



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Alternativas dietarias para mitigar las alteraciones metabólicas de la obesidad, a partir de los frutos de *Acacia farnesiana* en ratones machos C57BL/6.

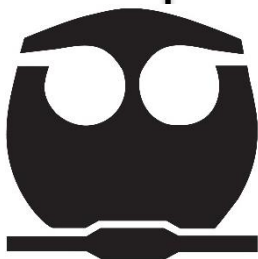
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Química de Alimentos

P R E S E N T A:

Dulce Rosaura Sánchez Castillo



Ciudad Universitaria, CD. MX., 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE GONZÁLEZ HERNÁNDEZ ILIANA EL VIRA

VOCAL SÁNCHEZ CHINCHILLAS ARGELIA

SECRETARIO DELGADILLO PUGA CLAUDIA

1^{er} SUPLENTE MORÁN RAMOS SOFÍA

2^{do} SUPLENTE PLATA RAMOS MARÍA DEL CONSUELO

SITIOS DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo

Departamento de Fisiología de la Nutrición

Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB)

ASESOR:

Dra. Claudia Delgadillo Puga

SUSTENTANTE:

Dulce Rosaura Sánchez Castillo

*A mis padres Rosi y Bernardo, a mi hermana Lizbeth
por su guía, apoyo y amor incondicional.
Mi más profundo agradecimiento.*

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por formarme personal y académicamente en sus aulas y laboratorios.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por facilitarme el acceso a sus instalaciones para la realización de mi Estancia Estudiantil y posteriormente mi proyecto de tesis.

A mi asesora Dra. Claudia Delgadillo Puga por la oportunidad de trabajar con ella, por toda la ayuda y apoyo para la realización de esta tesis a pesar de las circunstancias.

A todas las personas que me apoyaron durante la realización de mi trabajo experimental, al CICUAL por la revisión y aprobación de este proyecto experimental (CICUAL -NAN-1988-20-22-1). Al departamento de Nutrición Animal y Fisiología de la Nutrición por permitirme utilizar las instalaciones para el desarrollo de este proyecto experimental. Al Dr. Iván Torre Villalvazo por el conocimiento compartido y apoyo durante todo el trabajo experimental. A la Dra. Lilia Guadalupe Noriega López por su apoyo en las pruebas ipGTT e ipITT. A la QFB Gloria N. Acevedo por la capacitación para el uso de equipos del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Al DIEB y a todo el personal por la facilitación de los animales y materiales para su cuidado. Al MD Erik Torre Anaya por la ayuda prestada; extenso este agradecimiento al LN Yair Cariño Cervantes por todo el apoyo, ayuda y amistad cuando lo necesité.

Al profesor Arturo Ramírez Raymundo de no haber sido por usted mi amor por la química no se habría desarrollado.

Al Dr. Víctor Manuel Ugalde Saldívar por formarme académica y personalmente durante muchos años, le agradezco su confianza y motivación durante mis primeros semestres en la facultad.

Al M en C. Juan Carlos Ramírez Orejel por todo el conocimiento compartido, por el apoyo, la asesoría durante mi SS y por todo lo que conocí gracias a usted.

A la Dra. Olynka Vega Vega por su amistad y por todo el apoyo que me brindó siempre.

A todos los buenos amigos que hice, gracias por estar conmigo, apoyarme y motivarme siempre, Marisol, Sarai, Adriana, Emely, Octavio, Irving, Jenny, Edgar.

A mis amigos QA's: Baruc, Alejandra, Paola y Luis, por el apoyo, compañía y amistad que compartimos durante los últimos semestres de la carrera y aún después.

A mi enfermera favorita, mi mejor amiga, mi hermana y compañera de vida, Lizbeth, por cuidarme siempre, amarme a pesar de todas las diferencias que tenemos.

A mis padres Rosi y Bernardo porque me enseñaron el valor de la vida, de las cosas y de los sentimientos, por su guía, por su amor y por todo lo que me han dado que me llevó hasta este momento de mi vida, gracias por siempre impulsar mis sueños y celebrar mis logros, los amo.

A ti Ernesto, por tu paciencia, amor y compañía en esta travesía.

Índice general

Abreviaturas y acrónimos.....	1
Resumen.....	5
I. Introducción.....	6
II. Antecedentes.....	8
II.I Obesidad y condiciones asociadas.....	8
II.II Síndrome metabólico.....	8
II.III Tejido adiposo.....	9
II.IV Compuestos bioactivos y polifenólicos.....	11
II.V Las plantas y su aplicación medicinal en México.....	12
II.VI <i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Willd.....	13
II.VI.I Usos.....	14
II.VI.II Toxicidad.....	16
II.VI.III Composición química.....	16
II.VI.IV Contenido de fenoles, flavonoides, carotenoides y actividad antioxidante.....	18
II.VII Estudios previos con el género <i>Vachellia</i>	18
II.VII.I Fitoquímicos presentes en el género <i>Vachellia</i>	19
II.VII.II Compuestos bioactivos: ácido gálico, quercetina y metil galato.....	19
II.VII.III Estudios similares: polifenoles del género <i>Vachellia</i>	21
II.VIII Cepa de ratones utilizada como modelo de obesidad.....	22
II.IX Tratamientos experimentales.....	23
III. Objetivos.....	26
III.I Objetivo general.....	26
III.II Objetivos particulares.....	26
IV. Justificación.....	27
V. Hipótesis.....	28
VI. Materiales y métodos.....	29
VI.I <i>Vachellia farnesiana</i> : harina y extracto.....	29

VI.II	Elaboración de dietas experimentales.....	31
VI.III	Alimentación de los ratones.....	34
VI.IV	Determinación de la ganancia de peso y consumo de alimento...	36
VI.V	Evaluación de la composición corporal.....	36
VI.VI	Evaluación del gasto energético y coeficiente de intercambio respiratorio.....	36
VI.VII	Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa (ipGTT).....	38
VI.VIII	Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina (ipITT).....	39
VI.IX	Eutanasia.....	40
VI.X	Determinación de parámetros bioquímicos en suero.....	40
VI.XI	Obtención de muestras y tejidos.....	40
VI.XII	Análisis estadísticos.....	42
VII.	Resultados y discusión.....	43
VII.I	Determinación de la ganancia de peso.....	44
VII.II	Determinación del consumo de alimento.....	47
VII.III	Evaluación de la composición corporal.....	49
VII.IV	Evaluación del gasto energético y coeficiente de intercambio respiratorio.....	53
VII.V	Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa (ipGTT).....	59
VII.VI	Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina (ipITT).....	61
VII.VII	Parámetros bioquímicos en suero.....	67
VII.VIII	Histología de tejidos.....	69
VIII.	Conclusiones.....	81
IX.	Perspectivas.....	82
X.	Bibliografía.....	83
XI.	Anexos.....	97
Anexo I.	Carta de aceptación de protocolo.....	97
Anexo II.	Formatos de registro de peso.....	98
Anexo III.	Formatos de registro de consumo de alimento.....	105

Índice de figuras

Figura 1.	<i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Willd.....	13
Figura 2.	Ácido gálico y quercetina.....	20
Figura 3.	Metil galato.....	20
Figura 4.	Ganancia de peso respecto a la edad de ratones C57BL/6.....	22
Figura 5.	Harina y extracto de los frutos de <i>Vachellia farnesiana</i>	30
Figura 6.	Pasta y galletas de las diferentes dietas experimentales.....	33
Figura 7.	Condiciones de enriquecimiento ambiental de los ratones C57BL/6 durante el estudio.....	35
Figura 8.	Cámaras de plexigas.....	37
Figura 9.	Peso corporal de los ratones al término del estudio.....	44
Figura 10.	Curva de crecimiento de los ratones durante 14 semanas.....	46
Figura 11.	Consumo de alimento a lo largo del estudio.....	48
Figura 12.	Composición corporal de los animales a la semana 9 de estudio.	49
Figura 13.	Gasto energético de los diferentes tratamientos dietarios a la semana 9 de estudio.....	54
Figura 14.	Parámetros evaluados en los periodos de ayuno y posprandio...	56
Figura 15.	Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa.....	60
Figura 16.	Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina.....	62
Figura 17.	Islotes pancreáticos representativos de cada dieta al término del estudio.....	64
Figura 18.	Análisis estadístico de islotes pancreáticos.....	66
Figura 19.	Evaluación de parámetros bioquímicos en suero.....	67
Figura 20.	Secciones de tejidos adiposo representativas de cada dieta al término del estudio.....	70
Figura 21.	Análisis estadístico del tejido adiposo pardo.....	71
Figura 22.	Análisis estadístico del tejido adiposo visceral.....	72
Figura 23.	Análisis estadístico del tejido adiposo subcutáneo.....	73
Figura 24.	Secciones de tejido hepático representativas de cada dieta al término del estudio.....	75

Figura 25.	Área vacuolar de lípidos en el tejido hepático representativos de cada dieta al término del estudio.....	77
Figura 26.	Propuesta de acción de los frutos de <i>Vachellia farnesiana</i> sobre las alteraciones metabólicas en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.....	79

Índice de cuadros

Cuadro 1.	Composición química y contenido mineral de los frutos de <i>V. farnesiana</i>	17
Cuadro 2.	Examen fitoquímico y antioxidante de los frutos de <i>V. farnesiana</i>	18
Cuadro 3.	Distribución de los componentes de las dietas para los diferentes tratamientos experimentales y contenido energético teórico.....	32
Cuadro 4.	Condiciones ambientales del cuarto donde se albergaron a los ratones durante el periodo experimental.....	35
Cuadro 5.	Descripción de las soluciones y concentraciones para la deshidratación de las muestras de tejidos.....	41

Abreviaturas y acrónimos

°C	Grados Celsius
µL	microlitro
µm	micras
µm ²	micrómetro cuadrado
µmol	micro mol
3T3-L1	Línea celular proveniente de ratones para investigación biológica del tejido adiposo
ABTS·+	Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
ACC	Acetil-CoA carboxilasa
ACO	Acil CoA oxidasa
ADF	Fibra detergente ácida
AE	Extracto acuoso
AF	<i>Acacia farnesiana</i>
AIN	American Institute of Nutrition
ANOVA	Análisis de varianza
AUC	Área bajo la curva
BS	Base seca
C57BL/6	Cepa de ratones susceptible a obesidad inducida por dieta
CAET	Capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox
CE	Extracto clorofórmico
CICUAL	Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio
CO ₂	Dióxido de carbono
Control	Dieta control
CPT1	Carnitina palmitoiltransferasa I
DAG	Dieta alta en grasa
DAG+0.1 MG	Dieta alta en grasa más 0.1% de metil galato
DAG+0.5 EVF	Dieta alta en grasa más 0.5% del extracto de <i>Vachellia farnesiana</i>

DAG+1 EVF	Dieta alta en grasa más 1% del extracto de <i>Vachellia farnesiana</i>
DAG+10 HFV	Dieta alta en grasa más 10% de harina de los frutos de <i>Vachellia farnesiana</i>
DAG+2 EVF	Dieta alta en grasa más 2% del extracto de <i>Vachellia farnesiana</i>
DIEB	Departamento de Investigación Experimental y Bioterio
DPPH+	Radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EEM	Error estándar de la media
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ER	Equivalentes de retinol
EVF	Extracto de <i>Vachellia farnesiana</i>
FAS	Ácido graso sintasa
FES	Facultad de Estudios Superiores
FVF	Frutos de <i>Vachellia farnesiana</i>
g	gramo
GLUT4	Proteína transportadora de glucosa tipo 4
GPA	Ganancia de peso acumulada
GRx	Glutarredoxina
H/E	Tinción de hematoxilina/eosina
HCN	Ácido cianhídrico
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HE	Extracto hexánico
HFV	Harina de los Frutos de <i>Vachellia farnesiana</i>
HOMA-IR	Índice de resistencia a la insulina (homeostatic model assessment)
IL-6	Interleucina-6
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública
ipGTT	Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa
ipITT	Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina

kcal	kilocalorías
KE	Extracto cetónico
kg	kilogramo
KKAy	Cepa de ratones homocigotos para la mutación espontánea amarilla (Ay)
LPS	Lipopolisacárido
m	metro
m/v	Concentración masa/volumen
MAPK	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
ME	Extracto metanólico
MEAE	Extracto metanólico:acuoso (80:20 v/v)
MG	Metil galato
mg	miligramo
mg/dL	miligramo por decilitro
min	minuto
mL	mililitro
mL/kg/h	mililitro por kilogramo por hora
mM	milimol
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
MS	Masa seca
NAFLD	Enfermedad del hígado graso no alcohólico (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)
NASH	Esteatohepatitis no alcohólica (Non-Alcoholic SteatoHepatitis)
NDF	Fibra detergente neutra
nm	nanómetro
O ₂	Oxígeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Polifenoles de Acacia
PPAR α	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa
PPAR γ	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma
PPAR δ	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas delta

RER	Coeficiente de intercambio respiratorio
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
SOD1	Superóxido dismutasa-1
SOD2	Superóxido dismutasa-2
SREBP-1c	Proteína de unión a elementos reguladores de esterol-1c
TAB	Tejido adiposo blanco
TAP	Tejido adiposo pardo
TAS	Tejido adiposo subcutáneo
TAV	Tejido adiposo visceral
TBARS	Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico
TNF- α	Factor de necrosis tumoral-alfa (Tumor Necrosis Factor)
UCP3	Proteína de desacoplamiento mitocondrial 3
UI/kg	Unidades internacionales por kilogramo
UI/mL	Unidades internacionales por mililitro
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
v/v	Concentración volumen/volumen
VCAM-1	Molécula 1 de adhesión celular vascular
VF	<i>Vachellia farnesiana</i>
VO ₂	Volumen de oxígeno consumido

Resumen

A lo largo de la historia, las plantas se han utilizado para el tratamiento de diferentes enfermedades en todo el mundo, ya que son fuente de compuestos bioactivos, algunos de ellos con efecto farmacológico. Los frutos de *Vachellia farnesiana* poseen polifenoles, flavonoides, carotenoides, ácidos grasos mono y poliinsaturados, entre otros compuestos con potentes cualidades antioxidantes y antiinflamatorias.

En este estudio, se propusieron cuatro alternativas dietarias incorporando *Vachellia farnesiana* para mitigar las alteraciones de la obesidad en ratones machos C57BL/6 alimentados con dietas altas en grasa (40.87%). Se establecieron siete tratamientos dietarios con seis animales por grupo. 1) dieta Control (C), 2) dieta alta en grasa (DAG), 3) DAG más 0.1% de metil galato (DAG+0.1 MG), 4) DAG más 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10 HFV), 5) DAG más 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+5 EVF), 6) DAG más 1% de EVF (DAG+10 EVF), 7) DAG más 2% de EVF (DAG+20 EVF). Se evaluó el consumo de alimento, el peso corporal, la composición corporal, el gasto energético, la tolerancia a la glucosa, y la sensibilidad a la insulina, a lo largo de 14 semanas; *post mortem* se evaluó la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos en el suero, además del análisis de la morfología de tejido adiposo subcutáneo, tejido adiposo visceral, tejido adiposo pardo, hígado y páncreas.

Los animales que fueron alimentados con dietas altas en grasa suplementadas con HFV o EVF mostraron una disminución en el porcentaje de masa grasa, con respecto al tratamiento de DAG, dicho efecto contribuyó al aumento del gasto energético por lo que se observó un mayor consumo de oxígeno. Esto, además, favoreció la tolerancia a la glucosa por lo que se previno la resistencia a la insulina, efecto que se observó mayormente en el grupo de DAG+10% HFV estos parámetros fueron significativamente similares a los observados en el grupo Control. Adicionalmente, no se presentó la hipertrofia de los tejidos adiposos: subcutáneo, pardo y visceral, mientras que, en el hígado se previno la esteatosis. Con estos resultados es posible afirmar que la incorporación de la harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* o sus extractos en una DAG para roedores, previno las alteraciones metabólicas derivadas de la obesidad.

I. Introducción

La prevalencia mundial de la obesidad ha aumentado sustancialmente durante los últimos 40 años, como consecuencia de un ambiente obesogénico, que incluye cambios en los sistemas alimentarios y la reducción de la actividad física. Para combatir esta epidemia se han implementado, diversos programas y políticas, con resultados poco significativos.

Según la OMS ([OMS, 2020](#)), la obesidad y el sobrepeso son estados en los que se presenta una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, además es un factor de riesgo para muchas enfermedades crónicas, como diabetes tipo 2, cáncer y enfermedades cardiovasculares, lo que puede resultar en el desarrollo del síndrome metabólico y enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD).

Desde la antigüedad, el filósofo Hipócrates (Grecia, 460-371 a. C.) empleaba la frase: “que tu alimento sea tu medicina...”; se sabe que separó la medicina de la religión para concluir que las enfermedades eran consecuencia de factores ambientales, dietarios y hábitos de vida. En la actualidad se ha optado por integrar en la dieta recursos que no solo aporten nutrimentos, si no que adicionalmente ayuden a prevenir o retardar el desarrollo de ciertas enfermedades, además de promover efectos positivos prolongados en la salud.

En este sentido, los compuestos bioactivos están presentes en una amplia gama de recursos naturales; forman parte de la cadena alimentaria y por consiguiente tienen efecto sobre la salud humana.

Por otro lado, el término “alimento funcional” se ha empleado para referirse a los alimentos que proporcionan efectos benéficos en la salud, además de su aporte nutrimental; las propiedades que poseen dichos alimentos, provienen de los compuestos bioactivos que están presentes naturalmente. Las frutas, verduras, semillas, cereales, legumbres, y los productos marinos contienen compuestos bioactivos, los cuales pueden ser incorporados al ser humano a través de la dieta.

Paralelamente, se ha trabajado en el desarrollo de concentrados bioactivos o de aislados de compuestos específicos que posean las propiedades benéficas preventivas, o incluso terapéuticas.

La identificación de nuevas alternativas dietarias utilizando recursos vegetales no convencionales para el tratamiento de la obesidad y sus condiciones asociadas; es un reto dado la condición actual de la prevalencia de obesidad en México, que ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad infantil. En el año 2012, los adultos mayores de 20 años reflejaron una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 71.3%, condición que para el 2018 se incrementó 4.1 puntos porcentuales, de acuerdo a lo reportado en la ENSANUT realizada por el INSP ([INSP, 2018](#)).

En el presente trabajo se propusieron alternativas dietarias empleando los frutos de *Vachellia farnesiana* como parte del tratamiento de esta enfermedad debido a las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que se han observado en estudios previos.

Con esta metodología se buscó que al incorporar la harina o bien, un extracto polifenólico proveniente de los frutos de *Vachellia farnesiana* en una dieta alta en grasa se redujera el aumento de peso corporal, la masa grasa, se mejorara la tolerancia a la glucosa; entre otros parámetros metabólicos comprometidos durante la obesidad.

Para corroborar que los frutos de *Vachellia farnesiana* puedan ser utilizados como tratamiento para el sobrepeso y la obesidad, se trabajó con un modelo murino de obesidad y se elaboraron los diferentes tratamientos dietarios que posteriormente fueron administrados a ratones machos de la cepa C57BL/6 durante 14 semanas.

Durante este periodo se llevó el seguimiento del consumo diario de alimento, así como la ganancia de peso semanal. Se evaluaron la composición corporal, el gasto energético así como la tolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina. Al término de las 14 semanas, los animales fueron eutanasiados para la recolección de suero, muestras de tejidos y órganos.

II. Antecedentes

II. I Obesidad y condiciones asociadas

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. A nivel mundial el sobrepeso y la obesidad están vinculados con un mayor número de muertes que la insuficiencia alimenticia, en general hay más personas obesas respecto a las que se ubican con un peso corporal inferior al normal.

Las causas que dan origen al desarrollo de la obesidad y el sobrepeso son multifactoriales, pero por lo general, estos estados son causados por un balance energético positivo, es decir, se consume una mayor cantidad de energía que la que se gasta. A nivel mundial, esto se ha asociado con la ingesta de alimentos con alto contenido calórico, además de altos niveles de grasa y una disminución dramática de la actividad física llevando a un estilo de vida sedentario (OMS, 2020).

La obesidad incrementa significativamente el riesgo de desarrollar trastornos metabólicos como: hipertensión, cardiopatía coronaria, accidentes cerebrovasculares y varios tipos de cáncer. De manera contrastante; además, se calcula que hasta el 30% de los pacientes obesos son metabólicamente sanos con una sensibilidad a la insulina similar a la de personas con normo peso (Blüher, 2012; Blüher y Schwarz, 2014).

II. II Síndrome metabólico

El síndrome metabólico se define por la presencia de tres o más de las siguientes condiciones: (1) aumento de la circunferencia de la cintura, (2) hipertrigliceridemia, (3) hipertensión, (4) concentración de glucosa en ayuno por arriba de 130 mg/dL y (5) nivel de lipoproteína de alta densidad (HDL) baja. La resistencia a la insulina es el denominador patógeno que une todos los componentes del síndrome metabólico y ahora se reconoce como el factor de riesgo más común para el desarrollo de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) (Chang *et al.*, 2019).

La enfermedad del hígado graso no alcohólico, y el síndrome metabólico frecuentemente coexisten y el 90% de los pacientes con NAFLD tienen más de una manifestación del síndrome metabólico, pero la realidad es que la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en estos pacientes ([Almeda-Valdes et al., 2014](#)).

II. III Tejido adiposo

La obesidad también se caracteriza por un aumento del tejido adiposo corporal, este se torna disfuncional, con un trastorno crónico inflamatorio de bajo grado y daño en diversos órganos, entre ellos el hígado y el riñón ([Wolf, 2002](#)).

El tejido adiposo se considera como un anexo útil que brinda protección, calor y energía; además, investigaciones recientes lo han colocado como un órgano con funciones neuroinmuno-endócrinas, ya que produce hormonas, antimicrobianos, citocinas y adipocinas que participan en la función de diferentes células y órganos, lo cual interviene en la defensa y homeostasis del organismo ([Vega-Robledo et al., 2019](#)).

El tejido adiposo blanco es el más abundante en todo el organismo y se deposita en diferentes áreas:

- Subcutáneo: abarca el 80% del total, provee aislamiento térmico y tiene menor relación con el daño metabólico secundario a la obesidad, pero se ha asociado a trombosis venosa ([Vilahur et al., 2017](#)) y disfunción de las células progenitoras ([Pachón-Peña et al., 2016](#)).
- Visceral: ocupa los espacios entre los órganos abdominales y los mantiene en su lugar, los adipocitos en el tejido adiposo visceral (TAV) expresan mayor número de receptores para corticoides y en la obesidad se sobre expresa la enzima 11 beta-hidroxisteroide dehidrogenasa, que activa a los glucocorticoides inactivos, favoreciendo la diferenciación de los adipocitos, estimulando el proceso de la adipogénesis y con ello la hipertrofia de la grasa visceral ([Wolf, 2002](#)).

El tejido adiposo pardo (TAP) se considera termogénico (Fedorenko *et al.*, 2012), sus células son de menor tamaño que las del blanco, su color refleja los citocromos presentes en sus numerosas mitocondrias, predomina en los recién nacidos, y en los adultos se localiza en el cuello (Kajimura *et al.*, 2015), disperso en el tejido blanco y en regiones intraescapular y supraclavicular, en los ancianos y personas obesas está casi ausente (Nedergaard *et al.*, 2007).

Las funciones del TAP son principalmente (Svensson *et al.*, 2016, Long *et al.*, 2016):

- Termogénesis adaptativa, por lo que regula la temperatura corporal.
- Homeostasis metabólica: disminuye los triglicéridos circulantes y funciona como almacén de glucosa.
- Secreción de: prostaglandinas, óxido nítrico, adiposina, citocinas y batocinas.

Los tejidos adiposos, subcutáneo (TAS) y visceral (TAV) almacenan el exceso de energía como triglicéridos y sintetizan la adiponectina para prevenir la acumulación de lípidos ectópicos y la lipotoxicidad. En la obesidad se presenta, un deterioro en la capacidad del TAS para almacenar triglicéridos y sintetizar adiponectina, asociado con una mayor liberación de ácidos grasos libres, lo que conduce a la hipertrofia del TAV y la lipotoxicidad del músculo hepático y esquelético (Torre-Villalvazo *et al.*, 2018).

En el tejido adiposo visceral (TAV) una de las adipocinas más estudiadas ha sido la adiponectina, un sensibilizador de la insulina, además de la leptina, una hormona que también se asocia con la patogénesis de la NAFLD. La obesidad se considera un estado de resistencia a la leptina central y periférica, y las personas obesas, así como las personas con NAFLD y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), presentan niveles circulantes más altos de esta hormona. La leptina regula también el consumo de energía y el gasto energético, el metabolismo y la función reproductiva, previniendo la acumulación de lípidos en los tejidos no adiposos, como el hígado (Milić *et al.*, 2014).

II. IV Compuestos bioactivos y polifenólicos

Los compuestos bioactivos provienen principalmente de alimentos de origen vegetal; a pesar de no tener una función nutricional clásicamente definida y de no considerarse indispensables para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad o incluso, favorecer la salud a largo plazo ([Martínez-Navarrete et al., 2008](#)).

Estudios recientes han demostrado que el consumo de compuestos bioactivos con baja toxicidad, se asocia positivamente a la reducción del riesgo de obesidad y sus enfermedades crónicas asociadas. El desarrollo de nuevos tratamientos dietéticos basados en estos componentes ha surgido como una posible estrategia de intervención ([Lee et al., 2017](#)).

En el reino vegetal se distinguen cuatro grandes grupos de compuestos bioactivos, entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas: nitrogenados, azufrados, terpénicos y fenólicos (los más ampliamente estudiados) ([Tomás-Barberán, 2003](#)).

Los compuestos fenólicos se clasifican en flavonoides, fenilpropanoides, estilbenoides y derivados del ácido benzoico; dentro de esta clasificación existe una gran cantidad de compuestos diferentes, tan solo de los flavonoides se conocen más de 5000 compuestos ([Harborne, 1994](#)). A pesar de la diversidad de los compuestos fenólicos, estos comparten una característica, ya que, contienen, al menos, un anillo aromático con un grupo hidroxilo unido a él.

En las plantas, los polifenoles promueven la supervivencia y actúan como polinizadores, protegiendo contra la radiación ultravioleta y eliminando especies reactivas de oxígeno (ROS) ([Crozier et al., 2009](#)). Además de proteger a las plantas, estos beneficios protectores se pueden transferir a la salud humana, promoviendo la longevidad al disminuir la incidencia de enfermedades crónicas ([Serino y Salazar, 2019](#)).

Diversos estudios han utilizado extractos de polifenoles purificados o frutas con alto contenido de compuestos bioactivos en modelos animales con diferentes enfermedades humanas. Por ejemplo, [Yang et al., 2016](#) demostraron que los polifenoles de bayas de espino amarillo (*Hippophae*) redujeron los niveles de TNF- α e IL-6, mientras se aumentaba la actividad de enzimas oxidantes.

En un ensayo en fumadores se evaluó el efecto dietario con arándanos, se observó una mayor actividad antioxidante de las superóxido dismutasa 1 (SOD1) y superóxido dismutasa 2 (SOD2); además de la Glutarredoxina (GRx), así como una reducción de la peroxidación lipídica. Adicionalmente, el consumo de arándanos redujo la disfunción de las arterias periféricas tanto en los sujetos masculinos fumadores como en los no fumadores, después de 2 horas del consumo de 300 g de arándanos ([Wu et al., 2010](#); [Del Bo et al., 2017](#)).

En otro ensayo en pacientes femeninas con síndrome metabólico, el consumo de 4 tazas diarias de fresas liofilizadas durante 8 semanas, permitió la reducción del colesterol LDL y los niveles de la proteína o molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) ([Basu et al., 2010](#)).

II. V Las plantas y su aplicación medicinal en México

Las plantas se han utilizado para el tratamiento de diferentes enfermedades en todo el mundo, en México son un elemento muy importante de la medicina tradicional y varias de ellas son consideradas patrimonio cultural mexicano desde la época prehispánica y colonial, ya que son fuente de compuestos bioactivos que pueden ser curas efectivas contra diferentes enfermedades. El género *Vachellia* antes conocido como *Acacia* fue descrito por primera vez por Philip Miller en 1754, y se estima que hay aproximadamente 1,380 especies en todo el mundo, de las cuales aproximadamente dos tercios son nativas de Australia, y el resto se ubican en regiones tropicales y subtropicales ([Hernández-García et al., 2018](#)).

