



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
“Dr. Ignacio Chávez”
División de Estudios de Posgrado

“Efecto del aceite de aguacate y su fracción
insaponificable sobre la resistencia a la insulina y
su relación con la oxidación beta de ácidos grasos
en ratas con enfermedad hepática no alcohólica”

Tesis

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Presenta:

Q.F.B. Olin Torres Isidro

Director de tesis: D. en C. Christian Cortés Rojo

Co-directora de tesis: D. en C. Marcela González Montoya

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas

Morelia, Michoacán México, Junio, 2025

Miembros del Comité Tutorial designado por la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo:

Presidente: D. en C. Bertha Fenton Navarro

Vocal 1 (Director de Tesis): D. en C. Christian Cortes Rojo

Vocal 2 (Codirectora de tesis): D en C Marcela González Montoya

Vocal 3: D en C. Daniel Godínez Hernández

Vocal 4: D. en C. Claudia Isabel García Berumen

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca No. 845471.

Este trabajo se realizó con el apoyo otorgado al proyecto 7973911, por el programa de investigación 2023-2024 de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.

Al Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán por los apoyos otorgados a los proyectos ICTI-PICIR23-063 y ICTI-PICIR23-028.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	V
ÍNDICE DE CUADROS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 El HIGADO.....	1
1.2 METABOLISMO DE LÍPIDO.....	2
1.2.1 Digestión y absorción de lípidos.....	2
1.2.2 Transporte de lípidos por lipoproteínas.....	3
1.2.3 Degradación de lípidos hepáticos.....	5
1.2.3.1 Oxidación β de ácidos grasos.....	5
1.3 LA MITOCONDRIA.....	6
1.3.1 Cadena de transporte de electrones.....	7
1.3.2 Fosforilación oxidativa.....	13
1.4 ENFERMEDAD HEPÁTICA NO ALCOHOLICA.....	15
1.4.1 Clasificación.....	15
1.4.2 Epidemiología.....	17
1.4.3 Fisiopatología.....	18
1.4.3.1 Determinantes genéticos.....	18
1.4.3.2 Determinantes nutricionales.....	18
1.4.3.3 Progresión de la EHNA: teoría de los “hits”.....	19
1.4.4 Diagnóstico.....	25
1.4.5 Tratamiento.....	26
1.5 EL AGUACATE.....	27
1.5.1 El aceite de aguacate.....	28
1.5.2 Estudios preclínicos sobre el aceite de aguacate.....	34
1.5.2.1 El aceite de aguacate en la diabetes.....	34
1.5.2.2 El aceite de aguacate en la EHNA.....	35
II. JUSTIFICACIÓN.....	37
III. HIPÓTISIS.....	38
IV. OBJETIVOS.....	38
4.1 OBJETIVOS GENERALES.....	38
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	38
V. ESTRATEGÍA EXPERIMENTAL.....	39
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
6.1 OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN INSAPONIFICABLE DE ACEITE DE AGUACATE.....	40
6.2 CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE AGUACATE Y SU FRACCIÓN INSAPONIFICABLE.....	40
6.3 MODELOS EXPERIMENTALES.....	40
6.4 PRUEBA DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA.....	43
6.5 DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA.....	43
6.6 DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO.....	43

6.7 EVALUACIÓN HISTOLOGICA DE LA EHNA.....	43
6.8 DETERMINCIÓN DE LOS NIVELES DE DAG	44
6.9 AISLMIENTO DE MITOCONDRIAS.....	44
6.9.1 Medición del consumo de oxígeno.....	44
6.9.2 Determinación de la oxidación β de ácidos grasos.....	45
6.9.3 Potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi$).....	45
6.9.4 Determinación de la actividad del complejo I.....	45
6.9.5 Determinación del segmento del complejo II-III.....	46
6.9.6 Determinación de la producción mitocondrial de ERO.....	46
6.10 ANÁLISIS DE DATOS.....	47
6.11 ASPECTOS ÉTICOS.....	47
VII. RESULTADOS.....	48
7.1 CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE AGUACATE Y SU FRACCION INSAPONIFICABLE.....	48
7.2 MODELO EXPERIMENTAL I.....	52
7.2.1 Efecto del AA y la FIAA sobre la tolerancia oral a la glucosa y la resistencia a La insulina.....	52
7.2.2 Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa.....	55
7.2.3 Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana mitocondrial	56
7.2.4 Efecto del AA y la FIAA sobre la actividad de los complejos I y II-III de la CTE.....	57
7.2.5 Efecto del AA y la FIAA sobre la producción de mitocondrial de ERO.....	58
7.3 MODELO EXPERIMENTAL II.....	59
7.3.1 Efecto del AA y la FIAA sobre la tolerancia oral a la glucosa y la resistencia a la insulina.....	59
7.3.2 Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa.....	61
7.3.3 Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana mitocondrial	62
7.3.4 Efecto del AA y la FIAA sobre la producción de mitocondrial de ERO.....	63
7.3.5 Efecto del AA y la FIAA sobre la oxidación β de ácidos grasos.....	64
7.3.6 Efecto del AA y la FIAA sobre los niveles de DAG.....	65
7.3.7 Efecto del AA y la FIAA sobre el perfil lipídico.....	66
7.3.8 Efecto del AA y la FIAA en histología hepática de ratas con EHNA.....	67
VIII. DISCUSIÓN.....	69
IX. CONCLUSIÓN.....	82
X.PERSPECTIVAS.....	83
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	84

ÍNDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1. Estructura del lobulillo.....	2
ESQUEMA 2. Metabolismo de lipoproteínas.....	4
ESQUEMA 3. Cadena de transporte de electrones.....	7
ESQUEMA 4. Estructura del complejo I (NADH:ubiquinona oxidorreductasa).....	8
ESQUEMA 5. Estructura del complejo II (succinato deshidrogenasa).....	9
ESQUEMA 6. Estructura del complejo III (ubiquinona:citocromo <i>c</i> oxidorreductasa).....	10
ESQUEMA 7. Ruta de los electrones del QH ₂ al citocromo <i>c</i> a través del complejo III (ciclo Q).....	11
ESQUEMA 8. Estructura del complejo IV (citocromo <i>c</i> oxidorreductasa).....	12
ESQUEMA 9. Fosforilación oxidativa.....	13
ESQUEMA 10. Estructura de la F1F0-ATP sintasa.....	14
ESQUEMA 11. Espectro clínico patológico de la EHNA.....	16
ESQUEMA 12. Desarrollo de la EBfermedad Hepática no Alcohólica (EHNA).....	24
ESQUEMA 13. Diagrama de flujo de la estrategia experimental.....	39

ÍNDICE DE CUDROS

CUADRO 1. Herramientas de diagnóstico para la EHNA.....	25
CUADRO 2. Composición de ácidos grasos en el aceite de aguacate.....	31
CUADRO 3. Componentes de la dieta experimental.....	42
CUADRO 4. Características de los grupos experimentales.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Identificación de ácidos en el AA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas.....	48
TABLA 2. Identificación de compuestos en la FIAA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas.....	49
TABLA 3. Identificación de compuestos en la FIAA por ionización por electrospray.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Efecto del AA sobre la RI en Modelo I.....	52
FIGURA 2. Efecto de la FIAA sobre la RI en Modelo I.....	54
FIGURA 3. Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa en Modelo I.....	55
FIGURA 4. Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana en Modelo I.....	56
FIGURA 5. Efecto del AA y la FIAA sobre la actividad de los complejos I y II-III en Modelo I.....	57
FIGURA 6. Efecto del AA y la FIAA sobre las ERO en Modelo I.....	58
FIGURA 7. Efecto del AA sobre la RI en Modelo II.....	59
FIGURA 8. Efecto de la FIAA sobre la RI en Modelo II.....	60
FIGURA 9. Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa en Modelo II.....	61

FIGURA 10. Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana en Modelo II.....	62
FIGURA 11. Efecto del AA y la FIAA sobre las ERO en Modelo II.....	63
FIGURA 12. Efecto del AA y la FIAA sobre la oxidación β de ácidos grasos en Modelo II.....	64
FIGURA 13. Efecto del AA y la FIAA sobre los niveles de DAG en Modelo II.....	65
FIGURA 14. Efecto del AA y la FIAA sobre el perfil lipídico en Modelo II.....	66
FIGURA 15. Efecto del AA y la FIAA en el desarrollo de la EHNA en Modelo II.....	67
FIGURA 16. Esteatosis e inflamación hepática en Modelo II.....	68

RESUMEN

La enfermedad hepática no alcohólica (EHNA) abarca un espectro de patologías que va desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis, la cual puede evolucionar a fibrosis, cirrosis o cáncer hepatocelular. Su desarrollo se asocia con el consumo excesivo de alimentos ultraprocesados, que favorecen la acumulación de productos incompletos de la oxidación β de ácidos grasos, como el diacilglicerol hepático (DAG), que interfiere con la señalización del receptor de insulina. Estudios previos indican que el consumo del aceite de aguacate (AA) previene la EHNA al disminuir la hiperglucemia, mejorar la disfunción mitocondrial, disminuir el estrés oxidativo e inflamación en hígado de ratas. Sin embargo, se desconoce si estos efectos se deben a los compuestos de la fracción insaponificable del aceite de aguacate (FIAA). El objetivo del trabajo fue evaluar si el AA y la FIAA mejoran la resistencia a la insulina (RI) en un modelo de EHNA al disminuir los niveles de DAG, favoreciendo la oxidación β de ácidos grasos. Los tratamientos se administraron durante 12 y 16 semanas vía oral (4g/kg y 100 mg/kg, respectivamente). Se analizaron la RI, el perfil lipídico, la histopatología hepática, los niveles de DAG, la oxidación β de ácidos grasos, el funcionamiento mitocondrial, y estrés oxidativo. Los resultados demostraron que el AA y la FIAA mejoraron la RI y redujeron los lípidos séricos, la esteatosis e inflamación hepática. En el grupo EHNA/AA se mostró una disminución en los niveles de DAG mientras que en el grupo EHNA/FIAA disminuyó la oxidación β de ácidos grasos. Además, ambas suplementaciones favorecieron la función mitocondrial sin inducir estrés oxidativo. Estos hallazgos, respaldan el potencial terapéutico del AA y la FIAA para prevenir la EHNA y reducir la hiperglucemia.

PALABRAS CLAVE: enfermedad hepática no alcohólica, resistencia a la insulina, aceite de aguacate, fracción insaponificable de aceite de aguacate, diabetes, oxidación β de ácido grasos, diacilglicerol, función mitocondrial.

ABSTRACT

Non-alcoholic liver disease (NAFLD) encompasses a spectrum of pathologies ranging from simple steatosis to steatohepatitis, which can progress to fibrosis, cirrhosis or hepatocellular cancer. Its development is associated with the excessive consumption of ultraprocesed foods, which favor the accumulation of incomplete products of β -oxidation of fatty acids, such as hepatic diacylglycerol (DAG), which interferes with insulin receptor signaling. Previous studies have indicated that avocado oil (AO) consumption prevents NAFLD by decreasing hyperglycemia, improving mitochondrial dysfunction, decreasing oxidative stress and inflammation in rat livers. However, it is not known whether these effects are due to compounds in the unsaponifiable fraction of avocado oil (UFAO). The word aimed of the work was to evaluate whether AO and UFAO improve insulin resistance (IR) in a NAFLD model by decreasing DAG levels, favoring the β -oxidation of fatty acids. Treatments were administered for 12 and 16 weeks orally (4g/kg and 100 mg/kg, respectively). IR, lipid profile, liver histopathology, DAG levels, β -oxidation of fatty acids, mitochondrial functioning, and oxidative stress were analyzed. The results showed that AA and UFAO improved IR and reduced serum lipids, steatosis, and hepatic inflammation. In the NAFLD/AO group, a decrease in DAG levels was shown while in the NAFLD/UFAO group β -oxidation of fatty acids decreased. Furthermore, both supplementations favored mitochondrial function without inducing oxidative stress. These findings, support the therapeutic potential of AO and UFAO to prevent NAFLD and reduce hyperglycemia.

KEYWORDS: non-alcoholic liver disease, insulin resistance, avocado oil, unsaponifiable fraction of avocado oil, diabetes, fatty acid β oxidation, diacylglycerol, mitochondrial function.

I. INTRODUCCIÓN

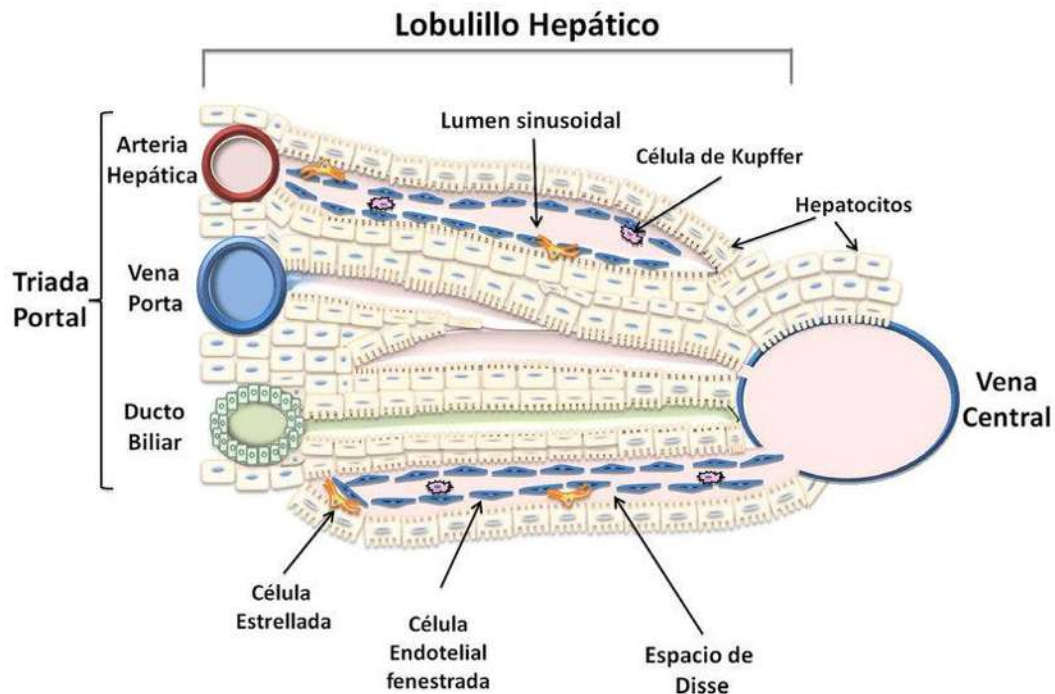
1.1 El hígado

El hígado es un órgano de gran tamaño, ubicado en el lado derecho del cuerpo, específicamente en el cuadrante superior derecho del abdomen. El peso normal de un hígado adulto oscila entre 1200 y 1500 g. Se encuentra cubierto y protegido en su mayor parte por la parte inferior de la caja torácica. El hígado recibe sangre del intestino a través de la vena porta, la cual transporta la mayoría de los nutrientes absorbidos después de una comida (Francque et al., 2021). A nivel anatómico se constituye en unidades funcionales denominadas “lobulillos” los cuales presentan una morfología hexagonal (Esquema 1). En cada vértice de dicho hexágono se localiza una tríada portal constituida por la vena porta, la arteria hepática y el conducto biliar (Kalra et al., 2023). Los hepatocitos conforman el componente epitelial del hígado, organizados en placas y entre ellos se encuentra el sinusoides, donde además se localizan otros componentes celulares. El sinusoides está recubierto por células endoteliales fenestradas y el espacio que se establece entre las células endoteliales y los hepatocitos corresponde al espacio de Disse. Por su parte las células de Kupffer se encuentran ubicadas en el lumen sinusoidal y las células estrelladas se encuentran en la zona perisinusoidal (Coello et al., 2017).

Según la función y la perfusión, los hepatocitos se dividen en 3 zonas:

- La zona I, se considera la región periportal de los hepatocitos, la cual se caracteriza por ser la más perfundida y la primera en regenerarse debido a su proximidad a la sangre oxigenada y los nutrientes. Debido a la alta perfusión, el metabolismo oxidativo es muy activo en esta zona, lo que incluye la β -oxidación, la gluconeogénesis, la formación de bilis, la formación de colesterol y el catabolismo de aminoácidos.
- La zona II se define como la región pericentral de los hepatocitos, y esta zona se encuentra entre las zonas I y III.
- La zona III tiene la perfusión más baja debido a su distancia de la tríada portal. En este sitio se desempeña el papel más importante en la desintoxicación, la

biotransformación de fármacos, la cetogénesis, la glucólisis, la lipogénesis, la síntesis de glucógeno y la formación de glutamina (Kalra et al., 2023).



Esquema 1. Estructura del lobulillo hepático. Obtenido de (Coello et al., 2017)

1.2 Metabolismo de lípidos

Los lípidos se sintetizan intracelularmente o se derivan de la grasa dietética. El 95% de los lípidos de la dieta son triglicéridos (TG), mientras que el 5% restante de los lípidos está conformado por colesterol esterificado, colesterol libre, vitaminas liposolubles, ácidos grasos libres (AGL) y fosfolípidos (Nehme et al., 2023). Su metabolismo abarca procesos complejos de digestión, absorción, transporte y degradación, que permite la obtención de 9 kcal de energía por gramo. Los lípidos se usan para la síntesis de componentes estructurales claves (Wang et al., 2013).

1.2.1 Digestión y absorción de lípidos

La digestión y absorción de las grasas ocurre en tres fases. Primero, la hidrólisis intraluminal inicia en la cavidad bucal con la lipasa lingual y continúa en el estómago con la lipasa gástrica, que descompone los TG en diglicéridos y AGL. Luego, en el intestino delgado, la lipasa pancreática y la colipasa descomponen aún más las grasas en AGL y

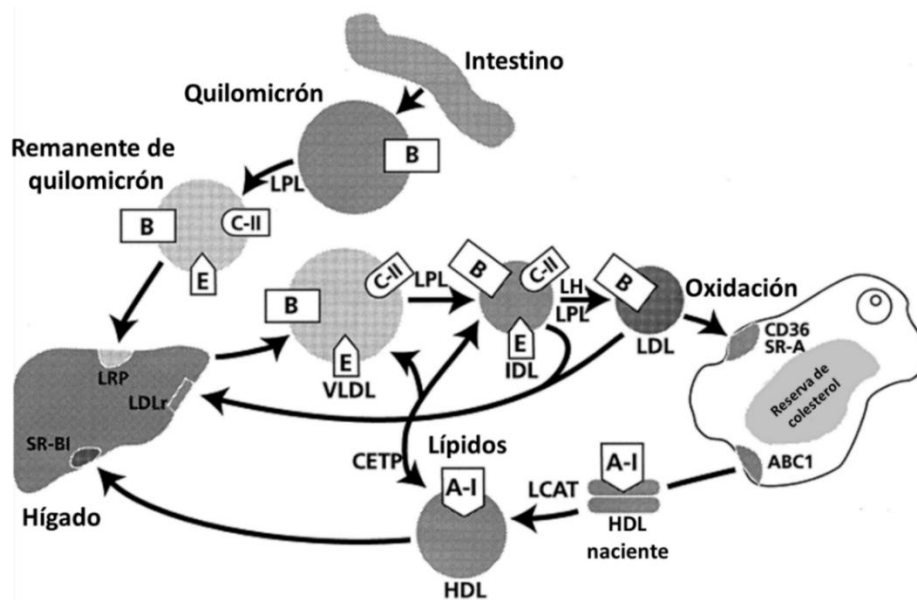
monoglicéridos, que forman micelas con sales biliares para su transporte a través de la membrana intestinal. Finalmente, los lípidos son absorbidos en los enterocitos y se ensamblan en quilomicrones, que ingresan al sistema linfático y luego al torrente sanguíneo para su distribución al hígado y a las células periféricas, especialmente al tejido adiposo (Omer & Chiodi, 2024).

1.2.2 Transporte de lípidos por lipoproteínas

En el metabolismo de las lipoproteínas, intervienen tres vías principales interconectadas: (1) el transporte de grasa exógena; (2) el transporte de grasa hepática endógena; y (3) el transporte reverso de colesterol. El enterocito y el hígado producen lipoproteínas que incluyen quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteína de alta densidad (HDL). La grasa dietética se absorbe en las células intestinales a través de los quilomicrones, en un proceso que requiere apolipoproteína B. Los TG presentes en el núcleo de los quilomicrones se hidrolizan en AGL y glicerol por la lipoproteína lipasa y su cofactor apolipoproteína C-II, produciendo un remanente de quilomicrón que es absorbido por la proteína receptora similar a lipoproteína de baja densidad (LRP) ubicada en la superficie del hígado. Una eliminación tardía de los restos de quilomicrones puede promover la aterogénesis.

Las VLDL se secretan desde el hígado y los TG presentes en el núcleo de la VLDL se hidrolizan en AGL y glicerol por la LPL y su cofactor apolipoproteína C-II para producir remanentes de VLDL más pequeños y en última instancia, IDL. Las partículas de IDL se eliminan mediante la interacción de la apolipoproteína E con el receptor de lipoproteína de baja densidad ubicado en la superficie del hígado, o los TG presentes en las IDL pueden ser hidrolizados aún más por la lipasa hepática y producir LDL. Las LDL normalmente se eliminan mediante la interacción de la apolipoproteína B con el receptor de lipoproteína de baja densidad. Si la LDL se oxida, puede ingresar al macrófago a través de los receptores scavenger CD36 y SR-A en la superficie del macrófago. Las partículas de HDL nacientes se producen en el hígado y el intestino. Se secretan como partículas que contienen principalmente fosfolípidos y apolipoproteína A-I. Las HDL nacientes interactúan con células periféricas como los macrófagos y eliminan el colesterol no esterificado a través de

la proteína transportadora ABC1. El colesterol presente en las HDL nacientes se esterifican con un AG derivado de la lecitina (fosfatidilcolina) por la lecitina colesterol acil transferasa (LCAT) y su cofactor apolipoproteína A-I, produciendo una partícula HDL esférica y madura. El éster de colesterol presente en el núcleo de la HDL es luego devuelto al hígado, ya sea por la interacción de la HDL con el receptor scavenger SR-B1 o por la transferencia a las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B, mediante la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP) (Albitar et al., 2024; Kwiterovich, 2000).



Esquema 2. Metabolismo de lipoproteínas. La grasa exógena se transporta desde el intestino hacia el hígado, a través de las diversas lipoproteínas (VLDL, IDL, LDL y HDL). Las VLDL secretadas por el hígado contienen TG que se hidrolizan por LPL, produciendo IDL y LDL. La eliminación de estas lipoproteínas involucra interacciones con receptor scavenger SR-BI en el hígado, mientras que las LDL oxidadas pueden ser captadas por macrófagos y ser eliminadas por los receptores scavenger CD36 y SR-A. Las HDL nacientes contienen principalmente fosfolípidos y A-I que participan en la eliminación del colesterol periférico y su retorno al hígado. El éster de colesterol presente en el núcleo de las HDL regresa al hígado, ya sea por la interacción de las HDL con el receptor SR-B1 o por transferencia a las lipoproteínas que contienen B mediante la proteína CETP. Abreviaturas: lipoproteína de alta densidad (HDL); lipoproteína de muy baja densidad (VLDL); lipoproteína de densidad intermedia (IDL); lipoproteína de baja densidad (LDL); receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLr); lipoproteína lipasa (LPL); lipasa hepática (LH); apolipoproteína B (B); apolipoproteína C-II (C-II); apolipoproteína E (E); apolipoproteína A-I (A-I); proteína receptora similar a la lipoproteína de baja densidad (LRP); receptore scavenger CD36 (CD36); receptore scavenger clase A (SR-A); receptor scavenger clase B tipo I (SR-BI); proteína transportadora ABC1 (ABC1); proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP); la lecitina colesterol acil transferasa (LCAT). Obtenida y modificada de (Kwiterovich, 2000).

1.2.3 Degradación de lípidos hepáticos

La degradación de los lípidos en el hígado inicia con la captación de AGL, su activación en el citoplasma y el transporte a las mitocondrias y peroxisomas. El que se degrade en uno u otro depende principalmente de la longitud y estructura de su cadena carbonada, así como de la necesidad energética (Win et al., 2024). Mientras que las mitocondrias son el principal sitio de oxidación de los ácidos grasos de cadena media y larga, los peroxisomas catalizan la β -oxidación de un conjunto específico de ácidos grasos, incluyendo los ácidos grasos de cadena muy larga, el ácido pristánico y los intermedios de los ácidos biliares, el ácido di- y trihidroxicolestanoico (Wanders et al., 2020). La oxidación β de ácidos grasos en la mitocondria esta acoplada al ciclo del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa para la generación de ATP (Ojuka et al., 2016). En contraste, los peroxisomas carecen tanto del ciclo del ácido cítrico como de cadena respiratoria (Wanders et al., 2020).

1.2.3.1 Oxidación β de ácidos grasos

La oxidación β de ácidos grasos tiene lugar cuando AGL absorbidos por los hepatocitos se activan mediante su conversión en ésteres de acil-CoA mediante la acción de la acil-CoA sintetasa. El transporte de los acil-CoA hacia la matriz mitocondrial implica tres pasos: (1) La conversión de los acil-CoA citoplásmicos en acil-carnitina mediante la carnitina-palmitoiltransferasa I (CPT-I), ubicada en la membrana interna mitocondrial (MIM). La CPT-I es sensible a la inhibición por malonil-CoA, un intermediario de la vía de síntesis de TG que se acumula después de una ingesta alta de carbohidratos. El nivel de malonil-CoA determina el balance entre la síntesis citoplásmica de AG y la β -oxidación. (2) El transporte de la acil-carnitina a la matriz mitocondrial mediante el intercambiador de carnitina/acil-carnitina. (3) Los acil-carnitina son convertidos a carnitina y ácidos grasos por la carnitina palmitoiltransferasa II (CPT-II) en la matriz mitocondrial. Posteriormente, los ácidos grasos son convertidos de nueva cuenta en acil-CoA.

La oxidación de los acil-CoA que se encuentran en la matriz mitocondrial se produce en cuatro etapas: deshidrogenación, hidratación, oxidación y tiólisis. El proceso se inicia mediante la deshidrogenación de la acil-CoA a trans-2-enoil-CoA mediante una acil-CoA deshidrogenasa. A este paso le sigue un hidratación catalizada por una enoil-CoA hidratasa,

generando (S)-3-hidroxiacil-CoA, que posteriormente se deshidrogena a 3-cetoacil-CoA en una reacción realizada por (S)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa. Finalmente, una tiolasa escinde la 3-cetoacil-CoA en una cadena de dos carbonos, acil-CoA y acetil-CoA. La oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias genera acetil-CoA para el ciclo del ácido cítrico, y FADH₂ y NADH para la cadena de transporte de electrones y la síntesis de ATP.

La cetogénesis es la formación de cuerpos cetónicos como el β-hidroxiacetato, el acetoacetato y la acetona, y se produce principalmente en las mitocondrias del hígado cuando hay un exceso de acetil-CoA mitocondrial y de NADH debido a la β-oxidación en ayunas e inanición, durante la cual el glucagón aumenta la lipólisis periférica (Houten et al., 2016).

1.3 La mitocondria

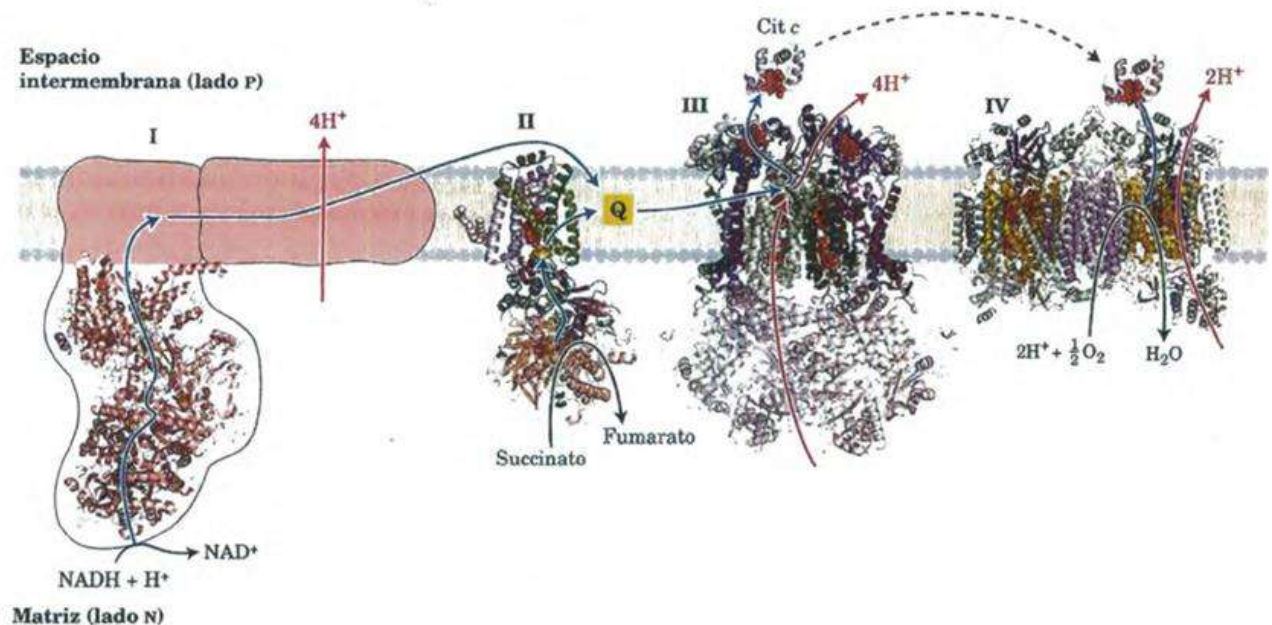
Las mitocondrias son los orgánulos celulares presentes en el citoplasma que generan la mayor parte de energía en forma de ATP mediante la oxidación de sustratos provenientes de la dieta o de los sitios de almacenamiento en el organismo. La mitocondria contiene dos membranas: la membrana externa mitocondrial (MEM), la cual es lisa y permeable a pequeñas moléculas y iones gracias a la presencia de unas proteínas denominadas porinas. La membrana interna mitocondrial (MIM) esta plegada en estructuras denominadas crestas, sitio en el que se encuentran las proteínas de los complejos de la cadena de transporte de electrones (CTE) y la ATP sintasa, de la cual existe evidencia que induce las curvaturas de la MIM que forman las crestas. La MIM es altamente selectiva al permitir el transporte de iones y metabolitos a través de transportadores selectivos (Fernandez-Vizarra & Zeviani, 2021). Entre las membranas mitocondriales se encuentra el espacio intermembrana, en el cual se acumulan los H⁺ translocados por los complejos de la CTE. Las membranas mitocondriales están compuestas principalmente por fosfolípidos, los cuales representan aproximadamente el 75% de los lípidos totales. Estos incluyen fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), cardiolipina (CL), fosfatidilcolina (PC), fosfatidilserina (PS) y fosfatidilinositol (PI) (Xiao et al., 2017). En particular, la CL es exclusiva de las mitocondrias, representando entre el 10-15% del contenido total de fosfolípidos. Se localiza en la MIM donde desempeña un papel crucial en la preservación de la integridad y la morfología de las proteínas embebidas en la MIM y de las crestas mitocondriales mediante interacciones proteína-proteína y proteína-membrana (Falabella et al., 2021). El espacio delimitado por la MIM se denomina

matriz mitocondrial, el cual es un espacio viscoso que contiene enzimas, ribosomas, ADN mitocondrial y moléculas de tRNA, los cuales facilitan la producción de energía y otros procesos metabólicos.

El hígado contiene entre 500 y 4000 mitocondrias por cada hepatocito, lo que representa el 18% del volumen celular (Francque et al., 2021).

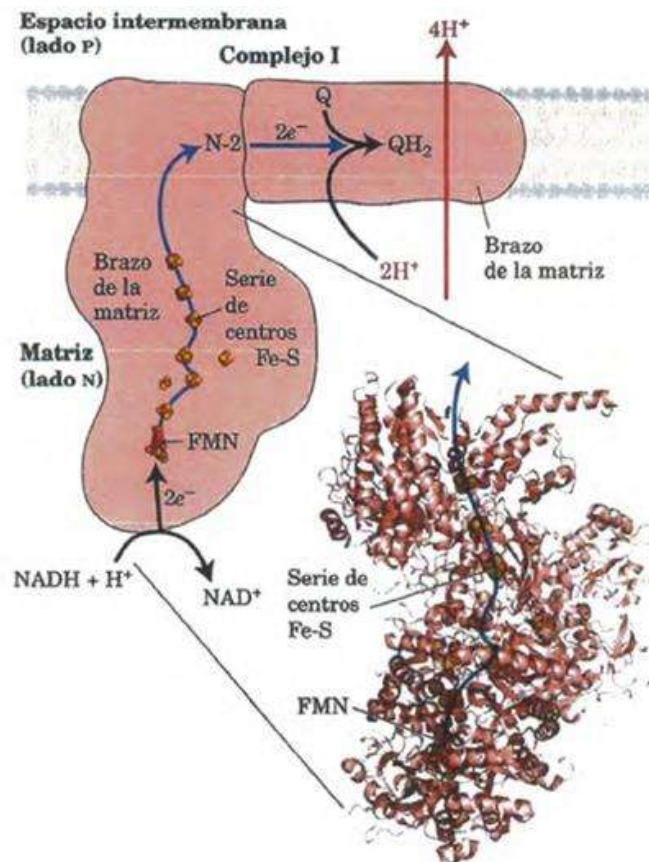
1.3.1 Cadena de transporte de electrones

La cadena de transporte de electrones (CTE) mitocondrial se localiza en la MIM e incluye una serie de complejos enzimáticos que van del I al IV (Esquema 3), así como dos transportadores móviles de electrones: la ubiquinona (Q) y el citocromo *c*. Los complejos enzimáticos pueden contener centros de óxido-reducción como flavín mononucleótido (FMN), flavina adenina dinucleótido (FAD), centros hierro-azufre (Fe-S), grupos hemo en los citocromos y proteínas con cobre (Cu), los cuales se encargan de transferir los electrones procedentes de las coenzimas reducidas (NADH y FADH₂) hasta el oxígeno (O₂), último aceptor de electrones.



