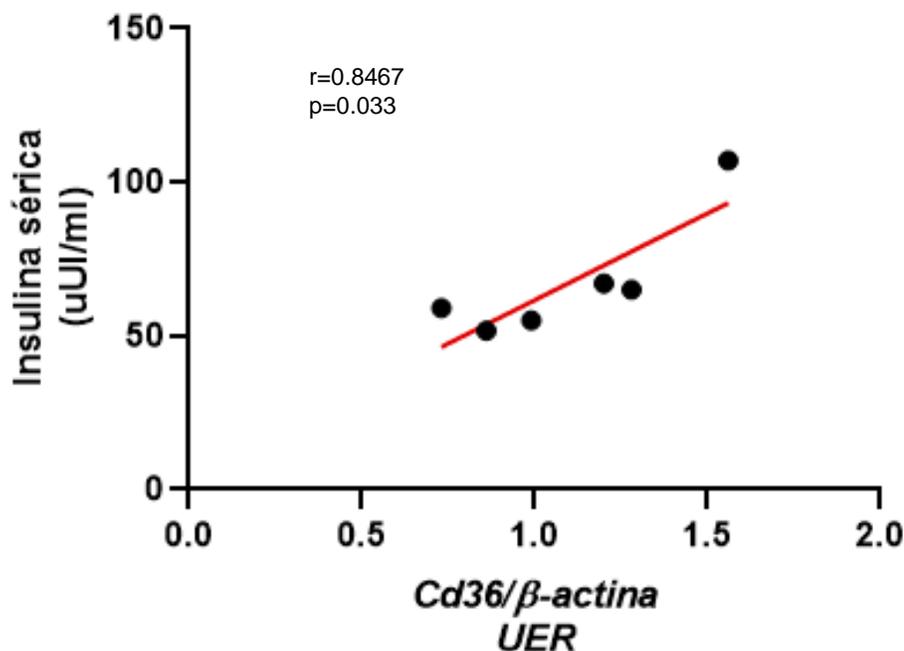


Figura 22. Asociación entre los valores de insulina sérica y la expresión del gen *Cd36* en ratones hembras de la cepa C57BL/6N.

En cuanto al perfil lipídico, no se encontró una asociación entre los valores de triglicéridos, colesterol total y HDL y la expresión de los genes de interés, sin embargo, en relación al colesterol no HDL, se encontró una asociación positiva en el grupo machos sacarosa ($r=0.9532$) estadísticamente significativa ($p= 0.0032$) con la expresión relativa de *Adipor1*, por lo que al aumentar la expresión del gen *Adipor1*, aumentan las concentraciones séricas de colesterol no-HDL en ratones machos de la cepa C57BL/6N con una dieta alta en sacarosa (**Figura 23**).

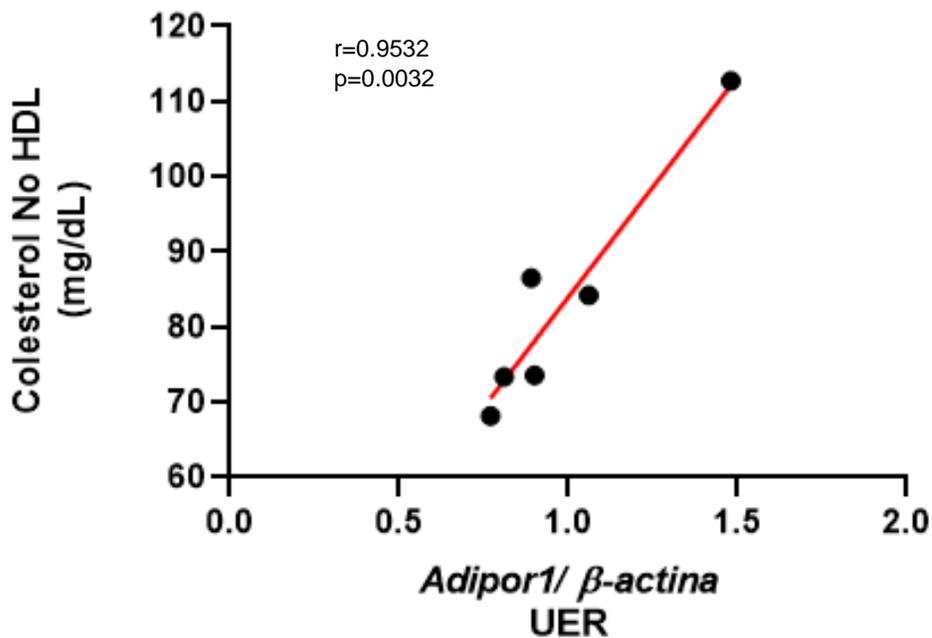


Figura 23. Asociación entre los valores de colesterol no HDL y la expresión del gen *Adipor1* en ratones machos de la cepa C57BL/6N.

6.5.4. Asociación de la expresión de los genes Cd36 y Adipor1 sobre indicadores histológicos relacionados a EHGNA en ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N.

En relación a los indicadores histológicos, se encontró una correlación positiva significativa ($r= 0.8187$, $p=0.0463$) entre el peso del hígado y la expresión del gen *Adipor1* en el grupo machos sacarosa, a mayor expresión del gen, mayor peso del hígado (Figura 24).

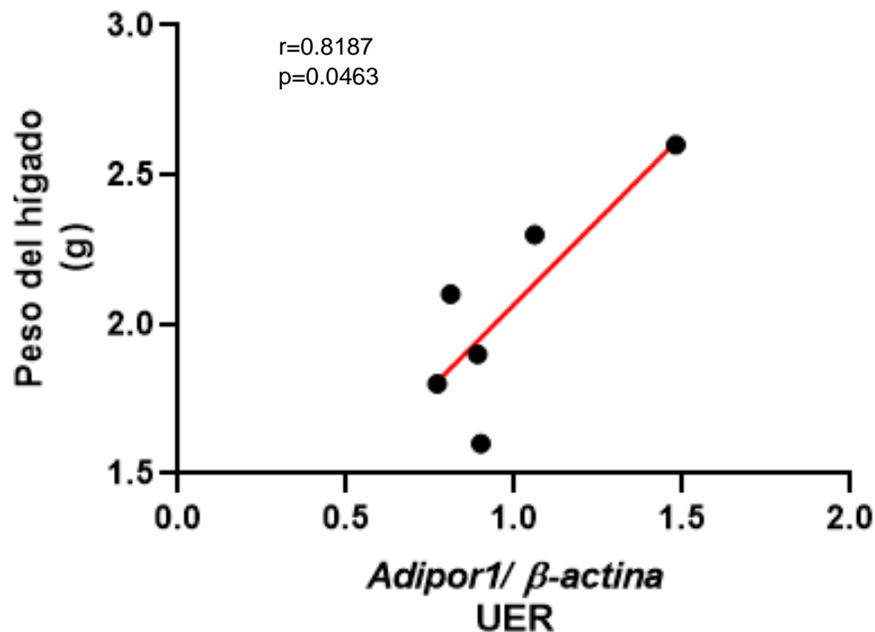


Figura 24. Asociación entre el peso del hígado y la expresión del gen *Adipor1* en ratones machos de la cepa C57BL/6N.

En términos de la concentración de triglicéridos hepáticos, no se encontró una asociación respecto a la expresión de los genes de interés en ratones machos, sin embargo, en ratones hembras, se encontró una asociación negativa ($r=-0.8759$) estadísticamente significativa ($p= 0.0221$) entre la expresión del gen *Adipor1* y la concentración de triglicéridos hepáticos en el grupo hembras sacarosa (**Figura 25**).