II. VI *Vachellia farnesiana* (L.) Willd

Vachellia farnesiana, conocida antes como *Acacia farnesiana*, fue descrita por Carlos Linneo como *Mimosa farnesiana* (basiónimo) en *Species Plantarum, Editio quarta* y publicada por Carl Ludwig Willdenow en 1806 ([Linnaei species plantarum](#)).

En 2005, el polifilético género *Acacia* fue desmembrado en cinco géneros monofiléticos con las especies del subgénero *Acacia* desplazadas al nuevo género *Vachellia*, quedando esta especie como especie tipo de este género. Recientemente hubo nuevas actualizaciones en la nomenclatura botánica transfiriendo específicamente a *Acacia farnesiana* al género *Vachellia*, por lo que ahora se denomina *Vachellia farnesiana* ([Seigler y Ebinger., 2005](#)); durante el desarrollo de esta tesis se tuvo conocimiento de dicho cambio, por lo que se adaptó el nuevo nombre a lo largo del presente documento.

Vachellia farnesiana es un arbusto espinoso o árbol pequeño, de 1 a 2 m de altura para la forma arbustiva y de 3 a 10 m para la forma arbórea (Figura 1A), es originaria de América tropical, naturalizada en todo el mundo tropical y en el Mediterráneo, presenta flores amarillas brillantes que están apiñadas en bolas densas y mullidas (Figura 1B) y con frecuencia cubren el árbol; sus frutos son vainas de color verde que al madurar presentan un color café oscuro a rojizo, semiduras, subcilíndricas, que permanecen en el árbol después de madurar, extendiéndose su presencia y abundancia durante la época de estiaje.

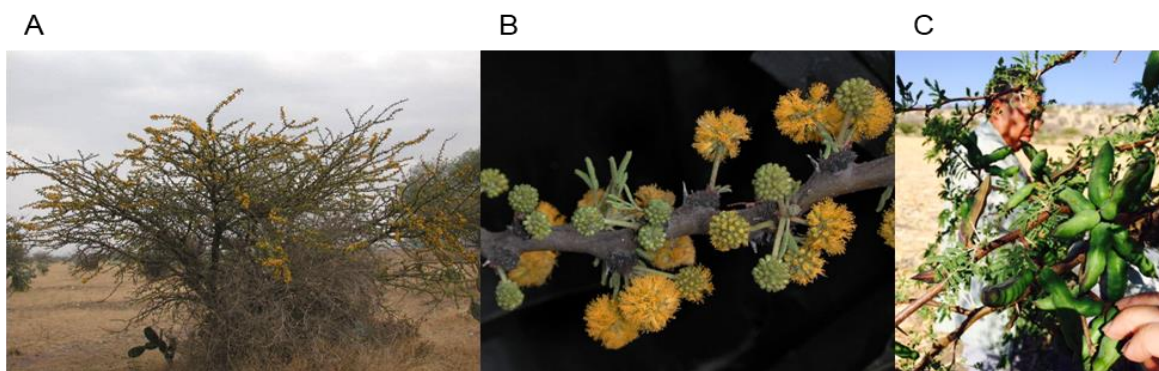


Figura 1. *Vachellia farnesiana* (L.) Willd A) Arbusto y hábitat, B) Flores y C) Frutos.

Fotos tomadas de conabio.gob.mx

II. VI.I Usos

Comúnmente conocida en México como "huizache", que proviene del náhuatl *huixachin* y significa "planta espinosa, con abundantes espinas" ([Gran Diccionario Náhuatl, 2012](#)), *Vachellia farnesiana* tiene usos diversos, algunos de los más destacables, son: como **adhesivo**, la goma que mana del tronco se utiliza como sustituto de la goma arábiga y se utiliza como mucílago; como **aromatizante**, el aceite esencial se obtiene de las flores por maceración en manteca de cacao o en aceite de coco, tiene olor a violetas y su principal uso es en la industria de la perfumería; como **colorante**, las flores y frutos poseen pigmentos que se utilizan para teñir telas de seda y papel tapiz, la vaina cuando es pulverizada y hervida produce un líquido negro que se utiliza como tinta; los usos más destacables del huizache son el forrajero y el medicinal ([Acacia farnesiana \(L.\) Willd, 1806](#)).

- Forrajero

La abundancia de *Vachellia farnesiana* la ha convertido en un recurso forrajero importante, en especial el follaje, hojas, y frutos son ampliamente utilizados como forraje para el ganado vacuno y caprino, las vainas o frutos contienen entre 17 y 21% de proteína ([CONAFOR, 2020](#)). El huizache conserva sus frutos durante la estación seca por lo que se utiliza como alimento para ovejas y cabras. En algunos estados de la República Mexicana, en la época de invierno (máxima producción) donde los meses son secos, los agricultores recolectan las vainas enteras de huizache, las muelen o las ofrecen enteras, para alimentar a su ganado ([García-Winder et al., 2009](#)).

En 2015 [Delgadillo y colaboradores](#), realizaron estudios con las vainas de *Acacia shaffneri* y *Acacia farnesiana* que se daban al ganado caprino en la época de estiaje, encontrando indicios de que los extractos de las vainas podían transferir los compuestos antioxidantes, y los efectos protectores a los productos obtenidos de los animales como la leche, queso, carne, así como, a otros subproductos.

En 2020, este equipo de trabajo, indujo a la obesidad a ratones machos C57BL/6 alimentándolos con dietas altas en grasa (32%) con base en la leche de cabra proveniente de animales alimentados estratégicamente con *Acacia farnesiana* (AF). Al final del estudio se demostró que los ratones alimentados con una DAG basada en leche caprina y suplementada con AF, reportaron un mayor consumo de oxígeno y gasto de energía, no presentaron acumulación de masa grasa, se previno la resistencia a la insulina, la inflamación del hígado por mencionar algunos de los efectos benéficos más relevantes.

Los autores concluyeron que la suplementación con *Acacia farnesiana* en la dieta de las cabras puede incrementar la presencia de compuestos bioactivos de la leche, representando así un impacto beneficioso en la salud del consumidor (Delgadillo-Puga *et al.*, 2020).

- Medicinal

Las semillas y vainas de *Vachellia farnesiana* se utilizan en la medicina tradicional mexicana para tratar la disentería, la tuberculosis y como agentes antiespasmódicos y astringentes. Se ha reportado que diversos extractos polares obtenidos de distintas partes de la planta presentan propiedades antidiarreicas, antioxidantes y antibacterianas.

Diversos compuestos han sido aislados a partir de distintas partes de *A. farnesiana* para la identificación de su estructura química; destacando la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, diterpenos y triterpenos con actividad citotóxica; además de un polialcohol, una proteína con actividad antiinflamatoria y un aminoácido, entre otros, el conjunto de estos compuestos demostraron tener una importante actividad antimicrobiana sobre *Mycobacterium tuberculosis* multiresistente (Hernández-García *et al.*, 2019).

II. VI.II Toxicidad

Las especies del género *Vachellia* pueden contener derivados de la dimetiltriptamina y glucósidos cianogénicos como la linamarina y lotaustralina en las hojas, las semillas y la corteza (Secor *et al.*, 1976; Seigler *et al.*, 1979; EFSA, 2012).

Los glucósidos cianogénicos son toxinas vegetales derivadas de aminoácidos producidas como metabolitos secundarios de las plantas que funcionan como defensa, cuando se ingieren y se hidrolizan liberan ácido cianhídrico (HCN), el cual puede producir daño tisular (Hernauer, 1997; Bolorinwa *et al.*, 2016).

Sobre la línea de investigación de los frutos de *A. farnesiana*, la composición química es una parte fundamental, esta fue realizada por Hernández-García *et al.*, (2019), y se reportó que no hay presencia de glucósidos cianogénicos en los extractos analizados, que se describen en las secciones siguientes.

II. VI.III Composición química

Por su parte, García-Winder y colaboradores, realizaron el análisis químico proximal a muestras de vainas de huizache enteras para determinar el contenido de: materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra cruda y extracto etéreo, determinando el contenido de carbohidratos por diferencia (Van Soest *et al.*, 1991). Los resultados de estas determinaciones se presentan a continuación en el Cuadro 1.

Los taninos condensados y el contenido total de taninos en las vainas de huizache se obtuvieron empleando espectrofotometría, determinando la absorbancia a 258 nm en condiciones ácidas en etanol, siguiendo la metodología validada por Gutiérrez *et al.*, 2000. El contenido de taninos condensados y totales fue de 21 y 29 g/kg de materia seca respectivamente (García-Winder *et al.*, 2009).

En el Cuadro 1 también se presenta el contenido de minerales de los frutos de *Acacia farnesiana*, ahora llamada *Vachellia farnesiana*.

Cuadro 1. Composición química expresada en g / 100 g y contenido mineral expresado en mg / 100 g materia en base seca (BS) de los frutos de *V. farnesiana*.

Contenido	g / 100 g
Humedad	7.24
Cenizas	3.46
Proteína	9.67
Fibra cruda	10.52
Extracto etéreo	0.88
Hidratos de carbono	68.23

Mineral	mg / 100 g BS
Fósforo	21.97 ± 1.41
Potasio	276.0 ± 31.11
Sodio	4.05 ± 1.41
Calcio y magnesio	135.56 ± 21.21

Adaptada de [Hannachi et al., 2011](#) por el autor.

II. VI.IV Contenido de fenoles, flavonoides, carotenoides y actividad antioxidante

Por otra parte, también se ha determinado el contenido total de fenoles, flavonoides, carotenoides así como la actividad antioxidante de *Vachellia farnesiana*, esta última a través de la estabilidad de los radicales libre DPPH⁺ y ABTS^{•+} (Cuadro 2).

Cuadro 2. Examen fitoquímico y antioxidante de los frutos de *V. farnesiana*.

Compuesto bioactivo	Contenido	Unidades
Fenólicos totales	275.98 ± 20.00	mg EAG/100 g MS
Flavonoides totales	12.10 ± 1.73	mg ER/100 g MS
Carotenoides	1.20 ± 0.18	mg/kg
DPPH ⁺	0.78 ± 0.06	CAET mM
ABTS ^{•+}	2.45 ± 0.20	CAET mM

Masa seca (MS); Equivalentes de ácido gálico (EAG); Equivalentes de retinol (ER); Capacidad antioxidante en equivalentes de trolox (CAET). Adaptada de [Hannachi et al., 2011](#) por el autor.

II. VII Estudios previos con el género *Vachellia*

Como parte de los trabajos de investigación que se han realizado en el género de *Acacia*, se destacan los resultados reportados por [Ikarashi y colaboradores en 2011](#), quienes obtuvieron un extracto acuoso de la corteza de *Acacia meansii* el cual fue definido como: polifenoles de *Acacia* (PA); una vez caracterizado se reportó una alta concentración de catequinas, entre las que se destacan los flavan-3-oles, robinetinidol y fisetinidol.

Así mismo, en el estudio de los frutos de *Vachellia* antes *Acacia farnesiana* (FVF) que nuestro grupo de investigación ha realizado, se reportó una alta actividad antioxidante y la protección contra el daño oxidativo inducido con peróxido de hidrógeno sobre células renales porcinas, de seis extractos provenientes de los FVF: clorofórmico (CE), hexánico (HE), cetónico (KE), metanólico (ME), metanólico:acuoso (80:20 v/v, MEAE) y un acuoso (AE). Además, se evaluó la

capacidad de estos extractos para frenar el proceso de inflamación en un modelo *in vivo* (ratones machos CD-1), reportando la regulación a la baja de los mediadores proinflamatorios (Delgadillo-Puga *et al.*, 2018).

En este mismo estudio, se reportó que el extracto metanólico:acuoso (80:20 v/v) contenía una cantidad importante de polifenoles totales (399 mg equivalentes de ácido gálico/100 g materia seca), y presentó un mejor rendimiento de actividad antioxidante (516 μ mol de equivalentes de Trolox/g de extracto), siendo el extracto más activo para proteger a las células renales frente al daño oxidante.

II. VII.I Fitoquímicos presentes en el género *Vachellia*

Todo el género de *Acacia* contiene fenoles y algunos otros fitoquímicos como aminas, alcaloides, aceites esenciales, aminoácidos no proteicos, cumarinas, diterpenos, ácidos grasos, triterpenos, fitoesteroles, saponinas, flavonoides, gomas y taninos. La bioactividad y las propiedades promotoras de la salud de estos fitoquímicos incluyen la reducción de algunos trastornos crónicos, por ejemplo: cáncer, obesidad, envejecimiento y diabetes (Sathya y Siddhuraju, 2013).

Delgadillo-Puga y colaboradores (2018) identificaron en los FVF 12 compuestos fenólicos: metil galato, ácido gálico, los isómeros 1, 2, 3 de galoil glucosa, los isómeros 1, 2, 3, 4 de digaloil glucosa, acetato de hidroxitirosol, ácido quínico y ácido cafeoilámico.

II. VII.II Compuestos bioactivos: ácido gálico, quercetina y metil galato

El género *Acacia* también se destaca por la presencia de compuestos bioactivos con una potente actividad antioxidante como: ácido gálico, catequina y epicatequina, los cuales fueron identificados en los extractos KE, ME y MEAE los cuales fueron evaluados a través del ensayo de TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) y la captura del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); así mismo, estos extractos estuvieron estrechamente relacionados con la respuesta de la actividad antiinflamatoria *in vivo* (Delgadillo-Puga *et al.*, 2018).

Por su parte, el ácido gálico y la quercetina (Figura 2), son algunos de los fitoquímicos que también están presentes en los extractos de los frutos de *V. farnesiana*. La quercetina tiene la capacidad de inhibir la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), mientras que el ácido gálico, además de ser un potente estabilizador de radicales, tiene actividad antioxidante que está relacionada con la respuesta de actividad antiinflamatoria (Delgadillo-Puga *et al.*, 2018).

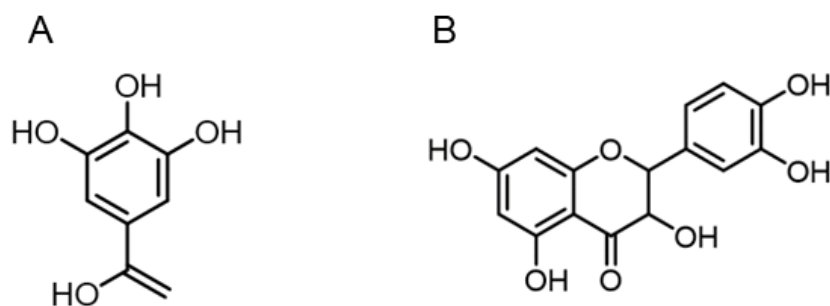


Figura 2. A) Ácido gálico B) quercetina

Por su parte, el metil galato (Figura 3) que corresponde químicamente el éster metílico del ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, es un compuesto fenólico bioactivo, que pertenece a la clase de compuestos derivados del ácido gálico, está presente en diferentes extractos de *V. farnesiana*, incluyendo el extracto metanol:agua.

Dicho compuesto posee propiedades antioxidantes y prooxidantes, inhibe el crecimiento de bacterias intestinales y en un estudio realizado por Changhyun Roh *en 2012*, se demostró el efecto del metil galato sobre la actividad inhibitoria de lípidos en adipocitos 3T3-L1.

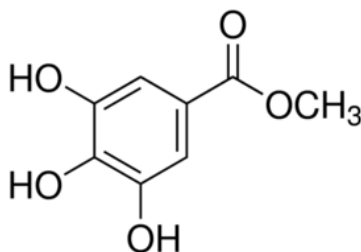


Figura 3. Metil galato.

En un estudio realizado por [Park et al., 2019](#), se evaluó el metil galato *in vivo* empleando ratones machos de la cepa C57BL/6 de 6 semanas de edad, a estos ratones se les administró el compuesto por vía oral, para probar su capacidad de protección frente a la lesión renal aguda inducida por la administración de lipopolisacárido (LPS). El metil galato, suprimió los niveles renales de especies reactivas de oxígeno, a través de un incremento en la actividad antioxidante, redujo la expresión génica de MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) relacionadas con el estrés oxidativo en los tejidos renales y exhibiendo a su vez sus propiedades antiinflamatorias.

II. VII.III Estudios similares: polifenoles del género *Vachellia*

En el estudio de [Ikarashi et al., \(2011\)](#) se emplearon ratones KKAY induciéndolos a la obesidad por dieta y suplementándolos con los polifenoles provenientes de un extracto de *Acacia meansii*; se describieron los mecanismos que estaban relacionados con la expresión de genes que regulan el gasto energético y la reducción de la resistencia a la glucosa establecida en el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo blanco.

Para dicho estudio se administraron dos concentraciones de los polifenoles de *Acacia* (PA), 2.5% y 5.0% en una dieta alta en grasa en ratones KKAY. Los resultados mostraron que la dieta alta en grasa adicionada con 5.0% de PA, registró resultados similares a la dieta Control; se suprimió el incremento en el peso corporal, la hipertrofia de los adipocitos del TAV, reduciendo la concentración de triglicéridos y colesterol sérico previniendo la esteatosis hepática. La concentración de glucosa e insulina en plasma, además del índice HOMA-IR resultaron favorecidos.

La expresión de genes y proteínas en el músculo esquelético se incrementaron, donde PPAR α , PPAR δ , CPT1, ACO, UCP3, tuvieron niveles más altos en los grupos tratados con los PA, además de que se incrementó la expresión de mRNA en GLUT4. En el hígado, la expresión génica relacionada con la síntesis de ácidos grasos (SREBP-1c, ACC y FAS) se redujo en los animales tratados con los

polifenoles de *Acacia* (PA). En el tejido adiposo blanco, se incrementó la expresión de mRNA de adiponectina y se redujo la expresión de TNF- α .

Finalmente, se concluyó que los polifenoles de *Acacia*, tienen un efecto anti-obesidad, además de esclarecer que suprime al hígado graso, suprime la hiperglucemia y la hiperinsulinemia; es decir presenta un efecto anti-diabetes causado por la obesidad inducida por una dieta alta en grasa.

II. VIII Cepa de ratones utilizada como modelo de obesidad

Cabe mencionar que la cepa de ratones a utilizar en el estudio C57BL/6, ha sido ampliamente utilizada debido a que es altamente susceptible a la obesidad inducida por dieta, además de desarrollar diabetes tipo 2 y aterosclerosis ([The Jackson Laboratory, 2021](#)).

En este estudio se emplearon ratones de aproximadamente 35 días (5 semanas), en este tiempo se alcanza un peso corporal aproximado de 20 g en ratones machos (Figura 4).

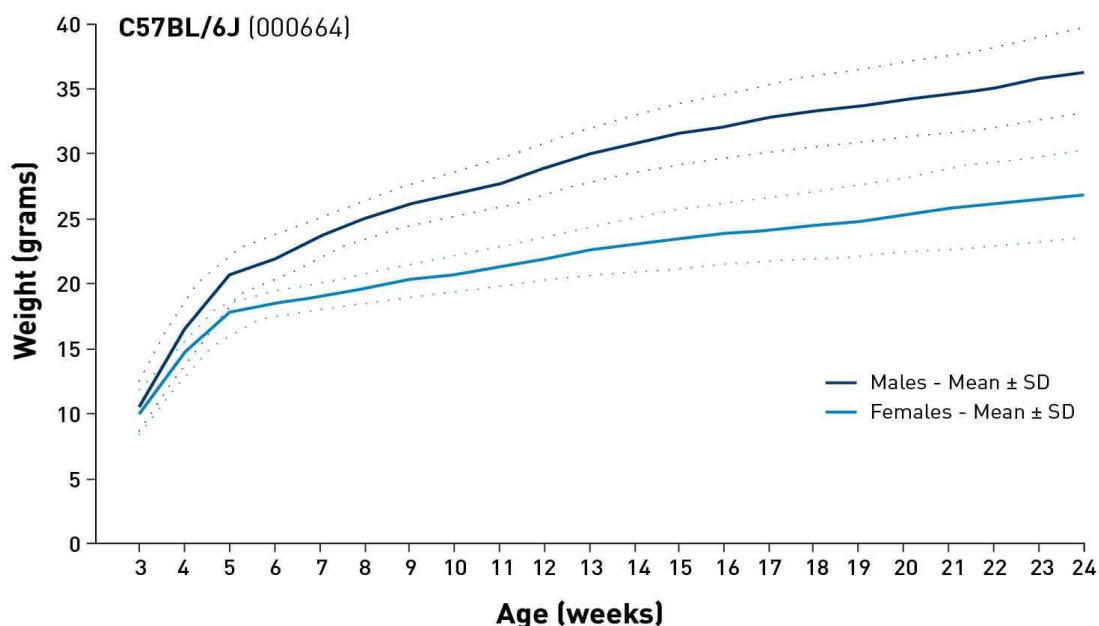


Figura 4. Ganancia de peso respecto a la edad de ratones C57BL/6.

Fuente: The Jackson Laboratory.

Nuestro estudio fue desarrollado durante 98 días, periodo en que se garantizó el establecimiento de la obesidad inducida por dieta, de acuerdo con estudios previos ([Rodríguez-Rodríguez et al., 2014](#) y [Mauhid et al., 2019](#)) en los cuales se administró durante 12 semanas una dieta alta en grasa para evaluar los efectos de los compuestos bioactivos de diferentes fuentes naturales frente a la obesidad.

El presente estudio experimental se consideró crónico ya que, de acuerdo con la Asociación Española de Toxicología, se mantiene a los animales en exposición prolongada (más de 90 días) al tratamiento, pudiendo observar efectos adversos de manera inmediata o a largo plazo ([AET, 1995](#)).

II. IX Tratamientos experimentales

Los tratamientos dietarios utilizados para este estudio, fueron elaborados de acuerdo a las recomendaciones del American Institute of Nutrition (AIN), rodent diet 93M, para el crecimiento y mantenimiento de los ratones.

La dieta Control fue elaborada de acuerdo a dichas recomendaciones y cubre los requerimientos energéticos necesarios para el crecimiento y mantenimiento de los ratones durante el tratamiento experimental, por lo que se considera un control energético respecto al resto de los tratamientos dietarios ([Reeves et al., 1993](#)).

La cantidad de grasa para las DAG se fijó en $40.87\% \pm 0.25$, que es un porcentaje que en esta línea de investigación ha mostrado buenos resultados y mantenimiento de los roedores durante las semanas de tratamiento. En diferentes estudios realizados en el mismo modelo animal se han utilizado diferentes cantidades de grasa, por ejemplo: en la suplementación con cúrcuma en una DAG para ratones C57BL/6 durante 12 semanas de tratamiento, se utilizó 61% de grasa ([Silva et al., 2019](#)).

En la búsqueda de los efectos preventivos del kaempferol sobre las complicaciones de la obesidad inducida por una DAG en ratones C57BL/6 se utilizó durante 8 semanas una DAG con 45% de grasa ([Wang et al., 2020](#)), en la más reciente publicación de nuestro equipo de trabajo, buscando la prevención de la obesidad

inducida por una DAG con la ingesta de leche caprina suplementada con los FVF se utilizó un 32% de grasa durante 12 semanas (Delgadillo-Puga *et al.*, 2020).

En relación al metil galato, este se utilizó como control positivo en el presente trabajo, se administró como compuesto aislado y puro (Sigma, 274194-5G), dicho compuesto se ha empleado en diversos estudios, encontrando que inhibió activamente la formación de lípidos y el contenido de triglicéridos en adipocitos 3T3-L1, pudiendo utilizarse como agente anti-obesidad (Roh *et al.*, 2012).

Este compuesto también está presente en diversos tés que se consumen en países asiáticos como Japón, China y Corea; han mostrado efectos inhibitorios sobre la α -amilasa y la lipasa, por lo que la digestión de carbohidratos y lípidos se vuelve más lenta, además, beneficia la estabilidad del sistema de la microbiota intestinal, especialmente cuando existe alguna alteración microbiana provocada por el medio ambiente en ratones con obesidad inducida por dieta (Zhang *et al.*, 2019).

Por otro lado, la incorporación de la harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* en una DAG para la prevención de la obesidad, no se ha reportado anteriormente, por lo que sería la primera vez que la matriz completa o tres concentraciones del extracto metanol:acuoso (MEAE), de esta especie se utiliza para el tratamiento de la obesidad inducida por dieta de ratones machos C57BL/6.

Cabe mencionar que nuestro equipo de trabajo ha estudiado por mucho tiempo las propiedades de *Vachellia farnesiana*, encontrando resultados alentadores que dieron motivación a este estudio, el más reciente estudio mostró que la suplementación de productos lácteos caprinos con los FVF incrementan el valor nutricional y el contenido de compuestos bioactivos de la leche (Delgadillo-Puga *et al.*, 2020).

En lo que respecta a la adición del extracto en diferentes concentraciones se eligió el extracto MEAE debido a los buenos resultados que mostró en los estudios realizados por Delgadillo-Puga *et al.*, 2018, con un buen desempeño antioxidante, en la protección de células renales similar a la quercetina frente al daño oxidativo,

pese a que el extracto acuoso fue el que presentó mayor contenido de polifenoles (565 mg EAG/100 g de MS) fue el menos efectivo en la actividad antioxidante.

El extracto acuoso, utilizado por [Ikarashi y colaboradores en 2011](#) mostró buenos resultados en concentraciones de 2.5% y 5.0%, en tan solo 7 semanas de estudio, razón por la cual en el presente estudio se fijaron las concentraciones en 0.5%, 1% y 2% del extracto de los FVF.

III. Objetivos

III. I Objetivo general:

Evaluar el efecto de diferentes alternativas dietarias elaboradas a partir de los frutos de *Vachellia farnesiana* para mitigar las alteraciones metabólicas de ratones machos C57BL/6 inducidos a la obesidad por dieta.

III. II Objetivos particulares:

- I. Alimentar ratones C57BL/6 con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), DAG con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), DAG + 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), DAG + 0.5% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), DAG + 1% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF) y DAG + 2% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF), para inducir obesidad.
- II. Registrar en cada grupo de estudio el consumo de alimento y el aumento de peso corporal, mediante el pesaje semanal hasta ver instaurada la obesidad.
- III. Evaluar la composición corporal de los animales mediante resonancia magnética, el gasto energético por medio de calorimetría indirecta, la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina mediante pruebas intraperitoneales, con el fin de identificar cambios asociados a la obesidad y al efecto de la adición de los frutos de *Vachellia farnesiana* a las dietas.
- IV. Al final del estudio, evaluar la concentración sérica de colesterol, triglicéridos y glucosa utilizando un analizador químico automatizado Beckman Coulter.
- V. Contrastar el efecto de los diferentes tratamientos dietarios mediante la morfología de tejidos y órganos como son tejido adiposo subcutáneo (TAS), tejido adiposo visceral (TAV), tejido adiposo pardo o marrón (TAP), hígado y páncreas.

IV. Justificación

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, alrededor del 13% de la población mundial adulta era obesa en 2016, esta situación incluso se ha incrementado hasta la fecha (OMS, 2020). México ocupa el primer lugar mundial en obesidad infantil según la más reciente Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (INSP, 2018). La obesidad y sus enfermedades crónicas asociadas como dislipidemias, hipertensión, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina e hígado graso no alcohólico se caracterizan por un estado crónico de inflamación así como por una alta actividad oxidante. El desarrollo de alternativas dietarias con la incorporación de compuestos bioactivos ha mostrado resultados positivos en la reducción del riesgo de obesidad y sus enfermedades asociadas.

Alrededor del mundo las plantas constituyen una fuente de diversos compuestos químicos, por lo que se han utilizado para el tratamiento de diferentes enfermedades. Un ejemplo de dichos compuestos son los denominados bioactivos, los cuales se encuentran en bajas cantidades en las plantas, tanto en la parte comestible y no comestible, estos participan en diversos mecanismos metabólicos promoviendo de esta manera un buen estado de salud. Los frutos de *Acacia farnesiana*, ahora *Vachellia farnesiana*, poseen polifenoles, flavonoides y carotenoides, ácidos grasos mono y poliinsaturados, entre otros compuestos con potentes cualidades antioxidantes y antiinflamatorias. Los compuestos y extractos provenientes de las hojas, frutos y de la corteza de esta planta han sido probados en modelos animales de obesidad y diabetes (Ikarashi *et al.*, 2011; Delgadillo-Puga *et al.*, 2015).

Dicho esto, se propone que la incorporación del extracto metanólico:acuoso proveniente de los frutos de *Vachellia farnesiana* (FVF) en diferentes concentraciones, así como la harina de los FVF, incorporada en una dieta alta en grasa para ratones C57BL/6, reducirá el aumento de peso corporal, la masa magra y la tolerancia a la glucosa, condiciones derivadas de la obesidad.

