



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Departamento de Farmacia

**Tesis presentada para obtener el grado de Licenciatura en Químico
Farmacobiólogo**

**“Evaluación De La Exposición Crónica A Dosis LOAEL Y NOAEL De
Cadmio En Lipidoma Hepático De Rata Macho Wistar”**

Presenta:

QFB. Frida Michel Vázquez Méndez

Director de Tesis: D.C. Samuel Treviño Mora

Asesor de Tesis: D.C Víctor Enrique Sarmiento Ortega

Enero 2026

Índice

Tabla de contenido

Lista de abreviaturas	4
Introducción	8
Marco teórico	8
Antecedentes	8
Generalidades del Cadmio	9
Exposición a Cadmio	9
Vías de ingreso	10
Absorción, distribución y bioacumulación de Cd	11
Generalidades y funciones del tejido hepático	13
Histología del tejido hepático	13
El papel del hígado en el metabolismo	14
Lipogénesis hepática de <i>novo</i>	16
Regulación de la lipogénesis hepática de <i>novo</i>	17
Resistencia a insulina asociada a Cd	19
Cadmio y lipogénesis hepática	20
Fisiopatología de hígado graso	22
Planteamiento del problema	24
Justificación	26
Objetivos	27
Hipótesis	27
Diseño experimental	28
Materiales y métodos	29
Cuantificaciones y análisis de los metabolitos séricos	30
Cuantificaciones y análisis de los lípidos en tejido	32
Análisis histológico del tejido	33
Análisis estadísticos	34
Resultados	36
Discusión de resultados	41
Conclusiones	48
Referencias	49
ANEXO “A”	56
Anexo “B”	57
ANEXO “C”	58

ANEXO “D”	59
ANEXO “E”	60
ANEXO “F”	61
ANEXO “G”	62
ANEXO “H”	63

Lista de abreviaturas

4-AA	4-aminoantipirina
4-AF	4-Aminofenazona
Ac-CoA	Acetil coenzima A
ACL	ATP-citrato liasa
ADP	Adenosina-5-difosfato
AGPAT	Acil glicerol-fosfato acil transferasa
AGL	Ácidos grasos libres
ALAT	Alanina aminotransferasa
ALP	Fosfatasa alcalina
ASAT	Aspartato aminotransferasa
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades
Akt	Proteína quinasa B
CAT	Catalasa
Cd	Cadmio
CE	Colesterol esterasa
CM	Quilomicrones
CO	Colesterol oxidasa
DG	Diacylglicerol
DGAT	Diacylglicerol aciltransferasa
DHAP	Dihidroxiacetona-fosfato
DMT1	Transportadores de metales divalentes
DNL	Lipogénesis <i>de novo</i>
EEM	Error estándar de la media
EPA	Agencia de Protección Ambiental
F1P	Fructosa 1-fosfato
FASN	Ácido graso sintasa
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
FOXO-01	Forkhead box-01

GLUT2	Transportador de glucosa tipo 2
GK	Glicerol quinasa
GS	Glucógeno sintasa
GSH	Glutación
GSK3 β	Glucógeno sintasa quinasa-3 β
GPAT	Glicerol-fosfato acil transferasa
GPO	Glicerofosfato deshidrogenasa
G3P	Gliceraldehído 3-fosfato
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HMG-CoA	Hidroximetilglutaril-coenzima A
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
IDL	Lipoproteínas de densidad intermedia
INSIG	Gen inducido por insulina
IRS-1	Receptor de insulina tipo 1
IRS-2	Receptor de insulina tipo 2
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
JNK	Cinasa Jun N-terminal
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LOAEL	Nivel más bajo de efectos adversos observados
LPA	Ácido lisofosfatídico
LPL	Lipoproteinlipasa
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
MASDL	Enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica
MASH	Esteatohepatitis asociado a disfunción metabólica
MDA	Malondialdehído
MT's	Metalotioneínas

mTOR	Diana mamífera de la rapamicina
MTP	Triglicéridos microsómicos
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa
NF-kB	Factor nuclear kappa de cadena ligera potenciador de células B activadas
NIOSH	Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional
NMR	Nivel de Riesgo Mínimo
NOAEL	Nivel de Efectos Adversos No Observados
ORO	Tinción rojo oleoso
OSHA	Administración de Salud y Seguridad Ocupacional
O ₂ •-	Anión superóxido
OH•	Radical hidroxilo
PA	Ácido fosfatídico
PDK1	Quinasa dependiente de fosfoinosítido 1
PEPCK	Fosfoenolpiruvato Carboxiquinasa
PFK-1	Fosfofructoquinasa-1
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinasa
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-bifosfato
PLTP	Proteína de transferencia de fosfolípidos
POD	Peroxidasa
PPM	Partes por millón
REL	Retículo endoplasmático liso
RER	Retículo endoplasmático rugoso
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
RNS	Especies Reactivas de Nitrógeno
RPM	Revoluciones por minuto
RTKs	Tirosinas quinasas receptoras
SCAP	Proteína activadora de la escisión SREBP
SOD	Superóxido Dismutasa

SREBP-1c	Proteína de unión al elemento regulador de esteroides
SREBP-2	Proteína de unión al elemento regulador de esteroides 2
ChREBP	Proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos
TGP	Transaminasa glutámico-pirúvica
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TRL	Lipoproteínas ricas en triglicéridos
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
ZIP	Proteínas parecidas a Zrt
ZnT	Transportador de Zinc

Introducción

A lo largo de la historia, los metales han sido clave en la transformación de la humanidad, desde las edades prehistóricas hasta el desarrollo industrial y tecnológico, y han tenido un gran impacto en la cultura y la economía. Sin embargo, la comunidad científica, tiempo después, se dedicó a describir su importancia para el ser humano.

A mediados del siglo XX se inició el estudio sobre ciertos metales que después fueron nombrados como esenciales para el ser humano, metales como el sodio, potasio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, cobre y zinc, los cuales son necesarios para el correcto funcionamiento del organismo, llevando a cabo funciones metabólicas y fisiológicas, como el transporte de oxígeno, fungen como cofactores en reacciones químicas, procesos de estabilización de proteínas e incluso la construcción de material genético (Zoroddu et al., 2019).

Aunque los metales esenciales deben mantenerse en concentraciones fisiológicas, si superan su umbral de seguridad, podrían volverse tóxicos. Por otro lado, hay metales con características químicas similares en el medio ambiente que pueden desplazar a los elementos esenciales de su sitio de acción en el organismo y generar efectos adversos. Estos metales son conocidos como no esenciales y metales pesados, que incluyen elementos como el plomo, el mercurio, el arsénico y el cadmio (Cd), entre otros. Estos no cumplen con funciones biológicas importantes y son dañinos para la salud incluso en cantidades mínimas.

Por lo tanto, aún existe un amplio panorama de investigación en relación con los metales pesados y hay evidencia de que una exposición crónica genera alteraciones metabólicas, con incógnitas sobre los mecanismos de acción. Podemos dar pie a la búsqueda y comprensión de factores, tanto ambientales como antropogénicos, que contribuyen al desarrollo de enfermedades crónicas y trastornos metabólicos.

Marco teórico

Antecedentes

A través de la historia se afirma que el Cd formó parte de un doble descubrimiento, pues se le atribuye principalmente a Friedrich Stromeyer, Karl Samuel Leberecht Hermann y J. C. H. Roloff, todos ellos químicos alemanes, quienes hicieron el mismo descubrimiento de forma independiente en el año 1817. Hermann y Roloff adquirieron un óxido de zinc sospechoso, que se encontraba a la venta en varias farmacias pequeñas de la ciudad. Ambos creían que estaba contaminado con arsénico. Al realizar las pruebas correspondientes, se encontraron con la presencia de un nuevo y desconocido elemento (Lifeder, 2020).

Por otra parte, el químico Friedrich Stromeyer realizó su descubrimiento a partir de una muestra de calamina, compuesta por carbonato de zinc. Este compuesto se

vendía anteriormente en farmacias como alternativa para tratar afecciones de la piel, en lugar del óxido de zinc. Los fabricantes del carbonato de zinc afirmaban que, si este era expuesto a fuentes de calor, se producía el óxido del metal, pero con tonalidades amarillas, lo cual despertó el interés de Stromeyer, dado que el compuesto tenía que ser de color blanco; por eso decidió calentar muestras de calamina y extraer el producto, llevó a cabo su reducción y, posteriormente, logró el aislamiento del Cd, que nombró “Cadmium” (Lifeder, 2020).

Generalidades del Cadmio

El Cd es un metal que se encuentra cotidianamente en la naturaleza, particularmente en la corteza terrestre, los suelos y las rocas, y también se asocia con subproductos de la producción de metales como zinc, plomo y cobre (NIH, 2015). El Cd es un metal de transición maleable, inodoro, blando, de color blanco azulado, con un peso atómico de 112.4 g/mol y una densidad de 8.65 g/cm³. Tiene número atómico 48 y pertenece al grupo IIB de la tabla periódica. Al presentar alta ductilidad y conductividad térmica y eléctrica, así como resistencia a la corrosión, se utiliza en una amplia variedad de aplicaciones industriales (Saini & Dhaniala, 2020).

De acuerdo con la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés), el Cd se encuentra entre los cuatro metales más tóxicos, junto con el arsénico, el plomo y el mercurio, que tienen mayor impacto en la salud (ATSDR, 2019). Al presentarse en el medio ambiente, ya sea de manera natural o por actividades antropogénicas, representa graves riesgos para la salud humana y una larga vida media de eliminación. Además, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 1993) lo clasificó como carcinógeno humano de grupo 1 (Saini & Dhaniala, 2020).

Exposición a Cadmio

Actualmente, la exposición a este metal se ha incrementado debido a actividades antropogénicas, como la fabricación de productos galvanizados, piezas eléctricas o sistemas automotrices, equipos militares e instalaciones marinas, así como la fabricación de pigmentos, plásticos y estabilizadores de PVC. Ocupacionalmente, durante su elaboración, pueden inhalarse polvos o gases contaminados, ya que el Cd puede encontrarse en el aire en forma de partículas o vapores. También podemos entrar en contacto a través de los alimentos a consecuencia de los desechos químicos liberados por las industrias en canales de riego, así como en lagos o ríos, en los cuales se han detectado altos niveles del metal, pues este existe en forma de ion hidratado o como complejo iónico asociado a sustancias orgánicas o inorgánicas, lo que favorece su acumulación en productos de cosecha, como se ha visto en las hojas de hortalizas como la lechuga, la espinaca, las papas, los cereales, el soja y las semillas de girasol. Otra fuente importante que favorece la entrada a la cadena alimentaria es el uso de fertilizantes fosfatados (ATSDR, 2016).

Es importante mencionar que también existen otras vías por las cuales pueden aumentarse las concentraciones de Cd en el medio ambiente. De manera natural, una de ellas es por erupciones volcánicas, pues a través de estos acontecimientos se liberan toneladas de cenizas que, en su composición, presentan concentraciones importantes de Cd. Por lo tanto, las personas que viven en zonas volcánicas están expuestas a este metal. También se puede encontrar en mantos acuíferos y aguas subterráneas debido a la erosión de las rocas, es por eso que los animales acuáticos también pueden almacenar cantidades importantes del metal (Torres et al., 2023).

Dado que el Cd y sus compuestos son altamente tóxicos, se ha demostrado que la exposición prolongada puede afectar de diferentes formas, ya sea mediante el desarrollo de algún tipo de cáncer o la aparición de patologías del sistema cardiovascular, renal, gastrointestinal, neurológico, reproductivo y respiratorio (Moroni-González et al., 2023).

Vías de ingreso

El ingreso del Cd al organismo puede ocurrir por tres vías principales: de forma cutánea, la cual no presenta ningún riesgo, pues es poco probable que ingrese al organismo por medio de la piel; solo se ha informado en casos de uso prolongado de productos contaminados con este metal, y su absorción es mínima. Por vía respiratoria, por la exposición al metal en personas que viven cerca o trabajan en industrias, en zonas de actividad volcánica o en fumadores, se ha descrito una mayor absorción, ya que se puede inhalar del 5 al 50% de Cd a través de los pulmones; y, finalmente, por vía oral, debido al consumo de alimentos y agua contaminados, de esta manera, cerca del 1 al 10% ingresará al organismo por medio del tubo digestivo, y su absorción será mayor en el caso de personas con deficiencia de hierro (ATSDR, 2016).

Si bien, existen organizaciones como la Agencia de Protección Ambiental (EPA), la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA), la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades y el Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH) del CDC, las cuales tratan de regular la ingesta de sustancias tóxicas para la salud pública por medio de reglamentos y recomendaciones, los cuales nos muestran los niveles a los que no debe excederse a su exposición.

La EPA ha establecido que la exposición a concentraciones de Cd de 0.04 mg/L en el agua potable durante hasta 10 días no causará efectos adversos en un niño y que la exposición de por vida a concentraciones de Cd de hasta 0.005 mg/L no causará efectos adversos (ATSDR, 2016). Por su parte, la FDA ha determinado que los niveles de Cd en el agua en botella no deben exceder 0.005 mg/L, mientras que la OSHA ha establecido un límite de exposición legal de 5 µg/m³ del metal como promedio durante una jornada diaria de 8 horas (ATSDR, 2016).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que varios factores determinan el daño ocasionado por la exposición al metal. Estos factores incluyen la dosis, la duración, la cinética de toxicidad del Cd y la vía por la que el metal entró en contacto con el individuo, así como la edad, el sexo, el ritmo de vida y, sobre todo, las diferentes condiciones de salud.

El nivel de riesgo mínimo (NMR) de exposición al Cd para los seres humanos, según la ATSDR, se define como la exposición diaria al metal sin riesgo notable durante una exposición específica. Los estudios en seres humanos y animales sobre la toxicidad del Cd por inhalación han establecido que el NMR para la exposición aguda es de $0.03 \mu\text{g}$ de Cd/ m^3 y, para una exposición crónica, de $0.01 \mu\text{g}$ de Cd/ m^3 . Por otro lado, el NMR oral agudo es de 1.12 a 65.6 mg de Cd/kg/día; la exposición intermedia corresponde a $0.5 \mu\text{g}$ de Cd/kg/día y la crónica a $0.1 \mu\text{g}$ de Cd/kg/día (Moroni-González et al., 2023).

Los efectos adversos se han establecido a partir de datos de dosis-respuesta como punto de partida para el NMR (Moroni-González et al., 2023). A partir de estos, se han clasificado en dos: el nivel de efectos adversos no observados (NOAEL), que corresponde a la dosis más elevada de una sustancia que no ha demostrado tener efectos tóxicos o perjudiciales para la salud en personas o animales; y el nivel más bajo de efectos adversos observados (LOAEL), que corresponde a la concentración o cantidad más pequeña de una sustancia que causa una alteración observable y distinguible de un control apropiado (Castro G, 2013).

Absorción, distribución y bioacumulación de Cd

En animales y humanos, el Cd no tiene ninguna función biológica conocida y, además, no cuenta con transportadores exclusivos en la célula, por lo que sus principales mecanismos de transporte suelen ser por canales iónicos, como los canales de calcio, por transportadores de metales, como DMT1 (Divalent Metal Transporter 1), que transportan hierro, y por proteínas transportadoras de zinc y cobre (ZIP y ZnT). Esta competencia con metales divalentes esenciales le confiere la capacidad de atravesar membranas y, dentro de las células, se une a ligandos por afinidad, como sucede con las metalotioneínas, lo que disminuye la absorción de cobre y zinc (Saini & Dhanial, 2020).

Por ejemplo, el zinc es un metal de transición que pertenece al grupo 12, periodo 4 de la tabla periódica, posee un radio atómico de 134 pm y un radio iónico de 74 pm, estas características químicas le confieren suma importancia para el desempeño de diferentes funciones biológicas, pues resulta ser un componente regulador, estructural y catalítico, el cual favorece la comunicación dentro y fuera de la célula para mantener el equilibrio y diferentes procesos fisiológicos, los cuales se llevan a cabo por medio de proteínas dependientes de zinc, como factores de transcripción, enzimas de señalización celular que dan paso a eventos de proliferación, apoptosis y en el desarrollo de las defensas antioxidantes (Costa et al., 2023).

Por otro lado, el Cd tiene propiedades químicas similares, pero diferencias en tamaño y en afinidad electrónica, también pertenece al grupo 12 pero al periodo 5, por lo cual posee un radio atómico de 151 pm y un radio iónico de 95 pm, por lo que el mayor tamaño del Cd le permite desplazar al zinc y ocupar sitios de importancia biológica, distorsionando la geometría de coordinación y afectando la función celular (Treviño Mora, S. 2015).

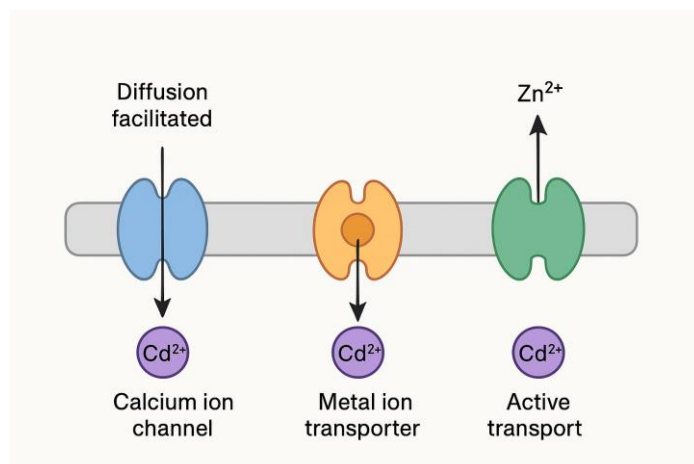


Figura 1. Mecanismos de transporte de Cd^{2+} a través de la membrana celular. Elaboración propia con apoyo de IA, 2025.