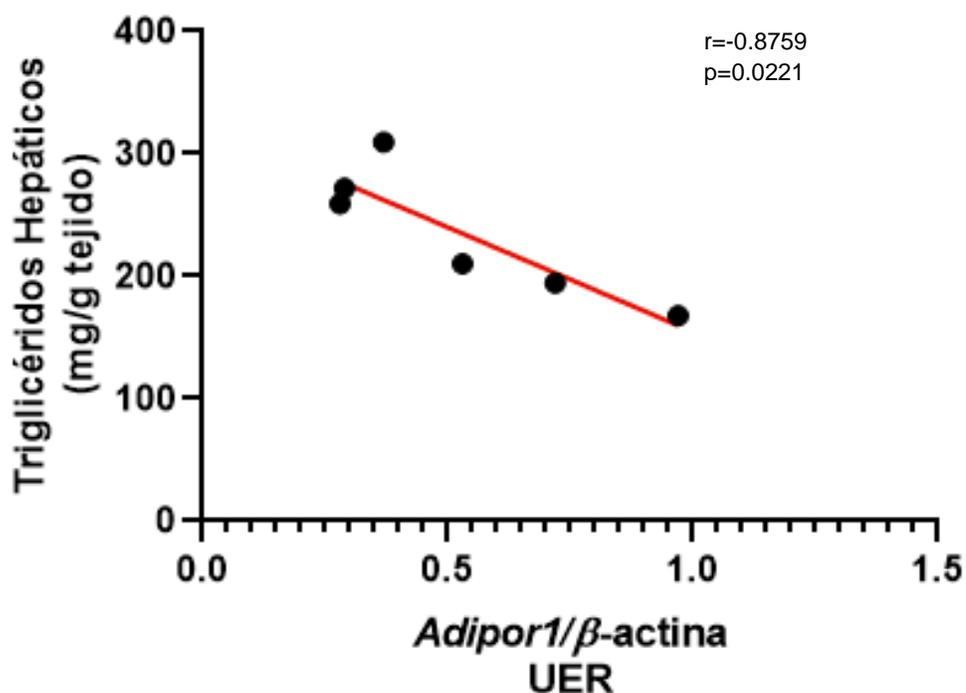


Figura 25. Asociación entre los valores de triglicéridos hepáticos y la expresión del gen *Adipor1* en ratones hembras de la cepa C57BL/6N.

7. DISCUSIÓN

Nuestros resultados mostraron diferencias importantes en el desarrollo de la EHGNA entre ratones machos y hembras. En cuanto al consumo de alimento, la dieta alta en sacarosa redujo significativamente la ingesta en machos y hembras, a comparación con los grupos control a lo largo de las 20 semanas de intervención. Sin embargo, ambos grupos, tanto machos como hembras, presentaron un aumento considerable en el consumo de la solución de sacarosa. Estos resultados son similares a lo encontrado por Togo y colaboradores, en donde utilizaron ratones de la cepa C57BL/6J y les administraron una dieta alta en sacarosa en forma líquida (solución al 50%) y sólida. Al término del estudio concluyeron que el grupo que consumió sacarosa en forma líquida tuvo una disminución significativa del consumo de alimento, debido a la preferencia del modelo por la sacarosa (Togo *et al*, 2019). Los resultados actuales han demostrado que cuando se exponen a sacarosa líquida, los ratones tienen un mayor consumo de energía que cuando se les ofrece la misma composición de macronutrientes pero en forma sólida. Por lo tanto, estos datos respaldan el papel sugerido de las bebidas azucaradas en el desarrollo de la obesidad y resistencia a la insulina inducidas por la dieta. Este comportamiento puede deberse al sabor dulce de la solución, que es preferido por los roedores, ya que lo asocian con la presencia de nutrientes esenciales para su supervivencia.

El consumo de una dieta alta en sacarosa durante 20 semanas produjo diferencias significativas en el peso corporal de los ratones machos entre los grupos experimentales, sin embargo, no se observaron diferencias en el peso corporal de las hembras entre los diferentes grupos. Resultados similares fueron observados en un estudio de Souza y col (2021) en donde al modelo murino se le administró una solución de sacarosa al 30% durante un periodo de 10 semanas, encontrando diferencias significativas en el peso corporal al final de la intervención. El consumo de una dieta alta en sacarosa durante 20 semanas produce diferencias significativas en el peso corporal de los ratones machos entre los grupos experimentales, según otros informes (Burke *et al*. 2018; Acosta-Cota *et al*. 2019; Plazas-Guerrero *et al*. 2019). Sin embargo, las hembras no mostraron diferencias en el peso corporal entre

los grupos. Souza et al. (2022) informaron que las hembras de ratón demostraron una mayor resistencia a la obesidad inducida por la dieta y a los desequilibrios metabólicos asociados, en comparación con sus contrapartes masculinas.

Respecto al perfil de lípidos, se observaron diferencias en relación a la dieta y al sexo en el modelo murino. En cuanto al colesterol total, se encontraron niveles elevados en ratones machos y hembras con una dieta alta en sacarosa. Estos resultados contrastan con lo encontrado por Plazas Guerrero *et al*, en donde reportaron una disminución de las concentraciones de colesterol total en ratas con una dieta alta en sacarosa (Plazas-Guerrero *et al*, 2019). El aumento significativo encontrado en nuestro estudio puede relacionarse al aumento de la LDN en el modelo murino. La LDN elevada en el hígado aumenta la síntesis de triglicéridos y la acumulación de grasa hepática. Parte de los triglicéridos sintetizados son exportados como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lo que aumenta los niveles de colesterol sérico (Lambert *et al*, 2014). En términos de las fracciones del colesterol, como el HDL, se observó un comportamiento a la alza por parte de los grupos machos y hembras con dieta alta en sacarosa, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. Se reportaron resultados similares en el estudio de Pang *et al*, en donde analizaron un modelo murino de la cepa C57BL/6 con diferentes tipos de dietas por un periodo de 3 meses, entre ellos una dieta alta en sacarosa (solución al 20%). Se encontró un incremento significativo del colesterol HDL en los ratones macho en comparación a su grupo control (Pang et al, 2016). Este comportamiento puede ser explicado por las características metabólicas propias de la cepa C57BL/6, ya que en un estudio de Fuentes y col, en donde determinaron el perfil bioquímico de esta cepa, encontraron que las concentraciones de colesterol HDL tuvo variaciones relacionadas a la edad de los ratones, esto en machos y hembras ya que a partir de las 14 semanas de edad se reportó un incremento significativo de esta variable bioquímica (Fuentes et al, 2008).

En nuestro estudio se encontraron diferencias significativas respecto a la fracción no HDL del colesterol, reportando un incremento en ambos grupos con dieta alta en sacarosa. Estos resultados coinciden con lo reportado por Lima *et al* en

un modelo murino, quienes encontraron un incremento en los niveles de colesterol HDL en ambos grupos sin obtener una diferencia significativa, sin embargo en cuanto a los niveles de lipoproteínas de baja (LDL) y muy baja (VLDL) densidad, se encontró un incremento significativo entre los grupos con dieta alta en sacarosa, respecto a su grupo control. El aumento en la síntesis hepática de ácidos grasos provoca la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos. El exceso de triglicéridos se exporta como lipoproteínas VLDL, lo que explica el incremento en suero (Lima *et al*, 2015).

Al analizar la concentración sérica de triglicéridos, se encontró un aumento significativo por parte del grupo machos sacarosa. Estos resultados coinciden con lo reportado por Silva-Gasparín *et al*, quienes estudiaron un modelo de ratones machos y hembras a los cuales se les administró una dieta de cafetería durante 14 semanas, la cual estuvo compuesta por diversos alimentos industrializados altos en azúcares añadidos. Al término del estudio reportaron un incremento significativo de los niveles de triglicéridos séricos en ratones machos respecto al grupo de machos con dieta estandar, sin embargo, las hembras no tuvieron diferencias respecto a su grupo control (Silva-Gasparín *et al*, 2018).