V. Hipótesis

La incorporación de la harina o de un extracto polifenólico en diferentes concentraciones (0.5%, 1% y 2%) proveniente de los frutos de *Vachellia farnesiana* en una dieta alta en grasa, reducirá el incremento de peso corporal, favorecerá el gasto energético, reduciendo la masa grasa, acentuando la sensibilidad a la insulina, reduciendo la resistencia a la glucosa, modulando la hipertrofia del tejido adiposo y evitará la esteatosis hepática, en ratones machos C57BL/6 inducidos a la obesidad por dieta.

VI. Materiales y métodos

VI. I *Vachellia farnesiana*: harina y extracto

Los frutos de *Vachellia farnesiana* (FVF), se recolectaron de forma manual durante el mes marzo de 2015, durante la época de estiaje, en el agostadero ejidal donde se ubica el rancho “Las espinas”, perteneciente al municipio de Acatlán de Osorio, Puebla, México. Para la identificación botánica se envió una muestra de referencia al Herbario de la FES Cuautitlán de la UNAM (Hernández-García *et al.*, 2019). El nombre de la planta se verificó de acuerdo con <http://www.theplantlist.org> y el cambio de nombre de *Acacia* a *Vachellia* se realizó de acuerdo a la misma fuente.

Los FVF se seleccionaron cuando aún estaban verdes, procurado que estuvieran en las condiciones óptimas, no dañados y sin picaduras de insectos, posteriormente, fueron secados durante 7 días a la sombra sobre bastidores con malla. Una vez secos, se almacenaron en bolsas de papel para protegerlos de la luz durante el traslado hasta el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

- Obtención de la harina

En el INCMNSZ, los FVF se sometieron a un proceso de secado adicional por 48 horas a una temperatura controlada de 45 °C utilizando una estufa de flujo atmosférico (Apex, A39092). Una vez secos, se molieron empleando un molino de cuchillas (Thomas Scientific, 174931, NJ, EE. UU.), se tamizaron a un tamaño de partícula de 1 mm, para almacenarse en frascos de plástico con tapa de plástico e identificados con fecha y nombre, protegiéndose de la humedad, en un lugar seco y sin luz directa (Figura 5A, B).

- Obtención del extracto

Para obtener el extracto, se colocaron 200 g de la harina de los FVF en un matraz Erlenmeyer y se adicionaron 500 mL de una mezcla metanol:agua (80:20 v/v). Posteriormente se sonicó durante 30 minutos a temperatura ambiente utilizando un

sonicador (Branson, 3510-DTH, CT, EE. UU.). Una vez transcurrido el tiempo, el extracto se filtró (papel filtro grado 40), se concentró en un rota evaporador (Büchi Helating Bath, B490, Flawil, Switzerland) con baño de agua a 40 °C. El extracto seco se colocó en viales ámbar para evitar la exposición a la luz. En un matraz bola para rota evaporador se lavó el restante de la mezcla anterior, para poder recuperar casi todo el extracto, se utilizaron 10 mL máximo de la mezcla metanol:agua (80:20 v/v) y finalmente los viales se colocaron en un desecador con salida al vacío durante una semana, hasta la evaporación total del disolvente, para después almacenarse en refrigeración a 4 °C, hasta su utilización (Figura 5C).

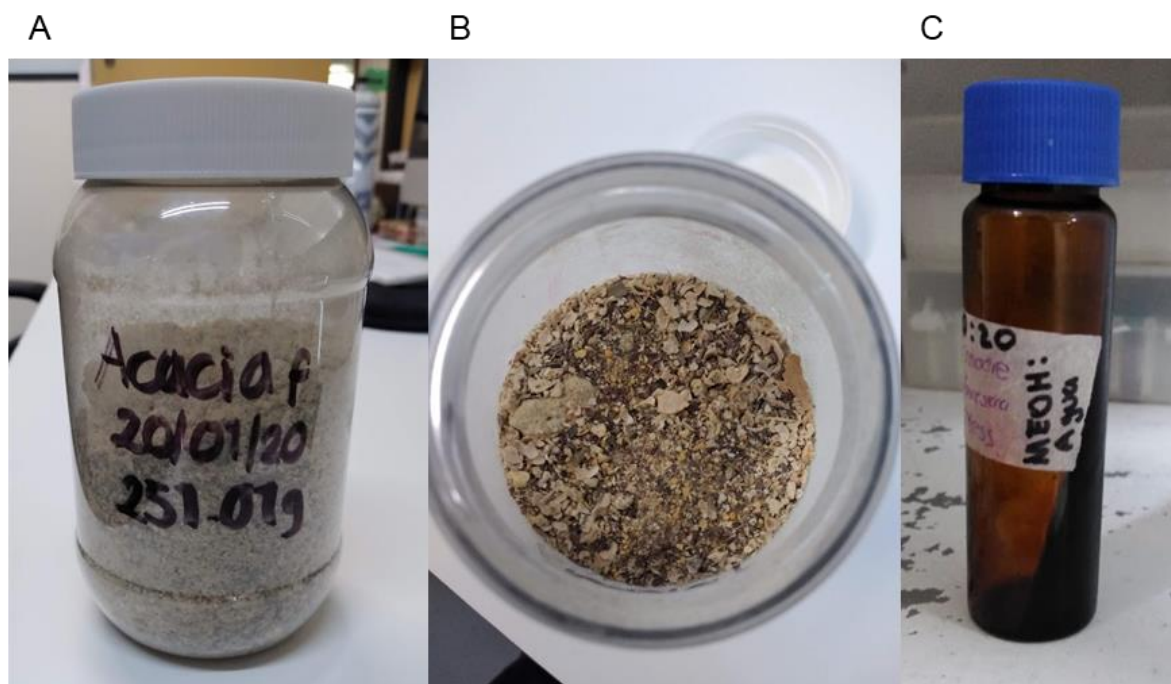


Figura 5. A y B) Harina C) Extracto de los frutos de *Vachellia farnesiana*.

Fotos generadas por el autor.

VI. II Elaboración de dietas experimentales

La presente investigación fue aprobada por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del INCMNSZ, y fue identificada como: CICUAL-NAN-1988-20-22-1 (carta de aceptación incluida en el anexo I).

Se formularon diferentes dietas con base en las recomendaciones del American Institute of Nutrition (AIN), rodent diet 93M. Para la dieta a la que se le adiciono HFV, se realizó el ajuste de los componentes de acuerdo al contenido de carbohidratos, proteínas y grasa que contiene la harina de *Vachellia farnesiana*, y para los tratamientos suplementados con el extracto de los FVF el ajuste se realizó en el contenido de carbohidratos, específicamente en la cantidad de sacarosa adicionada.

Las dietas experimentales se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Distribución de los componentes de las dietas para los diferentes tratamientos experimentales (g/kg) y contenido energético (kcal/kg de dieta) teórico de Dieta Control (Control); dieta alta en grasa (DAG); DAG con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG); DAG con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV); DAG con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF); DAG con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF); DAG con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF).

Componente	g/kg de dieta						
	Control	DAG	DAG+ 0.1% MG	DAG+ 10% HFV	DAG+ 0.5% EVF	DAG+ 1% EVF	DAG+ 2% EVF
Caseína	200	200	200	190	200	200	200
Sacarosa	100	339	338	271	334	329	319
Dextrina	132	150	150	150	150	150	150
Almidón de maíz	397	-	-	-	-	-	-
Manteca	-	140	140	139	140	140	140
Aceite de soya	70	70	70	70	70	70	70
Celulosa	50	50	50	39	50	50	50
Vitaminas	10	10	10	10	10	10	10
Minerales	35	35	35	35	35	35	35
Cisteína	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Colina	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Componente experimental	-	-	1.0	100	5.0	10.0	20.0
kcal/100 g de dieta							
Proteína	20.3	17.2	17.2	17.2	17.3	17.4	17.5
Carbohidratos	63.8	42.1	42.1	42.1	41.9	41.6	41.1
Grasa	15.9	40.7	40.7	40.7	40.8	41.0	41.4
kcal/kg de dieta							
Contenido energético	3948	4646	4648	4648	4628	4608	4568
mg/kg de dieta							
Contenido de polifenoles	-	-	-	399.0	199.5	399.0	798.0

Para la elaboración de las dietas, se pesaron todas las materias primas de acuerdo a cada formulación descrita en el Cuadro 3, se mezclaron los insumos secos en una mezcladora (Hobart, OH, EE. UU.) durante dos minutos, después se incorporó la fuente de lípidos y se continuó mezclando por 15 minutos más. Finalmente se agregaron por intervalos de 3-5 minutos aproximadamente, 100 mL de agua destilada por cada kilogramo de dieta, hasta la obtención de una pasta sólida moldeable.

Cabe destacar que durante la elaboración de las dietas se cuidaron las condiciones de higiene para su elaboración, limpiando superficies, equipos y material antes y después de su utilización, así mismo en todo momento se trabajó con guantes, cofia y cubre bocas.

Con la pasta sólida se moldearon galletas con diferentes formas para su identificación y se colocaron en una charola cubierta con plástico durante 48 horas a temperatura ambiente. Para facilitar el secado de las galletas, al término de las primeras 24 horas, se les dio vuelta para favorecer la eliminación de la humedad. Una vez secas, se empaquetaron individualmente en bolsas de plástico, las cuales se cerraron con la ayuda de una termo selladora (American International Electric, City of Industry, CA, EE. UU.) y se almacenaron en congelación a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso (Figura 6A-C).



Figura 6. A) Pasta y B)-C) galletas de las diferentes dietas experimentales.

Fotos generadas por el autor.

Las dietas se fueron elaborando conforme a la demanda.

VI. III Alimentación de los ratones

Durante las 14 semanas que duró el estudio se alimentaron *ad libitum*, 42 ratones machos de la cepa C57BL/6 de 35 días de edad, con un peso promedio de 23.1 ± 1.4 gramos. Los animales se distribuyeron en siete grupos de seis ratones cada uno, correspondiente al número de tratamientos dietarios como se muestra a continuación:

- Dieta Control (Control)
- Dieta alta en grasa (DAG)
- Dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG)
- Dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV)
- Dieta alta en grasa con 0.5% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF)
- Dieta alta en grasa con 1% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF)
- Dieta alta en grasa con 2% de extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF)

Los roedores fueron alojados en el cuarto 10 del Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB) del INCMNSZ y se colocaron en micro aisladores con tres ratones cada uno. A los animales se les proporcionó cama de viruta de pino, acceso libre al agua de bebida, previamente purificada en autoclave a 121 °C durante 25 min y se alimentaron *ad libitum*. El ambiente se enriqueció colocando tubos de papel cartón como refugio, abate lenguas para que pudieran roer el material y así desgastar sus dientes, además de algodón para que formaran su nido (Figura 7); todo el material que se mencionó fue previamente esterilizado.



Figura 7. Condiciones de enriquecimiento ambiental de los ratones C57BL/6 durante el estudio.
Fotos generadas por el autor.

Las condiciones ambientales se controlaron durante las 14 semanas (98 días) de duración del estudio hasta la eutanasia (Cuadro 4).

Cuadro 4. Condiciones ambientales del cuarto donde se albergaron a los ratones durante el periodo experimental.

Temperatura	21 °C
Humedad relativa	50%
Ciclos de luz/oscuridad	12 horas

VI. IV Determinación de la ganancia de peso y consumo de alimento

Para la evaluación de la ganancia de peso, se registró el peso corporal expresado en gramos una vez por semana hasta el final del estudio. A partir de estos datos se calculó la ganancia de peso acumulada (GPA) mediante la diferencia de peso al final del experimento menos el peso inicial.

El cálculo del consumo de alimento se obtuvo a través de la diferencia de peso en gramos del alimento ofertado, el cual fue considerado como inicial y el peso en gramos del alimento encontrado al tercer día, considerado como alimento final.

Los formatos donde se registró tanto el incremento de peso como el consumo de alimento se presentan en el Anexo II y III, respectivamente.

VI. V Evaluación de la composición corporal

La composición corporal se evaluó en la semana 9, o a los 63 días, utilizando para ello un equipo de resonancia magnética (EchoMRI; Echo Medical Systems, Houston, Tx, USA) y el software Body Composition Analyzer 2016. El equipo emite una radiofrecuencia, que el software registra por 47 segundos, se realizaron tres escaneos independientes, los cuales se registraron en una base de datos y la lectura toma 5 minutos por ratón.

Previo a la evaluación, los ratones se pesaron, uno a uno se colocaron despiertos en un tubo de plástico del tamaño adecuado que se introduce en el equipo, se realizó el escaneo y se obtuvieron los siguientes datos: masa magra, masa grasa, agua libre y agua total; los cuales se expresaron como porcentaje, considerando el cociente de la masa del resultado, entre el peso del ratón evaluado.

VI. VI Evaluación del gasto energético y coeficiente de intercambio respiratorio

El gasto energético y el coeficiente de intercambio respiratorio se determinaron en la semana 9 del estudio, momento en el que el peso de los animales de los diferentes grupos presentaba valores similares, es decir, la obesidad aún no se

había instaurado por completo. Se empleó una técnica de calorimetría indirecta, para ello se utilizó un equipo de circuito **abierto** Oxymax Laboratory Animal Monitoring System (CLAMS; Columbus Instruments, Columbus, OH, USA) con el software Oxymax v4.87.

Las mediciones se realizaron en ciclos de ayuno-alimentación. Los ratones, previamente pesados se colocaron en una cámara de plexiglas con un flujo de aire constante monitoreado por un flujómetro sensible a masas por 24 horas. Durante las primeras 12 horas, correspondientes al periodo de luz, los animales se mantuvieron en ayuno, en las siguientes 12 horas, periodo de oscuridad, se incorporó el alimento *ad libitum* y se llevó a cabo la medición del contenido del volumen de CO₂ producido y de O₂ consumido secuencialmente en intervalos de 90 segundos para calcular el gasto energético y la relación de intercambio respiratorio (RER). Las concentraciones de O₂ y CO₂ se evaluaron a la entrada y salida de la cámara para calcular el consumo de oxígeno y el coeficiente de respiración (Figura 8).



Figura 8. Cámaras de plexiglas.

Foto generada por el autor.

La determinación de la composición corporal y la evaluación del gasto energético se realizaron en la misma semana por diversas razones, los equipos para realizar ambas determinaciones se encuentran en el mismo cuarto del DIEB, lo que facilita el manejo de los roedores y minimiza el estrés provocado por el movimiento así como por el ruido; el equipo donde se realizó la calorimetría permite realizar los análisis solo con 10 ratones a la vez (Figura 8), y como ya se mencionó es un estudio de 24 horas por lo que se realizó en 4 grupos, primero se realizó la determinación de la composición corporal que no tomó más de 5 min por ratón, posteriormente se introdujo a cada ratón en la cámara de plexigas correspondiente para iniciar la calorimetría.

VI. VII Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa (ipGTT)

A la semana 11 (77 días), se realizó este ensayo. Cada ratón fue pesado antes de la prueba y se colocó en un microaislador limpio y sin alimento, durante 6 horas con el fin de garantizar un ayuno completo. La dosis de disolución de glucosa (20% *m/v*) a administrar por vía intraperitoneal se ajustó de acuerdo al peso del animal.

Se administró la carga de glucosa intraperitoneal (2 g/kg de peso) y se determinó la concentración de glucosa en sangre al tiempo cero (basal), 20, 40, 60, 90 y 120 minutos.

Para la toma de muestra sanguínea tanto de la concentración de glucosa basal como para los distintos tiempos de la curva de tolerancia se les realizó una pequeña incisión con ayuda de una hoja de bisturí sobre la parte dorsal de la porción distal del apéndice caudal, se emplearon tiras reactivas Freestyle Optium Neo y un glucómetro (Freestyle Optium, Abbot Laboratories, Lake Forest, IL, USA).

Posteriormente la curva de glucosa se construyó graficando la concentración promedio de glucosa de los ratones de cada tratamiento experimental con respecto al tiempo. El área bajo la curva se calculó con el método del trapezoide, se consideró la curva de glucosa individual para cada ratón y se graficaron los valores del área bajo la curva total.

VI. VIII Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina (ipITT)

A la semana 13 (91 días), se realizó este ensayo. Cada ratón fue pesado antes de la prueba; colocándose en un microaislador limpio y sin alimento, durante 6 horas con el fin de garantizar un ayuno completo. La dosis de disolución de insulina (0.75 UI/mL) a administrar por vía intraperitoneal se ajustó de acuerdo al peso del animal.

Se administró la carga de insulina intraperitoneal (0.75 UI/kg de peso) y se determinó la concentración de glucosa en sangre al tiempo cero (basal), 20, 40, 60, 90 y 120 minutos.

Para la toma de muestra sanguínea de la concentración de glucosa basal y a los diferentes tiempos de la curva de tolerancia se siguió el procedimiento descrito anteriormente para la ipGTT.

Posteriormente la curva de glucosa se construyó graficando la concentración promedio de glucosa de los ratones de cada tratamiento experimental con respecto al tiempo. El área bajo la curva se calculó con el método del trapecioide, se consideró la curva de glucosa individual para cada ratón y se graficaron los valores del área bajo la curva total.

Las pruebas ipGTT e ipITT se realizaron en la semana 11 y 13 respectivamente para evitar el estrés de los ratones, al movimiento, a la prueba misma y al manejo, ya que la cepa C57BL/6 es muy susceptible al estrés, realizando las pruebas y determinaciones en semanas diferentes se buscó reducir el estrés con lo que, además, se reducen las variaciones en los resultados.

VI. IX Eutanasia

La eutanasia se realizó una vez cumplidas las 14 semanas del ensayo (98 días), previo a un ayuno de cuatro horas. Se empleó el procedimiento de exanguinación por vía porta, con previa anestesia inhalada con sevoflurano utilizando una cámara de anestesia. El estado de inconsciencia se logró en menos de 3 minutos con una concentración de 3% de sevoflurano en oxígeno, en cuanto se cercioró de la inconsciencia del ratón y al no observar reflejo alguno, se practicó la exanguinación.

El volumen total de sangre se recolectó de la vena porta con la ayuda de jeringas heparinizadas y se colocaron en microtubos de 1.5 mL, los cuales se centrifugaron a 1000 rpm por 10 minutos a 4 °C, para la separación del suero, el cual se almacenó a -70 °C para la determinación de los parámetros bioquímicos.

VI. X Determinación de parámetros bioquímicos en suero.

La concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos en suero, se determinó en una alícuota de 25 µL utilizando un equipo Beckman Coulter unicel DxC 600 analyzer (Beckman Coulter, Brea, CA, EE. UU.).

VI. XI Obtención de muestras y tejidos

Después de la eutanasia, se obtuvieron muestras de hígado, páncreas, tejido adiposo subcutáneo, visceral y pardo, mediante incisión quirúrgica. Una parte de estas muestras se colocaron en criotubos, introduciéndolas directa e inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -70 °C para análisis posteriores.

Otra fracción representativa de dichas muestras de tejidos se colocó de manera individual en casetes para histología, previamente etiquetados. Se colocaron dentro de un frasco con una solución compuesta de formaldehído al 10% en solución amortiguadora de fosfatos. Posteriormente, se realizó la deshidratación secuencial de los tejidos, se retiró la solución de formaldehído y se procedió a colocar, en el mismo frasco vacío, la solución del frasco 1, se agitó, y se dejó durante 30 minutos

en reposo a temperatura ambiente, se agitó una vez más para retirarse y continuar así con la solución del frasco 2, dejando por 30 minutos y así sucesivamente hasta el frasco número 10 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Descripción de las soluciones y concentraciones para la deshidratación de las muestras de tejidos.

Frasco	Solución	Concentración (% v/v)	Tiempo (min)
1	Etanol	50	30
2	Etanol	60	30
3	Etanol	70	30
4	Etanol	80	30
5	Etanol	96	30
6	Etanol	100	30
7	Etanol/Xilol	50:50	30
8	Xilol	100	30
9	Xilol	100	30
10	Xilol	100	30

Los tejidos una vez deshidratados, se embebieron en parafina; para ello, se utilizó parafina líquida a 65 °C en tres ocasiones y sumergieron durante 30 minutos en cada ocasión. Posteriormente, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, y a continuación los tejidos se incluyeron utilizando un sistema de inclusión HistoCore Arcadia (Leica Biosystems, Nussloch, Alemania).

Los tejidos incluidos y fríos se cortaron en láminas de 4 µm utilizando un microtomo (Leica Biosystems D-69226, Nussloch, Alemania), y se colocaron en portaobjetos para posteriormente realizar la tinción con hematoxilina-eosina. Los tejidos se observaron a través de un microscopio Leica DM750 (Leica DM750 Wetzlar, Alemania), utilizando un lente 20x, se tomaron fotos con una cámara digital (Leica DMC2900, Heerbrugg, Alemania) y las imágenes se procesaron con un software Leica LAS Core V4.5.

El análisis del tamaño de la vesícula de los adipocitos marrones y las áreas de adipocitos blancos se realizó utilizando el software automatizado Adiposoft para imagen J (ImageJ, NIH, Bethesda, MD, USA). La medición de las áreas de islotes pancreáticos se llevó a cabo con el software ImageJ, este se calibró utilizando la barra de escala con una longitud de 100 μm , se analizaron dos imágenes diferentes de cada tejido, el perímetro de cada islote se dibujó manualmente y de cada tratamiento se analizaron las áreas totales.

Para visualizar los lípidos neutrales hepáticos, se realizó un análisis cuantitativo de las muestras de hígado teñidas con hematoxilina-eosina, utilizando el software automatizado Adiposoft para imagen J (ImageJ, NIH, Bethesda, MD, USA) se llevó a cabo la transformación de las imágenes a una escala de grises de 8-bit y se midió la densidad.

VI. XII Análisis estadísticos

Todos los resultados obtenidos se expresaron como el promedio \pm el error estándar de la media (EEM). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) unifactorial, para realizar la comparación de las medias se utilizó una prueba de comparación múltiple de Tukey considerando diferencia significativa a $p < 0.05$, utilizando el software GraphPad Prism 8.4 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE.UU.).

VII. Resultados y discusión

El presente trabajo se centró en el tratamiento de la obesidad inducida por dieta de ratones machos C57BL/6 utilizando los frutos de *Vachellia farnesiana* como recurso vegetal no convencional en el tratamiento de esta enfermedad y sus condiciones metabólicas asociadas, como el aumento de masa grasa, la resistencia a la insulina, la hipertrofia del tejido adiposo, entre otras.

Como primera parte se realizaron determinaciones *in vivo*, la ganancia de peso se evaluó semanalmente y el consumo de alimento cada tercer día por 14 semanas. Posteriormente, a la semana 9 de tratamiento experimental se realizó la evaluación de la composición corporal y la evaluación del gasto energético, cuando aún no mostraban variaciones importantes en el peso, es decir, la obesidad no se había instaurado por completo. Más adelante, se presentan los resultados obtenidos para las pruebas ipGTT e ipITT con el fin de evaluar si la obesidad inducida por dieta ya había causado efecto en la tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina y como cada uno de los tratamientos dietarios había interferido en dichas condiciones.

Finalmente, se presentan los parámetros evaluados en suero, concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol (*ex vivo*); también se incluye el análisis histológico del páncreas, hígado, tejido adiposo pardo, tejido adiposo visceral y tejido adiposo pardo, este se describe brevemente y solo se incluye con el fin de visualizar el efecto de los tratamientos dietarios así como el nulo daño tisular que se pudiera haber presentado por la incorporación de los frutos de *Vachellia farnesiana*.

VII. I Determinación de la ganancia de peso

En la Figura 9 se presenta el peso corporal total de los ratones a las 14 semanas (98 días); se observó que el grupo que recibió DAG registró el mayor peso corporal, este grupo fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) frente a los grupos Control, DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF y DAG+1% EVF.

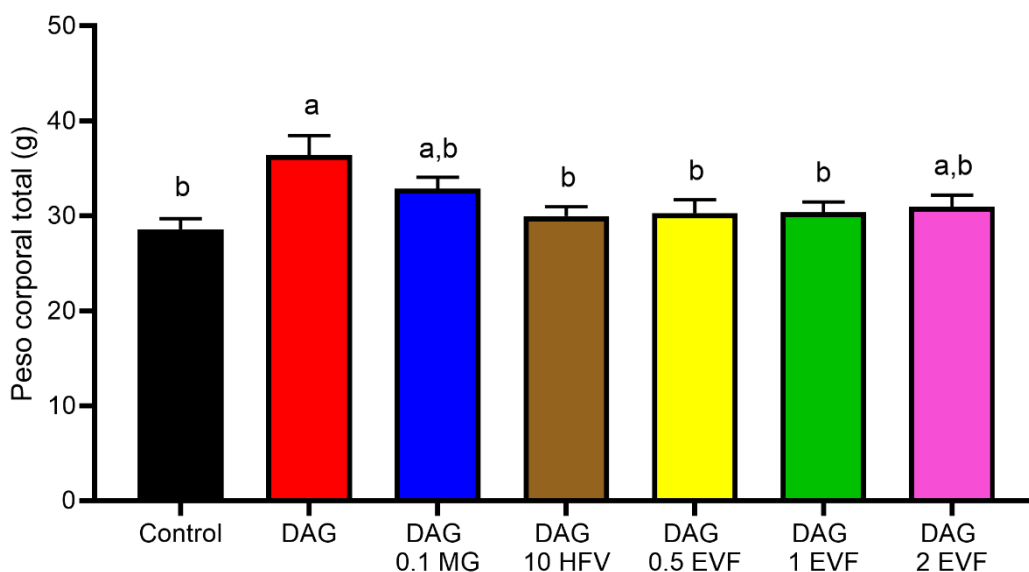


Figura 9. Peso corporal de los ratones al término del estudio (98 días).

Peso corporal promedio (g) a las 14 semanas de estudio de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; $n=6$ ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

Se observa que el grupo de ratones alimentados con DAG presentó un mayor peso que el resto de los tratamientos. Por su parte, el peso corporal que alcanzaron los animales asignados al grupo Control fue similar a los grupos de DAG+0.1% MG, DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF sin registrarse diferencia estadística, este es un buen indicio dado que a pesar de tener una dieta

alta en grasa, el peso corporal alcanzado por estos grupos fue igual al registrado por los animales del tratamiento Control.

Adicionalmente, se destaca que los tratamientos DAG+0.1% MG y DAG+2% EVF fueron estadísticamente similares al grupo con DAG, esto no es un parámetro para afirmar que los componentes experimentales como es el MG y los FVF en concentración 2% no mitigaron el incremento de peso corporal, más adelante se desarrollaran los efectos que estas dietas tuvieron sobre las alteraciones metabólicas de la obesidad.