Cuando el Cd es ingerido y entra en contacto con el tracto gastrointestinal, se forma el complejo metalotioneína-cadmio (MT-Cd) para almacenarlo en el enterocito. Sin embargo, si la exposición es elevada o crónica, el metal atraviesa la mucosa intestinal por medio de los DMT1, compitiendo con y disminuyendo la absorción de hierro, y de esta manera pasa directamente al torrente sanguíneo, donde se une a proteínas como la albúmina, las globulinas y la transferrina, las cuales favorecen su movilidad y distribución a diversos órganos y tejidos. La exposición del metal a diversos tejidos provoca su almacenamiento entre el 40% y el 80%, principalmente en hígado y riñón, dado que en una exposición crónica las proteínas unidas al Cd pueden filtrarse con facilidad por el glomérulo; sin embargo, al llegar a los túbulos contorneados proximales, son reabsorbidas y acumuladas (Treviño Mora, S. 2015).

En estos órganos blancos, al conjugar el metal con proteínas y péptidos afines, puede formar complejos menos dañinos, eliminando una mínima parte de estos a través de las heces y la orina (ATSDR, 2015). Por otra parte, una concentración elevada del metal puede saturar la capacidad de complejación de estos órganos, lo que permite su bioacumulación durante hasta 60 años y genera efectos tóxicos, metabólicos y patológicos, e incluso la pérdida de la función.

Para que la forma iónica del Cd atravesase la membrana celular del hepatocito, primero debe unirse a los transportadores de hierro y de zinc, ya que el metal posee un radio atómico similar al de estos iones divalentes; de este modo, el Cd puede utilizarlos para ingresar a las células. El ingreso también puede ser por otros mecanismos, como

el de endocitosis por medio de la unión del Cd con proteínas que serán captadas por las células hepáticas (Martinez-Finley et al., 2012).

Una de las conjugaciones más importantes del Cd es con las metalotioneínas, pues estas son proteínas de bajo peso molecular, ricas en cisteína y con un alto contenido de grupos sulfhidrilo, que les confieren una excelente actividad antioxidante, neutralizando así los radicales libres y disminuyendo el daño por estrés oxidativo en las células (Yang et al., 2024).

El Cd captado se expone principalmente al parénquima hepático, donde es fijado por los grupos sulfhidrilo presentes en la membrana plasmática, para posteriormente pasar al citosol del hepatocito, donde se unirá a una variedad de proteínas afines a calcio, zinc y hierro, modificando su función. En los hepatocitos, las metalotioneínas y el glutatión se unen al metal, evitando la alteración de las vías metabólicas y de los mecanismos de señalización en el tejido (Treviño Mora, S. 2015).

Generalidades y funciones del tejido hepático

El hígado es un órgano de color marrón rojizo oscuro, de forma triangular, que pesa alrededor de 1500 g. Este se localiza en la parte superior derecha de la cavidad abdominal, por debajo del diafragma, por encima del estómago, del riñón derecho y de los intestinos. Posee una doble irrigación sanguínea proveniente de la vena porta en un 75% y de la arteria hepática en un 25%. Por eso, es un órgano fundamental para el cuerpo humano, pues regula el equilibrio metabólico del organismo por medio del metabolismo, degradación y eliminación de ciertos componentes de la sangre; es capaz de sintetizar y resguardar elementos importantes para el organismo, así como de metabolizar, degradar y eliminar xenobióticos, evitando su toxicidad (Kalra A et al., 2023).

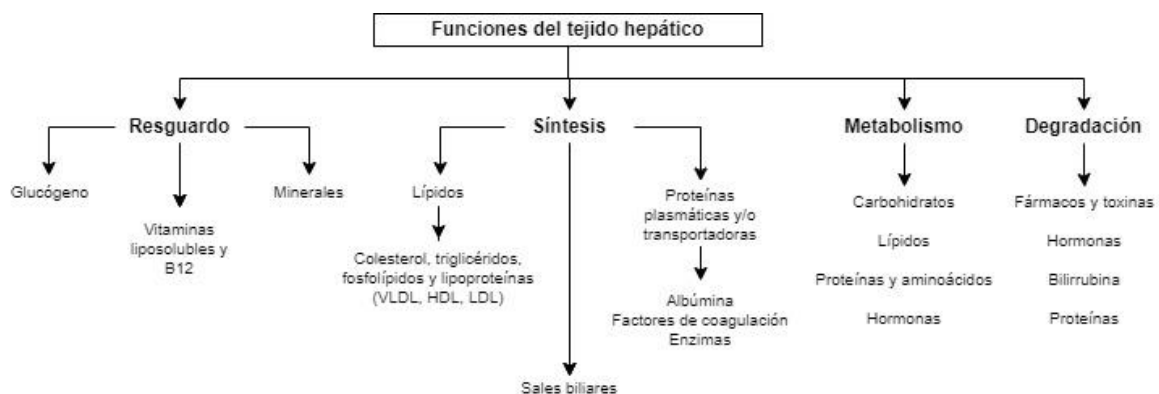


Figura 3. Principales funciones del tejido hepático. Elaboración propia 2025.

Histología del tejido hepático

La unidad funcional del hígado es el lobulillo, que se caracteriza por su forma hexagonal y en cada uno de sus vértices se encuentra la tríada portal, compuesta por

la vena porta, la arteria hepática y el conducto biliar. La base del lobulillo está compuesta por estructuras celulares denominadas hepatocitos, que presentan membranas apicales o basolaterales y se clasifican en tres zonas según la función que desempeñan (Kalra A et al., 2023).

La zona I es la región periportal de los hepatocitos, donde se encuentra una mayor perfusión de sangre oxigenada y rica en nutrientes, lo que la convierte en una zona de gran importancia en el metabolismo oxidativo y en procesos como la beta-oxidación, la gluconeogénesis, la formación de bilis, el metabolismo del colesterol y el catabolismo de aminoácidos (Kalra A et al., 2023).

La zona II se define como la región paracentral y presenta características intermedias entre las zonas I y III. También se caracteriza por la liberación de hormonas reguladoras del hierro, como la hepcidina. Cabe mencionar la importancia de esta hormona, pues también cumple funciones de reactante de fase aguda o crónica, por lo que su concentración plasmática puede variar en respuesta a eventos inflamatorios (Chambers K et al., 2023).

La zona III se encuentra alejada de la tríada portal, lo que provoca una perfusión más baja; sin embargo, desempeña un papel importante en la desintoxicación, la biotransformación de fármacos, eventos como la cetogénesis, la glucólisis, la lipogénesis y la formación de glutamina (Kalra A et al., 2023). Sin embargo, por la falta de oxígeno, esta zona es más vulnerable a sufrir daños por isquemia o necrosis.

El espacio entre la luz sinusoidal y la membrana basolateral de los hepatocitos se denomina espacio de Disse, el cual se compone de microvellosidades que se comunican con el capilar, lo que permite la irrigación sanguínea hacia los hepatocitos. Este espacio contiene una matriz extracelular compuesta por colágeno, proteoglicanos y otras proteínas que proporciona soporte a los hepatocitos en ausencia de la membrana basal (Kalra A et al., 2023).

El papel del hígado en el metabolismo

El hígado es el principal órgano en la regulación del metabolismo energético. A través de hormonas como la insulina y el glucagón, se adapta a las necesidades energéticas del organismo, formando energía a partir de la glucosa y otros sustratos, como ácidos grasos (AGL), lipoproteínas y cuerpos cetónicos, y también puede acumular esa energía en forma de glucógeno y lípidos (Pozo M. et al., 2020).

En la fase de absorción, el hígado da paso a un metabolismo anabólico, en el que los nutrientes obtenidos se acumulan en forma de glucógeno y lípidos. En primera instancia, los hepatocitos captan a gran velocidad la glucosa y los ácidos grasos provenientes de la vena porta, con ayuda del transportador de glucosa GLUT2, que no depende de la insulina, y de diferentes transportadores de ácidos grasos constitutivamente expresados en la membrana de los hepatocitos (Pozo M et al., 2020).

Particularmente durante el consumo de alimentos, el flujo de glucosa en los hepatocitos sigue diferentes procesos, como la glucólisis y la glucogénesis, generando y/o almacenando energía, y posteriormente mantiene el estado energético mediante dos procesos conocidos como gluconeogénesis y glucogenólisis. Estos eventos ocurren durante el periodo de ayuno. En este sentido, durante la ingesta de alimentos, la concentración de insulina aumenta, por lo cual en los hepatocitos se dirige la glucosa absorbida hacia la ruta de la glucogénesis e incrementa la glucólisis, para posteriormente dar paso a la lipogénesis y así sintetizar ácidos grasos a partir de la acetil-CoA resultante. Por lo tanto, el hígado participa activamente en la homeostasis de la glucosa y de los lípidos (Pozo M et al., 2020).

Una vez finalizada la absorción de nutrientes, el organismo utiliza la glucosa y los ácidos grasos circulantes, así como las reservas intracelulares de glucógeno y de lípidos, como fuente de energía (Pozo M et al., 2020).

Al reducirse la glucemia, la concentración de insulina disminuye y la de glucagón aumenta, lo que hace que el hígado dirija su metabolismo hacia la degradación de moléculas complejas en otras más simples para obtener energía y dar paso a la glucogenólisis. Este proceso aporta glucosa en las primeras horas de ayuno si el tiempo de ayuno incrementa la glucogenólisis continua, pero con ayuda de la gluconeogénesis hepática, que libera glucosa al plasma (Pozo M et al., 2020).

Para regular el metabolismo energético hepático, se necesita que los hepatocitos coordinen enzimas responsables de los procesos de glucólisis, gluconeogénesis y glucogenólisis, en los que los puntos clave son la fosforilación y desfosforilación de la glucosa para llevar a cabo la glucólisis o liberar la glucosa al plasma, la formación de piruvato y fosfoenol piruvato, que formarán acetil-CoA, el marcaje del inicio del proceso de gluconeogénesis a partir de lactato o aminoácidos y, finalmente, la síntesis o hidrólisis del glucógeno. Sin embargo, esta regulación puede verse afectada por procesos de estrés oxidativo e inflamación (Pozo M et al., 2020; Rui, 2014).

Para la formación de lípidos, los puntos clave son las enzimas acetil-CoA carboxilasa (ACC) y la sintasa de ácidos grasos (FAS), necesarias para sintetizar ácidos grasos *de novo* a partir de acetil-CoA y dependientes de la insulina. Los ácidos grasos son el principal sustrato para la síntesis de triglicéridos; estos se originan bajo diferentes condiciones fisiológicas. En principio, los triglicéridos obtenidos a partir de la dieta son transportados a los hepatocitos para su descomposición, con ayuda de los restos de quilomicrones, tras la absorción parcial (Zhu et al., 2023).

La segunda fuente de ácidos grasos proviene de la lipogénesis *de novo* (DNL) a partir de carbohidratos; también parte de los ácidos grasos se obtiene de la movilización de tejidos, liberando ácidos grasos libres, que serán transportados a la sangre y podrán circular a diferentes órganos. Estos ácidos grasos pueden oxidarse o sintetizarse en triglicéridos en el hígado. Los triglicéridos sintetizados en el hígado se liberan mediante lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) o se almacenan en el propio hígado.

Lipogénesis hepática de *ново*

La lipogénesis *de novo* hepática es un proceso bioquímico fundamental de síntesis de ácidos grasos a partir de acetyl-CoA. Este proceso se produce a través de la vía común de la glucólisis y del catabolismo de carbohidratos, principalmente de la glucosa, aunque actualmente se sabe que la fructosa también es un sustrato altamente lipogénico (Sanders & Griffin, 2016). Se cree que la fructosa evita el paso regulador crítico de la fosfofructoquinasa-1 (PFK-1) en la glucólisis. La fructosa es fosforilada por la fosfofructoquinasa en el hígado a fructosa 1-fosfato (F1P). Luego, la F1P es catalizada por la aldolasa, lo que genera dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) y gliceraldehído. Este último será fosforilado por la tioquinasa para producir gliceraldehído 3-fosfato (G3P), y así la G3P y la DHAP ingresan a la glucólisis.

Durante la síntesis de triacilglicerol *de novo*, los ácidos grasos se forman mediante la acilación inicial del glicerol-3-fosfato con acil-CoA, lo que da lugar a ácido lisofosfatídico (LPA). Este paso es catalizado por la glicerol-fosfato aciltransferasa (GPAT). El ácido lisofosfatídico es acilado nuevamente por otra acil-CoA mediante la acilglicerol-fosfato aciltransferasa (AGPAT), produciendo ácido fosfatídico (PA), que será desfosforilado por la fosforilasa del ácido fosfatídico, generando diacilglicerol (DG). Se utiliza nuevamente la acil-CoA para acilar el diacilglicerol en triacilglicerol mediante la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT). Los triglicéridos sintetizados pueden liberarse a través de las lipoproteínas de muy baja densidad o almacenarse en el propio hígado, como se muestra en la figura 5.

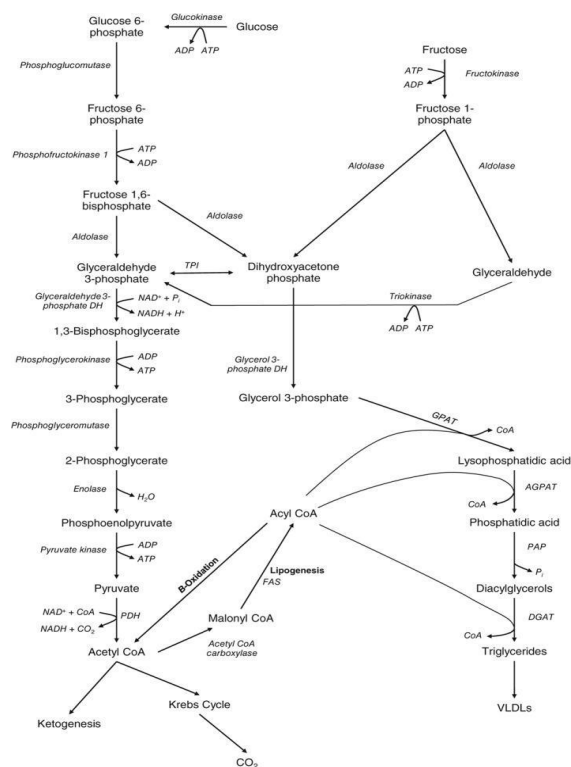


Figura 5. Ruta de la lipogénesis *de novo* (Sanders & Griffin, 2016).

Regulación de la lipogénesis hepática de *novo*

La regulación transcripcional de la DNL tiene dos principales vías de activación, mediadas por el aumento de las concentraciones de glucosa y la señalización de insulina; estas vías se llevan a cabo por proteínas de unión al elemento regulador de esteroides 1c (SREBP1c) y por la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP) (Sanders & Griffin, 2016).

La actividad de SREBP1c se regula positivamente por la señalización de insulina, dando como resultado la liberación proteolítica de la forma activa de SREBP1c, desde la membrana del Golgi, y que gracias a la interacción con proteínas de la membrana del retículo endoplasmático liso (REL) conocidas como la proteína activada por escisión de SREBP (SCAP) y el gen inducido por insulina (INSIG) se libera en su forma activa y madura. La activación de SREBP1c se lleva a cabo por dos vías principales del receptor de insulina, que involucran la vía de la fosfatidilinositol-3-quinasa y la proteína quinasa B (PI3K-PKB/AKT), pero con resultados distintos: en una se produce la fosforilación inicial de SREBP1c y en la otra, la activación del receptor X del hígado (Sanders & Griffin, 2016).

Asimismo, la activación de ChREBP se produce debido al aumento posprandial de glucosa en los hepatocitos, mediado por la proteína GLUT2. La importancia de esta proteína radica en que su sobreexpresión proporciona piruvato, que se convierte en acetil-CoA como sustrato lipogénico mediante la piruvato deshidrogenasa (Sanders & Griffin, 2016), lo que incrementa la síntesis de triglicéridos.

Transporte de lípidos séricos.

El principal transporte de lípidos se realiza mediante las lipoproteínas, que circulan a través del torrente sanguíneo. Estas lipoproteínas son macromoléculas que se conforman mediante la conjugación de lípidos y proteínas específicas, llamadas apolipoproteínas, que cumplen funciones estructurales y de reconocimiento. Las lipoproteínas de mayor importancia metabólica son los quilomicrones (CM), las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) (Albitar et al., 2024). Estas lipoproteínas son complejos que sirven como vehículos para la exportación de los lípidos producidos en la DNL hepática.

Las VLDL están compuestas por una monocapa de fosfolípidos y colesterol no esterificado, con un núcleo principalmente de triglicéridos hepáticos, y en la superficie encontramos la molécula de apolipoproteína B100 (apoB100), la cual es fundamental para el ensamblaje y la producción de las VLDL, así como otras apolipoproteínas, como la apoC-III, la cual es crucial para la estabilización de las gotitas lipídicas neutras en el lumen del retículo endoplasmático, y la apoA-I (Sanders & Griffin, 2016). El proceso de formación de VLDL se lleva a cabo en dos pasos, además de la translocación de apoB100 a través de la membrana del retículo endoplasmático (RER). En el RER, la proteína de transferencia de triglicéridos microsómicos (MTP) contribuye a la lipidación parcial del nascente apoB100, inhibiendo su degradación y

formando una VLDL inicial, que posteriormente dará paso a una VLDL funcional (Sanders & Griffin, 2016).