Cabe destacar que en el presente estudio se encontraron diferencias significativas en los valores de glucosa sérica en los grupos machos y hembras sacarosa en comparación a su grupo control. Souza *et al* reportaron un incremento significativo de los niveles de glucosa sérica en ratones machos y hembras que consumieron una solución de fructosa al 30%. Las dietas líquidas versus sólidas con alto contenido de azúcar modulan diferencialmente el comportamiento de la alimentación, los distintos transportadores intestinales de glucosa (SGLT1, GLUT 2 y GLUT 5) y las hormonas reguladoras del peso. En consecuencia, las dietas líquidas ricas en azúcar pueden ser un componente crítico para el desarrollo de la obesidad y EHGNA en ratones (Ritze *et al*, 2014).

De igual manera, los niveles de insulina incrementaron significativamente en ambos grupos sacarosa respecto a sus controles. Quintana castro y col, reportaron resultados similares en ratas con una dieta alta en sacarosa durante 30 y 40

semanas, obteniendo un incremento significativo de los niveles de insulina en ambos grupos. Aunque datos recientes sugieren que el intestino es el sitio principal del metabolismo de la fructosa en dosis bajas, en dosis más altas, el hígado es el sitio más importante (Jang *et al*, 2020). Al momento de analizar el índice HOMA-IR, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Se ha reportado que la deposición excesiva de lípidos en el hígado a largo plazo influye directamente en la señalización de la insulina mediante la activación de varias serina/treonina quinasas que reducen la fosforilación de tirosina del sustrato del receptor de insulina y afectan la activación de la vía de la fosfatidilinositol-3-quinasa disminuyendo la translocación de los transportadores de glucosa en los tejidos dependientes de insulina (músculo cardíaco y esquelético y tejido adiposo), lo que conduce al desarrollo de resistencia a la insulina hepática y periférica, que se asocia con un mayor riesgo de diabetes tipo 2, principalmente debido a la lipotoxicidad y la subsiguiente falla de las células β pancreáticas (Zhao *et al*. 2015)

Una variable indispensable en el diagnóstico de EHGNA es el peso del hígado. En el presente estudio se pudo observar el incremento significativo de ambos grupos machos y hembras sacarosa respecto a su control, siendo el grupo machos sacarosa quien presentó el mayor peso en comparación con las hembras sacarosa. Estos valores coinciden con lo reportado por Spruss y col, con ratones machos y hembras de la cepa C57BL/6N con la incorporación de una solución de fructosa al 30%, encontrando un incremento significativo del peso del hígado en ambos sexos, siendo los machos con la dieta alta en fructosa los que obtuvieron un valor superior (2.1 ± 0.0 g) (Spruss *et al*, 2012). Un resultado destacado en el presente estudio son los triglicéridos hepáticos, en donde se encontró un aumento en ambos grupos sacarosa, siendo el grupo hembras sacarosa quien obtuvo un mayor resultado en comparación con el grupo machos sacarosa. Choi *et al* analizaron ratones hembras de la cepa C57BL/6J con una dieta alta en azúcar, encontrando un incremento significativo de los niveles de triglicéridos hepáticos en el grupo con dieta alta en fructosa (Choi *et al*, 2017). Contrario a lo que se observó en este estudio en relación al tejido hepático, los niveles de triglicéridos en suero de las hembras con dieta alta en sacarosa no obtuvieron diferencias significativas respecto al control. Este

comportamiento puede deberse a la migración de los lípidos hacia el hígado por el incremento de la lipogénesis *de novo* en respuesta a la dieta alta en sacarosa (Norheim *et al*, 2017).

Los resultados histológicos apoyan lo encontrado en las determinantes bioquímicas, en donde se observó que el grupo sacarosa hembras obtuvo el mayor grado de EHNA, seguido por el grupo machos sacarosa, mientras que los grupos control no desarrollaron la enfermedad. Plazas-Guerrero y col obtuvieron hallazgos similares en un modelo murino inducido con dieta alta en sacarosa. El grupo sacarosa obtuvo un grado de EHNA de 7 encontrando esteatosis micro y macrovesicular y presencia de células balonadas (Plazas-Guerrero *et al*, 2019).

El estudio de los marcadores genéticos en el desarrollo de una patología es crucial para comprender los mecanismos moleculares y hereditarios que subyacen en la enfermedad. En el presente estudio se evaluó la expresión génica de *Cd36* y *Adipor1* en el desarrollo de EHGNA. Respecto a los resultados de la expresión de *Cd36*, al momento de comparar entre los grupos con dieta alta en sacarosa y sus controles, no se encontraron diferencias significativas. Estos resultados difieren con los obtenidos por Quintana y col en 2020, en donde utilizaron ratas Wistar con dieta a base de alimento estándar y solución de sacarosa al 30% (St-30) y 40% (St-40) por 30 semanas. Las ratas del grupo St-30 mostraron niveles significativamente más altos (4.0 veces; $p < 0.05$) de ARNm de *Cd36* en tejido hepático en comparación con el grupo control, mientras que las ratas del grupo St-40 reportaron una expresión relativa más alta (7.0 veces; $p < 0.05$) con respecto a las ratas del grupo control. La intervención del presente proyecto tuvo una duración de 20 semanas, por lo que este factor pudo haber sido determinante en la ausencia de cambios significativos en la expresión relativa del gen *Cd36* en ambos grupos (Quintana-Castro *et al*, 2020).

Al momento de comparar la expresión génica de *Cd36* entre machos y hembras con dieta alta en sacarosa, se encontró un incremento significativo por parte del grupo de las hembras. Un estudio experimental realizado en ratas encontró que mientras que los niveles en el músculo esquelético de *Cd36* fueron similares en

animales machos y hembras al inicio del estudio, las ratas macho, pero no las hembras, exhibieron una sorprendente disminución del 50 % en el contenido de proteína *Cd36* después de infusión de lípidos. Este hallazgo puede sugerir razonablemente que la diferencia en los niveles de proteína *Cd36* en el músculo esquelético después de la infusión de lípidos puede explicar la mayor eliminación de ácidos grasos libres y la protección contra la resistencia a la insulina inducida por grasa en ratas hembra, mediante el desvío de ácidos grasos a una vía metabólica que no perjudique la transmisión de la señalización de la insulina. Hallazgos similares se han reportado en el hígado de ratas y humanos después de la estimulación con hormona de crecimiento (Lorbek, 2013). Además, los estrógenos circulantes que ejercen efectos metabólicos beneficiosos antes de la menopausia y las diferencias de sexo en la composición de la fibra muscular también podrían ser un factor. Asimismo, la ausencia de cambios en los niveles de triglicéridos plasmáticos en hembras con la dieta alta en sacarosa puede posiblemente explicarse por el claro incremento de triglicéridos hepáticos que se debe en parte al aumento de la expresión de la enzima lipoprotein lipasa (LPL) y *Cd36* en el hígado. Además de LPL, *Cd36* también influye en la absorción de ácidos grasos circulantes. La sobreexpresión de *Cd36* en células de hepatoma humano aumenta la absorción de ácidos grasos, mientras que una deficiencia de *Cd36* afecta significativamente la absorción de ácidos grasos por parte de órganos periféricos como el corazón, el músculo esquelético, tejido adiposo y hepático en roedores (Norheim et al, 2016).