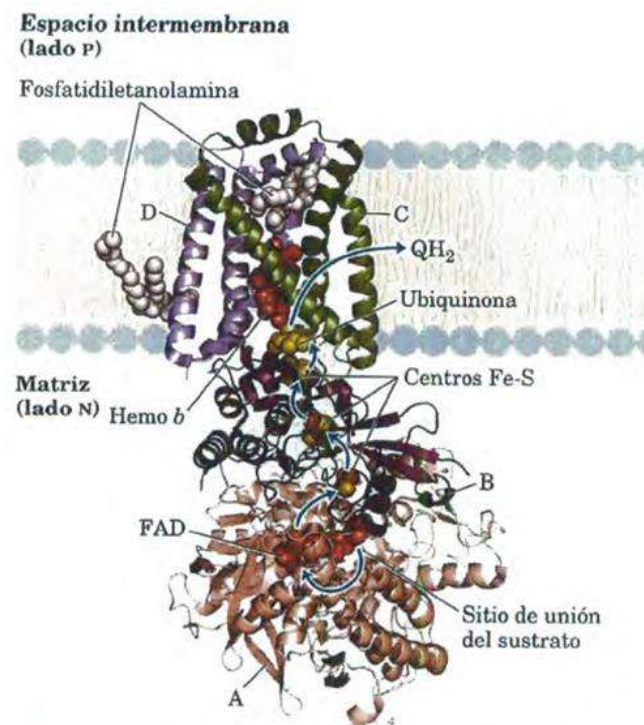
Esquema 3. Cadena de transporte de electrones. Obtenido de Nelson & Cox (2009).

El complejo I (NADH: ubiquinona oxidorreductasa) es una proteína grande compuesta por 45 cadenas polipeptídicas diferentes, entre las que se encuentran un FMN y ocho centros Fe-S (2 binucleares y 6 tetranucleares). La microscopía electrónica de alta resolución muestra que el complejo I tiene forma de L (Esquema 4), con un brazo de L en la membrana y el otro prolongándose hacia la matriz. El complejo I cataliza la transferencia de un ion hidruro de NADH al FMN, a partir del cual pasan $2e^-$ a través de una serie de centros Fe-S a la proteína ferrosulfurada (N-2) situada en el brazo del complejo orientado hacia la matriz. La transferencia de electrones desde la proteína N-2 a la Q, que se encuentra en el brazo situado en la membrana, genera ubiquinol (QH_2), el cual se difunde por la bicapa lipídica. Esta transferencia de electrones promueve la expulsión desde la matriz de $4H^+$ por cada par de electrones.



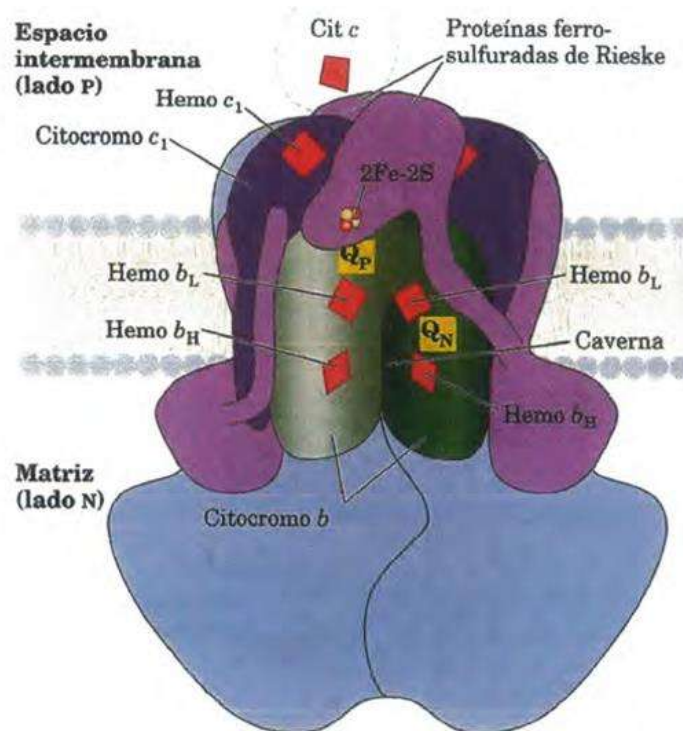
Esquema 4. Estructura del complejo I (NADH: ubiquinona oxidorreductasa). Obtenido de Nelson & Cox (2009).

El Complejo II (succinato deshidrogenasa) es una proteína integral que no atraviesa la MIM y tampoco transloca H^+ al espacio intermembrana, además de ser la única enzima del ciclo del ácido tricarboxílico ligada a la membrana, acoplada a la respiración aeróbica. Aunque es más pequeño y sencillo que el complejo I, contiene cuatro subunidades proteicas diferentes (A, B, C y D), visualizadas en el Esquema 5. La subunidad C y D son proteínas integrales de membrana unidas por un grupo hemo (hemo *b*) y es el sitio de unión con la Q. Las subunidades A y B se extienden hacia la matriz. En la subunidad A se encuentra una flavina adenina dinucleótido (FAD) y el sitio de unión con el sustrato succinato. En la subunidad B se encuentran tres centros Fe-S. Los electrones se desplazan (flechas azules) desde el succinato al FAD, pasando por los tres centros Fe-S a la Q, la cual se reduce a QH_2 . El hemo *b* no participa en la ruta principal de transferencia de los electrones pero protege de la formación de ERO. La succinato deshidrogenasa está regulada alostéricamente por la unión del oxalacetato y es activada por ATP en un proceso que no implica fosforilación (Sun et al., 2005).



Esquema 5. Estructura del complejo II (succinato deshidrogenasa).
Obtenido de Nelson & Cox (2009).

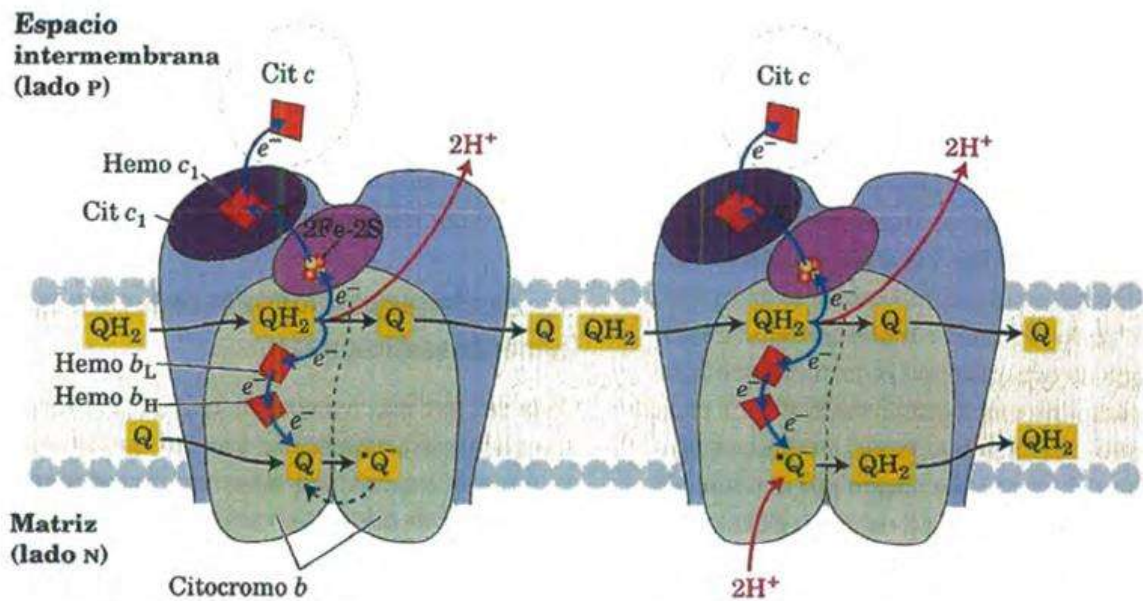
El complejo III (ubiquinona: citocromo *c* oxidorreductasa) acopla la transferencia de electrones desde el QH₂ al citocromo *c*. La unidad funcional del complejo III es un dímero de monómeros idénticos, cada uno constituido por 11 subunidades diferentes. Como se observa en el Esquema 5, el núcleo funcional de un monómero consta de tres subunidades: el citocromo *b* (en verde) con sus dos hemos (*b_L* y *b_H*); la proteína ferro-sulfurada de Rieske (en púrpura) con sus dos centros 2Fe-2S, y el citocromo *c₁* (en violeta) con su hemo *c₁*



Esquema 6. Estructura del complejo III (ubiquinona: citocromo *c* oxidorreductasa).
Obtenido de Nelson & Cox (2009).

Las cadenas polipeptídicas contenidas en las subunidades catalíticas del complejo, se conectan con dos sitios de unión a la Q, uno ubicado hacia el espacio intermembrana (sitio Q_o) y otro localizado hacia la matriz (sitio Q_i). En cuanto al citocromo *c*, un aceptor móvil de electrones, se une a la porción del complejo III que está orientada hacia el lado externo de la membrana. En el esquema 7, se observa la ruta de los electrones (flechas azules) a través del complejo III, llevada a cabo en dos etapas. En la primer etapa una molécula de QH₂ se une al sitio Q_o del complejo III y transfieren 2e⁻ y 2H⁺. Los 2H⁺ se liberan al espacio intermembrana, lo que contribuye a la formación del gradiente de protones, mientras que los

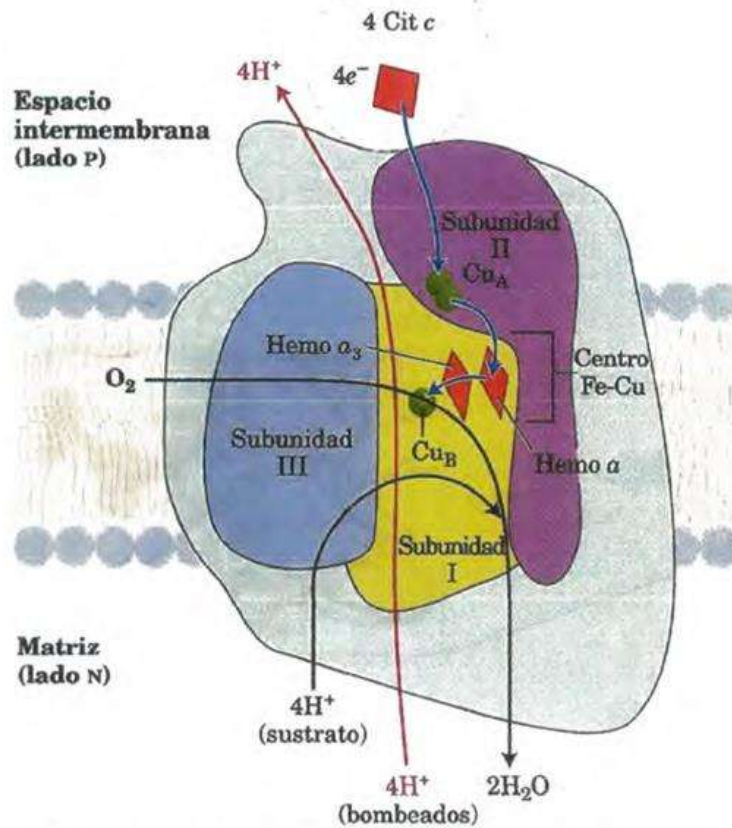
$2e^-$ se transfieren de forma bifurcada por el centro $2Fe-2S$ de la proteína de Rieske. El primer electrón reduce el citocromo c_1 , pasando por el centro $2Fe-2S$ para finalmente reducir el citocromo c con $1e^-$ por cada vuelta. El segundo electrón se dirige hacia el citocromo b , pasando por los hemo b_L y b_H respectivamente, seguido de la reducción de una molécula de Q , ubicada en el sitio Q_i del complejo III, lo que da lugar a la formación del radical semiubiquinona ($QH\cdot$). En la segunda etapa, otra molécula de QH_2 se une al sitio Q_o del complejo III y completa la vuelta del ciclo Q , es decir, por un lado se reduce nuevamente el citocromo c_1 , seguido del citocromo c , y por el otro se reduce completamente el $QH\cdot$ a QH_2 , esto en conjunto con la captura de $2H^+$ del lado de la matriz mitocondrial.



Esquema 7. Ruta de los electrones del QH_2 al citocromo c a través del complejo III (ciclo Q). Obtenido de Nelson & Cox (2009).

El Complejo IV (citocromo c oxidasa) es una proteína formada por 13 subunidades de las cuales 3 son catalíticas (Esquema 8). La subunidad I contiene dos grupos hemo (a y a_3) y un ion cobre (Cu_B), en donde el grupo hemo a_3 y el Cu_B forman un centro binuclear (a_3-Cu_B) que acepta los electrones del hemo a y los transfiere al O_2 el cual se encuentra unido al hemo a_3 . La subunidad II contiene dos iones de cobre que forman un complejo con los grupos tioles ($-SH$) de dos residuos de cisteína (Cys) en un centro binuclear denominado (Cu_A). La

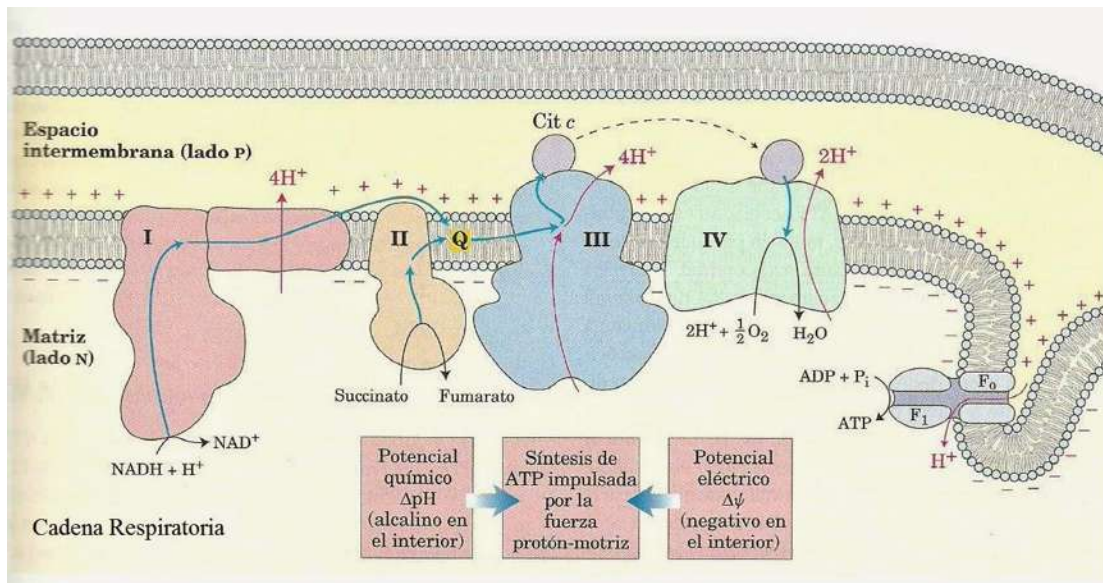
subunidad III es esencial para el movimiento rápido de protones a través de la subunidad II. La transferencia electrónica a través del complejo IV va del citocromo *c* al centro Cu_A , al hemo *a*, al centro $a_3\text{-Cu}_B$ y finalmente al O_2 , el cual se reduce en H_2O . Por cada $4e^-$ que pasan a través del complejo, la enzima transloca 4H^+ desde la matriz al espacio intermembrana (Nolfi-Donagan et al., 2020).



Esquema 8. Estructura del complejo IV (citocromo *c* oxidasa).
Obtenido de (Nelson & Cox, 2009).

1.3.2 Fosforilación oxidativa

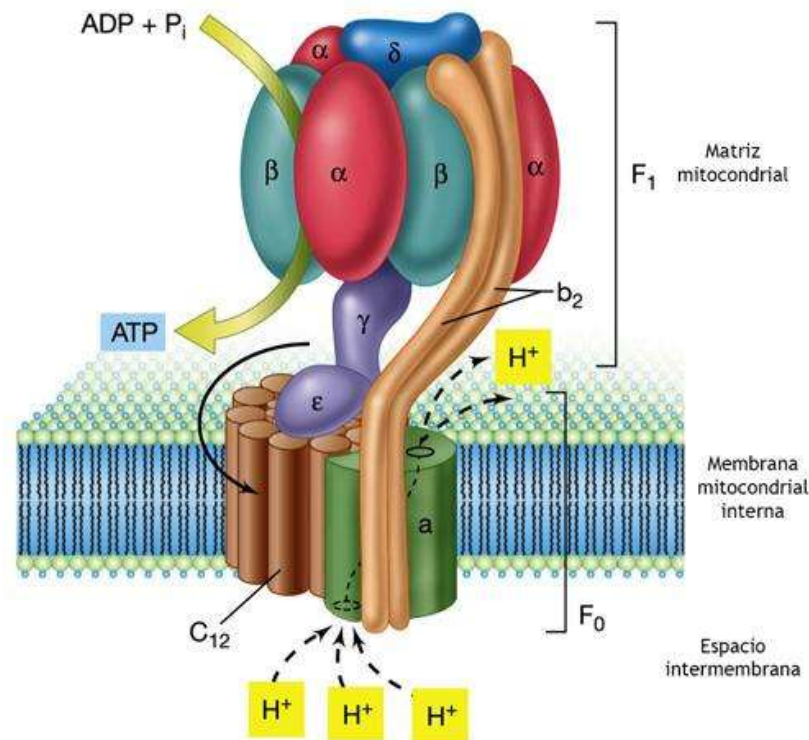
La fosforilación oxidativa se refiere al mecanismo de síntesis de ATP propuesto por Peter Mitchell mediante su hipótesis quimiosmótica, en la cual se propone que la síntesis de ATP es el resultado entre el acoplamiento del transporte de electrones en la CTE, la generación de una fuerza protón-motriz por la translocación de H^+ por los complejos de la CTE desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana, y el uso de la fuerza protón-motriz por la F_1F_0 -ATP sintasa localizada en la MIM para la síntesis de ATP. Este proceso se ilustra en el Esquema 9, donde se representan los complejos enzimáticos, el gradiente electroquímico de protones y la F_1F_0 -ATP sintasa.



Esquema 9. Fosforilación oxidativa. Obtenido de Nelson & Cox (2009).

La estructura de la F_1F_0 -ATP sintasa (Esquema 10) consta de dos dominios bien definidos, uno que está embebido en la membrana interna de la mitocondria y que se conoce como F_0 y otro que está en contacto con la matriz mitocondrial, conocido como F_1 . El dominio F_1 consta de cinco proteínas denominadas α , β , γ , δ , ϵ , con tres subunidades α y tres subunidades β que interactúan alternadamente entre sí formando un hetero hexámero. El dominio F_0 contiene tres subunidades proteicas a, b, y c con una estequiometría ab_2c_{12} . Los dominios están unidos por un tallo central (subunidades γ y ϵ) y por un tallo periférico (subunidades b_2). Los protones generados por el flujo de electrones a través de la CTE,

atraviesan la membrana por un conducto formado en el dominio F_0 (entre las subunidades a y c) y provocan el giro de un anillo de proteolípidos formado por la subunidad c . Esta rotación hace girar al tallo central en movimientos de 120° , provocando cambios conformacionales consecutivos en las subunidades catalíticas (subunidades α y β) e induciendo la unión de sustratos ($\text{ADP} + \text{P}_i$), la síntesis de ATP y su liberación. El dominio F_1 también hidroliza el ATP haciendo girar el eje en la dirección opuesta (Nolfi-Donagan et al., 2020).



Esquema 10. Estructura de la F_1F_0 -ATP sintasa.
Obtenido de <https://www.revista.unam.mx/vol.16/num1/art03/>

El uso de la fuerza protón-motriz por parte de la F_1F_0 -ATP sintasa reduce temporalmente el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi$), lo que acelera la transferencia de electrones en la CTE y favorece la reducción del O_2 , ayudando así a restablecer el $\Delta\psi$. Esta disminución del $\Delta\psi$, conocida como despolarización de la MIM, puede ocurrir también por un desacoplamiento entre la respiración mitocondrial y la síntesis de ATP. Esto sucede, por ejemplo, cuando los H^+ reingresan a la matriz mitocondrial sin pasar por la ATP sintasa, a través de proteínas como la translocasa de nucleótidos de adenina (ANT) o las proteínas desacoplantes (UCP), lo que disipa el $\Delta\psi$ e impide la producción de ATP. Este proceso se

conoce como respiración desacoplada y cumple funciones fisiológicas importantes, como la regulación de ERO o la termorregulación. Sin embargo, también puede producirse un desacoplamiento patológico de la fosforilación oxidativa, causado por daño en la MIM o por inhibición de los complejos de la CTE. Esto puede provocar una caída del $\Delta\psi$ y daño mitocondrial, debido a la alteración de procesos dependientes de este potencial, como la dinámica mitocondrial, la mitofagia o la apoptosis. Experimentalmente, el acoplamiento de la fosforilación oxidativa se refleja como un alto cociente respiratorio (CR), parámetro que relaciona la respiración estimulada por ADP (respiración acoplada) y la respiración en reposo (respiración basal) (Rossow et al., 2018).

1.4 Enfermedad hepática no alcohólica.

La enfermedad hepática no alcohólica (EHNA) se define como un trastorno metabólico caracterizado por la acumulación de grasa en más del 5 % en los hepatocitos de individuos sin consumo significativo de alcohol, de medicamentos hepatotóxicos ni otra causas conocidas de esteatosis secundaria (Bernal-Reyes et al., 2019).

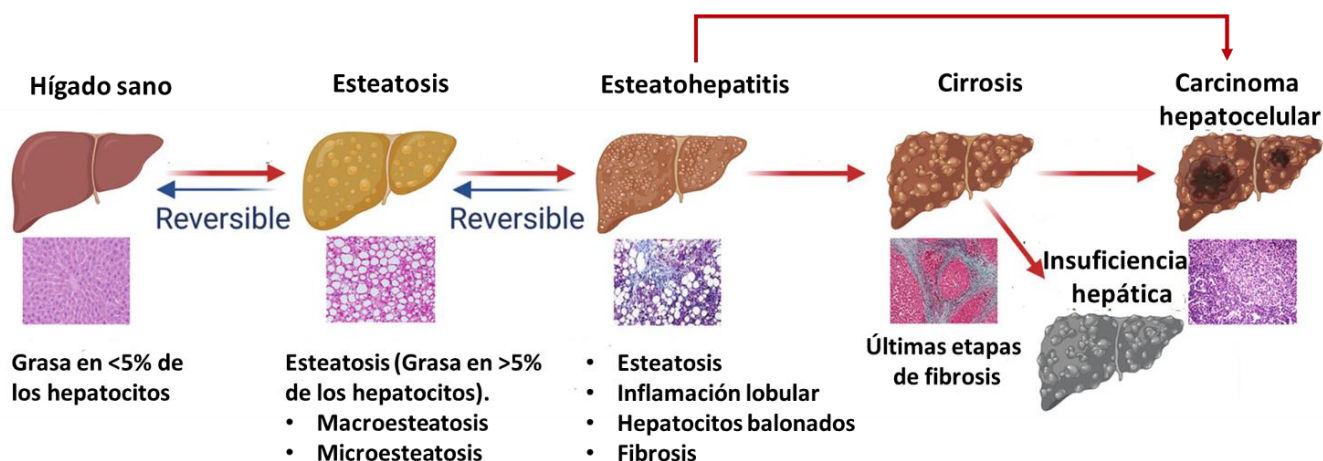
1.4.1 Clasificación

- Se clasifica principalmente en dos entidades clínicas:
 1. Esteatosis hepática simple. Se caracteriza por la acumulación de grasa en las células del hígado, sin evidencia de lesión hepatocelular, abombamiento de los hepatocitos ni fibrosis.
 2. Esteatohepatitis no alcohólica (ETHNA). Se caracteriza por presentar esteatosis, acompañada de inflamación, con lesión hepatocelular y posible fibrosis. Esta forma se considera la más agresiva y puede progresar a fibrosis avanzada, cirrosis, insuficiencia hepática e incluso cáncer hepatocelular (CHC) (Chalasanani et al., 2012; Han et al., 2023).

- Clasificación según la escala de actividad histológica

Para la evaluación de la gravedad de la EHNA se emplea un sistema de puntuación histológica propuesto por (Kleiner et al., 2005), ampliamente reconocido como puntuación de actividad de enfermedad hepática no alcohólica (NAS, por sus siglas en inglés), que evalúa el grado de esteatosis (macrovesicular y microvesicular), inflamación lobulillar y

abombamiento hepatocelular, junto con un sistema separado para la estadificación de la fibrosis, lo que permite distinguir entre esteatosis simple y la ETHNA. El sistema de puntuación evalúa cuatro características histológicas de forma semicuantitativa: esteatosis (0-3), inflamación lobular (0-2), abombamiento hepatocelular (0-2) y fibrosis (0-4). Las características histopatológicas incluyen: (1) grasa: acumulación de TG en las células hepáticas; (2) lesión hepatocelular en la localización centrolobulillar que es más severa en la zona acinar; (3) daño citoesquelético que se muestra como abombamiento hepatocelular con o sin cuerpos de Mallory-Denk; (4) inflamación parenquimatosa donde predominan los linfocitos y macrófagos, aunque los neutrófilos pueden estar presentes en casos severos; y (5) fibrosis perisinusoidal observada como depósito de colágeno en el espacio de Disse (Younossi et al., 2018).



Esquema 11. Espectro clínico patológico de la EHNA.
Tomado y modificado de Pan & Zhang (2022).

➤ Clasificación según la nueva nomenclatura

En el año 2023, expertos en el campo propusieron una modificación en la terminología médica para referirse a la enfermedad hepática no alcohólica (NAFLD, por sus siglas en inglés) como enfermedad hepática esteatótica asociada a disfunción metabólica (MASLD, por sus siglas en inglés). Esta propuesta se basa en los siguientes criterios cardiometabólicos que incluyen: sobrepeso y obesidad; DM2 y prediabetes; hipertensión; y

dislipidemia, ausencia de consumo nocivo de alcohol (Rinella et al., 2023). En el espectro de MASLD se incluye la esteatosis, la esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH), la fibrosis, la cirrosis y el CHC relacionado con MASH (European Association for the Study of the Liver (EASL) et al., 2024).

1.4.2 Epidemiología

La EHNA se ha convertido en un problema de salud pública a nivel global debido a su elevada prevalencia y su estrecha relación con la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y el síndrome metabólico (Llovet et al., 2023). Se presenta en todos los grupos étnicos, aunque parece tener una prevalencia menor en los afroamericanos en comparación con los hispanoamericanos y los euroamericanos (Dowman et al., 2010). Se estima que afecta al 30% de los adultos y se ha observado un crecimiento preocupante del 7.4% en la población pediátrica (Paik et al., 2023). En términos de género, la incidencia es de 42% para hombres y 24% para mujeres (Browning et al., 2004). Se proyecta que para el año 2030, la cifra de prevalencia experimentará un notable incremento en varias regiones del mundo (Teng et al., 2023). En México la prevalencia puede llegar a ser de hasta 50% (Bernal-Reyes et al., 2019); sin embargo, los últimos datos lo ubican en cuarto lugar con una prevalencia de 26.1%, detrás de Belice y Barbados con una prevalencia de 28% y 28.2%, respectivamente (López-Velázquez et al., 2014). En lo que respecta a los factores asociados, se ha demostrado que los pacientes con EHNA tienen el doble de probabilidades de desarrollar DM2, y viceversa (Cao et al., 2024). Estadísticamente, el 55.5% de los pacientes con EHNA presenta DM2, de los cuales el 37% de esos pacientes padece ETHNA (Younossi et al., 2019). Se ha observado una mayor prevalencia de esta condición en individuos de origen hispano en comparación con los europeos, y una menor incidencia en afroamericanos. Esta diferencia en la incidencia no se atribuye a factores como la obesidad o la diabetes, sino a una susceptibilidad genética (Bessone et al., 2018). Además, la EHNA se ha convertido en una de las principales causas de cirrosis, superando incluso a las relacionadas con las hepatitis B y C, lo que la convierte en la principal indicación para el trasplante de hígado (B. Li et al., 2018). En el año 2020, el cáncer de hígado representó la sexta entidad de cáncer más común en todo el mundo con un total de 905 677 nuevos casos registrado, causado por una variedad de factores de riesgo, entre ellos la EHNA (Foerster et al., 2022).

1.4.3 Fisiopatología

El origen de la EHNA es multifactorial, donde factores genéticos, nutricionales y metabólicos están implicados (Bashir et al., 2022). En la práctica clínica, la mayoría de los pacientes con EHNA tienen obesidad, DM2 o síndrome metabólico como factores etiológicos (Dharmalingam & Yamasandhi, 2018).

1.4.3.1 Determinantes genéticos

Los polimorfismos de un solo nucleótido en varios genes, incluidos los que codifican el dominio 3 de la fosfolipasa similar a patatina (*PNPLA3*), la superfamilia 2 de la transmembrana 6 (*TM6SF2*) y la proteína reguladora de la glucocinasa (*GCKR*), desempeñan un papel importante en la patogénesis de la EHNA (Xu et al., 2019). El polimorfismo de un solo nucleótido en el gen *PNPLA3* constituye la variante genética de mayor relevancia (Friedman et al., 2018).

1.4.3.2 Determinantes nutricionales

El factor de riesgo principal para el desarrollo de EHNA es la ingesta excesiva de calorías, que se deriva principalmente del consumo excesivo de alimentos ricos en grasas saturadas y el aumento de la ingesta de fructosa (Softic et al., 2016). La creciente accesibilidad a los alimentos ultraprocesados (UPC), un término que se refiere a la modificación industrial de los alimentos, de tal manera que el producto final es diferente del original, con poco o nada de alimento integral (Monteiro et al., 2018), ha facilitado lo anterior. A estos alimentos se les añaden altas cantidades de grasas saturadas o carbohidratos para lograr una alta palatabilidad y hacerlos densos en energía, cuyo consumo crónico se cree que es el principal impulsor de la actual pandemia de obesidad, un factor clave para el desarrollo de la EHNA (Lustig & Fennoy, 2022). Las grasas trans saturadas que se encuentran presentes en los alimentos UPC pasan por un proceso de hidrogenación que aumenta su vida útil (Islam et al., 2019) y su alto consumo se considera un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades coronarias, resistencia a la insulina (RI) y obesidad acompañada de inflamación sistémica (Dhibi et al., 2011; Nagpal et al., 2021). En el caso de la fructosa, se considera que un consumo >100 g/día puede tener graves repercusiones para la salud (Lubawy & Formanowicz, 2023). A nivel industrial, la fructosa es suplementada en las bebidas como jarabe de maíz, la cual está compuesta por una mezcla de 55% de fructosa y

45% de glucosa en forma de monosacáridos (Mock et al., 2017). La fructosa es un carbohidrato que no sufre hidrólisis enzimática en el intestino, su absorción es por las células con borde en cepillo y las membranas basolaterales del intestino delgado mediante el transportador de carbohidratos GLUT-5, aunque el transportador GLUT-8 también puede estar involucrado en este proceso (Douard & Ferraris, 2008; Ferraris et al., 2018). Diversos estudios han demostrado que el consumo excesivo de fructosa es el estimulador más potente de la lipogénesis *de novo* (LDN), incluso más que la misma dieta alta en grasa (Softic et al., 2016), debido a que el metabolismo glucolítico de la fructosa no está sujeto a regulación por retroalimentación negativa a nivel de la hexocinasa (Cheng et al., 2022). Además, se debe considerar que su consumo aumenta la producción hepática de ácido úrico, lo que contribuye directamente a la RI (Pan & Kong, 2018). El metabolismo intermediario de carbohidratos y lípidos converge en la formación de acetil-CoA para la generación de ATP y la acumulación de moléculas de carbono para hacer frente a las necesidades biosintéticas de las células (Herman & Birnbaum, 2021; Wali et al., 2020). El exceso de sustrato incrementa la producción de malonil-CoA, lo que inhibe la oxidación de los AG y promueve la síntesis de TG en el hígado, lo que contribuye al desarrollo de esteatosis (Coronati et al., 2022).

1.4.3.3 Progresión de la EHNA: teoría de los “hits”

1^{er} hit: Esteatosis. La EHNA se caracteriza por la acumulación de TG, que se forman a partir de la esterificación de AGL con glicerol dentro del hepatocito. Los TG se originan en el hígado a partir de tres fuentes distintas: (1) lipólisis (la hidrólisis de TG) dentro del tejido adiposo; (2) fuentes dietéticas; y (3) LDN. Los AGL provenientes de las diversas fuentes pueden utilizarse a través de la oxidación β de ácidos grasos, la reesterificación a TG para el almacenamiento como gotas de lípidos, o empaquetarse y exportarse a la circulación como VLDL (Dowman et al., 2010). Es importante destacar que un hígado humano sano contiene cantidades mínimas de grasa. La presencia de gotas de grasa en más del 5% de las células hepáticas se considera como patológica (Francque et al., 2021).

La EHNA también se distingue por asociarse con RI y afecta del 70% al 80% de los pacientes con obesidad y diabetes (Kitade et al., 2017). Sin embargo, diversos estudios han evidenciado que la esteatosis hepática, independientemente de la adiposidad, está asociada con una alteración en la sensibilidad a la insulina, tanto en individuos delgados como en

individuos no diabéticos con obesidad (Watt et al., 2019). La RI se define fisiológicamente como una incapacidad del tejido hepático o extrahepático para responder a los niveles normales de insulina y, por lo tanto, se requieren niveles de insulina más altos de lo normal para mantener las funciones normales de la hormona (Lee et al., 2021). En un estado de RI, se inhiben selectivamente los efectos hipoglucémicos de la insulina, al tiempo que se permite que continúe la LDN (Bo et al., 2024). La insulina exhibe una potente acción de supresión sobre la lipogénesis en el tejido adiposo. En ausencia de dicha supresión, los adipocitos experimentan un incremento descontrolado en la secreción de AGL (Dowman et al., 2010), lo cual contribuye al incremento de AGL y el desarrollo de esteatosis en el hígado. La RI en las células hepáticas provoca que se inhiba la síntesis de glucógeno que y no se suprima la gluconeogénesis, lo que contribuye a un incremento sostenido de los niveles de glucosa sanguíneos (Meshkani & Adeli, 2009).

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas (Zhang & You, 2021), que de manera normal se une a su receptor de tirosina en las membranas celulares, lo que provoca la autofosforilación del receptor, el cual recluta y fosforila el sustrato de receptor de insulina 1 y 2 (IRS-1/2) en sus residuos de tirosina (Tyr). El IRS se encarga de activar a la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) mediante la fosforilación de la subunidad reguladora p85, la cual tiene dominios SH₂ que reconocen los residuos de Tyr. La unión de la subunidad reguladora p85 del IRS con la subunidad catalítica p110 del PI3K provoca un cambio conformacional de la proteína que convierte el fosfatidilinositol 3,4 difosfato (PIP₂) en fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP₃), un segundo mensajero que activa la proteína Akt, también conocida como proteína cinasa B (PKB), la cual desempeña un papel crucial en la regulación del metabolismo y la supervivencia celular (Shamsan et al., 2024). La vía de señalización PI3K/Akt contribuye con la homeostasis de la glucosa de la siguiente manera: (1) promueve la captación de glucosa mediante la translocación de GLUT2 a la membrana plasmática en el caso de las células extrahepáticas; (2) estimula la síntesis de glucógeno al inhibir la glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK3); (3) inhibe la gluconeogénesis al suprimir enzimas clave como la fosfoenol piruvato carboxicinasa (PEPCK) y la glucosa-6-fosfatasa a través de la activación del factor de transcripción forkhead-box-O1 (FOXO1); (4) regula la lipogénesis al activar el factor de transcripción proteína de unión al elemento regulador de esteroides-1c (SREBP-1c), lo que

incrementa la expresión de enzimas como la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintasa (Shamsan et al., 2024).

