



UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA DEL ESTADO  
DE HIDALGO

---

INSTITUTO DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS

LICENCIATURA EN ALIMENTACIÓN  
SUSTENTABLE

Evaluación del efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de guarumbo (*Cecropia obtusifolia*) en un modelo de dislipidemia y daño hepático agudo en ratas

**T E S I S**

Que para obtener el título de Licenciada en Alimentación  
Sustentable

**P R E S E N T A**

Rosa Isela Huautla Aldana

**Director:**

M. en C. José Antonio Estefes Duarte

**Codirector:**

Dr. Tomás Eduardo Fernández Martínez



Tulancingo de Bravo, Hidalgo., a 23 de mayo de 2025

**Asunto:** Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
Directora de Administración Escolar de la UAEE

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado al pasante de Licenciatura en Alimentación Sustentable, **Rosa Isela Huautla Aldana**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado “**Evaluación del efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de guarumbo (*Cecropia obtusifolia*) en un modelo de dislipidemia y daño hepático en ratas**”, que después de revisarlo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión de este, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del jurado:

**PRESIDENTE** Dr. T. Eduardo Fernández Martínez  
**SECRETARIO** Mtro. José Antonio Estefes Duarte  
**VOCAL 1** Dr. Rubén Jiménez Alvarado  
**VOCAL 2** Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo

Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente  
“Amor, Orden y Progreso”

**Dr. Antonio de Jesús Cenobio Galindo**  
Coordinador de la Licenciatura en  
Alimentación Sustentable

Av. Universidad Km. 1, Exhacienda de  
Aquetzalpa, C.P. 43600, Tulancingo, Hidalgo,  
México  
Teléfono: 7717172000 Ext. 2461  
pelaeza@uaeh.edu.mx



## **Agradecimientos**

Doy gracias a Dios, por brindarme fortaleza, salud y la sabiduría necesaria para culminar esta etapa.

Agradezco profundamente al Dr. Eduardo Fernández por su confianza y apoyo durante el desarrollo de este trabajo, también al Mtro. Estefes, por ser mi guía y acompañarme en esta travesía, gracias por compartir su conocimiento conmigo y por su paciencia al enseñar.

A mis padres, por inculcarme valores fundamentales que han guiado mi vida, por su amor constante y por estar siempre presentes, apoyándome con su ejemplo, su palabra y su compañía.

A mi hermana, por ser mi compañera de vida, por tu cercanía y apoyo constante en cada etapa que he atravesado. Gracias por estar siempre a mi lado con tu amor incondicional.

## **Dedicatorias**

Dedico este trabajo a ti mi pequeño Sebastián, que llegaste a cambiar mi mundo y darle sentido.

A mis padres, Lucia y Ubaldo, pilares de mi vida. Este logro es tan mío como suyo.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Síndrome metabólico</b>	4
<b>2.2 Dislipidemias</b>	4
2.2.1 Clasificación	4
2.2.2 Metabolismo lipídico	5
2.2.3 Fisiopatología	7
2.2.4 Epidemiología	8
2.2.5 Diagnóstico	8
2.2.6 Marcadores de dislipidemia	9
2.2.6.1 Triglicéridos	9
2.2.6.2 Colesterol	9
2.2.6.3 Tiloxapol - Inductor de dislipidemia	10
2.2.7 Tratamiento farmacológico	10
2.2.8 Tratamiento no farmacológico	10
<b>2.3 Enfermedad hepática esteatósica asociada al metabolismo (MASLD) y esteatohepatitis metabólica (MASH)</b>	11
2.3.1 Hígado y sus funciones	11
2.3.1.1 Anatomía y fisiopatología hepática	11
2.3.1.2 Papel del hígado en el metabolismo de los carbohidratos	11
2.3.1.3 Sistema biliar	12
2.3.1.4 Vesícula biliar	13
2.3.1.5 Bilis	13
2.3.1.6 Ácidos biliares	13
2.3.2 <i>Esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH)</i>	14
2.3.2.1 Generalidades	14
2.3.2.2 Fisiopatología	14
2.3.2.3 Epidemiología	15
2.3.2.4 Diagnóstico	15
2.3.2.5 Marcadores de funcionalidad y daño hepático	15
2.3.2.6 Tratamiento farmacológico	18
2.3.2.7 Tratamiento no farmacológico	18
<b>2.4 Guarumbo (<i>Cecropia obtusifolia</i>)</b>	19

2.4.1 Descripción etnobotánica	19
2.4.2 Usos tradicionales	20
2.4.3 Compuestos bioactivos	20
2.4.4 Efectos farmacológicos	20
2.4.5 Modulación de vías de señalización	21
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN</b>	<b>22</b>
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
4.1 Objetivo general	23
4.2 Objetivos específicos	23
<b>5. HIPÓTESIS</b>	<b>24</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>25</b>
6.1 Obtención del extracto de acetato de etilo de <i>Cecropia obtusifolia</i> (E-Co)	25
6.2 Pruebas químicas <i>in vitro</i> del E-Co	25
6.2.1 Determinación de la capacidad antioxidante	25
6.2.2 Determinación de compuestos fenólicos totales	25
6.2.3 Actividad inhibidora del ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS <sup>•+</sup> )	26
6.2.4 Determinación de la inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH <sup>•</sup> )	26
6.2.5 Determinación de la capacidad reductora por el método FRAP	26
6.3 Evaluación farmacológica	27
6.3.1 Grupos experimentales	27
6.3.2 Tratamientos	29
6.4 Determinación de parámetros bioquímicos en plasma e hígado	30
6.4.1 Marcadores bioquímicos	30
6.4.2 Métodos de análisis bioquímico	30
6.4.2.1 Actividad de fosfatasa alcalina (FA)	30
6.4.2.2 Actividad de gamma glutamil-transpeptidasa (GGTP)	31
6.4.2.3 Determinación de bilirrubina directa (BD) y bilirrubina total (BT)	31
6.4.2.4 Actividad de alanina aminotransferasa (ALT)	31
6.4.2.5 Cuantificación de proteínas	32
6.4.2.6 Grado de lipoperoxidación (LP)	32
6.4.2.7 Actividad de catalasa (CAT)	32
6.4.2.8 Determinación de triglicéridos (TG)	33
6.4.2.9 Determinación de colesterol (COL)	33
6.4.2.10 Determinación de glucógeno hepático	33
6.5 Pruebas histológicas	33

6.5.1 Tinciones de hematoxilina y eosina	33
<b>6.6 Análisis estadístico</b>	<b>34</b>
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>7.1 Resultados de pruebas químicas <i>in vitro</i> del extracto</b>	<b>35</b>
7.1.1 Determinación de fenoles totales	35
7.1.2 Determinación de DPPH	35
7.1.3 Determinación de ABTS	35
7.1.4 Determinación de FRAP	36
<b>7.2 Marcadores bioquímicos</b>	<b>36</b>
7.2.1 Actividad de fosfatasa alcalina (FA)	36
7.2.2 Actividad de gama glutamil-transpeptidasa (GGTP)	37
7.2.3 Bilirrubinas totales (BT)	38
7.2.4 Bilirrubina directa (BD)	39
7.2.5 Alanina aminotransferasa (ALT)	40
7.2.6 Glucógeno hepático	41
7.2.7 Lipoperoxidación (LP)	42
7.2.8 Actividad de catalasa (CAT)	43
7.2.9 Triglicéridos	44
7.2.10 Colesterol	45
<b>7.3 Análisis histológico</b>	<b>46</b>
<b>8. DISCUSIÓN</b>	<b>49</b>
<i>Efecto antioxidante y contenido fenólico del extracto de acetato de etilo de C. Obtusifolia</i>	49
<i>Modelos de daño inducido en los marcadores bioquímicos</i>	50
<i>Efecto del E-Co en condiciones normales</i>	51
<i>Efecto del E-Co sobre dislipidemia</i>	51
<i>Efecto del E-Co sobre esteatohepatitis</i>	51
<i>Papel de los compuestos bioactivos de E-Co en la modulación fisiológica</i>	54
<b>9. CONCLUSIONES</b>	<b>56</b>
<b>10. REFERENCIAS</b>	<b>57</b>

## I. Índice de figuras

<b>Figura 1</b>	<i>Digestión de los lípidos.</i>	<b>6</b>
<b>Figura 2</b>	<i>Cecropia obtusifolia.</i>	<b>19</b>
<b>Figura 3</b>	<i>Estructura del ácido clorogénico (1) e isoorientina (2).</i>	<b>20</b>
<b>Figura 4</b>	<i>Curso temporal del tratamiento.</i>	<b>29</b>
<b>Figura 5</b>	<i>Actividad de fosfatasa alcalina en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>36</b>
<b>Figura 6</b>	<i>Actividad de gamma glutamil-transpeptidasa en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>37</b>
<b>Figura 7</b>	<i>Niveles de bilirrubinas totales (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>38</b>
<b>Figura 8</b>	<i>Niveles de bilirrubinas directas (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>39</b>
<b>Figura 9</b>	<i>Actividad de alanina-aminotransferasa (<math>\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}</math>) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>40</b>
<b>Figura 10</b>	<i>Niveles de glucógeno hepático (mg de glucógeno/100 g de hígado) en ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>41</b>
<b>Figura 11</b>	<i>Grado de lipoperoxidación (nmol MDA/mg de proteína) en hígado de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>42</b>
<b>Figura 12</b>	<i>Actividad de catalasa (<math>k \times 10^2/\text{min}</math>) en hígado de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>43</b>
<b>Figura 13</b>	<i>Concentraciones de triglicéridos (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>44</b>
<b>Figura 14</b>	<i>Concentraciones de colesterol total (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3.</i>	<b>45</b>
<b>Figura 15</b>	<i>Panel histológico de la tinción hematoxilina/eosina (40x).</i>	<b>48</b>

## II. Índice de tablas

<b>Tabla 1</b>	<i>Dislipidemias secundarias principales según su etiología y su perfil lipídico.</i>	<b>5</b>
<b>Tabla 2</b>	<i>Valores de referencia de los niveles de colesterol LDL de acuerdo con el ATP III.</i>	<b>9</b>
<b>Tabla 3</b>	<i>Principales especies del género Cecropia utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades terapéuticas.</i>	<b>21</b>
<b>Tabla 4</b>	<i>Grupos experimentales.</i>	<b>29</b>
<b>Tabla 5</b>	<i>Porcentaje de rendimiento de las hojas secas de Cecropia obtusifolia.</i>	<b>35</b>
<b>Tabla 6</b>	<i>Resultados de pruebas químicas in vitro de E-Co.</i>	<b>35</b>

## RESUMEN

El síndrome metabólico, que incluye condiciones como la dislipidemia y el daño hepático agudo, es una de las preocupaciones de salud pública principales debido a su alta incidencia y su relación con enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Frente a este panorama, el uso de plantas medicinales ha cobrado relevancia como alternativa terapéutica, ya que muchas de ellas contienen compuestos bioactivos con efectos terapéuticos conocidos desde épocas ancestrales. *Cecropia obtusifolia* (CROB), conocida como “guarumbo”, es una planta reconocida en la medicina tradicional por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y hepatoprotectoras, atribuidas a compuestos como flavonoides y terpenos. A pesar del uso extendido de esta planta, son limitados los estudios científicos que respalden su eficacia en el manejo específico de la dislipidemia y el daño hepático agudo. Por ello, este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de *C. obtusifolia* (E-Co) en un modelo experimental de ratas con dislipidemia y daño hepático inducidos. Para ello, se diseñaron 12 grupos experimentales que incluyeron controles y tratamientos con el E-Co y omega-3, con el fin de analizar de manera sistemática sus posibles efectos hepatoprotectores e hipolipemiantes del extracto frente al daño inducido por tiloxapol y tetracloruro de carbono. El E-Co fue obtenido mediante un proceso de extracción por Soxhlet y posteriormente se evaluaron marcadores bioquímicos relevantes, como fosfatasa alcalina, catalasa, lipoperoxidación, triglicéridos, y colesterol. Los resultados sugirieron que el E-Co es una fuente importante de compuestos fenólicos, flavonoides, y taninos, lo que le confiere una notable capacidad antioxidante. Además, el tratamiento con E-Co disminuyó significativamente los niveles de lípidos séricos, redujo el estrés oxidativo, y protegió los tejidos hepáticos del daño inducido.

Este estudio indica que el extracto de acetato de etilo de *C. obtusifolia* tiene un gran potencial terapéutico para el manejo de la dislipidemia y el daño hepático asociado al síndrome metabólico; Su acción antioxidante y hepatoprotectoras refuerza su utilidad como alternativa natural con bases científicas sólidas, abriendo nuevas posibilidades para su aplicación en el desarrollo de tratamientos complementarios y estrategias innovadoras contra estas condiciones.

**Palabras clave:** *Cecropia obtusifolia*, dislipidemia, daño hepático, esteatohepatitis, extractos vegetales.

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) es un problema de salud pública cuya prevalencia varía según factores como la edad, el sexo, el origen étnico, y el estilo de vida. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que entre el 20 y el 25% de la población adulta del mundo padece este síndrome, lo cual duplica las probabilidades de mortalidad y triplica la probabilidad de sufrir un ataque cardíaco o un accidente cerebrovascular en comparación con personas que no presentan estas alteraciones (Villalba Torres et al., 2021). En los últimos años el SM ha representado un desafío creciente para la salud pública debido a su asociación con enfermedades cardiovasculares, hepáticas y metabólicas (Fragozo-Ramos, 2022).

El SM se caracteriza por la coexistencia de obesidad visceral, dislipidemia, resistencia a la insulina y enfermedades hepáticas como la enfermedad de hígado graso asociada al metabolismo (por sus siglas en inglés, MASLD, antes llamada enfermedad de hígado graso no alcohólico, NAFLD). En este contexto, el metabolismo de los lípidos desempeña un papel crucial en la progresión de estas alteraciones metabólicas, ya que un desequilibrio en la síntesis, almacenamiento o degradación de los lípidos y el estrés oxidativo contribuye al estado inflamatorio crónico y la disfunción hepática (Estefes-Duarte et al., 2024).

Entre las complicaciones más graves de MASLD, se encuentra la esteatohepatitis asociada a la disfunción metabólica (MASH) la cual se caracteriza por inflamación, estrés oxidativo, y daño celular que pueden conducir a fibrosis y daño hepático progresivo, que eventualmente conducen a la cirrosis (Graffigna et al., 2017). Se ha identificado que la acumulación de grasa en el hígado está estrechamente relacionada con la resistencia a la insulina, lo que favorece la progresión de la enfermedad (Lahsen, 2014). Asimismo, la dislipidemia y la MASH están altamente correlacionadas, ya que aproximadamente el 50% de los pacientes con dislipidemia desarrollan MASH (Chalasani et al., 2012).

La dislipidemia es una condición donde existe una alteración en el metabolismo de los lípidos séricos, caracterizada por niveles anormales de colesterol (COL), triglicéridos (TG) o ambos, además de niveles anormales de especies de lipoproteínas relacionadas (Berberich y Hegele, 2022). Esta condición contribuye significativamente a la progresión de la enfermedad hepática a través de mecanismos inflamatorios y oxidativos que afectan la función del hígado. Por ello, es crucial evaluar de manera conjunta, la dislipidemia y el daño hepático asociado a MASH, ya que ambos representan riesgos importantes para la salud cardiovascular y hepática.

En la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas, las plantas medicinales han surgido como una fuente prometedora de compuestos bioactivos con potencial terapéutico sobre enfermedades metabólicas. Un ejemplo de ello es *Hibiscus sabdariffa*, cuyos extractos han demostrado actividad en la regulación de vías de inflamación y estrés oxidativo mediante la inhibición del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y la activación de factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2 (Nrf2) (Espinosa-Sánchez et al., 2025). De manera similar, *Cecropia obtusifolia* (CROB) ha recibido especial atención debido a sus propiedades farmacológicas, entre ellas sus efectos hipotensores, hipoglucemiantes, hipolipemiantes, y antipalúdicos, atribuidos a la presencia de metabolitos secundarios, como el ácido clorogénico y la isoorientina. Gracias a su potencial antioxidante y antiinflamatorio, se ha sugerido que CROB podría ofrecer una alternativa terapéutica para el manejo de la dislipidemia y la MASH. No obstante, su efecto específico sobre la dislipidemia y el daño hepático agudo aún no ha sido suficientemente investigado. Por ello, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de CROB en un modelo de dislipidemia y daño hepático agudo en ratas; se busca esclarecer su impacto en la regulación de los lípidos séricos y en la mitigación del daño hepático, proporcionando una base científica que podría abrir nuevas vías para el tratamiento de estas condiciones asociadas al SM.

Con esta investigación, se abundó en validar efectos terapéuticos novedosos en adición a los usos medicinales tradicionales de *Cecropia obtusifolia* ya descritos, proporcionando mayor evidencia científica que respalde su aplicación en el manejo de trastornos metabólicos y hepáticos.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Síndrome metabólico**

El síndrome metabólico es un grupo de trastornos metabólicos asociados con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y aterosclerosis. Se caracteriza por la presencia de trastornos metabólicos como dislipidemia, presión arterial elevada, aumento del nivel de glucosa, entre otros (Tkachenko et al., 2020).

La obesidad es una de las manifestaciones más tempranas del síndrome metabólico, es considerada una enfermedad crónica y multifactorial, caracterizada por el depósito excesivo de grasa, lo cual resulta perjudicial para la salud (World Health Organization, 2024). Varias consecuencias de la acumulación excesiva de grasa se asocian con la afectación de la estructura y la actividad funcional del tejido adiposo. En la actualidad, la obesidad se caracteriza como una condición de inflamación crónica sistémica (inflamación de grado bajo). La secuela clave de la inflamación del tejido adiposo es la resistencia a la insulina que conduce a DM2 y a la MASLD (Clària et al., 2012). Esta inflamación, asociada con el estrés oxidativo aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como hipertensión arterial y dislipidemias (Tkachenko et al., 2020).

### **2.2 Dislipidemias**

Las dislipidemias son alteraciones del metabolismo de los lípidos a nivel sanguíneo, ocasionando incrementos en la concentración plasmática de colesterol LDL (hipercolesterolemia), triglicéridos (hipertrigliceridemia) o ambos (mixta), y/o niveles bajos de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Jerez Fernandez et al., 2023).

#### *2.2.1 Clasificación*

De acuerdo con su etiología, las dislipidemias se clasifican como dislipidemias primarias o genéticas y secundarias. El origen de las dislipidemias primarias se atribuye en gran medida a factores poligénicos, es decir, que su aparición se debe a la presencia de numerosas variantes genéticas (polimorfismos de un solo nucleótido, SNPs), y en menor medida resultan ser de origen monogénico. Por otra parte, las dislipidemias secundarias se presentan con mucha mayor frecuencia y son causadas por factores ambientales, malos hábitos higiénico-dietéticos o por la presencia de otra enfermedad subyacente, tal como trastornos metabólicos, endocrinos, y enfermedades crónicas del hígado y riñón (Candás Estébanez et al., 2019). La clasificación de las

principales dislipidemias secundarias según su etiología y su perfil lipídico se presenta en la Tabla 1 (Candás Estébanez et al., 2019; de Abajo Olea, 2009).

Una de las causas más comunes de dislipidemias secundarias es la obesidad, la cual está estrechamente vinculada con el síndrome de resistencia a la insulina, especialmente en casos donde el exceso de grasa se acumula en la región visceral o toracoabdominal. Este tipo de dislipidemia se caracteriza generalmente por una hipertrigliceridemia, acompañada de un aumento leve en el colesterol total, pero con una marcada reducción en los niveles de colesterol HDL, lo que a su vez incrementa la relación colesterol total/colesterol HDL (Maíz, 1997). Independientemente del tipo de dislipidemia (DLP) del que se esté hablando, en todos los casos, la fisiopatología de las DLP obedece a deficiencias en los sistemas de transporte, almacenamiento y/o excreción de los lípidos. Por ello, en las líneas subsecuentes se describen brevemente los aspectos principales del metabolismo lipídico.

**Tabla 1**

*Dislipidemias secundarias principales según su etiología y su perfil lipídico*

<b>Alteración lipídica</b>	<b>Perfil lipídico</b>	<b>Causas</b>
Hipertrigliceridemia	Elevación en triglicéridos, con aumento de quilomicrones y VLDL.	Obesidad, DM2, hepatitis, insuficiencia renal, fármacos.
Hipercolesterolemia	Aumento en los niveles plasmáticos de LDL y colesterol total en ayunas (> 200 mg/dL o > 5.2 mmol/L).	Hipotiroidismo, síndrome nefrótico, trasplante renal, fármacos
Hiperlipidemia mixta	Incremento simultáneo de colesterol (> 200 mg/dL) y triglicéridos (> 150 mg/dL).	Síndrome nefrótico, hipotiroidismo, DM2 y obesidad, fármacos.