Contrario a lo encontrado en la expresión de *Cd36*, los resultados de la expresión génica de *Adipor1*, el grupo de hembras sacarosa obtuvo una disminución significativa de la expresión respecto a su grupo control. La adiponectina tiene un papel esencial en la homeostasis energética al regular el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos en los tejidos periféricos, incluidos los músculos y el hígado (Berg et al., 2015). Las funciones biológicas de la adiponectina dependen de la función y expresión de sus receptores específicos (AdipoR1, AdipoR2) así como sus niveles séricos. Algunos estudios han demostrado que la falta de receptores de adiponectina provoca hiperglucemia e hiperinsulinemia (Parker-Duffen et al., 2014). Al analizar la expresión génica de *Adipor1* solamente en los grupos sacarosa, no se

encontraron diferencias significativas. La concentración de adiponectina en roedores es mayor en las hembras en comparación con los machos, posiblemente como resultado de la inhibición de la producción de adiponectina por los andrógenos (Combs *et al.*, 2003; Nishizawa *et al.*, 2002).

Con la finalidad de establecer asociaciones entre la expresión de los genes de interés y las diferentes variables bioquímicas e histológicas relacionadas al desarrollo de EHGNA, se realizaron análisis de correlaciones. Se encontró una correlación positiva entre la expresión de *Cd36* y los niveles de insulina. Algunos estudios han reportado que la resistencia a la insulina incrementa la actividad del gen *Cd36* en el hígado de ratones a través de un mecanismo dependiente de PPAR γ . Esto se logra mediante el aumento de la localización del receptor *Cd36* en la membrana plasmática de los hepatocitos, lo que favorece el desarrollo de EHGNA (Steneberg *et al.*, 2015; Maréchal *et al.*, 2018). Además, hay informes que sugieren la participación del receptor *Cd36* en el desarrollo de hígado graso relacionada con el envejecimiento tanto en animales como en humanos. Se ha observado que el envejecimiento eleva los niveles circulantes de insulina, glucosa y ácidos grasos en humanos. En relación al perfil de lípidos, se encontró una correlación positiva entre la expresión de *Adipor1* y los niveles de insulina. La activación de *Adipor1* puede modular la síntesis y la excreción de colesterol hepático. En ratones con alta expresión de *Adipor1*, puede aumentar la captación de colesterol y ácidos grasos por el hígado, favoreciendo la síntesis de VLDL. Asimismo, Kakino y col (2021) reportaron que la adiponectina puede formar un complejo con las LDL y con ello atenuar su funcionalidad, por lo que, aunque pueda haber una expresión incrementada del receptor y con ello de adiponectina, la formación de ese complejo puede constituir un mecanismo de resistencia a la adiponectina. Esto es especialmente relevante ya que la EHGNA se considera un factor de riesgo independiente para las enfermedades cardiovasculares (ECV). Actualmente, aunque no se han comprendido completamente, los mecanismos que relacionan a la EHGNA con las ECV sugieren que las anomalías en la acumulación de lípidos en el hígado, los procesos inflamatorios incrementados y el desarrollo de fibrosis

hepática subsecuente son condiciones que favorecen el desarrollo de este tipo de patologías (Ballestri *et al*, 2017).

El gen *Adipor1*, también se correlacionó positivamente con el peso del hígado en ratones con dieta alta en sacarosa. En condiciones de resistencia a la insulina, la expresión de *Adipor1* puede estar aumentada como parte de un intento del organismo por contrarrestar los efectos adversos del exceso de ácidos grasos y la lipotoxicidad en el hígado. Esta adaptación puede llevar a cambios en la estructura y función del hígado, incluyendo el aumento del tamaño hepático debido al incremento en la acumulación de lípidos (Wada *et al*, 2022). Asimismo, se encontró una asociación negativa de la expresión de este gen con la concentración de triglicéridos hepáticos en hembras con dieta alta en sacarosa. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Spruss y col (2012) con ratones hembras alimentadas con una dieta alta en sacarosa, en donde se observó una disminución significativa de la expresión del gen *Adipor1* en el grupo con la dieta alta en sacarosa, en comparación con su grupo control, además se reportó esteatosis macrovesicular e incremento de indicadores de inflamación en el hígado. La adiponectina se une a *Adipor1* y *Adipor2* en el hígado. Una vez que se une a su receptor, se activan las señales de AMPK y PPAR α , lo que aumenta la oxidación de ácidos grasos y disminuye la síntesis de ácidos grasos *de novo*, resultando en una reducción del contenido de triglicéridos (Lee *et al*, 2023). Además, la adiponectina estimula la actividad de la ceramidasa, reduciendo la lipotoxicidad y mejorando la sensibilidad a la insulina. Al reportarse una disminución significativa de la expresión de *Adipor1*, por consecuencia ocurre una disminución de la producción de adiponectina, lo que provoca la atenuación de las funciones previamente establecidas, y con ello, la acumulación de triglicéridos en el hígado (Moyce *et al*, 2022).

8. CONCLUSIÓN

En modelos experimentales *in vivo*, se encontraron diferencias en el desarrollo de EHGNA entre ratones machos y hembras a través de una dieta alta en sacarosa durante 20 semanas, observando mayores niveles de glucosa sérica, índice HOMA-IR, acumulación de triglicéridos hepáticos, esteatosis micro y macro vesicular, células balonadas e inflamación lobular en ratones hembras. Asimismo se identificó que la expresión del gen del receptor *Cd36* se vió incrementada en hembras en respuesta a la diferencia de sexo, y en cuanto al gen *Adipor1*, se observaron diferencias respecto a la influencia de la dieta, encontrando una disminución de la expresión de este en hembras.

La asociación positiva entre la expresión del gen *Cd36* y los niveles de insulina en ratones hembras sugiere un papel significativo del metabolismo de los ácidos grasos en la regulación hormonal en este grupo. Por otro lado, la asociación negativa entre la expresión de *Adipor1* y los niveles de triglicéridos hepáticos en hembras indica una posible influencia protectora de este receptor sobre la acumulación de lípidos en el hígado. En ratones machos, las asociaciones positivas entre la expresión de *Adipor1*, los niveles de colesterol no HDL y el peso del hígado subrayan la complejidad de los mecanismos metabólicos involucrados en la EHGNA según el sexo.

En el presente estudio, con una dieta alta en sacarosa se pudieron apreciar diferencias en las variables bioquímicas e histológicas relacionadas al desarrollo y progresión de EHGNA, así como también, en la expresión de los genes *Cd36* y *Adipor1* en ratones machos y hembras de la cepa C57bl/6N. Esto podría indicar que el sexo es un factor que puede condicionar el mecanismo por el cual se desarrolla EHGNA, pero que además la influencia de la dieta puede provocar alteraciones en marcadores reguladores de la aparición y progresión de la patología.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arab, J.P.; Arrese, M.; Trauner, M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2018, 13, 321–350.
- Ballman, K. V. (2015). Biomarker: predictive or prognostic?. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(33), 3968-3971.
- Berk, P. D., & Verna, E. C. (2016). Nonalcoholic fatty liver disease: lipids and insulin resistance. *Clinics in liver disease*, 20(2), 245-262.
- Biddinger, S.B.; Hernandez-Ono, A.; Rask-Madsen, C.; Haas, J.T.; Alemán, J.O.; Suzuki, R.; Scapa, E.F.; Agarwal, C.; Carey, M.C.; Stephanopoulos, G.; et al. Hepatic insulin resistance is sufficient to produce dyslipidemia and susceptibility to atherosclerosis. *Cell Metab.* 2015, 27, 320–331
- Burra, Patrizia, Debora Bizzaro, Anna Gonta, Sarah Shalaby, Martina Gambato, Maria Cristina Morelli, Silvia Trapani, et al. «Clinical Impact of Sexual Dimorphism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)». *Liver International* 41, n.o 8 (2021): 1713-33. <https://doi.org/10.1111/liv.14943>.
- Buzzetti, E., Pinzani, M., & Tsochatzis, E. A. (2016). The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, 65(8), 1038-1048.
- Calzadilla Bertot, L., & Adams, L. A. (2016). The natural course of non-alcoholic fatty liver disease. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 774.
- Campos-Nonato, I., Galván-Valencia, Ó., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., & Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: resultados de la Ensanut 2022. *salud pública de méxico*, 65, s238-s247.