En la Figura 10A se observa la curva de crecimiento de los ratones alimentados con las dietas experimentales. Se destaca que los animales que fueron alimentados con la DAG registraron un incremento superior de peso respecto al resto de los tratamientos. En la Figura 10B, se muestra la ganancia de peso acumulada (GPA) durante las 14 semanas de tratamiento, en ella se observa que el tratamiento con DAG presentó el valor más alto, siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos, excluyendo DAG+0.5% EVF que registró un comportamiento similar a DAG, sin registrarse una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

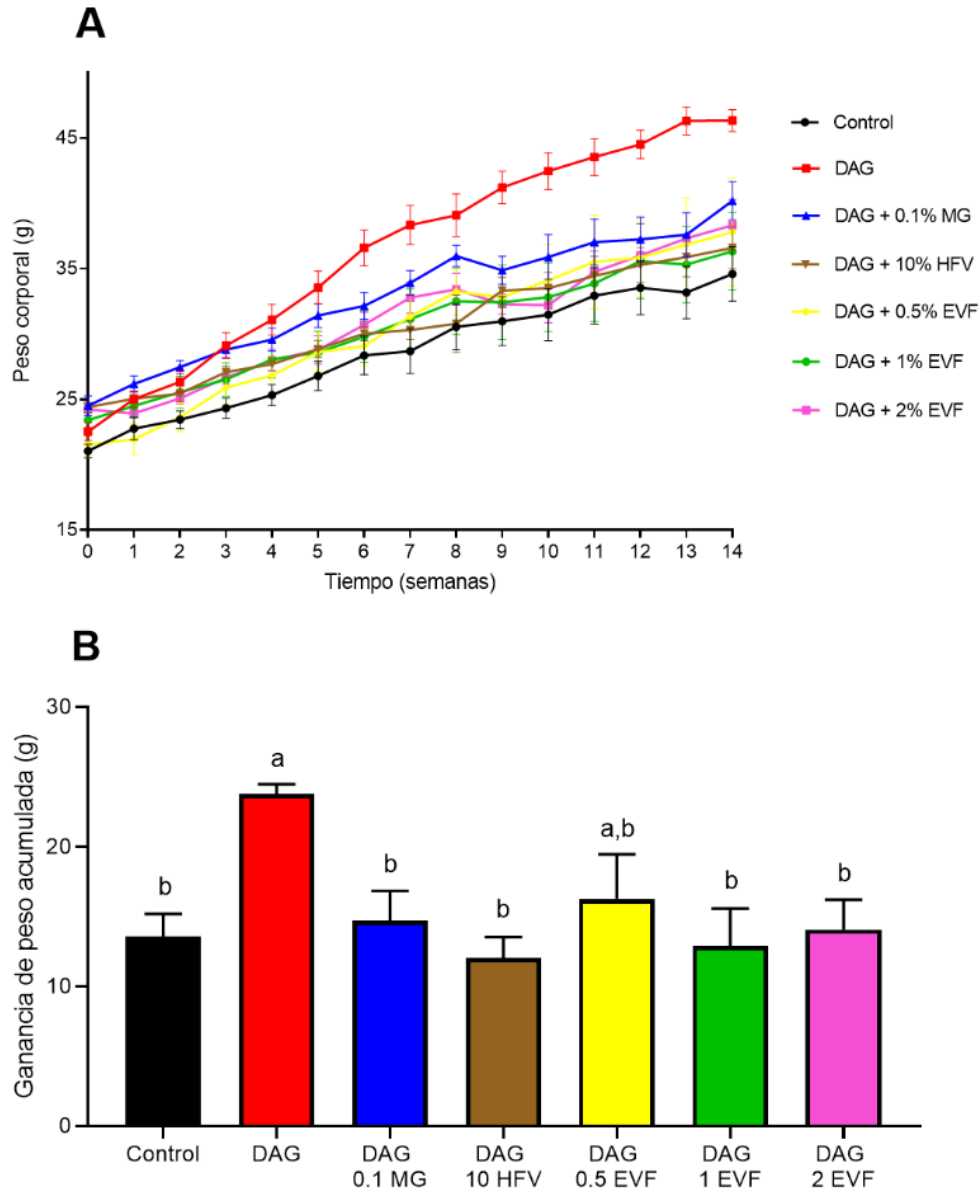


Figura 10. Curva de crecimiento de los ratones durante 14 semanas.

A) Curva de crecimiento de los ratones alimentados con las dietas experimentales durante 14 semanas (98 días). B) Ganancia de peso acumulada (g) durante las 14 semanas de tratamiento de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b}Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

En relación a la curva de crecimiento se observó que el grupo alimentado con DAG registró un peso corporal 33.9% superior al grupo Control, fenómeno que se sostuvo a lo largo del estudio. Por su parte, el grupo que recibió la DAG+0.1% MG también mostró un incremento del 16.2% respecto al grupo Control, sin embargo, fue estadísticamente diferente del grupo DAG. El resto de los grupos: DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF se mantuvieron en un rango del 4.0% al 9.8% de incremento de peso promedio final, siendo superiores al peso promedio final alcanzado por los animales alimentados con el tratamiento Control; siendo estadísticamente similares.

En lo que respecta a la ganancia de peso acumulada (Figura 10B) se confirma que existió una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los grupos Control y DAG, como se esperaba, este último grupo registró un comportamiento similar en cuanto a la ganancia de peso acumulada (GPA) del grupo alimentado con DAG+0.5% EVF.

También se destaca que la GPA del grupo Control fue similar a la registrada en los tratamientos DAG+0.1% MG, DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF, sin registrarse diferencia estadística ($p < 0.05$) entre estos grupos. Se demostró que al alimentarse a los animales con una DAG, la GPA fue mayor frente a los grupos alimentados con una DAG más la adición con MG o con los FVF, ya sea en harina o en su extracto a diferentes concentraciones.

VII. II Determinación del consumo de alimento

Como se muestra en la Figura 11, el mayor consumo de alimento se registró en el grupo de los ratones alimentado con la DAG+0.1% MG. Por otro lado, se observó que el menor consumo lo registró el grupo de animales alimentados con DAG+2% EVF, siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) al resto de los tratamientos.

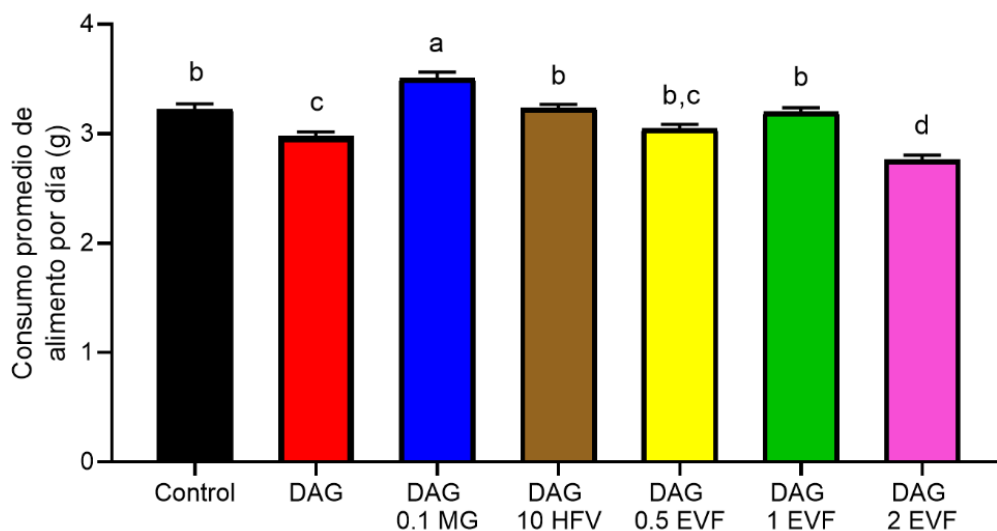


Figura 11. Consumo de alimento a lo largo del estudio.

Consumo promedio de alimento por día (g) a lo largo del estudio de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b,c,d}Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

Es importante mencionar que, tanto en los seres humanos como en los modelos animales, la alimentación está provocada por una necesidad metabólica, un impulso hedónico o la interacción entre ambos (Berthoud, 2011). El consumo de grasa *per se* no es lo que lleva a la acumulación de grasa corporal si no la ingesta total de energía en relación con el gasto energético (Willett, 1998). A pesar de que todos los tratamientos dietarios altos en grasa; contenían la misma cantidad de grasa, y por tratarse de dietas isoenergéticas e isoproteicas, respecto a la dieta Control, no se observó una relación entre el consumo de alimento y la ganancia de peso en los animales alimentados con los distintos tratamientos dietarios, fue necesario realizar más estudios para corroborar tanto la implantación de la obesidad como el efecto de la harina y del extracto de los FVF sobre esta enfermedad; lo que dio lugar a la evaluación de la composición corporal.

De acuerdo al consumo de alimento presentado en la Figura 11, el consumo neto de polifenoles de los ratones alimentados con los tratamientos DAG+10% HVF, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF fue: 1.28, 0.60, 1.27 y 2.20 mg de polifenoles de los FVF, respectivamente.

VII. III Evaluación de la composición corporal

En las Figura 12 se presentan los resultados del contenido de masa grasa y masa magra en los diferentes grupos de estudio, expresados en porcentaje. Se observó que los animales alimentados con la DAG registraron un mayor porcentaje de masa grasa, 54.1% superior respecto al grupo Control, con una consecuente reducción en el contenido de masa magra, 20% menos respecto al grupo control.

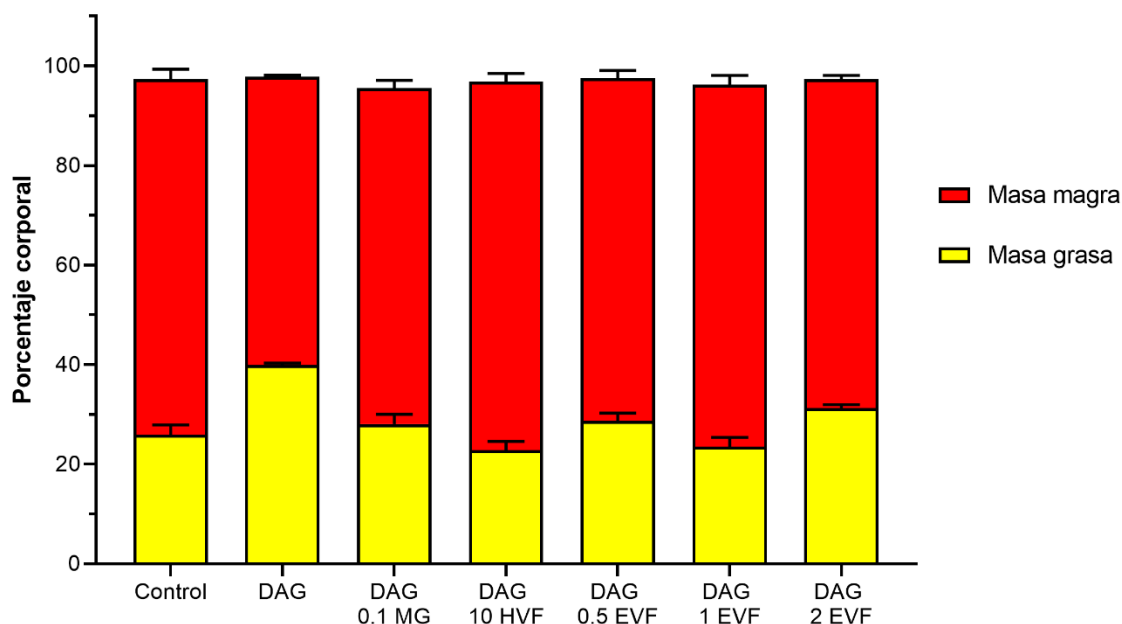


Figura 12. Composición corporal de los animales a la semana 9 de estudio.

A) Contenido de masa grasa (%). B) Contenido de masa magra (%) de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HVF), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo.

Dicho esto, fue posible identificar que la mayor acumulación de masa grasa la presentó el grupo con DAG; cabe destacar, que ningún otro tratamiento fue igual a éste, puesto que se observó que los tratamientos dietarios suplementados con los FVF y MG fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$) al tratamiento Control, incluso los grupos de DAG+10% HFV y DAG+1% EVF se encontraron por debajo del tratamiento Control, sin ser estadísticamente diferentes.

El contenido de masa magra fue inversamente proporcional al contenido de masa grasa, por lo que el grupo con DAG presentó el valor más bajo, y el grupo Control no presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) con los grupos suplementados con los FVF o MG.

El grupo de DAG+10% HFV mostró un porcentaje de masa grasa menor al que presentó el grupo que recibió el tratamiento Control, 11.8% menos, por lo que es posible decir que la incorporación de la matriz completa de los FVF a una dieta alta en grasa le proporcionó a los animales fibra dietética y los compuestos bioactivos que contribuyen a la disminución de la masa grasa.

Hasta el día de hoy no hay estudios reportados donde se incluya la matriz completa de los FVF como parte de una DAG para el tratamiento de la obesidad, por lo que no existe punto de comparación sobre los efectos observados, dicho esto se realizó el análisis de los componentes individuales y su posible efecto sobre la mitigación de la obesidad.

En el caso particular de la fibra dietética, distintos estudios han demostrado el efecto de ésta en la disminución de la masa corporal se debe a varios factores entre los cuales se puede mencionar, una menor solubilidad de los ácidos biliares, lo que puede inhibir su reabsorción cecal resultando en una mayor excreción en las heces.

Esto, además conduce a la reducción de la reserva de ácidos biliares en el cuerpo, disminuyendo la digestión y absorción de grasas. Dicho esto, es probable que el consumo de la fibra de los FVF aunque solo fuera en concentración 1.1% disminuyera el contenido de masa grasa ([Moundras et al., 1994](#); [Jangra et al., 2019](#)),

tal y como se observó en el grupo tratado con la matriz completa de los FVF (DAG+10% HFV).

El efecto de la fibra no solo se ha observado en ratones sino también en humanos. En 2012 y 2018 Babiker *et al.*, realizaron estudios en pacientes diabéticos de 50 años a los que, en un ensayo aleatorizado doble ciego y controlado con placebo, administraron goma arábica proveniente de *Acacia senegal*.

Al término del estudio, concluyeron que el consumo de goma arábica podría ser una estrategia dietética eficaz para prevenir o tratar el sobrepeso, al provocar una reducción significativa en la ingesta energética con una mayor sensación subjetiva de saciedad. La goma arábica actúa como fibra dietética y se une a los ácidos biliares disminuyendo su absorción en el íleon terminal. Posteriormente, en el intestino grueso la goma arábica libera los ácidos biliares secuestrados y el pH ácido generado durante el proceso de fermentación los vuelve insolubles, promoviendo su excreción en las heces, todo esto reduce su acumulación en el cuerpo y provoca una disminución de la digestión y absorción de grasas (Moundras *et al.*, 1994; Babiker *et al.*, 2012; Babiker *et al.*, 2018).

Los compuestos bioactivos también juegan un papel importante en la disminución de la masa grasa; por ejemplo, la suplementación con quercetina (0.05%), presente tanto en los FVF como en muchas otras plantas, redujo significativamente el incremento de peso corporal de ratones C57B1/6 alimentados con una DAG; asimismo, redujo la acumulación de grasa hepática, provocando efectos anti obesidad los cuales están relacionados con la regulación de la lipogénesis a nivel transcripcional (Carrasco-Pozo *et al.*, 2019), al suplementar las DAG con el EVF que es más completo en compuestos bioactivos el efecto podría verse aumentado.

Como se observa en la Figura 12, los animales alimentados con los tratamientos adicionados con EVF presentaron un menor porcentaje de masa grasa en comparación con el tratamiento de DAG, siendo DAG+1% EVF el que mostró la mayor disminución (12.7% menos). Estos resultados fueron similares a los reportados por Ikarashi y colaboradores en 2011, quienes al utilizar un extracto

acuoso polifenólico de *Acacia meansii* en concentración 2.5% y 5.0% durante 7 semanas, en ratones machos *KKAY* alimentados con DAG se suprimió tanto el aumento de peso como la acumulación de grasa sin el desarrollo de hígado graso.

En el estudio previamente mencionado, aún no se tenían claros los compuestos aislados del género *Acacia* ni sus acciones farmacológicas, pero sí se reportó que los efectos anti obesidad y anti diabetes estaban relacionados con los compuestos flavan-3-oles: robinetinidol y fisetinidol, similares a la catequina, pertenecientes a la categoría de los flavonoides que poseen efectos antioxidantes *in vitro* e *in vivo* dado que aumentan la capacidad antioxidante del plasma y la reactividad de las plaquetas (Tomás-Barberán, 2003; Ikarashi *et al.*, 2011).

Por su parte, Morales-Luna y colaboradores en 2018 realizaron un estudio empleando el extracto metanólico:acuoso al 3% *m/v* de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como parte de una dieta hiperenergética a ratas Wistar, observando la disminución del peso corporal con respecto a la dieta hiperenergética y una reducción de la hiperplasia de los adipocitos. Dicho extracto es rico en compuestos como quercetina, ácido gálico, catequina, epicatequina, los cuales también se encuentran en el EVF evaluado en el presente trabajo.

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) también ha demostrado tener efectos anti-obesogénicos ya que disminuye la síntesis de ácidos grasos en ratas inducidas a la obesidad con dieta, disminuyendo el peso corporal. Los flavonoides y ácidos fenólicos que contiene poseen un efecto inhibitor sobre la adipogénesis así como en la expresión de la leptina, resultando en una reducción de la ingesta de alimento y aumentando el gasto energético (Berkhout *et al.*, 1990; Hayamizu *et al.*, 2003; Hsu *et al.*, 2007).

Diversos estudios realizados tanto en modelos animales como en humanos han demostrado la capacidad de la flor de jamaica para reducir el peso corporal, la acumulación de grasa en el tejido adiposo, la normalización de los índices de glicemia, triglicéridos y colesterol en suero. Los ensayos en humanos han demostrado el potencial anti obesidad y la protección hepática que el extracto de

H. sabdariffa posee sin efectos adversos (Peng *et al.*, 2011; Villalpando-Arteaga *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2014; Si *et al.*, 2017).

En resumen, estos resultados tienen como origen común el contenido de compuestos bioactivos de las diferentes matrices, ya sean polifenólicos, terpénicos, azufrados o nitrogenados. Por ejemplo, los estudios empleando la cúrcuma rica en compuestos polifenólicos, han demostrado que inhibe la proliferación y diferenciación de los adipocitos, lo que sugiere un catabolismo mejorado en el tejido adiposo. Además, la cúrcuma promueve el pardeamiento del tejido adiposo blanco en ratones inducidos a la obesidad por dieta, por lo que existe un mayor gasto energético, reduciendo la deposición de la masa grasa (Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016; Tian *et al.*, 2017).

VII. IV Evaluación del gasto energético y del coeficiente de intercambio respiratorio

El peso corporal y por consiguiente la composición corporal cambian cuando la ingesta de energía no es igual al gasto energético durante un periodo de tiempo, es por ello que se evaluaron los parámetros de gasto energético y coeficiente de intercambio respiratorio (respiratory exchange ratio, RER), éste último se relaciona con el tipo de nutrimento o sustrato que se está oxidando en el organismo como fuente principal de energía

La evaluación del volumen de oxígeno consumido (VO_2) y el coeficiente de intercambio respiratorio (RER) durante 24 horas en los periodos de ayuno y posprandio se presentan en las Figuras 13A y 13B. Se determinó que los ratones alimentados con la DAG presentaron el menor gasto energético tanto en ayuno como en posprandio. También es importante mencionar que, independientemente del tratamiento dietario el gasto energético fue mayor durante el periodo de posprandio, que durante el ayuno.

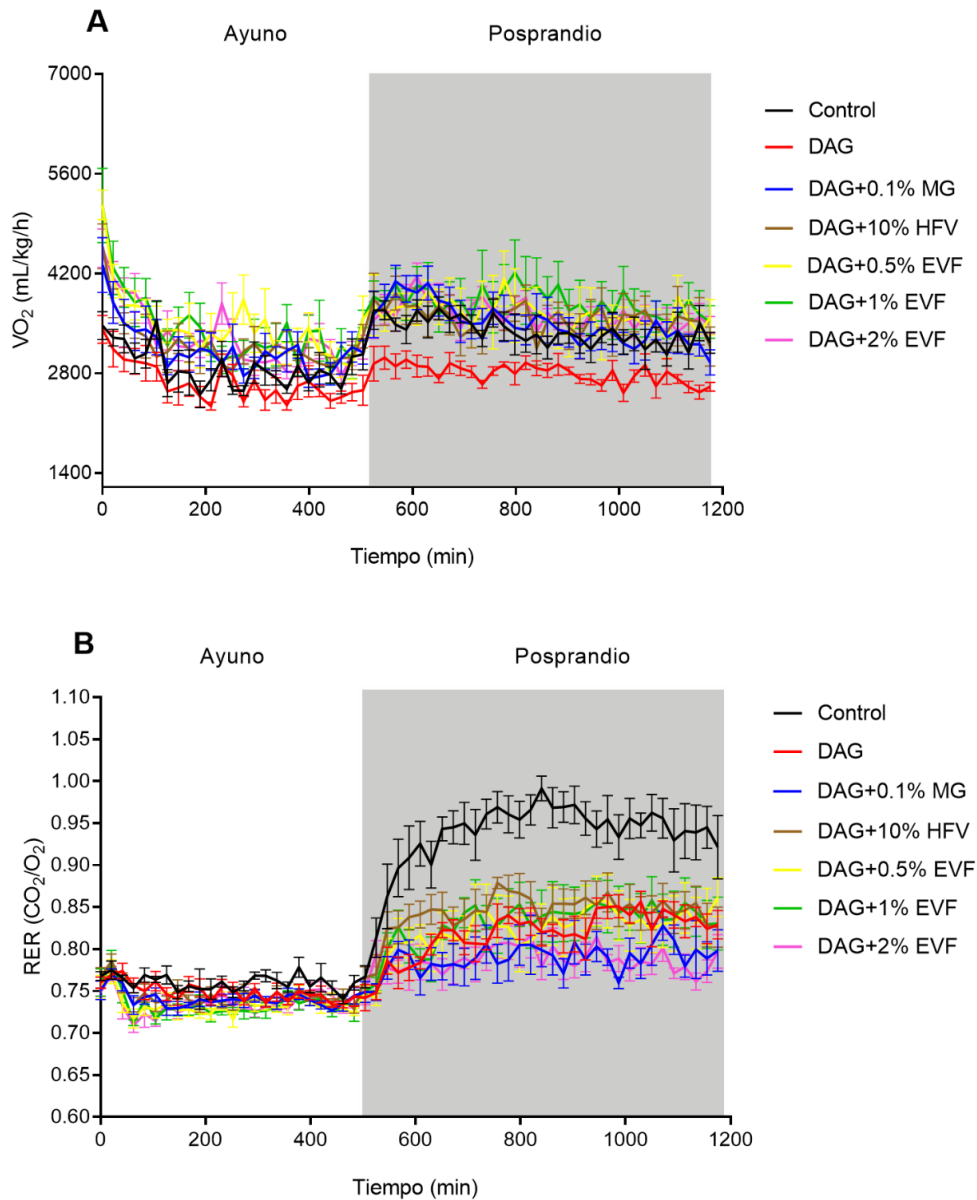


Figura 13. Gasto energético de los diferentes tratamientos dietarios a la semana 9 de estudio.

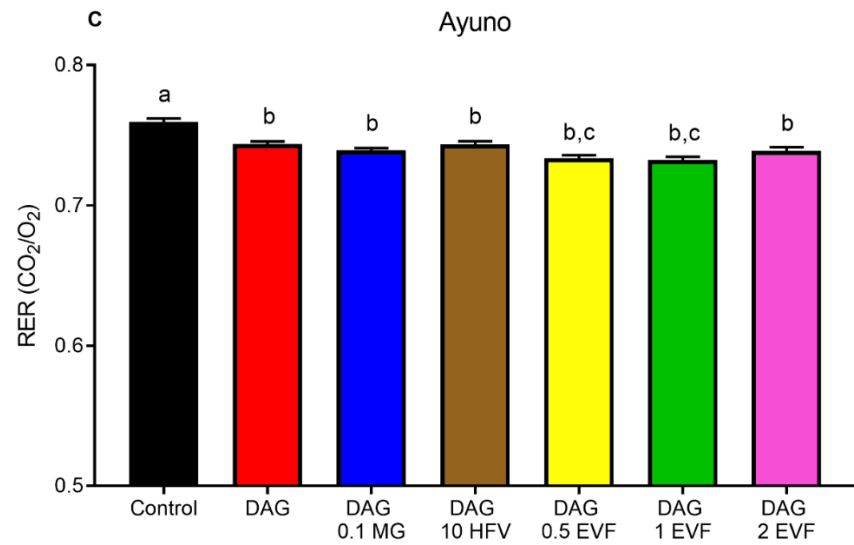
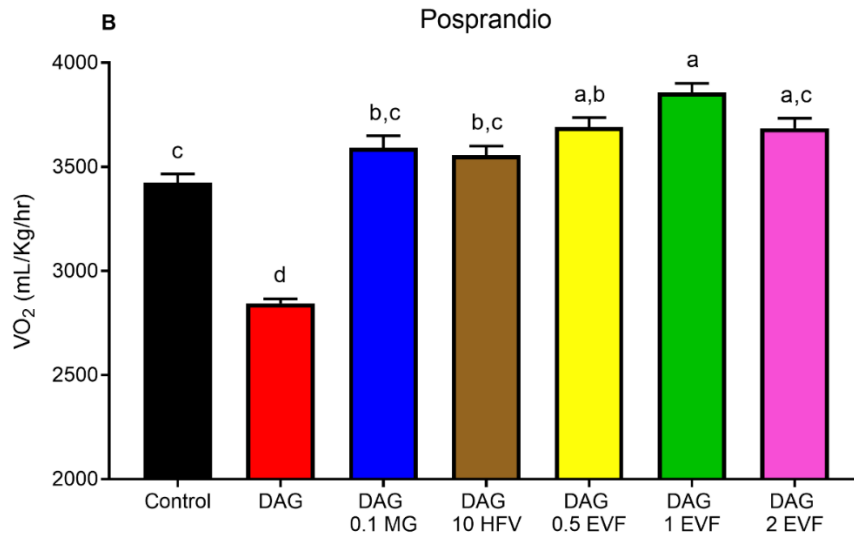
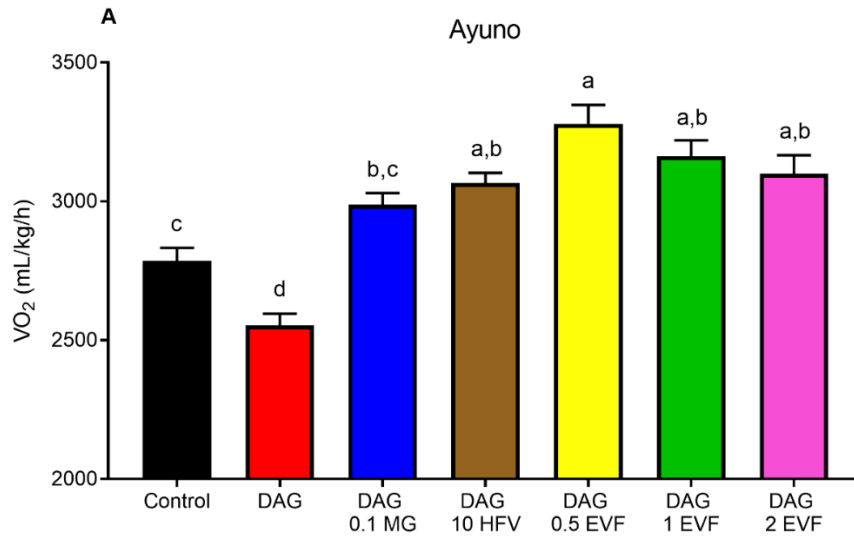
A) Volumen de oxígeno consumido (VO₂) durante los periodos de ayuno y alimentación (claro y sombreado, respectivamente) expresado en mL/kg/h. B) Relación de intercambio respiratorio (CO₂/O₂) durante los periodos de ayuno y alimentación (claro y sombreado, respectivamente) de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana*

(DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo.

Además de la evaluación del consumo de oxígeno, el RER permitió estimar la contribución relativa de las grasas y los carbohidratos al metabolismo energético. Como se esperaba, todos los tratamientos experimentales mostraron un aumento del RER durante el periodo de posprandio.

En el periodo de ayuno de todos los tratamientos, los valores fueron cercanos al 0.8 indicando que el sustrato energético utilizado fue diferente a la glucosa, en el momento que comenzó la alimentación, el grupo Control utilizó únicamente hidratos de carbono como fuente de oxidación por lo que el RER fue cercano a 1; el resto de los tratamientos experimentales no mostraron valores mayores a 0.85 indicando la oxidación de sustratos diferentes a la glucosa como fuente de energía.

Posteriormente, en los intervalos lineales de las Figuras 13A y 13B (2000-4000 mL/kg/h y 0.5-1.0 CO₂/O₂, respectivamente), se consideraron los valores promedio durante los periodos de ayuno y posprandio para construir la Figura 14. En las Figuras 14A y 14B, periodos de ayuno y posprandio, se observó que los ratones alimentados con la DAG presentaron el menor gasto energético siendo estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos en ambos periodos. Los tratamientos que contenían harina o extracto de *Vachellia farnesiana* presentaron el mayor gasto energético en ambos periodos y algunos tratamientos fueron similares al tratamiento Control.



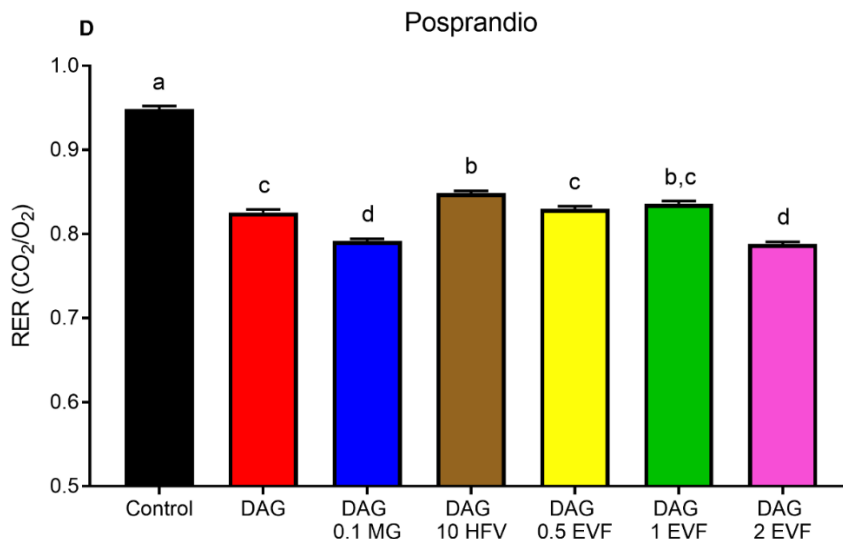


Figura 14. Parámetros evaluados en los periodos de ayuno y posprandio.