### 2.2.2 Metabolismo lipídico

Los lípidos (como los triglicéridos, los fosfolípidos, y el colesterol) son esenciales para el organismo debido a su papel en el suministro de energía, la estructuración de las membranas celulares, y su participación en funciones metabólicas específicas. La digestión de los lípidos inicia en el estómago por la acción de lipasas linguales y gástricas y se completa en el intestino delgado con enzimas pancreáticas como la lipasa pancreática, la hidrolasa del éster de colesterol y la fosfolipasa A2, tal como se ilustra en la Figura 1 (Costanzo, 2011). Este proceso descompone los

lípidos en monoglicéridos, ácidos grasos, y lisolecitina, los cuales son absorbidos en el lumen intestinal tras su incorporación en micelas anfipáticas formadas por sales biliares (Hall, 2011).



**Figura 1** Digestión de los lípidos (Constanzo, 2011).

En las células epiteliales intestinales, los productos de digestión lipídica se re-esterifican en el retículo endoplásmico liso, y, junto con apoproteínas sintetizadas en el aparato de Golgi, forman quilomicrones. Estas partículas, compuestas por triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y apoproteína B, ingresan a la linfa y posteriormente son transportadas hacia el conducto torácico, desde donde se vierten al torrente sanguíneo (Costanzo, 2011; Hall, 2011). Una vez en el plasma, los quilomicrones son procesados por la lipoproteína lipasa, enzima encargada de hidrolizar los triglicéridos y fosfolípidos, generando ácidos grasos y glicerol que son almacenados en los adipocitos y células musculares o utilizados como fuente de energía (Hall, 2011).

Cuando se requiere movilizar las reservas de grasa, los triglicéridos almacenados en los adipocitos son hidrolizados en ácidos grasos libres a través de mecanismos regulados por hormonas o por la falta de  $\alpha$ -glicerofosfato, un fenómeno asociado a la insuficiencia de glucosa en los adipocitos. Durante el estado post-absortivo, el hígado emplea los lípidos restantes en el plasma para sintetizar lipoproteínas como VLDL, LDL, IDL y HDL, las cuales son responsables del transporte de lípidos hacia los tejidos periféricos y su retorno al hígado (Hall, 2011).

En la dislipidemia, hay un incremento en la síntesis de triglicéridos y la producción de lipoproteínas VLDL, lo que contribuye a la acumulación de grasa hepática. Este proceso puede estar relacionado con alteraciones en la regulación del metabolismo lipídico y se asocia con un mayor riesgo de enfermedades metabólicas como el hígado graso no alcohólico (Chalasani et al., 2012).

Dentro del metabolismo y homeostasis de los lípidos, es importante mencionar que está altamente regulado por factores de transcripción como los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), los factores de transcripción de la familia de proteínas de unión a elementos reguladores de esterol (SREBP), y el factor nuclear kappa B (NFκB), los cuales coordinan la síntesis, almacenamiento, y degradación de ácidos grasos, colesterol y triglicéridos (Estefes-Duarte et al., 2024). En condiciones fisiológicas, los PPARs regulan la oxidación de ácidos grasos en el hígado y el tejido adiposo, mientras que los SREBP promueven la síntesis de colesterol y triglicéridos. Sin embargo, una activación excesiva de estos factores por dietas hipercalóricas puede derivar en lipogénesis exacerbada y acumulación hepática de grasas, favoreciendo el desarrollo de MASLD y dislipidemia.

### *2.2.3 Fisiopatología*

Los tipos principales de lipoproteínas involucradas en la dislipidemia son las lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), y los quilomicrones. La alteración en la síntesis, transporte, y eliminación de estas lipoproteínas es el principal factor desencadenante de la dislipidemia (Zapata Jaramillo, 2016).

La hipertrigliceridemia se caracteriza por un aumento en los niveles de triglicéridos en sangre, acompañado de un leve incremento en el colesterol total y una disminución significativa en el colesterol HDL. Estos cambios alteran la relación colesterol total/colesterol HDL, lo que incrementa el riesgo cardiovascular. La base fisiopatológica de esta condición radica en una mayor síntesis hepática de triglicéridos debido a un aumento en la disponibilidad de ácidos grasos libres, proceso comúnmente asociado con resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. Como resultado, el hígado secreta una mayor cantidad de partículas de VLDL lo que eleva la concentración plasmática de triglicéridos.

Adicionalmente, la reducción de colesterol HDL se debe a la transferencia de triglicéridos hacia estas lipoproteínas a través de un cambio intravascular de lípidos. Esto acelera su catabolismo por la acción de la lipasa a un ritmo más rápido debido a la lipasa hepática, lo que lleva a una menor cantidad de HDL circulante y, por lo tanto, a un mayor riesgo aterogénico. A su vez, las LDL también se ven afectadas en este proceso, ya que incorporan triglicéridos y son parcialmente metabolizadas por la lipasa hepática, lo que las vuelve más pequeñas, densas y susceptibles a la oxidación. Estas LDL oxidadas presentan una menor afinidad por los receptores apo B, lo que reduce su eliminación y favorece su acumulación en las arterias, promoviendo el desarrollo de

enfermedad cardiovascular (Maíz, 1997). El patrón clásico de dislipidemia en el SM se asocia con la incapacidad de la insulina para inhibir la lipólisis en el tejido adiposo, esta alteración provoca un aumento en la liberación de ácidos grasos libres (AGL) hacia el hígado, lo que estimula la secreción de apolipoproteína B, el principal componente proteico de las lipoproteínas VLDL y LDL. Como consecuencia, la dislipidemia en el SM se caracteriza por niveles elevados de LDL, así como una reducción de HDL (Fonseca et al., 2018). Dentro de los factores secundarios que pueden contribuir al desarrollo de dislipidemia se encuentran el hipotiroidismo, resistencia a la insulina, síndrome nefrótico, obesidad, y consumo excesivo de alcohol, los cuales alteran el metabolismo lipídico y exacerban la dislipidemia (Jerez Fernandez et al., 2023).

El estado inflamatorio crónico asociado a la obesidad y la resistencia a la insulina también desempeña un papel clave en la progresión de la dislipidemia. La presencia de citocinas proinflamatorias, como la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interfieren en el metabolismo de las lipoproteínas. Además, la oxidación de las partículas de LDL produce LDL oxidada (oxLDL), una forma altamente aterogénica que desencadena respuestas inmunitarias y contribuye al desarrollo de aterosclerosis (Lahsen, 2014)

#### *2.2.4 Epidemiología*

La prevalencia de la dislipidemia varía según el tipo, el contexto clínico, región y la población estudiada. A nivel global, se estima que entre el 30 y 50% de los adultos presentan algún tipo de alteración lipídica, dependiendo del país y de los criterios utilizados para su diagnóstico. En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018, reportó que el 30% de la población tuvo resultados anormales en su perfil de lípidos, lo que resulta la importancia de un monitoreo adecuado y estrategias preventivas para reducir el riesgo cardiovascular en la población general (Romero-Martínez et al., 2019).

#### *2.2.5 Diagnóstico*

El diagnóstico de dislipidemias se basa en la evaluación del perfil lipídico, el cual incluye la cuantificación de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Según los criterios del Adult Treatment Panel III (ATP III), los valores de referencia para LDL se clasifican como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2***Valores de referencia de los niveles de colesterol LDL de acuerdo con el ATP III (mg/dL)*

<b>Estado</b>	<b>Valores de referencia</b>
Óptimo	< 100 mg/dL
Cercano a lo óptimo	entre 100 - 129 mg/dL
Limítrofe alto	entre 130 - 159 mg/dL
Alto	entre 160 - 180 mg/dL
Muy alto	cuando es $\geq$ 190 mg/dL

Asimismo, un nivel bajo de HDL se define como <40 mg/dL y los triglicéridos se consideran en nivel alto cuando están >200 mg/dL. La interpretación de estos parámetros es fundamental para la identificación temprana de alteraciones lipídicas y la implementación de estrategias terapéuticas adecuadas.

### *2.2.6 Marcadores de dislipidemia*

Los marcadores de dislipidemia son biomoléculas clave que reflejan el estado del metabolismo lipídico y permiten evaluar el riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

#### *2.2.6.1 Triglicéridos*

La hipertrigliceridemia, es decir, el incremento en los niveles plasmáticos de triglicéridos es un marcador de dislipidemia asociado con el síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. Los triglicéridos se transportan en lipoproteínas como VLDL y quilomicrones, y su alto nivel en sangre puede reflejar disfunciones metabólicas importantes (Miguel-Soca, 2009).

#### *2.2.6.2 Colesterol*

El colesterol total representa la suma de todas las fracciones de colesterol presentes en el organismo. Aunque es esencial para diversas funciones celulares, niveles altos de colesterol total son un marcador de riesgo para enfermedades cardiovasculares, ya que indican una acumulación de lípidos que pueden predisponer a la formación de placas en las arterias (Jerez Fernandez et al., 2023).

La medición de triglicéridos y colesterol en sangre es un criterio fundamental en el diagnóstico y monitoreo de la dislipidemia; así, estos parámetros se cuantifican mediante métodos enzimáticos espectrofotométricos, los cuales permiten determinar con precisión las concentraciones lipídicas

en el suero. La evaluación regular de estos marcadores es crucial para la detección temprana de dislipidemia y para la implementación de intervenciones terapéuticas adecuadas.

### 2.2.6.3 Tiloxapol - Inductor de dislipidemia

El tiloxapol (TI) es un polímero líquido con propiedades surfactantes que ha sido ampliamente estudiado por sus aplicaciones biomédicas en modelos de aterogenia hiperlipidémica y como un profiláctico contra endotoxinas debido a su capacidad de alterar el metabolismo lipídico. Se ha demostrado que el TI induce dislipidemia al modificar la estructura y función de las lipoproteínas, aumentando la síntesis de colesterol, haciéndolas refractivas a la acción de las enzimas lipolíticas, retardando su remoción en la sangre y tejidos. Su mecanismo de acción incluye la inhibición de la lipoproteína lipasa (LPL) y la activación de la hidroximetilglutaril – Coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), enzima clave en la síntesis intracelular de colesterol hepático (Avendaño Ayala, 2010). Además, varios estudios han demostrado que el TI puede presentar efectos duales dependiendo de la dosis y el tiempo de exposición. Con concentraciones bajas (25-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y tiempos cortos de incubación (1 o 2 horas), se ha reportado que posee propiedades antioxidantes; sin embargo, a dosis elevadas (250 y 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y exposiciones prolongadas (4 horas), se ha observado que puede generar citotoxicidad lo que sugiere que su efecto sobre el metabolismo lipídico puede estar influenciado por la concentración administrada (Jung-hua et al., 2008).

### 2.2.7 Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico de la dislipidemia incluye el uso de estatinas, que inhiben la síntesis de colesterol en el hígado, y fibratos, que reducen los niveles de triglicéridos. Otros medicamentos como los inhibidores de proconvertasa subtilisina-kexina 9 (PCSK9), una proteína que regula la cantidad de receptores de LDL, también han demostrado ser efectivos en la reducción de los niveles de colesterol LDL (Jerez Fernandez et al., 2023).

### 2.2.8 Tratamiento no farmacológico

El manejo de la dislipidemia con compuestos bioactivos es una estrategia clave dentro de los enfoques no farmacológicos para mejorar el perfil lipídico y reducir el riesgo cardiovascular. Los compuestos bioactivos, como los flavonoides, ácidos grasos omega-3, fitoesteroles, y fibra soluble, han mostrado efectos beneficiosos en la modulación de los lípidos plasmáticos (Houston et al., 2009).

## **2.3 Enfermedad hepática esteatósica asociada al metabolismo (MASLD) y esteatohepatitis metabólica (MASH)**

La esteatohepatitis metabólica (MASH), precedida de la enfermedad hepática esteatósica asociada a la disfunción metabólica (MASLD), son dos enfermedades estrechamente relacionadas que suelen aparecer secuencialmente como manifestaciones hepáticas del SM. Sin embargo, a fin de comprender mejor el origen y las implicaciones patológicas de estos padecimientos, primeramente, se ofrece una breve descripción del hígado y sus órganos accesorios, así como su papel en el metabolismo de los lípidos y su relación con el metabolismo de los carbohidratos.

### *2.3.1 Hígado y sus funciones*

#### *2.3.1.1 Anatomía y fisiopatología hepática*

El hígado es el órgano metabólicamente más activo del cuerpo y desempeña funciones clave en la regulación del metabolismo de lípidos, carbohidratos, y proteínas. Entre sus funciones principales se encuentran la formación de bilis, la síntesis de factores de coagulación, y servir como reservorio de vitaminas y hierro. Está dividido en lóbulos y alberga millones de hepatocitos, las células encargadas de las principales funciones hepáticas (Hall, 2011).

#### *2.3.1.2 Papel del hígado en el metabolismo de los carbohidratos*

Los carbohidratos son biomoléculas fundamentales para el metabolismo energético y estructural del organismo. En un adulto, el cuerpo almacena aproximadamente 440 g de carbohidratos distribuidos principalmente en tres depósitos: cerca de 325 g de glucógeno en los músculos, entre 90 y 100 g en el hígado y alrededor de 15 a 20 g en la sangre en forma de glucosa.

Además de su función como fuente de energía, los carbohidratos participan en la composición de ácidos nucleicos, glucoproteínas y glucolípidos, y pueden transformarse en aminoácidos o grasas según las necesidades metabólicas del organismo (Saladin, 2013).

Hall (2011) describe que el metabolismo de los carbohidratos incluye dos procesos centrales regulados por el hígado: la gluconeogénesis y la glucogenólisis. La gluconeogénesis permite el almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno, principalmente en células hepáticas y musculares. El glucógeno constituye entre el 5 y el 8% del peso celular en el hígado y entre el 1 y el 3% en las células musculares. Por el contrario, la glucogenólisis descompone el glucógeno almacenado en glucosa para su utilización en procesos metabólicos y la producción de energía. En este contexto, el hígado desempeña un papel central como depósito de glucógeno, además de

participar en la conversión de galactosa y fructuosa en glucosa, regular la gluconeogénesis y glucogenólisis, y formar compuestos químicos a partir de los intermediarios del metabolismo de carbohidratos.

En la digestión de los carbohidratos, los productos finales son glucosa, fructuosa y galactosa. Estas moléculas son transportadas al hígado, donde fructuosa y galactosa se convierten en glucosa, que es liberada al torrente sanguíneo para ser utilizada por las células tisulares. Según Hall (2011), la glucosa se transporta mediante dos mecanismos: en el epitelio de los túbulos renales y la membrana gastrointestinal, se utiliza un co-transporte activo de sodio-glucosa; mientras que, en la mayoría de las células, el transporte ocurre por difusión facilitada, gracias a proteínas específicas que mueven la glucosa a través de las membranas.

La secreción de insulina por el páncreas es un factor clave en este proceso, ya que regula la velocidad de transporte de glucosa hacia las células. Sin insulina, la cantidad de glucosa que ingresa a las células es insuficiente para sostener el metabolismo energético; por lo tanto, la insulina no solo desempeña un papel fundamental en la homeostasis glucémica, sino que también asegura que la glucosa esté disponible para las células en momentos de alta demanda metabólica (Hall, 2011).

### 2.3.1.3 Sistema biliar

Keith Moore et al. (2013) señalan que los conductos biliares desempeñan una función esencial en el transporte de bilis desde el hígado hacia el duodeno. La bilis es producida de manera continua por los hepatocitos, que la secretan en los conductillos biliares formados entre estas células. Estos conductillos drenan hacia los conductos biliares interlobulillares y, posteriormente, hacia los conductos biliares colectores más grandes de la tríada portal intrahepática. Finalmente, estos conductos confluyen para formar los conductos hepáticos derecho e izquierdo, que se unen para crear el conducto hepático común. Este último recibe la conexión del conducto cístico proveniente de la vesícula biliar, formando así el conducto colédoco, encargado de transportar la bilis hacia el duodeno.

La bilis tiene un papel clave en la digestión de las grasas. Se almacena y concentra en la vesícula biliar, que la libera de manera intermitente al detectar la presencia de grasa en el duodeno. Su función principal es emulsificar los lípidos, lo que facilita su absorción en las porciones distales del intestino delgado. Este sistema de transporte y acción de la bilis es fundamental para el

metabolismo de las grasas y para la adecuada digestión y absorción de nutrientes (Keith Moore et al., 2013).

#### 2.3.1.4 Vesícula biliar

La vesícula biliar, con una longitud de 7 a 10 cm y una capacidad de hasta 50 mL de bilis, se localiza en la cara visceral del hígado. Tiene forma de pera y está parcialmente rodeada por peritoneo, que envuelve completamente su fondo y conecta su cuerpo y cuello al hígado mediante tejido conectivo proveniente de la cápsula fibrosa hepática (Keith Moore et al., 2013).

La vesícula biliar desempeña un papel clave en la regulación de la bilis; absorbe agua y electrolitos de la bilis, logrando concentrarla entre 5 y 20 veces. Mientras tanto, el hígado produce de 500 a 1,000 mL de bilis diariamente, lo que asegura un suministro constante para los procesos digestivos que requieren la emulsificación y absorción de grasas (Saladín, 2013).

#### 2.3.1.5 Bilis

La vesícula biliar recibe, almacena y concentra la bilis producida por el hígado, liberándola durante la digestión (Drake et al., 2010). Este líquido verde está compuesto por minerales, colesterol, grasas neutras, fosfolípidos, pigmentos, y ácidos biliares, siendo la bilirrubina su principal pigmento, derivado de la descomposición de la hemoglobina. En el intestino grueso, las bacterias convierten la bilirrubina en urobilinógeno, responsable del color marrón de las heces. En ausencia de bilis, las heces son gris blancuzco y contienen grasa no digerida, conocidas como heces acólicas. Alrededor del 20% de la bilis no se reabsorbe y se elimina en las heces, siendo esta la principal vía para la eliminación del exceso de colesterol (Saladín, 2013).

#### 2.3.1.6 Ácidos biliares

Los ácidos biliares son esteroides sintetizados a partir del colesterol en los hepatocitos, tras su producción, son transportados a la bilis, donde se almacenan y concentran en la vesícula biliar para posteriormente ser liberados al lumen del intestino junto con la lecitina, un fosfolípido; su función principal es facilitar la digestión y absorción de los lípidos provenientes de la dieta, actuando como agentes emulsificantes que permiten la formación de micelas necesarias para el transporte y absorción de grasas. Posteriormente, los ácidos biliares son reabsorbidos en el íleon terminal y recirculan hacia el hígado a través de la circulación enterohepática. Este mecanismo eficiente asegura que los ácidos biliares se reutilicen varias veces durante el proceso digestivo, reduciendo la necesidad de síntesis continua y contribuyendo a la homeostasis del colesterol (Saladín, 2013).

### 2.3.2 *Esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH)*

#### 2.3.2.1 Generalidades

Anteriormente conocida como enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés *non-alcoholic fatty liver disease*), la enfermedad de hígado graso asociado a disfunción metabólica (MASLD, por sus siglas en inglés *metabolic-associated steatotic liver disease*) es una enfermedad que se caracteriza por la acumulación de grasa hepática equivalente a 5% o más de la masa total del hígado. El espectro de esta enfermedad inicialmente integra únicamente la presencia de esteatosis hepática (grasa hepática); sin embargo, actualmente se sabe que la presencia crónica de esta enfermedad, es decir, de grasa hepática, induce la inflamación progresiva del hígado (esteatohepatitis) (Saavedra-Chacón et al., 2021). De este modo, la esteatohepatitis originada por la presencia crónica de MASLD se denomina esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH, por sus siglas en inglés *metabolic-associated steatohepatitis*), y es considerada una etapa avanzada de MASLD, que se caracteriza por la acumulación de grasa en el hígado, la presencia de inflamación hepática, y daño importante a los hepatocitos con presencia posible de fibrosis. En comparación con MASLD, MASH tiene un mayor riesgo de progresar a fibrosis hepática, cirrosis y carcinoma hepatocelular (Estes et al., 2018).

#### 2.3.2.2 Fisiopatología

Diversas investigaciones en modelos animales han sugerido que la progresión de MASLD) hacia MASH ocurre en dos fases principales. En la primera, se produce la acumulación excesiva de grasa en el hígado, lo que contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina; en la segunda fase, ocurren alteraciones celulares y moleculares que incluyen estrés oxidativo, oxidación de ácidos grasos, y activación de procesos inflamatorios mediados por citocinas.