- Chalasanani, N.P., Ramasubramanian, T.S., Bhattacharya, A., Olson, M.C., Edwards, V.D., Roberts, L.R., Kisiel, J.B., Reddy, K.R., Lidgard, G.P., Johnson, S.C., et al. (2020). A Novel Blood-based Panel of Methylated DNA and Protein Markers for Detection of Early-Stage Hepatocellular Carcinoma. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* Published online September 2, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.08.065>.
- Chen, H., Tan, H., Wan, J., Zeng, Y., Wang, J., Wang, H., & Lu, X. (2023). PPAR- γ signaling in nonalcoholic fatty liver disease: Pathogenesis and therapeutic targets. *Pharmacology & therapeutics*, 245, 108391.
- Chen, Xing-Yu, Cong Wang, Yi-Zhou Huang, y Li-Li Zhang. «Nonalcoholic fatty liver disease shows significant sex dimorphism». *World Journal of Clinical Cases* 10, n.o 5 (16 de febrero de 2022): 1457-72. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i5.1457>.
- Choi, Y., Abdelmegeed, M. A., & Song, B. J. (2017). Diet high in fructose promotes liver steatosis and hepatocyte apoptosis in C57BL/6J female mice: Role of disturbed lipid homeostasis and increased oxidative stress. *Food and chemical toxicology*, 103, 111-121.
- Corella, D., & Ordovás, J. M. (2018). Papel de las ómicas en la nutrición de precisión: fortalezas y debilidades. *Nutrición Hospitalaria*, 35(4), 10-18.
- Dávila-Torres, J., González-Izquierdo, J. D. J., & Barrera-Cruz, A. (2015). Obesity in Mexico. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 53(2), 240-249.
- Della Torre, Sara. «Beyond the X Factor: Relevance of Sex Hormones in NAFLD Pathophysiology». *Cells* 10, n.o 9 (septiembre de 2021): 2502. <https://doi.org/10.3390/cells10092502>.
- De Oliveira CPMS, Cotrim HP, Arrese M. (2019). Factores de riesgo de la enfermedad por hígado graso no alcohólico en poblaciones de Latinoamérica: situación actual y perspectivas. *Clin Liver Dis*; 13 (1): 5-8. doi: 10.1002/cld.837.

- Díaz-Rúa, R., Palou, A., & Oliver, P. (2016). Cpt1a gene expression in peripheral blood mononuclear cells as an early biomarker of diet-related metabolic alterations. *Food & nutrition research*, 60(1), 33554.
- Dongiovanni, P.; Romeo, S.; Valenti, L. Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: Role of environmental and genetic factors. *World J. Gastroenterol.* 2014, 20, 12945–12955.
- Eslam, M.; Sanyal, A.J.; George, J.; International Consensus Panel. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2020, 158, 1999–2014.e1.
- Fattahi MR, Niknam R, Safarpour A, Sepehrimanesh M, Lotfi M. (2016). The prevalence of metabolic syndrome in non-alcoholic fatty liver disease; a population-based study. *Middle East J Dig Dis*; 8: 131-137.
- Federico, A., Rosato, V., Masarone, M., Torre, P., Dallio, M., Romeo, M., & Persico, M. (2021). The role of fructose in non-alcoholic steatohepatitis: old relationship and new insights. *Nutrients*, 13(4), 1314.
- Frangogiannis, N. G. (2018). Galectin-3 in the fibrotic response: Cellular targets and molecular mechanisms. *International journal of cardiology*, 258, 226-227.
- Glatz, J. F., & Luiken, J. J. (2017). From fat to FAT (CD36/SR-B2): understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. *Biochimie*, 136, 21-26.
- Graffigna M, Catoira N, Soutelo J, Azpelicueta A, Berg G, Perel M, Aranguren M, Musso C, Farias J. (2017). Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*. [Internet]; 54 (1): 37-46. <http://doi.org/10.16/j.raem.2016.12.001>
- Grimm, D.; Falcon, A.; Storm, T.A.; Kazantzis, M.; Kay, M.A.; Doege, H.; Stahl, A.; Tsang, B.; Xu, H.; Ortegon, A.M. Silencing of Hepatic Fatty Acid Transporter Protein 5 in Vivo Reverses Diet-induced Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Improves Hyperglycemia. *J. Biol. Chem.* 2008, 283, 22186–22192.

- Gustafson, B., Hedjazifar, S., Gogg, S., Hammarstedt, A., & Smith, U. (2015). Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 26(4), 193-200.
- Hernández-Pérez, E., León García, P. E., López-Díazguerrero, N. E., Rivera-Cabrera, F., & del Ángel Benítez, E. (2016). Hígado graso y esteatohepatitis no alcohólica: patogénesis y tratamiento. *Medwave*, 16(08).
- Hyer, Molly M., Samya K. Dyer, Alix Kloster, Anum Adrees, Thomas Taetzsch, Jonathan Feaster, Gregorio Valdez, y Gretchen N. Neigh. «Sex modifies the consequences of extended fructose consumption on liver health, motor function, and physiological damage in rats». *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 317, n.o 6 (1 de diciembre de 2019): R903-11. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00046.2019>.
- Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., Yamauchi, T., & Kadowaki, T. (2015). Adiponectin/adiponectin receptor in disease and aging. *NPJ aging and mechanisms of disease*, 1, 15013.
- Jo, M. G., Kim, M. W., Jo, M. H., bin Abid, N., & Kim, M. O. (2019). Adiponectin homolog osmotin, a potential anti-obesity compound, suppresses abdominal fat accumulation in C57BL/6 mice on high-fat diet and in 3T3-L1 adipocytes. *International Journal of Obesity*, 1.
- Kakino, Akemi, Yoshiko Fujita, Liang-Yin Ke, Hua-Chen Chan, Ming-Hsien Tsai, Chia-Yen Dai, Chu-Huang Chen, y Tatsuya Sawamura. «Adiponectin forms a complex with atherogenic LDL and inhibits its downstream effects». *Journal of lipid research* 62 (2021). [https://www.jlr.org/article/S0022-2275\(20\)43629-6/fulltext](https://www.jlr.org/article/S0022-2275(20)43629-6/fulltext).
- Katsiki, N., Mikhailidis, D. P., & Mantzoros, C. S. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: an update. *Metabolism*, 65(8), 1109-1123.
- Koehler EM, Schouten JN, Hansen BE, van Rooij FJ, Hofman A, Stricker BH, et al. (2012). Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in the elderly: results from the Rotterdam study. *J Hepatol*; 57: 1305-1311.