El ingreso excesivo de AGL a las células hepáticas genera la formación de productos intermediarios como el diacilglicerol (DAG) y las ceramidas, moléculas que inhiben la cascada de señalización de la insulina. El DAG activa la proteína cinasa C épsilon (PKC- ϵ), que interfiere con la señalización de la insulina al fosforilar el receptor de insulina en sus residuos de serina/treonina, lo que inhibe la activación adecuada de la vía PI3K/Akt. Por otro lado, las ceramidas inhiben la activación de la proteína fosfatasa 2A (PP2A), las cuales al estar activadas inhibe la actividad de la Akt, mediante su desfosforilación, promoviendo aún más la RI (Elkanawati et al., 2024). Se producen procesos similares en las células del músculo esquelético, lo que conduce a un estado más generalizado de RI. La señalización de insulina deteriorada resulta en una hiperinsulinemia compensatoria, la cual disminuye la síntesis de glucógeno, aumenta la absorción hepática de ácidos grasos, altera el transporte de TG e inhibe la oxidación β de ácidos grasos mitocondrial. Esta condición aumenta la susceptibilidad a sufrir un mayor daño hepático, lo que da paso al “2^{do} hit” (Dowman et al., 2010; Perdomo et al., 2019).

2^{do} hit: Esteatohepatitis. La acumulación excesiva de TG en las células hepáticas resulta en lipotoxicidad al aumentar el estrés oxidativo, la peroxidación lipídica, la liberación de citocinas proinflamatorias, la activación de células estrelladas hepáticas (CEH) y la apoptosis, lo que conduce a disfunción mitocondrial inminente (Bessone et al., 2018). La esteatosis progresa a ETHNA cuando los mecanismos adaptativos que protegen a los hepatocitos de la lipotoxicidad se ven abrumados y las tasas de muerte de hepatocitos superan la capacidad de regeneración de las células (Jou et al., 2008). En etapas iniciales de EHNA, el aumento de ERO puede ser moderado y compensado por mecanismos antioxidantes celulares. En etapas avanzadas, como la progresión hacia la ETHNA, la producción de ERO supera la capacidad antioxidante, lo que intensifica el daño hepático al generar una disminución en la actividad enzimática de la CTE, disminución del cociente ATP/ADP y daño en el ADN mitocondrial y en proteínas con función estructural de la membrana interna mitocondrial (Delli Bovi et al., 2021). En respuesta a este desequilibrio, la célula elimina ERO y especies reactivas de nitrógeno a través de moléculas antioxidantes como el glutatión

reducido (GSH) y enzimas de defensa primaria como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y las peroxidasas dependientes de glutatión (GPx) (LeFort et al., 2024). Existen diferentes mecanismos que explican la generación exacerbada de ERO durante la EHNA: la inducción del citocromo P450 2E1, que produce ERO dentro de la mitocondria y el retículo endoplasmático, y un aumento en la oxidación de ácidos grasos mitocondriales que también participa en la generación de otras ERO (Dowman et al., 2010), que incluyen superóxido ($O_2^{\cdot-}$), malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) (Chen et al., 2020). Los ácidos grasos poliinsaturados presentes en las membranas mitocondriales, constituyen el blanco principal del ataque por ERO (Xiao et al., 2017). Este proceso implica la peroxidación lipídica, una reacción química en cadena que genera la formación del radical peroxilo (ROO^{\cdot}) (Berndt et al., 2024). La peroxidación de la CL, uno de los principales fosfolípidos mitocondriales, causa alteraciones estructurales que interfieren con las interacciones CL-proteína, lo a su vez desestabiliza la estructura de los complejo de la CTE e inhibe su actividad catalítica (Cortés-Rojo et al., 2020).

La forma en que las células hepáticas manejan esta carga lipídica puede resultar en una adaptación al desarrollo de esteatosis hepática y a largo plazo, puede desencadenar la muerte celular por varios mecanismos moleculares. Esto último resulta en la liberación de restos celulares que activan vías inflamatorias que, cuando se perpetúan en el tiempo, resultan en una lesión crónica y una el desarrollo de fibrosis. Se ha demostrado que la muerte celular de los hepatocitos es un proceso clave involucrado en la patogénesis de ETHNA. La apoptosis es iniciada por receptores de membrana (vía extrínseca) o estrés intracelular que conduce a disfunción de orgánulos (vía intrínseca). Ambas vías tienden a converger en la activación de las caspasas efectoras 3 y 7, que ejecutan el programa apoptótico final.

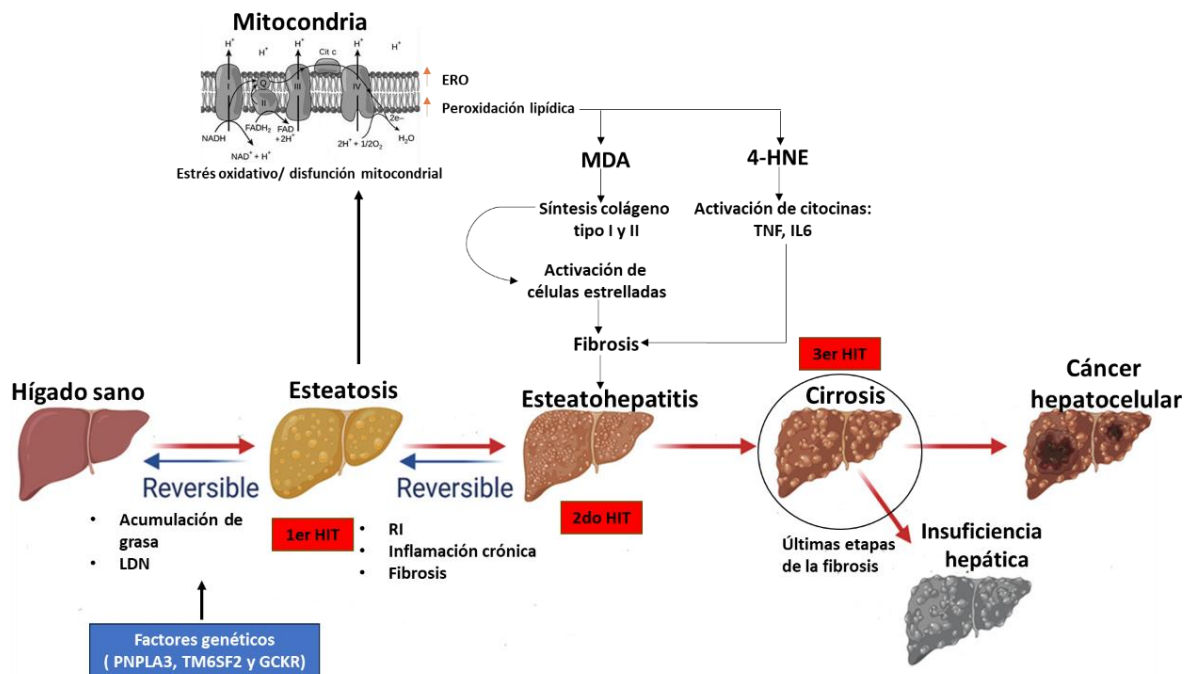
La respuesta de reparación celular involucra la transformación de CEH a miofibroblastos. Los miofibroblastos generan una matriz de colágeno tipo I y III y se producen factores que estimulan la expansión de las poblaciones de células progenitoras hepáticas. Las células progenitoras producen quimiocinas para atraer diversos tipos de células inflamatorias al hígado. Estas células también se diferencian para reemplazar a los hepatocitos muertos. La intensidad de estas respuestas de reparación generalmente es paralela al grado de muerte de los hepatocitos, lo que da como resultado una distorsión variable de la

arquitectura hepática con fibrosis, células inmunitarias infiltradas y nódulos epiteliales en regeneración (Jou et al., 2008). La activación de las células de Kupffer (CK) incrementa la síntesis de citocinas inflamatorias y quimiocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la interleucina-1 β (IL-1 β), la interleucina-6 (IL-6) y los ligandos 2 y 5 del motivo CC (CCL2 y CCL5) que contribuyen a la lesión y la necrosis inflamatoria en los hepatocitos. La secreción por parte de las CK del factor de crecimiento tumoral β (TGF- β) y del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) también promueve el desarrollo de la fibrosis a través de los estímulos mitogénicos de estos factores en las CEH. Las células T asesinas naturales (NKT) parecen agotarse durante el desarrollo de la esteatosis, pero aumentan más tarde en el curso de la enfermedad, lo que probablemente contribuye a la inflamación y la fibrosis a través de la producción de interleucina-4 (IL-4), osteopontina (OPN) e interferón-gamma (IFN- γ). Los neutrófilos (NEU) exacerban el estado inflamatorio en curso al contribuir al reclutamiento de macrófagos y al daño celular a través de la liberación de mieloperoxidasa, ERO y elastasa. Las respuestas de las células B y T también contribuyen al ciclo inflamatorio de retroalimentación a través de la secreción de citocinas proinflamatorias que estimulan la activación proinflamatoria de KC. Finalmente, el tejido adiposo disfuncional altera la secreción de varias adipocinas, incluidas la adiponectina, la interleucina-6 (IL-6), la leptina, el TNF- α y la resistina que contribuyen a la inflamación en el hígado. Además, dado que la adiponectina es una potente adipocina antiinflamatoria y sensibilizante a la insulina, sus niveles reducidos en pacientes con EHNA también promueve respuestas inflamatorias hepáticas (Arrese et al., 2016; Tilg et al., 2021). Además de los modos clásicos de muerte celular, como la apoptosis y la necrosis, otras formas de muerte celular hepática se han descrito más recientemente en modelos preclínicos y pacientes con EHNA, que incluyen muerte celular autofágica, piroptosis y necroptosis (Arrese et al., 2016).

La oxidación β de ácidos grasos es una vía que se altera de manera gradual a medida que progresa la EHNA. En etapas iniciales de esteatosis simple, se observa una acumulación de lípidos en las células hepáticas, lo que resulta en un aumento compensatorio de la β -oxidación de ácidos grasos, con el propósito de contrarrestar la acumulación intracelular de ácidos grasos. Sin embargo, este incremento puede ser insuficiente, resultando en una sobrecarga metabólica que finalmente provocará la disminución de la β -oxidación mitocondrial (González et al., 2020). Esto conduce a una acumulación de productos

incompletos de la β -oxidación, tales como el DAG, moléculas de acil CoA y ceramidas, las que como ya se mencionó, interfieren con la función del receptor de insulina (Cortés-Rojo et al., 2020).

3er hit: Fibrosis. La proliferación deficiente de los progenitores de hepatocitos representa un daño hepático más severo. La fibrosis progresa desde la fibrosis periportal a la fibrosis en puente lo que da lugar a la remodelación cirrótica con insuficiencia hepática y, finalmente al CHC (Bessone et al., 2018; Jou et al., 2008).



Esquema 12. Desarrollo de la Enfermedad Hepática no Alcohólica (EHNA): teoría de los hits. Tomado y modificado de Xu et al., (2019).

1.4.4 Diagnóstico

En el Cuadro 1 se describen las herramientas de diagnóstico no invasivas para la EHNA, que incluyen pruebas serológicas y técnicas de imagen. Para proceder con el diagnóstico de EHNA es necesario excluir causas secundarias, así como un consumo diario de alcohol ≥ 30 g para hombres y 20 g para mujeres (European Association for the Study of the Liver (EASL) et al., 2016). Posteriormente, se considera la realización de técnicas de imagen, complementada con pruebas enzimáticas de función hepática como aspartato amino transferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gamma glutamiltransferasa (GGT) y fosfatasa alcalina (FA). Es importante mencionar que la determinación de niveles de enzimas hepáticas presenta limitaciones para establecer el diagnóstico de ETHNA, ya que estos niveles pueden ser normales aún en pacientes con ETHNA y fibrosis avanzada (Bernal-Reyes et al., 2019). Las principales técnicas de imagen utilizadas para el diagnóstico de la EHNA son la ecografía, la tomografía computarizada (TC), imagen de resonancia magnética (IRM) y elastografía transitoria (Cobbina & Akhlaghi, 2017). La biopsia hepática se considera el estándar de oro para definir la EHNA, pero su uso rutinario no está recomendado debido al riesgo de sangrado y otras complicaciones (Cobbina & Akhlaghi, 2017).

Cuadro 1. Herramientas de diagnóstico para la EHNA.

Herramientas de diagnóstico	Técnica/Principio	Características
Pruebas serológicas	AST	Los niveles elevados no son indicativos de ETHNA porque AST y ALT son normales en algunos pacientes con ETHNA.
	ALT	
	AST/ALT	> 1 es predictivo de fibrosis
	GGT	Los niveles elevados no son indicativos de ETHNA
	FA	Los niveles elevados no son indicativos de ETHNA
Técnicas de imagen	Ultrasonografía (ecografía)	Sensible cuando la esteatosis es > 30% de los hepatocitos; no distingue entre esteatosis y ETHNA.

	TC y IRM	Más sensible que la ecografía; no distingue entre esteatosis y ETHNA; son costosas.
	Elastografía computarizada	Permite medir la dureza y cuantificar la fibrosis hepática; es costoso.
Biopsia hepática	Evaluación histológica de los tejidos hepáticos. Se clasifica el grado de las lesiones hepáticas., como esteatosis, inflamación y balonización hepática, y se estadifica la fibrosis.	Estándar de oro, pero invasivo y puede estar involucrado en complicaciones y variabilidad de muestreo; capaz de detectar esteatosis e inflamación.

Tomada y modificada de Cobbina & Akhlaghi (2017).

1.4.5 Tratamiento

En la actualidad, no existe un tratamiento farmacológico aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los EE.UU. para el tratamiento específico de la EHNA. El abordaje terapéutico se basa principalmente en la modificación de los hábitos de vida, que incluyen la implementación de una dieta y el ejercicio físico (Guo et al., 2022). Se ha observado que una reducción del peso corporal del 5% incrementa la sensibilidad a la insulina, las transaminasas y el perfil de lípidos, mientras que una disminución del 7% disminuye las alteraciones histológicas, y una de más del 10% disminuye la fibrosis (Bernal-Reyes et al., 2019). En lo que respecta al uso de agentes farmacológicos para tratar la EHNA, se encuentran los medicamentos indicados para la DM2 y la obesidad, lo que incluye la pioglitazona, los agonistas del receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) e inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa 2 (SGLT2). La utilización de dichos agentes se fundamenta en la evidencia de que comparten blancos comunes, entre los cuales la RI desempeña un papel central. Sin embargo, hay mucho desconocimiento al respecto. Algunos fármacos en etapas avanzadas de desarrollo para el tratamiento de la EHNA se encuentran el lanifibranor, péptidos duales y el resmetirom (Genua & Cusi, 2024).

En el ámbito de la investigación de alternativas terapéuticas para la EHNA, el estudio de los carotenoides ha adquirido una relevancia significativa, atribuible a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Lu et al., 2009). La principal fuente de carotenoides se

encuentra en frutas y verduras, en donde el aguacate cobra protagonismo ya que es una fuente rica en compuestos bioactivos de este grupo (Cortés-Rojo et al., 2019), y que se encuentran altamente concentrados en el AA (Berasategi et al., 2012). Se ha encontrado una asociación entre la presencia de EHNA y los niveles séricos de carotenoides en humanos, donde se ha observado que el β -caroteno sérico disminuye de manera paralela con la acumulación de grasa hepática, mientras que no se observaron cambios en los niveles de licopeno, α -caroteno, β -criptoxantina y luteína. De manera similar, otro estudio en humanos reportó que los niveles plasmáticos de carotenoides como la luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, licopeno, α -caroteno y β -caroteno disminuyeron significativamente en pacientes con EHNA en comparación con sujetos sanos (Yilmaz et al., 2015), lo que subraya la relevancia de su consumo y su posible rol en el mantenimiento de un estado redox que evite el desarrollo de estrés oxidativo, el cual es un fenómeno crucial en la progresión de la EHNA.

1.5 El aguacate

El aguacate es el fruto del árbol perenne *Persea americana* Mill., que pertenece a la familia Lauraceae. Es originario de América tropical y abarca las tierras altas del este y centro de México, Guatemala, América Central y el norte de América del Sur (Perú, Ecuador) (Martín-Torres et al., 2020). La taxonomía del aguacate constituye aproximadamente 500 variedades, con diversos tamaños, formas y colores (Stephen & Radhakrishnan, 2022). Sin embargo, la mayoría de estas variedades no se producen a gran escala (Cheikhoussef & Cheikhoussef, 2022). La taxonomía del aguacate se clasifica en tres razas botánicas: *P. americana* var. *Drymifolia* (raza mexicana), *P. americana* var. *Guatemalensis* (raza guatemalteca) y *P. americana* var. *Americana* (raza antillana). En lo que respecta a su tamaño, el fruto del aguacate mexicano es pequeño, con un alto porcentaje de aceite, oscilando entre 16.2/100 g a 32.3 g/100 g, mientras que los frutos de la raza antillana son más grandes, pero con un menor contenido de aceite. Por otro lado, el fruto del aguacate guatemalteco presenta características intermedias entre el antillano y el mexicano (Ochoa-Zarzosa et al., 2021). Sin embargo, los aguacates híbridos son los más comercializados, ya que combinan características deseables. Estos se obtienen mediante manipulación humana e implica el cruzamiento controlado de las razas antes mencionadas. Un ejemplo es la variedad Hass, una raza híbrida guatemalteca-mexicana, la más consumida en el mundo, responsable del 95% del volumen total comercializado en EE.UU. (Olas, 2024). Otras variedades

populares incluyen Bacon, Ettinger, Pinkerton, Reed, Fuerte y Lam (Araújo et al., 2018). Uno de los criterios para su comercialización es el contenido de aceite. En un estudio en particular, se analizaron 13 variedades de aguacate cultivadas en un banco de germoplasma en Venezuela. El estudio reveló que el contenido de aceite en estas variedades oscilaba entre el 11.23% y el 18.80% (Gómez-López, 2002). Otro estudio que analizó siete variedades de aguacate a diferentes altitudes en Líbano, reveló que la variedad Fuerte presentó el mayor contenido de aceite con 21.6%, mientras que la variedad Reed presentó el valor más bajo, con 9.7% (Salameh et al., 2022). El contenido mínimo de aceite necesario para la comercialización es del 8%. Después de la maduración, pueden presentarse valores superiores al 20% (Ozdemir & Topuz, 2004).

Es importante mencionar que el mercado y el comercio mundial del aguacate han mostrado un crecimiento exponencial en las últimas dos décadas, con una producción mundial que alcanzó más de ocho millones de toneladas en 2020 (Cárceles Rodríguez et al., 2023). México se destaca como la nación productora de aguacate por excelencia, representando aproximadamente el 30% de la producción mundial (Talavera et al., 2023), siendo Michoacán, el estado que más aguacates produce (Secretaría de Economía, 2016).

1.5.1 El aceite de aguacate

El consumo del aceite de aguacate (AA) es un patrón dietético que ha cobrado gran interés debido a que su ingesta induce un cambio favorable al disminuir los niveles de colesterol total, VLDL y TG, con aumento del HDL y una disminución del índice aterogénico (Muñoz & Barrón, 2009). Este aceite se extrae principalmente por prensado en frío (Qin & Zhong, 2016). Los compuestos presentes en el AA tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Queiroz Junior et al., 2021).

El AA se caracteriza por su alto contenido de lípidos, dentro de los cuales se encuentran ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP). Los principales ácidos grasos presentes en el aceite y los porcentajes de cada uno de ellos se pueden observar en el Cuadro 2. Los AGM representan alrededor del 68.4%, siendo el C18:1 su mayor componente con un 54.4% de los ácidos grasos totales (Berasategi et al., 2012), aunque su contenido varía de 47 a 72%, dependiendo del método de extracción y el cultivar de aguacate (Lin & Li, 2024). Se ha demostrado que el C18:1 regula directamente la

síntesis y actividad de algunas enzimas antioxidantes, y su efecto antiinflamatorio puede estar relacionado con su capacidad para inhibir las citocinas proinflamatorias y estimular las citocinas antiinflamatorias. Por ejemplo, se ha identificado como un activador natural de la sirtuina 1 (SIRT1), una enzima dependiente de NAD^+ que regula procesos clave como el metabolismo celular, inflamación, estrés oxidativo y biogénesis mitocondrial (Santa-María et al., 2023). En particular, los efectos antiinflamatorios del C18:1 se han relacionado con la síntesis del oleoil etanolamida (OE), un compuesto sintetizado en el cuerpo organismo cuyos niveles se ven influenciados por la ingesta dietética del C18:1 (Igarashi et al., 2023). La OE es un ligando endógeno del receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR- α), una proteína receptora nuclear que actúa como un factor de transcripción. La OE se ha sugerido como un posible agente terapéutico para el tratamiento de la obesidad ya que también se ha demostrado que mejora la sensibilidad a la insulina, produce efectos antiinflamatorios y posee actividad antioxidante (Moller & Berger, 2003; Santa-María et al., 2023). El C16:0 es el principal AGS presente en el AA, con un 18.74% de los ácidos grasos totales (Berasategi et al., 2012), y puede alcanzar hasta el 30% (Lin & Li, 2024). Sin embargo, su consumo excesivo de se ha asociado con efectos adversos. Se ha demostrado que el C16:0 promueve la inflamación a través de la producción de ERO y la sobreproducción de IL-6 (Domínguez-López et al., 2022). Además, se han observado niveles elevados de C16:0 en la sangre en pacientes obesos, y estos niveles se han asociado con respuestas inflamatorias a través del receptor tipo Toll 2 y 4 (Mancini et al., 2015). Además, el C16:0 se puede convertir en fosfolípidos, diacilglicerol y ceramidas, que a su vez pueden inducir RI (Korbecki & Bajdak-Rusinek, 2019). Por el contrario, un estudio demostró que el C16:0 puede prolongar la longevidad y disminuir el riesgo de enfermedades relacionadas con la edad mediante la mejora en la resistencia al estrés en un modelo de nematodos (Jattujan et al., 2022). El AA es una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados (AGP), que incluyen el C18:2 y el C18:3. El C18:2 es un AGP omega-6 que representa el 6.6% a 20.8% del total ácidos grasos (Lin & Li, 2024). Sin embargo, un estudio informó 48.77% de C18:2 en la variedad Hass extraído por el método Soxhlet (Flores et al., 2019). Por otro lado, el C18:3, un AGP omega-3 representa el 0.1% a 2.6% del total de ácidos grasos (Lin & Li, 2024). Se ha demostrado que una dosis de 60 mg/kg de C18:3 administrados por vía oral durante un período de seis semanas tiene un potencial antiinflamatorio y antioxidante contra el estrés

oxidative inducido por cadmio, la neuroinflamación y la apoptosis neuronal en el cerebro de ratones adultos, acompañado de una producción reducida de ERO, y también se ha demostrado que mejora la expresión celular de la hemooxigenasa-1 (HO-1) y el factor nuclear-2 eritroide-2 (NRF2), un factor de transcripción que desempeña un papel fundamental en la regulación de la homeostasis redox celular (Schmidlin et al., 2019). Además, el C18:3 se ha asociado con una mayor liberación de insulina y factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF) en astrocitos humanos, fomentando así la biogénesis mitocondrial y manteniendo la dinámica mitocondrial (Litwiniuk et al., 2020). Es importante resaltar que una relación óptima de omega-6 y omega-3 en la dieta es fundamental para la prevención de enfermedades crónicas degenerativas. Una proporción de 4/1 se asoció con una disminución del 70% en la mortalidad total. Una proporción de 2.5/1 redujo la proliferación celular rectal en pacientes con cáncer colorrectal. Una proporción de 2-3/1 suprimió la inflamación en pacientes con artritis reumatoide, y una proporción de 5/1 tuvo un efecto beneficioso en pacientes con asma, mientras que una proporción de 10/1 tuvo consecuencias adversas. Estos estudios indican que la proporción óptima puede variar según la enfermedad en cuestión (Simopoulos, 2008).

Cuadro 2. Composición de ácidos grasos en el aceite de aguacate.

Composición de Ácidos Grasos	Porcentaje de contenido (%)
C14:0	0.06
C16:0	18.74
C16:1	7.88
C18:0	0.51
C18:1 omega-9	54.40
C18:1 omega-7	5.87
C18:2 omega-6	10.87
C18:3 omega-3	0.61
C18:3 omega-6	0.01
C20:1 omega-9	0.12
C20:3 omega-3	0.01
C20:4 omega-6	0.01
Trans	0.52
nd	0.39

AGS, Ácidos Grasos Saturados; AGM, Ácidos Grasos Monoinsaturados; AGP, Ácidos Grasos Poliinsaturados; nd, No detectado. Tomado y modificado de Berasategi et al., (2012).

Los fitosteroles son compuestos triterpenoides que se encuentran en el AA y presentan una estructura química similar a la del colesterol. Estos compuestos compiten con el colesterol para su absorción intestinal. En una comparación con el aceite de oliva, uno de los aceites culinarios más comercializados, el AA presentó un mayor contenido de fitosteroles totales, siendo el β -sitosterol su fitosterol predominante, con un contenido de 4.5 mg/g (Berasategi et al., 2012), que comprende aproximadamente el 75-80% del total de fitosteroles (Samaniego-Sánchez et al., 2021). El β -sitosterol tiene efectos protectores contra la inflamación y la diabetes al inhibir la síntesis de IL-6, el estrés oxidativo, la ciclooxigenasa y la producción de óxido nítrico (Kaur et al., 2023). Además, un estudio informó que una dosis de 40 mg/kg de β -sitosterol podría mitigar los efectos nocivos de la radiación gamma en ratas con artritis, lo que sugiere su potencial para contrarrestar eficazmente la inflamación y el estrés oxidativo al suprimir la producción de MDA y la actividad de la óxido nítrico sintasa inducible. Las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes del β -sitosterol se han demostrado en un estudio que examinó sus efectos en órganos articulares y extraarticulares, como el hígado, el corazón y los riñones (Vivancos & Moreno, 2005; Zhang et al., 2023). Además, se ha demostrado que el β -sitosterol regula los niveles séricos de lípidos y mejora

la función inmune, el estado antioxidante y la morfología intestinal en pollos de engorda (Cheng et al., 2020).

Los carotenoides son una clase de pigmentos terpenoides que van del color amarillo al rojo anaranjado y son responsables de los colores característicos del aceite. El total reportado de AA varía entre 1 y 3 mg/kg, obtenido por prensado en frío. Si embargo se ha reportado una obtención de hasta 28 mg/Kg en AA derivados de siete variedades de aguacates (Krumreich et al., 2018; Lin & Li, 2024). Además, también se han reportado de 9.7 a 20 mg/kg extraídos a diferentes temperaturas y condiciones de reacción mediante tratamiento ultrasónico y de microondas de pulpa de aguacate y separación de aceite por centrifugación (Krumreich et al., 2018; Topete-Betancourt et al., 2024). Estos pigmentos se pueden clasificar en dos grupos distintos: carotenos, que son hidrocarburos desprovistos de oxígeno, y xantofilas, que contienen oxígeno en su estructura. Una característica distintiva de los carotenos y las xantofilas es su diversidad estructural y funcional (Maoka, 2020). Cumplen una función fundamental como antioxidantes al eliminar y neutralizar los radicales libres, protegiendo así a las células del daño oxidativo (Marra et al., 2024). Se ha demostrado que los carotenoides protegen las células, los tejidos y los órganos de la acción dañina del oxígeno singulete al eliminar los radicales libres mediante la transferencia de electrones, la generación de aductos y la transferencia de átomos de hidrógeno (Rodríguez-Concepcion et al., 2018). Además, se ha demostrado que los carotenoides protegen a las células de los peróxidos lipídicos. La presencia de una β -caroteno oxigenasa 2 (BCO2) en la membrana interna mitocondrial humana ha llevado al desarrollo de carotenoides dirigidos a las mitocondrias para combatir de una manera más eficiente el estrés oxidativo en la matriz mitocondrial. La BCO2 interviene en las actividades catalíticas de los carotenoides provitamínicos y no provitamínicos A, lo que da como resultado la formación de apocarotenoides. Estos carotenoides contribuyen a la modulación del estrés oxidativo mitocondrial. La inflamación de bajo grado y la disfunción metabólica también se asocian con la deficiencia de la BCO2, lo que lleva a una producción excesiva de radical superóxido en las mitocondrias. Esto a su vez resulta en la disminución de los niveles de superóxido dismutasa mitocondrial y el deterioro de los complejos de la CTE (Ademowo et al., 2024). Los carotenoides más abundantes en el AA son la luteína, la neoxantina, la zeaxantina, la violaxantina y el β -

caroteno, y su contenido depende de los métodos de extracción y las condiciones de temperatura del método de saponificación (Hong et al., 2022; Lin & Li, 2024).

El AA exhibe altas concentraciones de clorofila (40–60 µg/g) mediante prensado en frío. Un estudio identificó cuatro compuestos principales en el AA, incluyendo las clorofilas y sus derivados de feofitina: clorofila *a* (4.9 µg/g), clorofila *b* (5.1 µg/g), feofitina *a* (1.1 µg/g) y feofitina *b* (2.2 µg/g), (Lin & Li, 2024). La feofitina *a* y *b* se han documentado como agentes antioxidantes y anticancerígenos (Hsu et al., 2013). En cuanto a su metabolismo, se transforman en feofitinas y feoforbidas correspondientes, y se absorben a tasas intestinales similares a los carotenoides. Sin embargo, también actúan como compuestos prooxidantes en ambientes lipofílicos bajo condiciones de luz (Pérez-Gálvez et al., 2020). La feofitina *a* y la hidroxifeofitina se han documentado como potentes inductores de la NAD(P)H quinona deshidrogenasa 1 (NQO-1) en las células hepáticas, induciendo así la desintoxicación hepática y mejorando el estado redox (Moeurng et al., 2024). Se ha demostrado que la clorofila *a* y la feofitina *a* poseen una actividad antiinflamatoria significativa en modelos animales, incluidos ratones albinos suizos y ratas Wistar. Se ha observado que estos compuestos inhiben la expresión del gen TNF- α inducida por LPS, y tanto la clorofila *a* como la clorofila *b* han mostrado la capacidad de suprimir la expresión de NF- κ B. Además, se ha informado que la feofitina *a* inhibe la migración celular, induce la fragmentación del ADN, detiene el ciclo celular en la fase S y reduce el potencial de membrana mitocondrial (Subramoniam et al., 2012).

El contenido total de compuestos fenólicos en el AA presenta una variabilidad significativa, con valores reportados que alcanzan hasta 408 mg/L (Lin & Li, 2024). Sin embargo, la presencia de compuestos fenólicos es más pronunciada en las cáscaras de aguacate que en la pulpa (Santana et al., 2019). El AA contiene una variedad de ácidos fenólicos tales como ácido vainílico, ácido clorogénico, *p*-vainillina, ácido ferúlico y tirosol, quercetina, apigenina y luteolina en forma de 7-glucósido, así como flavonoides y procianidinas, que se han reportado en extractos de aguacate (Salazar-López et al., 2020). El ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico y quercetina se identificaron en el aceite de pulpa de aguacate, exhibiendo variaciones en sus concentraciones basándose en factores tales como la maduración y el pelado, y demostrando propiedades antioxidantes (Bhuyan et al.,

2019). Se ha observado que los ácidos fenólicos mejoran la longevidad, la resistencia al estrés térmico y la quimiotaxis en concentraciones micromolares. Además, el ácido vainílico mejora el potencial de membrana mitocondrial con particular eficacia (Dilberger et al., 2021). La quercetina posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias capaces de impedir la síntesis de citocinas proinflamatorias. Esto la convierte en un agente terapéutico prometedor para varias condiciones inflamatorias (Aghababaei & Hadidi, 2023).

1.5.2 Estudios preclínicos sobre el aceite de aguacate

Se ha comprobado la capacidad antioxidante que exhiben el AA en células epiteliales de riñón de mono expuestas a rotenona, un inhibidor del complejo I de la CTE e inductor de estrés oxidativo. El tratamiento con AA incrementó de manera significativa la viabilidad celular y redujo los marcadores de estrés oxidativo, las ERO y la peroxidación lipídica. (Queiroz Junior et al., 2021).

1.5.2.1 El aceite de aguacate en la diabetes

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) inducida por estreptozotocina (STZ) en ratas aumentó significativamente el contenido de ácido docosahexaenoico (C22:6) en las membranas mitocondriales del hígado, lo que llevó a niveles más altos de peroxidación lipídica. Esta condición afectó la respiración mitocondrial, redujo la actividad del complejo I y aumentó la generación de ERO con sustratos del complejo I, junto con un estado de glutatión más oxidado, lo que indica estrés oxidativo. En el cerebro, la diabetes también afectó la función mitocondrial al disminuir la respiración en estados 4 y 3 y el potencial de membrana mitocondrial, además de que aumentó los niveles de ERO y disminuyó la relación GSH (glutatión reducido) /GSSG (glutatión oxidado). Todas estas alteraciones inducidas por la DM1 se contrarrestaron con la administración diaria de AA durante 90 días (Ortiz-Avila, et al., 2015a; Ortiz-Ávila et al., 2015b).

Otro estudio exhaustivo en un modelo de DM2 con ratas Goto-Kakizaki exploró los efectos a largo plazo de la suplementación con AA durante 12 meses. Las ratas diabéticas mostraron hiperglucemia persistente y mayor estrés oxidativo en las mitocondrias renales. El consumo de AA contrarrestó estos efectos, reduciendo los niveles de ERO hasta en un 75% a los seis meses, mejorando significativamente la hiperglucemia y retrasó el desarrollo de nefropatía diabética. También se demostró que la suplementación con aceite de aguacate

restaura completamente los niveles de glutatión tanto a los tres como a los seis meses, manteniendo un nivel 2.6 veces más alto que en los controles diabéticos a los 12 meses. Este hallazgo sugiere que el AA posee un potencial significativo como antioxidante dietético para mitigar el estrés oxidativo, un factor clave en el desarrollo de enfermedades metabólicas como la EHNA (Ortiz-Ávila et al., 2017).