Dentro de estos mecanismos, la colestasis juega un papel importante en la disfunción hepática. La colestasis se define como una disminución o interrupción del flujo biliar, lo que impide total o parcialmente la llegada de bilis al duodeno y provoca la acumulación de ácidos biliares, bilirrubina y colesterol en el hígado y la circulación sanguínea. Como consecuencia, se generan alteraciones bioquímicas y clínicas, tales como ictericia, coluria, hipocolia y prurito, además de un aumento en las enzimas hepáticas como fosfatasa alcalina (FAL) y gammaglutamil-transpeptidasa (GGT) (del Valle Díaz et al., 2017).

Entre los factores clave involucrados en esta progresión se encuentran la hiperinsulinemia, la peroxidación lipídica, la acumulación de hierro hepático, las modificaciones en la matriz extracelular, y la alteración del sistema inmunitario (Pouwels et al., 2022).

#### 2.3.2.3 Epidemiología

Actualmente, MASLD se ha convertido en la causa principal de enfermedad hepática crónica en los países occidentales, con una prevalencia cercana al 24% en la población general. Dentro de este grupo, se calcula que el 59.9 % desarrolla MASH (Younossi et al., 2015). La enfermedad está estrechamente relacionada con el síndrome metabólico, lo que aumenta su incidencia en personas con obesidad, DM2, e hipertensión. Aproximadamente entre el 3% y 5% de la población general padece MASH, y de estos casos cerca del 25% progresará a cirrosis o carcinoma hepatocelular, lo que resalta la importancia de su detección y manejo oportuno (Guerra-Ruiz et al., 2021).

#### 2.3.2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH) incluye estudios histológicos, técnicas de imagen y la evaluación de marcadores séricos. La biopsia hepática sigue siendo el estándar de referencia para su confirmación, ya que permite identificar características histológicas como esteatosis, inflamación lobular, y balonización celular (Buzzetti et al., 2016). Los estudios de imagen, como la elastografía y la resonancia magnética, se han convertido en herramientas valiosas para evaluar la fibrosis hepática y evitar procedimientos invasivos. Además, los marcadores séricos como alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) suelen estar elevados en pacientes con daño hepático significativo. De acuerdo con (Eslam et al., 2020) el diagnóstico definitivo de MASH debe acompañarse de al menos un criterio metabólico, como obesidad, DM2, o evidencia de disfunción metabólica, lo que refuerza su estrecha relación con el SM.

#### 2.3.2.5 Marcadores de funcionalidad y daño hepático

##### Marcadores de colestasis

Fosfatasa alcalina (FA). La fosfatasa alcalina es una enzima hidrolasa que se encuentra en varios tejidos, principalmente en el hígado, hueso, riñón, e intestino delgado (Gaw et al., 2015) Su función principal es la eliminación de grupos fosfato de diversas moléculas, facilitando su metabolismo. En condiciones normales, la FA se secreta en la bilis, pero cuando hay obstrucción biliar, colestasis, o daño hepático, su actividad aumenta en el suero, convirtiéndola en un marcador

confiable de colestasis (Sleisenger y Fordtran, 2017). La actividad de la FA puede detectarse en orina, bilis, linfa, y suero, asimismo su elevación se observa en cirrosis o en lesiones que ocupan espacio, como los tumores. Además, puede incrementarse en situaciones no relacionadas con daño hepático, como el embarazo (primer trimestre), ciertos tipos de cáncer, y durante la niñez, pubertad y vejez (Mendez-Sanchez et al., 2001; Méndez-Sánchez y Uribe, 2003).

*Gamma Glutamyl-Transpeptidasa (GGTP)*. Esta enzima cataliza la transferencia de grupos gamma-glutamil desde péptidos a otros péptidos o aminoácidos; de hecho, es una enzima ampliamente distribuida en el organismo, pero con mayores concentraciones en hígado y túbulos renales (Gaw et al., 2015). Un aumento significativo en los niveles de GGTP es el mejor indicador de colestasis, y su incremento generalmente indica un daño en el sistema biliar o en el parénquima hepático (Mendez-Sanchez et al., 2001).

*Bilirrubina directa (BD)*. La bilirrubina es el producto del catabolismo del grupo hemo de la hemoglobina. El grupo hemo de la hemoglobina se convierte en bilirrubina, la cual se clasifica en bilirrubina directa (BD) y bilirrubina indirecta (BI). La BD, o bilirrubina conjugada, es hidrosoluble debido a que se une al ácido glucurónico en el hígado y se excreta en la bilis, mientras que la BI o no conjugada, es insoluble al agua y se transporta unida a la albúmina (Posada-Ayala, 2015). Las concentraciones de bilirrubina total (BT) incluye ambas fracciones. Un aumento en los niveles de BT y BD puede reflejar una producción excesiva de bilirrubina que supera la capacidad del hígado para procesarla, o daño en los hepatocitos que interfiere con su conjugación. Esto puede indicar toxicidad hepática o colestasis, y suele presentarse por obstrucción biliar, ya sea por cálculos o atresia biliares (Tintinalli, 2013)

Marcadores de daño

*Alanina aminotransferasa (ALT)*. La ALT es una enzima citosólica predominante en los hepatocitos desempeña un papel crucial en el metabolismo de aminoácidos al catalizar la transferencia de grupos  $\alpha$ -amino de la alanina hacia el ácido  $\alpha$ -oxoglutarico. Cuando se produce daño hepático, como en casos de inflamación o destrucción celular, la permeabilidad de la membrana de los hepatocitos aumenta, lo que permite la liberación de ALT al plasma. Esto eleva las concentraciones de ALT en sangre, siendo un marcador sensible de necrosis hepática (Sleisenger y Fordtran, 2017). Su incremento se asocia frecuentemente con lesión hepatocelular aguda causada por hepatitis, sustancias tóxicas, isquemia y falla cardíaca aguda (Gaw et al., 2015).

Glucógeno. El glucógeno es la principal reserva de glucosa en el hígado, esta reserva de glucógeno es fundamental para mantener estables los niveles de glucosa en sangre, lo que es crucial para órganos dependientes de glucosa como la retina, médula espinal y cerebro. En condiciones normales, los depósitos de glucógeno hepático pueden durar entre 12 y 24 horas durante el ayuno, tanto en humanos como en ratas (Devlin, 2004). Este almacenamiento ocurre en gránulos citoplasmáticos que contienen enzimas que facilitan tanto la síntesis como la degradación del glucógeno (Voet y Voet, 2006). Trastornos en el almacenamiento de glucógeno en el hígado pueden llevar a hepatomegalia e hipoglucemia. Sustancias hepatotóxicas como el tetracloruro de carbono (TC) pueden afectar la integridad de los hepatocitos, elevando el colesterol y el monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) lo que disminuye las reservas de glucógeno hepático (Muriel, 1998).

Marcadores de estrés oxidativo

Lipoperoxidación (LP). La lipoperoxidación es un proceso donde se forman y propagan diferentes especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales oxidan los lípidos insaturados en las membranas celulares, provocando la degradación de estos lípidos en compuestos como el malondialdehído (MDA). Esta degradación altera la estructura y permeabilidad de la membrana, afectando la función de sus receptores y ocasionando daño o destrucción de los hepatocitos (Buege y Aust, 1978; Jiménez-Rosales et al., 2010).

Este proceso es impulsado por la generación de radicales libres como el superóxido ( $O_2$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), los cuales pueden ser generados por factores como el consumo de alcohol y el metabolismo de xenobióticos, entre ellos el tetracloruro de carbono (TC). El TC es biotransformado por acción del citocromo CYP2E1, generando el radical triclorocarbono o triclorometilo ( $TC_3$ ), lo que contribuye a la propagación de la lipoperoxidación y al deterioro celular (Favari-Perozzi et al., 2007). Para evaluar el daño oxidativo generado por la lipoperoxidación, se emplea la cuantificación de MDA (un producto catabólico de la lipoperoxidación) como un marcador de estrés oxidativo. Una técnica ampliamente utilizada para esta medición es el método de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS), que permite estimar la extensión del daño oxidativo en las membranas celulares (Jiménez-Rosales et al., 2010).

Catalasa (CAT). La catalasa es una enzima antioxidante fundamental en el sistema de defensa del organismo, con especial abundancia en el hígado y los riñones. Su función principal es la

degradación del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), un subproducto tóxico del metabolismo celular, convirtiéndolo en agua y oxígeno. Esta actividad ocurre principalmente en las mitocondrias y peroxisomas, donde la CAT neutraliza los efectos nocivos de las especies reactivas de oxígeno (ERO), protegiendo así a las células del daño oxidativo (Céspedes Miranda et al., 1996).

El papel de la catalasa es crucial para mantener el equilibrio entre los procesos oxidantes y antioxidantes en las células. Sin embargo, en condiciones de daño hepático, su actividad puede disminuir, lo que conlleva a una acumulación de  $H_2O_2$  y a un aumento en el estrés oxidativo. Este desbalance puede intensificar el deterioro celular y agravar el daño de los tejidos hepáticos, favoreciendo la progresión de enfermedades hepáticas relacionadas con el estrés oxidativo (Galicia-Moreno et al., 2013).

#### 2.3.2.6 Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico de la MASH se centra en mejorar la sensibilidad a la insulina, reducir la inflamación hepática, y mitigar el estrés oxidativo. Entre los fármacos más recomendados son la pioglitazona y la vitamina E, aunque su uso conlleva ciertas consideraciones.

La pioglitazona mejora la sensibilidad a la insulina y reduce la inflamación hepática. En contraste, su uso se ha asociado con efectos secundarios como el aumento de peso y, en algunos estudios, un mayor riesgo de fracturas y cáncer de vejiga. Con respecto a la vitamina E, es un antioxidante que ha mostrado eficacia en mejorar la esteatosis y la inflamación en pacientes no diabéticos; no obstante, su administración prolongada ha sido relacionada con un aumento en el riesgo de accidentes cerebrovasculares y cáncer de próstata en estudios observacionales (Pouwels et al., 2022). Otros tratamientos en estudio incluyen los agonistas del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), como el liraglutide, que han mostrado potencial para promover la pérdida de peso y mejorar la esteatosis hepática; sin embargo, sus efectos pueden depender directamente de la reducción de peso inducida, lo que implica que su eficacia varía entre individuos y que su uso no está exento de riesgos (Moctezuma-Velázquez, 2018).

#### 2.3.2.7 Tratamiento no farmacológico

El manejo de la esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH) no se limita únicamente a tratamientos farmacológicos, sino que también incluye estrategias no farmacológicas que han demostrado ser eficaces en la mejora de la función hepática y el metabolismo en general. Las intervenciones no farmacológicas incluyen modificaciones en el estilo de vida, la adopción de la

dieta mediterránea y la práctica regular de ejercicio físico. Dichas estrategias han sido ampliamente recomendadas para mejorar la función hepática y parámetros metabólicos como la glucosa y lípidos. Se ha demostrado que una reducción del peso corporal en pacientes con MASH puede mejorar la esteatosis, la inflamación, y la fibrosis hepática (Buzzetti et al., 2016; Younossi et al., 2015).

Además de la dieta y el ejercicio, ciertos compuestos naturales han sido estudiados por sus efectos beneficiosos en el metabolismo hepático. La planta medicinal *Cecropia obtusifolia* ha sido identificada como una planta con propiedades hipolipidemiantes y hepatoprotectoras. Sus compuestos bioactivos, como flavonoides y terpenos, pueden contribuir a la regulación de lípidos y la protección hepática, posicionándola como una alternativa prometedora en el manejo de trastornos metabólicos.

## **2.4 Guarumbo (*Cecropia obtusifolia*)**

### *2.4.1 Descripción etnobotánica*

*Cecropia obtusifolia* (CROB), conocida como "guarumbo", es una especie de la familia *Urticaceae* que crece en regiones tropicales y subtropicales de América Latina (Figura 2). Es un árbol de rápido crecimiento, característico de áreas tropicales y subtropicales, especialmente en regiones con alta humedad, y ha sido valorada durante siglos por sus propiedades medicinales en culturas diversas, especialmente en México y América Central (Toledo et al., 2008)



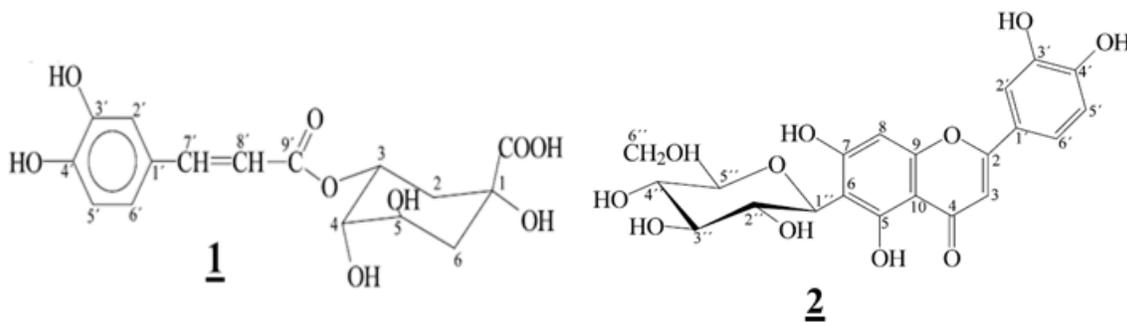
**Figura 2** *Cecropia obtusifolia* (González-Villarreal y Carvajal, 2005)

### 2.4.2 Usos tradicionales

Desde la medicina tradicional, CROB se ha utilizado en el tratamiento de enfermedades diversas incluyendo problemas respiratorios, diabetes, hipertensión, problemas hepáticos, y trastornos inflamatorios (Andrade-Cetto y Wiedenfeld, 2001). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2017 documenta su uso en la preparación de infusiones de CROB para tratar afecciones nerviosas, cardíacas, enfermedades hepáticas, y pulmonares. Sus hojas y corteza han sido identificadas con propiedades diuréticas, antiinflamatorias, y antidiabéticas, lo que la convierte en una planta de gran interés etnofarmacológico (Cadena-Zamudio et al., 2019).

### 2.4.3 Compuestos bioactivos

Los estudios fitoquímicos han revelado que *C. Obtusifolia* contiene una gran diversidad de compuestos bioactivos principalmente polifenoles y flavonoides. Entre ellos destacan el ácido clorogénico, isoorientina, y quercetina, Cuya estructura química se muestra en la Figura 3.



**Figura 3** Estructura del ácido clorogénico (1) e isoorientina (2) (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005)

Además, la planta sintetiza otros compuestos de origen fenólico como orientina, vitexina, isovitexina, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido quínico, quercetina, apigenina, luteolina, tomentósido, isómeros triterpenoides de saponina-O-hexósido en sus hojas (Cadena-Zamudio et al., 2020). Estos compuestos son ampliamente conocidos por su potencial antioxidante, antiinflamatorio, y hepatoprotector.

### 2.4.4 Efectos farmacológicos

Dentro del género *Cecropia*, se han identificado especies con propiedades medicinales validadas tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* (Tabla 3). En particular, los flavonoides y terpenos presentes en el extracto de CROB han demostrado efectos antioxidantes, antiinflamatorios, y hepatoprotectores, lo que sugiere su potencial para el tratamiento de enfermedades metabólicas.

**Tabla 3**

*Principales especies del género Cecropia utilizadas en la medicina tradicional por sus propiedades terapéuticas*

<b>Especie/ Nombre común</b>	<b>Forma de uso</b>	<b>Padecimiento o propiedad terapéutica</b>	<b>Referencia</b>
<i>Cecropia obtusifolia</i> /Guarumbo, hormiguillo, picón, chancarro	Infusión. Extracto butanólico	Diabetes, tifoidea, antiinflamatorio, analgésico, problemas renales y hemorragia nasal	(Revilla-Monsalve et al., 2007)
<i>Cecropia peltata</i> /X cooch, guarumbo	Infusión. Extracto butanólico	Diabetes	(Nicasio et al., 2005)
<i>Cecropia pachystachya</i> /ambay, ambaiba	Infusión. Extracto metanólico	Tos, asma, es usada como cardiotónico y diurético. Diabetes	(Consolini y Migliori, 2005)

Estos compuestos contribuyen a la neutralización de radicales libres, reduciendo el estrés oxidativo y protegiendo a los hepatocitos del daño; además, su actividad antiinflamatoria podría desempeñar un papel relevante en la modulación de la respuesta inmunitaria y la prevención del daño hepático crónico.

#### 2.4.5 Modulación de vías de señalización

Los compuestos bioactivos de *Cecropia obtusifolia* tienen la capacidad de modular diversas vías de señalización celular involucradas en el daño hepático y la dislipidemia. Entre ellas destacan factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), (Nrf2) y las cinasas activadas por mitógenos (MAPK) las cuales regulan la inflamación y el estrés oxidativo.

Del mismo modo, los flavonoides, compuestos bioactivos presentes en *C. obtusifolia*, interactúan con los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), esenciales para el metabolismo lipídico y la inflamación hepática. La activación de estos receptores favorece la regulación de triglicéridos, promueve su degradación y reduce la acumulación de lípidos en el hígado, contribuyendo a la disminución de la inflamación hepática (Chen et al., 2018).

En conjunto, estos mecanismos respaldan la acción de *C. obtusifolia* como un modulador del estrés oxidativo y la inflamación, ofreciendo un potencial terapéutico en el manejo de dislipidemia y daño hepático.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Las DLP y el daño hepático agudo son padecimientos asociados al SM y representan factores de riesgo significativos para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y hepáticas graves. La DLP se caracteriza por alteraciones en los niveles de lípidos en sangre, incluyendo colesterol COL, TG, y lipoproteínas, lo que favorece la aterosclerosis y otras complicaciones metabólicas. Por otro lado, la MAFLD implica la acumulación de grasa hepática lo cual puede evolucionar hacia MASH, una condición caracterizada por inflamación celular, estrés oxidativo, y fibrosis lo que incrementa el riesgo de cirrosis y carcinoma hepatocelular.

A pesar de los avances en la comprensión de la fisiopatología de la MASH y las DLP, los tratamientos farmacológicos actuales son limitados y a menudo ineficaces, por ello, existe una creciente necesidad de explorar alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales con potencial hepatoprotector e hipolipidémico, que puedan modular las vías metabólicas.

En este contexto, *Cecropia obtusifolia* (CROB), una planta ampliamente utilizada en la medicina tradicional mexicana ha demostrado poseer propiedades que podrían ser beneficiosas para el manejo de trastornos metabólicos. No obstante, la evidencia científica que respalda su eficacia en la dislipidemia y el daño hepático agudo es aún insuficiente, especialmente en modelos experimentales específicos.

Este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de CROB (E-Co) en un modelo experimental de dislipidemia y daño hepático agudo en ratas. Se busca determinar si este extracto puede reducir los niveles de lípidos en sangre y proteger el hígado del daño inducido, contribuyendo así a una mejor comprensión de su potencial terapéutico para el tratamiento del síndrome metabólico.

La investigación presente aportará evidencia científica sobre el uso de CROB como un posible tratamiento complementario para la DLP y la MASH, proporcionando una base para futuras investigaciones que evalúen su aplicación en humanos. De confirmarse sus beneficios, esta planta podría representar una alternativa terapéutica para reducir la progresión del daño hepático y mejorar la calidad de vida de los pacientes con síndrome metabólico.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto farmacológico del extracto de acetato de etilo de las hojas de *Cecropia obtusifolia* en modelos agudos de dislipidemia y daño hepático en ratas Wistar para validar sus usos como agente hipolipidemiante y hepatoprotector.

### 4.2 Objetivos específicos

- Obtener el extracto de acetato de etilo de las hojas de *Cecropia obtusifolia* en cantidad y calidad suficiente por medio de maceración para utilizarlo en la evaluación de su efecto en modelos de dislipidemia y daño hepático agudo.
- Inducir la dislipidemia y el daño hepático agudo a los grupos experimentales, mediante la administración de tiloxapol y/o tetracloruro de carbono (TC) para crear un modelo experimental en el que se evaluará el efecto del extracto.
- Evaluar el efecto hipolipidemiante y hepatoprotector del extracto en el modelo de daño hepático y dislipidemia mediante la medición de marcadores bioquímicos en plasma e hígado y un análisis histológico, con el fin de validar su potencial uso terapéutico en el tratamiento de estos aspectos del SM.