- Kucsera, D., Tóth, V. E., Gergő, D., Vörös, I., Onódi, Z., Görbe, A., ... & Varga, Z. V. (2021). Characterization of the CDAA diet-induced non-alcoholic steatohepatitis model: Sex-specific differences in inflammation, fibrosis, and cholesterol metabolism in middle-aged mice. *Frontiers in Physiology*, 12, 609465.
- Kurt, Zeyneb, Rio Barrere-Cain, Jonnby LaGuardia, Margarete Mehrabian, Calvin Pan, Simon T. Hui, Frode Norheim, et al. «Tissue-specific pathways and networks underlying sexual dimorphism in non-alcoholic fatty liver disease». *Biology of Sex Differences* 9, n.o 1 (22 de octubre de 2018): 46. <https://doi.org/10.1186/s13293-018-0205-7>.
- Laguado, J. (2018). Rol de la nutrigenómica y nutrigenética en los alimentos.
- Lambert, J. E., Ramos–Roman, M. A., Browning, J. D., & Parks, E. J. (2014). Increased de novo lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 146(3), 726-735.
- Lambis, L., Solana, J. B., Gastelbondo, B., Romero, D., Garrido, D., Puello, W., ... & Suarez, A. (2016). Risk factors associated with nonalcoholic fatty liver disease in a Colombian Caribbean population. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(2), 89-95.
- Lee, Eunyong, Hannelie Korf, y Antonio Vidal-Puig. «An adipocentric perspective on the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease». *Journal of Hepatology* 78, n.o 5 (1 de mayo de 2023): 1048-62. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.01.024>.
- Lee, Y. H., Kim, S. H., Kim, S. N., Kwon, H. J., Kim, J. D., Oh, J. Y., & Jung, Y. S. (2016). Sex-specific metabolic interactions between liver and adipose tissue in MCD diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Oncotarget*, 7(30), 46959.
- Lefebvre, Philippe, y Bart Staels. «Hepatic Sexual Dimorphism — Implications for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease». *Nature Reviews Endocrinology* 17, n.o 11 (noviembre de 2021): 662-70. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00538-6>.

- Li, Hui, Erna Jia, Yu Hong, Yanzhen Chen, y Jian Jiao. «Phytoestrogens and NAFLD: Possible Mechanisms of Action». *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 20, n.º 7 (1 de abril de 2020): 578-83. <https://doi.org/10.2174/1389557520666200103114123>.
- Lima, M. L. R., Leite, L. H., Gioda, C. R., Leme, F. O., Couto, C. A., Coimbra, C. C., ... & Ferrari, T. C. A. (2016). A Novel Wistar Rat Model of Obesity-Related Nonalcoholic Fatty Liver Disease Induced by Sucrose-Rich Diet. *Journal of diabetes research*, 2016(1), 9127076.
- Lonardo, A., Ballestri, S., Marchesini, G., Angulo, P., & Loria, P. (2015). Nonalcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome. *Digestive and Liver Disease*, 47(3), 181-190.
- Lonardo, A.; Nascimbeni, F.; Targher, G.; Bernardi, M.; Bonino, F.; Bugianesi, E.; Casini, A.; Gastaldelli, A.; Marchesini, G.; Marra, F.; et al. AISF position paper on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Updates and future directions. *Dig. Liver Dis.* 2017, 49, 471–483.
- Lonardo, A., Nascimbeni, F., Ballestri, S., Fairweather, D., Win, S., Than, T. A., ... & Suzuki, A. (2019). Sex differences in NAFLD: state of the art and identification of research gaps. *Hepatology*.
- Lonardo, A., & Suzuki, A. (2019). Nonalcoholic fatty liver disease: does sex matter?. *Hepatobiliary surgery and nutrition*, 8(2), 164.
- Low, W., Cornfield, T., Charlton, C., Tomlinson, J., & Hodson, L. (2018). Sex differences in hepatic de novo lipogenesis with acute fructose feeding. *Nutrients*, 10(9), 1263.
- Mahjoubin M, De Vincentis A, Mikhailidis D, Atkin S, Mantzoros C. Jamialahmadi T, Sahebkar A. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis: State of the art on effective therapeutics based on the gold standard method for diagnosis. *Molecular Metabolism [Internet]*; 50: 1-14.

- Maldonado, I. A., Sagastume, I. E., López Gil, O. M., & Alexander, A. A. (2017). Dietary Sucrose and CD36 Receptor in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *J Liver Res Disord Ther*, 3(5), 00066.
- Maréchal, Loïze, Maximilien Laviolette, Amélie Rodrigue-Way, Baly Sow, Michèle Brochu, Véronique Caron, y André Tremblay. «The CD36-PPAR γ Pathway in Metabolic Disorders». *International Journal of Molecular Sciences* 19, n.o 5 (21 de mayo de 2018): 1529. <https://doi.org/10.3390/ijms19051529>.
- Masuoka HC, Chalasani N. (2013). Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals. *Ann N Y Acad Sci*; 1281: 106-122.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., & Turner, R.C. (1985). "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man." *Diabetologia*, 28(7), 412-419. DOI: 10.1007/BF00280883
- Mofrad, P., Contos, M. J., Haque, M., Sargeant, C., Fisher, R. A., Luketic, V. A., ... & Sanyal, A. J. (2003). Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology*, 37(6), 1286-1292.
- Morales I, Gil L, Coronado Y. (2022). Índices de fibrosis y su aplicación en el tratamiento del hígado graso no alcohólico. *Medicentro Electrónica* [Internet]; 26(1):229-238.
<http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciarttext&pid=S102930432022000100230>
- Moyce Gruber, Brittany L., Laura K. Cole, Bo Xiang, Mario A. Fonseca, Julianne Klein, Grant M. Hatch, Christine A. Doucette, y Vernon W. Dolinsky. «Adiponectin Deficiency Induces Hepatic Steatosis during Pregnancy and Gestational Diabetes in Mice». *Diabetologia* 65, n.o 4 (1 de abril de 2022): 733-47. <https://doi.org/10.1007/s00125-021-05649-3>.
- Muthiah M, Cheng N, Sanyal A. (2021). A clinical overview of non-alcoholic fatty liver disease: A guide to diagnosis, the clinical features, and complications. *What*

the non-specialist needs to know. *Diabetes, Obesity and Metabolism. A Journal of Pharmacology and Therapeutics* [Internet]; 24 (2): 3-14. <https://doi.org/10.1111/dom.14521>

Narro, G. E. C., & Escobar, J. D. S. P. (2023). Hígado graso metabólico: nuevos conceptos y estrategias integrales de diagnóstico y tratamiento. *Hepatología clínica CMG* 4, 4, 29.

Niu, B., He, K., Li, P., Gong, J., Zhu, X., Ye, S., ... & Ren, G. (2018). SIRT1 upregulation protects against liver injury induced by a HFD through inhibiting CD36 and the NF- κ B pathway in mouse kupffer cells. *Molecular medicine reports*, 18(2), 1609-1615.

Norheim, F., Hui, S. T., Kulahcioglu, E., Mehrabian, M., Cantor, R. M., Pan, C., ... & Lusis, A. J. (2017). Genetic and hormonal control of hepatic steatosis in female and male mice¹. *Journal of lipid research*, 58(1), 178-187.

Olguin B, María Catalina, Marta Delia Posadas R, Gilda Celina Revelant Z, Verónica Labourdette P, Darío Oscar Marinozzi T, María Rosa Venezia N, y María Isabel Zingale V. «Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas». *Revista chilena de nutrición* 42, n.o 2 (junio de 2015): 151-56. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200006>.

Pang, J., Rhodes, D. H., Pini, M., Akasheh, R. T., Castellanos, K. J., Cabay, R. J., ... & Fantuzzi, G. (2013). Increased adiposity, dysregulated glucose metabolism and systemic inflammation in Galectin-3 KO mice. *PLoS One*, 8(2), e57915.

Pati, S., Krishna, S., Lee, J. H., Ross, M. K., Claire, B., Harn Jr, D. A., ... & Cummings, B. S. (2018). Effects of high-fat diet and age on the blood lipidome and circulating endocannabinoids of female C57BL/6 mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(1), 26-39.

Pejnovic, N., Jetic, I., Jovicic, N., Arsenijevic, N., & Lukic, M. L. (2016). Galectin-3 and IL-33/ST2 axis roles and interplay in diet-induced steatohepatitis. *World journal of gastroenterology*, 22(44), 9706.