A) Consumo de oxígeno (VO_2) durante el periodo de ayuno expresado en mL/kg/h. B) Consumo de oxígeno (VO_2) durante el periodo de posprandio expresado en mL/kg/h. C) Relación de intercambio respiratorio (RER) durante periodo de ayuno expresado en CO_2/O_2 . D) Relación de intercambio respiratorio (RER) durante el periodo de posprandio expresado en CO_2/O_2 , en ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b,c,d}Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la gráfica de consumo de oxígeno (Figura 13A) el grupo de DAG mostró el menor consumo, tanto en el periodo de ayuno como en el de posprandio, si bien el resto de los grupos no presentaron un consumo de oxígeno muy alto, sí fue mayor en comparación al grupo con DAG y se reflejó de manera adicional sobre la composición corporal.

Los seres humanos ingieren energía en forma de proteínas, carbohidratos y grasas; cuando la ingesta energética supera al gasto energético, se produce un estado de balance energético positivo, que tiene como consecuencia el aumento en la masa corporal, de la cual del 60% al 80% es masa grasa (Hill *et al.*, 2012).

El coeficiente de intercambio respiratorio muestra el tipo de nutrimento o sustrato que se está oxidando en el organismo como fuente principal de energía, por lo que a partir de, los resultados obtenidos de 0.7 y 0.8 CO_2/O_2 durante el periodo de ayuno indican como principal sustrato energético a los lípidos. Es conveniente mencionar que en la obesidad los niveles de leptina en suero aumentan y no existe un equilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético (Rehman Khan y Awan 2016) por lo que se esperaba que los animales alimentados con dietas altas en grasa mostraran un gasto energético menor al obtenido y similar al observado en el tratamiento de DAG.

Al comenzar el periodo de alimentación, el gasto energético se incrementa para la oxidación de los sustratos como fuente de energía, con esto, el consumo de oxígeno y el RER se incrementan. Lo anterior se observó en el grupo Control que presentó un consumo de oxígeno mayor, y un RER cercano a 1 (Figura 14B), después de la ingesta de alimento lo que a su vez condujo a la inmediata oxidación del sustrato principal, que en este caso son los carbohidratos (Flatt *et al.*, 1985; Pereira-Lancha *et al.*, 2010). Esto, además, muestra la flexibilidad metabólica de los animales, quienes tuvieron la capacidad de adaptar eficazmente su metabolismo dependiendo de la disponibilidad del sustrato, es decir, de lípidos a hidratos de carbono, durante el periodo de alimentación (Smith *et al.*, 2018; Delgadillo-Puga *et al.*, 2020).

Los grupos restantes, incluyendo el tratamiento con DAG, presentaron valores de RER por debajo del 0.85 lo que indica que utilizan ácidos grasos como fuente de energía a pesar de que se encontraban en el periodo de alimentación. Esto refleja la inflexibilidad metabólica de cambiar de sustrato para la obtención de energía; el grupo de DAG+2% EVF fue el que presentó los valores más bajos de RER, y si bien no presentó el mayor gasto energético, es posible afirmar que estos ratones suplementados con el EVF tenían una alta capacidad de oxidación de grasas, evitando la acumulación en el tejido adiposo y en otros órganos, además de ser metabólicamente inflexibles, dichos cambios se relacionaron con un menor consumo de oxígeno.

Dichos resultados son similares a los obtenidos por [Zamora-López et al., 2020](#), quienes observaron que al suplementar a ratones machos de la cepa C57BL/6N con 3.5 mg/g de aceite de semilla de granada presentaron inflexibilidad metabólica, debido a la utilización continua de grasas en el periodo de posprandio. El aceite de semilla de granada está compuesto principalmente de ácido punícico y omega-5, un potente antioxidante asociado con diversos efectos benéficos metabólicos y celulares, además de contener antocianinas, ácido elágico, taninos, ácido ursólico, elagitaninos, y esteroides, con importantes propiedades terapéuticas.

Muy probablemente los compuestos polifenólicos provenientes del EVF puedan favorecer la expresión de genes relacionados con el gasto energético tanto en el músculo esquelético como en el hígado; ya que algunos polifenoles activan a los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs) como PPAR α y PPAR γ que aumentan la expresión de mRNA y proteínas como ACO, CPT1 y UCP3 elevando el gasto energético en el músculo esquelético e hígado, suprimiendo la obesidad y el hígado graso ([Tanaka et al., 2003](#); [Ikarashi et al., 2011](#)).

VII. V Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa (ipGTT)

Para establecer que la inflexibilidad metabólica y la acumulación de grasa en distintos órganos conllevan a la intolerancia a la glucosa de los animales tratados se realizó la prueba intraperitoneal (ipGTT). En la Figura 15A se presentan los resultados de la ipGTT y se resalta que los niveles de glucosa de los ratones alimentados con DAG fueron mayores a los niveles registrados en los animales alimentados con el resto de los tratamientos experimentales.

Se calculó el área bajo la curva (AUC, Figura 15B), por cada cinética de concentración de glucosa, se destacó que los grupos de animales alimentados con tratamiento Control y DAG+10% HFV fueron estadísticamente similares, se resalta este resultado en particular dado que fue el tratamiento que mejores resultados mostró en las evaluaciones anteriores, posteriormente se discutirá si es el mejor tratamiento dietario entre todos los evaluados.

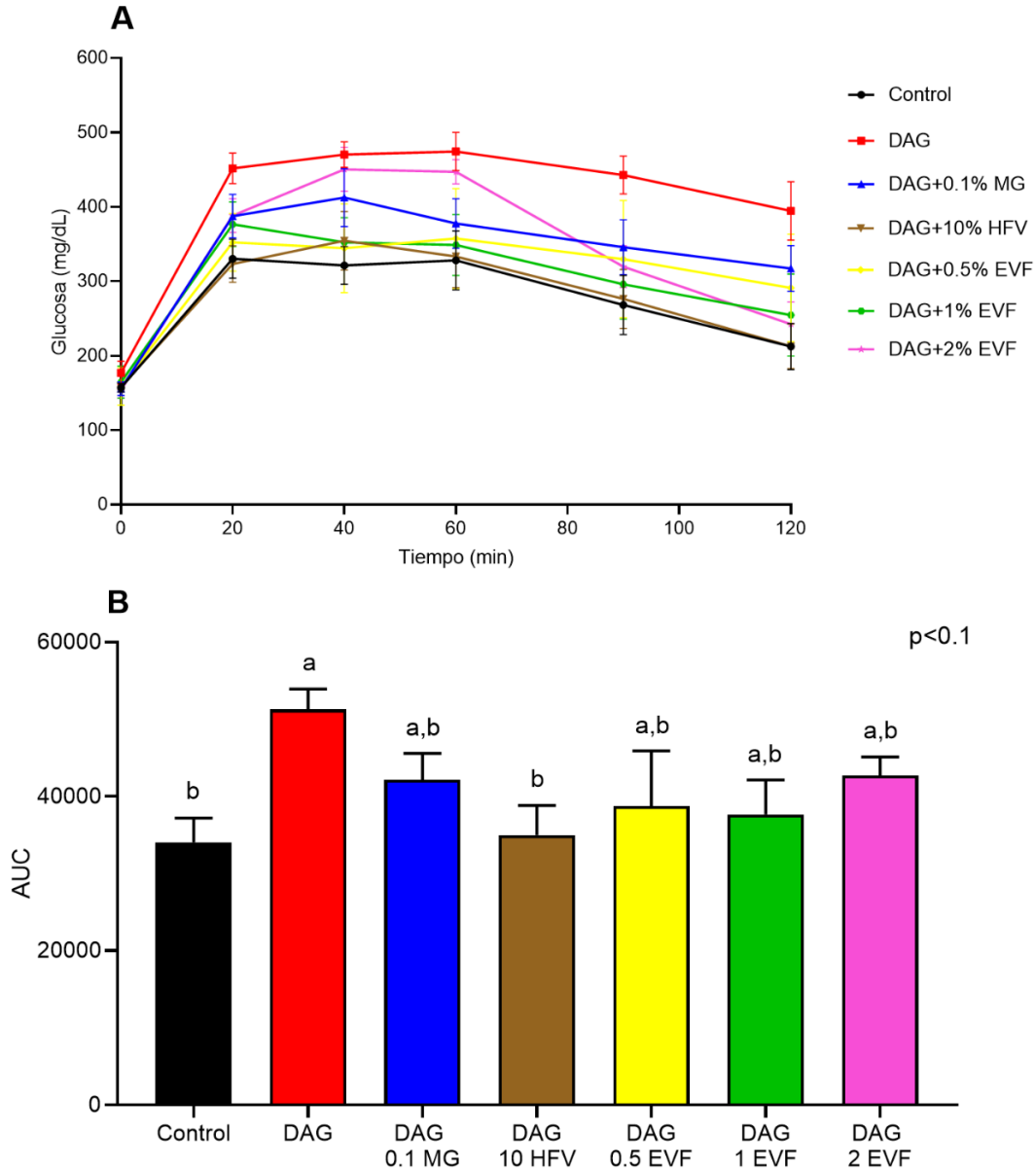


Figura 15. Prueba intraperitoneal de tolerancia a la glucosa.

A) Concentraciones de glucosa durante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (ipGTT) expresada en mg/dL. B) Área bajo la curva de la ipGTT (AUC) de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b}Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.1$).

Al realizar el análisis estadístico (ANOVA) para el área bajo la curva (Figura 15B), no se encontró diferencia estadística significativa con $p < 0.05$, aunque a la vista si se observaba diferencia entre los tratamientos, por lo que el análisis volvió a realizar con $p < 0.1$, en este se encontró que efectivamente los grupos Control y DAG+10% HFV fueron estadísticamente iguales entre sí, sin ser estadísticamente similares al grupo tratado con DAG, como lo fueron los grupos restantes (DAG+0.1% MG, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF, DAG+2% EVF).

Con los datos obtenidos de la ipGTT es posible afirmar que la DAG produjo intolerancia a la glucosa, dado que los valores de glucosa en sangre no disminuyeron por efecto de la insulina endógena. Como ya se mencionó la dieta suplementada con la HFV (DAG+10% HFV) mostró valores de glucemia similares a los del tratamiento Control siendo estadísticamente iguales entre sí.

Adicionalmente a través de la prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina (ipITT), que se discutirá en la sección siguiente, se observó que el grupo alimentado con HFV registró valores de glucosa por debajo de los registrados por los animales alimentados con la dieta Control, con esto es probable que los animales de este tratamiento dietario no desarrollaron resistencia a la insulina en los órganos insulino-dependientes.

VII. VI Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina (ipITT)

En la prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina, ipITT (Figura 16), también se observó que los ratones alimentados con DAG fueron los que presentaron los valores de glucosa en sangre más elevados. A través de una prueba t-test, se confirmó que los resultados obtenidos para los grupos alimentados con las dietas Control y DAG fueron diferentes estadísticamente; este comportamiento se observó también entre los tratamientos DAG vs DAG+10% HFV, DAG vs DAG+2% EVF.

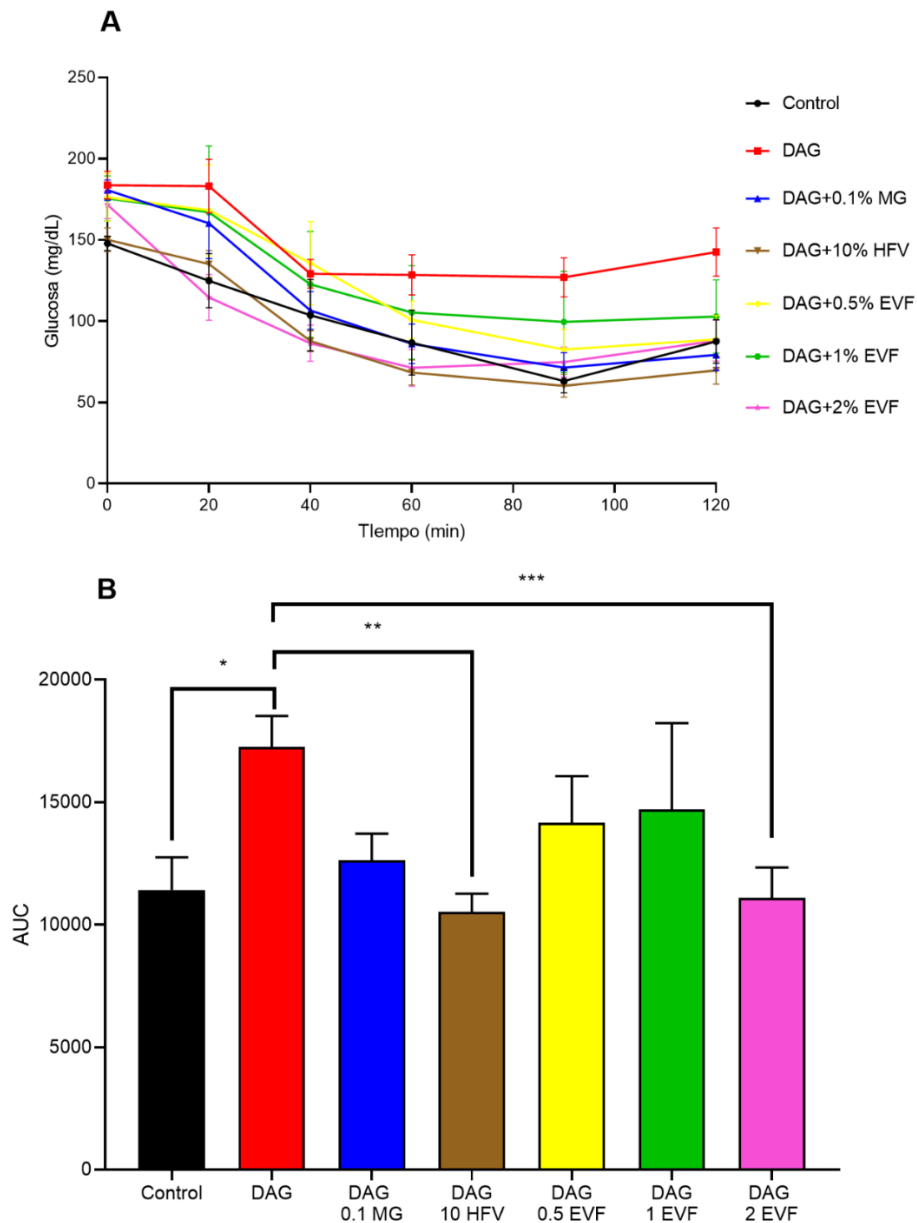


Figura 16. Prueba intraperitoneal de resistencia a la insulina.

A) Concentraciones de glucosa durante la prueba de tolerancia a la insulina intraperitoneal (ipITT) expresada en mg/dL. B) Área bajo la curva de ipITT (AUC), (analizada con ANOVA unifactorial y prueba post hoc de t-test para comparación entre grupos), de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM. *, **, ***Indica que existe diferencia estadística significativa realizando la prueba de t-test ($p < 0.05$).

La resistencia a la insulina se genera por una disminución en la secreción de adiponectina y un aumento en la secreción de TNF- α . Según lo reportado por [Ikarashi et al., 2011](#), los compuestos polifenólicos contenidos en el género *Acacia* aumentan la expresión de mRNA de PPAR γ lo que facilita la expresión de adiponectina, además, aumentan la expresión de mRNA de GLUT4, transportador de glucosa que se expresa en el músculo esquelético, por lo que se reduce la resistencia a la insulina.

La adiponectina es una adipocina que mejora la sensibilidad a la insulina, además de mantener la expansión del tejido adiposo saludable mientras previene la acumulación de lípidos ectópicos en otros tejidos. Se sabe que la forma en que la adiponectina sensibiliza a los órganos insulino-dependientes es porque favorece la oxidación de los lípidos, reduciendo su acumulación, aumentando la captación de glucosa en el músculo y por ende, disminuye la gluconeogénesis en el hígado ([Yamauchi et al., 2001](#); [Xu et al., 2003](#); [Berg et al., 2011](#)).

Por otro lado, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) se secreta en mayor cantidad en cuadros de obesidad, además de disminuir la respuesta celular a la insulina en adipocitos, hepatocitos y células musculares, tiene efectos sobre el metabolismo del colesterol y las lipoproteínas en humanos ([Ramírez Alvarado y Sánchez Roitz, 2012](#)).

Los resultados obtenidos en la ipGTT e ipITT mostraron que al incorporar la HFV o el EVF en concentraciones de 1% y 2% en la dieta, suprimen la hiperglucemia y la hiperinsulinemia, no solo mitigando la obesidad, sino también posiblemente incrementando la secreción de adiponectina y suprimiendo la secreción de TNF- α en el tejido adiposo blanco, lo que posteriormente tendría que confirmarse con estudios en suero.

Por otra parte, la leptina también es una adipocina producida en mayor cantidad por los adipocitos, actúa sobre receptores hipotalámicos para controlar la ingesta de alimentos, el gasto energético y el peso corporal ([Zhang et al., 1994](#); [Halaas et al., 1995](#); [Halaas et al., 1997](#); [Friedman y Halaas, 1998](#); [Montez et al., 2005](#)).

Se sabe que los niveles circulantes de leptina son proporcionales a la masa grasa, de tal forma que un alto contenido de masa grasa resultaría en una alta secreción de leptina que se expresaría negativamente en el hipotálamo aumentando el peso corporal y disminuyendo el gasto energético.

A continuación (Figura 17) se presentan las imágenes de los cortes histológicos del páncreas teñido con hematoxilina y eosina, donde se destaca el tamaño de los islotes pancreáticos más representativos de cada tratamiento dietario. Se observó que los islotes de los tratamientos de DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF y DAG+1% EVF fueron de tamaño similar o menor a los del tratamiento Control, esto se puede corroborar con el análisis estadístico presentado en la Figura 18.

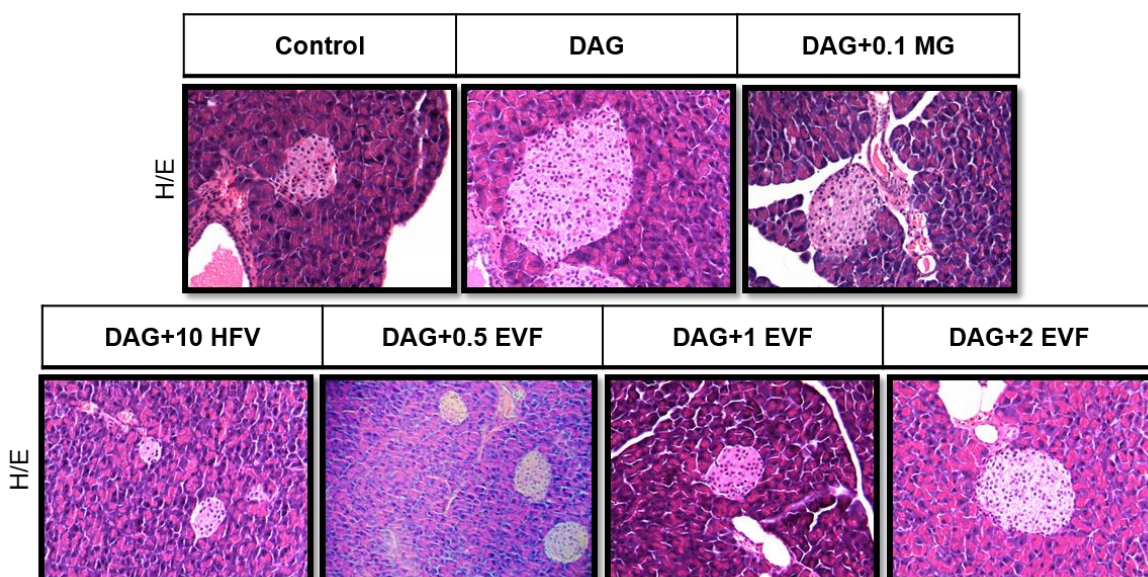


Figura 17. Islotes pancreáticos representativos de cada dieta evaluada al término del estudio.

Islotes pancreáticos representativos teñidos con hematoxilina y eosina de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF).

En los islotes pancreáticos se localizan las células productoras de hormonas que regulan la homeostasis de la glucosa entre las cuales se encuentran, las células β que son las responsables de la producción de insulina; la obesidad provoca una hipertrofia de estas estructuras para compensar la demanda de insulina por los tejidos, cuando este proceso se sostiene de manera crónica provoca la inflamación y su consecuente destrucción como parte de la respuesta inmunológica, lo que desencadena una limitante en la producción de insulina endógena y con ello la incapacidad de la captación de la glucosa por los tejidos, fenómeno que resulta en diabetes tipo II ([Sharon et al., 2019](#)).

En este ensayo se determinó el tamaño de los islotes pancreáticos, expresado en área (μm^2), identificando un área mayor (400% más, respecto al grupo Control) en el grupo de los animales alimentados con la DAG, que en los grupos restantes por lo que, la hiperinsulinemia observada en los ratones del grupo DAG (Figura 16A) podría estar asociada con el aumento de la masa de los islotes pancreáticos ([Roat et al., 2014](#)), es por esta razón que el grupo Control y DAG+10% HFV mostraron los valores de glucosa más bajos durante la ipITT, asociándose con el menor tamaño de los islotes pancreáticos presentados en la Figura 17, respecto a los observados por el grupo de animales alimentados con DAG.

La buena respuesta en las pruebas de ipGTT e ipITT por parte del grupo de DAG+10% HFV, fue muy similar a la del grupo Control, a lo largo de las evaluaciones realizadas. Al observar las características de los islotes pancreáticos en conjunto con la supresión de la resistencia a la insulina, es posible afirmar que los ratones no presentan diabetes. Pese a que los demás grupos (DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF, DAG+2% EVF) no fueron iguales estadísticamente al grupo de DAG, tampoco lo fueron al Control, ni se encontraron resultados tan buenos como los del grupo adicionado con 10% de HFV y 0.5% de EVF.

En la Figura 18, se presenta la frecuencia promedio del tamaño de los islotes pancreáticos de muestras representativas de páncreas. Se corroboró lo presentado en la Figura 17, es decir, que la mayor área de islotes pancreáticos se encuentran en los animales alimentados con DAG, mientras que los grupos de DAG+10% HFV y DAG+0.5% EVF presentaron áreas menores.

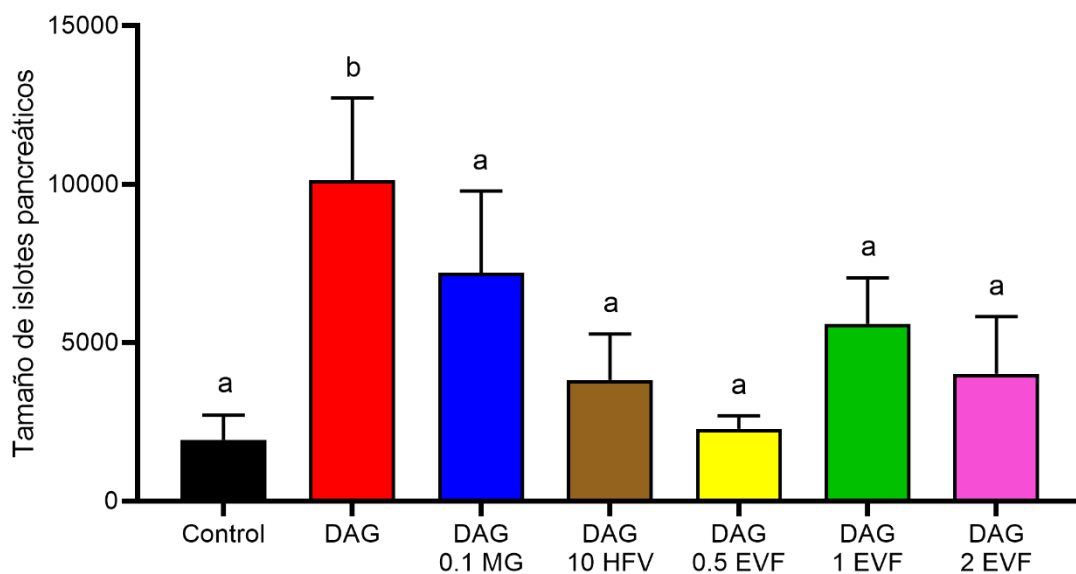
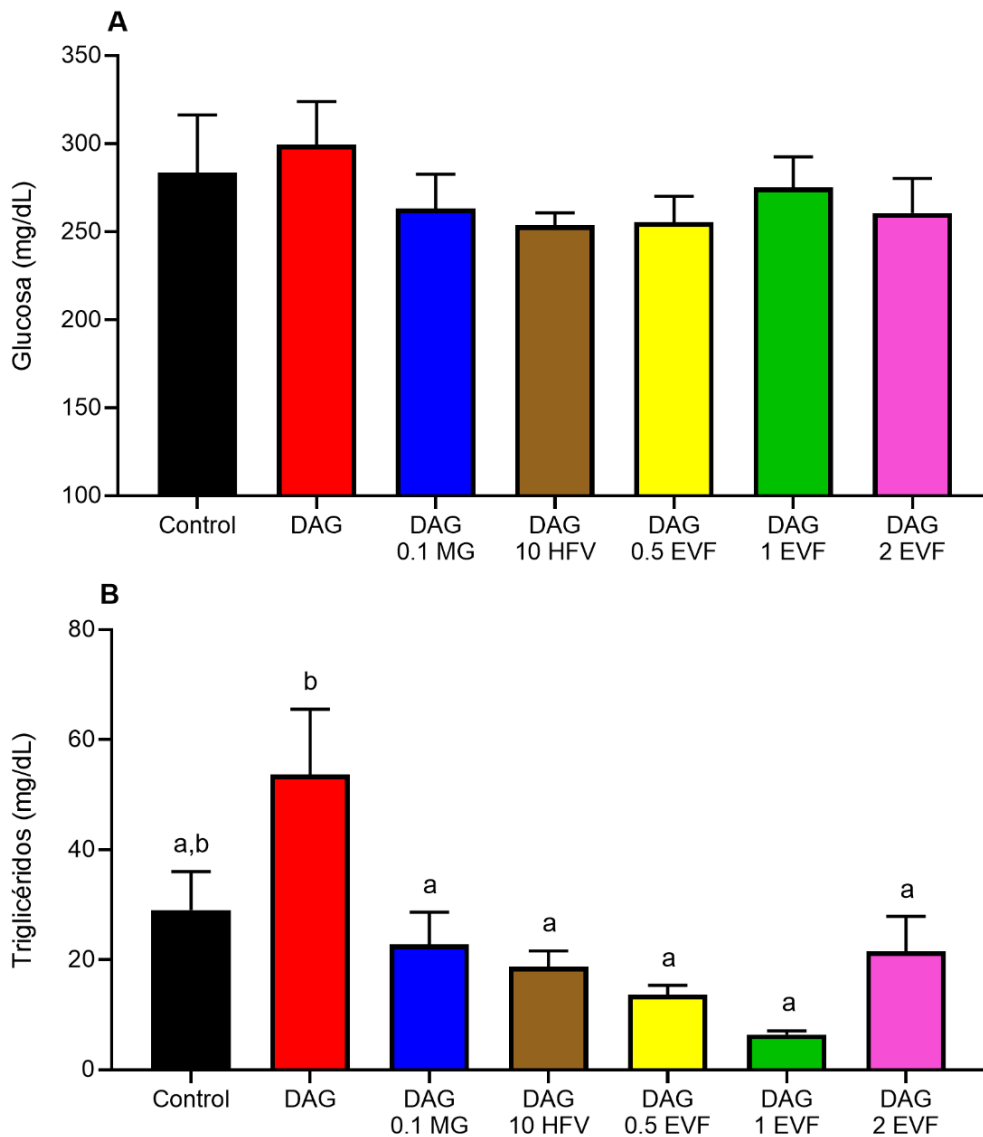


Figura 18. Análisis estadístico de los islotes pancreáticos.