## **5. HIPÓTESIS**

El extracto de acetato de etilo de las hojas de *Cecropia obtusifolia* tiene efectos hipolipemiantes (reducción de triglicéridos y colesterol) y hepatoprotectores (reducción de ALT, AST y lipoperoxidación) en ratas con daño hepático agudo inducido experimentalmente por tiloxapol y tetracloruro de carbono.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Obtención del extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* (E-Co)

Las hojas de la planta de *Cecropia obtusifolia* se recolectaron de Tenango de Doria, Hidalgo, México (20°20'17" N, 98°13'38" W. 1654 altitud). Se depositó un ejemplar de respaldo en el Herbario del Área Académica de Biología de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (HGOM). Posteriormente, las hojas de *C. obtusifolia* se dejaron secar y se procesaron en un molino manual, para rellenar cartuchos de celulosa los cuales fueron extraídos con acetato de etilo por medio de Soxhlet, durante 9 horas. El extracto (E-Co) fue concentrado en un rotavapor para así obtener el extracto puro a masa constante.

### 6.2 Pruebas químicas *in vitro* del E-Co

#### 6.2.1 Determinación de la capacidad antioxidante

Los compuestos fenólicos o polifenoles son sustancias que contienen un anillo aromático, con uno o más hidroxilos; como antioxidantes, estos compuestos ayudan a proteger las células contra el daño oxidativo.

#### 6.2.2 Determinación de compuestos fenólicos totales

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin-Ciocalteu (Aaby et al., 2005; Singleton y Rossi, 1965) es usado comúnmente para determinar y cuantificar fenoles totales. Se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes (capacidad reductora). El reactante de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reacciona con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngsticos. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngsticos originando óxidos, cromógenos de color azul, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ) siendo este color proporcional al número de grupos hidroxilo de la molécula (Avella Gutiérrez et al., 2008).

La mezcla de reacción se preparó con 100  $\mu$ L de cada muestra, 500  $\mu$ L del reactante de Folin-Ciocalteu al 10% y 400  $\mu$ L de bicarbonato de sodio al 7.5% y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia del color azul desarrollado se midió a 765 nm en un espectrofotómetro de microplacas EPOCH de doble haz UV-Vis. Se extrapolaron los valores obtenidos de cada extracto en la curva de calibración de ácido gálico a fin de expresar los resultados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de extracto.

### 6.2.3 Actividad inhibidora del ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

Este método se basa en la capacidad para atrapar radicales presentes en el medio. El ABTS se convierte en el catión radical azul ABTS<sup>•+</sup> por la adición de persulfato de potasio. Cuando el radical catión ABTS<sup>•+</sup> reacciona con antioxidantes como fenoles, tioles y vitamina C, se convierte de nuevo a su forma neutra incolora, por lo tanto, se evalúa la capacidad antioxidante de la muestra en función de la habilidad de disminuir la concentración del radical (Pérez-Nájera et al., 2013). A un volumen de 980  $\mu\text{L}$  de ABTS<sup>•+</sup> previamente ajustado con solución de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  hasta obtener una absorbancia a 734 nm de 0.7 +/- 0.02, se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra, la mezcla se dejó incubar 30 min a temperatura ambiente y posteriormente se monitoreo el cambio de coloración por espectrofotometría (Re et al., 1999). Los valores se extrapolaron en una curva de calibración con vitamina C y se expresaron como mg equivalentes de vitamina C (EVC)/100 g de extracto.

### 6.2.4 Determinación de la inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>)

Este método es comúnmente usado para medir la capacidad antioxidante de una sustancia, se basa en la estabilidad del radical 1,1-fenil-2-picrihidrazil (DPPH<sup>•</sup>) la cual se atribuye a una deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta. Cuando una disolución de DPPH<sup>•</sup> entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical, se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la pérdida de color (Avella Gutiérrez et al., 2008).

Esta determinación se llevó a cabo por el método desarrollado por Brand-Williams et al. (1995). Como se mencionó anteriormente, se basa en la reducción del radical estable DPPH<sup>•</sup> al reaccionar con un antioxidante que puede donar hidrógenos, proceso que se manifiesta con un cambio en la coloración (de violeta intenso a amarillo claro). Se mezclaron 200  $\mu\text{L}$  de muestra y 1 mL de DPPH<sup>•</sup> al 7.5%, se dejó incubar durante 1 hora a temperatura ambiente. Los cambios en la coloración fueron medidos a 517 nm en un espectrofotómetro de luz UV-Vis EPOCH. Se construyó una curva de calibración con trolox para extrapolar los valores obtenidos de cada extracto que se expresaron como mg equivalentes de trolox (ET)/100 g de extracto.

### 6.2.5 Determinación de la capacidad reductora por el método FRAP

El ensayo FRAP (de las siglas en inglés “*ferric ion reducing antioxidant power*”) se realizó de acuerdo con el método de Brand-Williams et al. (1995), con algunas modificaciones. El método FRAP se basa en la formación de un complejo de color (tripiridiltriazina-ferroso) por la reducción

del ion férrico a ferroso a pH bajo. Las soluciones “stock” que se utilizaron fueron: amortiguador de acetato 300 mM (3.1 g  $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$  y 16 mL  $C_2H_4O_2$ ) a pH 3.6, TPTZ (2, 4, 6- tripiridil-s-triazina) 10 mM, solución de HCl 40 mM y solución de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  mM. Se preparó una solución mezclando 25 mL de amortiguador de acetato, 2.5 mL de solución TPTZ y 2.5 mL de solución  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  y se calentó a 37 °C antes de su uso. 0.15 mL de los extractos se pusieron a reaccionar con 2.85 mL de la solución FRAP durante 30 minutos en la oscuridad. Se tomaron lecturas a 593 nm comparando en una curva de calibración con  $FeSO_4$ . Los resultados se expresaron en mg equivalentes  $Fe^{2+}$   $\mu$ mol/100 g de extracto.

### **6.3 Evaluación farmacológica**

#### *6.3.1 Grupos experimentales*

Se utilizaron 72 ratas macho Wistar con una masa aproximada de 200-250 g. Los animales se mantuvieron en cajas plásticas a una temperatura constante de 21°C, bajo ciclos de luz/oscuridad de 12 h, con libre acceso a agua purificada y alimento (dieta estándar Purina Chow). Las ratas recibieron un trato humanitario, de acuerdo con los lineamientos institucionales y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Care and Use of Laboratory Animals, National Institute of Health, 1985). Se formaron 12 grupos (n=6); descritos en la Tabla 4 y a continuación:

*Grupo control de controles (VE+ VTI + VTC)*. Este grupo recibió únicamente aceite de oliva (VE) como vehículo del extracto, solución salina isotónica al 0.9% como vehículo del tiloxapol (VTI), y aceite mineral como vehículo del TC (VTC), sin exposición a agentes inductores de daño hepático o dislipidemia. Sirvió como control basal para evaluar parámetros normales en ausencia de daño o tratamiento.

*Grupo control de omega-3 (omega-3 + VTI + VTC)*. Este grupo fue tratado con omega 3, solución salina (VTI) y aceite mineral (VTC). Actúa como referencia para evaluar los efectos protectores del omega-3 en condiciones normales.

*Grupo control de extracto (E-Co + VTI + VTC)*. En este grupo, las ratas recibieron el extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* (E-Co) junto con solución salina (VTI) y aceite mineral (VTC), para determinar el efecto basal del extracto sin inducir daño hepático.

*Grupo control con daño por tiloxapol (VE + Tl + VTC).* Este grupo fue sometido a dislipidemia inducida mediante tiloxapol (Tl), acompañado de aceite de oliva como vehículo del extracto (VE) y aceite mineral (VTC). Permite evaluar los efectos del Tl como inductor de daño lipídico.

*Grupo omega-3 con daño por tiloxapol (omega-3 + Tl + VTC).* Las ratas de este grupo recibieron Tl para inducir dislipidemia, en combinación con omega-3 y aceite mineral (VTC). Este grupo examina el posible efecto protector del omega 3 frente al daño inducido por Tl.

*Grupo extracto con daño por tiloxapol (E-Co + Tl + VTC).* Se administró el E-Co junto con Tl y aceite mineral (VTC) para evaluar la capacidad del extracto de *Cecropia obtusifolia* de mitigar el daño lipídico inducido.

*Grupo control con daño por tetracloruro de carbono (VE + VTl + TC).* Este grupo fue expuesto al tetracloruro de carbono (TC) como inductor de daño hepático agudo, acompañado de aceite de oliva (VE) y aceite mineral (VTl). Se usó como referencia para analizar los efectos tóxicos de TC.

*Grupo omega-3 con daño por tetracloruro de carbono (omega-3 + VTl + TC).* En este grupo, el tratamiento con omega-3 se combinó con TC y VTl para determinar el efecto protector del omega-3 frente al daño hepático agudo inducido por TC.

*Grupo extracto con daño por tetracloruro de carbono (E-Co + VTl + TC).* Las ratas fueron tratadas con E-Co junto con VTl y TC, evaluando el efecto hepatoprotector del extracto frente al daño por TC.

*Grupo control con daño combinado (VE + Tl + TC).* Este grupo recibió una combinación de Tl y TC, junto con VE, para inducir un modelo de daño combinado (dislipidemia y daño hepático agudo). Este grupo sirvió como referencia para comparar los efectos combinados de los agentes inductores.

*Grupo omega-3 con daño combinado (omega-3 + Tl + TC).* Las ratas fueron tratadas con omega-3, Tl y TC para evaluar el efecto protector del omega-3 frente a un daño combinado de dislipidemia y daño hepático.

*Grupo Extracto con Daño Combinado (E-Co + Tl + TC).* En este grupo, el tratamiento con E-Co se combinó con Tl y TC para determinar su efecto protector en condiciones de daño lipídico y hepático combinado.

Estos grupos experimentales permiten evaluar de manera sistemática tanto los efectos basales del extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* (E-Co) como los de omega-3 sobre el biomodelo, los efectos individuales de los agentes inductores de daño (Tl y TC), y la capacidad

del E-Co y omega-3 para prevenir o mitigar el daño inducido, ya sea lipídico, hepático o combinado.

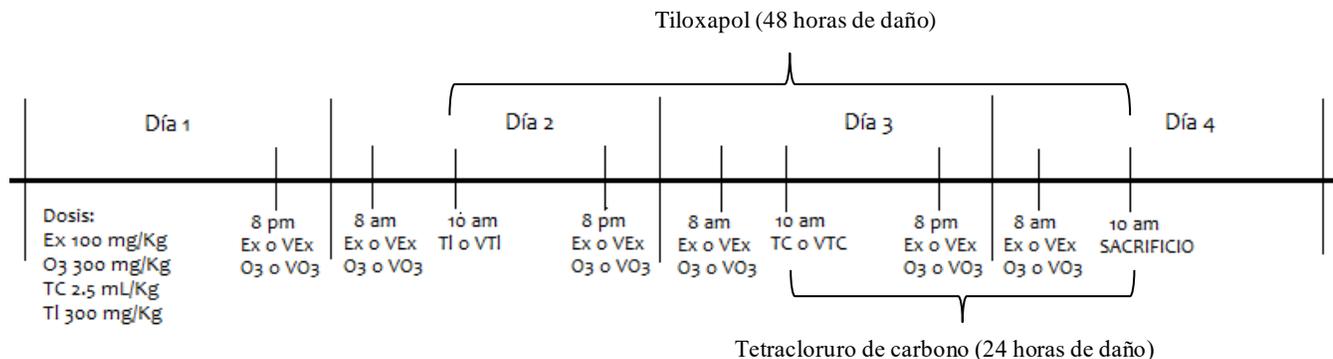
**Tabla 4**  
*Grupos experimentales*

Grupos experimentales	Especificaciones	
Sanas + OLI	Control de controles	OLI + VTI + VTC
Sanas + Omega-3	Control de Omega-3	Omega-3 + VTI +VTC
Sanas + E-Co	Control E-Co	E-Co + VTI + VTC
DLP + OLI	Control daño con TI	VE + TI + VTC
DLP + Omega-3	Omega-3 con daño TI	Omega-3 + TI + VTC
DLP + E-Co	E-Co con daño TI	E-Co + TI + TC
MASH + OLI	Control de daño con TC	VE + VTI + TC
MASH + Omega-3	Omega-3 con daño con TC	Omega-3 + VTI +TC
MASH + E-Co	E-Co con daño de TC	E-Co + VTI + TC
DLP + MASH + OLI	Control daño de TI y TC	VE+ TI + TC
DLP + MASH + Omega-3	Omega-3 con daño TI y TC	Omega-3 + TI +TC
DLP + MASH + E-Co	E-Co con daño TI y TC	E-Co + TI +TC

*E-Co: Extracto de acetato de etilo Cecropia obtusifolia TI: Tiloxapol VE: vehículo de tiloxapol (solución salina); TC: Tetracloruro de carbono; VTC: vehículo de tetracloruro de carbono (aceite mineral) VTI: vehículo de extracto (aceite de oliva)*

### 6.3.2 Tratamientos

El extracto E-Co se pesó y se disolvió en aceite de oliva como vehículo, hasta quedar en una concentración tal que aseguró la administración de 100 mg/kg, se administró la dosis 6 veces en 4 días por vía oral (1 cada 12 horas) (Figura 4).



**Figura 4** *Curso temporal del tratamiento*

El omega-3 fue disuelto en aceite de oliva como vehículo, en un volumen que aseguró la administración de 300 mg/kg, se administró la dosis 6 veces en 4 días por vía oral.

El TC fue disuelto en una relación 1:1 con aceite mineral, en un volumen que aseguró la administración de 2.5 g/kg en 1 mL por rata, se administró una única dosis por vía oral 24 horas antes del sacrificio. El TI fue disuelto en solución salina isotónica al 0.9% en un volumen que aseguró la administración de 400 mg/kg, se realizó una única dosis por vía intraperitoneal 48 horas antes del sacrificio.

#### **6.4 Determinación de parámetros bioquímicos en plasma e hígado**

Después de los 4 días de tratamiento, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico en una dosis de 150 mg/kg y sacrificados por exanguinación mediante punción cardíaca. Las muestras sanguíneas se recolectaron utilizando heparina sódica anticoagulante (1000 U/mL). El plasma, utilizado para las determinaciones bioquímicas, se obtuvo centrifugando las muestras a 3000 rpm durante 10 minutos. El hígado fue removido y lavado con solución salina al 0.9%. Se tomaron pequeños cortes para pruebas histológicas y muestras de 0.5 g de tejido hepático para realizar determinaciones bioquímicas.

##### *6.4.1 Marcadores bioquímicos*

Primeramente, los marcadores bioquímicos de daño hepático se clasificaron en:

*Marcadores hepáticos.* Colestasis: fosfatasa alcalina (FA), gamma glutamil-transpeptidasa (GGTP), bilirrubina directa (BD), bilirrubina total (BT). Necrosis: alanina aminotransferasa (ALT). Estrés fisiológico y oxidativo: lipoperoxidación (LP), glucógeno (GLU), catalasa (CAT).

*Marcadores de dislipidemia.* Lípidos en sangre: triglicéridos (TG) y colesterol total (Col).

La actividad de FA, actividad de GGTP, BD, BT, actividad de ALT, TG y Col se determinaron en plasma sanguíneo mientras que la cuantificación de proteínas, nivel de LP, actividad de CAT, cantidad de glucógeno hepático, e histología (tinción de hematoxilina y eosina) se realizaron en muestras de hígado.

##### *6.4.2 Métodos de análisis bioquímico*

###### *6.4.2.1 Actividad de fosfatasa alcalina (FA)*

El método utilizado se basa en la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato por la FA, para producir fosfato inorgánico y p-nitrofenol, cuya concentración se midió a 410 nm (Berger et al., 1963; Bergmeyer y Grabl, 1983). La cantidad de p-nitrofenol se determinó a partir de una curva estándar de p-

nitrofenol de 10  $\mu\text{mol}/\text{mL}$  con el fin de interpolar los resultados de las muestras y obtener su actividad enzimática.

Para medir la actividad enzimática se colocaron en cada tubo de ensayo 0.25 mL de amortiguador de glicina 0.1 M con  $\text{MgCl}_2$  1 mM a pH 10.5 y 0.25 mL de p-nitrofenilfosfato, los tubos se incubaron a baño de María a 37°C por 5 minutos, luego se añadió 50  $\mu\text{L}$  de plasma, se mezcló e incubó nuevamente durante 30 minutos a 37°C, finalizado el tiempo, se adicionaron 5 mL de NaOH 0.02 N, se agitó y se leyó a 410 nm. El blanco se preparó con el mismo procedimiento, pero se sustituyó la muestra plasmática por agua.

#### 6.4.2.2 Actividad de gamma glutamil-transpeptidasa (GGTP)

Este método se utilizó como sustrato la glutamil-p-nitroanilida. En presencia de la enzima GGTP y glicil-glicina (receptor del grupo gamma-glutamilo), se forma gamma glutamilglicina y p-nitroanilina, que se cuantificó con un espectrofotómetro a 410 nm (Glossmann y Neville, 1972).

Para medir la actividad enzimática se añadieron a cada tubo 400  $\mu\text{L}$  de Tris-HCl 200 mM a pH 8.2, 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  200 mM, 100 de glicil-glicina 40 mM a pH 8.2 y 200  $\mu\text{L}$  de gamma glutamil-p-nitroanilida 10 mM, los tubos se incubaron por 10 minutos a 37°C, luego se agregó 200  $\mu\text{L}$  de plasma, se agitaron e incubaron nuevamente a 37°C por 30 minutos. La reacción enzimática se detuvo con 2 mL de ácido acético 1.5 M. El blanco se reparó con el mismo procedimiento, pero se sustituyó la muestra plasmática por agua.

#### 6.4.2.3 Determinación de bilirrubina directa (BD) y bilirrubina total (BT)

La cuantificación de bilirrubina directa y total se realizó utilizando un kit comercial de SPINREACT (España), basado en la reacción de la bilirrubina con ácido sulfanílico, formando un compuesto azoico que tiene una absorbancia máxima de 560 nm, la intensidad de la coloración es directamente proporcional a la concentración de bilirrubinas.

#### 6.4.2.4 Actividad de alanina aminotransferasa (ALT)

Este método permite la obtención de piruvato a partir de la transaminación entre la alanina y el ácido  $\alpha$ -oxoglutarico (Reitman y Frankel, 1957). Se rotularon los tubos para cada muestra problema con su propio blanco; se agregaron 0.25 mL de sustrato a cada uno de los tubos, enseguida se adicionaron únicamente a los tubos problema 0.050 mL de muestra y todos los tubos se incubaron a baño de María durante una hora a 37°C. Al terminar, se agregó a ambos tubos 0.25 mL de reactante de cromógeno y se le añadió 0.05 mL de muestra únicamente a los tubos blanco.

Se incubaron los tubos a 37°C por 15 min, se detuvo la reacción, añadiendo a todos los tubos 2.5 mL de NaOH 0.4 N y se leyeron a 515 nm.

#### 6.4.2.5 Cuantificación de proteínas

Este método se realizó siguiendo la técnica de Bradford (1976). Se tomaron 100 µL de las muestras previamente homogenizadas y se diluyeron 900 µL de agua tridestilada. De esta mezcla, se tomaron alícuotas de 20 µL, a las que se les agregaron 80 µL de agua tridestilada (el blanco se realizó con 100 µL de agua tridestilada). Posteriormente, se añadieron 2.4 mL de reactivo de Bradford y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm. La concentración de proteínas en la muestra se utilizó para determinar el grado de lipoperoxidación.

#### 6.4.2.6 Grado de lipoperoxidación (LP)

La técnica utilizada es colorimétrica y se basa en la reacción de dos moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) con una molécula de malondialdehído (MDA), formando un complejo colorimétrico (Buege y Aust, 1978b) Los resultados se expresan como nmol de MDA/mg de proteína. Las proteínas se cuantifican con el método de Bradford, 1976. Para esta determinación, se tomaron alícuotas de 300 µL de hígado previamente homogenizado y se añadieron 700 µL de Tris-HCl 150 mM; los tubos se incubaron a 37°C durante 30 minutos.

Luego, se agregaron 2 mL de ácido tiobarbitúrico al 0.375% disuelto en ácido tricloroacético al 15%, se taparon los tubos y se calentaron a ebullición durante 45 minutos. Posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos y se leyó el sobrenadante en un espectrofotómetro a 532 nm.

#### 6.4.2.7 Actividad de catalasa (CAT)

La catalasa descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Esta técnica cuantifica el agua oxigenada remanente mediante su reacción con un exceso estándar de permanganato de potasio, formándose óxido de manganeso. Posteriormente se mide el permanganato de potasio residual en un espectrofotómetro a 480 nm.