Si bien el AA no restauró los niveles de glucosa a niveles normales, su efecto hipoglucémico parcial podría tener un efecto beneficioso sobre la salud cardiovascular (Ortiz-Ávila et al., 2017), ya que cada aumento de 25 mg/dL en la glucosa se asocia con un aumento del 15% en el riesgo cardiovascular (Xiao et al., 2024). En consecuencia, la reducción en los niveles de glucosa en sangre inducida por el AA tiene el potencial de disminuir el riesgo cardiovascular en modelos diabéticos. La reducción en los niveles de glucosa por el AA concuerda con otro estudio donde la suplementación dietética con AA condujo a una reducción sustancial en la RI en ratas que consumían fructosa (Del Toro-Equihua et al., 2016).

1.5.2.2 El aceite de aguacate en la EHNA

Nuestro grupo de investigación ha evaluado el efecto del aceite de aguacate en un modelo experimental de EHNA inducida en ratas mediante una dieta alta en grasa y alta en fructosa (AGAF). El daño hepático del grupo EHNA fue caracterizado mediante un análisis histológicos, donde se identificó esteatosis e hipertrofia hepática de grado 2, cercana al grado 3, inflamación severa, presencia de infiltrados inflamatorios, así como acumulaciones de hialina de Mallory. En contraste, el grupo CTRL no presentó alteraciones histológicas. A nivel funcional, se evaluó la actividad del complejo I de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, el cual es esencial para la oxidación del NADH. En el grupo EHNA, la actividad de este complejo se redujo aproximadamente en un 80 % respecto al grupo CTRL, evidenciando una disfunción mitocondrial significativa. Sin embargo, en los grupos EHNA tratados con AA, la actividad del complejo I mejoró en un 60 % respecto al grupo EHNA. De igual forma, se evaluó el segmento correspondiente al complejo II-III, involucrados en la oxidación de succinato a fumarato y en la transferencia de electrones a través de la ubiquinona. La actividad de este segmento se encontró marcadamente disminuida en los

animales con EHNA, mientras que en los grupos EHNA tratados con AA se observó una recuperación de aproximadamente el 50 % en comparación con el grupo CTRL.

El estrés oxidativo también fue evaluado mediante la cuantificación de ERO y la peroxidación lipídica. El grupo EHNA mostró un aumento del 50 % en la producción de ERO y un incremento del 90 % en la peroxidación de lípidos respecto al grupo CTRL, lo que concuerda con la inhibición de los complejos mitocondriales antes mencionados. En contraste, los grupos EHNA tratados con AA presentaron una reducción del 50 % en ERO y del 60 % en peroxidación lipídica, lo cual evidencia el potencial antioxidante del aceite.

Finalmente, se analizaron marcadores inflamatorios como el TNF- α y la IL-6 mediante western blot. En el grupo EHNA, la expresión de estas citocinas proinflamatorias aumentó en un 80 % respecto al grupo CTRL, lo cual es consistente con resultados histológicos. En cambio, en el grupo EHNA tratado con AA, la expresión de TNF- α e IL-6 se redujo en un 40 % respecto al grupo EHNA, indicando una modulación de la respuesta inflamatoria por parte de los compuestos bioactivos presentes en el aceite.

Estos resultados en conjunto con los estudios del efecto del AA en la diabetes, demuestran que dicho aceite posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y hepatoprotectoras, y que los compuestos minoritarios podrían mediar los efectos antes mencionados.

II. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, no existe un tratamiento farmacológico aprobado para el tratamiento de la EHNA. El abordaje terapéutico se basa en la modificación de la dieta y la implementación de una rutina de ejercicio físico. Sin embargo, estos cambios en el estilo de vida son difíciles de implementar a largo plazo en las personas, por lo cual resultan insuficientes para revertir significativamente la ETHNA. Por lo tanto, en la práctica se implementan estrategias de control basadas en la administración de fármacos contra la obesidad y la DM2, los cuales no son eficaces en todos los pacientes, además de que pueden tener efectos indeseables importantes.

Se ha sugerido que el consumo de AA puede tener un efecto terapéutico contra el desarrollo de la EHNA, lo cual podría estar relacionado con la mejora en el funcionamiento mitocondrial, la reducción del estrés oxidativo y la inflamación. Sin embargo, estos datos no son suficientes para explicar el mecanismo hipoglucemiante del AA ni la prevención y/o reversión de la EHNA. Asimismo, se ignora si los efectos benéficos del AA antes mencionados son atribuibles a su alto contenido de C18:1 o son debidos a la presencia de sus múltiples moléculas bioactivas en la FIAA. Lo anterior justifica el estudio de los mecanismos de acción del AA en la EHNA y la hiperglucemia inducida por una dieta AGAF, y elucidar si sus compuestos bioactivos insaponificables son responsables de los efectos del AA en este contexto. La información obtenida de este proyecto puede sentar las bases para el aislamiento y la identificación de moléculas presentes en el AA con potencial farmacológico para el tratamiento de la EHNA, la hiperglucemia, y en general, el síndrome metabólico.

III. HIPÓTESIS

El AA y la FIAA previenen el desarrollo de la EHNA y la hiperglucemia al disminuir la RI por una disminución de los niveles de DAG y mejora en la oxidación β de ácidos grasos.

IV. OBJETIVOS

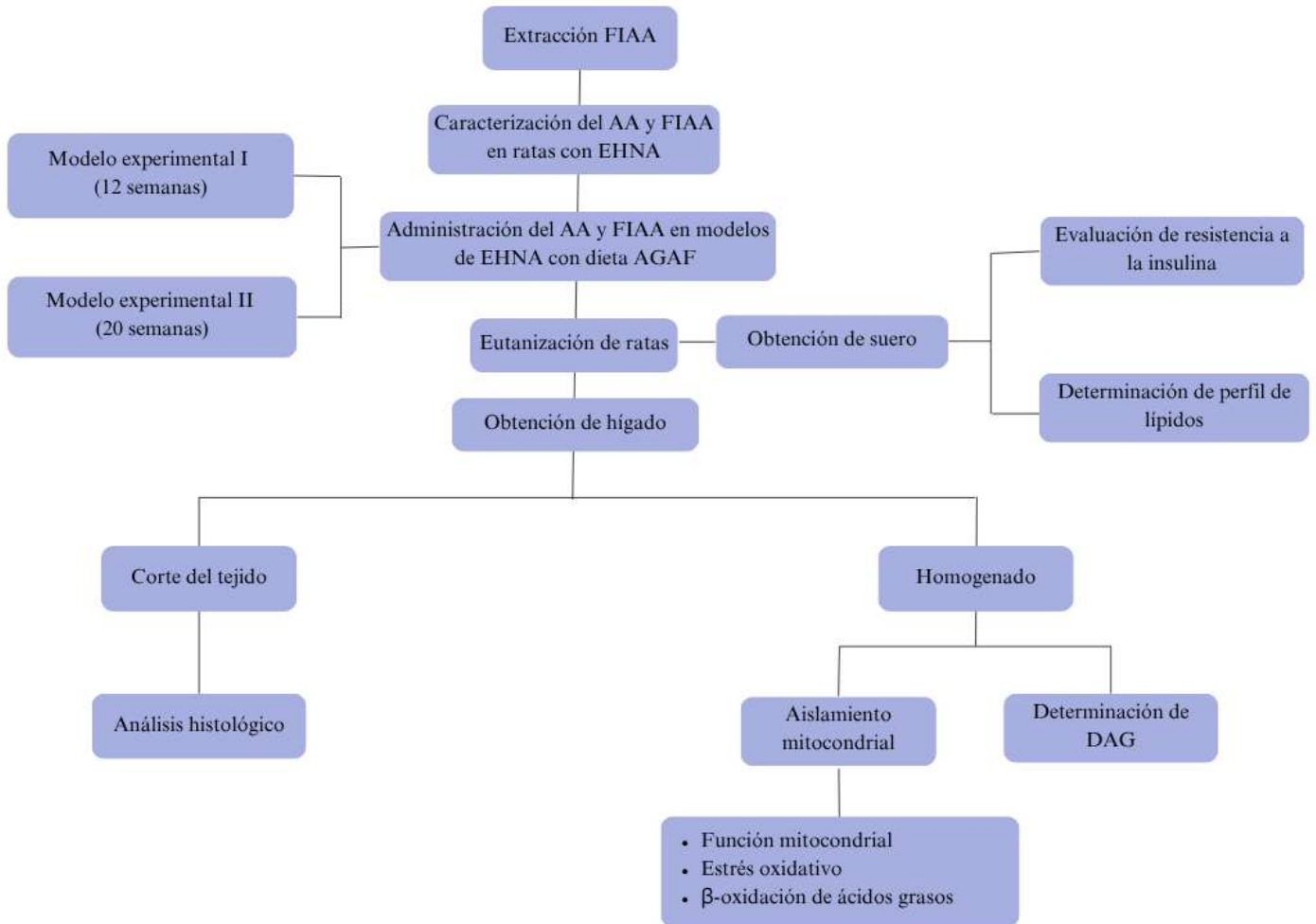
4.1 Objetivo general

Evaluar si el AA y la FIAA mejoran la RI en un modelo de EHNA al disminuir los niveles de DAG, favoreciendo la oxidación β de ácidos grasos.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto del AA y la FIAA en el desarrollo de EHNA y la resistencia a la insulina de ratas con EHNA.
2. Evaluar el efecto del AA y la FIAA sobre la bioenergética y estrés oxidativo en mitocondrias de hígado de ratas con EHNA.
3. Determinar el efecto del AA y la FIAA en los niveles de DAG y la oxidación β de ácidos grasos de mitocondrias de hígado de ratas con EHNA.

V. EXTRATEGÍA EXPERIMENTAL



Esquema 13. Diagrama de flujo de la estrategia experimental.

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1 Obtención de la fracción insaponificable del aceite de aguacate

25 g de AA (Chosen Foods, México, S.A. de C. V.) se mezclaron en una solución de etanol/agua (3:1 v/v, 100 mL) y KOH (17.5 g) y posteriormente la mezcla se llevó a reflujo durante 2 h hasta completar la reacción de saponificación, seguido de la dilución con agua y extracción de la FIAA con n-hexano (Fermont, Cat No. 06473), en volúmenes iguales al volumen total de saponificación. El hexano se eliminó usando un rotavapor (Büchi®, R-210, 45°C y 360 mbar), y la fracción previamente obtenida se almacenó a 4°C hasta su uso (D'Silva & D'Souza, 2015).

6.2 Caracterización del aceite de aguacate y su fracción insaponificable

Se remitió una muestra de AA comercial (Chosen Foods, México, S.A. de C. V.) y de su fracción insaponificable previamente obtenida al Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías del Instituto Politécnico Nacional. Se identificaron los ácidos grasos presentes en el AA, en conjunto con la caracterización de los compuestos presentes en la FIAA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas. De manera complementaria se caracterizaron los compuestos presentes en la FIAA mediante ionización por electrospray.

6.3 Modelos experimentales

Se usaron ratas Wistar macho adultos de ~380 g que se mantuvieron en un bioterio con ciclos de luz/ oscuridad 12 h/12 h, en condiciones controladas de temperatura de 22° C promedio y humedad relativa. Se midió el consumo de alimento y agua. Para la inducción de la EHNA, se administró una dieta AGAF que se preparó con 47.5% de alimento estándar para roedores (Laboratory Rodent Diet 5001, LabDiet, St. Louis, MO, United States), 40.6% de aceite vegetal hidrogenado, 10.1% de manteca de cerdo, 1.3% de colato de sodio (Merck, #cat C1254-500G, Darmstadt, Alemania), 0.3% cloruro de colina (Merck #cat C1879-500G, Darmstadt, Alemania) y 0.2% de tiouracilo (Merck, #cat T7750-100G, Darmstadt, Alemania) (Cuadro 1). La administración de fructosa (25% v/v) fue en el agua de beber *ad libitum* (Thota et al., 2019). Los animales se dejaron en ayuno de 12 h previo a la eutización, la cual se llevó a cabo por decapitación.

En el cuadro 2 se muestran los componentes de las dietas utilizadas para la inducción de EHNA de los dos modelos experimentales, conformados por grupos experimentales de 5 a 6 ratas cada uno.

- **Modelo experimental I:** Después de una semana de adaptación, se procedió a la administración de la dieta AGAF, sola o en conjunto con el AA o la FIAA por 11 semanas, las cuales fueron administradas diariamente por vía oral mediante sonda nasogástrica. El AA se administró a una dosis de 4g/kg de peso corporal y la FIAA a una dosis de 100 mg/kg de peso corporal, disuelta en una solución de grenetina al 10% como vehículo (Dille & Draget, 2021).
- **Modelo experimental II:** Tras la semana de adaptación, se inició la administración de la dieta AGAF durante las siguientes 4 semanas. Posteriormente, se administró el AA y la FIAA, empleando las mismas dosis que se utilizaron en el modelo experimental I, en conjunto con la dieta AGAF. A la semana 16, se indujo la DM2 mediante la administración intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) a una dosis baja de 30 mg/kg de peso corporal (Ar'Rajab & Ahrén, 1993; Van Herck et al., 2017). Los animales siguieron con su tratamiento durante 4 semanas adicionales.

El uso y cuidado de los animales se llevó a cabo siguiendo las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999, "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Es importante mencionar que existe evidencia documental que auditable en la Dirección del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Los restos biológicos de las ratas y sus fluidos se separaron, envasaron, etiquetaron, almacenaron, recolectaron, transportaron y se dispusieron de manera final siguiendo las recomendaciones de la NOM-087-ECOL-1995 "Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas". La recolección, transporte y disposición de los residuos biológicos lo realizó la empresa "Protección Técnica Ecológica", con la cual el IIQB cuenta con un programa de recolección de residuos biológicos y químicos (Contrato PROTEECO-0510-MICH-18).

Cuadro 3. Componentes de la dieta experimental.

Componentes de la dieta	Control	AGAF
Calorías (kcal)	440.5	501*
Carbohidratos totales %	62	60
Fructosa %	-	25
Sacarosa %	-	10
Lactosa%	-	10
Grasas totales %	8.5	21
Grasas saturadas %	-	8
Grasas trans %	-	3.6

Nota: No se incluyen las calorías de la fructosa en agua

Cuadro 4. Características de los grupos experimentales.

Nombre del grupo	Modelo I (12 semanas)	Modelo II (20 semanas)
Control (CTRL)	Dieta estándar (DE) + grenetina (100 mg/kg)	DE (sin grenetina)
EHNA	Dieta alta en grasa y alta en fructosa (AGAF)	AGAF+ Estreozotocina (STZ) 30mg/kg
EHNA/AA	AGAF + AA (4g/kg)	AGAF+STZ+ AA
EHNA/FIAA	AGAF + FIAA (100 mg/kg)	AGAF+STZ + FIAA
AA	DE + AA	DE + AA
FIAA	DE + FIAA	DE + FIAA

6.4 Prueba de tolerancia oral a la glucosa

La prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) se evaluó dos días antes del sacrificio, mediante un ayuno de 12 hr. Posteriormente se administró una solución de glucosa de 2 g/kg de peso por vía oral mediante sonda, seguido de la obtención de sangre de la vena lateral de la cola durante 15, 30, 60, 90 y 120 minutos para la evaluación de los niveles de glucosa usando un glucómetro Accu-Chek® performa.

6.5 Determinación de la resistencia a la insulina.

La muestra sanguínea se recolectó después de la eutanización y se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos para obtener los sueros sanguíneos, los cuales se almacenaron a -70 °C hasta su uso. La concentración de insulina sérica se determinó utilizando el kit Rat Ins1 Insulin ELISA (RAB0904, Merck, Darmstadt, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los niveles de glucosa se determinaron con un glucómetro Accu-Chek® performa, previo a un ayuno de 10 h. La RI se evaluó mediante el modelo de homeostasis de la resistencia a la insulina (HOMA-IR) con la siguiente fórmula (Antunes et al., 2016; Cacho et al., 2008):

$$\text{HOMA-IR} = \text{glucosa en ayuno (mmol/L)} * \text{insulina en ayuno (mU/L)} / 22.5$$

6.6 Determinación del perfil lipídico

La muestra sanguínea se recolectó después de la eutanización y se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos para obtener los sueros sanguíneos, los cuales se almacenaron a -70°C hasta su uso. Las concentraciones de colesterol y TG se determinaron espectrofotométricamente utilizando kits comerciales de SPINREACT® (Girona, España), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de VLDL se obtuvieron mediante la siguiente fórmula:

$$\text{VLDL} = \text{Triglicéridos (mg/dL)} / 5$$

6.7 Evaluación histológica de la EHNA.

Las secciones de hígado se fijaron en formalina al 4% para la preservación del tejido, seguido de una deshidratación. Después, se introdujeron los tejidos en bloques de parafina histológica (GOLDEN BELL, p.f. 60-64°C) y se rebanaron con un espesor de 5 µM en un microtomo (Leica RM2125 RTS). La tinción se realizó con hematoxilina y eosina (H&E). El estado de la EHNA se evaluó utilizando un sistema general de puntuación de EHNA

estandarizado para modelos de roedores en base al sistema tradicional de puntuación de Kleiner (Liang et al., 2014), quienes determinaron los criterios de puntuación de macroestasis, microestasis e hipertrofia: 0 (<5%), 1 (5%–33%), 2 (34%–66%) y 3 (>66%); y la puntuación de inflamación: normal (<0,5), leve (0,5–1,0), moderada (1,0–2,0), grave (>2,0).

6.8 Determinación de los niveles de DAG.

Se tomó 1 ml de homogenado de hígado, se lavó dos veces con 1 mL de PBS y se centrifugó a 5000 rpm por 10 min a 4 °C. Los niveles de proteína se determinaron con el método de Biuret y la concentración se ajustó a 20 mg/mL en medio PBS. Los niveles de DAG se determinaron utilizando el kit colorimétrico de ELISA de Aviva System Biology OKEH0260, siguiendo las instrucciones del fabricante (Levine et al., 2020).

6.9 Aislamiento de mitocondrias.

Las mitocondrias de hígado se aislaron por centrifugación diferencial (Saavedra-molina & Devlin, 1997). El hígado obtenido después de la eutanización se pesó y colocó en medio I que contenía manitol 22 mM, sacarosa 70 mM, MOPS 2 mM y EGTA 1mM (pH 7.4). El hígado se cortó en pedazos y se homogenizó en un homogeneizador Potter-Elvehjem. El homogenado se centrifugó a 2000 rpm y se recuperó el sobrenadante que posteriormente se centrifugó a 7500 rpm. El sobrenadante obtenido se desechó y la pastilla se resuspendió en ~2 mL de medio II con manitol 220 mM, sacarosa 70 mM, MOPS 2 mM (pH 7.5), y se agregó 80 µL de BSA al 0.2% y se centrifugó a 9000 rpm. La pastilla se resuspendió en 500 µL del medio II y se almacenó a -70°C. Cada centrifugación se realizó por 10 minutos a 4 °C. La concentración de proteína mitocondrial se determinó por el método de Biuret (Gornall et al., 1949).

6.9.1 Medición del consumo de oxígeno

Se resuspendió 1 mg/mL de mitocondrias recién aisladas en un volumen final de 3.3 mL de un buffer de respiración con KCl 100 mM, HEPES 10 mM, KH₂PO₄ 3 mM y MgCl₂ 3 mM (pH 7.4). Esta solución se colocó en una cámara de vidrio sellada con agitación constante. La velocidad de consumo de oxígeno se evaluó a temperatura ambiente usando un electrodo de oxígeno tipo Clark acoplado a un monitor biológico de oxígeno YSI 5300A y conectado a una computadora para la adquisición de datos. Los trazos de respiración se iniciaron induciendo la respiración basal con glutamato/malato 10 mM como sustrato

respiratorio. Después de 90 s se agregó ADP 0.45 mM para inducir el estado fosforilante (estado 3). En el modelo experimental I la respiración en estado 4 se indujo con 1.4 µg/ml de oligomicina a los 180 s de iniciado el trazo. La respiración fue inhibida en su totalidad con la adición de KCN 0.6 mM a los 270 s. En el caso del modelo experimental II el protocolo se llevó a cabo igual que en el modelo experimental I, excepto que se agregó el desacoplante CCP 6 µM a los 270 s. Posteriormente, la respiración se inhibió a los 360 s con 6 µg/ml de antimicina A. El cociente respiratorio (CR) se calculó dividiendo la velocidad de respiración en el estado 3 entre la velocidad de respiración en el estado 4 (Ortiz-Avila, et al., 2015).

6.9.2 Determinación de la oxidación β de ácidos grasos.

La oxidación mitocondrial de ácidos grasos se llevó a cabo por el método descrito por Turner et al. (2007) con algunas modificaciones. Se resuspendió 1 mg/mL de proteína mitocondrial en un volumen final de 3.3 mL en una cámara de vidrio sellada con buffer respiratorio. Se agregaron malato 5 mM y palmitoil-carnitina 15 µM y para desacoplar la respiración con cianuro de carbonilo-3-clorofenilhidrazona (CCP) 6 µM y se registró el consumo de oxígeno durante 270 s. Por último, se agregó 6 µg/mL de antimicina A para descartar el consumo de oxígeno inespecífico. La velocidad de consumo de oxígeno se determinó con un electrodo de oxígeno de tipo Clark acoplado a un monitor de oxígeno YSI 5300 y a una computadora para la adquisición de datos.

6.9.3 Potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi$)

El $\Delta\psi$ se estimó mediante un ensayo espectrofluorométrico utilizando 30 µM de safranina O a una λ_{ex} de 495 nm y una λ_{em} de 586 nm en un espectrofluorómetro Shimadzu RF5301PC. Se resuspendió 1 mg/mL de mitocondrias en una cubeta de cuarzo en un volumen final de 2 mL de medio respiratorio y se incubaron con safranina O durante 5 min. Se registró la fluorescencia basal durante 60 s, se añadió 10 mM de glutamato/malato para energizar las mitocondrias y se registraron los cambios en la fluorescencia durante 3 minutos. Finalmente se desacopló el $\Delta\psi$ con 15 µM del desacoplante CCP (Ortiz-Avila et al., 2015).

6.9.4 Determinación de la actividad del complejo I

Se resuspendieron 0.3 mg/mL de mitocondrias y se incubaron por 2 minutos en 1600 µL de agua destilada para provocar choque osmótico. Después, se incubó por 5 min con 1 µg de antimicina A y de KCN 0.75 mM en 400 µl de buffer 50 mM KH₂PO₄ (pH 7.6) para un

volumen final de 2 mL. La actividad del complejo se determinó utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-2550. Se agregó $K_3Fe(CN)_6$ 2.5 mM y se inició el trazo midiendo la absorbancia durante 300s, en el segundo 60 NADH 1 mM y se registraron los cambios en la absorbancia a 340 nm. La tasa de oxidación del NADH se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar de $16.3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ del NADH (Ortiz-Avila et al., 2015a).

6.9.5 Determinación de la actividad del segmento del complejo II-III

Se utilizaron 0.3 mg/ml de mitocondrias previamente congeladas y descongeladas en un volumen final de 1 mL de buffer 50 mM de KH_2PO_4 (pH 7.6). La mezcla se incubó durante 5 minutos con KCN 0.75 mM y luego se agregó citocromo *c* oxidado 30 mM. Posteriormente, se inició el registro de la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 nm. Después de 60 s se agregó 10 mM de succinato como sustrato y se registró la absorbancia durante 120 s. La reacción se detuvo al agregar 1 μg de antimicina A, un inhibidor del complejo III. La tasa de reducción de citocromo *c* se calculó a partir de las pendientes de los gráficos de absorbancia utilizando un coeficiente de extinción molar de $19.1 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ para el citocromo *c*. La reducción inespecífica del citocromo *c* se eliminó restando la actividad enzimática en presencia de antimicina A y succinato a la actividad estimulada solo con succinato (Ortiz-Avila, et al., 2015a).

6.9.6 Determinación de la producción mitocondrial de ERO

La producción mitocondrial de ERO se evaluó determinando la oxidación de la sonda fluorescente diacetato de 2'7'-dihidro dicloro fluoresceína (H_2DCFDA), a una λ_{ex} de 491 nm y una λ_{em} de 518 nm, en un espectrofluorómetro Shimadzu RF5301PC. Se resuspendieron 0.3 mg/ml de mitocondrias y se incubaron con 1.25 mM de H_2DCFDA a 4 °C con agitación constante durante 20 minutos en buffer respiratorio con un volumen final de 2 mL. Posteriormente, la mezcla se transfirió a una cubeta de cuarzo y se registró la fluorescencia basal por 1 minuto. Se agregó glutamato/malato 5 mM como sustrato respiratorio y se registró el incremento en la fluorescencia por 10 minutos. Finalmente, se agregó 1.5 $\mu\text{g/ml}$ de antimicina A para inhibir el complejo III y aumentar la producción de ERO y se registró la fluorescencia por 540 s. Los resultados fueron expresados como unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF)/min x mg de proteína (Ortiz-Ávila, et al., 2015a).

6.10 Análisis de datos

Los resultados se expresan como el promedio \pm error estándar de al menos tres experimentos independientes. La significancia estadística de las diferencias entre las medias de los diferentes grupos experimentales se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA). El análisis *post hoc* se realizó mediante el método de Holm-Sidak considerando una $p > 0.05$. Para la comparación entre dos medias se utilizó la prueba de T de Student. Programa Sigma Plot v14.5 (Inpixon, Palo Alto, CA, EE.UU.).

6.11 Aspectos Éticos

Los experimentos con animales fueron aprobados la Comisión de Ética en la Investigación, Investigación y Bioseguridad (CEIIB) y por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (CICUAL-IIQB).

VII. RESULTADOS

7.1 Caracterización del aceite de aguacate y su fracción insaponificable

Se identificó la composición de ácidos grasos presente en el AA mediante cromatografía de gases acoplada a masas (Tabla 1), y se observó que el principal ácido graso fue el C18:1 con un 59%, seguido del C18:2 con un 16.5%, además de la presencia de ácidos grasos saturados como el C16:0 con un 15.7%.

Tabla 1. Identificación de ácidos grasos en el AA mediante cromatografía de gases acoplada a masas.

Ác. grasos	Proporción relativa (%)
C18:1	59
C18:2	16.5
C16:0	15.7
C16:1	5.4
C18:0	1.3
Otros ácidos grasos	2.1
Total	100

Se analizó la FIAA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (Tabla 2) y se encontró la presencia de una variedad de compuestos alifáticos saturados dentro de los que destacan el undecano, dodecano y tridecano.

Tabla 2. Identificación de compuestos en la FIAA mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas.

Nombre del compuesto	Proporción relativa (%)
Decano	7.65
4-Metildecano	2.87
2-Etil-1-hexanol	6.68
2-Ciclohexildecano	1.89
Tridec-2-en-1-ol	4.05
Undecano	19.55
1-Metildecahidronaftaleno	4.65
6-Metilundecano	1.44
2-Decanona	4.56
Dodecano	17.187
2,6-Dimetilundecano	6.612
2,3,7-Trimetiloctano	4.795
Tridecano	11.848
Tetradecano	2.82

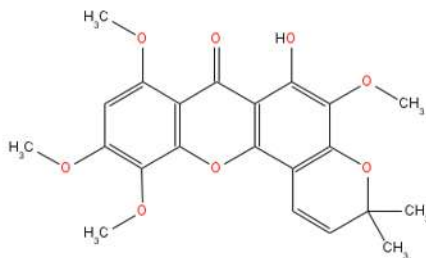
De manera complementaria, se llevó a cabo la caracterización de la FIAA mediante ionización por electrospray (Tabla 3). Esta técnica se utiliza para la identificación de compuestos de alto peso molecular. Se identificaron seis compuestos heterocíclicos aromáticos que contaban con diversos grupos funcionales. El compuesto 1 es un terpenoide modificado con una estructura química compleja de múltiples grupos metilo. El compuesto 2, es un glucósido iridoide que presenta dos heterociclos y múltiples grupos hidroxilo. El compuesto 3 es una benzofuranona que presenta una estructura química muy parecida al compuesto 2, con presencia de dos heterociclos y múltiples grupos hidroxilo, pero con diferente disposición espacial. El compuesto 4 es un derivado de la xantona, altamente funcionalizado, con diversos grupos metoxi un par de grupos metilo y un hidroxilo. El

compuesto 5 es un triterpenoide aromático, formado por un anillo bencénico y 20 átomos de carbono, a partir de unidades de isopreno. El compuesto 6 es un diéster de cadena larga de un derivado de piranosa.

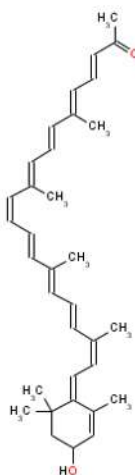
Tabla 3. Identificación de compuestos en la FIAA mediante ionización por electrospray.

N°	Peso molecular	Nombre	Estructura
1	351.2291	3,7-Dimetil-6-(5,5,8,8-tetrametil-5,6,7,8-tetrahidro-naftaleno-2-il)-octa-2,4,6-ácido trienoico	
2	333.1565	Glucósido	
3	359.1921	Loliolida β-D-glucopiranosido	

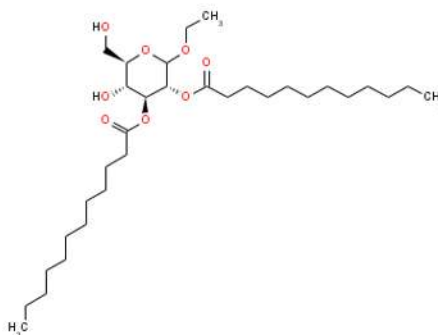
4 415.137 Yaxantona



5 485.3381 Tangeraxantina



6 573.4388 [3-Dodecanoiloxi-2-etoxi-5-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-4-il] dodecanoato



7.2 Modelo experimental I

7.2.1 Efecto del AA y la FIAA sobre la tolerancia oral a la glucosa y la resistencia a la insulina

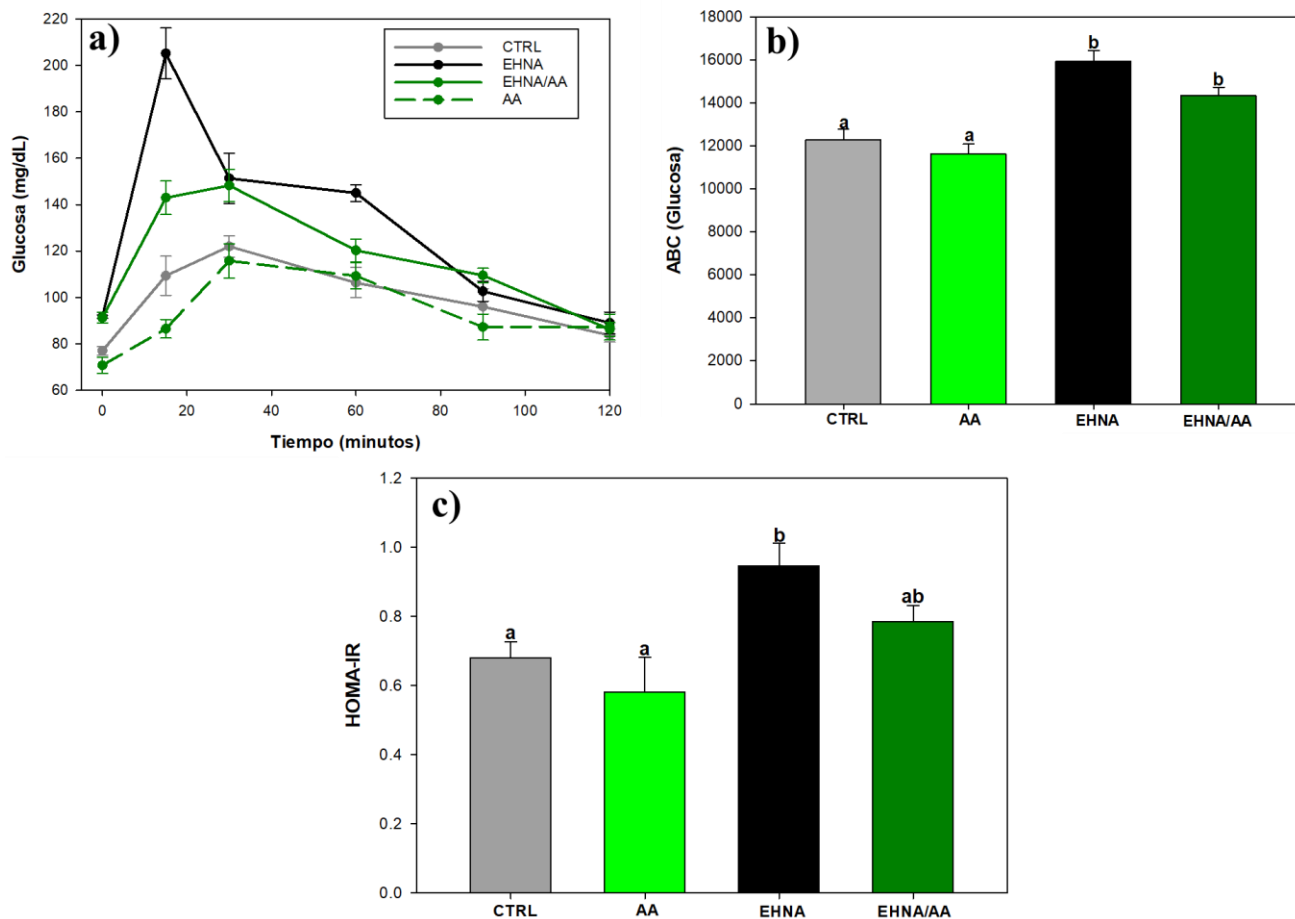


Figura 1. Efecto del AA sobre la RI en el Modelo I. Los datos se presentan como el $\bar{x} \pm e.e$ ($n=4$). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos para b) y vs EHNA para c) ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se evaluó el metabolismo de la glucosa mediante una PTOG en los diferentes grupos experimentales. En la Figura 1a se observa que todos los grupos iniciaron con niveles basales de glucosa por debajo de los 100 mg/dL y finalizaron con ~ 90 mg/dL. El grupo CTRL alcanzó su pico más alto de glucosa circulante a los 30 minutos con ~ 120 mg/dL, en tanto que el grupo EHNA alcanzó su pico más alto a los 15 minutos con ~ 200 mg/dL y se mantuvieron entre los 30-60 minutos de manera sostenida con ~ 140 mg/dL. El grupo EHNA/AA alcanzó su pico más alto a los 30 minutos con ~ 140 mg/dL, por debajo del grupo EHNA. El grupo de

AA presentó un comportamiento similar al grupo CTRL. En la Figura 1b se visualiza el área bajo la curva (ABC) obtenida a partir de las curvas de la Figura 1a, lo cual confirmó que el ABC del grupo EHNA es un ~20% mayor al CTRL. No obstante que el grupo EHNA/AA no presentó diferencia significativa con respecto al grupo EHNA, si se presentó una tendencia a la baja en el grupo tratado con el AA debido a la disminución en los niveles de glucosa en los minutos 15 y 60. El grupo AA no tuvo una diferencia significativa con respecto al CTRL, lo que corresponde al comportamiento que se muestra en la PTOG. En la Figura 1c se muestran los resultados de la evaluación de la RI mediante el cálculo del HOMA-IR. Se confirmó que el grupo EHNA tuvo una RI ~20% mayor que el grupo CTRL. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la RI entre el grupo EHNA/AA y el grupo EHNA, aunque de nuevo se observó una tendencia a la baja en el primer grupo. Asimismo, no se observaron diferencias entre el grupo AA y el grupo CTRL.