Tamaño (μm^2) de los islotes pancreáticos de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

VII. VII Parámetros bioquímicos en suero

Los resultados de los parámetros bioquímicos evaluados en el suero se presentan en la Figura 19. La glucosa no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre grupos. En la evaluación de triglicéridos, el grupo alimentado con DAG mostró el valor más alto (85% más, respecto al grupo Control) y el grupo Control fue estadísticamente similar ($p < 0.05$) al resto de los grupos. Por otra parte, el colesterol evaluado en el suero mostró resultados no esperados, se registró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre el grupo Control y el grupo que recibió el tratamiento de DAG.



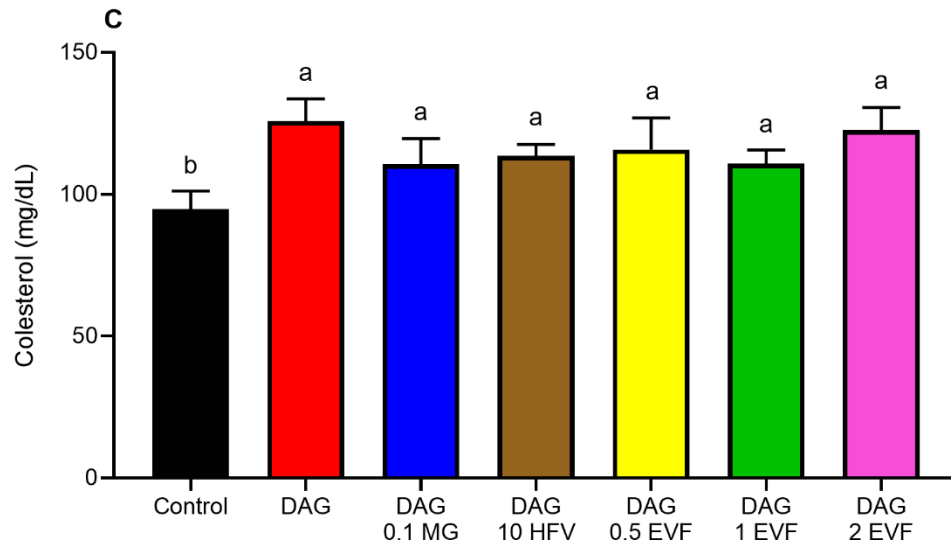


Figura 19. Evaluación de parámetros bioquímicos en suero.

A) Concentración de glucosa en suero expresada en mg/dL. B) Concentración de triglicéridos en suero expresada en mg/dL. C) Concentración de colesterol en suero expresada en mg/dL, de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la concentración de glucosa en suero (Figura 19A), aunque visiblemente se observan diferencias entre tratamientos, al realizar el análisis estadístico ($p < 0.05$) no se encontró diferencia significativa. El contenido de triglicéridos en suero (Figura 19B) registró resultados más variables: el grupo con DAG mostró el mayor contenido, mientras que el grupo de DAG+1% EVF el menor contenido. Por último, en lo que respecta al colesterol total (Figura 19C) se observó que solamente el grupo Control y el de DAG fueron diferentes entre sí y DAG fue estadísticamente similar a los grupos restantes.

La variabilidad y poca certeza de los resultados de los parámetros bioquímicos evaluados en el suero no ayudan a la clarificación de la hipótesis planteada, ni continúan con la tendencia de que el grupo de DAG+10% HFV fuera la mejor alternativa dietaria para tratar la obesidad.

Es posible que estos resultados tan variables y poco certeros de la glucosa y ácidos grasos, sean resultado del ayuno prolongado al que se sometieron a los animales el día del sacrificio y al estrés provocado durante la espera por el mismo.

VII. VIII Histología de tejidos

Como parte final de este proyecto experimental se realizó el análisis histológico a las muestras de tejidos y órganos. A continuación, en la Figura 20 se presentan las secciones de tejido adiposo pardo (TAP), tejido adiposo visceral (TAV) y tejido adiposo subcutáneo (TAS) representativas de cada tratamiento dietario, destacando que el grupo alimentado con DAG+10% HFV fue visiblemente similar al grupo Control en los tres tejidos observados, más adelante con el análisis estadístico se aclarará esta afirmación.

Así mismo, se realizó el análisis del tamaño de las vesículas de los adipocitos marrones y las áreas de los adipocitos blancos. Estos resultados corroboraron lo observado previamente en las imágenes, mostrando que el tratamiento dietario de DAG+10% HFV fue el que presentó menor área de adipocitos (Figura 21, 23 y 24).

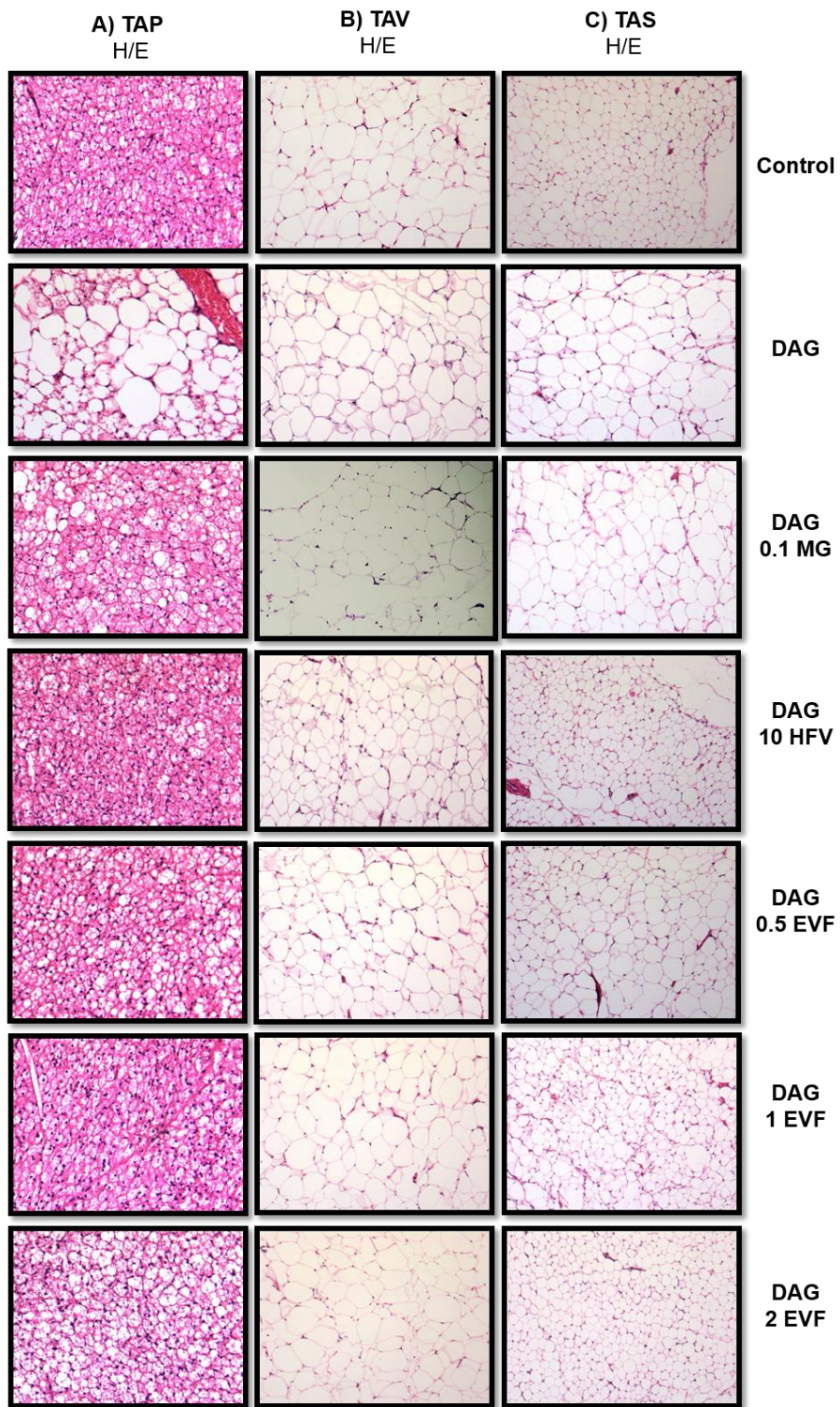


Figura 20. Secciones de tejido adiposo representativas de cada dieta al término del estudio. Secciones de A) tejido adiposo pardo, B) tejido adiposo visceral y C) tejido adiposo subcutáneo representativos teñidos con hematoxilina y eosina de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG),

dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF).

En la Figura 21 se presenta el análisis estadístico del TAP, en este se observó que el grupo de DAG presentó una mayor hipertrofia de los adipocitos; siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) respecto a los tratamientos Control, DAG+0.1% MG, DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF y DAG+1% EVF; en relación al grupo de DAG+2% EVF no se identificó diferencia estadística ($p < 0.05$).

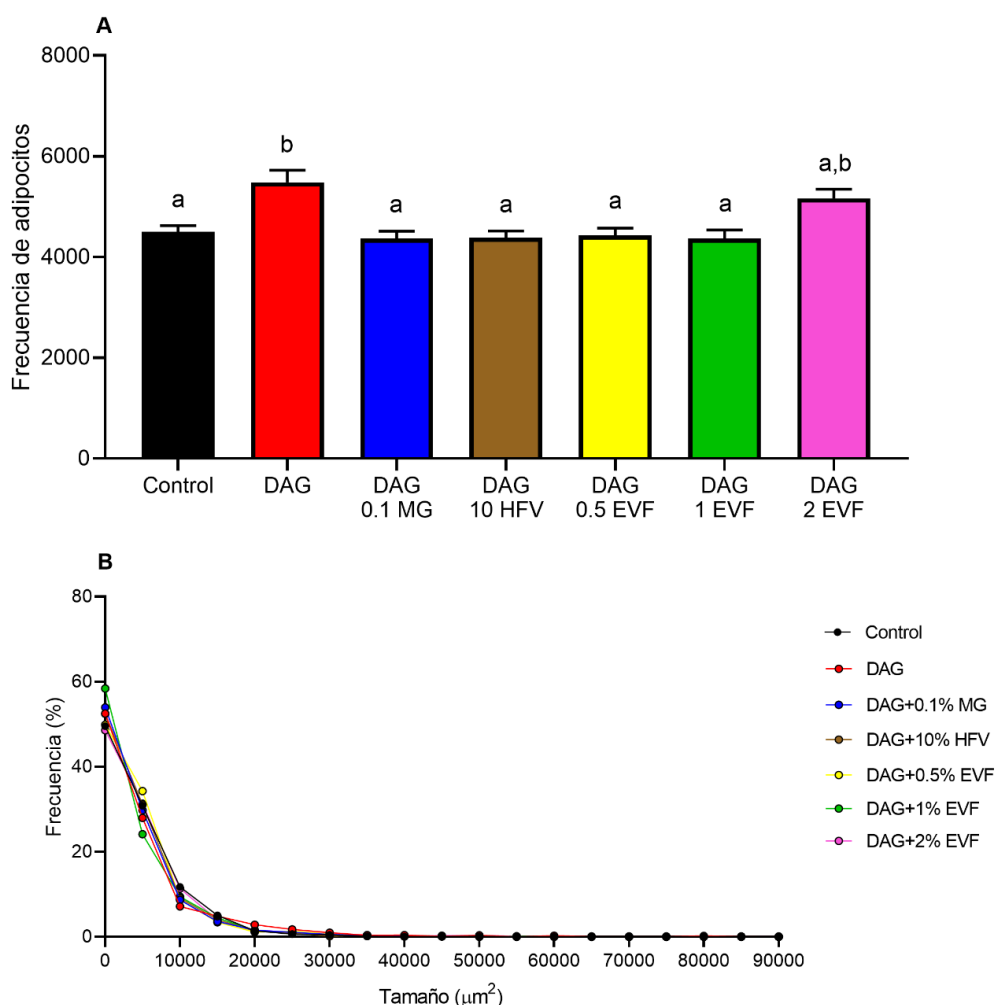


Figura 21. Análisis estadístico del tejido adiposo pardo.

A) Frecuencia promedio del tamaño de los adipocitos, B) Gráfica de frecuencia respecto al tamaño de los adipocitos (μm^2) de tejido adiposo pardo teñido con hematoxilina y eosina de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de

metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la Figura 22 se presenta la frecuencia promedio de los adipocitos del TAV, donde destacablemente el grupo de animales alimentados con DAG+10% HFV fue el que obtuvo los valores más bajos, incluso por debajo de los resultados observados por el grupo Control.

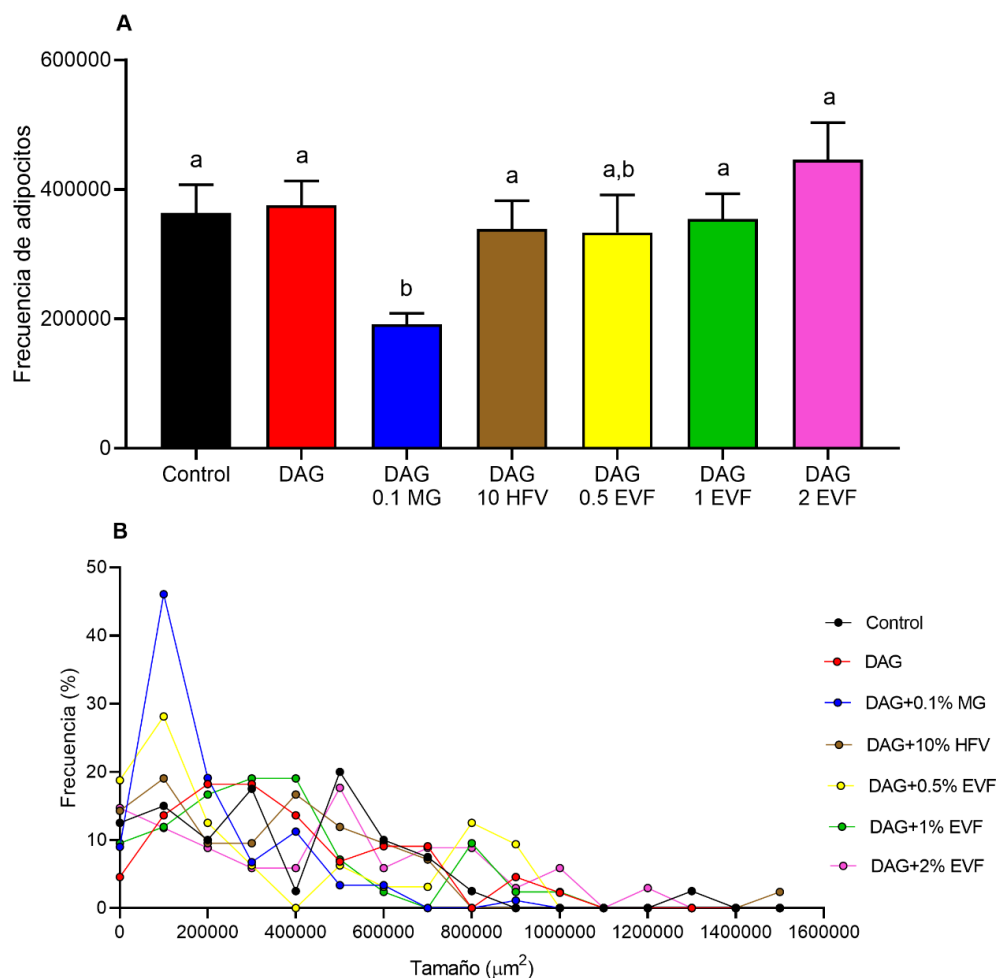


Figura 22. Análisis estadístico del tejido adiposo visceral.

A) Frecuencia promedio del tamaño de los adipocitos, B) Gráfica de frecuencia respecto al tamaño de los adipocitos (μm^2) de tejido adiposo visceral teñido con hematoxilina y eosina de ratones

alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la Figura 23 se presenta el análisis estadístico ($p < 0.05$) del TAS, en donde se observó una tendencia similar a los resultados previamente presentados de TAP y TAV. El grupo de los animales tratados con la dieta Control fue estadísticamente similar ($p < 0.05$) al grupo de DAG+10% HFV y al grupo de DAG+0.5% EVF; los grupos restantes (DAG+0.1% MG, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF) fueron estadísticamente similares ($p < 0.05$) tanto al grupo tratado con dienta Control, como al grupo tratado con DAG.

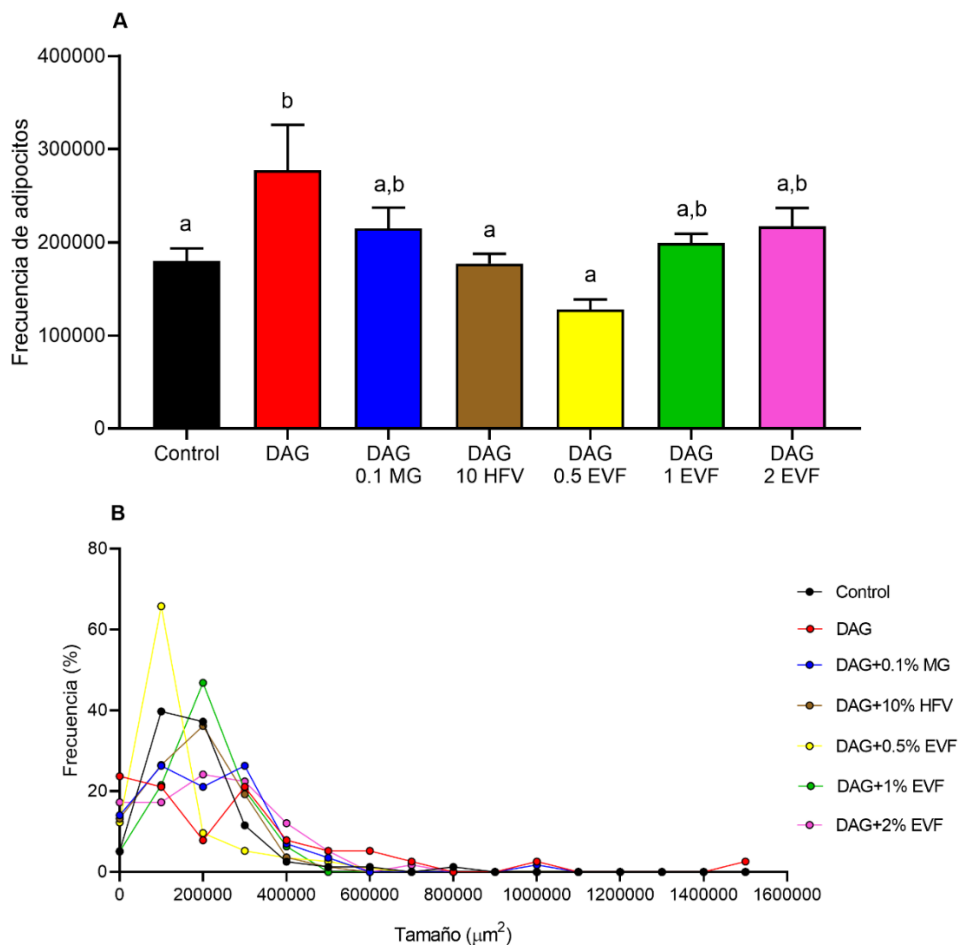


Figura 23. Análisis estadístico del tejido adiposo subcutáneo.

A) Frecuencia promedio del tamaño de los adipocitos, B) Gráfica de frecuencia respecto al tamaño de los adipocitos (μm^2) de tejido adiposo subcutáneo teñido con hematoxilina y eosina de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b}Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

El tejido adiposo pardo (Figura 20A y Figura 21) es el principal tejido termogénico lo que lo convierte en un sitio relevante para los procesos de gasto energético adaptativo. Diversos estudios demuestran que la termogénesis adaptativa mediada por el TAP puede proteger contra la obesidad mediante la promoción del gasto energético (Feldmann *et al.*, 2009).

En comparación con el tejido adiposo blanco, el pardo no es tan susceptible a desarrollar procesos de inflamación en respuesta a la obesidad, sin embargo, cuando las condiciones obesogénicas son altas se induce un ambiente proinflamatorio local en la grasa del TAP (Villarroya *et al.*, 2018).

Tal como se observa en las Figuras 21A y 22, el grupo DAG presentó hipertrofia de los adipocitos, pese a que todos los demás tratamientos (DAG+0.1% MG, DAG+10% HFV, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF, DAG+2% EVF) contenían la misma cantidad de grasa no se observó hipertrofia de los adipocitos, al contrario, hubo grupos que se observaron muy similares al tratamiento Control, como DAG+10% HFV y DAG+1% EVF. Es importante destacar que en lo que respecta al gasto energético (Figura 13A), ninguno de los grupos suplementados se vio afectado por una termogénesis disminuida.

El tejido adiposo blanco (TAB), tanto subcutáneo como visceral (Figuras 21B y 21C), es responsable del almacén de energía metabólica, contiene adipocitos blancos que acumulan triglicéridos para actuar como reserva de energía. El TAB se vuelve hipertrófico y algunas veces hiperplásico, en relación directa con el grado de

obesidad, en consecuencia, cuando el TAB se hipertrofia se asocia con alteraciones metabólicas sistémicas, como la hiperglucemia, resistencia a la insulina y las dislipidemias (Saltiel y Olefsky, 2017).

En sujetos con peso adecuado, los adipocitos pequeños participan en la homeostasis metabólica, principalmente en el balance energético, en el metabolismo de lípidos, en la termorregulación y en la función hormonal, pero en la obesidad, como ya se mencionó, el tejido adiposo hipertrófico está íntimamente asociado a la resistencia a la insulina, lo que puede conducir al desarrollo del síndrome metabólico (Flores-Lázaro *et al.*, 2011) Por esta razón, es que el grupo DAG presentó hiperinsulinemia durante la ipITT, lo cual se relacionó con la hipertrofia del TAB observado en la Figura 20.

Por otra parte, en la Figura 24 se presentan las secciones del tejido hepático teñidas con hematoxilina y eosina, donde se pudo observar que el tratamiento con la DAG presentó una mayor infiltración de grasa en el tejido hepático respecto a los grupos Control, DAG+10% HFV y DAG+2% EVF.

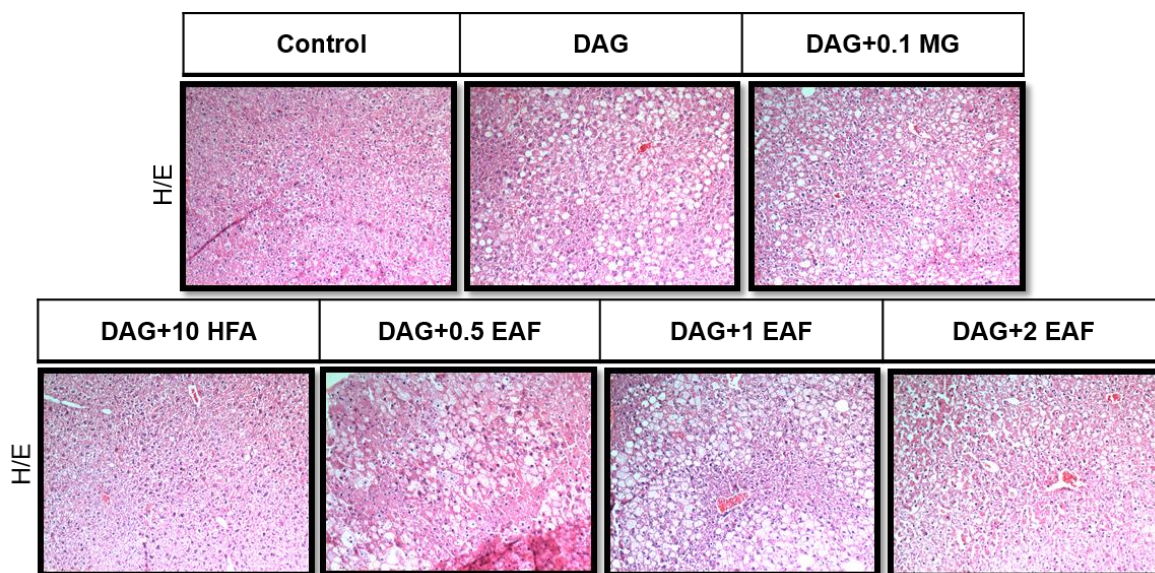


Figura 24. Secciones de tejido hepático representativas de cada dieta al término del estudio. Secciones de tejido hepático representativas teñidas con hematoxilina y eosina de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana*

(DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF).

Después de todas las evaluaciones realizadas y con los resultados obtenidos, es posible decir que el grupo que mejores resultados presentó fue el de DAG+10% HFV, y la observación de las secciones representativas de hígado comprueban lo anterior. En la Figura 24, se observa que la DAG aumentó la acumulación de grasa en el hígado resultando en hígado graso. Al administrar los FVF, el MG, y la HFV se redujo esta acumulación y en consecuencia estos grupos no desarrollaron hígado graso.

Estos resultados pueden ser comparables con lo reportado por [Ikarashi y colaboradores en 2011](#), quienes demostraron que el extracto polifenólico de *Acacia meansii* suprimió el hígado graso en los grupos a los que se les alimentó con DAG más extracto polifenólico.

A continuación, se presenta el análisis de las vacuolas de los lípidos del tejido hepático de los diferentes tratamientos experimentales; se destaca que el grupo de animales alimentados con el tratamiento de DAG+10% HFV mostró el menor porcentaje de área vacuolar, 12.4% por debajo del tratamiento Control, clarificando la afirmación de que no habían desarrollado hígado graso, como consecuencia de la obesidad a la que se les indujo.

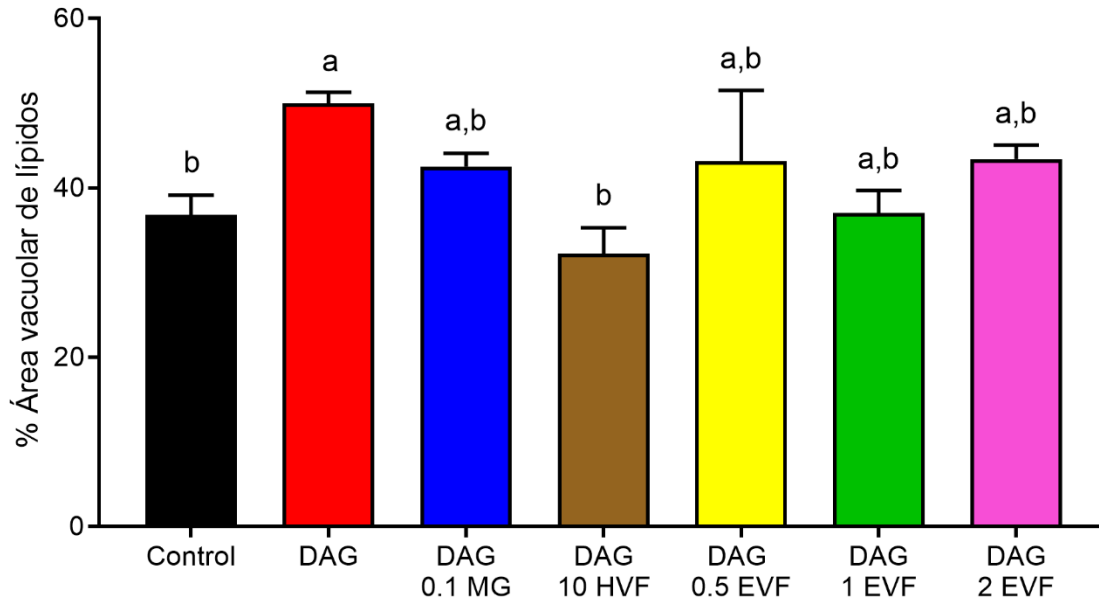


Figura 25. Área vacuolar de lípidos en el tejido hepático representativos de cada dieta al término del estudio.

Porcentaje del área vacuolar de lípidos en el tejido hepático representativas de ratones alimentados con dieta Control (Control), dieta alta en grasa (DAG), dieta alta en grasa con 0.1% de metil galato (DAG+0.1% MG), dieta alta en grasa con 10% de harina de los frutos de *Vachellia farnesiana* (DAG+10% HFV), dieta alta en grasa con 0.5% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+0.5% EVF), dieta alta en grasa con 1% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+1% EVF), dieta alta en grasa con 2% del extracto de *Vachellia farnesiana* (DAG+2% EVF). Valores expresados como el promedio \pm EEM; n=6 ratones por grupo. ^{a,b} Literales distintas indican que existe diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p < 0.05$).