La cuantificación de catalasa se llevó a cabo homogenizando 0.5 g de hígado en 5 mL de solución amortiguadora de fosfato de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Para iniciar la reacción, se añadieron alícuotas de hígado homogeneizado a una solución de agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); la reacción se detuvo a los 3 minutos mediante la adición de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 6N. Posteriormente, se añadió permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>), que reacciona con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El KMnO<sub>4</sub> residual se leyó a 480

nm. La actividad de la catalasa se calculó utilizando la constante de reacción de la descomposición de  $H_2O_2$  ( $k \cdot 10^2/\text{min}$ ) (Cohen et al., 1970; Galicia-Moreno y Gutiérrez-Reyes, 2014).

#### 6.4.2.8 Determinación de triglicéridos (TG)

Se utilizó el método enzimático del kit de la marca SPINREACT (España). Esta técnica se basa en la hidrólisis de triglicéridos por la lipasa, permitiendo cuantificar la concentración de glicerol mediante una prueba enzimática combinada con la reacción de Trinder, que forma un tinte de quinoneimina de color rojo. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra, la cual se mide en un espectrofotómetro a 520 nm.

#### 6.4.2.9 Determinación de colesterol (COL)

La técnica enzimática utilizada para cuantificar el colesterol total está descrita por el fabricante del kit SPINREACT (España). Este método se basa en la oxidación del colesterol, utilizando peróxido de hidrógeno junto con peroxidasa, 4-aminoantipirina, y fenol para formar una tinta quinina-amina de alta absorbancia a 520 nm. El reactivo usa ácido hidroxibencensulfónico, en lugar de fenol, para mejorar la absorbancia y para facilitar la reacción con un surfactante.

#### 6.4.2.10 Determinación de glucógeno hepático

La cuantificación de glucógeno se realizó mediante la técnica de antrona con glucosa (Seifter y Dayton, 1950), que utiliza la digestión de la muestra de hígado con hidróxido de potasio. El procedimiento fue el siguiente: se colocaron 0.5 g de hígado en tubos de ensayo a los cuales se añadieron 1.5 mL de KOH al 30 %, los tubos se taparon y se sometieron a ebullición durante 30 minutos. La mezcla resultante se aforó en matraces de 25 mL con agua destilada. Se tomaron alícuotas de 60, 80 y 100  $\mu\text{L}$  y se llevaron a 1 mL con agua; el blanco fue 1 mL de agua destilada y se preparó un estándar con 20  $\mu\text{L}$  de glucosa (1 mg/mL) y 80  $\mu\text{L}$  de agua. A cada uno de los tubos se les añadieron 2 mL de antrona (0.2% en  $H_2SO_4$  concentrado), los tubos se mantuvieron a ebullición durante 15 minutos, luego se enfriaron con hielo y se leyeron en un espectrofotómetro a 620 nm.

### 6.5 Pruebas histológicas

#### 6.5.1 Tinciones de hematoxilina y eosina

Las muestras hepáticas fueron fijadas en formaldehído al 10% durante un mínimo de 24 horas para asegurar una adecuada preservación del tejido después de la fijación, las muestras se enjuagaron

con agua y se deshidrataron utilizando una serie de alcoholes, para su posterior inclusión en parafina. A continuación, se realizaron cortes de tejido de aproximadamente 6-7  $\mu\text{m}$  de espesor utilizando un microtomo.

Para la tinción se utilizó el método de hematoxilina y eosina (HE) con el fin de diferenciar estructuras celulares y tejidos: los núcleos celulares se tiñeron en color azul y el citoplasma de los hepatocitos en color rosa. También, para evidenciar el músculo vascular en tonos rojizos y los glóbulos rojos de color naranja-rojizo, a su vez la fibrina en rosa intenso (Castell y Fortoul Van Der Goes, 2010).

## **6.6 Análisis estadístico**

La prueba estadística aplicada a los datos de cada grupo tratado fue un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de la prueba de comparación múltiple de Student-Newman-Keuls, la cual permite comparar todos los grupos entre sí. Este análisis determinó diferencias estadísticamente significativas con un nivel de significancia de  $p \geq 0.05$ . El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete SigmaStat, versión 3.1 (Systat Software, USA).

En la sección de resultados, se presentan las gráficas de barras que muestran el valor promedio de cada determinación, acompañado del número de muestras ( $n$ ) correspondiente a cada grupo y el error ( $\pm$ ) estándar de la media representado en la parte superior. Durante el procesamiento de los datos, se identificaron y eliminaron los valores aberrantes antes de realizar las pruebas estadísticas, para garantizar la validez de los resultados.

## 7. RESULTADOS

El extracto de acetato de etilo de CROB (E-Co) obtenido mostró un porcentaje de rendimiento de 5.7% (Tabla 5). A partir de este extracto se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante.

**Tabla 5**

*Porcentaje de rendimiento de las hojas secas de Cecropia obtusifolia*

Hojas secas (g)	Extracto (g)	Rendimiento (%)
1416	80.56	5.7

### 7.1 Resultados de pruebas químicas *in vitro* del extracto

#### 7.1.1 Determinación de fenoles totales

La cuantificación de los fenoles totales se realizó con el método de Folin-Ciocalteu. Para la curva de calibración se empleó ácido gálico como estándar. El resultado obtenido fue de 19.8 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (EAG/g), como se muestra en la Tabla 6. La cantidad baja de fenoles totales puede atribuirse a la naturaleza medianamente polar del extracto, en contraste con una matriz completamente polar.

#### 7.1.2 Determinación de DPPH

En la prueba de capacidad antirradical DPPH, se utilizó trolox (un análogo hidrosoluble de la vitamina E como estándar. El resultado obtenido fue de 56.62 mg equivalentes de trolox por gramo de extracto (mg ET/g) como se detalla en la Tabla 6.

#### 7.1.3 Determinación de ABTS

Para esta técnica se empleó ácido ascórbico como estándar. La concentración determinada fue de 7.722 mg equivalentes de vitamina C por gramo de extracto (mg EVC/g) (ver Tabla 6).

**Tabla 6**

*Resultados de pruebas químicas *in vitro* del E-Co*

	Fenoles totales (mg EAG/g extracto)	DPPH <sup>•</sup> (mg ET/g extracto)	ABTS <sup>•+</sup> (mg EVC/g extracto)	FRAP (mg Fe <sup>2+</sup> /100 g de extracto)
<i>E-Co</i>	19.8	56.62	7.722	4.907

*EAG: equivalente de ácido gálico, ET: equivalente de Trolox EVC: Equivalentes de vitamina C*

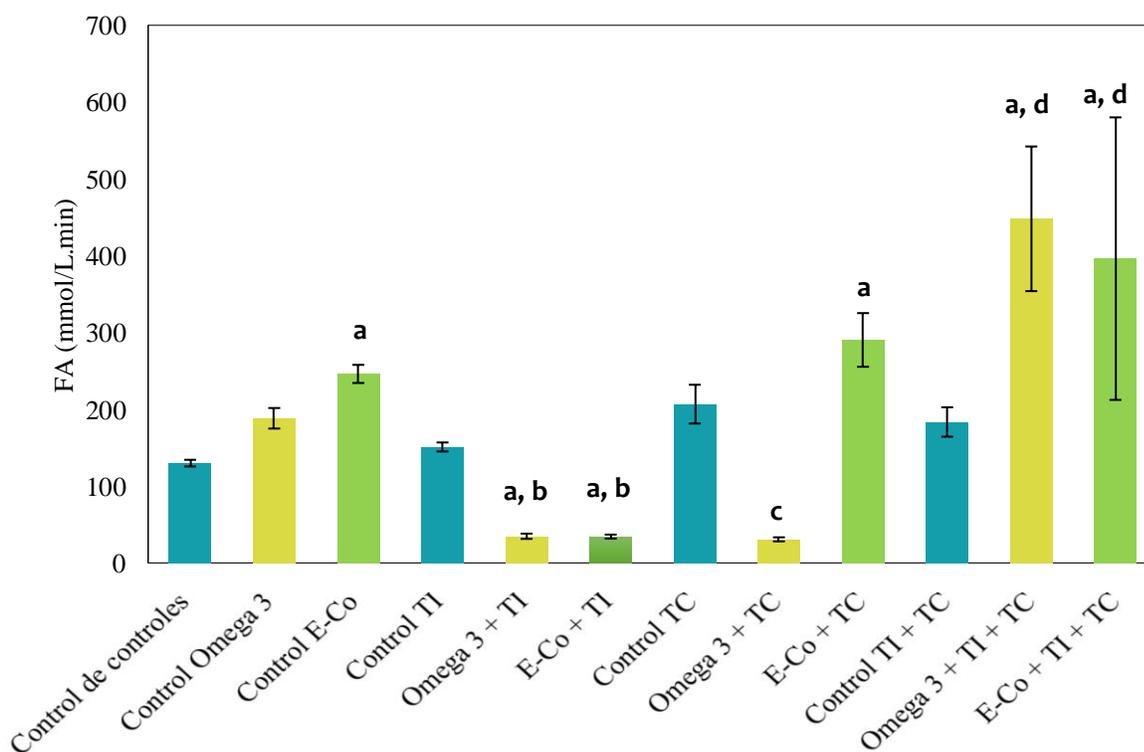
#### 7.1.4 Determinación de FRAP

En la prueba de capacidad reductora del ion férrico (FRAP), se utilizó  $\text{FeSO}_4$  como estándar. El resultado obtenido fue de 4.907 mg equivalentes de  $\text{Fe}^{2+}$  por cada 100 g de extracto (Tabla 6).

## 7.2 Marcadores bioquímicos

### 7.2.1 Actividad de fosfatasa alcalina (FA)

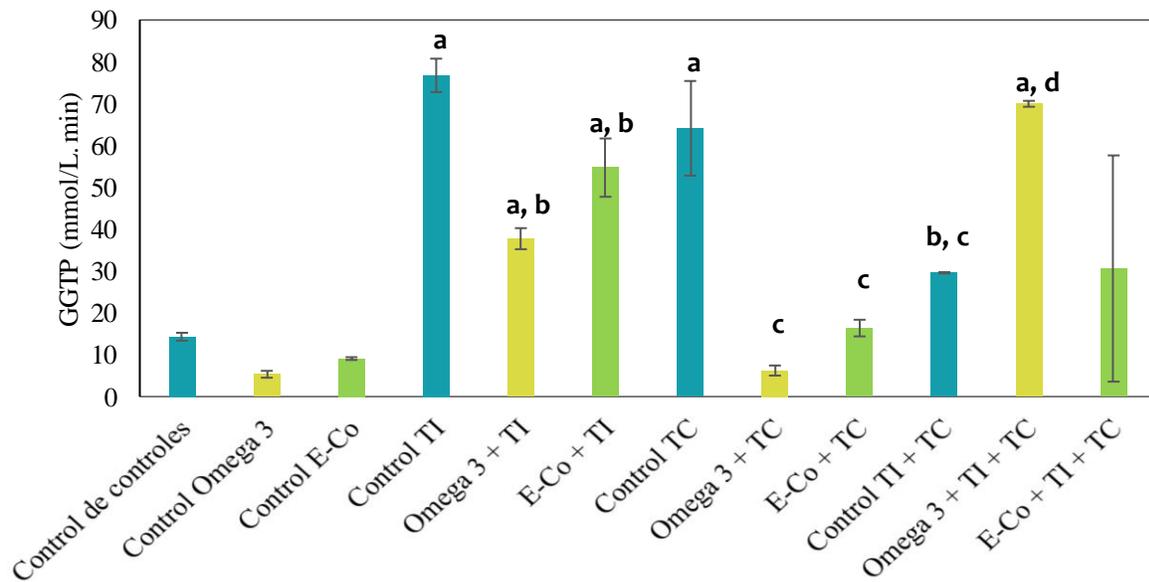
En la Figura 5 se presenta la actividad de FA. La administración del extracto de *Cecropia obtusifolia* incrementó significativamente los niveles de FA ( $p \geq 0.05$ ) en comparación con el grupo control de controles (CC). Por otro lado, los grupos tratados con TI más extracto y TI más omega-3 mostraron una reducción significativa de FA, aunque el TI no indujo daño aparente, pues permaneció igual que el grupo CC. En el modelo de daño inducido por TC, el omega-3 disminuyó la actividad de FA, mientras que el extracto aumentó este marcador. En el caso de daño combinado (TI + TC), tanto el omega-3 como el extracto no tuvieron un efecto protector; por el contrario, los valores de FA se incrementaron significativamente ( $p \geq 0.05$ ) en comparación con el grupo control.



**Figura 5** Actividad de fosfatasa alcalina en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. control de TI, **c** vs. control de TC, **d** vs. daño combinado (TC + TI).

### 7.2.2 Actividad de gama glutamil-transpeptidasa (GGTP)

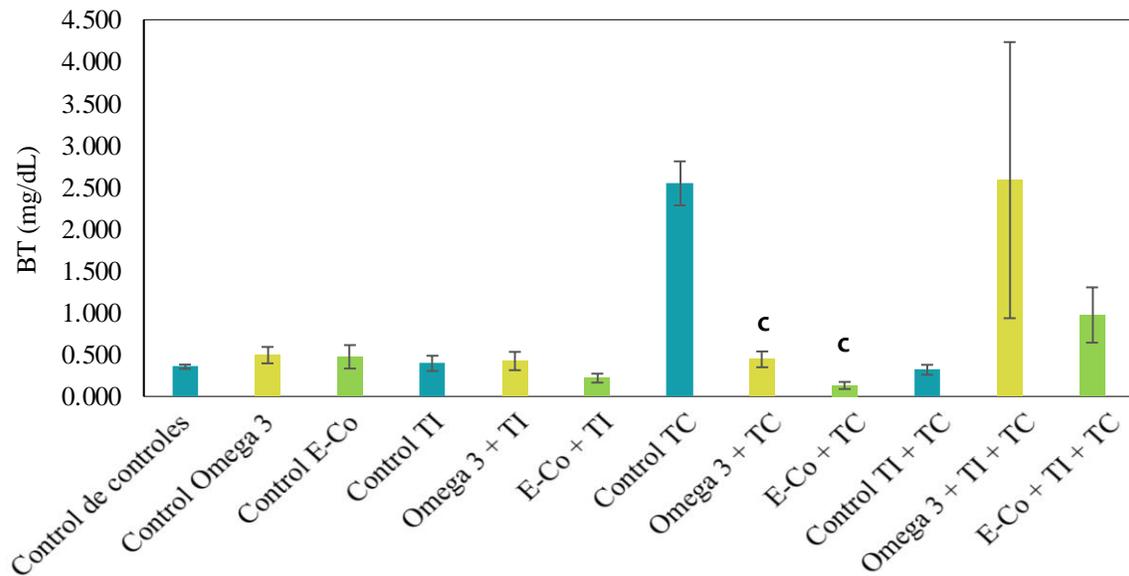
GGTP es el marcador bioquímico más sensible de colestasis. En la Figura 6 se muestra que los grupos control de TI y de TC dañados presentaron diferencias significativas respecto al grupo sano CC, pero no hubo diferencia significativa entre el grupo de daño combinado (TI + TC) y el CC. Los tratamientos con omega-3 y extracto E-Co, administrados respectivamente, lograron disminuir parcialmente el daño causado por TI. En el modelo de daño por TC la actividad de GGTP disminuyó más significativamente al administrar omega-3 o extracto, logrando una prevención total del daño colestático. Por el contrario, en daño combinado (TI + TC), los valores de GGTP aumentaron significativamente al añadir omega-3 o E-Co, en comparación con el grupo control de daño combinado.



**Figura 6** Actividad de gamma glutamil-transpeptidasa en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TC + TI).

### 7.2.3 Bilirrubinas totales (BT)

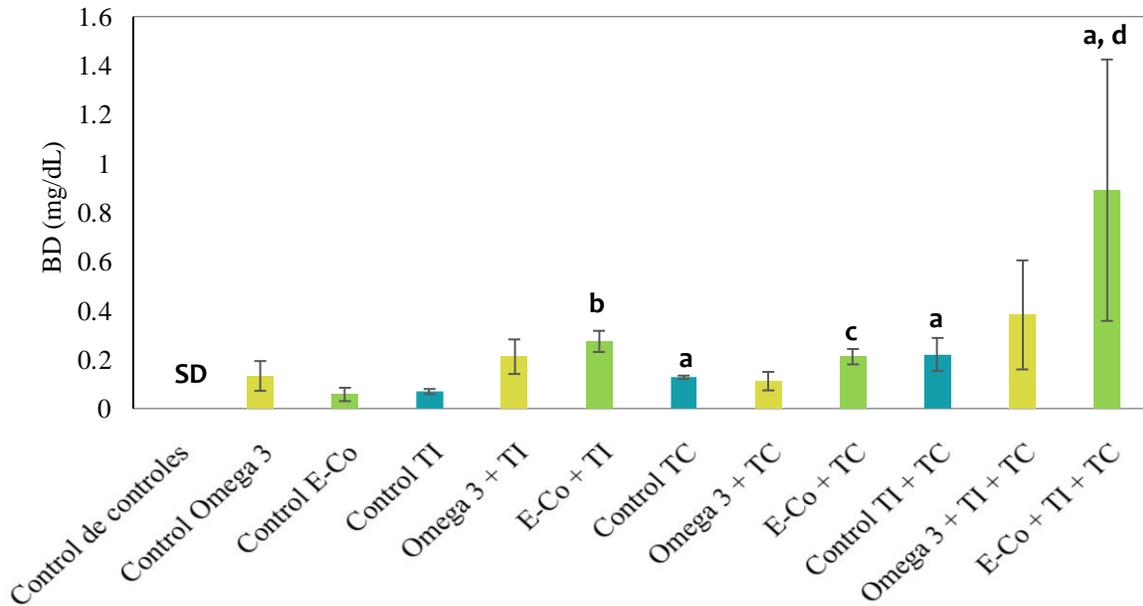
Las bilirrubinas totales son marcadores de colestasis y de funcionalidad hepática, en la Figura 7 se puede observar la concentración de BT en los diferentes grupos de tratamiento. No se encontraron diferencias significativas, aunque en el grupo dañado por TC la BT se elevó ostensiblemente, aunque no alcanzó diferencia estadística, y se redujo ( $p \geq 0.05$ ) en los grupos reto de TC tratados TC con omega-3 y E-Co. El tratamiento con omega-3 y E-Co tampoco fueron diferentes estadísticamente respecto al grupo con daño combinado, dado su error estándar tan marcado.



**Figura 7** Actividad de bilirrubinas totales (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC)

#### 7.2.4 Bilirrubina directa (BD)

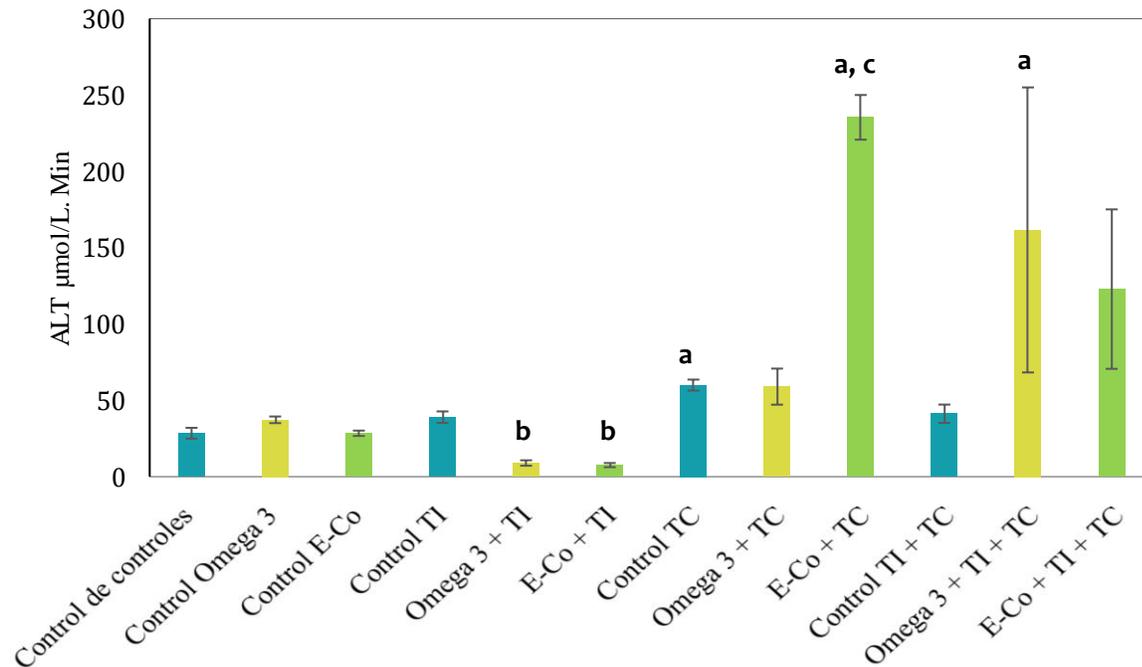
En la Figura 8 se observa la concentración de BD. En el grupo normal CC, las BD no fueron detectables. Los grupos control de omega-3 y E-Co no modificaron la concentración de BD. El extracto incrementó significativamente ( $p \geq 0.05$ ) las concentraciones de BD, solo o en combinación con algún tipo de daño, en comparación con los grupos controles de daño (TI, TC y TI + TC).