Cuando la proteína apoB100 sufre una mayor lipidación debido a la fusión con gotitas lipídicas neutras (principalmente triglicéridos) en el lumen del retículo endoplasmático, generan VLDL funcionales, las cuales son transportadas por vesículas especializadas al Golgi, en donde el apoB100 es glicosilado y fosforilado para que finalmente sean liberadas de los hepatocitos al espacio de Disse por medio de la fusión de vesículas excretoras con la membrana sinusoidal y posterior a eso, ser liberadas a circulación (Sanders & Griffin, 2016).

Las lipoproteínas de densidad intermedia son más pequeñas y densas que las VLDL; presentan una menor proporción de triglicéridos respecto al colesterol, ya que son un producto de la lipólisis de las VLDL. Aproximadamente la mitad de estas partículas son capturadas en el hígado mediante el reconocimiento de la apoE, y la otra mitad son convertidas en LDL-C por la lipasa hepática (Errico et al., 2013). Las LDL-C se caracterizan por la expresión de apoB100 y su rica composición de ésteres de colesterol. Su función principal es el transporte y el intercambio de colesterol con las células; este intercambio se lleva a cabo mediante el reconocimiento de la apoB100 y la apoE por parte de receptores de membrana plasmática. La expresión y la funcionalidad adecuadas de los receptores de LDL-C son importantes para mantener la concentración sérica de LDL-C (Errico et al., 2013).

Los receptores experimentan eventos de endocitosis, en donde se transportan al citoplasma y el LDL-C contenido es hidrolizado para formar aminoácidos y colesterol no esterificado, este colesterol es utilizado para la síntesis de membranas y hormonas o ser convertido en ésteres de colesterol para poder ser almacenados, pues este colesterol resulta ser tóxico para las células si su concentración es elevada (Errico et al., 2013). Las lipoproteínas de alta densidad se componen de ésteres de colesterol y contienen la apolipoproteína A-I, la cual favorece la salida intracelular de fosfolípidos y de colesterol en exceso; su síntesis depende del catabolismo de los quilomicrones y los VLDL, así como de la síntesis de apolipoproteína A-I por parte del hígado y del intestino. Las funciones que desarrolla son el transporte reverso de colesterol para su eliminación, la inhibición de la oxidación de las LDL-C, así como su capacidad antiinflamatoria y antitrombótica (Errico et al., 2013).

Resistencia a insulina y lipogénesis hepática

La insulina desempeña un papel central en la regulación del metabolismo de los lípidos, actuando como hormona anabólica que promueve el almacenamiento y la utilización eficiente de la energía. En condiciones fisiológicas, inhibe la lipólisis en el tejido adiposo al suprimir la actividad de la lipasa sensible a hormonas, reduce la liberación de AGL hacia la circulación y estimula la lipogénesis hepática y adipocitaria mediante la activación de enzimas clave como la acetil-CoA carboxilasa y la sintasa

de ácidos grasos. Además, favorece la captación de glucosa en tejidos periféricos y su conversión en glicerol, esencial para la esterificación de los ácidos grasos en triglicéridos. Cuando estos efectos se atenúan, ya sea por defectos en la acción o en la señalización de la insulina, se establece un estado de resistencia a la insulina, definido como la disminución de la respuesta biológica normal a concentraciones fisiológicas de la hormona en tejidos sensibles como el músculo, el hígado y el tejido adiposo (Vargas E et al., 2022).

La resistencia a la insulina altera profundamente el metabolismo lipídico al disminuir la capacidad de la hormona para suprimir la lipólisis en el tejido adiposo y, al mismo tiempo, mantener activa la DNL hepática. Esta disociación metabólica favorece un exceso de AGL hacia el hígado, donde se reesterifican en triglicéridos y se empaquetan en VLDL. Como resultado, se incrementan las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol total y apolipoproteína B, acompañadas de una reducción de HDL-C y de una acumulación de partículas pequeñas y densas de LDL-C, características de la dislipidemia aterogénica. Además, la activación sostenida de factores lipogénicos como SREBP-1c y ChREBP amplifica la síntesis endógena de ácidos grasos, exacerbando el depósito hepático de lípidos y contribuyendo al desarrollo de la esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica y alteraciones cardiovasculares secundarias (Moroni-González et al., 2023; Sarmiento-Ortega et al., 2017).

Resistencia a insulina asociada a Cd

La exposición al Cd se asocia con múltiples alteraciones metabólicas, entre ellas la desregulación de la homeostasis lipídica. El Cd puede acumularse en tejidos metabólicamente activos como el hígado, el páncreas y el tejido adiposo, donde interfiere con las vías de señalización de la insulina. A nivel pancreático, el Cd induce estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y apoptosis de las células β , lo que reduce la secreción de insulina. En tejidos periféricos, el Cd altera la fosforilación del receptor de insulina (IR) y de los sustratos del receptor de insulina tipo 1 y 2 (IRS-1 e IRS-2), lo que disminuye la activación de la vía PI3K/Akt, esencial para la captación de glucosa mediada por GLUT4. Estas alteraciones se traducen en una menor sensibilidad a la insulina y una resistencia insulínica sistémica (Moroni-González et al., 2023).

Una vez instaurada la resistencia a la insulina, el hígado se convierte en un sitio crítico de disfunción metabólica. En condiciones normales, la insulina inhibe la gluconeogénesis y modula la síntesis lipídica; sin embargo, bajo exposición a Cd, este equilibrio se pierde. La insulina pierde su capacidad de suprimir la producción hepática de glucosa, pero mantiene o incluso exagera su efecto lipogénico. Este fenómeno, conocido como resistencia selectiva a la insulina, se caracteriza por una activación inadecuada de factores de transcripción lipogénicos como SREBP-1c y ChREBP. En consecuencia, aumenta la expresión de enzimas clave como la acetil-

CoA carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos (FASN), lo que genera un sobrerresguardo de triglicéridos en el hepatocito (Zhu et al., 2023).

Cadmio y lipogénesis hepática

La evidencia sugiere que la acumulación hepática de Cd podría modificar el lipidoma sérico y hepático. La sobreproducción de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRL) es una consecuencia directa de la toxicidad metabólica inducida por el xenobiótico en el hígado (Moroni-González et al., 2023).

El incremento de la lipogénesis hepática inducida por Cd se manifiesta como esteatosis hepática y dislipidemia sistémica. Paralelamente, el Cd estimula la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y activa vías inflamatorias, mediadas por el factor nuclear kappa de cadena ligera potenciador de células B activadas (NF-κB) y la cinasa Jun N-terminal (JNK), que potencian el daño celular y perpetúan la resistencia a la insulina. La acumulación lipídica, junto con el estrés oxidativo y la inflamación crónica, altera la secreción de lipoproteínas y favorece la liberación de VLDL en la circulación, lo que eleva las concentraciones séricas de triglicéridos y colesterol. En conjunto, estos mecanismos establecen un vínculo directo entre la exposición al Cd, la resistencia a la insulina y el desarrollo de la lipotoxicidad hepática, lo que contribuye a la progresión del síndrome metabólico y de las enfermedades cardiovasculares asociadas (Moroni-González et al., 2023).

En nuestro grupo de trabajo hemos observado que los biomodelos de rata Wistar expuestos a la dosis LOAEL de Cd sobreproducen VLDL grandes (VLDL1), que constituyen una TRL, y su formación depende tanto de la acumulación de gotitas lipídicas en el citosol como de los flujos de AGL hacia el hígado. La VLDL1 influirá en el desarrollo de la esteatosis hepática y en la formación de lipoproteínas de baja densidad (sLDL-C). Además, el Cd influye en la formación de pequeñas subfracciones de HDL-C (HDL-3c), que presentan un bajo contenido de colesterol libre esterificado y de fosfolípidos y un alto contenido de triglicéridos (Sarmiento-Ortega et al., 2017).

La presencia de sLDL-C y la resistencia a la insulina son factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, que, junto con la acumulación de Cd, promueven la progresión de la enfermedad cardiovascular debido al daño, al estrés y a la inflamación. Adicionalmente, las HDL-C, junto con la hipertrigliceridemia y la elevada concentración de AGL, contribuyendo a la dislipidemia metabólica. Estos mecanismos están asociados con defectos en la actividad enzimática de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol, la lecitina-colesterol aciltransferasa y la proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP) debido al estrés oxidativo y a la inflamación hepática (Moroni-González et al., 2023).

Por lo tanto, la DNL hepática es una vía natural mediante la cual se controlan los niveles de glucosa y se almacena energía mediante la biosíntesis de triglicéridos,

dependiente de la señalización de la insulina. Cuando la vía de los carbohidratos se altera, se produce hipertrigliceridemia, lo que da lugar a la ruptura del equilibrio entre la lipogénesis y la lipólisis (Moroni-González et al., 2023). Por lo tanto, este trabajo de investigación se centra en conocer el efecto de la exposición crónica a Cd en dosis NOAEL y LOAEL sobre el lipidoma hepático y, además, relacionarlo con un posible daño causado por el metal.

La hepatotoxicidad inducida por lípidos, también denominada lipotoxicidad hepática, se refiere al daño estructural y funcional que sufre el hígado como consecuencia de la acumulación excesiva de ácidos grasos y triglicéridos en los hepatocitos. Con el tiempo, estos procesos desencadenan alteraciones histológicas características, como la esteatosis, la inflamación crónica y la fibrosis, que pueden evolucionar hacia la esteatohepatitis no alcohólica y cirrosis (Souza-Arroyo et al., 2022; Tejada-Cifuentes, 2010).

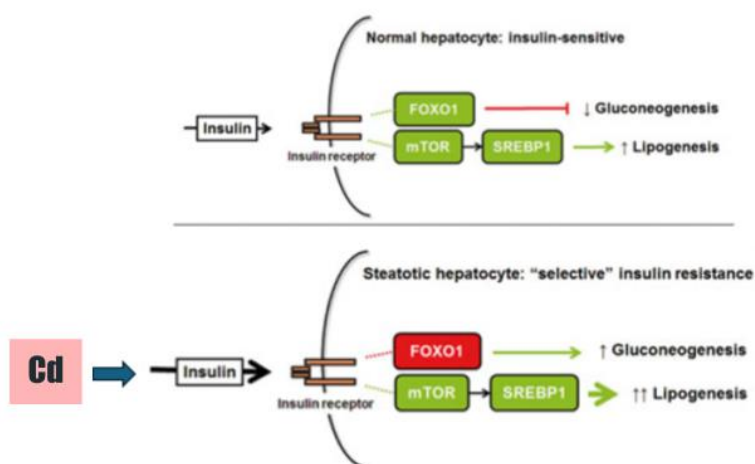


Figura 4. Mecanismo propuesto de la relación de la exposición a Cd con la resistencia a insulina y el incremento de la lipogénesis (Modificado de Ntambi et al., 2015).

En este sentido, en estudios anteriores se ha demostrado que la exposición a Cd causa daño hepático en ratas, lo que se traduce en un aumento de la actividad de la alanina aminotransferasa (ALAT), la aspartato aminotransferasa (ASAT) y la fosfatasa alcalina (ALP), así como en daño estructural del tejido (Shi et al., 2024; Zou et al., 2021), lo cual podría ser consecuencia del acúmulo de lípidos hepáticos.

En el diagnóstico clínico, el incremento en la actividad de ALAT y ASAT es el marcador de lesión hepática más utilizado. Ambas enzimas participan activamente en la bioenergética y en las rutas anfibólicas hepáticas, pues catalizan la transferencia de un grupo amino de un aminoácido a α -cetoglutarato. Para la L-alanina, su producto de reacción es L-glutamato; para la L-aspartato, es piruvato y oxaloacetato. El efecto general es el intercambio de un grupo amino por un grupo ceto y el piridoxal 5'-fosfato actúa como coenzima en ambas reacciones (McGill, 2016).

Ambas enzimas se expresan en diversos tejidos y constituyen marcadores importantes para evaluar el grado de lesión (Liu et al., 2024). Debido a que, en un estado fisiológico normal, estas enzimas se encuentran al interior de las células, su concentración sérica suele aumentar por diversas razones: a) cuando las células sufren necrosis; b) cuando existe proliferación celular y el porcentaje de liberación se mantiene; c) cuando existe una mayor inducción de las enzimas, lo que incrementa el porcentaje de liberación; d) cuando disminuye el aclaramiento enzimático; y e) cuando existen procesos de obstrucción en el tejido que las producen (McGill, 2016). Por lo tanto, la evaluación de estas enzimas podría ser una buena herramienta para determinar el daño hepático asociado al incremento del resguardo de lípidos.

Fisiopatología de hígado graso

La enfermedad de hígado graso se define por cambios macro y microvesiculares, además de la presencia de grasa en el tejido hepático que excede el 5% de su peso, lo que provoca eventos de citotoxicidad, lipotoxicidad, daño inflamatorio en los hepatocitos y fibrosis (Saavedra-Chacón et al., 2021; Tholey, 2025). La fisiopatología se basa actualmente en el componente metabólico; se considera la manifestación de una disfunción metabólica sistémica que se desarrolla principalmente por resistencia a la insulina (Tholey, 2025).

Los posibles mecanismos que desarrollan esta fisiopatología son la reducción de la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad y el aumento en la síntesis hepática de triglicéridos por una reducción de la beta oxidación de ácidos grasos o un aumento del transporte de ácidos grasos hacia el tejido hepático, la inflamación es el resultado del daño lipoperoxidativo de las membranas celulares, estos eventos estimulan a las células estrelladas del hígado y provocan fibrosis (Tholey, 2025).

Se ha establecido el término de enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica y se le han conferido criterios de diagnóstico claros, como la presencia de síndrome metabólico y de enfermedades crónico-degenerativas, como obesidad, dislipidemia, hipertensión e intolerancia a la glucosa. Si alguna de estas enfermedades está presente, aumenta la probabilidad de que la enfermedad progrese a enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica (Saavedra-Chacón et al., 2021; Tholey, 2025).

A pesar de que existe una cantidad y variedad de evidencia científica sobre los mecanismos metabólicos, genéticos y hormonales implicados en el desarrollo del hígado graso, la exposición a metales pesados, particularmente al Cd, sigue siendo un aspecto poco estudiado, así como la fisiopatología que puede desencadenarla. La mayoría de los estudios se han enfocado en factores comunes como la resistencia a la insulina, la obesidad, la dislipidemia y, en casos más específicos, el estrés oxidativo; sin embargo, han dejado de lado el papel de los contaminantes ambientales, que pueden contribuir a la progresión del daño hepático.

Esta falta de información nos deja con cierta incógnita para la comprensión de la enfermedad, en este contexto, nuestro proyecto surge con la finalidad de estudiar y evidenciar la posible asociación entre la exposición al cadmio, el daño hepático y a su vez con hígado graso, aportando así una información importante sobre la influencia de factores ambientales en los trastornos metabólicos. Comprender esta relación podría contribuir al desarrollo de estrategias preventivas y a una mejor evaluación del riesgo en poblaciones expuestas a este metal.

Planteamiento del problema

El Cd actualmente se considera un metal contaminante presente en el medio ambiente y cobra importancia por su papel en la patogénesis de enfermedades que inicialmente se originan en trastornos metabólicos. Su acumulación en el organismo potencia procesos de inflamación y de estrés oxidativo que favorecen la toxicidad y la carcinogénesis, así como la pérdida de la función de órganos metabólicamente importantes. En estudios realizados anteriormente en nuestro grupo de trabajo, se ha visto que la exposición al metal tiene repercusiones en el hígado, pues abarca desde el tamaño macroscópico del órgano hasta su funcionamiento. Se ha demostrado que la exposición al metal genera alteraciones metabólicas, principalmente en la señalización de la insulina, lo que más adelante incrementa el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas.

Asimismo, la exposición al metal se relaciona con alteraciones metabólicas lipídicas, que constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de hígado graso asociado a disfunción metabólica (MASLD) o de esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH). La enfermedad de hígado graso, asociada a la disfunción metabólica, es consecuencia de un conjunto de factores de riesgo como el sobrepeso, la obesidad central, la dislipidemia, la resistencia a la insulina y la diabetes; sin embargo, la acumulación de Cd en el tejido no se menciona en las guías de práctica clínica y de diagnóstico clínico.

Dado que la prevalencia de la MASLD y la MASH es cada vez mayor y se presentan con mayor frecuencia en la población hispana, es importante conocer los diferentes factores que inducen la patología. La población de alto riesgo alcanza el 50% en pacientes con sobrepeso, hasta el 95% en pacientes con obesidad, 70% en pacientes con diabetes y 50% en pacientes con dislipidemia (S. & P., 2015). Como ya se sabe, la MASLD afecta a un tercio de la población, pero, específicamente en México, la población presenta varios factores de riesgo, lo que hace que la prevalencia supere el 50% (Bernal-Reyes et al., 2019).

La enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica es la enfermedad más común a nivel mundial y se ha convertido en la primera causa de trasplante hepático en México. Su incidencia se observa en todos los grupos etarios de la población mexicana de 40 a 50 años, destacando en el sexo masculino y en personas con la variante genética asociada a esta enfermedad, como el polimorfismo PNPLA3. La prevalencia reportada en la población asintomática en México es del 17,1 % y, a nivel mundial, del 10 % al 24 %, con un incremento de hasta 4,6 veces en la población obesa. Por ello, la Asociación Mexicana de Gastroenterología abrió múltiples líneas de investigación sobre la MASLD, elaborando guías para su diagnóstico y tratamiento (Bernal-Reyes et al., 2019; Díaz Greene et al., 2020).

Actualmente, la población se encuentra sobreexpuesta a sustancias químicas derivadas de los residuos contaminantes de las industrias, que se acumulan en el agua y en los alimentos, lo que favorece su consumo directo. La importancia de esta

investigación radica en observar las alteraciones bioquímicas y morfológicas del tejido hepático en función de la cronicidad y la concentración de Cd expuestas, así como en conocer la temporalidad y la cantidad con que el tejido hepático almacena grasa en los hepatocitos.