- Pelusi, S.; Cespiati, A.; Rametta, R.; Pennisi, G.; Mannisto, V.; Rosso, C.; Baselli, G.; Dongiovanni, P.; Fracanzani, A.L.; Badiali, S.; et al. Prevalence and Risk Factors of Significant Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Without Steatohepatitis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019.
- Pugliese, G., Iacobini, C., Pesce, C. M., & Menini, S. (2014). Galectin-3: an emerging all-out player in metabolic disorders and their complications. *Glycobiology*, 25(2), 136-150.
- Rada, Patricia, Águeda González-Rodríguez, Carmelo García-Monzón, y Ángela M. Valverde. «Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver?» *Cell death & disease* 11, n.o 9 (2020): 802.
- Ruan, H., & Dong, L. Q. (2016). Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *Journal of molecular cell biology*, 8(2), 101-109.
- Sanders, F. W., & Griffin, J. L. (2016). De novo lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biological Reviews*, 91(2), 452-468.
- Seki, E., & Schwabe, R. F. (2015). Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology*, 61(3), 1066-1079.
- Shabalala, S. C., Dlodla, P. V., Mabasa, L., Kappo, A. P., Basson, A. K., Pheiffer, C., & Johnson, R. (2020). The effect of adiponectin in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the potential role of polyphenols in the modulation of adiponectin signaling. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 131, 110785.
- Shamah-Levy, T., Cuevas-Nasu, L., Rivera-Dommarco, J., & Hernández-Ávila, M. (2016). Encuesta Nacional de Nutrición y Salud de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016). *Informe final de resultados. Recuperado de <https://www.insp.mx/ensanut/medio-camino-16.html>*[Links].
- Sheedfar, Fareeba, Miranda MY Sung, Marcela Aparicio-Vergara, Niels J. Kloosterhuis, Maria Eugenia Miquilena-Colina, Javier Vargas-Castrillón, Maria

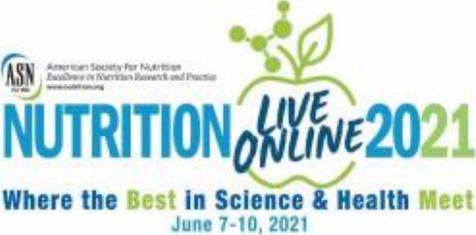
- Febbraio, et al. «Increased Hepatic CD36 Expression with Age Is Associated with Enhanced Susceptibility to Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Aging* 6, n.o 4 (9 de abril de 2014): 281-95. <https://doi.org/10.18632/aging.100652>.
- Smith, G. I., Shankaran, M., Yoshino, M., Schweitzer, G. G., Chondronikola, M., Beals, J. W., ... & Sirlin, C. B. (2019). Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of Clinical Investigation*.
- Softic, S., Cohen, D. E., & Kahn, C. R. (2016). Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease. *Digestive diseases and sciences*, 61(5), 1282-1293.
- Spruss, A., Henkel, J., Kanuri, G., Blank, D., Püschel, G. P., Bischoff, S. C., & Bergheim, I. (2012). Female mice are more susceptible to nonalcoholic fatty liver disease: sex-specific regulation of the hepatic AMP-activated protein kinase-plasminogen activator inhibitor 1 cascade, but not the hepatic endotoxin response. *Molecular Medicine*, 18(9), 1346-1355.
- Stender, S.; Kozlitina, J.; Nordestgaard, B.G.; Tybjaerg-Hansen, A.; Hobbs, H.H.; Cohen, J.C. Adiposity amplifies the genetic risk of fatty liver disease conferred by multiple loci. *Nat. Genet.* 2017, 49, 842–847
- Steneberg, Pär, Alexandros G. Sykaras, Fredrik Backlund, Jurate Straseviciene, Ingegerd Söderström, y Helena Edlund. «Hyperinsulinemia Enhances Hepatic Expression of the Fatty Acid Transporter Cd36 and Provokes Hepatosteatosis and Hepatic Insulin Resistance *». *Journal of Biological Chemistry* 290, n.o 31 (31 de julio de 2015): 19034-43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.640292>.
- Stephenson, Erin J., Amanda S. Stayton, Aarti Sethuraman, Prahlad K. Rao, Alice Meyer, Charles Klazer Gomes, Molly C. Mulcahy, et al. «Chronic Intake of High Dietary Sucrose Induces Sexually Dimorphic Metabolic Adaptations in Mouse Liver and Adipose Tissue». *Nature Communications* 13, n.o 1 (13 de octubre de 2022): 6062. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33840-6>.

- Tang, Z., Pham, M., Hao, Y., Wang, F., Patel, D., Jean-Baptiste, L., ... & Cheng, F. (2019). Sex, Age, and BMI Modulate the Association of Physical Examinations and Blood Biochemistry Parameters and NAFLD: A Retrospective Study on 1994 Cases Observed at Shuguang Hospital, China. *BioMed Research International*, 2019.
- Tarantino, G.; Savastano, S.; Colao, A. Hepatic steatosis, low-grade chronic inflammation and hormone/growth factor/adipokine imbalance. *World J. Gastroenterol.* 2010, 16, 4773–4783.
- Trautwein, C., Friedman, S. L., Schuppan, D., & Pinzani, M. (2015). Hepatic fibrosis: concept to treatment. *Journal of hepatology*, 62(1), S15-S24.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. (2011). Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*; 34: 274-285.
- Wada, Taira, Yukiko Yamamoto, Yukiko Takasugi, Hirotake Ishii, Taketo Uchiyama, Kaori Saitoh, Masahiro Suzuki, Makoto Uchiyama, Hikari Yoshitane, y Yoshitaka Fukada. «Adiponectin regulates the circadian rhythm of glucose and lipid metabolism». *Journal of Endocrinology* 254, n.o 2 (2022): 121-33.
- Wang, C., Tao, Q., Wang, X., Wang, X., & Zhang, X. (2016). Impact of high-fat diet on liver genes expression profiles in mice model of nonalcoholic fatty liver disease. *Environmental toxicology and pharmacology*, 45, 52-62.
- Wang, Y.; van der Tuin, S.; Tjeerdema, N.; van Dam, A.D.; Rensen, S.S.; Hendriks, T.; Berbée, J.F.P.; Atanasovska, B.; Fu, J.; Hoekstra, M.; et al. Plasma cholesteryl ester transfer protein is predominantly derived from Kupffer cells. *Hepatology* 2015, 62, 1710–1722.
- Wilson, C. G., Tran, J. L., Erion, D. M., Vera, N. B., Febbraio, M., & Weiss, E. J. (2015). Hepatocyte-specific disruption of CD36 attenuates fatty liver and improves insulin sensitivity in HFD-fed mice. *Endocrinology*, 157(2), 570-585.

- Yilmaz, M., Claiborn, K. C., & Hotamisligil, G. S. (2016). De novo lipogenesis products and endogenous lipokines. *Diabetes*, *65*(7), 1800-1807.
- Yoldi, F. I. M., & Hernández, J. A. M. (2015). La nutrición personalizada a través de la epigenómica. *Mediterráneo económico*, (27), 345-361.
- Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L., & Wymer, M. (2016). Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*, *64*(1), 73-84.
- Zaiou, M., Amrani, R., Rihn, B., & Hajri, T. (2021). Dietary patterns influence target gene expression through emerging epigenetic mechanisms in nonalcoholic fatty liver disease. *Biomedicines*, *9*(9), 1256.
- Zhao, L., Fu, Z., Wu, J., Aylor, K. W., Barrett, E. J., Cao, W., & Liu, Z. (2015). Globular adiponectin ameliorates metabolic insulin resistance via AMPK-mediated restoration of microvascular insulin responses. *The Journal of physiology*, *593*(17), 4067-4079.
- Zhang, H., Léveillé, M., Courty, E., Gunes, A., N. Nguyen, B., & Estall, J. L. (2020). Differences in metabolic and liver pathobiology induced by two dietary mouse models of nonalcoholic fatty liver disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *319*(5), E863-E876.
- Zingg, J. M., Hasan, S. T., Nakagawa, K., Canepa, E., Ricciarelli, R., Villacorta, L., ... & Meydani, M. (2017). Modulation of cAMP levels by high-fat diet and curcumin and regulatory effects on CD36/FAT scavenger receptor/fatty acids transporter gene expression. *Biofactors*, *43*(1), 42-53.