**Figura 8** Niveles de bilirrubinas directas (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. **SD** indica valores no detectados. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.5 Alanina aminotransferasa (ALT)

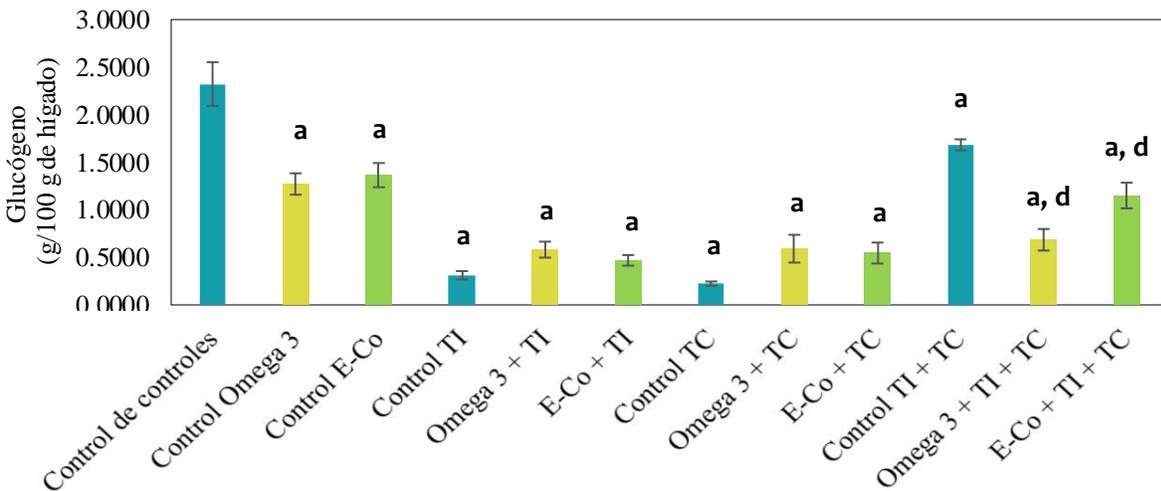
Marcador de necrosis. La actividad de ALT en los diferentes grupos de tratamiento se muestra en la Figura 9. Hubo un incremento significativo ( $p \geq 0.05$ ) en el grupo control de TC, en comparación al grupo control de controles. Los grupos tratados con TI + omega-3 y TI + E-Co redujeron significativamente la actividad de ALT ( $p \geq 0.05$ ) en comparación con el grupo dislipidémico de TI. En el modelo daño con TC, y E-Co, la actividad de ALT aumentó muy marcadamente ( $p \geq 0.05$ ), en comparación con el grupo control de extracto y el grupo control de TC. En el daño combinado (TI + TC), tanto omega-3 como el extracto incrementaron la actividad de ALT.



**Figura 9** Actividad de alanina-aminotransferasa ( $\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$ ) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.6 Glucógeno hepático

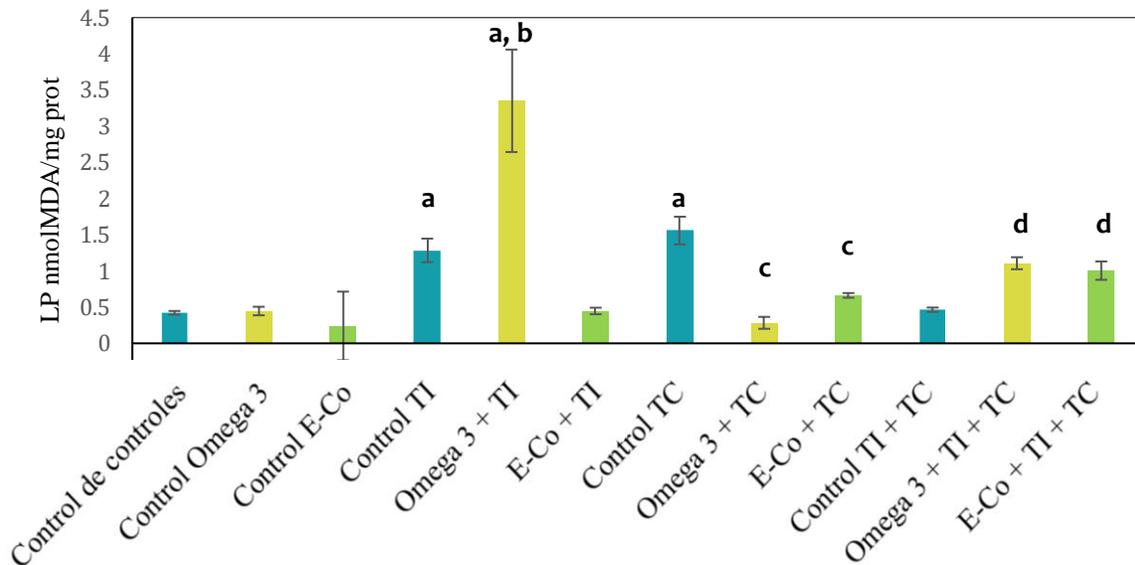
El glucógeno hepático, un marcador de la funcionalidad y el estrés hepático, se presenta en la Figura 10. Los tratamientos con omega-3 y E-Co disminuyeron los niveles de glucógeno en comparación con el grupo control de controles. Ni el omega-3 ni el extracto lograron restablecer los niveles normales de glucógeno en modelos de daño por TI o TC, aunque tuvieron una tendencia muy ligera a aumentarlo, sin alcanzar la normalidad. Curiosamente, en el daño combinado (TI + TC), los niveles de glucógeno se acercaron a los valores normales.



**Figura 10** Niveles de glucógeno hepático (mg de glucógeno/100 g de hígado) en ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.7 Lipoperoxidación (LP)

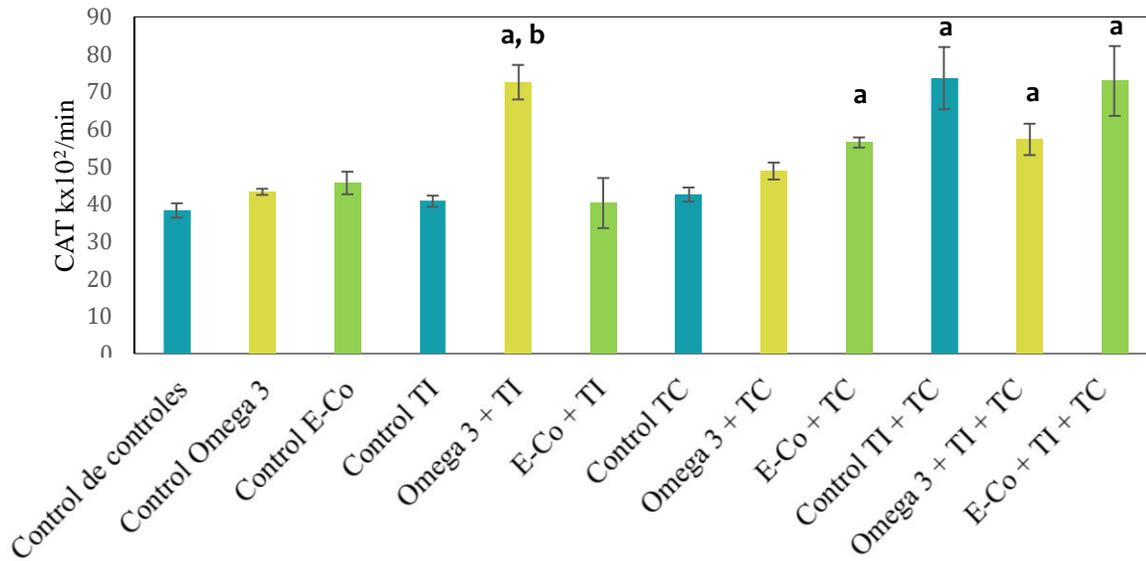
La LP, un marcador de estrés oxidativo membranar, se muestra en la Figura 11 no hubo diferencias significativas en los grupos control de omega-3 y control E-Co respecto a los niveles normales de LP. En los grupos control dañados de TI y control de TC, el nivel de LP tuvo diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ), respecto al grupo control de controles. El omega-3 aumentó el grado de LP en daño por TI, mientras que el extracto la redujo. En los grupos omega-3 más TC y extracto más TC, los tratamientos disminuyeron significativamente la LP ( $p \geq 0.05$ ) respecto al control de TC. En el grupo de daño combinado (TI + TC), la cantidad de LP aumentó significativamente con ambos tratamientos.



**Figura 11** Grado de lipoperoxidación (nmol MDA/mg de proteína) en hígado de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.8 Actividad de catalasa (CAT)

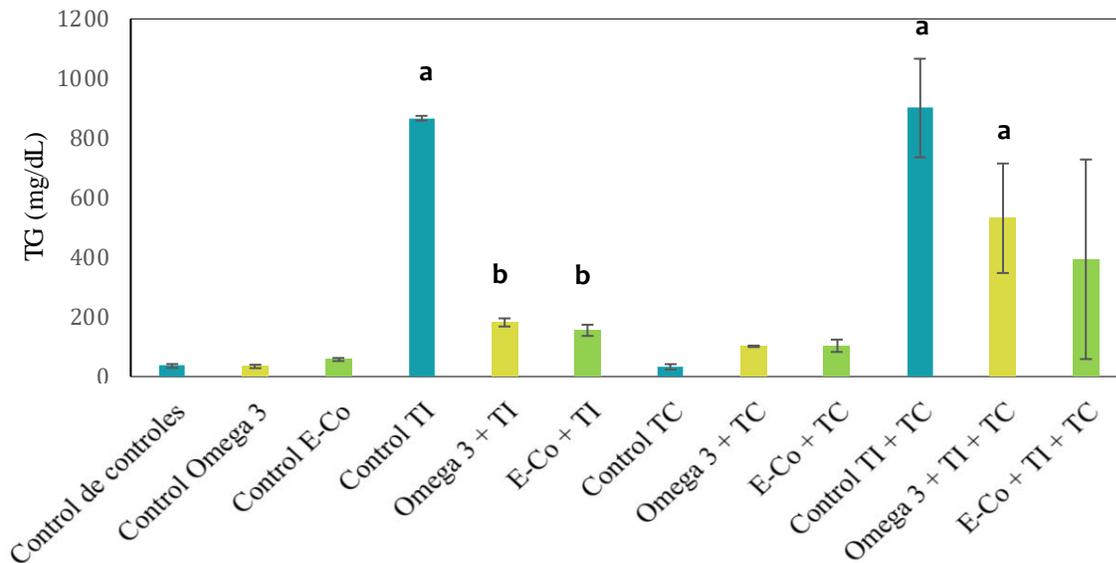
La actividad de CAT, otro marcador de estrés oxidativo se presenta en la Figura 12. En los grupos tratados individualmente con omega-3, extracto, TI o TC, la actividad de CAT se mantuvo normal. En contraste, el grupo de TI más omega-3 presentó un aumento significativo ( $p \geq 0.05$ ) respecto al grupo control de controles y el control de daño con TI. El control de daño combinado también incrementó significativamente la actividad de CAT ( $p \geq 0.05$ ) respecto al grupo control de controles y la administración de omega-3 o de E-Co no la redujeron.



**Figura 12** Actividad de catalasa ( $k \times 10^2/\text{min}$ ) en hígado de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.9 Triglicéridos

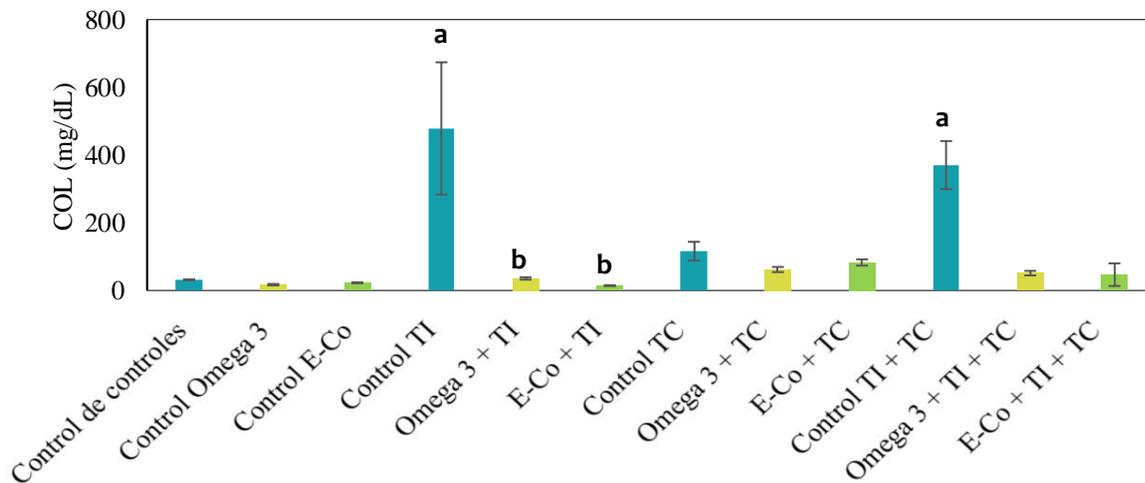
En la Figura 13 se observan los niveles de TG, un indicador de dislipidemia. Como se esperaba, el grupo tratado con TI presentó un aumento muy marcado ( $p \geq 0.05$ ) respecto al grupo control de controles. En el grupo control de daño combinado (TI + TC), también se observó un incremento significativo ( $p \geq 0.05$ ) respecto al grupo control de controles, atribuyendo el aumento al TI; mientras que, el daño por TC solo no alteró los niveles normales. Los tratamientos con omega-3 y E-Co redujeron significativamente los TG en los modelos de daño por TI.



**Figura 13** Concentraciones de triglicéridos (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.2.10 Colesterol

En la Figura 14 se muestran las concentraciones de COL total, otro marcador de dislipidemia. Los grupos controles de omega-3 y extracto, por sí solos, no alteraron los niveles normales de COL. El TI como inductor de daño por dislipidemia aumentó la concentración de COL, además también aumentó el COL en el grupo de daño combinado (TI + TC), aunque un poco menos que el grupo TI, ambos tuvieron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) respecto a los valores normales. Se observó que el extracto de *C. obtusifolia* disminuyó la concentración de COL inducido por el TI, al igual que el omega-3, ambos tuvieron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) con respecto al grupo control de daño por TI.



**Figura 14** Concentraciones de colesterol total (mg/dL) en plasma de ratas tratadas con extracto de acetato de etilo y omega-3. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de los grupos experimentales ( $n = 6-8$ ), realizados por duplicado o triplicado. Letras indican diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ , ANOVA, prueba de Student-Newman-Keuls): **a** vs. control de controles, **b** vs. grupo TI, **c** vs. grupo TC, **d** vs. daño combinado (TI + TC).

### 7.3 Análisis histológico

En la Figura 15 se presenta el panel histológico en donde se muestra el tejido hepático en los diferentes grupos teñidos con la técnica de hematoxilina/eosina:

A) Hace referencia al grupo control de controles y se puede observar el parénquima hepático sin modificaciones y al centro una vena central (VC) o rama de la vena cava.

B) Se administró omega-3 y en él se observó micro vacuolización (mV) en donde pequeñas vacuolas ocupan el citoplasma de las células.

C) Modelo tratado con el extracto de acetato de etilo de *C. obtusifolia* y se observa congestión e inflamación (Inf) ligera de los hepatocitos.

D) Se observa inflamación severa del parénquima y macro vacuolización (MV) donde las vacuolas empujan el núcleo hacia la periferia, estas patologías fueron causadas mediante la administración de Tl.

E) Corte representativo del grupo tratado con Tl + omega-3, en este cuadro se observa necrosis balonizante (NB) ya que hay un aumento del volumen celular con citoplasma claro y vacuolado, se pueden observar pequeños filamentos rosados dentro del citoplasma.

F) A este grupo se le administró E-Co + Tl. Se observan células con necrosis balonizante alrededor de la VC con núcleos coloreados uniformemente y picnosis (Pic).

G) Se observa el daño causado por TC. El TC causó inflamación severa del parénquima y un aumento del volumen celular, espacios claros y los organelos en disposición irregular (NB) y además se observan células con MV donde el núcleo se encuentra dispuesto hacia la periferia.

H) Muestra del grupo administrado con omega-3 + TC, en el cual se observa daño marcado en el parénquima, MV en los hepatocitos que desplazan los núcleos y también presentan mV que es característica de HGNA.

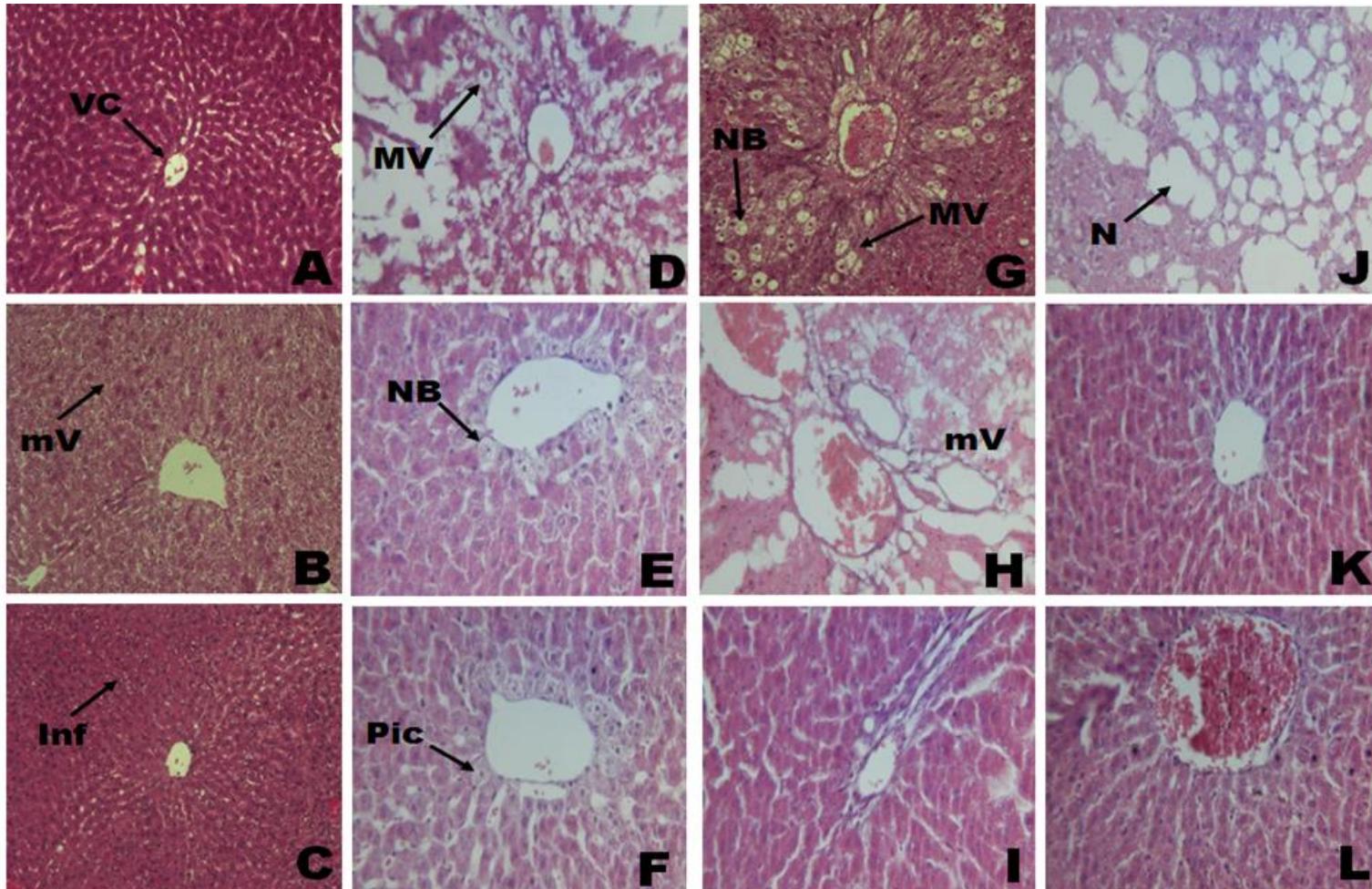
I) Este grupo se administró con E-Co + TC, donde se observa una VC y una menor dilatación sinusoidal que en H (omega-3 + TC) y casi sin presencia de mV.