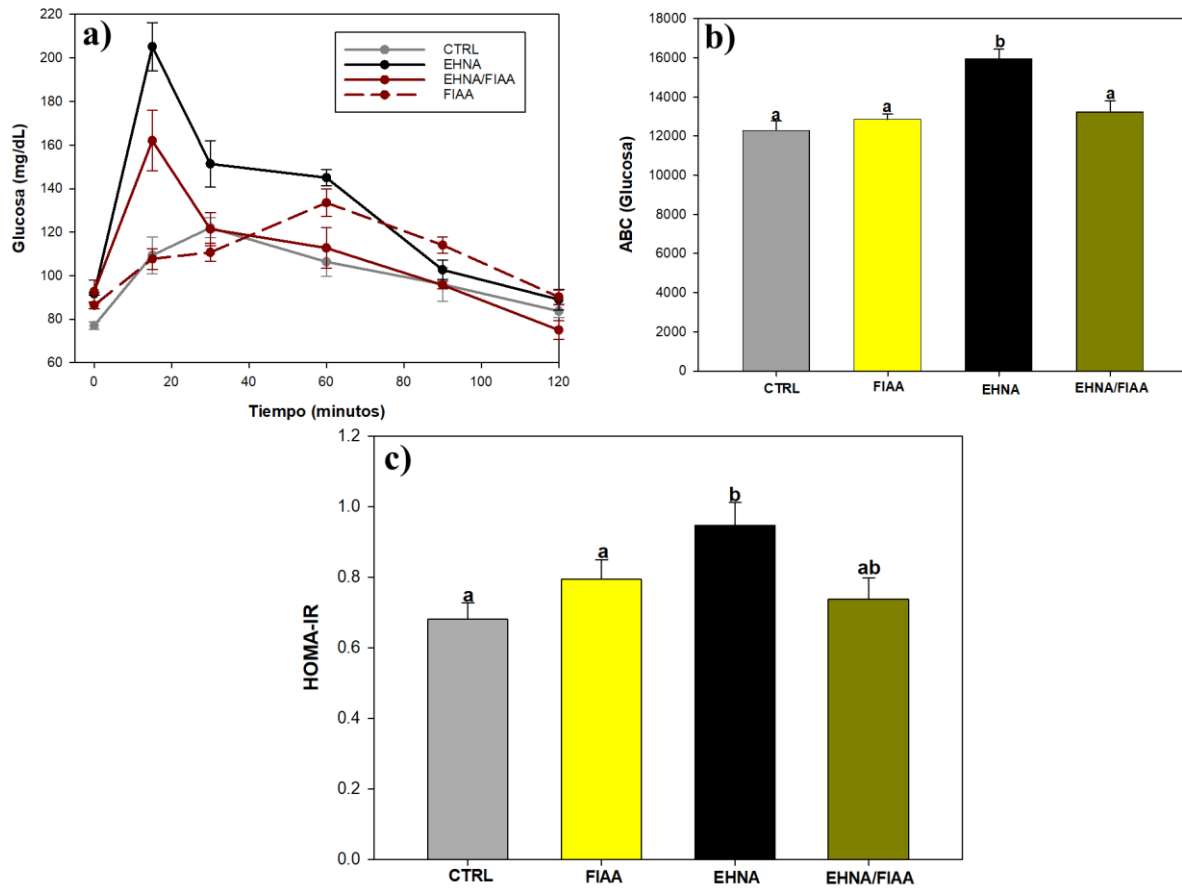


Figura 2. Efecto de la FIAA sobre la RI en el Modelo I. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos para b) y vs EHNA para c) ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 2a se presentan los efectos del tratamiento con la FIAA, en donde se observó que de manera similar a los grupos tratados con AA todos los grupos inician con niveles basales de glucosa de por debajo de los 100 mg/dL y finalizan con niveles de glucosa de ~90mg/dL. El grupo EHNA/FIAA alcanzó su pico más alto a los 30 minutos con ~140 mg/dL, por debajo del grupo EHNA. El grupo FIAA presentó un comportamiento similar al grupo CTRL. En la Figura 2b se visualiza el ABC, en la que se observa que el ABC del grupo EHNA/FIAA es un ~20% menor al grupo EHNA. El grupo FIAA tuvo un comportamiento similar al grupo CTRL. En la Figura 2c se observó que el grupo EHNA/FIAA presentó una RI un ~20% menor con respecto al grupo EHNA.

7.2.2 Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa

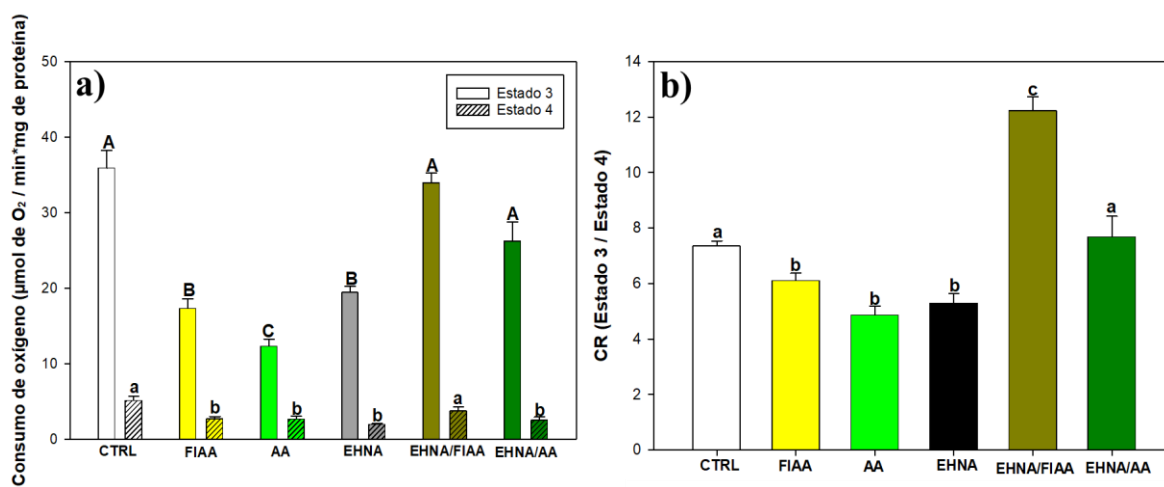


Figura 3. Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa en Modelo I. Los datos se presentan como el $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa vs EHNA ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se midió el consumo de oxígeno utilizando glutamato/malato como sustrato en mitocondrias hepáticas. En la Figura 3a se muestra la respiración mitocondrial en estado 3 (fosforilante) y estado 4 (basal). Se observó que la respiración de los estados 3 y 4 del grupo EHNA disminuyó ~50% con respecto al CTRL. La respiración en estado 3 del grupo EHNA/AA y EHNA/FIAA fue mayor respecto al grupo EHNA. Este mismo efecto se observó con la respiración en estado 4 pero solo en el grupo EHNA/FIAA. En el caso de los grupos AA y FIAA, la respiración en los estados 3 y 4 disminuyó un ~50% con respecto al CTRL.

En la Figura 3b se observan los resultados del CR, donde se observa que la fosforilación oxidativa del grupo EHNA disminuyó ~30% con respecto al CTRL. En cuanto al grupo EHNA/AA, la fosforilación oxidativa se vio restablecida alcanzando un CR ~7, similar al CR del grupo CTRL, valor que fue superado por el grupo EHNA/FIAA con un CR de ~12. En contraste, los grupos AA y FIAA presentaron valores de CR similares al grupo EHNA, lo que es resultado de una disminución en la respiración en los estados 3 y 4 observada en esos grupos.

7.2.3 Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana mitocondrial

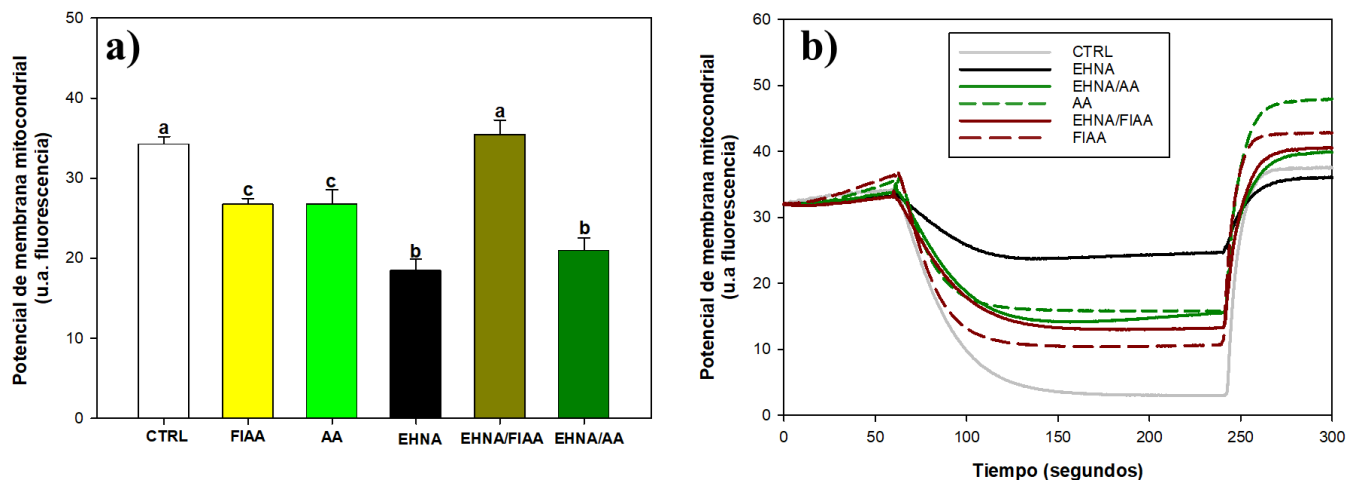


Figura 4. Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana en Modelo I. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se evaluaron los efectos del AA y la FIAA en el $\Delta\Psi$ utilizando glutamato/malato como sustrato respiratorio. En la Figura 4a se puede observar que el $\Delta\Psi$ del grupo EHNA disminuyó ~50% con respecto al CTRL. El grupo EHNA/AA no mostró mejora en el $\Delta\Psi$ con respecto al grupo EHNA pero si lo hizo en el grupo EHNA/FIAA, alcanzando un aumento del $\Delta\Psi$ de ~50%. En el caso de los grupos AA y FIAA, el $\Delta\Psi$ disminuyó un 30% con respecto al CTRL. En la Figura 4b se visualizan trazos representativos del $\Delta\Psi$.

7.2.4 Efecto del AA y la FIAA sobre la actividad de los complejos I y II-III de la CTE

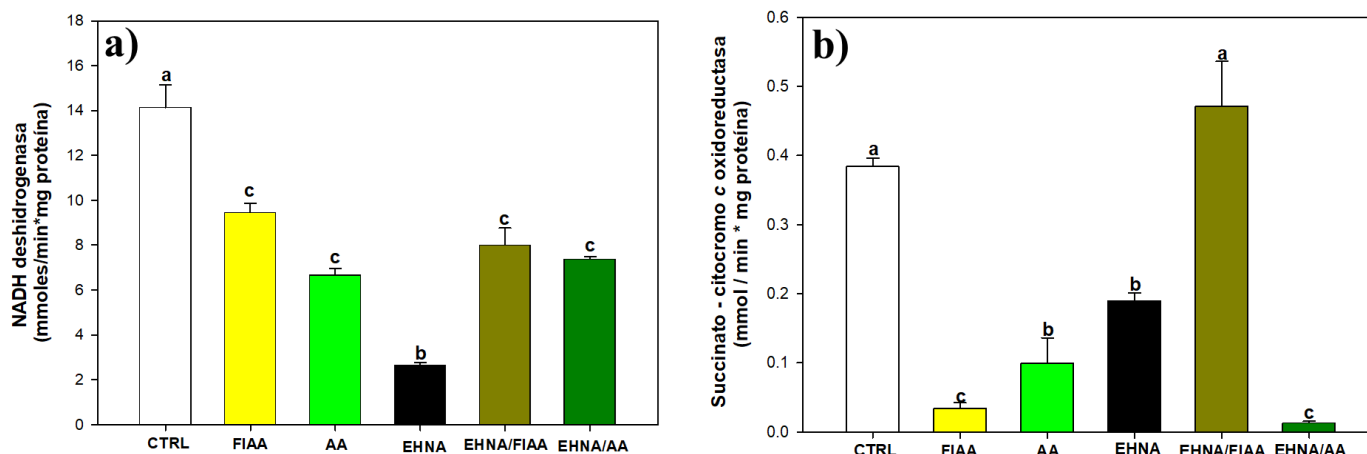


Figura 5. Efecto del AA y la FIAA sobre la actividad del complejo I y el segmento de los complejos II-III en el Modelo I. Los datos se presentan como el $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa vs EHNA ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 5a se observa una disminución de la actividad del complejo I del grupo EHNA de hasta 4 veces con respecto al grupo CTRL. Los grupos EHNA /AA y EHNA/FIAA experimentaron un aumento en la actividad del complejo I de ~70% con respecto al grupo EHNA. De manera inesperada, los grupos AA y FIAA tuvieron una actividad de complejo I de menos de 50% con respecto al grupo CTRL. En la Figura 5b se observan los resultados de la actividad del segmento del complejo II-III de la CTE. Se observó una disminución de la actividad del segmento del complejo II-III del grupo EHNA de ~50% con respecto al grupo CTRL. Esta actividad mejoro notablemente en el grupo EHNA/FIAA con respecto al grupo EHNA. En contraste, el grupo EHNA/AA mostró una actividad abatida del segmento del complejo II-III. Asimismo, los grupos AA y FIAA mostraron una actividad disminuida del segmento del complejo II-III con respecto tanto al CTRL como al grupo EHNA.

7.2.5 Efecto del AA y la FIAA sobre la producción mitocondrial de ERO

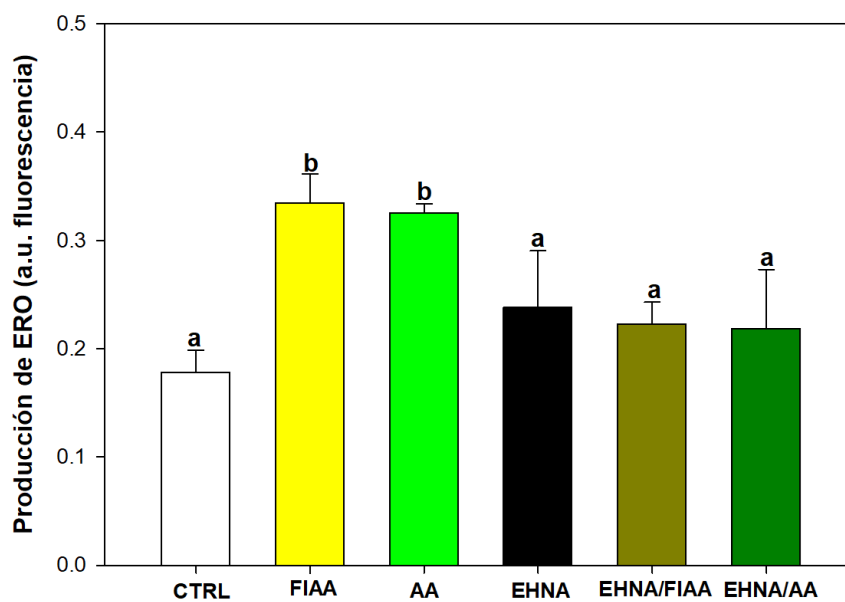


Figura 6. Efecto del AA y la FIAA sobre las ERO en Modelo I. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa vs CTRL ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se evaluó la producción de ERO de las mitocondrias hepáticas. En la Figura 6 se observa que los niveles de ERO no son diferentes entre los grupos EHNA, CTRL, EHNA/AA y EHNA/FIAA. En contraste con los grupos AA y FIAA que mostraron un aumento de ~50% con respecto al CTRL.

7.3 Modelo experimental II

7.3.1 Efecto del AA y la FIAA sobre tolerancia oral a la glucosa y la RI

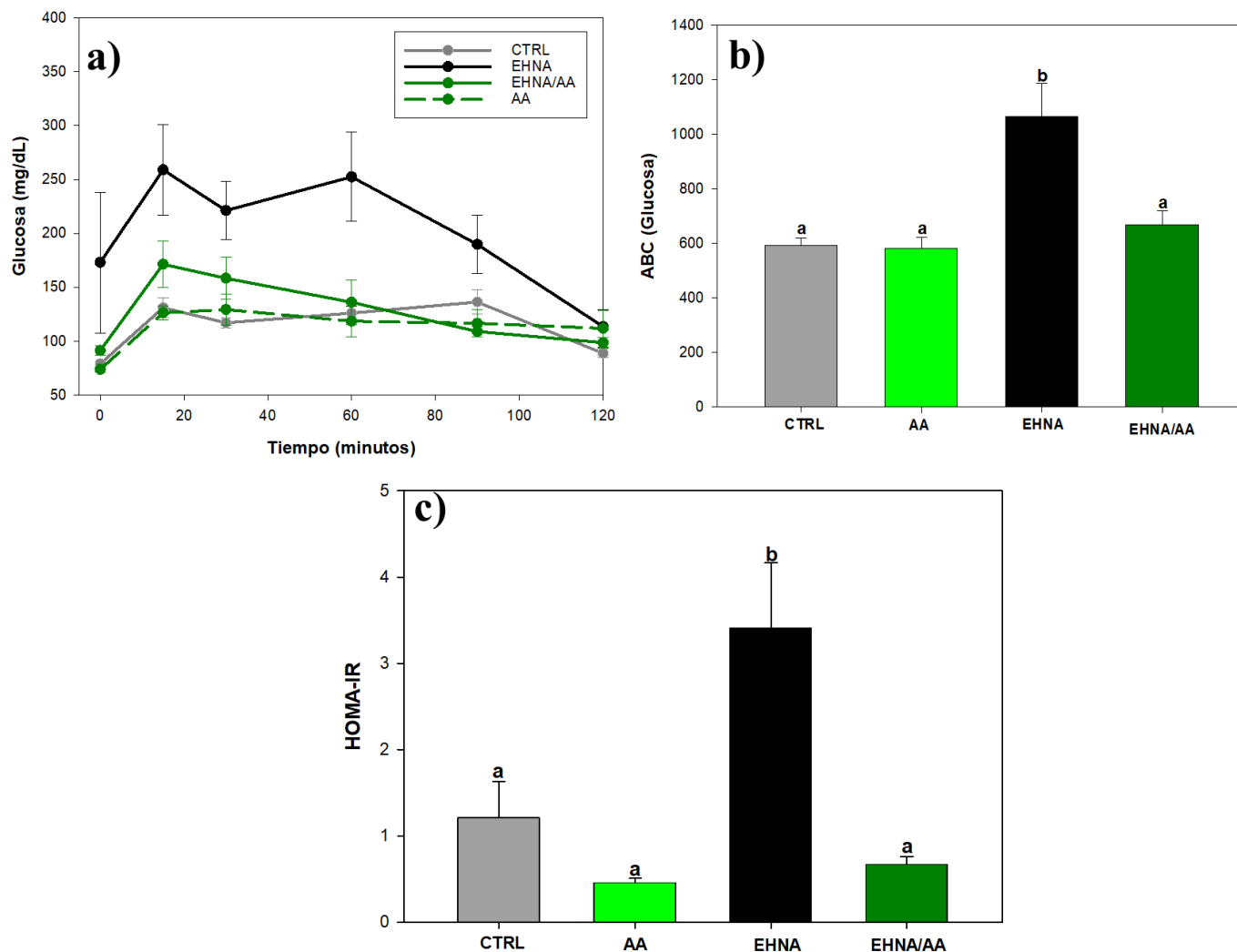


Figura 7. Efecto del AA sobre la RI en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 7a se presenta el efecto del AA en la tolerancia oral a la glucosa y la resistencia a la inulina en ratas con EHNA con hiperglucemia. Se observa que los grupos CTRL y EHNA/AA inician con niveles basales de glucosa de ~90 mg/dL y finalizan en ~100 mg/dL a los 120 minutos. El grupo EHNA inició con niveles basales de ~150 mg/dL,

alcanzando su pico más alto a los 15 minutos con ~250 mg/dL. La Figura 7b muestra el ABC de las curvas de la Figura 7a, confirmando que el grupo EHNA tiene una menor tolerancia a la glucosa que el grupo CTRL y que esto fue prevenido en el grupo EHNA/AA. En la Figura 7c se muestran los resultados de la evaluación de la RI, donde se observa que el grupo EHNA presenta un aumento en la RI del ~80% con respecto al CTRL. Por otro lado, los grupos EHNA/AA y AA muestran un comportamiento similar al grupo CTRL.

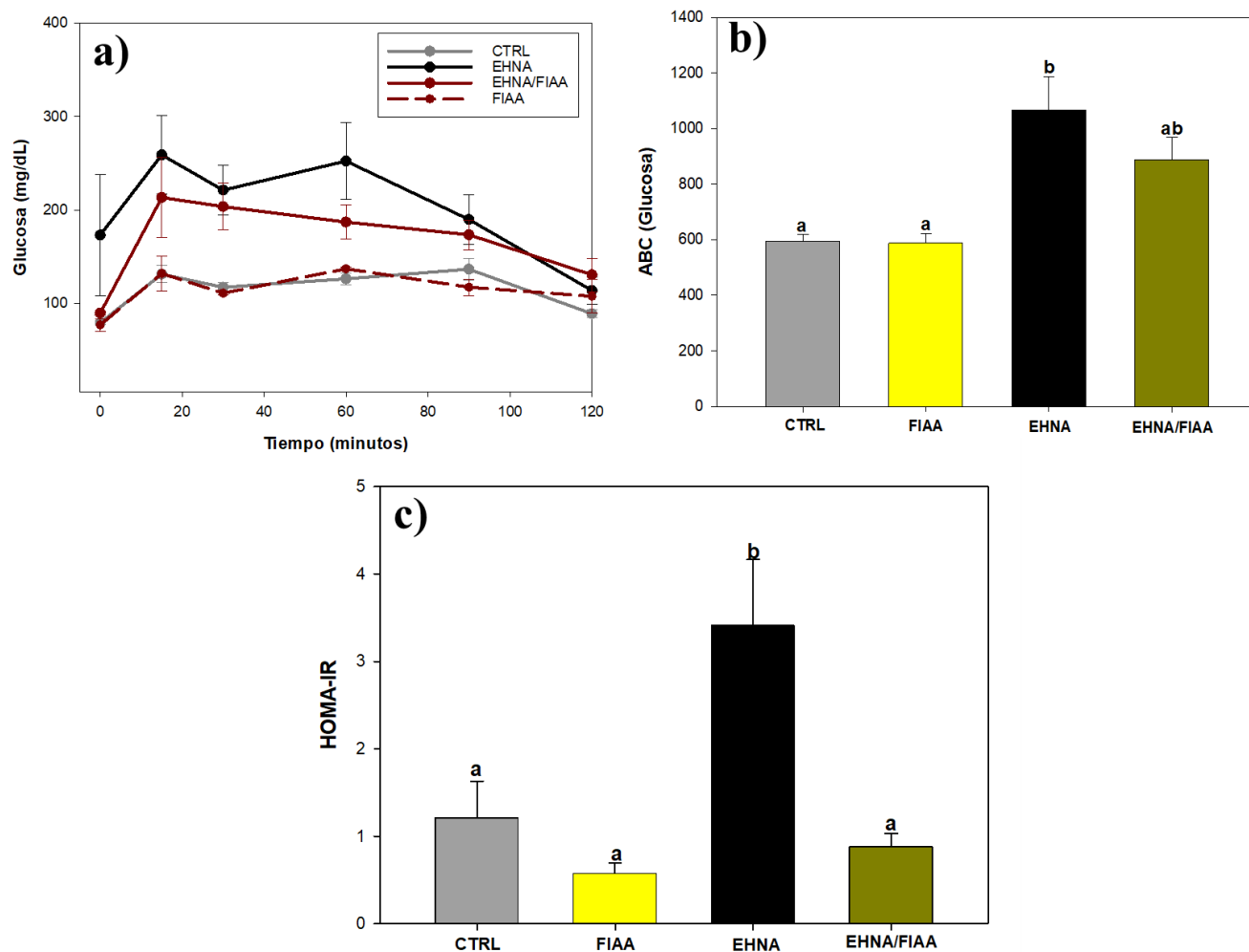


Figura 8. Efecto de la FIAA sobre la RI en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre todos los grupos ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 8a se presenta el efecto de la FIAA en la tolerancia oral a la glucosa. Los grupos CTRL, EHNA y EHNA/FIAA inician con niveles basales de ~90 mg/dL. En contraste, el grupo EHNA inició con niveles basales de ~150 mg/dL, alcanzando su pico más alto a los 15 minutos con ~250 mg/dL. La Figura 8b muestra el ABC de las curvas de las Figura 8a, la cual muestra que no hay diferencia entre los grupos FIAA y CTRL, mientras que tampoco hubo diferencias significativas entre los grupos EHNA/FIAA y EHNA, pero hubo una tendencia a la baja en el grupo EHNA/FIAA debido a la disminución de los niveles de glucosa en el minuto 15 y 60. En la Figura 8c se muestran los resultados de la evaluación de la RI. Se observa que el grupo EHNA presentó un aumento en la RI del ~80% con respecto al grupo CTRL. En contraste, los grupos EHNA/FIAA y FIAA muestran un nivel de RI similar al grupo CTRL.

7.3.2 Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa

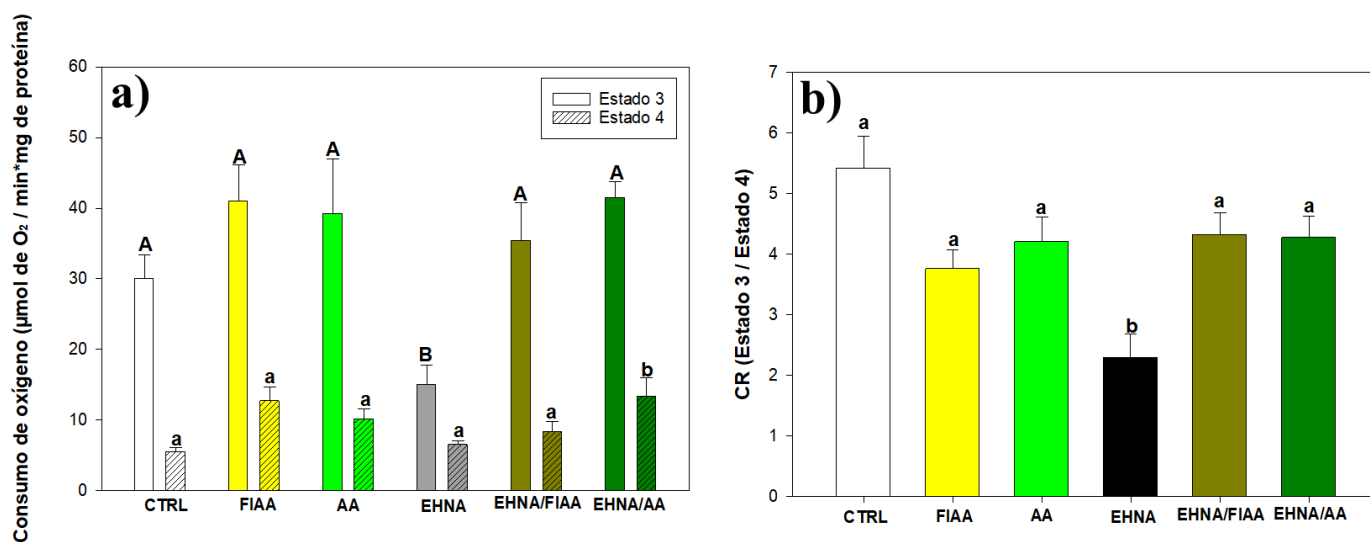


Figura 9. Efecto del AA y la FIAA sobre la fosforilación oxidativa en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm \text{e.e}$ ($n=3$). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos vs EHNA ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 9a se muestran los resultados de la respiración mitocondrial en estados 3 y 4. Se observó que la respiración en estado 3 del grupo EHNA disminuyó ~50% con respecto al CTRL, mientras que no hubo diferencia respecto al estado 4. En contraste, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA mostraron un restablecimiento de la respiración en estado 3 y un aumento de ~10% en el estado 4. Los grupos AA y FIAA mostraron un aumento en

ambos estados respiratorios de ~20% con respecto al CTRL. Los valores de CR se muestran en la Figura 9b, en donde se observa que la fosforilación oxidativa del grupo EHNA disminuyó ~50% con respecto al CTRL. De manera notable, el CR de los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA alcanzaron valores cercanos al CTRL.

7.3.3 Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana mitocondrial

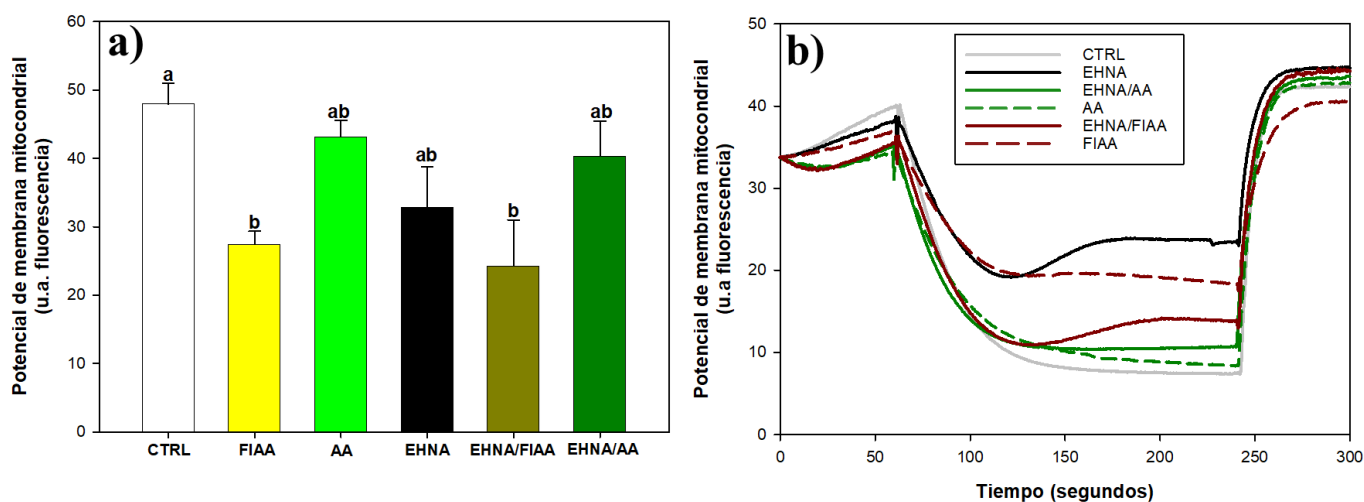


Figura 10. Efecto del AA y la FIAA sobre el potencial de membrana en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa vs CTRL ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se evaluó el $\Delta\Psi$ mitocondrial utilizando glutamato/malato como sustrato respiratorio (Figura 10a). Se observó que el grupo EHNA tuvo una tendencia a la baja del $\Delta\Psi$ del ~ 50% con respecto al CTRL. Los grupos EHNA/AA y AA no tuvieron diferencia significativa. Los grupos EHNA/FIAA y FIAA disminuyeron su $\Delta\Psi$ ~50% con respecto al CTRL. En la Figura 10b se observan los trazos representativos.

7.3.4 Efecto del AA y la FIAA sobre la producción mitocondrial de ERO

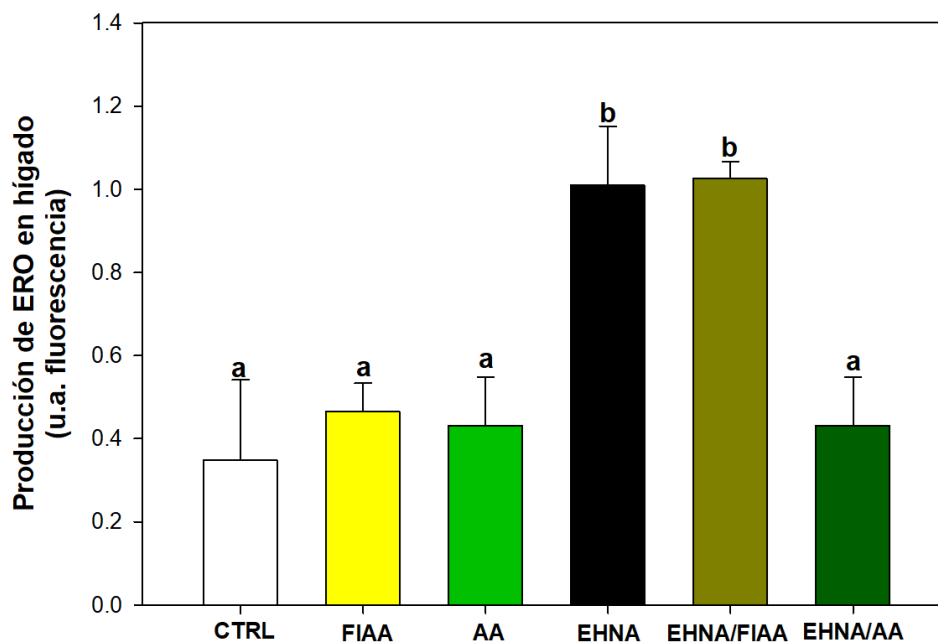


Figura 11. Efecto del AA y la FIAA sobre las ERO en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre todos los grupos ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

Se evaluó la producción de ERO de las mitocondrias hepáticas utilizando glutamato/malato como sustrato. En la Figura 11 se observa que los niveles de ERO de los grupos FIAA, AA y EHNA/AA no son diferentes con respecto al grupo CTRL. En contraste con los grupos EHNA y EHNA/FIAA que mostraron un aumento del ~70%.