Los tratamientos dietarios restantes fueron estadísticamente similares tanto al tratamiento Control como al grupo de animales tratados con DAG, y como se observó en el análisis histológico de las secciones hepáticas (Figura 24), estos grupos DAG+0.1% MG, DAG+0.5% EVF, DAG+1% EVF y DAG+2% EVF presentaron vacuolas grasas en el citoplasma de los hepatocitos. Como parte de los cambios indispensables para el diagnóstico de la Enfermedad del Hígado Graso no Alcohólico se presenta la esteatosis localizada en la zona alrededor de la vena central, inflamación lobular y lesión hepatocelular de tipo balonización (López Panqueva, 2014).

Dicho esto, se tendrían que analizar más zonas del corte histológico para dar la conclusión definitiva de si los tratamientos dietarios administrados causaron el desarrollo de NAFLD.

Las secciones de páncreas e hígado, también proporcionaron información sobre el daño toxicológico que se pudiera haber presentado por efecto de la HFV o el EVF o la concentración de los mismos.

Al observar secciones de hígado y páncreas en perfectas condiciones se asume que los ratones alimentados con los FVF no sufrieron daño tisular, ni pérdida de la estructura hepática o necrosis de hepatocitos, como se observó en un estudio donde se indujo el daño tisular con paracetamol (500 mg/kg) y se evitó con extracto de *Morus nigra* (150, 300 y 500 mg/kg) rico en compuestos polifenólicos y flavonoides como el ácido gálico, el ácido clorogénico y la catequina, compuestos también presentes en los FVF.

Al someter a ratones albinos suizos machos durante 4 días a estrés oxidativo con paracetamol se observó en secciones de hígado pérdida severa de la arquitectura hepática, necrosis coagulativa de hepatocitos, infiltración linfocítica masiva y venas centrales congestionadas (Diab *et al.*, 2020). Estos daños no se presentaron en las secciones hepáticas de alguno de los tratamientos dietarios administrados, por lo que, no hubo daño toxicológico provocado por los FVF o la concentración del extracto.

Para concluir, en la Figura 26 se esquematiza una propuesta de los mecanismos metabólicos que fueron afectados como resultado de la incorporación de la harina o un extracto metanólico:acuoso de los frutos de *Vachellia farnesiana* dentro de una dieta alta en grasa, y su relación sobre la regulación de las alteraciones metabólicas derivadas de la obesidad.

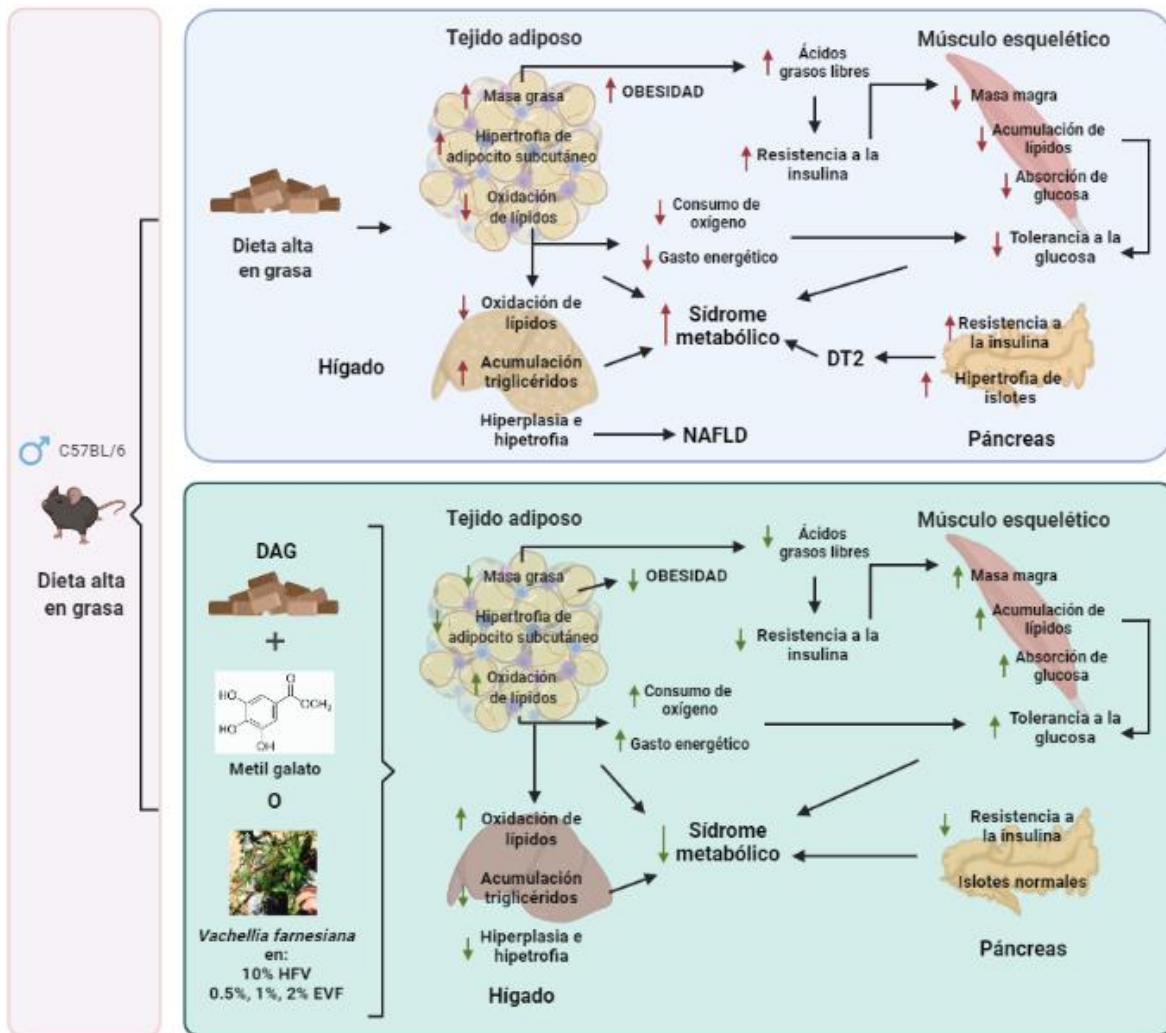


Figura 26. Propuesta de acción de los frutos de *Vachellia farnesiana* sobre la regulación de las alteraciones metabólicas en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.

Es posible afirmar que la harina de los FVF o el extracto en concentración 1% actuaron en el tejido adiposo disminuyendo la masa grasa, promoviendo la oxidación de lípidos, además de disminuir la resistencia a la insulina y aumentando la tolerancia a la glucosa, por lo que la obesidad se ve mitigada.

El consumo de oxígeno y por consiguiente el gasto energético se favoreció, por lo que la masa magra se incrementó, y el peso corporal de los ratones no se incrementó de manera drástica como en el grupo tratado con DAG. Con la evaluación histológica se tuvo una mejor visión de cómo VF previno las alteraciones causadas por la obesidad inducida por una DAG, el tamaño de los islotes

pancreáticos fue menor, no se observó hiperplasia e hipertrofia en los hepatocitos ni en los adipocitos en comparación al grupo tratado con DAG.

Cabe resaltar que este resultado no fue el que mostró el grupo de animales suplementados con 0.1% de metil galato, aunque los resultados fueron estadísticamente similares al grupo Control, también lo fueron al grupo de DAG, por lo que no funcionó como el control positivo al que se aspiraba, aunque no hay estudios donde este compuesto puro se haya administrado como tratamiento para la obesidad, con los resultados obtenidos es posible afirmar que la concentración necesita incrementarse para obtener mejores resultados.

VIII. Conclusiones

En este trabajo de investigación se evaluó el efecto de diferentes alternativas dietarias elaboradas a partir de los frutos de *Vachellia farnesiana* y como se mitigaron las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL/6 inducidos a la obesidad por dieta.

Con los tratamientos dietarios administrados, se indujo a la obesidad y se encontró que la incorporación de harina al 10%, y del extracto metanólico:acuoso al 1% de los frutos de *Vachellia farnesiana* (FVF) en una dieta alta en grasa redujo la acumulación de grasa, aumentó el gasto energético y previno la resistencia a la insulina.

La matriz completa de los FVF en polvo y el extracto en concentración de 1% mitigaron las alteraciones metabólicas que se desarrollaron como consecuencia de la obesidad. En comparación con el tratamiento de DAG, se redujo la masa grasa, se aumentó el gasto energético, se favoreció la tolerancia a la glucosa, se promovió una reducción en la resistencia a la insulina, previniendo la esteatosis hepática, la hipertrofia del tejido adiposo se disminuyó, observándose además que el tamaño de los islotes pancreáticos de estos tratamientos dietarios fue considerablemente menor.

Los demás tratamientos dietarios con el extracto de los FVF en concentración 0.5% y 2% presentaron buenos resultados, aunque no fueron tan homogéneos y representativos como los obtenidos con el tratamiento de DAG+1% EVF.

IX. Perspectivas

El presente ensayo es un paso importante en el estudio de los frutos de *Vachellia farnesiana* como recurso vegetal no convencional para el tratamiento de la obesidad y sus condiciones metabólicas asociadas en humanos.

Después de los resultados obtenidos, se da la pauta para el análisis y la búsqueda de resultados más específicos, se recomienda realizar la medición de leptina y adiponectina en suero.

Realizar la evaluación inmunohistoquímica del tejido adiposo visceral buscando la presencia de macrófagos y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) como marcadores inflamatorios.

Tanto en el hígado como en el músculo es posible realizar la amplificación de genes de transcripción como los PPARs, estos corroborarían una alta o baja actividad lipolítica. La evaluación de la expresión del transportador de glucosa insulino dependiente GLUT 4 proporcionaría datos sobre las vías metabólicas que se modulan con los compuestos bioactivos presentes tanto en la harina, como en el extracto de los frutos de *Vachellia farnesiana*.

Si este estudio se pretende escalar a los humanos, se requieren algunas otras determinaciones previas, que amplíen diversos conocimientos, como la dosis adecuada que mitigará los efectos de la obesidad, sin presentar ninguna complicación o daño toxicológico.

X. Bibliografía

Acacia farnesiana (L.) Willd. (1806). — MIMOSACEAE — Publicado en: *Species Plantarum*. Editio quarta 4(2): 1083-1084. **1806**.

Almeda-Valdes P, Aguilar-Olivos N, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Common features of the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Recent Clin Trials*. **2014**;9(3):148-58. doi: 10.2174/1574887109666141216103908. PMID: 25514910.

Asociación Española de Toxicología. *Glosario de términos toxicológicos*. [En línea] **2021**. Disponible en: <https://www.aetox.es/glosario-toxicologico/>

Babiker R, Elmusharaf K, Keogh MB, Saeed AM. Effect of gum arabic (*Acacia senegal*) supplementation on visceral adiposity index (VAI) and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus as indicators of cardiovascular disease (CVD): a randomized and placebo-Controlled clinical trial. *Lipids Health Dis*. **2018** Mar 20;17(1):56. doi: 10.1186/s12944-018-0711-y. PMID: 29558953.

Babiker R, Merghani TH, Elmusharaf K, Badi RM, Lang F, Saeed AM. Effects of gum arabic ingestion on body mass index and body fat percentage in healthy adult females: two-arm randomized, placebo Controlled, double-blind trial. *Nutr J*. **2012** Dec 15;11:111. doi: 10.1186/1475-2891-11-111. PMID: 23241359.

Basu A, Fu DX, Wilkinson M, Simmons B, Wu M, Betts NM, Du M, Lyons TJ. Strawberries decrease atherosclerotic markers in subjects with metabolic syndrome. *Nutr Res*. **2010** Jul;30(7):462-9. doi: 10.1016/j.nutres.2010.06.016. PMID: 20797478.

Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*. **2001** Aug;7(8):947-53. doi: 10.1038/90992. PMID: 11479628.

- Berkhout TA, Havekes LM, Pearce NJ, Groot PH. The effect of (-)-hydroxycitrate on the activity of the low-density-lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase levels in the human hepatoma cell line Hep G2. *Biochem J.* **1990** Nov 15;272(1):181-6. doi: 10.1042/bj2720181. PMID: 2176080.
- Berthoud HR. Metabolic and hedonic drives in the neural Control of appetite: who is the boss? *Curr Opin Neurobiol.* **2011** Dec;21(6):888-96. doi: 10.1016/j.conb.2011.09.004. PMID: 21981809.
- Blüher M. Are there still healthy obese patients? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* **2012** Oct;19(5):341-6. doi: 10.1097/MED.0b013e328357f0a3. PMID: 22895358.
- Blüher S, Schwarz P. Metabolically healthy obesity from childhood to adulthood - Does weight status alone matter? *Metabolism.* **2014** Sep;63(9):1084-92. doi: 10.1016/j.metabol.2014.06.009. PMID: 25038727.
- Bolarinwa, I; Oke, M; Olaniyan, S; Ajala, A (2016). A Review of Cyanogenic Glycosides in Edible Plants. Toxicology - New Aspects to This Scientific Conundrum. doi:10.5772/64886
- Carrasco-Pozo C, Cires MJ, Gotteland M. Quercetin and epigallocatechin gallate in the prevention and treatment of obesity: from molecular to clinical studies. *J Med Food.* **2019** Aug;22(8):753-770. doi: 10.1089/jmf.2018.0193. PMID: 31084513.
- Chang HC, Peng CH, Yeh DM, Kao ES, Wang CJ. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits obesity and fat accumulation, and improves liver steatosis in humans. *Food Funct.* **2014** Apr;5(4):734-9. doi: 10.1039/c3fo60495k. PMID: 24549255.
- Chang TC, Chiang H, Lai YH, Huang YL, Huang HC, Liang YC, Liu HK, Huang C. *Helminthostachys zeylanica* alleviates hepatic steatosis and insulin

resistance in diet-induced obese mice. *BMC Complement Altern Med.* **2019** Dec 13;19(1):368. doi: 10.1186/s12906-019-2782-3. PMID: 31836013.

Claudia DP, Mario CH, Arturo NO, Omar Noel MC, Antonio NC, Teresa RA, Zenón Gerardo LT, Margarita DM, Marsela Alejandra Ál, Yessica Rosalina CM, Vanessa SQ, Francisco Enrique G, Iván TV, Janette FC, María Del Rayo CC, José PC. Phenolic compounds in organic and aqueous extracts from *Acacia farnesiana* pods analyzed by ULPS-ESI-Q-oe/TOF-MS. In vitro antioxidant activity and anti-inflammatory response in CD-1 mice. *Molecules.* **2018** Sep 18;23(9):2386. doi: 10.3390/molecules23092386. PMID: 30231503.

CONAFOR [en línea]. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/874Acacia%20farnesiana.pdf>

Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep.* **2009** Aug;26(8):1001-43. doi: 10.1039/b802662a. PMID: 19636448.

Del Bo' C, Deon V, Campolo J, Lanti C, Parolini M, Porrini M, Klimis-Zacas D, Riso P. A serving of blueberry (*V. corymbosum*) acutely improves peripheral arterial dysfunction in young smokers and non-smokers: two randomized, Controlled, crossover pilot studies. *Food Funct.* **2017** Nov 15;8(11):4108-4117. doi: 10.1039/c7fo00861a. PMID: 29019364.

Delgadillo Puga C, Cuchillo Hilario M, Espinosa Mendoza JG, Medina Campos O, Molina Jijón E, Díaz Martínez M, Álvarez Izazaga MA, Ledesma Solano JÁ, Pedraza Chaverri J. Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of *Acacia shaffneri* and *Acacia farnesiana* pods extracts: in vitro and in vivo assays. *BMC Complement Altern Med.* **2015** Dec 15;15(1):435. doi: 10.1186/s12906-015-0959-y. PMID: 26669565.

Delgadillo-Puga C, Noriega LG, Morales-Romero AM, Nieto-Camacho A, Granados-Portillo O, Rodríguez-López LA, Alemán G, Furuzawa-Carballeda J, Tovar

- AR, Cisneros-Zevallos L, Torre-Villalvazo I. Goat's milk intake prevents obesity, hepatic steatosis and insulin resistance in mice fed a high-fat diet by reducing inflammatory markers and increasing energy expenditure and mitochondrial content in skeletal muscle. *Int J Mol Sci.* **2020** Aug 1;21(15):5530. doi: 10.3390/ijms21155530. PMID: 32752280.
- Diab KA, Fahmy MA, Hassan EM, Hassan ZM, Omara EA, Abdel-Samie NS. Inhibitory activity of black mulberry (*Morus nigra*) extract against testicular, liver and kidney toxicity induced by paracetamol in mice. *Mol Biol Rep.* **2020** Mar;47(3):1733-1749. doi: 10.1007/s11033-020-05265-1. PMID: 31983015.
- European Food Safety Authority (EFSA). Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal.* **2012** 10 (5): 2663. doi:10.2903/j.efsa.2012.2663
- Fedorenko A, Lishko PV, Kirichok Y. Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell.* **2012** Oct 12;151(2):400-13. doi: 10.1016/j.cell.2012.09.010. PMID: 23063128.
- Feldmann HM, Golozoubova V, Cannon B, Nedergaard J. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. *Cell Metab.* **2009** Feb;9(2):203-9. doi: 10.1016/j.cmet.2008.12.014. PMID: 19187776.
- Flatt JP, Ravussin E, Acheson KJ, Jéquier E. Effects of dietary fat on postprandial substrate oxidation and on carbohydrate and fat balances. *J Clin Invest.* **1985** Sep;76(3):1019-24. doi: 10.1172/JCI112054. PMID: 3900133.
- Flores-Lázaro JR, Rodríguez-Martínez E, Rivas-Arancibia S. Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. *Rev Med Hosp Gen Mex.* **2011** Jul;74(3):157-165.

- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. **1998** Oct 22;395(6704):763-70. doi: 10.1038/27376. PMID: 9796811.
- García-Winder LR, Goñi-Cedeño S, Olguín-Lara PA, Díaz-Salgado G, Arriaga-Jordán CM. Huizache (*Acacia farnesiana*) whole pods (flesh and seeds) as an alternative feed for sheep in Mexico. *Trop Anim Health Prod*. **2009** Dec;41(8):1615-21. doi: 10.1007/s11250-009-9355-2. PMID: 19390982.
- Gran Diccionario Náhuatl* [en línea]. Universidad Nacional Autónoma de México [Ciudad Universitaria, México D.F.]: **2012**. Disponible en: <http://www.gdn.unam.mx>
- Gutiérrez, G. Y., Miranda, M.M., Varona, T.N., and Rodríguez, A.T. Validación de dos métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en *Psidium guajaba*, L., *Rev Cuba Farm*, **2000**;34, 50 – 55.
- Halaas JL, Boozer C, Blair-West J, Fidahusein N, Denton DA, Friedman JM. Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **1997** Aug 5;94(16):8878-83. doi: 10.1073/pnas.94.16.8878. PMID: 9238071.
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. **1995** Jul 28;269(5223):543-6. doi: 10.1126/science.7624777. PMID: 7624777.
- Hannachi, H., Elfalleh, W., Ennajeh, I., Laajel, M., Khouja, M.-L., Ferchichi, A., and Nasri, N. Chemicals profiling and antioxidants activities of *Acacia* seeds. *J Med Plant Res*. **2011**. 5: 6869-6875. doi: 10.5897/JMPR11.1390.
- Harborne JB. *The flavonoids: Advances in research since 1984*. London: Chapman and Hall; **1994**.

- Hayamizu K, Ishii Y, Kaneko I, Shen M, Okuhara Y, Shigematsu N, Tomi H, Furuse M, Yoshino G, Shimasaki H. Effects of *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) on visceral fat accumulation: a double-blind, randomized, placebo-Controlled trial. *Curr Ther Res Clin Exp.* **2003** Sep;64(8):551-67. doi: 10.1016/j.curtheres.2003.08.006. PMID: 24944404.
- Hegnauer R. (1977) Cyanogenic Compounds as Systematic Markers in *Tracheophyta*. In: Kubitzki K. (eds) Flowering Plants. Plant Systematics and Evolution / Entwicklungsgeschichte und Systematik der Pflanzen, vol 1. Springer, Vienna. doi:10.1007/978-3-7091-7076-2_13
- Hernández-García E, García A, Garza-González E, Avalos-Alanís FG, Rivas-Galindo VM, Rodríguez-Rodríguez J, Alcantar-Rosales VM, Delgadillo-Puga C, Del Rayo Camacho-Corona M. Chemical composition of *Acacia farnesiana* (L) wild fruits and its activity against *Mycobacterium tuberculosis* and dysentery bacteria. *J Ethnopharmacol.* **2019** Feb 10;230:74-80. doi: 10.1016/j.jep.2018.10.031. PMID: 30367988.
- Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. Energy balance and obesity. *Circulation.* **2012** Jul 3;126(1):126-32. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.087213. PMID: 22753534.
- Hsu CL, Yen GC. Effects of flavonoids and phenolic acids on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J Agric Food Chem.* **2007** Oct 17;55(21):8404-10. doi: 10.1021/jf071695r. PMID: 17880164.
- Ikarashi N, Toda T, Okaniwa T, Ito K, Ochiai W, Sugiyama K. Anti-Obesity and Anti-Diabetic effects of *Acacia* polyphenol in obese diabetic KKAY mice fed high-fat diet. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2011**;2011:952031. doi: 10.1093/ecam/nep241. PMID: 21799697.
- Instituto Nacional de Salud Pública (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 (ENSANUT 2018) [En línea] Disponible en:

https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf

Jangra S, K RS , Sharma RK , Pothuraju R , Mohanty AK . Ameliorative effect of fermentable fibres on adiposity and insulin resistance in C57BL/6 mice fed a high-fat and sucrose diet. *Food Funct.* **2019** Jun 19;10(6):3696-3705. doi: 10.1039/c8fo02578a. PMID: 31168538.

Kajimura S, Spiegelman BM, Seale P. Brown and beige fat: physiological roles beyond heat generation. *Cell Metab.* **2015** Oct 6;22(4):546-59. doi: 10.1016/j.cmet.2015.09.007. PMID: 26445512.

Lee YM, Yoon Y, Yoon H, Park HM, Song S, Yeum KJ. Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. *Nutrients.* **2017** Oct 1;9(10):1089. doi: 10.3390/nu9101089. PMID: 28974032.

Long JZ, Svensson KJ, Bateman LA, Lin H, Kamenecka T, Lokurkar IA, Lou J, Rao RR, Chang MR, Jedrychowski MP, Paulo JA, Gygi SP, Griffin PR, Nomura DK, Spiegelman BM. The secreted enzyme PM20D1 regulates lipidated amino acid uncouplers of mitochondria. *Cell.* **2016** Jul 14;166(2):424-435. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.071. PMID: 27374330.

López Panqueva, Rocío del Pilar. Enfermedad hepática grasa: Aspectos patológicos. *Rev Col Gastroenterol.* **2014**, vol.29, n.1:82-88. ISSN 0120-9957.

Martínez-Navarrete N, Camacho M del M, Martínez JJ. Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Act Diet.* **2008**;12(2): 64-8.

Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol.* **2014** Jul 28;20(28):9330-7. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9330. PMID: 25071327.

- Montez JM, Soukas A, Asilmaz E, Fayzikhodjaeva G, Fantuzzi G, Friedman JM. Acute leptin deficiency, leptin resistance, and the physiologic response to leptin withdrawal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2005** Feb 15;102(7):2537-42. doi: 10.1073/pnas.0409530102. PMID: 15699332.
- Morales-Luna E, Pérez-Ramírez IF, Salgado LM, Castaño-Tostado E, Gómez-Aldapa CA, Reynoso-Camacho R. The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *J Sci Food Agric*. **2019** Jan 30;99(2):596-605. doi: 10.1002/jsfa.9220. PMID: 29943479.
- Mouhid L, Gómez de Cedrón M, Quijada-Freire A, Fernández-Marcos PJ, Reglero G, Fornari T, Ramírez de Molina A. Yarrow supercritical extract ameliorates the metabolic stress in a model of obesity induced by high-fat diet. *Nutrients*. **2019** Dec 26;12(1):72. doi: 10.3390/nu12010072. PMID: 31888081.
- Moundras C, Behr SR, Demigné C, Mazur A, Rémésy C. Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile acid excretion lower plasma cholesterol and apolipoprotein E-rich HDL in rats. *J Nutr*. **1994** Nov;124(11):2179-88. doi: 10.1093/jn/124.11.2179. PMID: 7965202.
- Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. **2007** Aug;293(2):E444-52. doi: 10.1152/ajpendo.00691.2006. PMID: 17473055.
- Organización Mundial de la Salud. *Obesidad y sobrepeso*. [En línea] **2020**. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Pachón-Peña G, Serena C, Ejarque M, Petriz J, Duran X, Oliva-Olivera W, Simó R, Tinahones FJ, Fernández-Veledo S, Vendrell J. Obesity determines the immunophenotypic profile and functional characteristics of human mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Stem Cells Transl Med*. **2016** Apr;5(4):464-75. doi: 10.5966/sctm.2015-0161. PMID: 26956208.

- Park DJ, Jung HJ, Park CH, Yokozawa T, Jeong JC. Root bark of *paeonia suffruticosa* extract and its component methyl gallate Possess peroxynitrite scavenging activity and anti-inflammatory properties through NF- κ B inhibition in LPS-treated mice. *Molecules*. **2019** Sep 25;24(19):3483. doi: 10.3390/molecules24193483. PMID: 31557976.
- Peng CH, Chyau CC, Chan KC, Chan TH, Wang CJ, Huang CN. *Hibiscus sabdariffa* polyphenolic extract inhibits hyperglycemia, hyperlipidemia, and glycation-oxidative stress while improving insulin resistance. *J Agric Food Chem*. **2011** Sep 28;59(18):9901-9. doi: 10.1021/jf2022379. PMID: 21870884.
- Pereira-Lancha LO, Coelho DF, de Campos-Ferraz PL, Lancha AH Jr. Body fat regulation: is it a result of a simple energy balance or a high fat intake? *J Am Coll Nutr*. **2010** Aug;29(4):343-51. doi: 10.1080/07315724.2010.10719850. PMID: 21041808.
- Ramírez Alvarado, M.^a M, Sánchez Roitz, C. El factor de necrosis tumoral- α , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nut Hosp*. **2012**:27(6), 1751-1757. doi:10.3305/nh.2012.27.6.6004
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. **1993** Nov;123(11):1939-51. doi: 10.1093/jn/123.11.1939. PMID: 8229312.
- Rehman Khan A, Awan FR. Leptin Resistance: A possible interface between obesity and pulmonary-related disorders. *Int J Endocrinol Metab*. **2016** Feb 12;14(1):e32586. doi: 10.5812/ijem.32586. PMID: 27279832.
- Roat R, Rao V, Doliba NM, Matschinsky FM, Tobias JW, Garcia E, Ahima RS, Imai Y. Alterations of pancreatic islet structure, metabolism and gene expression in diet-induced obese C57BL/6J mice. *PLoS One*. **2014** Feb 5;9(2):e86815. doi: 10.1371/journal.pone.0086815. PMID: 24505268.