Justificación

La prevalencia de alteraciones metabólicas ha aumentado debido a que una gran parte de la población padece sobrepeso u obesidad por malos hábitos en la vida cotidiana, que van desde la mala alimentación hasta la falta de actividad física. Sin embargo, la exposición durante periodos prolongados a sustancias químicas contaminantes que inducen estas enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes, la hipertensión y la obesidad, sigue siendo poco estudiada. Además, el efecto de estas enfermedades sobre órganos metabólicamente activos, como el hígado, conduce a patologías como las dislipidemias, que podrían desencadenar enfermedades como el hígado graso no asociado a disfunción metabólica y, posteriormente, fenómenos de inflamación, fibrosis, cirrosis, insuficiencia hepática, cáncer de hígado o necrosis del tejido.

Por lo que el Cd cobra relevancia, debido a que la población está expuesta a un contacto directo con él y, sobre todo, a las recientes investigaciones sobre el impacto en las funciones metabólicas de diferentes órganos clave en los procesos de homeostasis metabólica. Dado que este xenobiótico es considerado uno de los metales más tóxicos para la salud humana e incluso animal, se sabe que puede permanecer durante años en el organismo y no tiene ninguna función biológica importante. Sin embargo, su almacenamiento tiene consecuencias graves debido a que se acumula en hígado, páncreas, tejido adiposo, riñón, testículos y hueso, por nombrar los más estudiados.

La trascendencia del estudio sobre cómo la acumulación de Cd influye en el metabolismo hepático y durante cuánto tiempo lo hace destaca en los posibles cambios que pueden ocurrir en puntos específicos de las rutas metabólicas de este órgano. Esto podría resultar en la alteración de su funcionamiento, principalmente en el aumento del almacenamiento de lípidos, lo que incrementa el riesgo de diabetes, enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la exposición crónica a dosis LOAEL y NOAEL de cadmio sobre el lipidoma, la actividad de las transaminasas y la histología hepática en rata macho Wistar.

Objetivos particulares

En ratas macho Wistar expuestas y no expuestas crónicamente a dosis LOAEL y NOAEL de cadmio

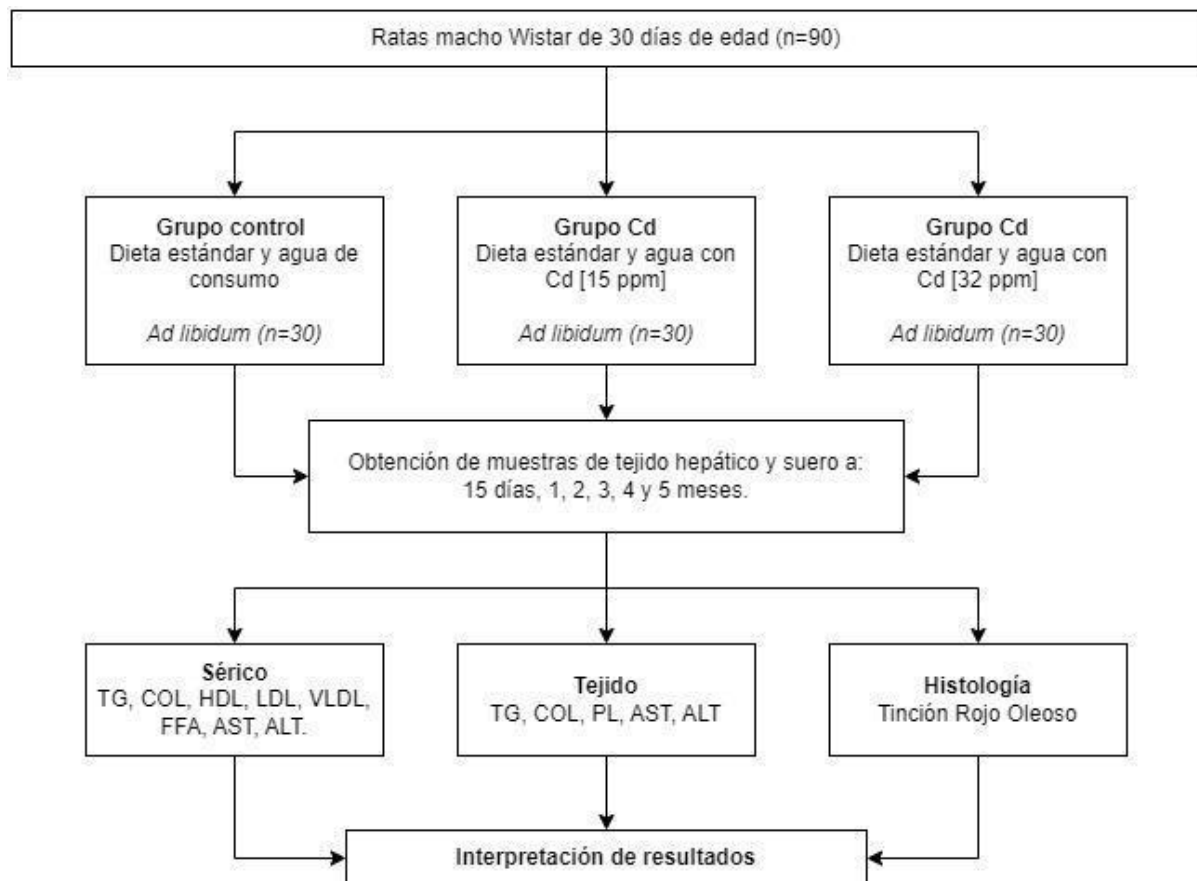
- Cuantificar el lipidoma hepático y el sérico.
- Evaluar la actividad de las transaminasas hepáticas y séricas.
- Evaluar los cambios histomorfológicos asociados a depósitos de grasa.

Hipótesis

Ho: La exposición crónica a dosis de LOAEL y NOAEL de cadmio no genera cambios en el lipidoma hepático de rata macho Wistar.

Ha: La exposición crónica a dosis de LOAEL y NOAEL de cadmio genera cambios en el lipidoma hepático de rata macho Wistar.

Diseño experimental



Materiales y métodos

Se realizó una revisión exhaustiva de la literatura en diferentes bases de datos; se seleccionaron artículos que hacían referencia a la enfermedad de hígado graso asociada a disfunción metabólica, enfermedades crónico-degenerativas, estrés oxidativo, rutas metabólicas, metabolismo y composición del tejido hepático, generalidades, características químicas y toxicidad del Cd, así como organizaciones reguladoras que establecen criterios de exposición a sustancias químicas tóxicas. También se integró información de artículos de nuestro grupo de trabajo, junto con investigaciones previas. Los artículos fueron leídos en su totalidad para tomar referencias bibliográficas y citar correctamente cada uno de los elementos utilizados.

Además, se llevó a cabo la parte experimental utilizando modelos animales, específicamente ratas machos de la cepa Wistar, para asegurar que no hubiera interferencias por variaciones en los ciclos hormonales. Una vez obtenidos los resultados experimentales, se realizó el análisis estadístico y la integración de cada uno de los parámetros a evaluar.

Obtención de animales

Para realizar este proyecto se utilizaron 90 ratas machos de la cepa Wistar, con un peso de 50 a 70 g, provenientes del bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se pesaron continuamente hasta alcanzar los 100 g, lo que equivale aproximadamente a 15 días de acondicionamiento y 1 mes de edad, todo ello para la adaptación de su sistema gastrointestinal y para que puedan absorber de manera eficiente todos los nutrientes después del destete.

Conformación de grupos

Los animales fueron distribuidos en tres grupos experimentales: grupo control sin exposición a Cd ($n=30$), grupo expuesto a 15 partes por millón (ppm) de Cd ($n=30$) y grupo expuesto a 32 ppm de Cd ($n=30$). A los tres grupos se les administró una dieta estándar para roedores de laboratorio; la exposición al Cd se realizó mediante el consumo ad libitum de agua. Esta condición se mantuvo de forma continua hasta alcanzar los diferentes tiempos de la cohorte: 15 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses y 5 meses.

Administración de Cadmio

El Cd por sí solo es un compuesto metálico; por eso, para su consumo, se utilizó la presentación de sal, es decir, cloruro de cadmio, para que pueda ser solvatada, administrada y absorbida. Este compuesto se disuelve en agua potable y se agrega al bebedero de los animales.

Obtención de las muestras histológicas

Un total de 5 animales de cada subgrupo fue sacrificado a los 15, 30, 60, 90, 120 y 150 días tras los distintos tratamientos. Antes del sacrificio, se suspendió el alimento durante 4 a 5 horas; posteriormente, los animales se anestesiaron con ketamina + xilacina (0.2 mL/100 g) por vía intraperitoneal; bajo anestesia, se obtuvieron 5 mL de sangre mediante punción cardíaca y se recolectó en tubos con procoagulante. Los tubos se centrifugaron a 8000 r.p.m. durante 10 minutos. El suero separado se guardó a -70 °C hasta su análisis.

Inmediatamente después de la obtención de la muestra sanguínea, se realizó una perfusión cardíaca para lavar los tejidos con solución salina isotónica y se procedió a la biopsia de tejido hepático, el cual se guardó a -70 °C y parte de él se conservó en una solución de formalina buferada al 4% hasta su análisis.

Cuantificaciones y análisis de los metabolitos séricos

Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa TGP (ALAT)

Principio del método

La alanina aminotransferasa, inicialmente llamada transaminasa glutámico-pirúvica (TGP), cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido se reduce a lactato en presencia de la lactato deshidrogenasa (LDH) y de NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALAT en la muestra.

Procedimiento

1. Calibrar el espectrofotómetro con agua destilada como blanco de reacción a una longitud de onda de 340 nm.
2. Colocar 500 microlitros de reactivo con 50 microlitros de muestra.
3. Dejar reposar durante 1 minuto a 37 °C.
4. Leer la absorbancia en los minutos uno, dos y tres.

Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa TGO (ASAT)

Principio del método

La aspartato aminotransferasa, inicialmente llamada transaminasa glutamato-oxaloacética (TGO), cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato, con formación de glutamato y oxaloacetato. El oxaloacetato producido se reduce a malato mediante la malato deshidrogenasa (MDH) y NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el

medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada.

Procedimiento

1. Calibrar el espectrofotómetro con agua destilada como blanco de reacción a una longitud de onda de 340 nm.
2. Colocar 500 microlitros de reactivo con 50 microlitros de muestra.
3. Dejar reposar durante 1 minuto a 37 °C.
4. Leer la absorbancia a los minutos uno, dos y tres.

Determinación cuantitativa de fosfolípidos

Principio del método

Los fosfolípidos son hidrolizados por la fosfolipasa D y la colina liberada es secuencialmente oxidada por la colina oxidasa (CHO) a betaína, con la producción simultánea de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa (POD), el peróxido de hidrógeno se acopla oxidativamente a la 4-Aminofenazona (4-AF) y al diclorofenol, formando una quinonamina coloreada.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fosfolípidos en la muestra ensayada.

Procedimiento

1. Reconstituir 10 mililitros del tampón (R1) en las enzimas (R2) para obtener el reactivo de trabajo.
2. Calibrar el espectrofotómetro de microplacas a cero de absorbancia con el reactivo de trabajo a una longitud de onda de 450 nm.
3. Leer las absorbancias 3 veces del patrón de concentración conocida.
4. Colocar 300 microlitros de reactivo contra 3 microlitros de muestra y dejar en reposo durante 10 minutos.
5. Leer las absorbancias de las muestras.

Determinación cuantitativa de triglicéridos

Principio del método

Los triglicéridos, incubados con la lipoproteína lipasa (LPL), liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por la glicerofosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP, en presencia de la glicerol quinasa (GK), para producir glicerol-3-fosfato y adenosina-5-difosfato (ADP).

El G3P es entonces convertido en dihidroxiacetona fosfato (DAP) y en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por GPO. Al final, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, una reacción catalizada por la peroxidasa (POD), dando lugar a una coloración roja. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra ensayada.

Procedimiento

1. Blanquear con el reactivo de trabajo a una longitud de onda de 450 nm en el espectrofotómetro de microplacas.
2. Leer las absorbancias 3 veces del patrón de concentración conocida.
3. Colocar 300 microlitros de reactivo contra 3 microlitros de muestra y dejar en reposo durante 10 minutos.
4. Leer las absorbancias de las muestras.

Determinación cuantitativa de colesterol

Principio del método

Este método para la determinación de colesterol total en suero se basa en el uso de tres enzimas: esterasa de colesterol (CE), oxidasa de colesterol (CO) y peroxidasa. En presencia de esta última, la mezcla de fenol y 4-aminoantipirina (4-AA) se condensa por acción del peróxido de hidrógeno, formando una quinonimina coloreada proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

Procedimiento

1. Blanquear con el reactivo de trabajo a una longitud de onda de 450 nm en el espectrofotómetro de microplacas.
2. Leer las absorbancias 3 veces del patrón de concentración conocida.
3. Colocar 300 microlitros de reactivo contra 3 microlitros de muestra y dejar en reposo durante 10 minutos.
4. Leer las absorbancias de las muestras.

Determinación de colesterol HDL-C

Principio del método:

El colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL-C), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones es hidrolizado por una oxidasa de colesterol mediante una reacción enzimática acelerada no formadora de color. El detergente del reactivo solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) de la muestra. El colesterol esterificado se hidrata mediante una esterasa de colesterol, dando como resultado colesterol y ácidos grasos libres. El colesterol resultante sufre una semioxidación e hidratación por una oxidasa de colesterol, dando como resultado colesteno y peróxido de hidrógeno. Este se acopla a una reacción coordinada por una peroxidasa con 4-aminoantipirina y una solución buffer DSBmT, obteniéndose como producto final quinonimina, que presenta color, y esta es detectada por espectrofotometría a una longitud de onda de 505 nm.

Procedimiento:

1. Pipetear en un tubo de ensayo 0.2 mL de muestra y 0.5 mL de reactivo
2. Agitar bien y dejar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 15 minutos a 4.000 r.p.m.

4. Recoger el sobrenadante.
5. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
6. Pipetear 100 μ L de muestra y 1 mL del reactivo de colesterol en un tubo de ensayo.
7. Agitar bien e incubar los tubos durante 30 minutos a temperatura ambiente o durante 10 minutos a 37 °C.
8. Leer la absorbancia del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color es estable durante al menos 30 minutos.

Determinación de colesterol LDL

Principio del método:

Las lipoproteínas de baja densidad presentes en la muestra precipitan en presencia de polivinil. La concentración de colesterol LDL se calcula como la diferencia entre los valores de colesterol en el suero y en el sobrenadante obtenido tras la precipitación.

Procedimiento:

1. Pipetear 0.4 mL de muestra y 0.2 mL de reactivo en un tubo.
2. Agitar y dejar en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 15 minutos a 4.000 r.p.m.
4. Recoger el sobrenadante.
5. Pipetear 20 μ L de la muestra y 1 mL del reactivo en un tubo de ensayo.
6. Agitar e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente o durante 5 minutos a 37 °C.
7. Leer la absorbancia del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color se mantiene estable durante 30 minutos.

Cuantificaciones y análisis de los lípidos en tejido

Una vez teniendo las muestras bajo las condiciones adecuadas, se pesaron 100 mg de tejido y se colocaron en eppendorfs rotulados del 1 al 90, para posteriormente homogenarlos con 1 mL de PBS y centrifugar a 12,000 r.p.m por 15 minutos, para formar un botón de tejido al fondo y poder trasvasar el sobrenadante a eppendorfs nuevos, y así poder realizar las cuantificaciones de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos, y enzimas hepáticas como se describió en el apartado anterior.

Análisis histológico del tejido

Muestras conservadas en formalina se utilizaron para realizar cortes histológicos y estandarizar la tinción con rojo oleoso (ORO), lo que evidenció la acumulación de lípidos neutros en el tejido hepático.

Procedimiento

1. Cortar una zona específica del tejido y colocarla en sacarosa al 30% durante 10 días.
2. Pasados 10 días, el tejido debe endurecerse, lo que facilitará la obtención de los cortes.
3. Para realizar los cortes, el tejido se debe llevar a un equipo especializado (Vibratomo) el cual se debe programar con una frecuencia y velocidad constantes para la obtención de cortes con un grosor de 10 micras.
4. El corte de los tejidos debe realizarse en una solución de PBS al 1%.
5. Una vez obtenidos los cortes, se realizó la tinción correspondiente.

Tinción rojo oleoso

Solución de stock

1. Agregar 2.5 g de reactivo ORO a 400 mL de alcohol isopropílico al 99% en un matraz.
2. Mezclar con un agitador magnético durante 2 horas a temperatura ambiente.
3. Almacenar en un frasco ámbar para evitar su oxidación y conservar hasta 6 meses a temperatura ambiente.

Solución de trabajo

1. En un vaso de precipitado de 5 mL colocar 1,5 partes de la solución stock a 1 parte de agua destilada.
2. Dejar reposar durante 5 a 10 minutos.
3. Filtrar la solución con papel de filtro 2 veces para eliminar los precipitados.
4. Colocar los tejidos previamente cortados en una placa y agregar el colorante, dejándolos reposar durante 5 minutos y, posteriormente, enjuagar hasta que el agua no se torne roja.
5. Una vez que los tejidos se tiñeron con rojo oleoso y se enjuagaron, colocar la hematoxilina de Mayer y dejarla reposar durante 2 minutos.
6. Realizar enjuagues durante media hora y, posteriormente, colocarlos en el portaobjetos.

Montaje de placas

1. Colocar el tejido teñido cuidando de que esté bien extendido.
2. Colocar una gota de jarabe de maíz sobre el tejido.
3. Colocar un portaobjetos cuidando de que el jarabe de maíz se extienda por capilaridad y no forme burbujas sobre el tejido.
4. Esperar a que se seque durante unos minutos.
5. Observar al microscopio.