7.3.5 Efecto del AA y la FIAA sobre la oxidación β de ácidos grasos

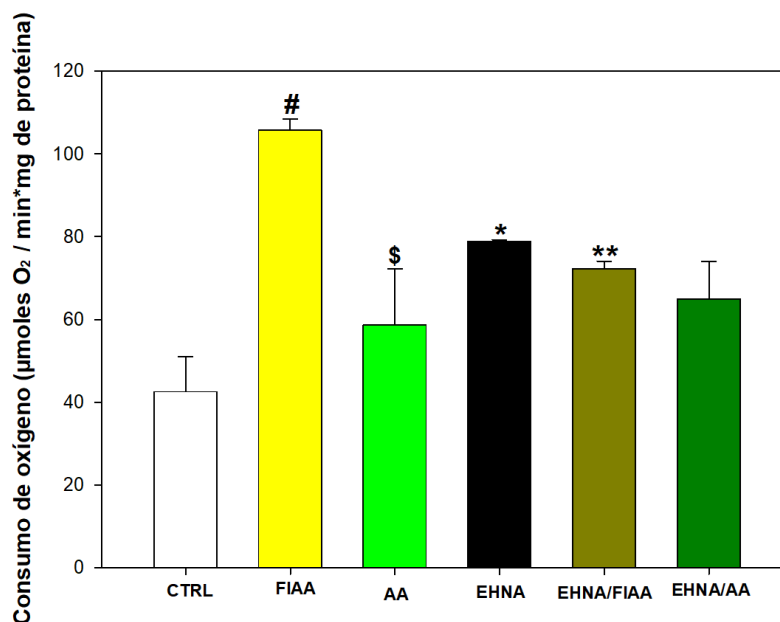


Figura 12. Efecto del AA y la FIAA sobre la oxidación β de ácidos grasos en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=3). Se realizarán pares usando la prueba *t* de Student: * $p < 0,05$ vs grupo CTRL; ** $p < 0,05$ vs grupo EHNA; \$ $p < 0,05$ vs grupo FIAA; # $p < 0,05$ vs grupo CTRL.

Se determinó la tasa de oxidación β de ácidos grasos evaluando el consumo de oxígeno de las mitocondrias de hígado tras la adición de ácido palmítico como sustrato. En la Figura 12 se observa que el grupo el grupo FIAA mostro un incremento de ~50% en el consumo de oxígeno en comparación con el grupo CTRL. En contraste, el grupo EHNA exhibió una reducción del ~20% respecto al grupo FIAA. Los grupos AA y EHNA/AA no mostraron diferencia con el grupo EHNA. El grupo EHNA/FIAA mostro una disminución del consumo de oxígeno de ~10% con respecto al grupo EHNA.

7.3.6 Efecto del AA y la FIAA sobre los niveles hepáticos de DAG

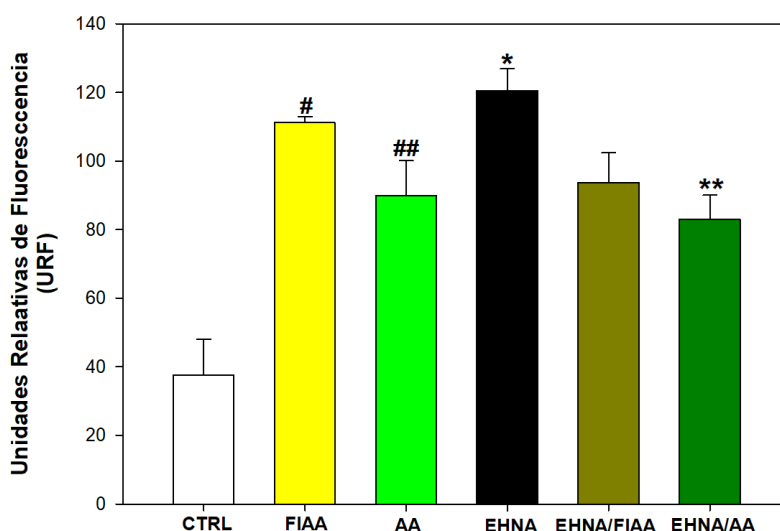


Figura 13. Efecto del AA y la FIAA sobre los niveles de DAG en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=3). Se realizarán pares usando la prueba *t* de Student: * $p < 0,05$ vs grupo CTRL; ** $p < 0,05$ vs grupo EHNA; # $p < 0,05$ vs grupo CTRL; ## $p < 0,05$ vs grupo CTRL;

Se observó en el grupo EHNA un aumento en los niveles de DAG de un 70% con respecto al CTRL (Figura 13). El DAG disminuyó únicamente de manera significativa en un 20% en el grupo EHNA/AA con respecto al grupo EHNA, mientras que solo se presentó una tendencia a disminuir en el grupo EHNA/FIAA. Se observó también un incremento en los niveles de DAG en los grupos AA y FIAA.

7.3.7 Efecto del AA y la FIAA sobre el perfil lipídico

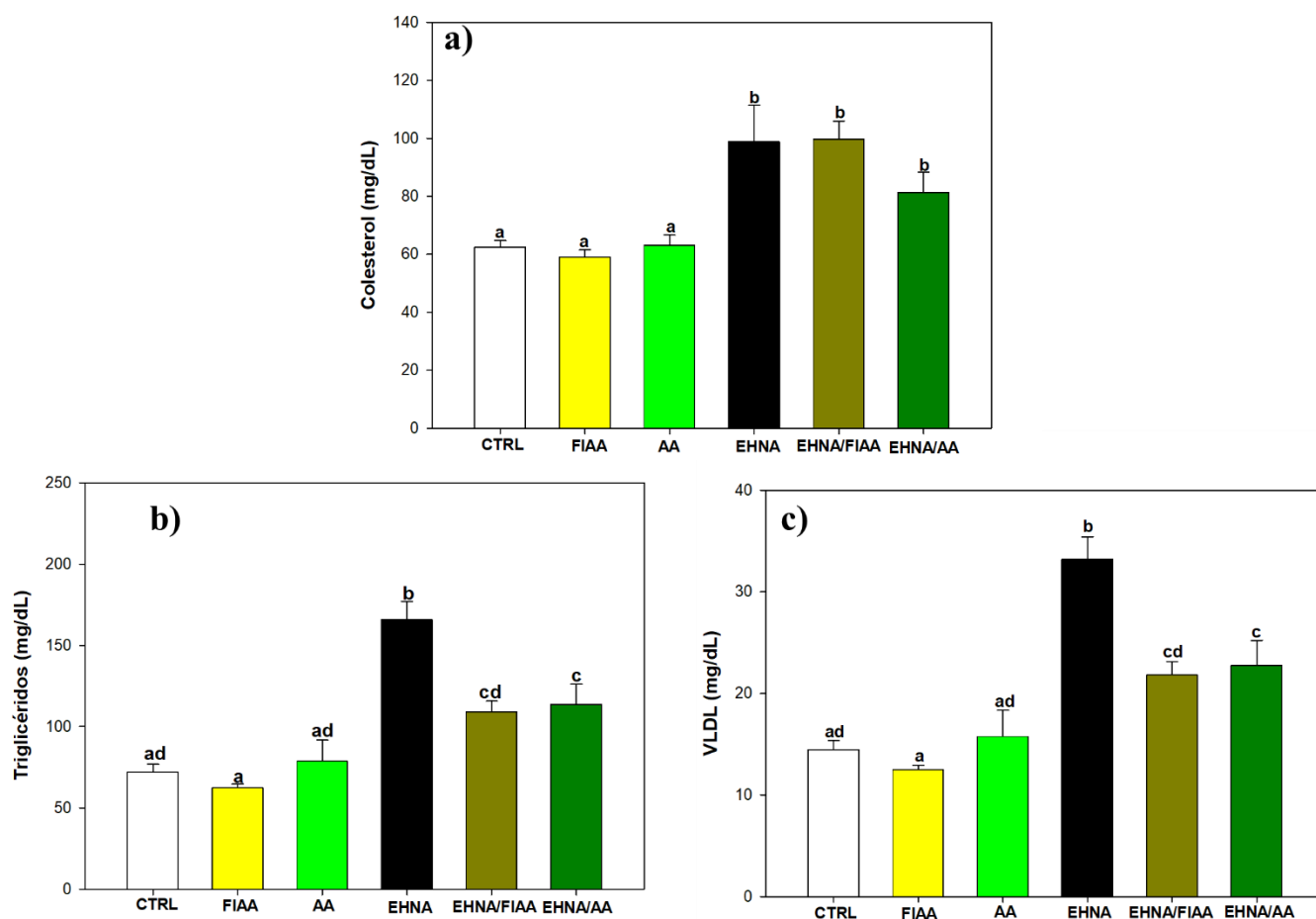


Figura 14. Efecto del AA y la FIAA sobre el perfil lipídico en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=4). Letras diferentes indican diferencia significativa entre todos los grupos ($p < 0,05$ ANOVA, prueba *post hoc* de Holm-Sidak).

En la Figura 14a se observa que los niveles de colesterol en el grupo EHNA aumentaron un 40% con respecto al CTRL y esto fue prevenido en los grupos EHNA/FIAA y EHNA/AA. Los niveles de colesterol en los grupos AA y FIAA fueron similares respecto a los del grupo CTRL. En la Figura 14b se observó que los niveles de TG en el grupo EHNA incrementaron un 50% con respecto al grupo CTRL y esto fue prevenido parcialmente en los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA, mientras que no hubo cambios en los niveles de TG de los grupos AA y FIAA. En la Figura 14c se observó que los niveles de VLDL mostraron un patrón similar al de los niveles de TG (Figura 14b).

7.3.8 Efectos del AA y la FIAA en histología hepática de ratas con EHNA

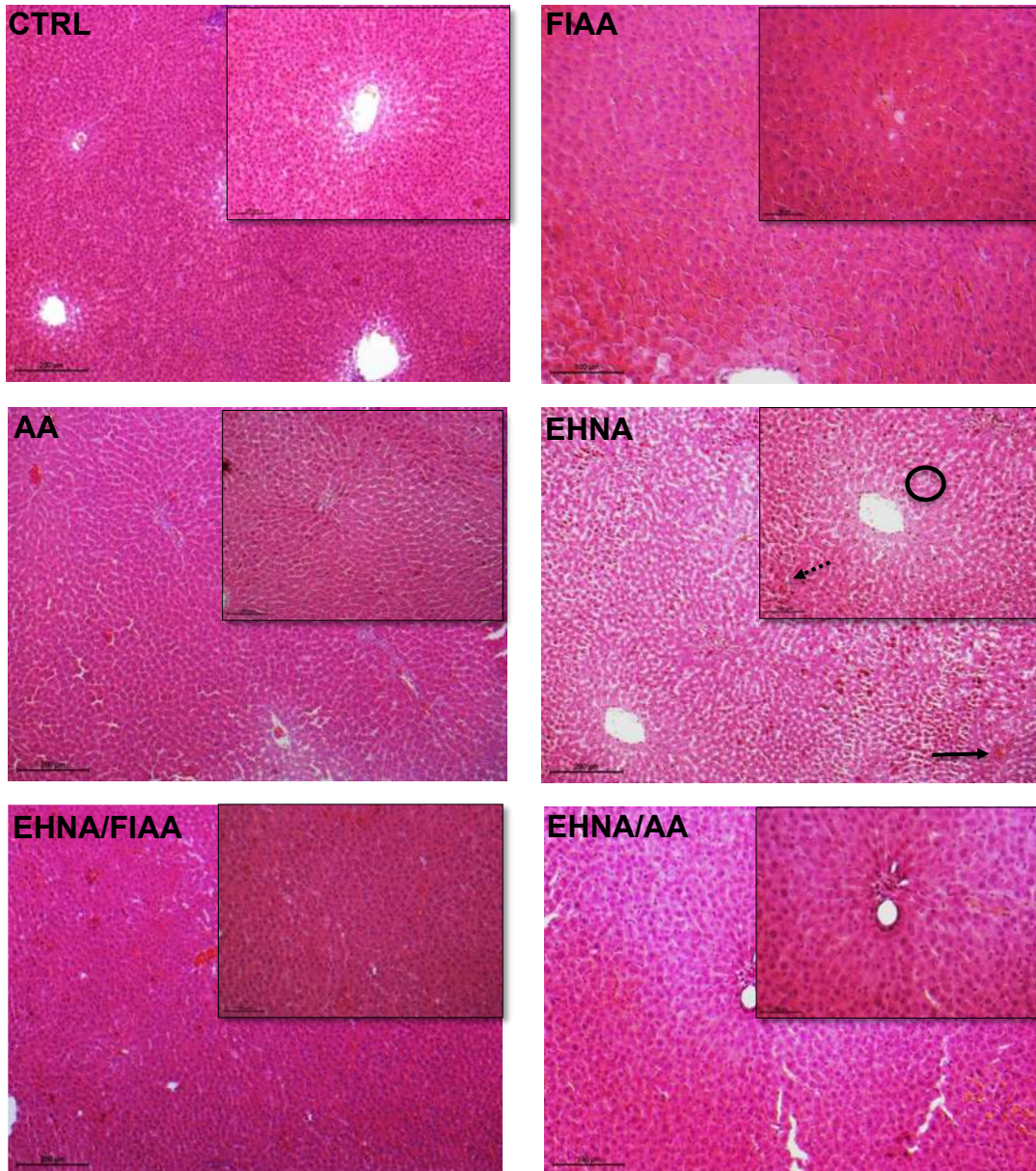


Figura 15. Efectos del AA y la FIAA en el desarrollo de la EHNA en Modelo II. Cortes histológicos de hígados teñidos con hematoxilina y eosina de hígados. Las imágenes se tomaron con un aumento de 10X, mientras que las imágenes en los recuadros se amplificaron con un aumento de 20X. Las flechas negras indican la presencia de esteatosis; las flechas negras punteadas indican la presencia de infiltrados inflamatorios; los círculos indican la presencia de hialina de Mallory. Las imágenes son representativas de tres exámenes histológicos independientes.

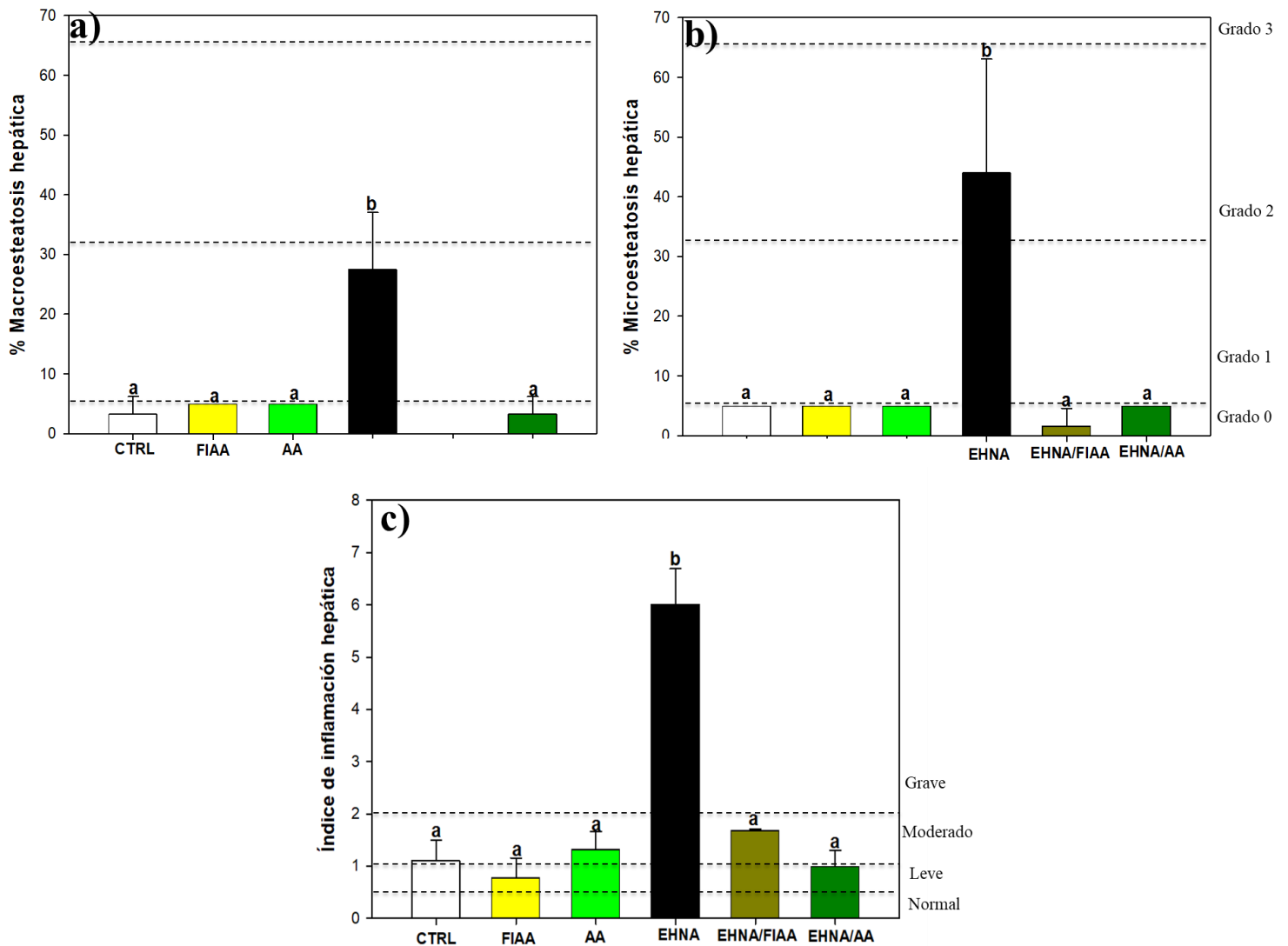


Figura 16. Esteatosis e inflamación hepática en Modelo II. Los datos se presentan como $\bar{x} \pm e.e$ (n=3 campos visuales por grupo). Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos $p < 0,05$ (ANOVA, prueba post hoc de Holm-Sidak).

En la Figura 15 se observan las imágenes representativas de los cortes histológicos de los diferentes grupos del modelo experimental II. En el grupo EHNA se visualiza acumulación de grasa, infiltrados inflamatorios y hialina de Mallory. Estas alteraciones se revertieron en los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA. Los grupos AA y FIAA no mostraron alteraciones histológicas, mostrando un comportamiento similar al grupo CTRL.

En la Figura 16 se muestra la cuantificación del daño histológico. Se observa que el grupo EHNA alcanzó una esteatosis macrovesicular de grado 2 y una esteatosis microvesicular de grado 3, acompañada de una inflamación de grado 3. Estas alteraciones se revirtieron con la administración de AA y FIAA, ya que la esteatosis macrovesicular y microvesicular se redujo a grado 0, con inflamación leve. Los grupos únicamente administrados con AA y FIAA respectivamente presentaron un comportamiento similar al CTRL.

VIII. DISCUSIÓN

Se ha mostrado un creciente interés científico respecto al uso del AA debido a su perfil lipídico y a la presencia de diversos fitoquímicos que le confieren propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y protectoras frente a diversas enfermedades metabólicas (Cervantes-Paz & Yahia, 2021; Flores et al., 2019). En este estudio, se identificaron los ácidos grasos presentes en el AA comercial (Tabla 1) y se confirmó que el C18:1 es el ácido graso mayoritario, representando el 59% del total de ácidos grasos, lo cual está dentro del rango establecido por la Comisión del Codex Alimentarius/FAO/OMS, (1999) para el AA, y que se relaciona con lo previamente reportado por nuestro grupo de trabajo (Ortiz-Avila et al., 2015a). Estos resultados validan que el aceite comercial analizado cumple con los estándares de calidad y autenticidad establecidos por la Norma Mexicana NMX-F-811-SCFI-2021 (Secretaría de Economía, 2021). Respecto a la FIAA, se identificaron compuestos minoritarios, dentro de los cuales algunos de ellos habían sido anteriormente reportados y otros fueron identificados por primera vez como parte de la FIAA (Tablas 2 y 3), de los cuales destacan compuestos alifáticos saturados tales como el undecano, el dodecano y el tridecano, reportados previamente en cuatro variedades de aguacate mediante cromatografía de gases acoplada a masas (Younis et al., 2022) y que a pesar de ser hidrocarburos, poseen efectos biológicos. Por ejemplo, el undecano, compuesto que se encuentra principalmente en el aceite de semilla de *S. verbenaca* y en el aceite del fruto de *D. guineense*, posee efectos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores, así como actividad antioxidante y de quelación de metales (Baky et al., 2021; Choi et al., 2020). Además, se ha reportado que el undecano y el dodecano presentes también en el alga roja *L. caspica* exhiben propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antibacterianas (Moshfegh et al., 2019).

También se encontraron compuestos de alto peso molecular como la loliolida β -D-glucopiranosido, molécula cuya estructura química sugiere una posible relación con las benzofuranonas, en particular con las 3*H*-benzofuran-2-onas, una clase significativa de moléculas heterocíclicas ampliamente presentes en la naturaleza, que consisten en un anillo de benceno fusionado con un anillo de furan-2-ona, que exhibe propiedades antioxidantes de eliminación de radicales libres y antiinflamatorias, así como la inhibición de la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (Miceli et al., 2018), lo cual podría estar relacionado también con el efecto en la disminución de las ERO por parte del AA en el hígado de ratas en el modelo II de EHNA con hiperglucemia. Además, se identificó la yaxantona, un derivado de las xantonas, que se caracterizan por exhibir actividad biológica y medicinal, entre las que destacan la actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena y antidiabética (Tang et al., 2019). Esto último podría estar asociado a la disminución de los niveles de glucosa por parte del AA y la FIAA en ambos modelos. La tangeraxantina, otra de las moléculas identificadas, es un carotenoide cuya estructura química se podría relacionar con la astaxantina. Esta última molécula mejora el daño hepático y la disfunción mitocondrial en la ETHNA (Sayuti et al., 2023). Por lo tanto, la tangeraxantina podría estar asociada con el efecto benéfico sobre la fosforilación oxidativa y CTE por parte del AA y la FIAA. En consecuencia, los compuestos identificados posicionan a la FIAA como una fuente de alto potencial bioactivo (Sorrenti et al., 2023).

De manera sorprendente, no se detectaron algunos compuestos bioactivos reportados previamente en el AA tales como los fitoesteroles (Yuan et al., 2019). Esta ausencia podría atribuirse a las condiciones de extracción de la FIAA por la labilidad de dichos compuestos a temperaturas entre 100-180 °C (Berasategi et al., 2012), y a la utilización del hexano (solvente altamente polar) como solvente de extracción, lo que favoreció la presencia de compuestos altamente liposolubles como los carotenoides y los hidrocarburos. Como perspectiva, se podrían evaluar mezclas de solventes orgánicos para realizar extracciones secuenciales que permitan una mejor separación de cada uno de los compuestos presentes en la FIAA. No obstante la ausencia de los fitosteroles, los resultados obtenidos destacan el papel de los compuestos minoritarios detectados por nosotros en los efectos del AA. Además, se debe resaltar que los efectos detectados no dependen de la presencia del C18:1, al cual se

le han atribuido la gran mayoría de los efectos benéficos del AA (Ortiz-Avila et al., 2015a, Ortiz-Avila et al., 2015b, Ortiz-Avila et al., 2017, García-Berumen et al., 2022).

En cuanto a los modelos biológicos, se logró establecer de manera satisfactoria un modelo que reproduce las condiciones metabólicas asociadas a la prediabetes (Modelo I), la cual es una condición que afecta a un gran número de la población (Basto-Abreu et al., 2023) y que ha cobrado gran relevancia en los últimos años, en donde se destaca un estado de RI, aunque sin hiperglucemia, está asociado al desarrollo de EHNA (Gastaldelli & Cusi, 2019). Se ha reportado que aunque los niveles de glucosa pueden mantenerse dentro de rangos normales en la EHNA pero con un índice HOMA-IR elevado, lo que indica RI (Taharboucht et al., 2020). Esto implica que la insulina no puede ejercer su acción sobre el receptor de insulina, lo que genera a su vez niveles elevados de glucosa en sangre, sobre todo después de una ingesta de glucosa, tal como ocurre en la prueba de tolerancia oral, en la que el grupo de EHNA del Modelo I, alcanzó niveles de glucosa séricos de hasta 250 mg/dL a los 15 y 60 minutos tras la ingesta, disminuyendo gradualmente y hasta alcanzar niveles inferiores a 100 mg/dL al minuto 120. Este descenso podría atribuirse a un mecanismo compensatorio del páncreas ante una carga de glucosa, desencadenando una respuesta mayor de la secreción de insulina para restablecer la glucemia (Siddiqui et al., 2015), así como a la captación de glucosa por parte de tejidos periféricos como el músculo esquelético y tejido adiposo, favoreciendo así una disminución en los niveles de glucosa (Dimitriadis et al., 2021; Honka et al., 2018).

Asimismo, se logró establecer un modelo de EHNA con hiperglucemia (Modelo II), el cual presentó RI y niveles basales de glucosa en sangre mayores a 150 mg/dL y picos de glucosa postprandial de hasta 270 mg/dL, finalizando a los 120 minutos en 120 mg/dL, que aunque representan valores elevados de acuerdo a lo reportado por OMS & FID (2006), se encuentra por debajo de los niveles basales, indicando una hipoglucemia posprandial, comportamiento previamente observado en pacientes con EHNA con DM2 previa desconocida en una prueba de tolerancia oral de 3 horas (Morio et al., 2017). Una de las explicaciones fisiológicas para este fenómeno es la supresión transitoria de la gluconeogénesis hepática inducida por la hiperinsulinemia del páncreas ante una carga de glucosa, lo que se relaciona con lo reportado por DeFronzo et al. (1983), quienes demostraron

que la administración de insulina en presencia de hiperglucemia reduce significativamente la producción endógena de glucosa en humanos, efecto atribuido principalmente a la inhibición de la gluconeogénesis y glucogenólisis hepáticas. De la misma forma que se mencionó en el Modelo I, la captación de glucosa por parte de los tejidos periféricos persiste, aunque de forma menos eficiente, lo que concuerda con un estudio realizado por Ishino et al. (2017), que con un modelo de DM2 con ratas Wistar obesas, demostró que, aunque la captación basal de glucosa estaba reducida en comparación con ratas control, la administración de insulina seguía siendo capaz de estimular la captación de glucosa en el músculo esquelético y el tejido adiposo, aunque con una respuesta atenuada. De manera favorable, en ambos modelos experimentales, los grupos EHNA/AA mostraron un efecto hipoglucemiante con mejora de la RI. Este efecto se atribuye principalmente al C18:1, efecto documentado en la literatura por Brehm et al. (2009); Lerman-Garber et al. (1994), en donde se reporta un mejor control glucémico de individuos con DM2 tratados con dietas enriquecidas en AGM procedentes de fuentes ricas de C18:1 como el aguacate y el aceite de oliva, observándose una mejora significativa en el perfil glucémico. Además, se ha demostrado que la suplementación prolongada con AA comercial reduce la hiperglucemia en ratas con DM2, atribuyendo el efecto a su contenido de C18:1 (Ortiz-Avila et al., 2017). Adicionalmente, en un modelo de prediabetes con ratas hereditariamente hipertriglicéridémicas (HHTg), la suplementación individual con C18:1 y C16:0 mejoró la sensibilidad a la insulina (Miklankova et al., 2022).

Se comprobó en los grupos EHNA/FIAA un efecto hipoglucemiante en ausencia de los ácidos grasos, lo que resulta trascendental ya que esto sugiere que los componentes de la FIAA son responsables de la modulación de los niveles de glucosa. Dentro de los compuestos identificados en la FIAA, este efecto se podría asociar a la yaxantona (Pinto et al., 2005), ya que se ha reportado que algunas xantonas son capaces de modular vías metabólicas implicadas en el control de la glucosa, entre ellas la mejora de la sensibilidad a la insulina, mediante una inhibición competitiva con el DAG por los dominios regulatorios de la proteína quinasa C épsilon (PKC- ϵ), una isoforma asociada a la RI que al unirse con la yaxantona se inhibe su activación, lo que se traduce con una menor interferencia sobre el receptor de insulina y sobre pasos posteriores de la cascada de señalización.

De manera favorable, los grupos control administrados con AA y FIAA no mostraron efecto sistémico de incremento sobre los niveles de glucosa sanguíneos ni sobre la RI, lo que indica que en condiciones fisiológicas normales, los compuestos bioactivos del AA y la FIAA, no alteran el metabolismo de la glucosa ni la secreción de insulina. Esto contrasta con los resultados de un metaanálisis donde se investigó el efecto de la ingesta del aceite de oliva extra virgen sobre los parámetros glucémicos en comparación con un grupo control, el cual encontró efectos hipoglucemiantes prometedores pero sin evidencia significativa de que su consumo afecte la homeostasis de la glucosa (Dehghani et al., 2021).

Por otra parte, el grupo de EHNA del Modelo II mostró una alteración en el perfil lipídico, lo que se tradujo en un aumento significativo en los niveles plasmáticos de colesterol, TG y VLDL (Figura 14), lo cual es consistente con estados de RI (Parekh & Anania, 2007), ya que la insulina es una hormona clave no solo en la regulación de la homeostasis de la glucosa, sino también en el metabolismo lipídico hepático; la insulina inhibe la lipólisis en el tejido adiposo, lo que disminuye la liberación de AGL hacia el hígado y favorece la esterificación de TG. No obstante, en estados de RI, tal como ocurre en la EHNA y la DM2, el hígado mantiene una elevada síntesis y exportación de TG, contribuyendo también a la hiperlipidemia (Kitade et al., 2017; Malhotra et al., 2020; Tomizawa et al., 2014). Dicho aumento en los niveles de TG y VLDL fue reducido en los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA sin diferencia significativa entre ambos grupos, lo que sugiere que los compuestos bioactivos presentes en la FIAA poseen el efecto hipolipemiente del AA. Además, los grupos administrados solo con AA y FIAA no presentaron alteración en el metabolismo de los lípidos plasmáticos, lo que corresponde con lo reportado por Gorinstein et al., (2002), quienes observaron que una suplementación con aceite de oliva por 4 semanas en ratas Wistar macho adaptadas a dietas sin colesterol, no altera el metabolismo lipídico, por el contrario, favoreció a la mejora en el perfil lipídico. En contraste, Pedersen et al., (2000), reportaron que la suplementación con aceite de oliva por 3 semanas en un grupo de jóvenes sanos incrementó los niveles de LDL comparación con las dietas ricas en aceite de colza y aceite de girasol, lo que sugiere una alteración por parte del aceite de oliva en el metabolismo de los lípidos y por lo tanto un cuidado especial en su uso/consumo.

De manera consistente con el perfil metabólico observado en el grupo EHNA del Modelo II, el análisis histológico hepático reveló alteraciones estructurales significativas que incluyen, esteatosis microvesicular y macrovesicular con presencia de infiltrados inflamatorios y cuerpos de hialina de Mallory (Figuras 15 y 16), lo que sugiere una lesión hepatocelular asociada a procesos de estrés oxidativo y activación de muerte celular, todos ellos característicos de etapas avanzadas de la EHNA (Liang et al., 2014). En contraparte, las alteraciones histológicas fueron atenuadas en los grupos de EHNA/AA y EHNA/FIAA, lo que sugiere un efecto hepatoprotector, que es consistente con lo reportado por García-Berumen et al., (2022), quienes observaron un efecto similar tras la administración de AA en un modelo de EHNA, atribuible a la acción conjunta de diversas moléculas bioactivas que incluyen el C18:1, carotenoides, fitoesteroles, clorofilas y tocoferoles, resaltando la participación del β -sitosterol. Sin embargo, la preservación de este efecto en la FIAA, sugiere que podría estar mediado por compuestos como la liolida β -D-glucopiranosido, la yaxantona, la tangeraxantina, y los hidrocarburos saturados, los cuales exhiben propiedades antioxidantes de eliminación de radicales libres y antiinflamatorias. Estos resultados fortalecen la hipótesis de que la FIAA representa una fuente prometedora de compuestos hepatoprotectores, con potencial aplicable en el manejo de la EHNA. No obstante, aún queda por dilucidar el efecto individual de cada componente mencionado sobre dicho modelo.

En concordancia con los resultados anteriores, el grupo EHNA del Modelo II mostró un aumento significativo en los niveles de DAG (Figura 13), molécula que interfiere con la señalización de la insulina mediante la activación de la PKC, lo que contribuye al desarrollo de resistencia a la RI (Cortés-Rojo et al., 2020). Los niveles de DAG hepático disminuyeron significativamente en el grupo de EHNA/AA, pero no en el grupo EHNA/FIAA, por lo que estos resultados se relacionan con lo reportado por Gupta et al. (2010), quienes observaron en ratas Sprague–Dawley con DM2 alimentadas con una dieta alta en grasa durante 24 semanas, la disminución de genes relacionados con la transducción de señales de insulina, como la diacilglicerol quinasa eta (Dgkh), la proteína tirosina fosfatasa, receptor tipo T (ptprt), la proteína tirosina fosfatasa, receptor tipo M (ptprm), la proteína tirosina fosfatasa, receptor tipo D (ptprd) y la proteína de transferencia de fosfatidil inositol, y citoplasmático (pitpnc1), que son los elementos principales de la vía de la fosfatidilinositol-4-fosfato quinasa (PI3 quinasa), por lo que se ha sugerido que la activación de la PKC ϵ regula

negativamente la actividad de la diacilglicerol quinasa, lo que se refleja en la disminución de ácido fosfatídico. Por lo anterior en otro estudio por Wada et al., (2016), quienes determinaron que el ácido mirístico (C14:0), aumenta significativamente la expresión de la proteína diacilglicerol quinasa delta (DGK δ) en miotubos C2C12 de ratón, que aunque no se midieron los niveles de DAG, se puede diferir que disminuyen los niveles. A pesar de que los niveles de DAG hepático del grupo EHNA/FIAA son similares al grupo de EHNA, estos niveles parecen no interferir con la señalización de la insulina, ya que este grupo de fracción presentó una RI menor. En adición, los grupos de AA y FIAA mostraron niveles de DAG hepático comparables a el grupo EHNA, lo que indica que bajo condiciones fisiológicas, los compuestos bioactivos del AA y la FIAA, modulan vías del metabolismo lipídico, sin interferir con el perfil bioquímico de lípidos en sangre ni con la señalización de insulina, lo que se relaciona con lo reportado por Jornayvaz et al., (2011), quienes demostraron que los ratones que sobreexpresan la diacilglicerol aciltransferasa 2 en el hígado tienen una respuesta hepática a la insulina normal a pesar de la esteatosis hepática grave y el aumento del contenido hepático de TG, DAG y ceramida, lo que demuestra una disociación entre la esteatosis hepática y la resistencia hepática a la insulina. En contraste, Li X et al., (2020) observaron que la mejora en la sensibilidad a la insulina inducida por la forma globular de adiponectina se acompañó de una reducción significativa de los niveles de DAG en hígado y músculo esquelético, lo que representa el mecanismo tradicionalmente esperado para restaurar la señalización de la insulina. Por tanto, nuestros resultados sugieren que los compuestos bioactivos presentes en la FIAA podrían ejercer su efecto beneficioso mediante mecanismos alternativos a la reducción de DAG hepático, lo cual evidencia que no todos los tratamientos actúan a través de las mismas rutas metabólicas. En este mismo sentido, aunque el aumento de los niveles de DAG en el grupo EHNA del Modelo II sugería una disminución en la β -oxidación de los ácidos grasos, los resultados mostraron, de forma inesperada, un incremento en esta vía. Este hallazgo puede interpretarse como una respuesta adaptativa del hígado ante la sobrecarga lipídica, como también lo reportaron Sunny et al. (2011), quienes observaron un aumento compensatorio de la β -oxidación mitocondrial en ratones C57BL obesos y resistentes a la insulina alimentados con exceso de lípidos en la dieta durante 16 semanas. Asimismo, diversos estudios han demostrado que, ante un exceso de lípidos ingeridos, como ocurrió en el grupo EHNA del modelo I y II, se activa la biogénesis

mitocondrial como un mecanismo de adaptación celular, promoviendo así una mayor capacidad oxidativa para mantener el equilibrio energético y reducir la lipotoxicidad (Begrache et al., 2013; Flachs et al., 2005; Sunny et al., 2011). En contraste, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA no mostraron incremento en la β -oxidación, lo cual es consistente con los niveles de hepáticos de DAG, y refleja que la respuesta adaptativa del hígado ante la sobrecarga de lípidos se mantiene, sin activarse en exceso pese a la suplementación con AA y la FIAA. En los grupos control de AA y FIAA, por otro lado, muestran una actividad de la β -oxidación aumentada, que es más marcada en la FIAA, correlacionando con los niveles de DAG hepático. Este sugiere una activación de PPAR α y AMPK inducida por los compuestos bioactivos del AA y la FIAA en condiciones fisiológicas normales sin alterar de manera negativa el perfil lipídico, lo que se puede relacionar con el efecto que tiene el consumo del C18:1, lo que aumenta la cantidad de C18:1 transportado para su incorporación en los fosfolípidos, lo que, en consecuencia, aumenta la síntesis de oleoil etanolamida, que da como resultado la activación de PPAR- α en los adipocitos, lo que promoverá la degradación de TG, la liberación de AGL y el aumento de la adipólisis (Machado et al., 2025). En contraste, un estudio indicó que el aceite de macadamia, rica en AGM, puede activar AMPK y mejorar el perfil lipídico en ratones con una dieta rica en grasas (Shuai et al., 2023), dado que el AA también contiene una alta proporción de AGM, es plausible que pueda ejercer efectos similares mediante la activación de AMPK.