J) Este grupo fue administrado con Tl + TC. Se observa el nivel de daño por necrosis y como resultado vacuolización general y la liberación del tejido celular.

K) Grupo administrado con omega-3 + Tl + TC. Se observa un VC definida y con una leve dilatación en los espacios sinusoidales en comparación con J (Tl + TC), además de una inflamación ligera.

L) Grupo administrado con E-Co + TI + TC. Se observa una VC definida con eritrocitos, con dilatación leve entre los espacios sinusoidales, inflamación ligera, y edema menor de hepatocitos. Los grupos A, B y C con un poco de congestión, leve vacuolización y poca inflamación se pueden considerar aparentemente sanos.

La MV y mV suceden principalmente en enfermedades como EHNA, EHGA, obesidad, y diabetes; por lo que, en I, K y L estas dos primeras patologías disminuyeron en comparación con G y J, lo que sugiere actividad hepatoprotectora por parte del extracto de *C. obtusifolia* y el omega-3.



**Figura 15** Panel histológico de la tinción hematoxilina/eosina (40x). **A)** CC, **B)** omega-3, **C)** E-Co, **D)** Tl, **E)** Tl + omega-3, **F)** Tl + E-Co, **G)** TC, **H)** TC + omega-3, **I)** TC + E-Co, **J)** Tl + TC, **K)** Tl + TC + omega-3 y **L)** Tl + TC + E-Co

VC: vena central Inf: inflamación MV: macro vacuolización. mV: micro vacuolización. NB: necrosis balonzante. Pic: picnosis.

## 8. DISCUSIÓN

El estudio presente tuvo como objetivo aportar información sobre las capacidades hipolipidemiantes y hepatoprotectoras del extracto de acetato de etilo de las hojas de *Cecropia obtusifolia* en un modelo de dislipidemia y daño hepático con esteatosis, inducido experimentalmente por TI (agente dislipidemiante) y TC (agente hepatotóxico), respectivamente. Además, se analizó su impacto en un modelo de daño combinado, dado que estas patologías suelen presentarse de manera concomitante en pacientes con síndrome metabólico.

Los efectos hipolipidemiantes y hepatoprotectoras del extracto de acetato de etilo de *C. obtusifolia* se evaluaron utilizando marcadores de dislipidemia, colestasis, necrosis, y estrés oxidativo, permitiendo un análisis integral de su actividad biológica. Debido a que el extracto de *C. obtusifolia* es una fuente de compuestos antioxidantes, también se realizaron pruebas *in vitro* para evaluar su contenido fenólico y capacidad antioxidante mediante ensayos de DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> y FRAP.

### *Efecto antioxidante y contenido fenólico del extracto de acetato de etilo de C. Obtusifolia*

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por las plantas con diversas funciones fisiológicas y propiedades biológicas beneficiosas para la salud humana (Galano et al., 2016). Se ha reportado que poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatoria, antienvjecimiento, y antiproliferativos (Antunes-Ricardo et al., 2015; Cheng et al., 2017; Hanhineva et al., 2012). En *C. obtusifolia*, se han identificado compuestos bioactivos como ácido clorogénico, isoorientina, sitosterol, estigmasterol (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005).

En este estudio, el extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* presentó un contenido de fenoles totales de 19.8 mg EAG/g de extracto, confirmando la presencia de compuestos antioxidantes. Sin embargo, este valor es considerablemente menor al reportado por Rivera-Mondragón et al. (2019), quienes obtuvieron 437.9 mg EAG/g utilizando un extracto hidroalcohólico (metanol al 70%) y extracción asistida por ultrasonido (UAE).

Las diferencias en la concentración de compuestos fenólicos pueden atribuirse al tipo de solvente y al método de extracción. El metanol al 70% es un solvente hidroalcohólico altamente polar que favorece la extracción de compuestos hidrofílicos, mientras que el acetato de etilo, de polaridad intermedia, puede limitar la solubilización de ciertos compuestos fenólicos. Espinosa-Sánchez et al. (2025) reportaron que los extractos de *Hibiscus sabdariffa* obtenidos con metanol presentaron mayor capacidad antioxidante que en aquellos obtenidos con acetato de etilo o agua. Además, el

método de extracción influye en la cantidad de fenoles extraídos, ya que Rivera-Mondragón et al. (2019) utilizaron una extracción asistida por ultrasonido (UAE), que mejoró la eficiencia de extracción al romper las estructuras celulares, en comparación, el método empleado en este estudio podría haber sido menos eficiente para liberar compuestos bioactivos de la matriz vegetal.

A pesar del menor contenido fenólico, el extracto mostró actividad antioxidante moderada, con valores de 56.62 mg ET/g en DPPH y 7.722 mg EVC/g en ABTS lo que sugiere que los compuestos extraídos son funcionalmente activos. Dado que ABTS mide radicales hidrofílicos y lipofílicos, y DPPH es específico para medios orgánicos, los resultados indican que los compuestos extraídos con acetato de etilo son más activos en medios menos polares.

Se ha propuesto que ciertos compuestos bioactivos pueden modular la actividad antioxidante a través de la activación de la vía Nrf2/HO-1, la cual regula la expresión de enzimas antioxidantes y contribuye a la reducción del estrés oxidativo celular (Estefes-Duarte et al., 2024). La presencia de ácido clorogénico en *C. obtusifolia* podría estar relacionada con este mecanismo, favoreciendo la protección celular frente a especies reactivas de oxígeno.

Estudios en otras especies han demostrado que los extractos obtenidos con acetato de etilo pueden conservar una actividad antioxidante significativa. Por ejemplo, en *Ageratum conyzoides* L., un extracto similar mostró altos valores en los ensayos ABTS, lo que se atribuye a la naturaleza de los compuestos extraídos (Mesa-Vanegas et al., 2015). Esto sugiere que, aunque el contenido fenólico total sea menor en comparación con extractos hidroalcohólicos, la selección de un disolvente menos polar puede beneficiar la extracción de ciertos compuestos bioactivos específicos.

En conclusión, el extracto de acetato de etilo de *C. obtusifolia* presentó actividad antioxidante, aunque menor en comparación con extractos obtenidos con solventes más polares. Sin embargo, la naturaleza de los compuestos extraídos podría ser útil en aplicaciones específicas que requieran moléculas menos polares, como fitoesteroles y triterpenoides. Estudios futuros deberían enfocarse en optimizar la extracción mediante combinaciones de solventes o métodos avanzados como UAE para maximizar el rendimiento y la actividad funcional del extracto.

#### *Modelos de daño inducido en los marcadores bioquímicos*

En este estudio, la administración de una dosis única de 400 mg/kg de TI aumentó significativamente los niveles de TG y COL total plasmáticos. Además, el TI incrementó los

niveles de LP y GGTP, mientras que redujo significativamente los niveles de glucógeno hepático, lo que indica que además de dislipidemia el TI también causó colestasis y estrés oxidativo.

Por otro lado, el TC es ampliamente utilizado para inducir daño hepático experimental, similar a la MASH, ya sea agudo o crónico, debido a su capacidad para generar radicales libres triclorometilo ( $TC_3^{\cdot}$ ), mediante la ruptura homolítica de los enlaces C-Cl. Estos radicales se unen de manera covalente a lípidos de membrana, promoviendo el proceso de lipoperoxidación y daño hepático (Muriel, 2009). En este estudio, la administración de TC aumentó los niveles de GGTP, ALT, y LP, lo que refleja necrosis hepática y estrés oxidativo severo.

#### *Efecto del E-Co en condiciones normales*

En el grupo control del extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* (E-Co), este no modificó los niveles de la mayoría de los marcadores bioquímicos evaluados (TG, COL, LP y GGTP), a excepción de que aumentó significativamente fosfatasa alcalina (FA) y disminuyó el glucógeno hepático, en comparación del grupo sano CC. Esto quiere decir que el E-Co por sí solo no alteró significativamente el estado basal del hígado ni el perfil lipídico de las ratas sanas. Acerca del aumento de FA, aunque es un marcador de colestasis, no es específico del hígado, también se encuentra presente en otros tejidos (huesos, intestinos y riñones), y su aumento podría estar relacionado con la actividad de compuestos del E-Co que influyen en otras vías fisiológicas (Andrade-Cetto y Heinrich (2005). La reducción del glucógeno podría atribuirse a la presencia de ácido clorogénico en el extracto, que inhibe la glucosa-6-fosfato translocasa, una enzima clave en la gluconeogénesis; esto conduce a una menor producción de glucosa hepática y, por consiguiente, a una reducción de las reservas de glucógeno.

#### *Efecto del E-Co sobre dislipidemia*

La administración del Extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* (E-Co) disminuyó significativamente los niveles de TG y COL en los grupos tratados con TI y E-Co en comparación con el grupo control de daño con dislipidemia, demostrando un efecto hipolipemiante. Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con los resultados del ensayo clínico realizado por Herrera-Arellano et al. (2004) donde un extracto acuoso de *C. obtusifolia* mostró efectos hipolipemiantes significativos en pacientes con DM-2.

#### *Efecto del E-Co sobre esteatohepatitis*

La actividad de la FA y GGTP), así como la concentración de bilirrubinas son marcadores clave de colestasis. En los grupos tratados con TI, estos marcadores se incrementaron significativamente,

reflejando daño biliar. La administración de E-Co disminuyó los niveles de FA y GGTP en modelos con Tl, por lo que ayudó a reducir la retención biliar causada por el Tl, evidenciando una mejora en la función biliar, quizás activando transportadores de bilis de la membrana canalicular o bien por los efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores sobre citocinas que promueven la colestasis a nivel molecular sobre esos transportadores; aunque, debe considerarse que dependiendo de la dosis y tiempo de administración los polifenoles pueden causar colestasis (Sánchez-Salgado et al., 2019; Stieger et al., 2017). Debido que la GGTP es un marcador más específico de daño hepático, los resultados respaldan su efecto hepatoprotector parcial. A pesar de ello, en el modelo de extracto y daño combinado (Tl + TC + E-Co), se observó un aumento significativo de FA y BD en comparación con el grupo control de daño combinado. Este aumento podría explicarse por la baja especificidad de la FA, ya que su actividad no se limita al hígado, sino que también está presente en tejidos como huesos e intestinos. Por otro lado, el aumento de BD indica una alteración en la excreción biliar que no fue revertida por el E-Co en el modelo combinado, posiblemente debido a la persistencia del daño hepático severo inducido por TC.

La necrosis hepática evaluada mediante la actividad de ALT aumentó significativamente en los modelos de daño inducido por Tl y TC. La administración de E-Co presentó una disminución significativa de los niveles de ALT, en el grupo tratado con Tl y E-Co, lo que indica que el E-Co protege a los hepatocitos contra el daño celular inducido por Tl. En el grupo reto de TC y E-Co, se evidenció un aumento marcado de la necrosis; aunque, hay que recordar que ALT no se elevó por la administración del E-Co per se. Pese a esto, en el modelo de daño combinado, el E-Co no logró revertir el aumento de ALT, sugiriendo una protección limitada en condiciones de daño más severo. Es importante mencionar que en daño combinado el extracto aumentó los niveles de ALT, lo que inicialmente podría interpretarse como indicio de necrosis; sin embargo, al analizar los demás marcadores de daño hepático, esta interpretación no resulta consistente.

Si bien ALT aumentó, estudios como los de Pratt y Kaplan (2000) destacan que las elevaciones en los niveles de aminotransferasas pueden ser indicativas de daño hepático leve o incluso modulaciones enzimáticas sin correlacionarse directamente con necrosis celular. De acuerdo con Wang et al. (2023), el ácido clorogénico (CGA), uno de los principales compuestos bioactivos identificados en *Cecropia obtusifolia*, desempeña un papel clave en la regulación de rutas de señalización involucradas en la respuesta antioxidante y la inflamación, como Nrf2/HO-1. Estas vías podrían estar relacionadas con la modulación de la expresión y actividad de ALT en nuestro

modelo, lo que refuerza la hipótesis de que el E-Co no causa toxicidad directa, sino que promueve ajustes fisiológicos enzimáticos en respuesta al estrés oxidativo inducido. Respecto a la mejoría en otros marcadores como LP y CAT indica que el E-Co no está causando necrosis directa ni toxicidad.

El Tl y el TC aumentaron significativamente los marcadores de estrés oxidativo como la LP y la actividad de CAT, reflejando un estado de estrés oxidativo severo en los hepatocitos. Aunque las pruebas antioxidantes *in vitro* mostraron que el E-Co tiene actividad antioxidante moderada, *in vivo* no logró revertir significativamente estos marcadores de estrés oxidativo. Esto podría atribuirse a la polaridad intermedia del acetato de etilo utilizado como disolvente, que limita la extracción de compuestos altamente antioxidantes. En consecuencia, el E-Co no fue suficientemente efectivo para mitigar el estrés oxidativo en las pruebas *in vivo* realizadas, aunque sí mostró actividad antioxidante en las pruebas *in vitro*. Estos resultados sugieren que, aunque el E-Co tiene propiedades hepatoprotectoras parciales, su capacidad para revertir la colestasis y la disfunción biliar es limitada.

El glucógeno hepático disminuyó significativamente tras la administración de TC y Tl, lo que refleja una alteración en el metabolismo energético del hígado. La administración de E-Co también redujo las reservas de glucógeno, tanto en condiciones normales como en los modelos de daño inducido; aunque el glucógeno hepático disminuyó con el tratamiento de E-Co, los niveles no se depletaron. Esto indica que, a pesar del daño combinado, el hígado mantuvo cierta funcionalidad metabólica, y que la disminución de glucógeno hepático observada en los grupos tratados con E-Co en comparación del grupo control de controles, se puede atribuir a la razón expuesta en un inicio, por la inhibición de la glucosa-6-fosfato translocasa, mediada por el ácido clorogénico presente en el extracto, este mecanismo afecta la síntesis de glucosa hepático y reduce las reservas de glucógeno (Andrade-Cetto y Vázquez, 2010). También, algunos constituyentes del extracto de polaridad intermedia podrían ser inhibidores de fosfodiesterasa-4, que conlleva a un incremento de AMPc, éste a su vez regula a la baja la síntesis de glucógeno y eleva su degradación (Röhrig et al., 2017). Asimismo, se observó que en el modelo de daño combinado los niveles de glucógeno casi llegaron a los niveles normales, lo que implica que a pesar del daño inducido se mantuvo la función hepática.

### *Papel de los compuestos bioactivos de E-Co en la modulación fisiológica*

El omega-3, en particular los ácidos grasos EPA y DHA, ha demostrado tener múltiples beneficios, incluyendo la modulación del perfil lipídico, la reducción de triglicéridos, la mejora de la sensibilidad a la insulina y reducción del estrés oxidativo, tal como se documenta en estudios recientes revisados por Banaszak et al. (2024). Adicionalmente, se ha reportado que el omega-3 reduce la colestasis hepática inducida por TC, según lo señalado en el trabajo de Fernández-Martínez et al. (2019). Por esta razón, en el presente estudio se utilizó el omega-3 como un estándar de comparación adecuado para evaluar los efectos del E-Co se administró una dosis de 300 mg/kg en los modelos experimentales.

Si bien el extracto de acetato de etilo de *Cecropia Obtusifolia* mostró una reducción significativa de triglicéridos y colesterol, el omega-3 presentó beneficios adicionales en la regulación de la inflamación sistémica y la modulación de enzimas hepáticas. Al comparar estos efectos, se observó que el omega-3 posee propiedades más marcadas en la reducción de colestasis y estrés oxidativo, lo que coincide con su acción antiinflamatoria y antioxidante ampliamente documentada. Sin embargo, el extracto de acetato de etilo de *Cecropia obtusifolia* mostró eficacia en la modulación de marcadores lipídicos (TG y COL), lo que refuerza su potencial como agente hipolipemiante en modelos de daño hepático. Estudios futuros deberían enfocarse en optimizar la composición y técnica de extracción del extracto para potenciar su efecto hepatoprotector y antioxidante.

El estrés oxidativo y la inflamación desempeñan un papel crucial en la progresión de la dislipidemia y el daño hepático. Se ha demostrado que ciertos compuestos bioactivos pueden regular la actividad de NF- $\kappa$ B, reduciendo la producción de citocinas proinflamatorias y protegiendo a los hepatocitos contra el daño oxidativo (Espinosa-Sánchez et al., 2025). En este contexto, los flavonoides y polifenoles presentes en *Cecropia obtusifolia* podrían modular estas vías, favoreciendo la protección celular frente a especies reactivas de oxígeno y reduciendo la inflamación hepática.

Finalmente, en los grupos control de daño combinado (TL + TC), no se observó un efecto sinérgico negativo entre ambos agentes. Esto podría explicarse por la acción predominante del tiloxapol sobre el tetracloruro de carbono. Como se mencionó previamente, el Tl causa daño hepático principalmente al inducir dislipidemia, lo que se reflejó en un aumento significativo de TG y COL; incluso, este proceso también incrementó el estrés oxidativo, medido a través de la enzima CAT en el grupo con daño combinado. No obstante, a dosis bajas, el Tl presenta propiedades

antioxidantes que le permiten neutralizar radicales libres, como los radicales hidroxilos y el ácido hipocloroso; además, tiene la capacidad de mitigar los efectos dañinos de las endotoxinas *in vivo* al desensibilizar los receptores de dichas endotoxinas en los macrófagos, lo que contribuye a reducir la respuesta inflamatoria. Aunque estudios previos han demostrado que el TI induce apoptosis en dosis altas, esto ocurre debido a la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno por parte de los macrófagos (Jung-hua et al., 2008).

La reducción del daño hepático esperado inducido por el TC podría atribuirse al efecto antioxidante y antiinflamatorio previamente reportado para el TI, ya que este compuesto pudo actuar como un atenuador de los radicales libres  $TC_3'$  generados en el hígado a partir del TC. A pesar de que el TI fue administrado 24 hrs antes del TC, con el fin de evitar interferencias como las observadas en el estudio de Fernández-Martínez et al. (2019), se sabe que sus efectos hiperlipidémicos pueden persistir hasta por 4 días en el plasma (Lawler et al., 2016) Esto sugiere que el TI no había sido eliminado completamente del organismo y que aún podría haber ejercido actividad antioxidante contra el TC y sus radicales libres.

Adicionalmente, el TI ejerce un efecto antiinflamatorio al inhibir al mediador proinflamatorio NF- $\kappa$ B, lo que reduce la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ), IL-6, IL-8 y IL-1 $\beta$  (Chalmeh et al., 2016; Ghio et al., 1996). Su estructura química le confiere propiedades antioxidantes directas (Sachs et al., 1999), además de la capacidad de regular la síntesis de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) (Chalmeh et al., 2016). Estos mecanismos refuerzan la importancia del TI en la modulación del estrés oxidativo y la inflamación en modelos experimentales de daño hepático.

## 9. CONCLUSIONES

Esta investigación logró responder a los objetivos planteados al demostrar que el extracto de acetato de etilo de las hojas de *Cecropia obtusifolia* posee efectos farmacológicos relevantes principalmente sobre los modelos de dislipidemia. Los hallazgos más significativos son que presenta un potencial terapéutico notable como agente hipolipemiante y hepatoprotector, aunque con limitaciones en ciertos contextos de daño hepático severo. En relación con sus efectos metabolismo energético hepático, la disminución de glucógeno en los grupos tratados con E-Co, tanto en condiciones normales como de daño inducido, resalta un efecto metabólico directo del extracto. Este efecto podría ser beneficioso para evitar la sobreproducción de glucosa hepática en pacientes con resistencia a la insulina, esta evidencia es consistente con su uso tradicional, haciendo referencia a los estudios realizados que giran en torno al efecto antidiabético de *Cecropia obtusifolia*.

El extracto representa una alternativa prometedora para abordar los problemas de dislipidemia y daño hepático de origen metabólico, especialmente dado su origen natural y bajo perfil de toxicidad. Sin embargo, su capacidad para mitigar colestasis y estrés oxidativo debe ser estudiada en profundidad, y es crucial evaluar su eficacia en ensayos clínicos.