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos presentan una distribución normal y se expresan como la media $\pm$ el error estándar de la media (EEM). Para nuestro análisis estadístico se utilizó el

análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA), con análisis post hoc de Bonferroni con un nivel de significancia del 0.05 ($P \leq 0.05$), para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de los grupos independientes, lo que evidencia que nuestras variables de dosis-tiempo tienen un efecto significativo en el lipidoma hepático y sérico de nuestros modelos animales.

Resultados

Efecto de la exposición al cadmio sobre el lipidoma y las enzimas hepáticas en el suero.

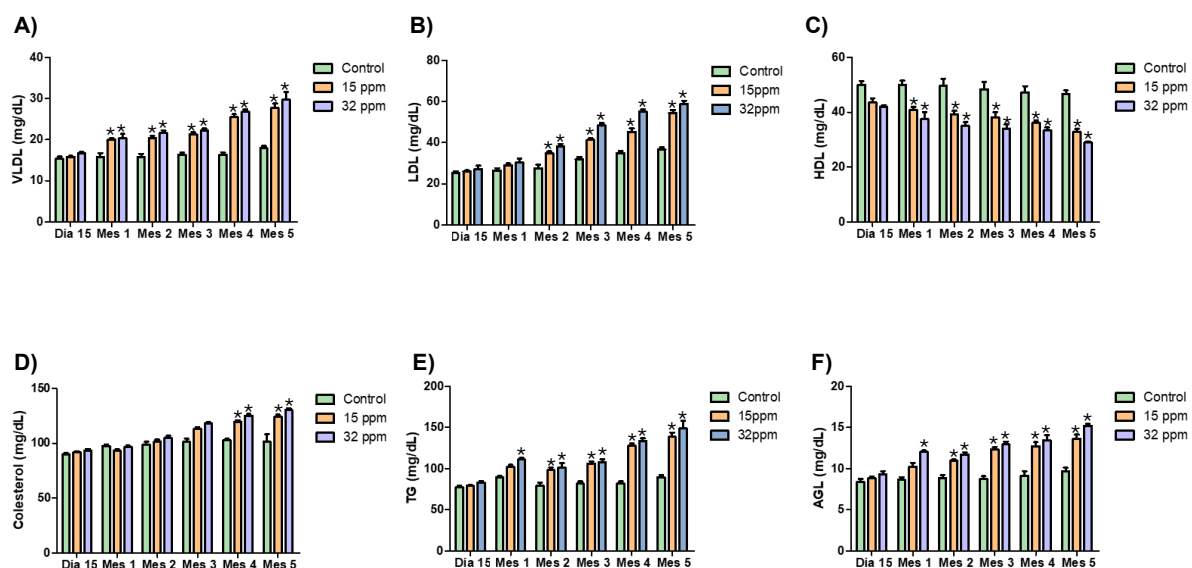


Figura 8. Efectos de la exposición al cadmio sobre el lipidoma sérico. A) VLDL. B) LDL-C. C) HDL-C. D) Colesterol total. E) Triglicéridos. F) Ácidos grasos libres (AGL). Los resultados mostrados son el promedio de 6 cuantificaciones distintas $\pm$ EEM. (*) Indica una diferencia significativa con respecto a los grupos de control ($p \leq 0,05$) mediante un análisis de ANOVA de una vía, con análisis post hoc de Bonferroni.

La exposición a Cd muestra cambios en las concentraciones del lipidoma sérico en los grupos experimentales a lo largo del tiempo de exposición (Fig. 8). La concentración de VLDL mostro cambios significativos a partir del primer mes en ambos grupos, en el grupo de 15 ppm con un incremento del 114.1%, 124.3%, 130.1%, 151.61% y 154.7% y en el grupo de 32 ppm con un incremento de 124.2%, 128.4%, 132.3%, 163.2% y 166.3% (Fig. 8A).

Respecto a la concentración de LDL-C, se presentó un aumento a partir del segundo mes en ambos grupos expuestos a Cd, con un incremento del 126.2%, 129.2%, 129.8% y 147.6% para el grupo de 15 ppm, para el 2do, 3er, 4to y 5to mes respectivamente, mientras que el grupo de 32 ppm mostro incrementos del 139% (2 mes), 151% (3 mes), 158.4% (4 mes) y 159.9% (5 mes) respecto al grupo control (Fig. 8B).

No se observaron cambios significativos durante los primeros 15 días en la concentración de HDL-C; sin embargo, en el mes 1 se observó una disminución del 25% en el grupo de 15 ppm y del 26% en el grupo de 32 ppm. En los meses 2 al 5 el grupo de 32 ppm mantuvo reducciones cercanas del 29% al 30.5% en comparación al grupo control (Fig. 8C)

Los niveles de colesterol no mostraron cambios durante los primeros tres meses; sin embargo, en los meses 4 y 5 se detectaron incrementos significativos en el grupo de 15 ppm, de 108.3% y 117.7%, respectivamente, mientras que en el grupo de 32 ppm el incremento fue del 116.4% y 124.8%, respectivamente (Fig. 8D).

La concentración de triglicéridos mostró un incremento estadísticamente significativo del 124.3%, 130.1%, 155.6% y 154.7% en el grupo de 15 ppm desde el mes 2 hasta el mes 5 y un 124.2%, 128.4%, 132.3%, 163.2% y 166.3% en el grupo de 32 ppm desde el mes 1 hasta el mes 5 (Fig. 8E)

Por su parte, la concentración de ácidos grasos libres evidenció cambios significativos en el grupo de 15 ppm a partir de los 2 meses; estos incrementos fueron del 123.7%, 142%, 139.1% y 140.8%, para el segundo, tercer, cuarto y quinto mes, respectivamente. En el grupo de 32 ppm, el incremento se presentó desde el primer mes, alcanzando valores del 139.4% (1 mes), 132.2% (2 mes), 148.4% (3 mes), 140.8% (4 mes) y 156.9% (5 mes) (Fig. 8F).

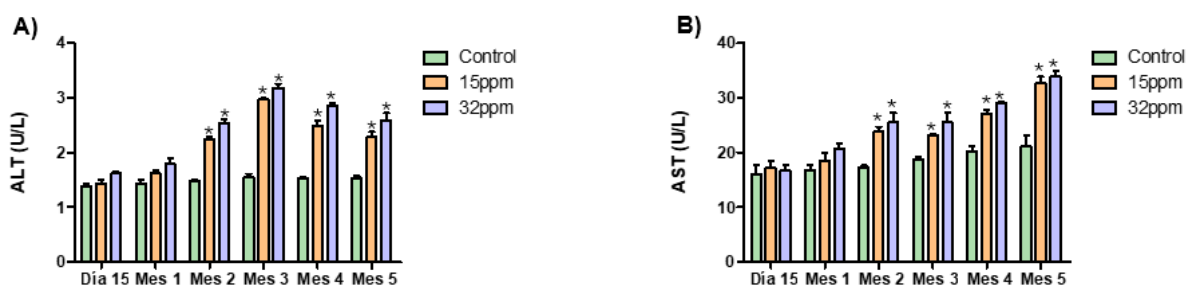


Figura 9. Efectos de la exposición al cadmio sobre las transaminasas hepáticas en el suero. A) Alanina aminotransferasa (ALT). B) Aspartato aminotransferasa (AST). Los resultados mostrados son el promedio de 2 cuantificaciones distintas $\pm$ EEM. (*) Indica una diferencia significativa con respecto a los grupos de control ($p \leq 0,05$) mediante un análisis de ANOVA de una vía, con análisis post hoc de Bonferroni.

Tras la exposición a Cd podemos notar cambios en los niveles de las enzimas hepáticas (Fig. 9). Para la enzima alanina aminotransferasa se evidenciaron cambios significativos a partir del mes dos igualmente en ambos grupos, en donde hubo un incremento del 149%, 152%, 164% y 192% en el grupo de 15 ppm, por otra parte, el grupo de 32 ppm tuvo aumentos del 169%, 172%, 188% y 205% (Fig. 9A)

En el caso de la enzima aspartato aminotransferasa, se observaron cambios significativos a partir del mes 2 en ambos grupos, con un aumento del 123%, 135%, 138% y 155% en el grupo de 15 ppm, mientras que en el grupo de 32 ppm el aumento fue de 133%, 144%, 148% y 161% (Fig. 9B)

Efecto de la exposición al cadmio sobre el lipidoma y enzimas hepáticas a nivel de tejido

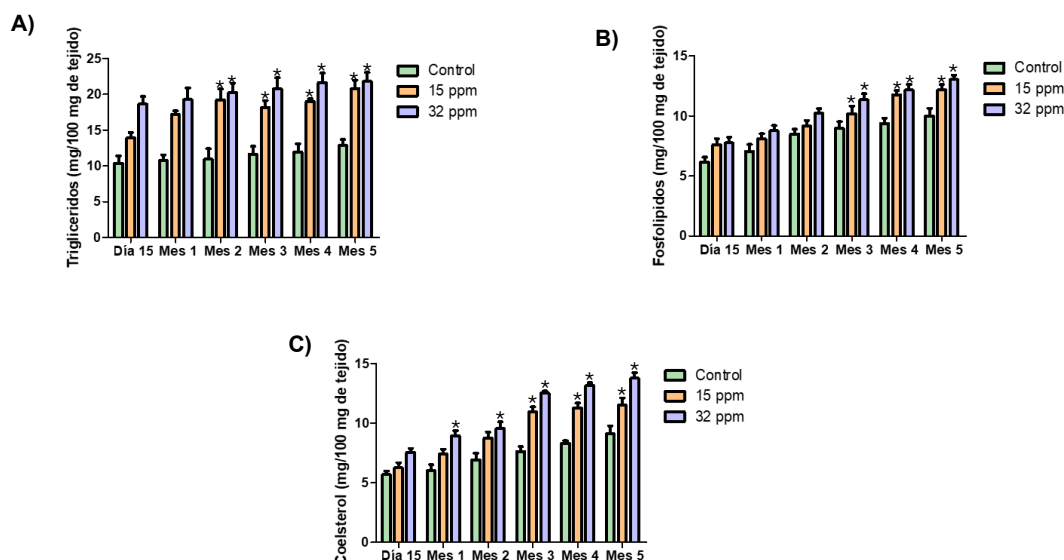


Figura 10. Efectos de la exposición al cadmio sobre el lipidoma hepático. A) Triglicéridos. B) Fosfolípidos. C) Colesterol total. Los resultados mostrados son el promedio de 3 cuantificaciones distintas $\pm$ EEM. (*) Indica una diferencia significativa con respecto a los grupos de control ($p \leq 0,05$) mediante un ANOVA de una vía, con análisis post hoc de Bonferroni.

La concentración de triglicéridos hepáticos evidenció un incremento significativo a partir del segundo mes en ambos grupos; el grupo de 15 ppm alcanzó valores de 175%, 156.2%, 159.3% y 161.9%, mientras que en el grupo de 32 ppm los aumentos alcanzaron porcentajes del 189%, 174.3%, 181.7% y 169.6% (Fig. 10A).

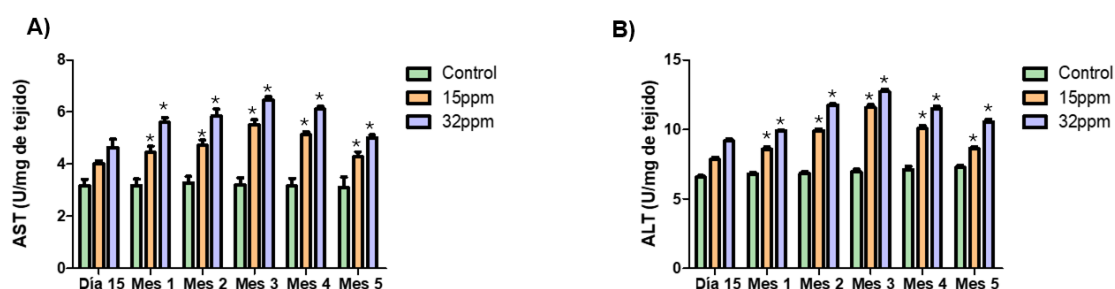


Figura 11. Efectos de la exposición al cadmio sobre las transaminasas hepáticas en el tejido. A) Alanina aminotransferasa (ALT). B) Aspartato aminotransferasa (AST). Los resultados mostrados son el promedio de 2 cuantificaciones distintas $\pm$ EEM. (*) Indica una diferencia significativa con respecto a los grupos de control ($p \leq 0,05$) mediante un análisis de ANOVA de una vía, con análisis post hoc de Bonferroni.

Por su parte, la concentración de fosfolípidos hepáticos mostró incrementos a partir del mes 3 para el grupo de 15 ppm, con valores de 132.8%, 125.6% y 121.7%, y para el grupo de 32 ppm, los valores fueron de 147.9%, 129.9% y 130.3%, respectivamente (Fig. 10B). Por último, la concentración de colesterol hepático, para el grupo de 15 ppm mostró aumentos a partir del tercer mes, con valores del 143.5%, 135.9% y

126.1%. En el grupo de 32 ppm, los cambios se presentaron desde el primer mes, con porcentajes del 148%, 138%, 164.4%, 158.4% y 150.8% (Fig. 10C).

En la figura 11A podemos observar el comportamiento de la aspartato aminotransferasa, desde el primer mes mostró cambios significativos con un aumento del 138%, 140%, 144%, 162%, 172% en el grupo de 15 ppm, por otro lado, en el grupo de 32 ppm los valores incrementaron en un 161%, 176%, 179%, 194% y 201% (Fig. 11A)

En la figura 11B se muestra la alanina aminotransferasa, que presentó cambios significativos a partir del primer mes en ambos grupos. Para el grupo de 15 ppm hubo un incremento del 118%, 126%, 142%, 145% y 167%, mientras que para el grupo de 32 ppm el aumento de porcentajes fue del 145%, 146%, 162%, 172% y 183% (Fig. 11B)

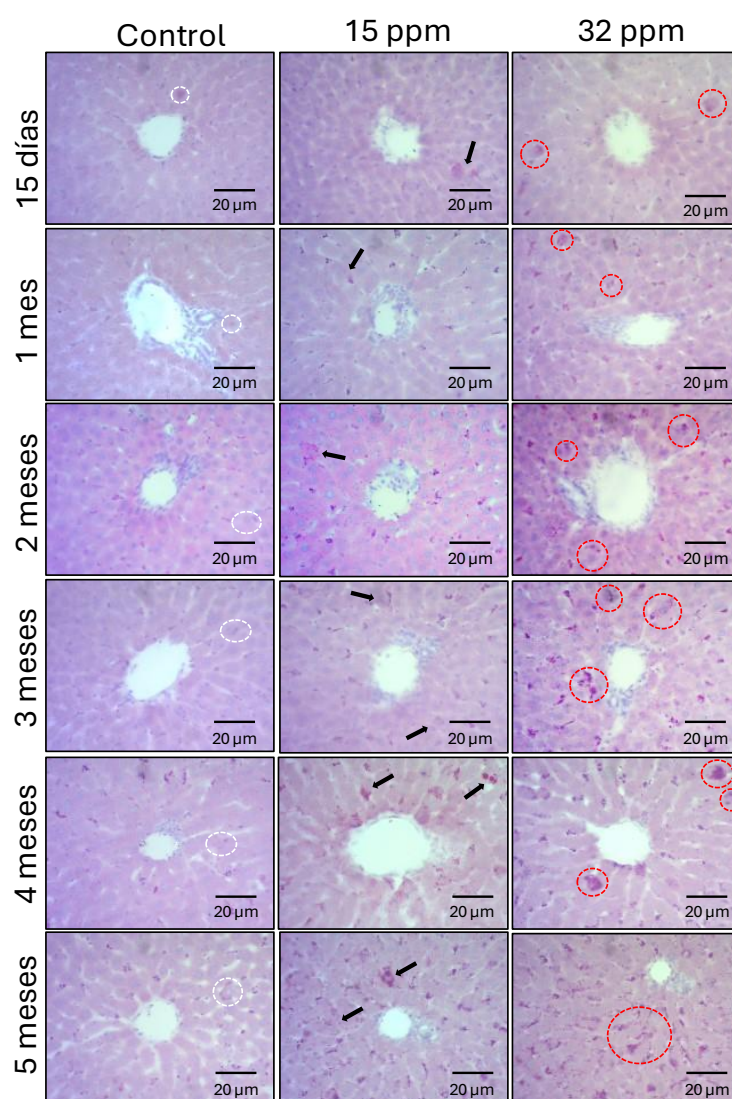


Figura 12. Esquema de fotografías de los cortes histológicos del tejido hepático, con gotas lipídicas en hepatocitos, teñidas con rojo oleoso.

Efecto de la exposición al cadmio sobre la histomorfología asociada a depósitos de grasa

En la Figura 12 se observan microfotografías representativas de cortes hepáticos teñidos con rojo oleoso correspondientes a los grupos control, 15 ppm y 32 ppm de exposición a cadmio, evaluados en diferentes periodos (15 días, 1, 2, 3, 4 y 5 meses).

En el grupo control, el parénquima hepático mantuvo una arquitectura conservada a lo largo de todo el periodo experimental, con hepatocitos de morfología regular y escasa o nula presencia de vacuolas lipídicas. El citoplasma mostró una tinción homogénea y únicamente se evidenció una leve tinción positiva en el área perivenular, correspondiente a depósitos fisiológicos mínimos de lípidos (círculo en blanco).