Es importante mencionar que el aumento de la β -oxidación mitocondrial observada en el grupo EHNA del Modelo II, se presentó en condiciones desacopladas de la fosforilación oxidativa. No obstante, este incremento en la oxidación lipídica se acompañó de una disminución significativa en la fosforilación oxidativa, evaluada de forma independiente con sustratos específicos, lo cual refleja una disfunción mitocondrial asociada a una menor eficiencia en el acoplamiento entre la cadena de transporte de electrones y la síntesis de ATP. Este desacoplamiento funcional podría deberse al incremento de intermediarios reductores como el NADH derivados de la β -oxidación, así como al incremento de ERO, fenómenos comúnmente reportados en la progresión de la EHNA (Hughey et al., 2022). Por el contrario, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA presentaron una recuperación parcial de la fosforilación oxidativa, sin mostrar un incremento excesivo de la β -oxidación. Este hallazgo sugiere que tanto el AA como la FIAA podrían modular favorablemente el metabolismo

energético mitocondrial, restaurando el acoplamiento bioenergético sin inducir un estrés oxidativo adicional. De manera interesante, en los grupos AA y FIAA del Modelo II, a pesar de observarse un aumento en la β -oxidación, no se detectaron alteraciones en la fosforilación oxidativa, lo cual indica que la estimulación de la oxidación de ácidos grasos inducida por estos tratamientos no compromete la eficiencia del acoplamiento mitocondrial. Estos resultados respaldan el potencial protector del AA y la FIAA sobre la funcionalidad mitocondrial en condiciones de estrés metabólico. Estos resultados contrastan con estudios previos en modelos de EHNA, donde el incremento en la β -oxidación se ha asociado de manera consistente con un deterioro progresivo de la fosforilación oxidativa y un aumento en la producción de ERO, exacerbando el daño mitocondrial y la inflamación hepática (Begrache et al., 2013; Koliaki et al., 2015). A diferencia de estos reportes, en el presente estudio, la administración de AA y FIAA no solo evitó este efecto adverso, sino que además favoreció el mantenimiento de la función mitocondrial incluso en condiciones de alta actividad oxidativa, lo cual sugiere un papel modulador sobre la homeostasis mitocondrial.

Asimismo, mientras que otros tratamientos antioxidantes han mostrado una recuperación parcial de la fosforilación oxidativa sin modificar la β -oxidación (Wang et al., 2019), nuestros resultados indican que el AA y la FIAA pueden inducir un aumento en la oxidación de ácidos grasos sin comprometer el acoplamiento energético, lo que podría estar relacionado con la presencia de los compuestos bioactivos identificados como los hidrocarburos, la yaxantona, la tangeraxantina y la liolida β -D-glucopiranosido previamente caracterizados en la FIAA. Esta divergencia resalta la importancia de considerar no solo la capacidad antioxidante de los tratamientos, sino también su influencia directa sobre el metabolismo energético mitocondrial.

Por otro lado, en el modelo I, caracterizado por RI sin hiperglucemia, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA también exhibieron un aumento en la fosforilación oxidativa, siendo este efecto más marcado en el grupo de FIAA. Este hallazgo sugiere que la FIAA podría ejercer un efecto más directo sobre la preservación del acoplamiento mitocondrial en fases tempranas de disfunción metabólica. En contraste, los grupos AA y FIAA del mismo modelo, mostraron una disminución significativa en la fosforilación oxidativa, efecto opuesto al observado en estos grupos del Modelo II. Este patrón diferencial entre modelos resalta la

importancia del contexto metabólico en la acción de los compuestos bioactivos del AA y la FIAA, ya que en el Modelo I, sin hiperglucemia, el tratamiento con AA y FIAA en animales sanos pareció inducir una respuesta adaptativa que disminuye la fosforilación oxidativa, posiblemente como un mecanismo de ahorro energético o de reducción del estrés oxidativo mitocondrial. En cambio, en presencia de EHNA, tanto el AA como la FIAA contrarrestaron la disfunción y restauraron el acoplamiento mitocondrial, siendo más efectivo el tratamiento con FIAA. Por el contrario, en el Modelo II, donde existe un entorno de hiperglucemia persistente, los mismos tratamientos no disminuyeron la fosforilación oxidativa en animales sanos, y más bien conservaron o restauraron la capacidad respiratoria en los grupos EHNA. Esto sugiere que bajo condiciones de mayor estrés metabólico, los compuestos presentes en el AA y la FIAA actúan como moduladores positivos del metabolismo mitocondrial, mientras que en un entorno metabólicamente menos demandante podrían ejercer un efecto regulador descendente. Estos resultados indican que los efectos del AA y la FIAA no son lineales ni globales, sino dependientes del estado fisiopatológico del organismo, lo que se relaciona con lo dicho por Dijk et al. (2012), quienes plantean que el consumo de AGM genera un regulación negativa de la fosforilación oxidativa como consecuencia de la reducción del estrés oxidativo.

No obstante, nuestros datos muestran que tanto el AA como su fracción insaponificable pueden modular la función mitocondrial de manera diferencial, dependiendo del contexto patológico. Este resultado coincide con lo reportado por Amengual et al. (2011) quienes investigaron el papel de la enzima mitocondrial β,β -caroteno-9',10'-dioxigenasa (BCDO2) en la degradación de carotenoides como la luteína utilizando modelos de ratones con deficiencia en BCDO2, observaron que la acumulación de carotenoides en las mitocondrias inducía estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, lo que sugiere que, en condiciones fisiológicas normales, la luteína puede ser degradada eficientemente por BCDO2, evitando efectos adversos. Sin embargo, en ausencia de BCDO2, la acumulación de luteína puede llevar a efectos negativos sobre la función mitocondria, por lo que se destaca que ciertos carotenoides pueden actuar como reguladores duales del metabolismo mitocondrial, activándolo en condiciones de disfunción y atenuándolo en condiciones fisiológicas como un mecanismo de protección frente al exceso de producción de ERO.

En adición a estos resultados, la disminución en la fosforilación oxidativa de los grupos EHNA de ambos modelos es consistente con la reducción de las tasas de respiración mitocondrial en los estados 3 y 4 (ver Figuras 3 y 9) y con la disminución del potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi$). Este hallazgo indica que la disfunción mitocondrial precede a la instauración de DM2, como lo han propuesto otros estudios, de los cuales Veluthakal et al., (2024), mencionan que en ratas Goto-Kakizaki, un modelo de rata genéticamente delgada que exhibe una fase de prediabetes similar a los humanos antes del inicio de la DM2, en el que las células β de los islotes pancreáticos mostraron desintegración de la red mitocondrial. Además, las ratas obesas diabéticas Zucker y los modelos de prediabetes inducidos por dietas altas en grasas mostraron remodelación mitocondrial, estructura de crestas alterada y mayor apoptosis de células β . En un modelo de DM2, la rata Cohen diabética sensible, un modelo hiperglucémico, exhibió actividad de la citocromo oxidasa mitocondrial de células β marcadamente disminuida, mitocondrias defectuosas y mayores niveles de ERO sin IR. Asimismo, dicha disfunción se correlaciona con la inhibición de la actividad de los complejos I y II-III de la CTE, especialmente en el grupo EHNA del Modelo I (Figuras 5a y 5b). De manera notable, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA del Modelo I atenuaron esta disfunción, al presentar tasas similares de respiración mitocondrial similares a las del grupo CTRL. Específicamente, solo el grupo EHNA/FIAA logró reestablecer el $\Delta\Psi$, lo que sugiere una restauración más efectiva del gradiente electroquímico. Este resultado coincide con la recuperación de la actividad del complejo I y del complejo II-III en el grupo EHNA/FIAA, mientras que en el grupo EHNA/AA solo se restauró el complejo I, manteniéndose una actividad reducida en el complejo II-III. Esta inhibición parcial puede deberse a una disfunción aislada del complejo II o a una disminución de la disponibilidad de ubiquinona endógena, por lo que futuros estudios deberán enfocarse en evaluar la actividad específica de cada complejo por separado. Un resultado inesperado fue que la respiración mitocondrial de los grupos AA y FIAA del modelo I, presentaron una disminución en la respiración mitocondrial comparable al grupo de EHNA, aunque sin una caída tan pronunciada en el $\Delta\Psi$. Esto sugiere un desacoplamiento parcial de la fosforilación oxidativa que no llega a comprometer completamente el $\Delta\Psi$ potencial de membrana, posiblemente como una respuesta adaptativa a la modulación del metabolismo mitocondrial inducida por los compuestos bioactivos. En contraste, en el Modelo II, los grupos de AA y FIAA, mostraron

tasas de respiración mitocondrial similares al grupo CTRL, aunque acompañadas con alteraciones en el $\Delta\Psi$. Este efecto coincide con una reducción en la actividad en los complejos I y II-III, en los grupos AA y FIAA del Modelo I. Por su parte, los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA del Modelo I y II, mostraron tasas de respiración mitocondrial y $\Delta\Psi$ similares a las del grupo CTRL. Esto podría indicar un efecto específico de los compuestos presentes sobre sitios redox mitocondriales sensibles a la condición glicémica.

Respecto a la producción de ERO, la disminución de la actividad de los complejos I y II-III de la CTE (Figuras 5a y 5b) en el grupo EHNA del Modelo II, no se tradujo en un incremento de la producción de ERO, lo cual sugiere que en condiciones de prediabetes sin hiperglucemia, el sistema antioxidante mitocondrial aún puede compensar eficientemente la disfunción. Sin embargo, en el grupo EHNA del modelo II, los niveles elevados de ERO (Figura 11) superan la capacidad antioxidante endógena, lo que indica un estado de estrés oxidativo más severo. Este resultado está en consonancia con la inflamación hepática de grado 3 observada en el mismo grupo (Figura 16c), y refuerza la conexión entre disfunción mitocondrial, estrés oxidativo e inflamación. En los grupos EHNA/AA y EHNA/FIAA del Modelo I los niveles de ERO se mantuvieron estables, lo que sugiere que los compuestos bioactivos presentes en el AA y la FIAA no alteran negativamente los sistemas antioxidantes intracelulares. En el Modelo II, sin embargo, solo el grupo EHNA/AA logró reducir significativamente los niveles de ERO, lo que sugiere una acción antioxidante más potente o específica del aceite completo, en comparación con su fracción insaponificable. Por su parte, los grupos de AA y FIAA del Modelo I, mostraron niveles de ERO significativamente más elevados que el grupo CTRL. Este incremento puede atribuirse a la acumulación de intermediarios inestables como la ubisemiquinona, que se forma en los sitios redox de los complejos I y III. La prolongación de la vida media de estos radicales aumenta la probabilidad de formación de anión superóxido, lo cual explicaría el aumento de ~ 2 veces en la producción de ERO en las mitocondrias hepáticas. En contraste, en el Modelo II, los grupos AA y FIAA mantuvieron niveles de ERO comparables al grupo CTRL, estos mismos grupos en este modelo, no presentaron un aumento en la inflamación medido por histología, lo que refuerza la hipótesis de que estos compuestos no inducen un estado prooxidante en condiciones metabólicas normales y, por el contrario, podrían contribuir al mantenimiento del equilibrio redox y la integridad mitocondrial. Los compuestos bioactivos presentes en el

AA y la FIAA podrías tener el mismo comportamiento que tiene el licopeno, que cuando un sistema produce oxígeno singlete, actúa como antioxidante; sin embargo, cuando un sistema produce peróxido, el licopeno actúa como prooxidante, en donde además se menciona que el licopeno exhibe un comportamiento prooxidante en niveles altos, pero un comportamiento antioxidante en cantidades bajas (Crupi et al., 2023).

Finalmente, los efectos hepatoprotectores y mitocondriales del AA pueden atribuirse en parte a su contenido de ácidos grasos monoinsaturados, especialmente el C18:1, mientras que los efectos observados con la FIAA (en ausencia de ácidos grasos), sugieren un papel activo de compuestos como la tangeraxantina, yaxantona, loliolida- β -D-glucopiranosido y ciertos hidrocarburos saturados. La tangeraxantina, por su similitud estructural con la astaxantina, podría ser clave en la protección mitocondrial, mientras que la yaxantona podría modular la homeostasis glucémica vía PKC- ϵ , AMPK y PPAR α . Los demás compuestos podrían contribuir a la reducción del estrés oxidativo y la inflamación, reflejándose en una mejor integridad mitocondrial y menor daño hepático.

IX. CONCLUSIÓN

Se demostró que la suplementación con el aceite de aguacate y su fracción insaponificable previene el desarrollo de la EHNA y la hiperglucemia al disminuir la resistencia a la insulina, lo cual podría ser debido en el caso del aceite de aguacate a una disminución en los niveles de diacilglicerol, mientras que la suplementación con la fracción insaponificable de aceite de aguacate reduce la oxidación β de ácidos grasos, lo cual podría reflejar la activación de otro mecanismo de utilización de ácidos grasos, lo cual concuerda con el incremento en la sensibilidad insulina por la fracción insaponificable de aceite de aguacate. Estos resultados respaldan el potencial terapéutico del aceite de aguacate y su fracción insaponificable frente a la EHNA y la hiperglucemia, aunque faltan estudios en humanos para verificar para confirmar esta noción.

X. PERSPECTIVAS

- Estudiar el efecto de la FIAA sobre el funcionamiento del receptor de insulina y las vías de señalización involucradas en la mejora de la hiperglucemia, la RI y la función mitocondrial.
- Realizar un estudio toxicológico para determinar la bioseguridad de la FIAA.
- Llevar a cabo un proceso de subfraccionamiento de la FIAA, con el objetivo de identificar los compuestos responsables de su actividad biológica.

XI BIBLIOGRAFIA

- Ademowo, O. S., Oyeboode, O., Edward, R., Conway, M. E., Griffiths, H. R., & Dias, I. H. K. (2024). Effects of carotenoids on mitochondrial dysfunction. *Biochemical Society Transactions*, 52(1), 65-74. <https://doi.org/10.1042/BST20230193>
- Aghababaei, F., & Hadidi, M. (2023). Recent Advances in Potential Health Benefits of Quercetin. *Pharmaceuticals*, 16(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/ph16071020>
- Albitar, O., D'Souza, C. M., & Adeghate, E. A. (2024). Effects of Lipoproteins on Metabolic Health. *Nutrients*, 16(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/nu16132156>
- Amengual, J., Lobo, G. P., Golczak, M., Li, H. N. M., Klimova, T., Hoppel, C. L., Wyss, A., Palczewski, K., & von Lintig, J. (2011). A mitochondrial enzyme degrades carotenoids and protects against oxidative stress. *The FASEB Journal*, 25(3), 948-959. <https://doi.org/10.1096/fj.10-173906>
- Antunes, L. C., Elkfury, J. L., Jornada, M. N., Foletto, K. C., & Bertoluci, M. C. (2016). Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 60(2), 138-142. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000169>
- Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>
- Ar'Rajab, A., & Ahrén, B. (1993). Long-term diabetogenic effect of streptozotocin in rats. *Pancreas*, 8(1), 50-57. <https://doi.org/10.1097/00006676-199301000-00011>
- Arrese, M., Cabrera, D., Kalergis, A. M., & Feldstein, A. E. (2016). Innate Immunity and Inflammation in NAFLD/NASH. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(5), 1294-1303. <https://doi.org/10.1007/s10620-016-4049-x>
- Baky, M. H., Shawky, E. M., Elgindi, M. R., & Ibrahim, H. A. (2021). Comparative Volatile Profiling of *Ludwigia stolonifera* Aerial Parts and Roots Using VSE-GC-MS/MS and Screening of Antioxidant and Metal Chelation Activities. *ACS Omega*, 6(38), 24788-24794. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03627>

- Bashir, A., Duseja, A., De, A., Mehta, M., & Tiwari, P. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease development: A multifactorial pathogenic phenomena. *Liver Research*, 6(2), 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2022.05.002>
- Basto-Abreu, A., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Moreno-Banda, G. L., Carnalla, M., Rivera, J. A., Romero-Martínez, M., Barquera, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2023). Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65, s163-s168. <https://doi.org/10.21149/14832>
- Begrliche, K., Massart, J., Robin, M.-A., Bonnet, F., & Fromenty, B. (2013). Mitochondrial adaptations and dysfunctions in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 58(4), 1497-1507. <https://doi.org/10.1002/hep.26226>
- Berasategi, I., Barriuso, B., Ansorena, D., & Astiasarán, I. (2012). Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chemistry*, 132(1), 439-446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.018>
- Bernal-Reyes, R., Castro-Narro, G., Malé-Velázquez, R., Carmona-Sánchez, R., González-Huezo, M. S., García-Juárez, I., Chávez-Tapia, N., Aguilar-Salinas, C., Aiza-Haddad, I., Ballesteros-Amozurrutia, M. A., Bosques-Padilla, F., Castillo-Barradas, M., Chávez-Barrera, J. A., Cisneros-Garza, L., Flores-Calderón, J., García-Compeán, D., Gutiérrez-Grobe, Y., Higuera de la Tijera, M. F., Kershenobich-Stalnikowitz, D., ... Velarde-Ruiz Velasco, J. A. (2019). The Mexican consensus on nonalcoholic fatty liver disease. *Revista De Gastroenterologia De Mexico (English)*, 84(1), 69-99. <https://doi.org/10.1016/j.rgm.2018.11.007>
- Berndt, C., Alborzina, H., Amen, V. S., Ayton, S., Barayeu, U., Bartelt, A., Bayir, H., Bebbler, C. M., Birsoy, K., Böttcher, J. P., Brabletz, S., Brabletz, T., Brown, A. R., Brüne, B., Bulli, G., Bruneau, A., Chen, Q., DeNicola, G. M., Dick, T. P., ... Conrad, M. (2024). Ferroptosis in health and disease. *Redox Biology*, 75, 103211. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103211>
- Bessone, F., Razori, M. V., & Roma, M. G. (2018). Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 76(1), 99-128. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2947-0>

- Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Perera, S., Low, M., Basu, A., Devi, O. A., Barooah, M. S., Li, C. G., & Papoutsis, K. (2019). The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. *Antioxidants*, *8*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/antiox8100426>
- Bo, T., Gao, L., Yao, Z., Shao, S., Wang, X., Proud, C. G., & Zhao, J. (2024). Hepatic selective insulin resistance at the intersection of insulin signaling and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Cell Metabolism*, *36*(5), 947-968. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.04.006>
- Brehm, B. J., Lattin, B. L., Summer, S. S., Boback, J. A., Gilchrist, G. M., Jandacek, R. J., & D'Alessio, D. A. (2009). One-year comparison of a high-monounsaturated fat diet with a high-carbohydrate diet in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, *32*(2), 215-220. <https://doi.org/10.2337/dc08-0687>
- Browning, J. D., Szczepaniak, L. S., Dobbins, R., Nuremberg, P., Horton, J. D., Cohen, J. C., Grundy, S. M., & Hobbs, H. H. (2004). Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *40*(6), 1387-1395. <https://doi.org/10.1002/hep.20466>
- Cacho, J., Sevillano, J., de Castro, J., Herrera, E., & Ramos, M. P. (2008). Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *295*(5), E1269-1276. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90207.2008>
- Cao, L., An, Y., Liu, H., Jiang, J., Liu, W., Zhou, Y., Shi, M., Dai, W., Lv, Y., Zhao, Y., Lu, Y., Chen, L., & Xia, Y. (2024). Global epidemiology of type 2 diabetes in patients with NAFLD or MAFLD: A systematic review and meta-analysis. *BMC Medicine*, *22*(1), 101. <https://doi.org/10.1186/s12916-024-03315-0>
- Cárceles Rodríguez, B., Durán Zuazo, V. H., Franco Tarifa, D., Cuadros Tavira, S., Sacristan, P. C., & García-Tejero, I. F. (2023). Irrigation Alternatives for Avocado (*Persea americana* Mill.) in the Mediterranean Subtropical Region in the Context of Climate Change: A Review. *Agriculture*, *13*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051049>
- Cervantes-Paz, B., & Yahia, E. M. (2021). Avocado oil: Production and market demand, bioactive components, implications in health, and tendencies and potential uses.

- Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 4120-4158.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12784>
- Chalasanani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M., Sanyal, A. J., American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, & American College of Gastroenterology. (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>
- Cheikhyoussef, N., & Cheikhyoussef, A. (2022). Avocado (*Persea Americana*) Wastes: Chemical Composition, Biological Activities and Industrial Applications. En M. F. Ramadan & M. A. Farag (Eds.), *Mediterranean Fruits Bio-wastes: Chemistry, Functionality and Technological Applications* (pp. 699-719). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-84436-3_30
- Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J., & Li, H. (2020). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 152, 116-141. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025>
- Cheng, H., Zhou, J., Sun, Y., Zhan, Q., & Zhang, D. (2022). High fructose diet: A risk factor for immune system dysregulation. *Human Immunology*, 83(6), 538-546. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2022.03.007>
- Cheng, Y., Chen, Y., Li, J., Qu, H., Zhao, Y., Wen, C., & Zhou, Y. (2020). Dietary β -sitosterol regulates serum lipid level and improves immune function, antioxidant status, and intestinal morphology in broilers. *Poultry Science*, 99(3), 1400-1408. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.025>
- Choi, D., Kang, W., & Park, T. (2020). Anti-Allergic and Anti-Inflammatory Effects of Undecane on Mast Cells and Keratinocytes. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(7), 1554. <https://doi.org/10.3390/molecules25071554>
- Cobbina, E., & Akhlaghi, F. (2017). Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)—Pathogenesis, Classification, and Effect on Drug Metabolizing Enzymes and Transporters. *Drug metabolism reviews*, 49(2), 197. <https://doi.org/10.1080/03602532.2017.1293683>

- Coello, B., Sosa-Garrocho, M., & Alcántara-Hernández, R. (2017). *Avances en el Estudio Experimental de la Bioquímica Hepática*. <https://doi.org/10.22201/ifc.9786070290763e.2017>
- Comisión del Codex Alimentarius/FAO/OMS. (1999). *CODEX ALIMENTARIUS: NORMA PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS (CXS 210-1999)*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B210-1999%252FCXS_210s.pdf
- Coronati, M., Baratta, F., Pastori, D., Ferro, D., Angelico, F., & Del Ben, M. (2022). Added Fructose in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and in Metabolic Syndrome: A Narrative Review. *Nutrients*, *14*(6), 1127. <https://doi.org/10.3390/nu14061127>
- Cortés-Rojo, C., Montoya-Pérez, R., Rodríguez-Orozco, A. R., Saavedra-Molina, A., & Calderón-Cortés, E. (2019). Chapter 6—Avocado Oil and Diabetic Complications Related to Mitochondrial Dysfunction. En R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes (Second Edition)* (pp. 89-101). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813822-9.00006-0>
- Cortés-Rojo, C., Vargas-Vargas, M. A., Olmos-Orizaba, B. E., Rodríguez-Orozco, A. R., & Calderón-Cortés, E. (2020). Interplay between NADH oxidation by complex I, glutathione redox state and sirtuin-3, and its role in the development of insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1866*(8), 165801. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165801>
- Crupi, P., Faienza, M. F., Naeem, M. Y., Corbo, F., Clodoveo, M. L., & Muraglia, M. (2023). Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. *Antioxidants*, *12*(5), 1069. <https://doi.org/10.3390/antiox12051069>
- D'Silva, A., & D'Souza, C. J. M. (2015). Effect of Nonsaponifiable Fraction of Avocado Oil on Body Weight, Body Fat and Blood Lipid Profile of Broiler Chickens. *Asian Journal of Poultry Science*, *9*(3), 144-154. <https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2015.144.154>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Hendler, R., Felig, P., & Wahren, J. (1983). Regulation of splanchnic and peripheral glucose uptake by insulin and hyperglycemia in man. *Diabetes*, *32*(1), 35-45. <https://doi.org/10.2337/diab.32.1.35>

- Dehghani, F., Morvaridzadeh, M., Pizarro, A. B., Rouzitalab, T., Khorshidi, M., Izadi, A., Shidfar, F., Omidi, A., & Heshmati, J. (2021). Effect of extra virgin olive oil consumption on glycemic control: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 31(7), 1953-1961. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2021.02.017>
- Del Toro-Equihua, M., Velasco-Rodríguez, R., López-Ascencio, R., & Vásquez, C. (2016). Effect of an avocado oil-enhanced diet (*Persea americana*) on sucrose-induced insulin resistance in Wistar rats. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(2), 350-357. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.11.005>
- Delli Bovi, A. P., Marciano, F., Mandato, C., Siano, M. A., Savoia, M., & Vajro, P. (2021). Oxidative Stress in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. An Updated Mini Review. *Frontiers in Medicine*, 8, 595371. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.595371>
- Dharmalingam, M., & Yamasandhi, P. G. (2018). Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 22(3), 421-428. https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM_585_17
- Dhibi, M., Brahmi, F., Mnari, A., Houas, Z., Chargui, I., Bchir, L., Gazzah, N., Alsaif, M. A., & Hammami, M. (2011). The intake of high fat diet with different trans fatty acid levels differentially induces oxidative stress and non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. *Nutrition & Metabolism*, 8(1), 65. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-65>
- Dijk, S. J. van, Feskens, E. J. M., Bos, M. B., Groot, L. C. P. G. M. de, Vries, J. H. M. de, Müller, M., & Afman, L. A. (2012). Consumption of a High Monounsaturated Fat Diet Reduces Oxidative Phosphorylation Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Abdominally Overweight Men and Women^{1–4}. *The Journal of Nutrition*, 142(7), 1219-1225. <https://doi.org/10.3945/jn.111.155283>
- Dilberger, B., Wepler, S., & Eckert, G. P. (2021). Phenolic acid metabolites of polyphenols act as inductors for hormesis in *C. elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 198, 111518. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111518>
- Dille, M. J., & Draget, K. I. (2021). Chewable Gelatin Emulsions for Oral Lipid Delivery: Elimination of Gastric Coalescence with κ -Carrageenan. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(2), 2000282. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000282>

- Dimitriadis, G. D., Maratou, E., Kountouri, A., Board, M., & Lambadiari, V. (2021). Regulation of Postabsorptive and Postprandial Glucose Metabolism by Insulin-Dependent and Insulin-Independent Mechanisms: An Integrative Approach. *Nutrients*, *13*(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/nu13010159>
- Domínguez-López, I., Arancibia-Riveros, C., Casas, R., Tresserra-Rimbau, A., Razquin, C., Martínez-González, M. Á., Hu, F. B., Ros, E., Fitó, M., Estruch, R., López-Sabater, M. C., & Lamuela-Raventós, R. M. (2022). Changes in plasma total saturated fatty acids and palmitic acid are related to pro-inflammatory molecule IL-6 concentrations after nutritional intervention for one year. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *150*, 113028. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113028>
- Douard, V., & Ferraris, R. P. (2008). Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *295*(2), E227-E237. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90245.2008>
- Dowman, J. K., Tomlinson, J. W., & Newsome, P. N. (2010). Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: An International Journal of Medicine*, *103*(2), 71-83. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp158>
- Elkanawati, R. Y., Sumiwi, S. A., & Levita, J. (2024). Impact of Lipids on Insulin Resistance: Insights from Human and Animal Studies. *Drug Design, Development and Therapy*, *18*, 3337-3360. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S468147>
- European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), & European Association for the Study of Obesity (EASO). (2016). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, *64*(6), 1388-1402. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>
- European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), & European Association for the Study of Obesity (EASO). (2024). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). *Journal of Hepatology*, *81*(3), 492-542. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2024.04.031>

- Falabella, M., Vernon, H. J., Hanna, M. G., Claypool, S. M., & Pitceathly, R. D. S. (2021). Cardioliipin, Mitochondria, and Neurological Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 32(4), 224-237. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.01.006>
- Fernandez-Vizarra, E., & Zeviani, M. (2021). Mitochondrial disorders of the OXPHOS system. *FEBS Letters*, 595(8), 1062-1106. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13995>
- Ferraris, R. P., Choe, J., & Patel, C. R. (2018). Intestinal Absorption of Fructose. *Annual Review of Nutrition*, 38(Volume 38, 2018), 41-67. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082117-051707>
- Flachs, P., Horakova, O., Brauner, P., Rossmeisl, M., Pecina, P., Franssen-van Hal, N., Ruzickova, J., Sponarova, J., Drahota, Z., Vlcek, C., Keijer, J., Houstek, J., & Kopecky, J. (2005). Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia*, 48(11), 2365-2375. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1944-7>
- Flores, M., Saravia, C., Vergara, C. E., Avila, F., Valdés, H., & Ortiz-Viedma, J. (2019). Avocado Oil: Characteristics, Properties, and Applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(11), 2172. <https://doi.org/10.3390/molecules24112172>
- Foerster, F., Gairing, S. J., Müller, L., & Galle, P. R. (2022). NAFLD-driven HCC: Safety and efficacy of current and emerging treatment options. *Journal of Hepatology*, 76(2), 446-457. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.09.007>
- Francque, S. M., Marchesini, G., Kautz, A., Walmsley, M., Dorner, R., Lazarus, J. V., Zelber-Sagi, S., Hallsworth, K., Busetto, L., Frühbeck, G., Dicker, D., Woodward, E., Korenjak, M., Willemsse, J., Koek, G. H., Vinker, S., Ungan, M., Mendive, J. M., & Lionis, C. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP Reports*, 3(5), 100322. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322>
- Friedman, S. L., Neuschwander-Tetri, B. A., Rinella, M., & Sanyal, A. J. (2018). Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature medicine*, 24(7), 908. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9>
- García-Berumen, C. I., Vargas-Vargas, M. A., Ortiz-Avila, O., Piña-Zentella, R. M., Ramos-Gómez, M., Figueroa-García, M. del C., Mejía-Zepeda, R., Rodríguez-Orozco, A. R., Saavedra-Molina, A., & Cortés-Rojo, C. (2022). Avocado oil alleviates non-alcoholic fatty liver disease by improving mitochondrial function, oxidative stress

- and inflammation in rats fed a high fat–High fructose diet. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1089130>
- Gastaldelli, A., & Cusi, K. (2019). From NASH to diabetes and from diabetes to NASH: Mechanisms and treatment options. *JHEP Reports: Innovation in Hepatology*, 1(4), 312-328. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2019.07.002>
- Genua, I., & Cusi, K. (2024). Pharmacological Approaches to Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Current and Future Therapies. *Diabetes Spectrum*, 37(1), 48-58. <https://doi.org/10.2337/dsi23-0012>
- Gómez-López, V. M. (2002). Fruit characterization of high oil content avocado varieties. *Scientia Agricola*, 59, 403-406. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162002000200030>
- Gonzalez, A., Huerta-Salgado, C., Orozco-Aguilar, J., Aguirre, F., Tacchi, F., Simon, F., & Cabello-Verrugio, C. (2020). Role of Oxidative Stress in Hepatic and Extrahepatic Dysfunctions during Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1617805. <https://doi.org/10.1155/2020/1617805>
- Gorinstein, S., Leontowicz, H., Lojek, A., Leontowicz, M., Ciz, M., Krzeminski, R., Gralak, M., Czerwinski, J., Jastrzebski, Z., Trakhtenberg, S., Grigelmo-Miguel, N., Soliva-Fortuny, R., & Martin-Belloso, O. (2002). Olive oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6102-6108. <https://doi.org/10.1021/jf020306k>
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 177(2), 751-766.
- Guo, X., Yin, X., Liu, Z., & Wang, J. (2022). Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), Article 24. <https://doi.org/10.3390/ijms232415489>
- Gupta, J., Gaikwad, A. B., & Tikoo, K. (2010). Hepatic expression profiling shows involvement of PKC epsilon, DGK eta, Tnfaip, and Rho kinase in type 2 diabetic nephropathy rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, 111(4), 944-954. <https://doi.org/10.1002/jcb.22783>

- Han, S. K., Baik, S. K., & Kim, M. Y. (2023). Non-alcoholic fatty liver disease: Definition and subtypes. *Clinical and Molecular Hepatology*, 29(Suppl), S5-S16. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0424>
- Herman, M. A., & Birnbaum, M. J. (2021). Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease. *Cell Metabolism*, 33(12), 2329-2354. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.010>
- Hong, H. T., Takagi, T., & O'Hare, T. J. (2022). An optimal saponification and extraction method to determine carotenoids in avocado. *Food Chemistry*, 387, 132923. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132923>
- Honka, M.-J., Latva-Rasku, A., Bucci, M., Virtanen, K. A., Hannukainen, J. C., Kalliokoski, K. K., & Nuutila, P. (2018). Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle, adipose tissue and liver: A positron emission tomography study. *European Journal of Endocrinology*, 178(5), 523-531. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0882>
- Houten, S. M., Violante, S., Ventura, F. V., & Wanders, R. J. A. (2016). The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation and Its Genetic Disorders. *Annual Review of Physiology*, 78, 23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105045>
- Hsu, C.-Y., Chao, P.-Y., Hu, S.-P., & Yang, C.-M. (2013). The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*, 4(8), Article 8. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.48A001>
- Hughey, C. C., Puchalska, P., & Crawford, P. A. (2022). Integrating the contributions of mitochondrial oxidative metabolism to lipotoxicity and inflammation in NAFLD pathogenesis. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1867(11), 159209. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2022.159209>
- Igarashi, M., Iwasa, K., Hayakawa, T., Tsuduki, T., Kimura, I., Maruyama, K., & Yoshikawa, K. (2023). Dietary oleic acid contributes to the regulation of food intake through the synthesis of intestinal oleoylethanolamide. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1056116>
- Ishino, S., Sugita, T., Kondo, Y., Okai, M., Tsuchimori, K., Watanabe, M., Mori, I., Hosoya, M., Horiguchi, T., & Kamiguchi, H. (2017). Glucose uptake of the muscle and adipose tissues in diabetes and obesity disease models: Evaluation of insulin and β 3-

- adrenergic receptor agonist effects by 18F-FDG. *Annals of Nuclear Medicine*, 31(5), 413-423. <https://doi.org/10.1007/s12149-017-1169-0>
- Islam, Md. A., Amin, M. N., Siddiqui, S. A., Hossain, Md. P., Sultana, F., & Kabir, Md. R. (2019). Trans fatty acids and lipid profile: A serious risk factor to cardiovascular disease, cancer and diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 13(2), 1643-1647. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.03.033>
- Jattujan, P., Srisirirung, S., Watcharaporn, W., Chumphoochai, K., Kraokaew, P., Sanguanphun, T., Prasertsuksri, P., Thongdechsi, S., Sobhon, P., & Meemon, K. (2022). 2-Butoxytetrahydrofuran and Palmitic Acid from *Holothuria scabra* Enhance *C. elegans* Lifespan and Healthspan via DAF-16/FOXO and SKN-1/NRF2 Signaling Pathways. *Pharmaceuticals*, 15(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/ph15111374>
- Jornayvaz, F. R., Birkenfeld, A. L., Jurczak, M. J., Kanda, S., Guigni, B. A., Jiang, D. C., Zhang, D., Lee, H.-Y., Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2011). Hepatic insulin resistance in mice with hepatic overexpression of diacylglycerol acyltransferase 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(14), 5748-5752. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103451108>
- Jou, J., Choi, S. S., & Diehl, A. M. (2008). Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 28(4), 370-379. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1091981>
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C. J., & Tuma, F. (2023). Physiology, Liver. En *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/>
- Kaur, K., Singh, L., Kaur, A., & Bhatti, R. (2023). Exploring the possible mechanism involved in the anti-nociceptive effect of β -sitosterol: Modulation of oxidative stress, nitric oxide and IL-6. *Inflammopharmacology*, 31(1), 517-527. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-01122-8>
- Kitade, H., Chen, G., Ni, Y., & Ota, T. (2017). Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance: New Insights and Potential New Treatments. *Nutrients*, 9(4), 387. <https://doi.org/10.3390/nu9040387>
- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y.-C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., Sanyal, A. J., & Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network.