10. ANEXOS

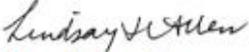
Certificado de presentación de e-póster en el congreso “Nutrition Live Online 2021” de la Asociación Americana de Nutrición.



Certificate of Presentation

This is to certify that Melissa Vega-Burgueño presented a virtual poster presentation at the American Society for Nutrition meeting, NUTRITION 2021 LIVE ONLINE, which was held virtually from June 7-10, 2021. Melissa Vega-Burgueño presented the following:

- **Abstract Title:** Effect of High Sucrose Diet on Histopathological Indicators Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Male and Female C57bl/6N Mice (Abstract Presentation Number: P08-062-21)
- **Authors:** Melissa Vega-Burgueño, Universidad Autónoma de Sinaloa; Marcela Vergara-Jiménez, Universidad Autónoma de Sinaloa, Nutritional Sciences Department; Lorenzo Osuna-Ramírez, Universidad Autónoma de Sinaloa; Edith Torres-Montoya, Universidad Autónoma de Sinaloa; José Zazueta-Moreno, Universidad Autónoma de Sinaloa; Dora Ochoa-Acosta, Universidad Autónoma de Sinaloa; Tania Salinas-Garza, Universidad Autónoma de Sinaloa; Julianna Urias-Castro, Universidad Autónoma de Sinaloa



Lindsay H. Allen, PhD
President
American Society for Nutrition

Certificado de presentación de póster en la segunda conferencia FINUT 2022 en la Ciudad de México.



CERTIFICADO COMUNICACIONES

Por la presente, certificamos que el trabajo titulado:

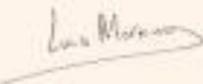
P015 - DIFERENCIAS DEL SEXO SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS E HISTOPATOLÓGICOS ASOCIADOS CON EL DESARROLLO DE HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO EN RATONES DE LA CEPA C57BL6/N CON UNA DIETA ALTA EN SACAROSA

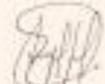
Ha sido aceptado y presentado en modalidad E-POSTER por:

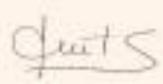
Melissa De Jesús Vega Burgueño
Lorenzo Ulises Osuna Ramírez
Edith Hilario Torres Montoya
Elisa María Barrón Cabrera
Tania Daniela Salinas Garza
Edith Julianna Urías Castro
Feliznando Isidro Cárdenas Torres
Dora Alicia Ochoa Acosta

Durante: **Marcela De Jesús Vergara Jiménez**

 **II CONFERENCIA**
FINUT 2022
09-11 DE OCTUBRE / CIUDAD DE MÉXICO
La Nutrición es el eje de una sociedad más sana


Prof. Luis Moreno Aznar
Presidente de la FINUT


Prof. Ángel Gil
Presidente de honor de la FINUT


Dra. Sylvia Cruchet
Presidenta del Comité Científico

 **FINUT**
Fundación Iberoamericana de Nutrición

Certificado de presentación de póster en el cuarto Congreso Internacional de Inocuidad y Calidad Alimentaria de la Asociación Nacional para la Inocuidad y Calidad Alimentaria en México (ANICA).



ANICA
ASOCIACIÓN NACIONAL PARA LA INOCUIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA EN MÉXICO, S.C.

4 CONGRESO INTERNACIONAL
SOBRE
INOCUIDAD Y CALIDAD
ALIMENTARIA

"Alimentos Seguros,
Una Sola Salud"

La Asociación Nacional para la Inocuidad y Calidad Alimentaria en México,
en el marco del 4^{to} Congreso Internacional sobre Inocuidad y Calidad Alimentaria,
otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A:
Vega Burgueño Melissa de Jesús,
Torres Montoya, E.H., Zazueta-Moreno, J.M., Barrón-Cabrera, E.M., Osuna-Martínez, U., Urias-García, E.J., Salinas-Garza, T.D., Ochoa-Acosta, D.A., Vergara-Jiménez, M.J.

Por su valiosa participación con el trabajo titulado:
Diferencias de sexo del desarrollo de EHGNA en ratones inducidos con sacarosa

Presentado en el 4^{to} Congreso Internacional sobre Inocuidad y Calidad Alimentaria celebrado del 20 al 22 de marzo de 2024 en el Instituto Tecnológico de Culiacán, Sinaloa, México.


Cristóbal Chaidez Quiroz
Presidente de la ANICA


Francisca Piña Zazueta
Directora del Tecnológico Nacional de México, campus Culiacán


María Dolores Muy Rangel
Coordinadora del CIAD Culiacán



Sex-specific differences in NAFLD development: effect of a high-sucrose diet on biochemical, histological, and genetic markers in C57bl/6N mice

Vega Burqueño MJ¹*, Torres Montoya EH², Zazueta-Moreno JM³, Barrón-Cabrera EM⁴, Osuna-Martínez U¹, Urrías-García EJ⁴, Salinas-Garza TD⁴, Ochoa-Acosta DA⁴ and Vergara-Jiménez MJ¹*

¹Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán de Rosales, México; ²Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán de Rosales, México; ³Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán de Rosales, México

ABSTRACT

Sucrose intake is a potential risk factor for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Individual characteristics such as sex, play a role in the biological variation of the disease, potentially related to genetic regulation. This research evaluated sex differences in biochemical, histopathological, and gene expression responses associated with NAFLD in C57bl/6N mice on a high sucrose diet. Female and male mice were assigned to control or high sucrose diets (50% sucrose solution) for 20 weeks. After sacrifice, blood and hepatic tissue were collected for analysis. Female mice revealed moderate-to-high NAFLD, whereas male mice showed mild-to-moderate NAFLD. Sex-specific variations were observed in *Cd36* gene expression, an upregulation in females compared with the male group, and *Adipor1* gene expression showed significant downregulation in the female group in response to high sucrose diet compared with the control group. These findings highlight the importance of considering gender disparities in the treatment and management of NAFLD.

ARTICLE HISTORY

Received 22 March 2024
Accepted 25 July 2024

KEYWORDS

Non-alcoholic fatty liver disease; sucrose; sex differences; *Cd36*; *Adipor1*

Introduction

Currently, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common chronic liver disease worldwide. Its pathological spectrum can evolve from simple steatosis to steatohepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma, affecting 20 to 46% of the population worldwide (Calzadilla Bertot and Adams 2016; Hernández-Pérez et al. 2016; De Oliveira et al. 2019). Among the general adult population, NAFLD is more common in men than in women, with rates ranging from 22 to 42% in men and 13 to 24% in women (Lonardo et al. 2019). However, this trend changes when considering reproductive groups: men have a higher prevalence compared to premenopausal women, whose prevalence varies from 6 to 9% (Salvoza et al. 2020). Notably, when women are in postmenopausal age, NAFLD prevalence is similar between men (22–42%) and women (19–31%), indicating a potential protective effect of estrogens (DiStefano 2020). Evidence suggests that the progression and severity of NAFLD may exhibit sex-specific differences, requiring a nuanced exploration of gender-related factors influencing the disease pathway (Buzzetti et al. 2016; Lonardo and Suzuki 2019). Most experimental studies in NAFLD have used genetically modified mice and/or fed altered

CONTACT Vergara-Jiménez MJ mjvergara@uas.edu.mx Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Codros S/N y Calle Sauces, Los Sauces, Fracc. Los Fresnos, Culiacán de Rosales, Sinaloa 80019, México
© 2024 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group