En el grupo expuesto a 15 ppm, desde los primeros 15 días se observó un incremento discreto en la tinción rojiza del citoplasma de algunos hepatocitos, distribuido de forma focal (indicado con flechas negras). A partir del primer mes, la tinción positiva se volvió más evidente alrededor de las venas centrales, con pequeñas vacuolas intracitoplasmáticas teñidas de rojo. Entre los 2 y los 3 meses, la acumulación lipídica mostró un patrón más difuso, con hepatocitos de aspecto granular y citoplasmas parcialmente ocupados por vacuolas lipídicas. A los 4 y 5 meses, se apreció una mayor intensidad de tinción y un incremento en el número de células con contenido lipídico, aunque sin una pérdida marcada de la arquitectura lobulillar.

En el grupo de 32 ppm, los cambios fueron más notorios y de aparición temprana. A partir de los 15 días, ya se evidenció una tinción positiva más intensa en la zona pericentral y, en algunos casos, en la periportal. Se observó un aumento progresivo en el número y el tamaño de las vacuolas teñidas con rojo oleoso; no hay una cuantificación exacta; sin embargo, la esteatosis y el grado de acumulación lipídica se llevan a cabo por medio de la observación de ciertas características y criterios morfológicos como los que mencionan a continuación. A partir del primer mes, se observa en los hepatocitos un aspecto más claro y un patrón microvesicular predominante. En los cortes correspondientes a 2 y 3 meses, se apreció una distribución más extensa de vacuolas lipídicas en todo el lobulillo hepático, con tendencia a la coalescencia, acompañada de zonas de tinción más intensas. Hacia los 4 y 5 meses, la tinción mostró áreas amplias de acumulación lipídica, con hepatocitos de contornos irregulares, desplazamiento nuclear y un evidente incremento en la densidad e intensidad de los depósitos lipídicos, especialmente en la región centrilobulillar (círculos en rojo).

En conjunto, la tinción de rojo oleoso revela una acumulación progresiva y de dependencia de la dosis de lípidos hepáticos, con una distribución predominantemente pericentral que se intensifica tanto con el tiempo de exposición como con la concentración de Cd.

Discusión de resultados

Un aspecto central para el desarrollo del presente trabajo es la aplicación del concepto de dosis NOAEL (No Observed Adverse Effect Level), la cual, de acuerdo con la Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), corresponde al nivel más alto de exposición a una sustancia química en el que no se han observado efectos adversos clínicos o funcionales significativos. En el grupo de investigación al que pertenece este estudio se han realizado previamente trabajos empleando la dosis LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level), con periodos de exposición que oscilaron entre tres y cinco meses; sin embargo, hasta el momento no se había evaluado de manera sistemática el impacto fisiopatológico derivado de una exposición crónica a dosis NOAEL de Cd.

Tradicionalmente, la clasificación de una dosis como NOAEL se ha sustentado en la ausencia de efectos clínicos evidentes en los modelos experimentales, considerando parámetros como alteraciones morfológicas y funcionales de órganos, cambios en el peso corporal u orgánico, signos visibles de toxicidad, mortalidad y efectos sobre el desarrollo o la reproducción. No obstante, este enfoque presenta limitaciones importantes, ya que no contempla posibles alteraciones metabólicas o moleculares tempranas, que pueden representar cambios subclínicos relevantes y actuar como precursores de enfermedades crónicas.

La omisión de indicadores metabólicos tempranos, como las modificaciones en el perfil lipídico, puede conducir a una subestimación del riesgo toxicológico real. Este tipo de alteraciones no suele manifestarse de forma inmediata como signos clínicos evidentes, pero puede asociarse con procesos patológicos sutiles, entre ellos, la disfunción metabólica, la inflamación crónica y las respuestas de estrés celular. Aunque inicialmente estas respuestas pueden considerarse adaptativas, su persistencia durante exposiciones prolongadas podría tener consecuencias fisiopatológicas significativas.

Bajo esta perspectiva, se diseñó una fase experimental que incluyó tanto la dosis NOAEL (15 ppm) como la dosis LOAEL (32 ppm) de Cd, incorporando además distintos tiempos de exposición que abarcaron desde 15 días hasta 5 meses, con el objetivo de identificar alteraciones tempranas no detectables mediante evaluaciones clínicas convencionales. Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la exposición crónica al Cd, incluso a dosis consideradas bajas (NOAEL, 15 ppm), induce alteraciones metabólicas progresivas y significativas a nivel hepático y sistémico, las cuales no se manifiestan inicialmente como signos clínicos evidentes de toxicidad, pero sí como cambios bioquímicos y morfológicos consistentes con un estado de disfunción metabólica. En particular, los cambios observados en el lipidoma sérico y hepático, así como en la actividad de enzimas hepáticas y en la morfología tisular, sugieren que el cadmio actúa como un disruptor metabólico capaz de favorecer el desarrollo de alteraciones asociadas con resistencia a la insulina y con esteatosis hepática.

Diversos estudios previos han demostrado que la exposición a Cd, un metal pesado y tóxico que se encuentra con frecuencia en el medio ambiente, se asocia con alteraciones significativas en el metabolismo lipídico tanto en modelos animales como en humanos. Esta disrupción metabólica se ha evidenciado particularmente en individuos o animales expuestos al Cd a través de diferentes vías y una de las principales es el consumo de agua potable contaminada (Tinkov et al., 2018).

Un estudio realizado en roedores evaluó los efectos de la ingestión de CdCl_2 a través de la dieta *ad libitum* durante 42 días, utilizando concentraciones de 0,5 y 50 ppm de Cd. Los resultados mostraron que a bajas concentraciones los efectos metabólicos fueron limitados, mientras que a la dosis más alta se observaron alteraciones metabólicas más evidentes. El cadmio se acumuló de manera dosis-dependiente, principalmente en hígado y riñón, ocasionando cambios en el peso de los órganos y alteraciones en el metabolismo energético, incluyendo un aumento en la movilización de ácidos grasos y una disminución en la actividad de enzimas hepáticas claves involucradas en vías glucolíticas y gluconeogénicas (Di Giulio & Scanlon, 1985).

El hígado constituye uno de los órganos más relevantes en la regulación de la homeostasis metabólica, participando activamente en la síntesis, el almacenamiento y la distribución de carbohidratos y lípidos. Sin embargo, la acumulación de Cd en este órgano puede comprometer gravemente su función metabólica, alterando de manera dependiente las rutas de la glucosa y de los lípidos. Investigaciones realizadas en nuestro grupo de trabajo han mostrado que la exposición crónica al Cd provoca resistencia a la insulina en múltiples tejidos, incluido el hígado, y se acompaña de profundas alteraciones en el perfil lipídico sérico y hepático (Sarmiento-Ortega et al., 2022, 2023, 2025; Moroni-González et al., 2023; Treviño et al., 2015).

En este sentido, diversos estudios experimentales han demostrado que la exposición al Cd altera de manera significativa el metabolismo hepático y el de los carbohidratos en modelos animales. La administración aguda de acetato de Cd (2.0–6.0 mg/kg) en ratones machos evidenció una disrupción severa de la homeostasis glucémica, asociada con disminución en la secreción de insulina, incremento de la actividad gluconeogénica, alteración de la síntesis de glucógeno hepático y estimulación de la lipogénesis, confirmando el potencial del Cd como disruptor metabólico (Ghafghazi & Mennear, 1973). De forma concordante, estudios subagudos en ratas tratadas con CdCl_2 por vía intraperitoneal (0.25–1 mg/kg) durante periodos de 21 a 45 días mostraron un aumento sostenido de enzimas clave de la gluconeogénesis, reducción del glucógeno hepático, elevación de glucosa y urea séricas, así como alteraciones en sistemas de señalización celular dependientes de AMPc, efectos que persistieron incluso tras la suspensión del tratamiento (Merali et al., 1975). Asimismo, exposiciones dependientes de dosis y tiempo en ratas hembra confirmaron la inducción de hiperglucemia, activación de enzimas gluconeogénicas y aumento de marcadores de toxicidad hepática, observándose toxicidad letal con dosis elevadas y exposiciones prolongadas (Chapatwala et al., 1982).

Ithakissios et al. fueron de los primeros investigadores en demostrar que la exposición recurrente al Cd puede alterar el metabolismo de la glucosa, sugiriendo su posible contribución al desarrollo de alteraciones metabólicas crónicas, como la resistencia a la insulina y la diabetes. En su estudio experimental, los autores administraron Cd por vía intraperitoneal en dosis bajas (0.25 mg/kg) y dosis altas (0.50 mg/kg) cada dos días, acumulando un total de 70 aplicaciones, tras lo cual se realizaron evaluaciones bioquímicas. Los resultados mostraron que la dosis alta de Cd provocó una inhibición significativa de la secreción de insulina, mientras que la dosis baja indujo una inhibición parcial (Ithakissios et al., 1974).

La resistencia hepática a la insulina es un punto crítico en esta disfunción, ya que interfiere con la capacidad del hígado para modular procesos clave como la gluconeogénesis, la glucogenólisis y la lipogénesis. En condiciones normales, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa y estimula la síntesis de lípidos; sin embargo, la exposición al Cd induce una disminución en la síntesis y liberación de la insulina, así como la pérdida de sensibilidad a esta hormona, lo que se traduce en hiperglucemia y lipogénesis exacerbada (Boucher et al., 2014)

Los estudios realizados por nuestro grupo de investigación han demostrado de manera consistente que la exposición al Cd, incluso a dosis consideradas bajas o subclínicas (NOAEL y LOAEL), se asocia con el desarrollo de alteraciones metabólicas tempranas vinculadas a la resistencia a la insulina. En modelos experimentales, se ha evidenciado que la exposición crónica al Cd induce disfunción en tejidos metabólicamente activos como hígado, tejido adiposo y músculo, caracterizada por incremento del estrés oxidativo, inflamación de bajo grado y desregulación de vías clave de señalización insulínica. Estos cambios ocurren aun en ausencia de hiperglucemia franca, lo que sugiere que el cadmio actúa como un disruptor metabólico capaz de promover resistencia a la insulina mediante mecanismos no glucodependientes. En conjunto, los hallazgos del grupo aportan evidencia experimental sólida de que la exposición ambiental al cadmio representa un factor de riesgo relevante para el desarrollo de trastornos metabólicos crónicos, particularmente resistencia a la insulina y sus complicaciones asociadas (Sarmiento-Ortega et al., 2022, 2023, 2025; Moroni-González et al., 2023.; Treviño et al., 2015).

Esta alteración en la señalización insulínica tiene un impacto directo en la homeostasis lipídica. Durante las primeras etapas de la dislipidemia inducida por Cd, el hígado presenta una sobreproducción de triglicéridos y un incremento de la síntesis de VLDL. Simultáneamente, se ve afectada la síntesis de lipoproteínas HDL-C, lo que evidencia cambios estructurales y funcionales en el lipidoma hepático (Sarmiento-Ortega et al., 2017). Dichas alteraciones no solo se observan en modelos de roedores, sino también en conejos, aves y crustáceos expuestos al metal, en los que se han documentado hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina y deterioro del catabolismo de VLDL, lo que conduce a la acumulación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (Sarmiento-Ortega et al., 2017; Tinkov et al., 2018).

Los resultados de nuestro trabajo revelaron un incremento progresivo y dependiente tanto de la dosis como del tiempo de exposición en las concentraciones de VLDL, LDL, triglicéridos y ácidos grasos libres, acompañado de una disminución sostenida de HDL. Este perfil lipídico es característico de un estado dislipidémico aterogénico, comúnmente asociado con resistencia a la insulina y alteraciones en el metabolismo hepático de los lípidos. El aumento temprano de VLDL y triglicéridos sugiere una mayor producción hepática de lipoproteínas ricas en triglicéridos, posiblemente relacionada con un incremento en la lipogénesis *de novo* o con una disminución en la depuración periférica de estas partículas. La reducción de HDL, observada desde etapas tempranas de la exposición, refuerza la idea de una alteración en el equilibrio del transporte reverso de colesterol, lo que podría contribuir al daño metabólico sistémico. Es importante señalar que, a pesar de que ya se había estudiado el papel del cadmio en esta desregulación de lípidos, no se había estudiado el efecto de la dosis NOAEL en tiempos tan cortos (15 días) como en tiempos tan prolongados (4 y 5 meses).

De manera concordante, los cambios observados en el tejido hepático confirman que el hígado es un órgano blanco clave en la toxicidad metabólica inducida por cadmio. El incremento significativo de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol hepático, particularmente evidente en el grupo expuesto a 32 ppm, indica una acumulación lipídica intrahepática que precede o acompaña al desarrollo de la esteatosis. La presencia de estos cambios desde etapas relativamente tempranas de la exposición sugiere que el cadmio interfiere directamente con las rutas de síntesis, almacenamiento y exportación de lípidos hepáticos, favoreciendo un estado de lipotoxicidad.

Diversas investigaciones han demostrado que la exposición al cadmio puede inducir una acumulación anormal de triglicéridos hepáticos, asociada con la activación de factores lipogénicos como SREBP, lo que incrementa la expresión de la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), enzima clave en el paso limitante inicial de la síntesis de triglicéridos en el hígado (Karasawa et al., 2019; Tinkov et al., 2018). De manera paralela, la activación de SREBP también se ha relacionado con un aumento en la actividad de la HMG-CoA reductasa, favoreciendo la biosíntesis de colesterol mediante la ruta del mevalonato (Khaleqsefat et al., 2025). Adicionalmente, el cadmio puede inhibir enzimas lipolíticas como la lipasa, alterando la hidrólisis de triglicéridos y la maduración de HDL, lo que contribuye a un desequilibrio en la homeostasis lipídica plasmática (Chatterjee & Sparks, 2011).

Como resultado de estos mecanismos disfuncionales, la exposición al cadmio se ha relacionado con alteraciones cuantificables en los niveles de lípidos plasmáticos, específicamente, se ha documentado un aumento significativo en las concentraciones séricas de AGL, colesterol total, VLDL, LDL-C y triglicéridos, acompañado de una disminución en los niveles de HDL-C. Este patrón lipídico alterado sugiere un estado

de dislipidemia inducido por el Cd, que podría contribuir al desarrollo de patologías cardiovasculares y metabólicas a largo plazo (Tinkov et al., 2018).

Desde el punto de vista molecular, las señales metabólicas y hormonales, como la glucosa, la insulina y el glucagón, regulan el programa de expresión génica implicado en la glucólisis y la lipogénesis mediante factores de transcripción específicos (Xu et al., 2013). La vía de señalización PI3K/Akt/mTOR constituye un eje central en la regulación de la supervivencia celular, el crecimiento y el metabolismo energético, y su desregulación se ha asociado estrechamente con alteraciones metabólicas inducidas por el cadmio (Glaviano et al., 2023). Se ha demostrado que el Cd interfiere con esta vía alterando la homeostasis de la glucosa y la señalización insulínica, mediante la desregulación de efectores clave como FOXO1 y GSK3 β , lo que favorece procesos de gluconeogénesis y glucogenólisis (Moroni-González et al., 2023). A nivel downstream, la activación aberrante de Akt y de mTOR, particularmente a través del complejo mTORC1, promueve la síntesis de proteínas y lípidos, inhibe la autofagia y modula el metabolismo energético celular (Pungsrinont et al., 2021). En este contexto, se ha demostrado que mTOR estimula rutas metabólicas específicas mediante la activación de SREBP-1 y SREBP-2 (Düvel et al., 2010), lo que contribuye a la alteración de los perfiles lipídicos y al desarrollo de enfermedades metabólicas y hepáticas (Li et al., 2023).

La activación de SREBP-1c ha sido propuesta como un mecanismo central de la lipogénesis anómala asociada al cadmio, dado su papel clave en la regulación de genes involucrados en la biosíntesis de ácidos grasos y triglicéridos, favoreciendo tanto la secreción de VLDL como la acumulación intracelular de lípidos en forma de gotitas lipídicas en hepatocitos (Xu et al., 2013; Shimano, 2009; Sarmiento-Ortega et al., 2017; Chandrasekaran & Weiskirchen, 2024).

Diversos estudios han demostrado que la activación crónica de SREBP-1c se asocia estrechamente con el desarrollo de MASLD y con efectos metabólicos adversos como obesidad, dislipidemias, resistencia a la insulina y síndrome metabólico, siendo la lipogénesis *de novo* un mecanismo central en la progresión de la esteatosis hepática en condiciones de resistencia a la insulina (Chandrasekaran & Weiskirchen, 2024; Shimano, 2009). En pacientes con MASLD, las tasas de lipogénesis hepática se encuentran marcadamente aumentadas y la activación sostenida de SREBP-1c favorece la acumulación de triglicéridos hepáticos.

De forma concordante, modelos murinos con sobreexpresión hepática de SREBP-1c muestran un incremento significativo de la lipogénesis y desarrollo de esteatosis, mientras que la reducción de su expresión en hígado de ratones con resistencia a la insulina disminuye aproximadamente en un 50 % el contenido de triglicéridos hepáticos (Li et al., 2023). Asimismo, estudios en ratones con alteraciones genéticas en la proteína activadora de la escisión de SREBP (SCAP) han evidenciado que la reducción de SREBP-1 y SREBP-2 en el hígado disminuye la síntesis de colesterol y ácidos grasos hasta en un 70–80 %, mientras que la expresión de una forma mutante

de SCAP induce una activación exacerbada de SREBP, lo que resulta en una marcada acumulación hepática de colesterol y triglicéridos (Horton et al., 2002).

En paralelo, la exposición al Cd genera estrés, y principalmente en el retículo endoplasmático favorece la lipogénesis al activar a SREBP1c por medio de respuestas a proteínas vinculadas a la inflamación, lipototoxicidad y apoptosis en los hepatocitos (Chandrasekaran & Weiskirchen, 2024). Asimismo, el Cd promueve estados hiperinsulinémicos compensatorios, probablemente como respuesta a la disminución de la afinidad de la insulina por su receptor o a la reducción del número de receptores en la superficie celular (Treviño et al., 2015).