- (2005). Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *41*(6), 1313-1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>
- Koliaki, C., Szendroedi, J., Kaul, K., Jelenik, T., Nowotny, P., Jankowiak, F., Herder, C., Carstensen, M., Krausch, M., Knoefel, W. T., Schlensak, M., & Roden, M. (2015). Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metabolism*, *21*(5), 739-746. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.04.004>
- Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019). The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: An overview of molecular mechanisms. *Inflammation Research*, *68*(11), 915-932. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01273-5>
- Krumreich, F. D., Borges, C. D., Mendonça, C. R. B., Jansen-Alves, C., & Zambiasi, R. C. (2018). Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. *Food Chemistry*, *257*, 376-381. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.048>
- Kwiterovich, P. O. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: A current review. *American Journal of Cardiology*, *86*(12), 5-10. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(00\)01461-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(00)01461-2)
- Lee, S.-H., Park, S.-Y., & Choi, C. S. (2021). Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes & Metabolism Journal*, *46*(1), 15-37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>
- LeFort, K. R., Rungratanawanich, W., & Song, B.-J. (2024). Contributing roles of mitochondrial dysfunction and hepatocyte apoptosis in liver diseases through oxidative stress, post-translational modifications, inflammation, and intestinal barrier dysfunction. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *81*(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-05061-7>
- Lerman-Garber, I., Ichazo-Cerro, S., Zamora-González, J., Cardoso-Saldaña, G., & Posadas-Romero, C. (1994). Effect of a high-monounsaturated fat diet enriched with avocado in NIDDM patients. *Diabetes Care*, *17*(4), 311-315. <https://doi.org/10.2337/diacare.17.4.311>

- Levine, A., Liktor-Busa, E., Karlage, K. L., Giancotti, L., Salvemini, D., Vanderah, T. W., & Largent-Milnes, T. M. (2020). DAGL α Inhibition as a Non-invasive and Translational Model of Episodic Headache. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 615028. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.615028>
- Li, B., Zhang, C., & Zhan, Y.-T. (2018). Nonalcoholic Fatty Liver Disease Cirrhosis: A Review of Its Epidemiology, Risk Factors, Clinical Presentation, Diagnosis, Management, and Prognosis. *Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *2018*, 2784537. <https://doi.org/10.1155/2018/2784537>
- Li, X., Zhang, D., Vatner, D. F., Goedeke, L., Hirabara, S. M., Zhang, Y., Perry, R. J., & Shulman, G. I. (2020). Mechanisms by which adiponectin reverses high fat diet-induced insulin resistance in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(51), 32584-32593. <https://doi.org/10.1073/pnas.1922169117>
- Liang, W., Menke, A. L., Driessen, A., Koek, G. H., Lindeman, J. H., Stoop, R., Havekes, L. M., Kleemann, R., & van den Hoek, A. M. (2014). Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. *PloS One*, *9*(12), e115922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115922>
- Lin, X., & Li, Z. (2024). Key components and multiple health functions of avocado oil: A review. *Journal of Functional Foods*, *122*, 106494. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106494>
- Litwiniuk, A., Domańska, A., Chmielowska, M., Martyńska, L., Bik, W., & Kalisz, M. (2020). The Effects of Alpha-Linolenic Acid on the Secretory Activity of Astrocytes and β Amyloid-Associated Neurodegeneration in Differentiated SH-SY5Y Cells: Alpha-Linolenic Acid Protects the SH-SY5Y cells against β Amyloid Toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*(1), 8908901. <https://doi.org/10.1155/2020/8908901>
- Llovet, J. M., Willoughby, C. E., Singal, A. G., Greten, T. F., Heikenwälder, M., El-Serag, H. B., Finn, R. S., & Friedman, S. L. (2023). Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma: Pathogenesis and treatment. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, *20*(8), 487-503. <https://doi.org/10.1038/s41575-023-00754-7>

- López-Velázquez, J. A., Silva-Vidal, K. V., Ponciano-Rodríguez, G., Chávez-Tapia, N. C., Arrese, M., Uribe, M., & Méndez-Sánchez, N. (2014). The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Americas. *Annals of Hepatology*, *13*(2), 166-178.
- Lu, Q.-Y., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R., Gao, K., Byrns, R., & Heber, D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of agricultural and food chemistry*, *57*(21), 10408-10413. <https://doi.org/10.1021/jf901839h>
- Lubawy, M., & Formanowicz, D. (2023). High-Fructose Diet–Induced Hyperuricemia Accompanying Metabolic Syndrome–Mechanisms and Dietary Therapy Proposals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *20*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijerph20043596>
- Lustig, R. H., & Fennoy, I. (2022). The History of Obesity Research. *Hormone Research in Paediatrics*, *95*(6), 638-648. <https://doi.org/10.1159/000526520>
- Machado, M., Costa, E. M., Silva, S., Gomes, A. M., & Pintado, M. (2025). Exploring the therapeutic potential of avocado oil: Insights into obesity metabolism and immune regulation through *in vitro* models. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *63*, 103464. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103464>
- Malhotra, P., Gill, R. K., Saksena, S., & Alrefai, W. A. (2020). Disturbances in Cholesterol Homeostasis and Non-alcoholic Fatty Liver Diseases. *Frontiers in Medicine*, *7*, 467. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00467>
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., & Buono, P. (2015). Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules*, *20*(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/molecules200917339>
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, *74*(1), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Marra, A., Manousakis, V., Zervas, G. P., Koutis, N., Finos, M. A., Adamantidi, T., Panoutsopoulou, E., Ofrydopoulou, A., & Tsoupras, A. (2024). Avocado and Its By-Products as Natural Sources of Valuable Anti-Inflammatory and Antioxidant Bioactives for Functional Foods and Cosmetics with Health-Promoting Properties. *Applied Sciences*, *14*(14), Article 14. <https://doi.org/10.3390/app14145978>

- Martín-Torres, S., Jiménez-Carvelo, A. M., González-Casado, A., & Cuadros-Rodríguez, L. (2020). Authentication of the geographical origin and the botanical variety of avocados using liquid chromatography fingerprinting and deep learning methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 199, 103960. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2020.103960>
- Meshkani, R., & Adeli, K. (2009). Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clinical Biochemistry*, 42(13), 1331-1346. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.05.018>
- Miceli, M., Roma, E., Rosa, P., Feroci, M., Loreto, M. A., Tofani, D., & Gasperi, T. (2018). Synthesis of Benzofuran-2-One Derivatives and Evaluation of Their Antioxidant Capacity by Comparing DPPH Assay and Cyclic Voltammetry. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(4), 710. <https://doi.org/10.3390/molecules23040710>
- Miklankova, D., Markova, I., Hüttl, M., Stankova, B., & Malinska, H. (2022). The Different Insulin-Sensitising and Anti-Inflammatory Effects of Palmitoleic Acid and Oleic Acid in a Prediabetes Model. *Journal of Diabetes Research*, 2022, 4587907. <https://doi.org/10.1155/2022/4587907>
- Mock, K., Lateef, S., Benedito, V. A., & Tou, J. C. (2017). High-fructose corn syrup-55 consumption alters hepatic lipid metabolism and promotes triglyceride accumulation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 39, 32-39. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.09.010>
- Moeurng, S., Posridee, K., Kamkaew, A., Thaiudom, S., Oonsivilai, A., & Oonsivilai, R. (2024). Identification of Pheophytin a and Hydroxy Pheophytin a from Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Linn.) as Potent NQO-1 Inducers in Liver Cells. *Foods*, 13(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods13101443>
- Moller, D. E., & Berger, J. P. (2003). Role of PPARs in the regulation of obesity-related insulin sensitivity and inflammation. *International Journal of Obesity*, 27(3), S17-S21. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802494>
- Monteiro, C. A., Cannon, G., Moubarac, J.-C., Levy, R. B., Louzada, M. L. C., & Jaime, P. C. (2018). The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutrition*, 21(1), 5-17. <https://doi.org/10.1017/S1368980017000234>

- Morio, R., Hyogo, H., Hatooka, M., Morio, K., Kan, H., Kobayashi, T., Kawaoka, T., Tsuge, M., Hiramatsu, A., Imamura, M., Kawakami, Y., Aikata, H., Ochi, H., Masayasu, Y., & Chayama, K. (2017). The risk of transient postprandial oxyhypoglycemia in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology*, *52*(2), 253-262. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1236-7>
- Moshfegh, A., Salehzadeh, A., Sadat Shandiz, S. A., Shafaghi, M., Naeemi, A. S., & Salehi, S. (2019). Phytochemical Analysis, Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Properties of the Caspian Sea Red Macroalgae, *Laurencia caspica*. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, *43*(1), 49-56. <https://doi.org/10.1007/s40995-017-0388-5>
- Muñoz, M. A., & Barrón, A. R. (2009). Efectos médicos del aguacate. *Medicina Interna de México*.
- Nagpal, T., Sahu, J. K., Khare, S. K., Bashir, K., & Jan, K. (2021). Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives. *Journal of Food Science*, *86*(12), 5159-5174. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15977>
- Nehme, J., Altulea, A., Gheorghe, T., & Demaria, M. (2023). The effects of macronutrients metabolism on cellular and organismal aging. *Biomedical Journal*, *46*(3), 100585. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2023.02.005>
- Nolfi-Donagan, D., Braganza, A., & Shiva, S. (2020). Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biology*, *37*, 101674. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674>
- Ochoa-Zarzosa, A., Báez-Magaña, M., Guzmán-Rodríguez, J. J., Flores-Alvarez, L. J., Lara-Márquez, M., Zavala-Guerrero, B., Salgado-Garciglia, R., López-Gómez, R., & López-Meza, J. E. (2021). Bioactive Molecules From Native Mexican Avocado Fruit (*Persea americana* var. *drymifolia*): A Review. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, *76*(2), 133-142. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00887-7>
- Ojuka, E., Andrew, B., Bezuidenhout, N., George, S., Maarman, G., Madlala, H. P., Mendham, A., & Osiki, P. O. (2016). Measurement of β -oxidation capacity of biological samples by respirometry: A review of principles and substrates. *American*

- Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 310(9), E715-E723.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00475.2015>
- Olas, B. (2024). The Pulp, Peel, Seed, and Food Products of *Persea americana* as Sources of Bioactive Phytochemicals with Cardioprotective Properties: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), Article 24.
<https://doi.org/10.3390/ijms252413622>
- Omer, E., & Chiodi, C. (2024). Fat digestion and absorption: Normal physiology and pathophysiology of malabsorption, including diagnostic testing. *Nutrition in Clinical Practice*, 39(S1), S6-S16. <https://doi.org/10.1002/ncp.11130>
- Ortiz-Avila, O., Esquivel-Martínez, M., Olmos-Orizaba, B. E., Saavedra-Molina, A., Rodríguez-Orozco, A. R., & Cortés-Rojo, C. (2015). Avocado Oil Improves Mitochondrial Function and Decreases Oxidative Stress in Brain of Diabetic Rats. *Journal of Diabetes Research*, 2015, 485759. <https://doi.org/10.1155/2015/485759>
- Ortiz-Avila, O., Figueroa-García, M. D. C., García-Berumen, C. I., Calderón-Cortés, E., Mejía-Barajas, J. A., Rodríguez-Orozco, A. R., Mejía-Zepeda, R., Saavedra-Molina, A., & Cortés-Rojo, C. (2017). Avocado oil induces long-term alleviation of oxidative damage in kidney mitochondria from type 2 diabetic rats by improving glutathione status. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 49(2), 205-214.
<https://doi.org/10.1007/s10863-017-9697-9>
- Ortiz-Avila, O., Gallegos-Corona, M. A., Sánchez-Briones, L. A., Calderón-Cortés, E., Montoya-Pérez, R., Rodríguez-Orozco, A. R., Campos-García, J., Saavedra-Molina, A., Mejía-Zepeda, R., & Cortés-Rojo, C. (2015). Protective effects of dietary avocado oil on impaired electron transport chain function and exacerbated oxidative stress in liver mitochondria from diabetic rats. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 47(4), 337-353. <https://doi.org/10.1007/s10863-015-9614-z>
- Ozdemir, F., & Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry*, 86(1), 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.012>
- Paik, J. M., Henry, L., Younossi, Y., Ong, J., Alqahtani, S., & Younossi, Z. M. (2023). The burden of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is rapidly growing in every

- region of the world from 1990 to 2019. *Hepatology Communications*, 7(10), e0251. <https://doi.org/10.1097/HC9.0000000000000251>
- Pan, Y., & Kong, L.-D. (2018). High fructose diet-induced metabolic syndrome: Pathophysiological mechanism and treatment by traditional Chinese medicine. *Pharmacological Research*, 130, 438-450. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.02.020>
- Parekh, S., & Anania, F. A. (2007). Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: Implications for nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 132(6), 2191-2207. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.055>
- Pedersen, A., Baumstark, M. W., Marckmann, P., Gylling, H., & Sandström, B. (2000). An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and a higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *Journal of Lipid Research*, 41(12), 1901-1911.
- Perdomo, C. M., Frühbeck, G., & Escalada, J. (2019). Impact of Nutritional Changes on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*, 11(3), 677. <https://doi.org/10.3390/nu11030677>
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and Chlorophylls as Antioxidants. *Antioxidants*, 9(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>
- Qin, X., & Zhong, J. (2016). A Review of Extraction Techniques for Avocado Oil. *Journal of Oleo Science*, 65(11), 881-888. <https://doi.org/10.5650/jos.ess16063>
- Queiroz Junior, N. F., Steffani, J. A., Machado, L., Longhi, P. J. H., Montano, M. A. E., Martins, M., Machado, S. A., Machado, A. K., & Cadoná, F. C. (2021). Antioxidant and cytoprotective effects of avocado oil and extract (*Persea americana* Mill) against rotenone using monkey kidney epithelial cells (Vero). *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 84(21), 875-890. <https://doi.org/10.1080/15287394.2021.1945515>
- Rinella, M. E., Lazarus, J. V., Ratzliff, V., Francque, S. M., Sanyal, A. J., Kanwal, F., Romero, D., Abdelmalek, M. F., Anstee, Q. M., Arab, J. P., Arrese, M., Bataller, R., Beuers, U., Boursier, J., Bugianesi, E., Byrne, C. D., Castro Narro, G. E., Chowdhury, A., Cortez-Pinto, H., ... Newsome, P. N. (2023). A multisociety Delphi consensus statement on

- new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 78(6), 1966-1986. <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000520>
- Rodriguez-Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez-Gomez, L., Hornero-Mendez, D., Limon, M. C., Meléndez-Martínez, A. J., Olmedilla-Alonso, B., Palou, A., Ribot, J., Rodrigo, M. J., Zacarias, L., & Zhu, C. (2018). A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in Lipid Research*, 70, 62-93. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>
- Rossow, H. A., Acetoze, G., Champagne, J., & Ramsey, J. J. (2018). Measuring Liver Mitochondrial Oxygen Consumption and Proton Leak Kinetics to Estimate Mitochondrial Respiration in Holstein Dairy Cattle. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 141. <https://doi.org/10.3791/58387>
- Saavedra-molina, A., & Devlin, T. (1997). Effect of extra- and intra-mitochondrial calcium on citrulline synthesis. *Amino Acids*, 12(3-4), 293-298. <https://doi.org/10.1007/BF01373009>
- Salameh, M., Nacouzi, D., Lahoud, G., Riachy, I., & El Kayal, W. (2022). Evaluation of Postharvest Maturity Indices of Commercial Avocado Varieties Grown at Various Elevations Along Lebanon's Coast. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.895964>
- Salazar-López, N. J., Domínguez-Avila, J. A., Yahia, E. M., Belmonte-Herrera, B. H., Wall-Medrano, A., Montalvo-González, E., & González-Aguilar, G. A. (2020). Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 138(Pt A), 109774. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109774>
- Samaniego-Sánchez, C., Martín-del-Campo, S. T., Castañeda-Saucedo, M. C., Blanca-Herrera, R. M., Quesada-Granados, J. J., & Ramírez-Anaya, J. del P. (2021). Migration of Avocado Virgin Oil Functional Compounds during Domestic Cooking of Eggplant. *Foods*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/foods10081790>
- Santa-María, C., López-Enríquez, S., Montserrat-de la Paz, S., Geniz, I., Reyes-Quiroz, M. E., Moreno, M., Palomares, F., Sobrino, F., & Alba, G. (2023). Update on Anti-

- Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid. *Nutrients*, 15(1), 224.
<https://doi.org/10.3390/nu15010224>
- Santana, I., Castelo-Branco, V. N., Guimarães, B. M., Silva, L. de O., Peixoto, V. O. D. S., Cabral, L. M. C., Freitas, S. P., & Torres, A. G. (2019). Hass avocado (Persea americana Mill.) oil enriched in phenolic compounds and tocopherols by expeller-pressing the unpeeled microwave dried fruit. *Food Chemistry*, 286, 354-361.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.014>
- Sayuti, N. H., Muhammad Nawawi, K. N., Goon, J. A., Mokhtar, N. M., Makpol, S., & Tan, J. K. (2023). Preventative and Therapeutic Effects of Astaxanthin on NAFLD. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(8), 1552.
<https://doi.org/10.3390/antiox12081552>
- Schmidlin, C. J., Dodson, M. B., Madhavan, L., & Zhang, D. D. (2019). Redox regulation by NRF2 in aging and disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 134, 702-707.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.016>
- Secretaría de Economía. (2016). *México es el principal productor y exportador de aguacate en el mundo*. <https://www.gob.mx/se/articulos/mexico-es-el-principal-productor-y-exportador-de-aguacate-en-el-mundo>
- Secretaría de Economía. (2021). *NMX-F-811-SCFI-2021, Aceites y grasas-Aceite de aguacate-Especificaciones*.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5660191&fecha=03/08/2022#gsc.tab=0
- Shamsan, E., Almezgagi, M., Gamah, M., Khan, N., Qasem, A., Chuanchuan, L., & Haining, F. (2024). The role of PI3k/AKT signaling pathway in attenuating liver fibrosis: A comprehensive review. *Frontiers in Medicine*, 11, 1389329.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1389329>
- Shuai, X., Dai, T., McClements, D. J., Ruan, R., Du, L., Liu, Y., & Chen, J. (2023). Hypolipidemic effects of macadamia oil are related to AMPK activation and oxidative stress relief: In vitro and in vivo studies. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 168, 112772. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112772>
- Siddiqui, M. S., Cheang, K. L., Luketic, V. A., Boyett, S., Idowu, M. O., Patidar, K., Puri, P., Matherly, S., Stravitz, R. T., Sterling, R. K., & Sanyal, A. J. (2015). Nonalcoholic

- Steatohepatitis (NASH) Is Associated With A Decline In Pancreatic Beta Cell (β -Cell) Function. *Digestive diseases and sciences*, 60(8), 2529-2537. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3627-7>
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 233(6), 674-688. <https://doi.org/10.3181/0711-MR-311>
- Softic, S., Cohen, D. E., & Kahn, C. R. (2016). Role of Dietary Fructose and Hepatic De Novo Lipogenesis in Fatty Liver Disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(5), 1282-1293. <https://doi.org/10.1007/s10620-016-4054-0>
- Sorrenti, V., Burò, I., Consoli, V., & Vanella, L. (2023). Recent Advances in Health Benefits of Bioactive Compounds from Food Wastes and By-Products: Biochemical Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms24032019>
- Stephen, J., & Radhakrishnan, M. (2022). Avocado (*Persea americana* Mill.) fruit: Nutritional value, handling and processing techniques, and health benefits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(12), e17207. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17207>
- Subramoniam, A., Asha, V. V., Nair, S. A., Sasidharan, S. P., Sureshkumar, P. K., Rajendran, K. N., Karunakaran, D., & Ramalingam, K. (2012). Chlorophyll Revisited: Anti-inflammatory Activities of Chlorophyll a and Inhibition of Expression of TNF- α Gene by the Same. *Inflammation*, 35(3), 959-966. <https://doi.org/10.1007/s10753-011-9399-0>
- Sun, F., Huo, X., Zhai, Y., Wang, A., Xu, J., Su, D., Bartlam, M., & Rao, Z. (2005). Crystal Structure of Mitochondrial Respiratory Membrane Protein Complex II. *Cell*, 121(7), 1043-1057. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.025>
- Sunny, N. E., Parks, E. J., Browning, J. D., & Burgess, S. C. (2011). Excessive hepatic mitochondrial TCA cycle and gluconeogenesis in humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metabolism*, 14(6), 804-810. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.11.004>
- Taharboucht, S., Guermaz, R., Brouri, M., & Chibane, A. (2020). Pre-diabetes and NAFLD; A study of an Algerian population sample. *Endocrine and Metabolic Science*, 1(3), 100060. <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2020.100060>

- Talavera, A., Gonzalez-Fernandez, J. J., Carrasco-Pancorbo, A., Olmo-García, L., & Hormaza, J. I. (2023). Avocado: Agricultural Importance and Nutraceutical Properties. En C. Kole (Ed.), *Compendium of Crop Genome Designing for Nutraceuticals* (pp. 1-19). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-19-3627-2_40-1
- Tang, Y.-X., Fu, W.-W., Xi, Z.-C., Yang, J.-L., Zheng, C.-W., Lu, Y., Shen, Z.-W., & Xu, H.-X. (2019). Xanthone derivatives from the leaves of *Garcinia oligantha*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *181*, 111536. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.039>
- Teng, M. L., Ng, C. H., Huang, D. Q., Chan, K. E., Tan, D. J., Lim, W. H., Yang, J. D., Tan, E., & Muthiah, M. D. (2023). Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*, *29*(Suppl), S32-S42. <https://doi.org/10.3350/cmh.2022.0365>
- Thota, R. N., Acharya, S. H., & Garg, M. L. (2019). Curcumin and/or omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation reduces insulin resistance and blood lipids in individuals with high risk of type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *Lipids in Health and Disease*, *18*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0967-x>
- Tilg, H., Adolph, T. E., & Moschen, A. R. (2021). Multiple Parallel Hits Hypothesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Revisited After a Decade. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, *73*(2), 833-842. <https://doi.org/10.1002/hep.31518>
- Tomizawa, M., Kawanabe, Y., Shinozaki, F., Sato, S., Motoyoshi, Y., Sugiyama, T., Yamamoto, S., & Sueishi, M. (2014). Triglyceride is strongly associated with nonalcoholic fatty liver disease among markers of hyperlipidemia and diabetes. *Biomedical Reports*, *2*(5), 633-636. <https://doi.org/10.3892/br.2014.309>
- Topete-Betancourt, A., Martínez-Flores, H. E., Jiménez-Sandoval, S. J., de Dios Figueroa-Cárdenas, J., Virgen-Ortiz, J. J., Valencia, J. E., Garnica-Romo, M. G., & Gómez-Ayala, M. A. (2024). Ultrasound assisted by microwave during the extraction of avocado oil: Quality assessment by chromatographic techniques, Raman spectroscopy, and thermogravimetric analysis. *Polish Journal of Chemical Technology*, *26*(4), 97-103. <https://doi.org/10.2478/pjct-2024-0045>

- Turner, N., Bruce, C. R., Beale, S. M., Hoehn, K. L., So, T., Rolph, M. S., & Cooney, G. J. (2007). Excess lipid availability increases mitochondrial fatty acid oxidative capacity in muscle: Evidence against a role for reduced fatty acid oxidation in lipid-induced insulin resistance in rodents. *Diabetes*, *56*(8), 2085-2092. <https://doi.org/10.2337/db07-0093>
- Van Herck, M. A., Vonghia, L., & Francque, S. M. (2017). Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—A Starter’s Guide. *Nutrients*, *9*(10), 1072. <https://doi.org/10.3390/nu9101072>
- Veluthakal, R., Esparza, D., Hoolachan, J. M., Balakrishnan, R., Ahn, M., Oh, E., Jayasena, C. S., & Thurmond, D. C. (2024). Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Inter-Organ Miscommunications in T2D Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms25031504>
- Vivancos, M., & Moreno, J. J. (2005). β -Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. *Free Radical Biology and Medicine*, *39*(1), 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.025>
- Wada, Y., Sakiyama, S., Sakai, H., & Sakane, F. (2016). Myristic Acid Enhances Diacylglycerol Kinase δ -Dependent Glucose Uptake in Myotubes. *Lipids*, *51*(8), 897-903. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4162-9>
- Wali, J. A., Jarzebska, N., Raubenheimer, D., Simpson, S. J., Rodionov, R. N., & O’Sullivan, J. F. (2020). Cardio-Metabolic Effects of High-Fat Diets and Their Underlying Mechanisms—A Narrative Review. *Nutrients*, *12*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/nu12051505>
- Wanders, R. J. A., Vaz, F. M., Waterham, H. R., & Ferdinandusse, S. (2020). Fatty Acid Oxidation in Peroxisomes: Enzymology, Metabolic Crosstalk with Other Organelles and Peroxisomal Disorders. En G. Lizard (Ed.), *Peroxisome Biology: Experimental Models, Peroxisomal Disorders and Neurological Diseases* (pp. 55-70). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-60204-8_5
- Wang, T. Y., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q.-H. (2013). New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *European Journal of Clinical Investigation*, *43*(11), 1203-1223. <https://doi.org/10.1111/eci.12161>

- Wang, Y., Palmfeldt, J., Gregersen, N., Makhov, A. M., Conway, J. F., Wang, M., McCalley, S. P., Basu, S., Alharbi, H., St Croix, C., Calderon, M. J., Watkins, S., & Vockley, J. (2019). Mitochondrial fatty acid oxidation and the electron transport chain comprise a multifunctional mitochondrial protein complex. *The Journal of Biological Chemistry*, *294*(33), 12380-12391. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008680>
- Watt, M. J., Miotto, P. M., De Nardo, W., & Montgomery, M. K. (2019). The Liver as an Endocrine Organ-Linking NAFLD and Insulin Resistance. *Endocrine Reviews*, *40*(5), 1367-1393. <https://doi.org/10.1210/er.2019-00034>
- WHO & IDF. (2006). *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF consultation*. <https://iris.who.int/handle/10665/43588>
- Win, S., Than, T. A., Kaplowitz, N., Wong, N., Arya, A., Win, Z. T., Win, S. H., Phyu, E. H., Kuemerle, C., Suh, J., Avanesyan, S., Dobarina, P. P., Lwin, H. W., Wong, S., Kaw, S., Wong, S., Soe, K. K., Kyaw, G., & Aung, F. W. M. (2024). The central role of mitochondrial metabolism in hepatic steatosis. *Exploration of Digestive Diseases*, *3*(1), Article 1. <https://doi.org/10.37349/edd.2024.00039>
- Xiao, M., Malmi, M. A., Schocken, D. D., Zgibor, J. C., & Alman, A. C. (2024). Longitudinal blood glucose level and increased silent myocardial infarction: A pooled analysis of four cohort studies. *Cardiovascular Diabetology*, *23*(1), 130. <https://doi.org/10.1186/s12933-024-02212-3>
- Xiao, M., Zhong, H., Xia, L., Tao, Y., & Yin, H. (2017). Pathophysiology of mitochondrial lipid oxidation: Role of 4-hydroxynonenal (4-HNE) and other bioactive lipids in mitochondria. *Free Radical Biology & Medicine*, *111*, 316-327. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.363>
- Xu, L., Nagata, N., & Ota, T. (2019). Impact of Glucoraphanin-Mediated Activation of Nrf2 on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease with a Focus on Mitochondrial Dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/ijms20235920>
- Yilmaz, B., Sahin, K., Bilen, H., Bahcecioglu, I. H., Bilir, B., Ashraf, S., Halazun, K. J., & Kucuk, O. (2015). Carotenoids and non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary*

- Surgery and Nutrition*, 4(3), 161-171. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3881.2015.01.11>
- Younis, I. Y., Khattab, A. R., Selim, N. M., Sobeh, M., Elhawary, S. S., & Bishbishy, M. H. E. (2022). Metabolomics-based profiling of 4 avocado varieties using HPLC-MS/MS and GC/MS and evaluation of their antidiabetic activity. *Scientific Reports*, 12(1), 4966. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08479-4>
- Younossi, Z. M., Golabi, P., de Avila, L., Paik, J. M., Srishord, M., Fukui, N., Qiu, Y., Burns, L., Afendy, A., & Nader, F. (2019). The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*, 71(4), 793-801. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.06.021>
- Younossi, Z. M., Loomba, R., Anstee, Q. M., Rinella, M. E., Bugianesi, E., Marchesini, G., Neuschwander-Tetri, B. A., Serfaty, L., Negro, F., Caldwell, S. H., Ratziu, V., Corey, K. E., Friedman, S. L., Abdelmalek, M. F., Harrison, S. A., Sanyal, A. J., Lavine, J. E., Mathurin, P., Charlton, M. R., ... Lindor, K. (2018). Diagnostic Modalities for Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Nonalcoholic Steatohepatitis, and Associated Fibrosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 68(1), 349-360. <https://doi.org/10.1002/hep.29721>
- Yuan, C., Zhang, X., Long, X., Jin, J., & Jin, R. (2019). Effect of β -sitosterol self-microemulsion and β -sitosterol ester with linoleic acid on lipid-lowering in hyperlipidemic mice. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 157. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1096-2>
- Zhang, J., & You, G. (2021). Peptide Hormone Insulin Regulates Function, Expression, and SUMOylation of Organic Anion Transporter 3. *The AAPS journal*, 23(2), 41. <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00575-z>
- Zhang, P., Liu, N., Xue, M., Zhang, M., Liu, W., Xu, C., Fan, Y., Meng, Y., Zhang, Q., & Zhou, Y. (2023). Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of β -Sitosterol in Copper Sulfate-Induced Inflammation in Zebrafish (*Danio rerio*). *Antioxidants*, 12(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/antiox12020391>

Olin Torres Isidro

Efecto del aceite de aguacate y su fracción insaponificable sobre la resistencia a la insulina y su

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:465752740

Fecha de entrega

9 jun 2025, 11:47 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

9 jun 2025, 11:55 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Efecto del aceite de aguacate y su fracción insaponificable sobre la resistencia a la insulina y su r....pdf

Tamaño de archivo

3.5 MB

126 Páginas




33.390 Palabras

178.371 Caracteres

44% Similitud general

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

Fuentes principales

- 40%  Fuentes de Internet
- 31%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión



Caracteres reemplazados

34 caracteres sospechosos en N.º de páginas

Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

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

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

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

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



A quien corresponda,

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

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

Datos del manuscrito que se presenta a revisión

Programa educativo	Maestría en (Ciencias de la Salud, de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas) "Dr. Gregorio Chávez".	
Título del trabajo	Efecto del aceite de esucacate y su fijación insaponificable sobre la resistencia a la insulina y su relación con la oxidación de los lípidos en ratos con enfermedad hepática no alcohólica.	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	O.F.B. Olin Torres Ibarra.	olin.torres@umich.mx.
Director	D. en C. Christian Cortes Rojas	christian.cortes@umich.mx
Codirector	D. en C. Marcela González Montoya	marcela.gonzalez@umich.mx
Coordinador del programa	D. en C. Annel Europa Vazquez Chávez	mae.ciencias.salud@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial

Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	NO	—

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

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



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

Datos del solicitante	
Nombre y firma	O.F.S. Olim Torres I
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán, México 07 junio 2025