## 10. REFERENCIAS

- Aaby, K., Skrede, G., y Wrolstad, R. E. (2005). Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4032–4040. <https://doi.org/10.1021/jf048001o>
- Andrade-Cetto, A., y Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99(3), 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
- Andrade-Cetto, A., y Vázquez, R. C. (2010). Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1), 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.016>
- Andrade-Cetto, A., y Wiedenfeld, H. (2001). Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. In *Journal of Ethnopharmacology*, 78. [www.elsevier.com/locate/jethpharm](http://www.elsevier.com/locate/jethpharm)
- Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J., y O. Serna-Saldívar, S. (2015). Anti-inflammatory glycosylated flavonoids as therapeutic agents for treatment of diabetes-impaired wounds. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 15(23), 2456–2463.
- Avella Gutiérrez, D. M., Ortiz García, C. A., y Mendoza Cisneros, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal.
- Avendaño Ayala, C. J. (2010). Evaluación de los efectos fisiológicos y bioquímicos de una dextrana en roedores de laboratorio.
- Banaszak, M., Dobrzyńska, M., Kawka, A., Górna, I., Woźniak, D., Przysławski, J., y Drzymała-Czyż, S. (2024). Role of Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) as modulatory and anti-inflammatory agents in noncommunicable diet-related diseases – Reports from the last 10 years. *Clinical Nutrition ESPEN*, 63, 240–258. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.06.053>
- Berberich, A. J., y Hegele, R. A. (2022). A Modern Approach to Dyslipidemia. *Endocrine Reviews*, 43(4), 611–653. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnab037>
- Berger, L., Rudolph, G. y Meites, S. (1963). *Standard methods of clinical chemistry*, 5.
- Bergmeyer, H., y Grabl, M. (1983). Enzymes. In *Methods of Enzymatic Analysis*, 269–270. Verlag-Chemie Weinheim.
- Bradford, M. (1976). A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Buege, J. A., y Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. S. Fleischer y L. Packer (Eds.), *Methods in Enzymology*, 52, 302–310. Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Buzzetti, E., Pinzani, M., y Tsochatzis, E. A. (2016). The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism: Clinical and Experimental*, 65(8), 1038–1048. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>
- Cadena-Zamudio, J. D., Nicasio-Torres, M. del P., Guerrero-Analco, J. A., y Ibarra-Laclette, E. (2019). Ethnopharmacological studies of *Cecropia obtusifolia* (Urticaceae) and its importance in the treatment of type 2 diabetes mellitus: A mini-review. *Acta Botanica Mexicana*, (126). Instituto de Ecología, A.C. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1361>
- Cadena-Zamudio, J. D., Nicasio-Torres, P., Monribot-Villanueva, J. L., Guerrero-Analco, J. A., y Ibarra-Laclette, E. (2020). Integrated analysis of the transcriptome and metabolome of *Cecropia obtusifolia*: A plant with high chlorogenic acid content traditionally used to treat diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 1–27. <https://doi.org/10.3390/ijms21207572>
- Candás Estébanez, B., Pocoví Mieras, M., Romero Román, C., Vella Ramírez, J. C., Esteban Salán, M., Castro Castro, M. J., Rodríguez García, E., Arrobas Velilla, T., Calmarza, P., y Puzo Foncillas, J. (2019). Estrategia para el diagnóstico de las dislipidemias. Recomendación 2018. *Revista Del Laboratorio Clínico*, 12(4), e21–e33. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2019.03.001>

- Castell, A., y Fortoul Van Der Goes, T. I. (2010). *Histología y Biología Celular* (Mac Graw Hill).
- Céspedes Miranda, E. M., Hernández Lantigua, I., y Llopiz Janer, N. (1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 15(2).  
[https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S086403001996000200001&lng=es&lng=es](https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403001996000200001&lng=es&lng=es).
- Chalasan, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M., y Sanyal, A. J. (2012). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*, 142(7), 1592–1609.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.001>
- Chalmeh, A., Rahmani Shahraki, A., Heidari, S. M. M., Badiei, K., Pourjafar, M., Nazifi, S., y Zamiri, M. J. (2016). The comparative efficacy of tyloxapol versus pentoxifylline against induced acute phase response in an ovine experimental endotoxemia model. *Ilammopharmacology*, 24(1), 59–64.  
<https://doi.org/10.1007/s10787-015-0257-9>
- Chen, L., Teng, H., Jia, Z., Battino, M., Miron, A., Yu, Z., Cao, H., y Xiao, J. (2018). Intracellular signaling pathways of inflammation modulated by dietary flavonoids: The most recent evidence. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(17), 2908–2924. Taylor and Francis Inc.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1345853>
- Cheng, Y., Lu, C., y Yen, G. (2017). Phytochemicals enhance antioxidant enzyme expression to protect against NSAID-induced oxidative damage of the gastrointestinal mucosa. *Molecular Nutrition y Food Research*, 61(6). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600659>
- Clària, J., Dalli, J., Yacoubian, S., Gao, F., y Serhan, C. N. (2012). Resolvin D1 and Resolvin D2 Govern Local Inflammatory Tone in Obese Fat. *The Journal of Immunology*, 189(5), 2597–2605.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201272>
- Cohen, G., Dembiec, D., y Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry*, 34(1), 30–38. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(70\)90083-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(70)90083-7)
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2017). *Cecropia obtusifolia Bertol.* (1840), 4(439).
- Consolini, A. E., y Migliori, G. N. (2005). Cardiovascular effects of the South American medicinal plant *Cecropia pachystachya* (ambay) on rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(3), 417–422.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.030>
- Costanzo, L. S. (2011). *Fisiología* (4th ed., 327–378). Elsevier.
- de Abajo Olea, S. (2009). Epidemiología, definición, clasificación, despistaje y diagnóstico de las dislipemias. *Semergen*, 3–9.
- del Valle Díaz, S., Piñera Martínez, M., Medina González, N., y Sánchez Vega, Juan. (2017). Colestasis: un enfoque actualizado. *Medisan*, 21(7).
- Devlin, T. M. (2004). *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations* (Reverte).
- Drake, R. L., Wayne Vogl, A., y Mitchell, A. G. (2010). *Anatomía para estudiantes* (2da ed.).
- Eslam, M., Newsome, P. N., Sarin, S. K., Anstee, Q. M., Targher, G., Romero-Gomez, M., Zelber-Sagi, S., Wai-Sun Wong, V., Dufour, J. F., Schattenberg, J. M., Kawaguchi, T., Arrese, M., Valenti, L., Shiha, G., Tiribelli, C., Yki-Järvinen, H., Fan, J. G., Grønbaek, H., Yilmaz, Y., ... George, J. (2020). A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. In *Journal of Hepatology*, 73(1), 202–209. Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.03.039>
- Espinosa-Sánchez, A., López-Santillán, I. C., Estefes Duarte, J. A., García-Cordero, A. L., Muñoz-Pérez, V. M., y Castro-Rosas, J. (2025). Inflammation and Cancer Development: Basic Mechanisms and Evidence of its Regulation by *Hibiscus sabdariffa* Natural Extracts. *The Natural Products Journal*, 15. <https://doi.org/10.2174/0122103155352510241218055748>
- Estefes-Duarte, J. A., Espinosa-Sánchez, A., Pérez-Hernández, N., Ortiz, M. I., y Fernández-Martínez, E. (2024). Mechanisms of Bioactive Lipids to Modulate Master Regulators of Lipid Homeostasis and

- Inflammation in Metabolic Syndrome. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 26. <https://doi.org/10.2174/0113892010340506241014112341>
- Estes, C., Razavi, H., Loomba, R., Younossi, Z., y Sanyal, A. J. (2018). Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*, 67(1), 123–133. <https://doi.org/10.1002/hep.29466>
- Favari-Perozzi, L., Nava-Álvarez, R., y Meléndez-Camargo Ma. Estela. (2007). Probable efecto hepatoprotector de la verbena en la hepatitis inducida con tetracloruro de carbono en la rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(3), 19–25. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57938304>
- Fernandez-Flores, A., Llamas Velasco, M., y Saeb Lima, M. (2020). Guarumbo (*Cecropia obtusifolia*) for Warts in Zapotec Medicine. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 111(3), 189–191. <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2018.10.027>
- Fernández-Martínez, E., Lira-Islas, I. G., Cariño-Cortés, R., Soria-Jasso, L. E., Pérez-Hernández, E., y Pérez-Hernández, N. (2019). Dietary chia seeds (*Salvia hispanica*) improve acute dyslipidemia and steatohepatitis in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 43(9). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12986>
- Fonseca, É. J. N. da C., Figueredo Neto, J. A. de, Rocha, T. P. O., Nogueira, I. A. L., Melo, J. B. de, Farias, W. K. dos S., Silva, B. L. y Lopes, E. J. (2018). Metabolic Syndrome and Insulin Resistance by HOMA-IR in Menopause. *International Journal of Cardiovascular Sciences*. <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20180009>
- Fragozo-Ramos, M. C. (2022). Metabolic syndrome: a literature review. In *Medicina y Laboratorio*, 26(1), 47–62. Universidad de Antioquia. <https://doi.org/10.36384/01232576.559>
- Galano, A., Castañeda-Arriaga, R., Pérez-González, A., Tan, D. X., y Reiter, R. J. (2016). Phenolic melatonin-related compounds: Their role as chemical protectors against oxidative stress. *Molecules*, 21(11). <https://doi.org/10.3390/molecules21111442>
- Galicia-Moreno, M., Favari, L., y Muriel, P. (2013). Trolox mitigates fibrosis in a bile duct ligation model. *Fundamental y Clinical Pharmacology*, 27(3), 308–318. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2011.01020.x>
- Galicia-Moreno, M., y Gutiérrez-Reyes, G. (2014). Papel del estrés oxidativo en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica. *Revista de Gastroenterología de México*, 79(2), 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2014.03.001>
- Gaw, A., Murphy, M. J., Srivastava, R., Cowan, R. A., y O'Reilly, D. St. J. (2015). Bioquímica Clínica texto y atlas en color. *Bioquímica Clínica texto y atlas en color* (5th ed.).
- Ghio, A. J., Marshall, B. C., Diaz, J. L., Hasegawa, T., Samuelson, W., Povia, D., Kennedy, T. P., y Piantodosi, C. A. (1996). Tyloxapol inhibits NF-kappa B and cytokine release, scavenges HOCl, and reduces viscosity of cystic fibrosis sputum. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 154(3), 783–788. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.154.3.8810619>
- Glossmann, H. y Neville, D. M. (1972).  $\gamma$ -Glutamyltransferase in kidney brush border membranes. *FEBS Letters*, 19(4), 340–344.
- González-Villarreal L. M, y Carvajal, S. (2005). *La familia Cecropiaceae en el estado de Jalisco, México.*, Universidad de Guadalajara.
- Graffigna, M., Catoira, N., Soutelo, J., Azpelicueta, A., Berg, G., Perel, C., Migliano, M. E., Aranguren, M., Musso, C., y Farias, J. (2017). Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 54(1), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.raem.2016.12.001>
- Guerra-Ruiz, A. R., Casals, G., Iruzubieta, P., Lalana, M., Leis, A., López, R. M., Crespo, J., y Morales-Ruiz, M. (2021). Valoración bioquímica en la enfermedad hepática grasa asociada a la disfunción metabólica. *Advances in Laboratory Medicine*, 2(2), 209–219. <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0062>
- Hall, J. E. (2011). *Guyton y Hall: Compendio de Fisiología Médica*. Elsevier Health Sciences Spain-T.
- Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., y Poutanen, K. (2012). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1365–1402.

- Herrera-Arellano, A., Aguilar-Santamaría, L., García-Hernández, B., Nicasio-Torres, P., y Tortoriello, J. (2004). Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine*, *11*(7–8), 561–566. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.01.006>
- Houston, M. C., Fazio, S., Chilton, F. H., Wise, D. E., Jones, K. B., Barringer, T. A., y Bramlet, D. A. (2009). Nonpharmacologic Treatment of Dyslipidemia. *Progress in Cardiovascular Diseases*, *52*(2), 61–94. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2009.02.002>
- Jerez Fernandez, C., Irribarren Bravo, J., Diaz Urbina, F., Kusanovic Blanco, J., y Araya Zumaran, B. (2023). Mecanismos fisiopatológicos de la dislipidemia. *Nova*, *21*(40), 11–39. <https://doi.org/10.22490/24629448.6882>
- Jiménez-Rosales, A., Domínguez García, V., y Amaya-Chávez, A. (2010). El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *Ciencia Ergo Sum*, *17*(3).
- Jung-hua, S. K., Yi, L. L., y Jo-wen, T. (2008). Interactions between U-937 human macrophages and tyloxapol. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *64*(2), 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.01.024>
- Keith Moore, L., Arthur Dalley, F., y Anne Agur, M. (2013). *Anatomía con orientación clínica*.
- Lahsen, R. (2014). Síndrome metabólico y diabetes. *Rev. Med. Clin. Condes*, *25*(1).
- Lawler, H. M., Underkofler, C. M., Kern, P. A., Erickson, C., Bredbeck, B., y Rasouli, N. (2016). Adipose tissue hypoxia, inflammation, and fibrosis in obese insulin-sensitive and obese insulin-resistant subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *101*(4), 1422–1428. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-4125>
- Maíz, A. (1997). Consecuencias patológicas de la obesidad: hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipidemia. *Universidad Católica de Chile*, *26*(1), 5. <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>
- Mendez-Sanchez, N., Guevara Gonzalez, L., y Uribe Esquivel, M. (2001). *Pruebas de laboratorio e imagen en gastroenterología y hepatología*.
- Méndez-Sánchez, N., y Uribe, M. (2003). *Capítulo 11: Circulación enterohepática de ácidos biliares en Conceptos actuales en hepatología de Méndez-Sánchez, N. (Primera ed.). México, D. F.: Masson Doyma*, 101. (1st ed.). Masson Doyma.
- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Uribe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., y Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *14*(1), 1–10. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>
- Miguel-Soca, P. M. (2009). *Dislipidemias*, *20*(6). <http://scielo.sld.cu265>
- Moctezuma-Velázquez, C. (2018). Current treatment for non-alcoholic fatty liver disease. *Revista de Gastroenterología de México*, *83*(2), 125–133. Asociación Mexicana de Gastroenterología. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2017.10.003>
- Muriel, P. (1998). Nitric oxide protection of rat liver from lipid peroxidation, collagen accumulation, and liver damage induced by carbon tetrachloride. *Biochemical Pharmacology*, *56*(6), 773–779. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00220-2](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00220-2)
- Muriel, P. (2009). Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology International*, *3*(4), 526–536. <https://doi.org/10.1007/s12072-009-9158-6>
- Nicasio, P., Aguilar-Santamaría, L., Aranda, E., Ortiz, S., y González, M. (2005). Hypoglycemic effect and chlorogenic acid content in two *Cecropia* species. *Phytotherapy Research*, *19*(8), 661–664. <https://doi.org/10.1002/ptr.1722>
- Pérez-Nájera, V., Lugo-Cervantes, E., Gutiérrez-Lomelí, M., y Del-Toro-Sanchez, C. (2013). Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* risso) y determinación de su actividad antioxidante. *Biocencia*, *15*(3), 1822. [www.biocencia.uson.mx](http://www.biocencia.uson.mx)
- Posada-Ayala M. (2015). Análisis Bioquímico. *Paraninfo*.
- Pouwels, S., Sakran, N., Graham, Y., Leal, A., Pintar, T., Yang, W., Kassir, R., Singhal, R., Mahawar, K., y Ramnarain, D. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical

- management and effects of weight loss. In *BMC Endocrine Disorders*, 22(1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-00980-1>
- Pratt, D. S., y Kaplan, M. (2000). *Evaluation of abnormal liver-enzyme results in a symptomatic patients*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reitman, S., y Frankel, S. (1957). A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, 28(1), 56–63. <https://doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56>
- Revilla-Monsalve, M. C., Andrade-Cetto, A., Palomino-Garibay, M. A., Wiedenfeld, H., y Islas-Andrade, S. (2007). Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(3), 636–640. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.014>
- Rivera-Mondragón, A., Broeckx, G., Bijttebier, S., Naessens, T., Franssen, E., Kiekens, F., Caballero-George, C., Vander Heyden, Y., Apers, S., Pieters, L., y Foubert, K. (2019). Ultrasound-assisted extraction optimization and validation of an HPLC-DAD method for the quantification of polyphenols in leaf extracts of *Cecropia* species. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37607-2>
- Röhrig, T., Pacjuk, O., Hernández-Huguet, S., Körner, J., Scherer, K., y Richling, E. (2017). Inhibition of Cyclic Adenosine Monophosphate-Specific Phosphodiesterase by Various Food Plant-Derived Phytotherapeutic Agents. *Medicines*, 4(4), 80. <https://doi.org/10.3390/medicines4040080>
- Romero-Martínez, M., Shamah-Levy, T., Vielma-Orozco, E., Heredia-Hernández, O., Mojica-Cuevas, J., Cuevas-Nasu, L., Rivera-Dommarco, J., Gómez-Humarán, M., Gaona-Pineda, E. B., Gómez-Acosta, L. M., Mendoza-Alvarado, L. R., Suárez-Hernández, J. de J., Medina, N. A. I., Mendoza-Medina, E., Navarro-Sandoval, N. L., Pineda-Villegas, A. S., y Becerril-González, M. A. (2019). National Health and Nutrition Survey 2018-19: Methodology and perspectives. *Salud Publica de Mexico*, 61(6), 917–923. <https://doi.org/10.21149/11095>
- Saavedra-Chacón, M. F., Pérez, S., y Guevara, L. G. (2021). Metabolic associated fatty liver disease. A new proposal for a disease on the rise. *Iatreia*, 34(3), 241–252. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.101>
- Sachs, S., J. Ghio, A., y L. Young, S. (1999). Tyloxapol confers durable protection against hyperoxic lung injury in the rat. *Experimental Lung Research*, 25(6), 543–559. <https://doi.org/10.1080/019021499270123>
- Saladin, K. S. (2013). *Anatomía y fisiología: la unidad entre forma y función* (6a ed.). McGraw Hill Mexico.
- Sánchez-Salgado, J. C., Estrada-Soto, S., García-Jiménez, S., Montes, S., Gómez-Zamudio, J., y Villalobos-Molina, R. (2019). Analysis of flavonoids bioactivity for cholestatic liver disease: Systematic literature search and experimental approaches. *Biomolecules*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/biom9030102>
- Seifter, s., y Dayton, s. (1950). The estimation of glycogen with the anthrone reagent. *Archives of Biochemistry*, 25(1), 191–200.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sleisenger y Fordtran. (2017). *Enfermedades digestivas y hepáticas* (Mark Feldman, Lawrence S. Friedman, y Lawrence J. Brandt, Eds.). Elsevier.
- Stieger, B., Mahdi, Z. M., y Jager, W. (2017). Intestinal and Hepatocellular Transporters: Therapeutic effects and drug interactions of herbal supplements. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 57, 399–416. Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-105010>
- Tintinalli, E. J. (2013). *Tintinalli: Medicina de urgencias* (7ma ed.). McGraw-Hill.

- Tkachenko, O., Polishchuk, I., Gorchakova, N., y Zaychenko, H. (2020). Metabolic syndrome and lipid metabolism disorders: Molecular and biochemical aspects. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 37(1) 5–22. University of Nis, Faculty of Medicine. <https://doi.org/10.5937/afmnai2001005T>
- Toledo, V. M., Tellez, M. G. O., Sortibrán, A. N. C., Andrade-Cetto, A., y Rodríguez-Arnaiz, R. (2008). Genotoxicity testing of *Cecropia obtusifolia* extracts in two in vivo assays: The wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila* and the human cytokinesis-block micronucleus test. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.041>
- Villalba Torres, A. J., Arrieta Giménez, E., Espartero González, A., López Gómez, M., Jiménez Moraleda, B., y Martínez Martínez, M. (2021). Clasificación de las dislipidemias, una revisión bibliográfica. *Revista Sanitaria de Investigación*, 2(5).
- Voet, D., y Voet, J. (2006). *Bioquímica / Donald Voet, Judith G. Voet*. Médica Panamericana.
- Wang, Q., Liu, T., Koci, M., Wang, Y., Fu, Y., Ma, M., Ma, Q., y Zhao, L. (2023). Chlorogenic Acid Alleviated AFB1-Induced Hepatotoxicity by Regulating Mitochondrial Function, Activating Nrf2/HO-1, and Inhibiting Noncanonical NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Antioxidants*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/antiox12122027>
- World Health Organization. (2024). *Obesity and overweight*. World Health Organization.
- Younossi, Z. M., Koenig, A. B., Abdelatif, D., Fazel, Y., Henry, L., y Wymer, M. (2015). *Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes*. <https://doi.org/10.1002/hep.28431/suppinfo>
- Zapata Jaramillo, J. B. (2016). La dislipidemia en adultos y su tratamiento farmacológico. *Investigar y Aprender*, 1, 30–39. <https://doi.org/10.22209/ia.n1a04>