El incremento del índice insulinogénico observado en ratas expuestas a Cd sugiere una liberación inicial exagerada de insulina que resulta ineficaz para restaurar la homeostasis glucídica. Esta secreción inadecuada desencadena una serie de consecuencias metabólicas, ya que el hígado no recibe una señal insulínica efectiva, lo que deriva en un aumento de la gluconeogénesis y de la lipogénesis y, por ende, en una mayor acumulación de triglicéridos hepáticos y musculares (Treviño et al., 2015; Sarmiento-Ortega et al., 2017).

Finalmente, la combinación de estos procesos, como la hiperglucemia, la hipertrigliceridemia, el aumento de VLDL y LDL-C, así como la disminución de HDL-C, refleja un estado metabólico disfuncional característico de la exposición crónica al Cd (Sarmiento-Ortega et al., 2017). Los análisis comparativos entre grupos control y expuestos a concentraciones de 15 ppm y 32 ppm de Cd evidencian diferencias significativas en los parámetros bioquímicos, lo que demuestra una relación dosis-dependiente entre la exposición al metal y la magnitud del daño metabólico. Cabe mencionar que el daño que se genera es acumulativo y que se incrementa con el paso del tiempo, esto a consecuencia del almacenamiento de Cd en el hígado, ya que se ha reportado que, sin importar la dosis de exposición al metal, el cadmio se resguarda en concentraciones similares y, al llegar a su umbral tóxico, los cambios son parecidos sin importar la dosis (Sarmiento-Ortega et al., 2021).

Por otro lado, los cambios metabólicos generados por la exposición al Cd, como se mencionó anteriormente, favorecen procesos de lipoperoxidación, estrés oxidativo e inflamación, los cuales pueden desencadenar alteraciones en la función hepática y, en consecuencia, la elevación de enzimas hepáticas como marcador indirecto de daño celular.

El aumento sostenido de las transaminasas ALT y AST, tanto en suero como en tejido hepático, observado en nuestros resultados, refuerza la noción de un daño hepatocelular progresivo inducido por el Cd. Si bien estos incrementos no se acompañaron de signos clínicos evidentes de hepatotoxicidad, su magnitud y persistencia indican una alteración funcional del hepatocito, probablemente asociada al estrés oxidativo e inflamación subclínica.

Este patrón es consistente con reportes previos que señalan que el Cd puede inducir daño hepático crónico sin provocar necrosis masiva, pero sí alteraciones metabólicas

sostenidas. Diversos estudios, tanto en humanos como en modelos experimentales, han demostrado que la exposición al cadmio se asocia con daño hepatocelular y con elevación de biomarcadores séricos de función hepática. En un estudio transversal realizado en más de 3,900 adultos coreanos sin hepatopatías conocidas, las concentraciones sanguíneas de Cd se correlacionaron significativamente con niveles elevados de AST, ALT y ALP (Kang et al., 2013). De manera similar, un análisis de la población estadounidense (NHANES 1999–2015; ≈11 838 adultos) reportó una asociación positiva entre los niveles urinarios de cadmio y las concentraciones séricas de ALT, AST, GGT, bilirrubina total y ALP (Hong et al., 2021). En estudios experimentales, la exposición de ratas a CdCl₂ produjo un aumento de las actividades de ALT y AST, acompañado de daño histológico hepático caracterizado por necrosis, infiltración inflamatoria y fibrosis (Abed et al., 2025).

Trabajos previos han propuesto diversos mecanismos que explican el daño hepático inducido por Cd y la subsecuente elevación de las transaminasas, entre los cuales destacan el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, la inflamación hepática y la liberación de enzimas intracelulares producto de la alteración de la integridad de la membrana de los hepatocitos durante procesos de estrés, apoptosis o necrosis (Abed et al., 2025; Moroni-González et al., 2023).

No obstante, es importante señalar que en el presente estudio la cuantificación de las transaminasas se empleó únicamente como marcador bioquímico para confirmar la existencia de daño hepático asociado a la acumulación de lípidos y a la exposición a Cd.

Por último, nuestro análisis histológico mediante tinción con rojo oleoso aporta evidencia morfológica sólida que respalda los hallazgos bioquímicos. La acumulación progresiva y dosis-dependiente de gotas lipídicas en los hepatocitos, con predominio en la región centrilobulillar, es característica de una esteatosis hepática de tipo metabólico. La aparición temprana de depósitos lipídicos en el grupo de 32 ppm y su intensificación con el tiempo, así como la presencia de cambios más discretos pero persistentes en el grupo de 15 ppm, indican que incluso exposiciones consideradas seguras pueden desencadenar alteraciones estructurales relevantes cuando se mantienen de forma crónica. La preservación relativa de la arquitectura lobulillar sugiere que estos cambios corresponden a etapas tempranas del daño hepático, lo cual es particularmente relevante desde el punto de vista preventivo.

Estos hallazgos histológicos son consistentes con diversos estudios experimentales que han documentado la capacidad del Cd para inducir acumulación lipídica hepática incluso en ausencia de necrosis o daño estructural avanzado. Por ejemplo, Thijssen et al. (2007) demostraron en ratas expuestas crónicamente a Cd una acumulación significativa de triglicéridos hepáticos detectada mediante tinciones lipídicas, acompañada de preservación parcial de la arquitectura lobulillar, lo que sugiere una etapa temprana de esteatosis. De manera similar, Wang et al. (2014) reportaron que exposiciones prolongadas a dosis bajas de Cd inducen esteatosis centrilobulillar y disfunción mitocondrial hepática, sin evidencia inmediata de fibrosis, lo que apoya la

noción de daño subclínico progresivo. Asimismo, Brzóska et al. (2016) observaron en modelos murinos una acumulación dosis-dependiente de gotas lipídicas hepáticas tras exposición crónica al metal, asociada con alteraciones en la homeostasis lipídica y estrés oxidativo, aun cuando los parámetros clínicos tradicionales permanecían dentro de rangos normales.

En contraste, algunos estudios, como el de Rikans y Yamano (2000), sugieren que exposiciones más breves o a dosis intermitentes pueden inducir respuestas adaptativas hepáticas con cambios lipídicos transitorios, sin progresión clara hacia la esteatosis establecida, lo que indica que la magnitud y persistencia del daño dependen críticamente de la dosis y la duración de la exposición. En conjunto, esta evidencia respalda la idea de que la acumulación lipídica hepática inducida por Cd representa un evento temprano y sensible de toxicidad metabólica, que puede pasar desapercibido en evaluaciones clínicas convencionales, pero que adquiere relevancia fisiopatológica cuando la exposición se mantiene de forma crónica.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que la clasificación toxicológica basada exclusivamente en la ausencia de signos clínicos evidentes puede subestimar el impacto real del Cd sobre la salud metabólica. La detección de alteraciones lipídicas, enzimáticas e histológicas en condiciones de exposición a la NOAEL resalta la importancia de incorporar biomarcadores metabólicos y tisulares tempranos en la evaluación del riesgo toxicológico. Además, los hallazgos de este estudio se alinean con la evidencia previamente generada por nuestro grupo de investigación, que ha documentado la asociación entre la exposición crónica al cadmio, el desarrollo de resistencia a la insulina y la disfunción metabólica sistémica, incluso en ausencia de hiperglucemia manifiesta.

Finalmente, los resultados obtenidos refuerzan la noción de que el cadmio debe considerarse un factor de riesgo ambiental relevante en el desarrollo de enfermedades metabólicas crónicas, particularmente aquellas relacionadas con dislipidemia, resistencia a la insulina y enfermedad hepática grasa no alcohólica. La identificación temprana de estos cambios subclínicos podría tener implicaciones importantes para la prevención, el diagnóstico oportuno y el diseño de estrategias de intervención en poblaciones expuestas de manera crónica a este metal pesado.

Conclusiones

La exposición crónica a Cd induce alteraciones significativas en el lipidoma sérico y hepático. Estos cambios evidencian que dicha exposición provoca una dislipidemia aterogénica.

La exposición crónica a Cd induce el desarrollo de esteatosis hepática en función de la dosis, con predominio pericentral y expansión difusa en etapas avanzadas.

Se presentó un daño hepatocelular progresivo de tipo dosis-tiempo dependiente.

En conjunto, los resultados evidencian que el Cd promueve modificaciones en el metabolismo hepático caracterizadas por alteraciones en la homeostasis lipídica, daño hepatocelular y acumulación de grasa, efectos que se potencian con la concentración y la duración de la exposición.

Referencias

1. Abed, SA., y Nafea, RD. (2025). Cambios histopatológicos en el hígado de ratas expuestas a cadmio. *Journal of Neonatal Surgery* , 14 (32S), 5067–5071. Recuperado de <https://www.jneonatsurg.com/index.php/jns/article/view/8246>
2. Albitar, O., D'Souza, C. M., & Adeghate, E. A. (2024). Effects of Lipoproteins on Metabolic Health. *Nutrients*, 16(13), 2156. <https://doi.org/10.3390/nu16132156>
3. ATSDR. (2019). Módulo IV - Estudio de sustancias tóxicas | Notas para la instrucción https://www.atsdr.cdc.gov/es/training/toxicology_curriculum/modules/4/es_lecturenotes.html#anchor_1554936084946
4. ATSDR. (2016). *Resumen de Salud Pública: Cadmio (Cadmium)* | PHS | https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs5.html#:~:text=Anemia%2C%20enfermedad%20del%20h%C3%ADgado%2C%20y,que%20comieron%20o%20bebieron%20cadmio.
5. Berlanga, A., Guiu-Jurado, E., Porras, J. A., Aragonès, G., & Auguet, T. (2016). Papel de las lipasas metabólicas y la lipotoxicidad en el desarrollo de esteatosis hepática y esteatohepatitis no alcohólica. *Clínica e Investigación En Arteriosclerosis*, 28(1), 47–61. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2015.03.003>
6. 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). Consenso mexicano de la enfermedad por hígado graso no alcohólico. *Revista de Gastroenterología de México*, 84(1), 69–99. <https://doi.org/10.1016/j.rgmex.2018.11.007>
7. Castro, Gerardo Daniel. (2013). Dependencia de la dosis en los mecanismos de toxicidad y la evaluación de riesgo en toxicología. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 47(3) Recuperado en 18 de febrero de 2025, de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572013000300010&lng=es&tlng=es.

8. Chapatwala, K. D., Rajanna, E., & Desai, D. (1980). Cadmium Induced Changes in Gluconeogenic Enzymes in Rat Kidney and Liver. *Drug and Chemical Toxicology*, 3(3), 407–420. <https://doi.org/10.3109/01480548009030129>
9. Chapatwala, K. D., Hobson, M., Desai, D., & Rajanna, B. (1982). Effect of cadmium on hepatic and renal gluconeogenic enzymes in female rats. *Toxicology Letters*, 12(1), 27–34. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(82\)90194-1](https://doi.org/10.1016/0378-4274(82)90194-1)
10. Chambers K, Ashraf MA, Sharma S. Fisiología, hepcidina. [Actualizado el 17 de abril de 2023]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero de 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538257/>
11. Chandrasekaran, P., & Weiskirchen, R. (2024). The Role of SCAP/SREBP as Central Regulators of Lipid Metabolism in Hepatic Steatosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 1109. <https://doi.org/10.3390/ijms25021109>
12. Chatterjee, C., & Sparks, D. L. (2011). Hepatic Lipase, High Density Lipoproteins, and Hypertriglyceridemia. *The American Journal of Pathology*, 178(4), 1429–1433. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.050>
13. Costa, M. I., Sarmiento-Ribeiro, A. B., & Gonçalves, A. C. (2023). Zinc: From Biological Functions to Therapeutic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4822. <https://doi.org/10.3390/ijms24054822>
14. Cubero, F. J., & Nieto, N. (2006). Células de Kupffer y hepatopatía alcohólica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98(6), 460-472. Recuperado en 11 de septiembre de 2025, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082006000600007&lng=es&tlng=es.
15. Di Giulio, R. T., & Scanlon, P. F. (1985). Effects of cadmium ingestion and food restriction on energy metabolism and tissue metal concentrations in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Environmental Research*, 37(2), 433–444. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(85\)90125-2](https://doi.org/10.1016/0013-9351(85)90125-2)
16. Dixon, L. J., Barnes, M., Tang, H., Pritchard, M. T., & Nagy, L. E. (2013). Kupffer Cells in the Liver. In *Comprehensive Physiology* (pp. 785–797). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120026>
17. Díaz Greene, E., Rodríguez Weber, F., Cornelio Rodríguez, G., & Ortega Chavarría, M. J. (2020). Prevalencia del hígado graso no alcohólico y su

asociación con alteraciones bioquímicas en una población mexicana asintomática

 Acta Médica Grupo Ángeles, 18(2), 127–132.
<https://doi.org/10.35366/93885>

18. Düvel, K., Yecies, J. L., Menon, S., Raman, P., Lipovsky, A. I., Souza, A. L., Triantafellow, E., Ma, Q., Gorski, R., Cleaver, S., Vander Heiden, M. G., MacKeigan, J. P., Finan, P. M., Clish, C. B., Murphy, L. O., & Manning, B. D. (2010). Activation of a Metabolic Gene Regulatory Network Downstream of mTOR Complex 1. *Molecular Cell*, 39(2), 171–183.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.06.022>
19. Errico, T. L., Chen, X., Martin Campos, J. M., Julve, J., Escolà-Gil, J. C., & Blanco-Vaca, F. (2013). Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clínica e Investigación En Arteriosclerosis*, 25(2), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2013.05.003>
20. Glaviano, A., Foo, A. S. C., Lam, H. Y., Yap, K. C. H., Jacot, W., Jones, R. H., Eng, H., Nair, M. G., Makvandi, P., Geoerger, B., Kulke, M. H., Baird, R. D., Prabhu, J. S., Carbone, D., Pecoraro, C., Teh, D. B. L., Sethi, G., Cavalieri, V., Lin, K. H., ... Kumar, A. P. (2023). PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer. *Molecular Cancer*, 22(1), 138.
<https://doi.org/10.1186/s12943-023-01827-6>
21. Ghafghazi, T., & Mennear, J. H. (1973). Effects of acute and subacute cadmium administration on carbohydrate metabolism in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 26(2), 231–240. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(73\)90256-1](https://doi.org/10.1016/0041-008X(73)90256-1)
22. Grundy, S. M., Cleeman, J. I., Daniels, S. R., Donato, K. A., Eckel, R. H., Franklin, B. A., Gordon, D. J., Krauss, R. M., Savage, P. J., Smith, S. C., Spertus, J. A., & Costa, F. (2005). Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 112(17), 2735–2752.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404>
23. Horton, J. D., Goldstein, J. L., & Brown, M. S. (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation*, 109(9), 1125–1131. <https://doi.org/10.1172/JCI15593>
24. Ithakissios, D. S., Kessler, W. V., Arvesen, J. N., & Born, G. S. (1974). Effect of Multiple Doses of Cadmium on Glucose Metabolism in the Rat. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(1), 146–149.
<https://doi.org/10.1002/jps.2600630141>

25. Johri, N., Jacquillet, G., & Unwin, R. (2010). Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. *BioMetals*, 23(5), 783–792. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9328-y>
26. Juárez-Rebollar, D., Rios, C., Nava-Ruiz, C., & Méndez-Armenta, M. (2017). Metallothionein in Brain Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1). <https://doi.org/10.1155/2017/5828056>
27. Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, et al. Fisiología del hígado. [Actualizado el 1 de mayo de 2023]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero de 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/>
28. Kang, M.-Y., Cho, S.-H., Lim, Y.-H., Seo, J.-C., & Hong, Y.-C. (2013). Effects of environmental cadmium exposure on liver function in adults. *Occupational and Environmental Medicine*, 70(4), 268–273. <https://doi.org/10.1136/oemed-2012-101063>
29. Khaleqsefat, E., Rasul, K. H., Kheder, R. K., Baban, S., & Baban, J. (2025). Frameshift variation in the HMG-CoA reductase gene and unresponsiveness to cholesterol-lowering drugs in type 2 diabetes mellitus patients. *Scientific Reports*, 15(1), 288. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75461-7>
30. Karasawa, K., Tanigawa, K., Harada, A., & Yamashita, A. (2019). Transcriptional Regulation of Acyl-CoA:Glycerol-sn-3-Phosphate Acyltransferases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 964. <https://doi.org/10.3390/ijms20040964>
31. Le, N.-A. (2020). Triglicéridos posprandiales, estrés oxidativo e inflamación. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.91303
32. Li, N., Li, X., Ding, Y., Liu, X., Diggle, K., Kisseleva, T., & Brenner, D. A. (2023). SREBP Regulation of Lipid Metabolism in Liver Disease, and Therapeutic Strategies. *Biomedicines*, 11(12), 3280. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123280>
33. Liu, H., Li, H., Deng, G., Zheng, X., Huang, Y., Chen, J., Meng, Z., Gao, Y., Qian, Z., Liu, F., Lu, X., Shi, Y., Shang, J., Yan, H., Zheng, Y., Shen, Z., Qiao,
34. Lifeder. (7 de abril de 2020). Cadmio (Cd): historia, propiedades, estructura, usos. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/cadm>
35. L., Zhang, W., & Wang, X. (2024). Association of AST/ALT ratio with 90-day outcomes in patients with acute exacerbation of chronic liver disease: a

- prospective multicenter cohort study in China. *Frontiers in Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1307901>
36. Merali, Z., Kacew, S., & Singhal, R. L. (1975). Response of Hepatic Carbohydrate and Cyclic AMP Metabolism to Cadmium Treatment in Rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 53(1), 174–184. <https://doi.org/10.1139/y75-024>
 37. Moroni-González, D., Sarmiento-Ortega, V. E., Diaz, A., Brambila, E., & Treviño, S. (2023). Pancreas–Liver–Adipose Axis: Target of Environmental Cadmium Exposure Linked to Metabolic Diseases. *Toxics*, 11(3), 223. <https://doi.org/10.3390/toxics11030223>
 38. NIH. *Cadmio*. (2015). Cancer.gov. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/sustancias/cadmio#:~:text=El%20cadmio%20es%20un%20elemento,como%20zinc%2C%20plomo%20y%20cobre>.
 39. Pungsrinont, T., Kallenbach, J., & Baniahmad, A. (2021). Role of PI3K-AKT-mTOR Pathway as a Pro-Survival Signaling and Resistance-Mediating Mechanism to Therapy of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11088. <https://doi.org/10.3390/ijms222011088>
 40. Pozo M, & Camello-Almaraz C, & Camello P.J. (2020). Fisiología hepática. Fernández-Tresguerres J.A., & Cachofeiro V, & Cardinali D.P., & Delpón E, & Díaz-Rubio E, & Escriche E, & Juliá V, & Teruel F, & Pardo M(Eds.), Fisiología humana, 5e. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=2987§ionid=253376670>
 41. Rani, A., Kumar, A., Lal, A., & Pant, M. (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International Journal of Environmental Health Research*, 24(4), 378–399. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.835032>
 42. Rui, L. (2014). Energy Metabolism in the Liver. In *Comprehensive Physiology* (pp. 177–197). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
 43. Saavedra-Chacón, María Fernanda, Pérez, Santiago, & Guevara, Luis Gonzalo. (2021). Enfermedad del hígado graso asociada con la disfunción metabólica. Una nueva propuesta para una dolencia en auge. *Iatreia*, 34(3), 241-252. Epub August 02, 2021. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.101>
 44. Saini, S., & Dhanial, G. (2020). Cadmium as an Environmental Pollutant: Ecotoxicological Effects, Health Hazards, and Bioremediation Approaches for

- Its Detoxification from Contaminated Sites. In *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety* (pp. 357–387). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9_15
45. Sarmiento-Ortega, V. E., Treviño, S., Flores-Hernández, J. Á., Aguilar-Alonso, P., Moroni-González, D., Aburto-Luna, V., Diaz, A., & Brambila, E. (2017). Changes on serum and hepatic lipidome after a chronic cadmium exposure in Wistar rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 635, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.10.003>
 46. Sanz-García, C., Fernández-Iglesias, A., Gracia-Sancho, J., Arráez-Aybar, L. A., Nevzorova, Y. A., & Cubero, F. J. (2021). The Space of Disse: The Liver Hub in Health and Disease. *Livers*, 1(1), 3–26. <https://doi.org/10.3390/livers1010002>
 47. Sanders, F. W. B., & Griffin, J. L. (2016). *De novo* lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biological Reviews*, 91(2), 452–468. <https://doi.org/10.1111/brv.12178>
 48. Shi, Y., Wang, K., Ling, H., Mao, J., Xu, B., Liu, Z., & Wang, J. (2024). Quercetin attenuates cadmium-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress and apoptosis in rat. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 86, 127554. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2024.127554>
 49. Shimano, H. (2009). SREBPs: physiology and pathophysiology of the SREBP family. *The FEBS Journal*, 276(3), 616–621. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06806.x>
 50. Skipper, A., Sims, J., Yedjou, C., & Tchounwou, P. (2016). Cadmium Chloride Induces DNA Damage and Apoptosis of Human Liver Carcinoma Cells via Oxidative Stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(1), 88. <https://doi.org/10.3390/ijerph13010088>
 51. S., L. C., & P., G. S. (2015). HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(5), 600–612. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.09.006>
 52. Souza-Arroyo, V., Fabián, J. J., Bucio-Ortiz, L., Miranda-Labra, R. U., Gomez-Quiroz, L. E., & Gutiérrez-Ruiz, M. C. (2022). The mechanism of the cadmium-induced toxicity and cellular response in the liver. *Toxicology*, 480, 153339. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2022.153339>
 53. Tejada Cifuentes, Francisco. (2010). Hepatotoxicidad por Fármacos. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 3(3), 177-191. Recuperado en 21 de febrero

de 2025, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2010000300006&lng=es&tlng=es.

54. Tholey, D. (2025, 3 abril). Enfermedad hepática asociada con disfunción metabólica (MASLD). Manual Merck Versión Para Profesionales. <https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-hep%C3%A1ticos-y-biliares/abordaje-del-paciente-con-hepatopat%C3%ADas/enfermedad-hep%C3%A1tica-asociada-con-disfunci%C3%B3n-metab%C3%B3lica-masld>
55. Tinkov, A. A., Filippini, T., Ajsuvakova, O. P., Skalnaya, M. G., Aaseth, J., Bjørklund, G., Gatiatulina, E. R., Popova, E. V., Nemereshina, O. N., Huang, P.-T., Vinceti, M., & Skalny, A. V. (2018). Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environmental Research*, 162, 240–260. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.01.008>
56. Torres, P., Llopis, A. L., Melo, C. S., & Rodrigues, A. (2023). Environmental Impact of Cadmium in a Volcanic Archipelago: Research Challenges Related to a Natural Pollution Source. *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(1), 100. <https://doi.org/10.3390/jmse11010100>
57. Treviño Mora, S. (2015). Efecto de la administración crónica de cadmio en tejido pancreático de ratas Wistar como factor de alteración en el desarrollo de hiperglucemia. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
58. Treviño, S., Waalkes, M. P., Flores Hernández, J. A., León-Chavez, B. A., Aguilar-Alonso, P., & Brambila, E. (2015). Chronic cadmium exposure in rats produces pancreatic impairment and insulin resistance in multiple peripheral tissues. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 583, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.07.010>
59. Vargas E, Joy NV, Carrillo Sepulveda MA. Bioquímica, Efectos Metabólicos de la Insulina. [Actualizado el 26 de septiembre de 2022]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; enero de 2025. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525983/>
60. Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5), 1111–1119. <https://doi.org/10.1172/JCI25102>
61. Xu, X., So, J.-S., Park, J.-G., & Lee, A.-H. (2013). Transcriptional Control of Hepatic Lipid Metabolism by SREBP and ChREBP. *Seminars in Liver Disease*, 33(04), 301–311. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1358523>

62. Yang, R., Roshani, D., Gao, B., Li, P., & Shang, N. (2024). Metallothionein: A Comprehensive Review of Its Classification, Structure, Biological Functions, and Applications. *Antioxidants*, 13(7), 825. <https://doi.org/10.3390/antiox13070825>
63. Zoroddu, M. A., Aaseth, J., Crisponi, G., Medici, S., Peana, M., & Nurchi, V. M. (2019). The essential metals for humans: a brief overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 195, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013>
64. Zou, H., Wang, L., Zhao, J., Yuan, Y., Wang, T., Bian, J., & Liu, Z. (2021). MiR-155 promotes cadmium-induced autophagy in rat hepatocytes by suppressing Rheb expression. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112895. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112895>
65. Zhu, Z., Zhang, X., Pan, Q., Zhang, L., & Chai, J. (2023). In-depth analysis of de novo lipogenesis in non-alcoholic fatty liver disease: Mechanism and pharmacological interventions. *Liver Research*, 7(4), 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2023.11.003>

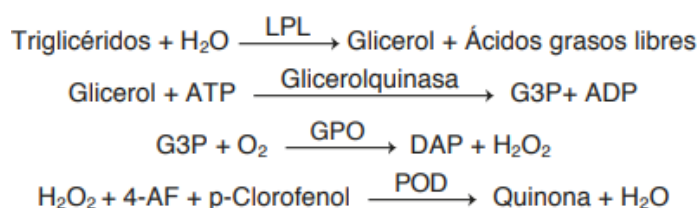
ANEXO “A”

Determinación cuantitativa de triglicéridos

Método: GPO-POD enzimático colorimétrico.

Principio del método:

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa y ATP en presencia de glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato y adenosina 5-difosfato. El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrogeno por GPO. Al final, el peróxido de hidrogeno reacciona con 4-aminofenazona y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa dando una coloración roja. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra medida a una longitud de onda de 505 nm.



Tipo de muestra: suero o plasma.

Procedimiento:

1. Disolver el contenido del vial R2 al vial R1 y mezclar hasta disolver el contenido.

2. Al utilizarlo debe estar a temperatura ambiente.
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

5. Mezclar e incubar durante 5 minutos a 37 °C o 10 minutos a temperatura ambiente.
6. Leer la absorbancia (A) del patrón y la de la muestra frente al blanco de reactivo. El color es estable por 30 minutos.

Cálculos:

$$\frac{(A)_{Muestra}}{(A)_{Patrón}} \times 200 (Conc. Patrón) = \text{concentración de la muestra en mg/dL}$$

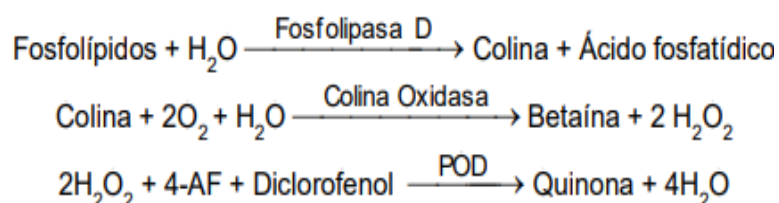
Anexo “B”

Determinación cuantitativa de fosfolípidos

Método: CHO-POD enzimático colorimétrico.

Principio del método

Los fosfolípidos son hidrolizados por la fosfolipasa D y la colina liberada es secuencialmente oxidada por la colina oxidasa a betaína, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa el peróxido de hidrógeno acopla oxidativamente a la 4-Aminofenazona y al diclorofenol formando una quinonamina coloreada. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fosfolípidos presentes en la muestra a una longitud de onda de 505 nm.



Tipo de muestra: suero o plasma.

Procedimiento:

1. Reconstituir el vial R2 en los 10 mL del R1 y mezclar hasta disolver el contenido.

2. Al utilizarlo debe estar a temperatura ambiente.
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

5. Mezclar e incubar durante 5 minutos a 37 °C.
6. Leer la (A) absorbancia del patrón y de la muestra, frente al blanco de reactivo.
El color es estable como mínimo 30 minutos.

Cálculos:

$$\frac{(A)_{Muestra}}{(A)_{Patrón}} \times 300 (Conc. Patrón) = \text{concentración de la muestra en mg/dL}$$

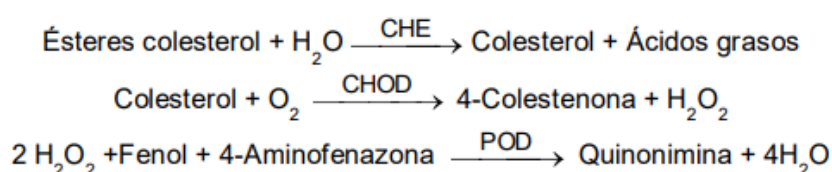
ANEXO “C”

Determinación cuantitativa de colesterol

Método: CHOD-POD líquido.

Principio del método:

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra a una longitud de onda de 505 nm.



Tipo de muestra: suero o plasma.

Procedimiento:

1. Al utilizar el reactivo debe estar a temperatura ambiente.
2. Ajustar al espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar durante 5 minutos a 37 °C o 10 minutos a 15-25 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra frente al blanco de reactivo.
El color es estable como mínimo 60 minutos.

Cálculos:

$$\frac{(A)_{Muestra}}{(A)_{Patrón}} \times Conc. patrón = \text{concentración de la muestra en mg/dL}$$

ANEXO “D”

Determinación de colesterol HDL-C

Método: reactivo precipitante.

Principio del método:

El colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL-C), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones es hidrolizado por una colesterol oxidasa mediante una reacción enzimática acelerada no formadora de color. El detergente presente en el reactivo solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad de la muestra. El colesterol HDL-C se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación.

El colesterol esterificado se hidrata mediante una colesterol esterasa, dando como resultado colesterol y ácidos grasos libres, el colesterol resultante sufre una semioxidación e hidratación por una colesterol oxidasa, dando como resultado colesteno y peróxido de hidrogeno, este se acopla a una reacción coordinada por una peroxidasa con 4-aminoantipirina y una solución buffer DSBmT obteniéndose como producto final quinonaimina, que presenta color y este es detectado por espectrofotometria a una longitud de onda de 505 nm.

Tipo de muestra: suero o plasma

Procedimiento:

1. Pipetear en un tubo de ensayo:

Muestra	0.2 mL
Reactivo (Col HDL-C)	0.5 mL

2. Agitar bien y dejar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 15 minutos a 4,000 r.p.m.
4. Recoger el sobrenadante.

5. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
6. Pipetear en un tubo de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua destilada	100 µL		
Patrón colesterol HDL-C		100 µL	
Sobrenadante muestra			100 µL
Reactivo de colesterol	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

7. Agitar bien e incubar los tubos durante 30 minutos a temperatura ambiente o durante 10 minutos a 37 °C.
8. Leer la absorbancia del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color es estable como mínimo 30 minutos.

Cálculos:

La concentración de colesterol HDL-C en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula:

$$\frac{(A)_{\text{Muestra}}}{(A)_{\text{Patrón}}} \times [\text{Patrón}] \times \text{Factor de dilución de la muestra} = [\text{muestra}] \text{ en mg/dL}$$

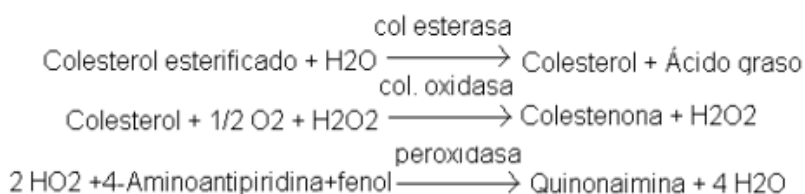
ANEXO “E”

Determinación de colesterol LDL-C

Método: reactivo precipitante (Polivinil sulfato / Polietilenglicol).

Principio del método:

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) presentes en la muestra, precipitan en presencia de polivinil. La concentración de colesterol LDL-C se calcula por diferencia entre los valores de colesterol en el suero y el sobrenadante obtenido tras la precipitación. El colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación.



Procedimiento:

1. Pipetear en un tubo:

Muestra	0.4 mL
Reactivo (Col LDL-C)	0.2 mL

2. Agitar y dejar en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar durante 15 minutos a 4,000 r.p.m.

4. Recoger el sobrenadante.
5. Pipetear en un tubo de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua destilada	20 µL		
Patrón colesterol LDL-C		20 µL	
Sobrenadante muestra			20 µL
Reactivo de colesterol	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

6. Agitar e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente o durante 5 minutos a 37 °C.
7. Leer la absorbancia del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color es estable por 30 minutos.

Cálculos:

La concentración del colesterol en el sobrenadante se calcula a partir de la siguiente formula:

$$\frac{(A)Muestra \times [patrón] \times Factor\ de\ dilución\ de\ la\ muestra}{(A)Patrón} = [sobrenadante] \text{ en mg/dL}$$

La concentración del colesterol LDL-C en la muestra se calcula:

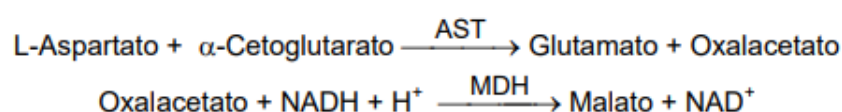
$$Colesterol\ LDL = Colesterol\ total - Colesterol\ en\ sobrenadante$$

ANEXO “F”

Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa

Principio del método:

La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α-cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra.



Tipo de muestra: suero o plasma.

Procedimiento:

1. Mezclar 1 volumen de R2 + 4 volúmenes de R1.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire a una longitud de 340 nm.
3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1.0
Muestra (μL)	100

4. Mezclar e incubar durante 1 minuto.
5. Leer la absorbancia inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

Cálculos:

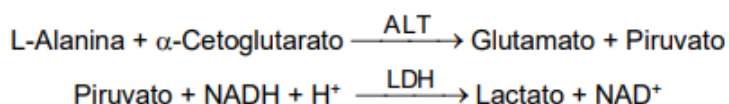
$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

ANEXO “G”

Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GTP

Principio del método:

La alanina aminotransferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra.



Tipo de muestra: suero o plasma.

Procedimiento:

1. Mezclar 4 volúmenes de R1+ 1 volumen de R2.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire a una longitud de onda de 340 nm.
3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1.0
Muestra (μL)	100

4. Mezclar e incubar durante 1 minuto.
5. Leer la absorbancia inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio de la diferencia de la absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

Cálculos:

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L}$$

ANEXO “H”

Tinción de rojo oleoso

Solución de stock

1. Agregar 2.5 g de reactivo ORO a 400 mL de alcohol isopropílico al 99% en un matraz.
2. Mezclar con agitador magnético durante 2 horas a temperatura ambiente.
3. Almacenar en un frasco ámbar para evitar su oxidación y conservar hasta 6 meses a temperatura ambiente.

Solución de trabajo

1. En un vaso de precipitado de 5 mL colocar 1,5 partes de la solución stock a 1 parte de agua destilada.
2. Dejar reposar durante 5 a 10 minutos.
3. Filtrar la solución con papel de filtro 2 veces para eliminar los precipitados.
4. Colocar los tejidos previamente cortados en una placa y agregar el colorante, dejándolos reposar durante 5 minutos y posteriormente, enjuagar hasta que el agua no se torne roja.
5. Una vez que los tejidos se tiñeron con rojo oleoso y se enjuagaron, colocar la hematoxilina de Mayer y dejarla en reposo durante 2 minutos.
6. Realizar enjuagues durante media hora y, posteriormente, colocarlos en el portaobjetos.