- Rodríguez-Rodríguez C, Torres N, Gutiérrez-Uribe JA, Noriega LG, Torre-Villalvazo I, Leal-Díaz AM, Antunes-Ricardo M, Márquez-Mota C, Ordaz G, Chavez-Santoscoy RA, Serna-Saldivar SO, Tovar AR. The effect of isorhamnetin glycosides extracted from *Opuntia ficus-indica* in a mouse model of diet induced obesity. *Food Funct.* **2015** Mar;6(3):805-15. doi: 10.1039/c4fo01092b. PMID: 25588195.
- Roh C, Jung U, Jo SK. Screening of anti-obesity agent from herbal mixtures. *Molecules.* **2012** Mar 23;17(4):3630-8. doi: 10.3390/molecules17043630. PMID: 22447026.
- Sathya A, Siddhuraju P. Protective effect of bark and empty pod extracts from *Acacia auriculiformis* against paracetamol intoxicated liver injury and alloxan induced type II diabetes. *Food Chem Toxicol.* **2013** Jun;56:162-70. doi: 10.1016/j.fct.2013.02.031. PMID: 23485614.
- Secor, J.B., Conn, E.E., Dunn, J.E., & Seigler, D.S. Detection and identification of cyanogenic glucosides in six species of *Acacia*. *Phytochemistry.* **1976** 15, 1703-1706.
- Seigler, D.S. Phytochemistry of *Acacia*—sensu lat. *Biochem Syst Ecol.* **2003** 31, 845–873.
- Seigler, D.S. & J.E. Ebinger. New combinations in the genus *Vachellia* (Fabaceae: Mimosoideae) from the New World. *Phytologia.* **2005** 37(3): 139-178.
- Serino A, Salazar G. Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrients.* **2018** Dec 28;11(1):53. doi: 10.3390/nu11010053. PMID: 30597847.
- Sharon N, Chawla R, Mueller J, Vanderhooft J, Whitehorn LJ, Rosenthal B, Gürtler M, Estanboulieh RR, Shvartsman D, Gifford DK, Trapnell C, Melton D. A peninsular structure coordinates asynchronous differentiation with

- morphogenesis to generate pancreatic islets. *Cell*. **2019** Feb 7;176(4):790-804.e13. doi: 10.1016/j.cell.2018.12.003. PMID: 30661759.
- Si LY, Ali SAM, Latip J, Fauzi NM, Budin SB, Zainalabidin S. Roselle is cardioprotective in diet-induced obesity rat model with myocardial infarction. *Life Sci*. **2017** Dec 15;191:157-165. doi: 10.1016/j.lfs.2017.10.030. PMID: 29066253.
- Silva CB, Fassini PG, Ramalho LNZ, da Conceição EC, Zordan AJCM, Carlos D, Suen VMM. Curcuma supplementation in high-fat-fed C57BL/6 mice: no beneficial effect on lipid and glucose profile or prevention of weight gain. *Eur J Nutr*. **2020** Feb;59(1):93-102. doi: 10.1007/s00394-018-1887-7. PMID: 30604178.
- Smith RL, Soeters MR, Wüst RCI, Houtkooper RH. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocr Rev*. **2018** Aug 1;39(4):489-517. doi: 10.1210/er.2017-00211. PMID: 29697773.
- Svensson KJ, Long JZ, Jedrychowski MP, Cohen P, Lo JC, Serag S, Kir S, Shinoda K, Tartaglia JA, Rao RR, Chédotal A, Kajimura S, Gygi SP, Spiegelman BM. A secreted Slit2 fragment regulates adipose tissue thermogenesis and metabolic function. *Cell Metab*. **2016** Mar 8;23(3):454-66. doi: 10.1016/j.cmet.2016.01.008. PMID: 26876562.
- Tanaka T, Yamamoto J, Iwasaki S, Asaba H, Hamura H, Ikeda Y, Watanabe M, Magoori K, Ioka RX, Tachibana K, Watanabe Y, Uchiyama Y, Sumi K, Iguchi H, Ito S, Doi T, Hamakubo T, Naito M, Auwerx J, Yanagisawa M, Kodama T, Sakai J. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta induces fatty acid beta-oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2003** Dec 23;100(26):15924-9. doi: 10.1073/pnas.0306981100. PMID: 14676330.

The Jackson Laboratory. C57BL/6J [En línea] Disponible en: <https://www.jax.org/strain/000664>

Tian L, Song Z, Shao W, Du WW, Zhao LR, Zeng K, Yang BB, Jin T. Curcumin represses mouse 3T3-L1 cell adipogenic differentiation via inhibiting miR-17-5p and stimulating the Wnt signaling pathway effector Tcf712. *Cell Death Dis.* **2017** Jan 19;8(1):e2559. doi: 10.1038/cddis.2016.455. PMID: 28102847.

Tomás-Barberán FA. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alim Nutr Salud.* **2003**; 10:41-53.

Torre-Villalvazo I, Bunt AE, Alemán G, Marquez-Mota CC, Diaz-Villaseñor A, Noriega LG, Estrada I, Figueroa-Juárez E, Tovar-Palacio C, Rodriguez-López LA, López-Romero P, Torres N, Tovar AR. Adiponectin synthesis and secretion by subcutaneous adipose tissue is impaired during obesity by endoplasmic reticulum stress. *J Cell Biochem.* **2018** Jul;119(7):5970-5984. doi: 10.1002/jcb.26794. PMID: 29575057.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci.* **1991** Oct;74(10):3583-97. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2. PMID: 1660498.

Vega-Robledo GB, Rico-Rosillo MG. Tejido adiposo: función inmune y alteraciones inducidas por obesidad [Adipose tissue: immune function and alterations caused by obesity]. *Rev Alerg Mex.* **2019** Jul-Sep;66(3):340-353. Spanish. doi: 10.29262/ram.v66i3.589. PMID: 31606018.

Vilahur G, Ben-Aicha S, Badimon L. New insights into the role of adipose tissue in thrombosis. *Cardiovasc Res.* **2017** Jul 1;113(9):1046-1054. doi: 10.1093/cvr/cvx086. PMID: 28472252.

Villalpando-Arteaga EV, Mendieta-Condado E, Esquivel-Solís H, Canales-Aguirre AA, Gálvez-Gastélum FJ, Mateos-Díaz JC, Rodríguez-González JA,

- Márquez-Aguirre AL. *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis through down-regulation of PPAR- γ and SREBP-1c in diet-induced obese mice. *Food Funct.* **2013** Apr 25;4(4):618-26. doi: 10.1039/c3fo30270a. PMID: 23389749.
- Villarroya F, Cereijo R, Gavaldà-Navarro A, Villarroya J, Giralt M. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J Intern Med.* **2018** Nov;284(5):492-504. doi: 10.1111/joim.12803. PMID: 29923291.
- Wang L, Zhang B, Huang F, Liu B, Xie Y. Curcumin inhibits lipolysis via suppression of ER stress in adipose tissue and prevents hepatic insulin resistance. *J Lipid Res.* **2016** Jul;57(7):1243-55. doi: 10.1194/jlr.M067397. PMID: 27220352.
- Wang S, Moustaid-Moussa N, Chen L, Mo H, Shastri A, Su R, Bapat P, Kwun I, Shen CL. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J Nutr Biochem.* **2014** Jan;25(1):1-18. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.09.001. PMID: 24314860.
- Wang S, Wang X, Ye Z, Xu C, Zhang M, Ruan B, Wei M, Jiang Y, Zhang Y, Wang L, Lei X, Lu Z. Curcumin promotes browning of white adipose tissue in a norepinephrine-dependent way. *Biochem Biophys Res Commun.* **2015** Oct 16;466(2):247-53. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.09.018. PMID: 26362189.
- Wang T, Wu Q, Zhao T. Preventive Effects of Kaempferol on High-Fat Diet-Induced Obesity Complications in C57BL/6 Mice. *Biomed Res Int.* **2020** Apr 7;2020:4532482. doi: 10.1155/2020/4532482. PMID: 32337249.
- Willett WC. Is dietary fat a major determinant of body fat? *Am J Clin Nutr.* **1998** Mar;67(3 Suppl):556S-562S. doi: 10.1093/ajcn/67.3.556S. PMID: 9497170.
- Wolf G. Glucocorticoids in adipocytes stimulate visceral obesity. *Nutr Rev.* **2002** May;60(5 Pt 1):148-51. doi: 10.1301/00296640260093823. PMID: 12030279.
- Wu X, Kang J, Xie C, Burris R, Ferguson ME, Badger TM, Nagarajan S. Dietary blueberries attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by

- upregulating antioxidant enzyme expression. *J Nutr.* **2010** Sep;140(9):1628-32. doi: 10.3945/jn.110.123927. PMID: 20660283.
- Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest.* **2003** Jul;112(1):91-100. doi: 10.1172/JCI17797. PMID: 12840063.
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* **2001** Aug;7(8):941-6. doi: 10.1038/90984. PMID: 11479627.
- Yang F, Suo Y, Chen D, Tong L. Protection against vascular endothelial dysfunction by polyphenols in sea buckthorn berries in rats with hyperlipidemia. *Biosci Trends.* **2016** Jul 19;10(3):188-96. doi: 10.5582/bst.2016.01056. PMID: 27237219.
- Zamora-López K, Noriega LG, Estanes-Hernández A, Escalona-Nández I, Tobón-Cornejo S, Tovar AR, Barbero-Becerra V, Pérez-Monter C. *Punica granatum* L.-derived omega-5 nanoemulsion improves hepatic steatosis in mice fed a high fat diet by increasing fatty acid utilization in hepatocytes. *Sci Rep.* **2020** Sep 17;10(1):15229. doi: 10.1038/s41598-020-71878-y. PMID: 32943651.
- Zhang M, Zhang X, Ho CT, Huang Q. Chemistry and Health Effect of Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin 3- O-(3- O-Methyl)gallate. *J Agric Food Chem.* **2019** May 15;67(19):5374-5378. doi: 10.1021/acs.jafc.8b04837. PMID: 30346164.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* **1994** Dec 1;372(6505):425-32. doi: 10.1038/372425a0. PMID: 7984236.

XI. Anexos

Anexo I. Carta de aceptación de proyecto.



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

Ciudad de México, a 21 de Febrero de 2020.

Dr. Claudia Delgadillo Puga
INVESTIGADOR(A) PRINCIPAL
DEPARTAMENTO DE NUTRICION ANIMAL

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"
AV. VASCO DE QUIROGA NO. 15
COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI
MÉXICO, D.F., C.P. 14080
PRESENTE

Por este medio, nos permitimos informarle que el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ha revisado y dictaminado como **APROBADO** el Protocolo de Investigación Experimental, titulado:

Efecto de los frutos de Acacia farnesiana, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Con clave de protocolo **CICUAL-NAN-1988-20-22-1**

La vigencia de la aprobación termina el día **2022-02-28**. Si la duración del estudio es mayor tendrá que solicitar la re-aprobación anual del mismo, informando sobre los avances y resultados parciales de su investigación e incluyendo todos los datos sobresalientes y conclusiones.

Comentarios:

Se autoriza el uso de 42 ratones macho de la cepa C57BL/6. Cabe señalar que la entrega de los animales estará sujeta a disponibilidad de espacio y recursos para la manutención de los mismos en el DIEB.

Sin más por el momento quedamos de usted.

ATENTAMENTE,


DR. JORGE ALBERTO BARRIOS PAYÁN
COORDINADOR DEL COMITÉ INTERNO PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

c.c.p. Dr. Gerardo Gamba Ayala, Director de Investigación.
c.c.p. MVZ. Mariela Contreras Escamilla, Jefa del DIEB.

Anexo II. Formatos de registro de peso.

Dieta control

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto: 10

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 08/06	Fecha 15/06	Fecha 22/06	Fecha 29/06	Fecha 06/07	Fecha 13/07/20
1	1	19.3	20.2	20.9	21.4	22.6	22.9
1	2	21.9	24.8	24.9	25.4	26.7	28.6
1	3	22.5	24.9	25.1	26.5	27.9	30.3
2	4	19.7	20.4	22.1	22.8	23.5	24.3
2	5	21.0	22.7	23.6	24.6	25.2	27.2
2	6	21.9	23.6	24.1	25.3	26.7	27.5

Dieta control

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 20/07	Fecha 27/07/20	Fecha 03/08	Fecha 10/08/20	Fecha 17/08/20	Fecha 24/08
1	1	23.7	24.0	24.0	24.5	25.1	26.1
1	2	31.2	31.9	32.6	33.7	35.4	36.1
1	3	33.3	35.0	36.4	37.5	38.2	40.7
2	4	25.0	25.9	27.3	27.6	27.2	28.3
2	5	28.5	29.5	32.0	32.0	31.8	33.6
2	6	28.5	29.4	31.0	30.5	31.2	32.8
		31/08/20	07/09/20	14/09			
1	1	26.5	26.4	27.4			
1	2	36.7	36	37.7			
1	3	40.7	40.4	42.1			
2	4	29.6	29.5	31.0			
2	5	34.8	34.3	35.5			
2	6	32.9	32.6	33.9			

Dieta Alta en Grasa 21%

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
		08/06	15/06	22/06	29/06	06/07	
3	1	22.2	25.5	28.5	32.8	35.7	38.0
3	2	21.3	24.6	25.8	28.9	31.3	33.1
3	3	20.1	22.1	23.1	25.7	26.5	28.7
4	4	23.7	26.1	27.3	30.0	32.5	34.4
4	5	23.2	25.4	25.4	27.6	29.6	32.0
4	6	24.7	26.4	27.9	29.7	31.5	35.1

Dieta Alta en Grasa 21%

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
		20/07	27/07	03/08	10/08/20	17/08/20	24/08
3	1	42.0	44.9	45.5	46.7	47.7	48.2
3	2	36.3	38.7	38.5	41.5	43.0	43.2
3	3	31.9	34.8	34.0	38.0	37.5	37.8
4	4	36.9	38.2	41.0	41.7	43.7	45.9
4	5	34.6	34.9	36.3	38.8	40.3	42.5
4	6	37.8	38.5	39.5	40.6	42.6	43.7
		31/08/20	07/09/20	14/09			
3	1	47.8	48.9	47.2			
3	2	45.5	48.3	47.8			
3	3	39.9	41.7	42.3			
4	4	45.8	47.4	47.3			
4	5	43.8	45.5	46.4			
4	6	44.2	46.0	47.0			

Dieta Alta en Grasa con 0.1% de metil galato

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
		08/06	15/06	22/06	29/06	06/06/20	
5	1	24.1	26.4	28.1	30.9	32.4	34.4
5	2	20.9	23.3	23.8	26.2	26.4	28.9
23	3	25.6	27.1	27.1	29.2	31.6	33.3
6	4	25.3	27.4	27.6	28.5	28.8	29.5
6	5	25.7	27.6	28.5	29.2	29.2	32.1
6	6 Promedio	25.5	26.9	28.6	28.8	29.0	30.3

Dieta Alta en Grasa con 0.1% de metil galato

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
		20/07	27/07	03/08	10/08/20	17/08/20	24/08
5	1	35.7	37.0	39.3	39.1	42.1	43.5
5	2	30.4	31.9	34.9	34.7	36.5	39.7
23	3	35.1	36.4	35.8	31.5	29.0	30.5
24	4	30.4	34.2	37.0	36.7	36.4	36.4
6	5	31.0	31.8	33.9	33.9	34.8	35.2
25	6	30.3	32.2	35.9	33.4	36.5	37.5
		31/08/20	07/09/20	14/09/20			
5	1	44.1	43.4	44.5			
5	2	40	41.5	42.8			
23	3	33	35.9	38.4			
24	4	33.8	32.8	37.0			
6	5	35.8	37.6	38.3			
25	6	36.8	34.4	X			

Dieta Alta en Grasa con 10% de la harina de los frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 08/06	Fecha 15/06	Fecha 22/06	Fecha 29/06	Fecha 06/07/20	Fecha
7	1	23.3	24.5	25.2	26.3	26.7	27.8
7	2	25.0	25.5	26.6	27.4	27.8	28.9
7	3	24.5	25.7	26.6	28.3	28.3	30.7
21	4	23.9	24.8	24.1	26.0	26.6	27.5
8	5	25.7	26.2	27.8	28.5	29.9	31.6
22	6	24.8	24.5	24.8	26.0	26.9	28.0
9	1	22.2	22.7	23.7	23.7	24.0	24.3

Dieta Alta en Grasa con 10% de la harina de los frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 20/07	Fecha 27/07	Fecha 03/08	Fecha 10/08/20	Fecha 17/08/20	Fecha 24/08/20
7	1	28.6	28.7	31.2	32.0	32.8	33.3
7	2	31.2	31.3	34.6	34.2	35.8	37.1
7	3	31.4	31.0	33.4	33.5	33.4	33.8
21	4	29.3	30.5	33.1	34.6	35.8	37.0
8	5	32.1	32.6	34.8	36.4	35.3	37.6
22	6	28.6	27.7	27.7	29.2	28.2	27.8 *
9	1	24.7	25.3	25.4	25.5	27.3	26.0 *
		31/08/20	07/09/20	14/09/20			
7	1	34.3	34	34.5			
7	2	36.8	37.2	39.2			
7	3	34.8	35.2	36.0			
21	4	33.7	34.2	37.3			
8	5	38.6	39.9	42.0 ✓			
22	6	29.5	29.8	30.5 ✓			
9	1	28.3	29.4	28.3 ✓			

Dieta Alta en Grasa con 5 mg del Extracto Polifenolico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 20/07	Fecha 27/07	Fecha 03/08	Fecha 10/08/20	Fecha 17/08/20	Fecha 24/08/20
10	1	29.1	30.1	30.6	28.4	28.5	25.3*
20	2	26.8	29.2	32.4	32.0	29.6	31.4
11	4	32.9	36.9	38.1	39.0	42.4	45.2
11	5	24.9	26.8	28.7	29.0	31.3	34.2
11	6	31.7	33.7	36.4	35.7	38.7	41.8
		31/08/20	07/09/20				
10	1	28.5	26.2	24.7			
20	2	32.5	33.8	35.2			
11	4	44.0	46.7	48.0			
11	5	32.8	34.8	36.2			
11	6	41.5	42.7	44.9			

Dieta Alta en Grasa con 5 mg del Extracto Polifenolico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 08/06	Fecha 15/06	Fecha 22/06	Fecha 29/06	Fecha 06/06/20	Fecha 13/06/20
10	1	19.4	19.5	21.9	24.0	25.4	27.8
20	2	19.5	19.8	22.8	24.1	24.7	25.8
10 murió	3	19.2	19.3				
11	4	24.3	25.4	27.1	30.0	31.0	33.2
11	5	21.1	21.0	21.2	23.4	23.7	25.4
11	6	23.4	24.0	25.1	28.0	29.4	30.9

Dieta Alta en Grasa con 10 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 08/06	Fecha 15/06	Fecha 22/06	Fecha 29/06	Fecha 06/06/20	Fecha
12	2	21.9	24.2	—	—	—	—
12	3	22.6	25.3	26.1	28.1	28.4	29.9
13	4	24.6	25.1	26.2	26.9	28.2	29.0
—	—	—	—	—	—	—	—
14	5	22.8	24.7	24.2	24.4	24.7*	25.3
15	1	22.0	21.8	22.9	23.7	25.6	26.3
16	1	25.9	27.7	30.9	31.9	34.5	35.8
17	6	22.6	22.4	23.0	24.1	24.6	25.2

Dieta Alta en Grasa con 10 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 20/07	Fecha 27/07	Fecha 03/08	Fecha 10/08/20	Fecha 17/08/20	Fecha 24/08/20
12	3	30.9	31.9	33.4	32.8	34.7	36.2
13	4	30.2	30.9	30.3	31.4	32.2	31.3
14	5	26.2	26.1	28.6	28.9	29.5	31.5
15	1	26.9	28.7	31.9	29.6	29.0	30.5
16	1	38.6	41.9	44.2	46.0	44.7	47.0
17	6	26.0	27.3	26.6	26.2	26.8	26.7
		31/08/20	02/09/20	14/09/20			
12	3	38.6	37.4	39.2			
13	4	30.7	30.0	31.5 ✓			
14	5	33.2	32.6	33.0			
15	1	34.7	33.7	36.2			
16	1	48.0	48.7	49.3 ✓			
17	6	28.3	29.5	28.8 -			

Dieta Alta en Grasa con 20 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 08/06	Fecha 15/06	Fecha 22/06	Fecha 29/06	Fecha 06/07/20	Fecha 13/07/20
18	1	23.8	24.1	24.5	26.0	27.0	27.0
18	2	23.5	23.2	24.3	25.2	27.0	27.4
18	3	22.7	22.8	23.9	25.6	25.6	26.8
18	4	24.5	24.2	25.7	27.2	27.6	27.4
19	5	24.9	24.5	25.5	27.9	29.5	30.8
19	6	26.0	24.7	26.6	28.1	31.3	33.2

Dieta Alta en Grasa con 20 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Ratón	Fecha 30/07	Fecha 27/07	Fecha 03/08	Fecha 10/08/20	Fecha 17/08/20	Fecha 24/08/20
18	1	29.5	31.6	31.8	32.4	31.5	35.2
18	2	29.5	30.7	31.5	31.9	32.0	34.6
18	3	28.7	30.3	30.9	30.8	30.6	33.2
18	4	29.9	32.0	31.7	33.0	31.6	35.0
19	5	31.6	33.9	37.5	35.6	38.3	41.4
19	6	35.1	38.2	37.1	30.4*	29.0	29.1
		31/08/20	07/09/20	14/09/20			
18	1	36.9	36.2	37.2			
18	2	37.7	38.8	40.3			
18	3	34.8	35.4	36.7			
18	4	37.6	37.6	39.0			
19	5	43.5	45.2	45.7			
19	6	25.6	30.7	31			

Anexo III. Formatos de registro de consumo de alimento

Dieta control

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 08/06/20			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/2020			Fecha 15/06/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
1	23.0	0	23.0	20.2	0	20.2	67.3	30.0	37.3	51.5	36.5	15.0
2	24.0	0	24.0	21.0	0	21.0	63.9	29.7	34.2	49.7	39.6	15.1
	17/06/20			19/06/20			22/06/2020			24/06/2020		
1	69.1	47.7	16.4	47.7	24.1	23.6	44.1	24.1	20.0	48.6	32.8	
2	51.0	35.2	18.8	57.8	32.4	25.4	56.9	36.9	20.0	55.3	37.8	

Dieta control

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/20			Fecha 01/07/20			Fecha 03/07/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
1	62.8	38.1	24.7	52.1	32.5	19.6	32.5	14.0	18.5	37.1	9.1	28
2	61.3	37.9	23.4	51.9	30.8	21.1	30.8	16.9	13.9	38.0	11.0	27
	06/07/20			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
1	31.6	8.4	23.2	31.5	12.0	19.5	55.4	27.8	27.6	54.0	32.4	
2	35.6	16.0	19.6	40.3	18.5	21.8	64.1	35.9	28.2	61.8	39.6	
	15/07/20			17/07/20			20/07/20			22/07/20		
1	42.0	19.8	22.2	38.0	7.8	30.2	32.7	9.8	22.9	36.0	14.7	21.3
2	53.1	31.4	21.7	56.2	28.8	27.4	50.4	27.4	23.0	54.7	34.1	20.6
	24/07/20			27/07/20			29/07/20			31/07/20		
1	38.0	13.7	24.3	27.8	7.2		30.8	9.2		27.5	2.3	
2	39.6	16.0	23.6	36.9	14.6		35.2	12.9		31.7	5.9	

Observaciones:

Dieta Alta en Grasa 21%

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 08/06/2020			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/2020			Fecha 15/06/2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
3	39.7	8.7	26	41.8	29.3	17.5	56.7	30.8	25.3	57.3	42.8	14.5
4	29.5	4.0	25.5	36.9	15.8	21.1	52.9	28.0	24.9	55.4	39.7	16.3
	17/06/2020			19/06/2020			22/06/2020			24/06/2020		
3	75.9	58.4	17.0	58.4	33.7	24.7	61.4	45.2	16.2	60.8	42.7	
4	72.4	55.4	17.0	55.4	32.2	23.2	69.0	50.4	18.6	69.0	51.5	

Dieta Alta en Grasa 21%

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/2020			Fecha 01/07/20			Fecha 03/07/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
3	79.2	50.6	28.6	50.6	35.2	15.4	53.1	34.4	18.7	61.2	33.2	28
4	70.5	47.2	23.3	47.2	34.6	12.6	46.0	28.2	17.8	62.3	34.5	27.8
	06/07/20			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
3	44.4	27.9	16.8	61.9	41.7	20.2	68.7	43.5	25.2	43.5	26.0	17.5
4	34.8	18.5	16	48.7	28.1	20.7	54.7	28.0	26.7	59.0	35.5	18.5
	15/07/20			17/07/20			20/07/20			22/07/20		
3	58.8	39.5	19.3	80.5	49.0	31.5	49.0	32.7	16.3	59.6	38.4	21.2
4	54.5	33.3	21.2	65.7	39.3	26.4	39.3	24.7	15.2	55.9	37.2	18.7
	24/07/20			27/07/20			29/07/20			31/07/20		
3	48.9	20.1	28.8	37.5	21.8		30.6	15.0		32.7	9.2	
4	46.8	21.3	25.5	42.1	22.8		32.3	14.6		30.5	8.0	

Dieta Alta en Grasa con 0.1% de meli galato

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
 Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
 Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 08/06/2020			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/2020			Fecha 15/06/2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
5	25.5	4.5	21.0	27.6	7.7	19.9	55.9	17.7	38.8	49.9	35.5	14.4
6	22.0	0	22.0	26.9	0.8	26.1	57.0	28.9	28.1	60.5	45.7	14.8
	17/06/2020			19/06/2020			22/06/2020			24/06/2020		
5	52.8	35.7	17.1	53.4	37.3	16.1	45.6	34.8	10.8	38.7	27.7	11.0
6	51.0	33.6	17.4	48.3	23.0	25.3	37.1	19.3	17.8	36.6	17.5	19.1
23	—	—	—	24.8	8.6	16.2	24.2	7.5	16.7	22.4	4.4	18.0

Dieta Alta en Grasa con 0.1% de meli galato

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
 Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
 Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/2020			Fecha 01/07/2020			Fecha 03/07/2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
5	56.6	39.4	17.2	45.5	35.7	9.8	35.7	24.9	10.8	42.9	26.4	16.5
6	49.8	26.2	23.6	42.6	22.9	19.7	30.5	13.9	16.6	30.7	4.9	25.8
23	31.3	19.1	12.2	29.1	13.3	15.8	21.8	8.0	13.8	23.1	1.1	22.0
	06/07/20			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
5	36.4	26.0	10.4	34.4	23.9	10.5	41.5	29.4	12.1	39.9	27.3	12.6
6	29.5	7.6	21.9	27.7	7.7	20.0	39.8	12.2	27.6	25.9	7.7	18.2
23	35.2	29.0	6.2	29.0	22.0	7.0	47.8	36.9	10.9	36.9	23.1	13.8
	15/07/20			17/07/20			20/07/20			22/07/20		
5	40.0	27.6	12.4	42.2	26.4	15.8	26.4	16.1	10.3	32.0	21.3	10.7
6	37.0	19.0	18.0	35.9	17.4	18.5	31.8	24.2	7.6	31.8	24.5	7.3
23	35.7	24.5	11.2	33.5	21.0	12.5	27.0	14.4	12.6	24.6	16.8	7.8
24	—	—	—	33.9	25.6	8.3	25.6	17.8	7.8	25.9	17.3	8.6
25	—	—	—	—	—	—	36.2	29.7	6.5	38.6	31.4	7.2

Observaciones:

Dieta Alta en Grasa con 10% de la harina de los frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/20			Fecha 01/07/20			Fecha 03/07/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
7	57.1	34.2		59.5	41.7		41.7	27.1		53.8	32.5	
8	49.5	39.1		39.1	32.9		32.9	25.8		38.1	27.1	
9	41.6	34.5		34.5	29.1		39.9	34.2		48.1	40.5	
21	36.6	26.7		26.7	21.5		38.7	30.9		30.9	21.6	
22	53.5	44.5		44.5	37.6		37.6	31.9		31.9	23.4	
	06/06/2020			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
7	47.9	31.4		59.2	41.4		69.6	44.5		44.5	28.4	
8	27.1	21.1		49.7	41.8		41.8	31.8		31.8	26.4	
9	40.5	35.5		35.5	30.6		30.6	23.1		23.1	16.9	
21	34.4	27.3		55.0	48.7		48.7	38.3		38.3	32.6	
22	38.0	31.3		59.8	53.2		53.2	44.0		44.0	38.3	

Dieta Alta en Grasa con 10% de la harina de los frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 08/06			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/20			Fecha 15/06/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
7	26.7	6.4	20.3	36.6	13.7	22.9	58.9	28.6	30.3	55.1	39.4	15.7
8	26.6	5.0	21.6	33.3	11.2	22.1	57.5	22.9	29.1	44.6	37.5	7.1
9	29.1	23.9	5.2	35.5	28.9	6.6	53.2	44.5	8.7	46.3	39.5	6.8
21										24.9	17.7	7.8
22		-			-			-		24.6	19.0	5.6
	17/06/20			19/06/2020			22/06/2020			24/06/2020		
7	97.6	31.5	16.1	59.2	34.6	24.6	62.1	46.6	15.5	46.6	31.3	
8	50.7	43.2	7.5	43.2	33.3	9.9	33.3	27.5	5.8	27.5	20.9	
9	69.9	59.4	5.5	59.4	51.6	7.8	51.6	46.7	4.9	46.7	41.6	
21	43.0	35.8	7.2	45.6	35.4	10.2	35.4	30.0	5.4	30.0	24.1	
22	46.6	40.7	5.9	58.6	49.9	8.7	49.9	43.6	6.3	43.6	38.2	

Dieta Alta en Grasa con 5 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 08/06/20			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/2020			Fecha 15/06/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
10	32.2	3.9	28.3	39.4	22.5	16.9	59.1	39.8	19.3	58.7	52.9	6.3
11	31.1	12.6	24.5	47.6	28.9	18.7	66.9	37.6	28.8	67.7	53.1	14.6
20		—			—			—		52.0	45.1	6.9
	17/06/20			19/06/20			22/06/2020			24/06/2020		
10	52.1	47.3	5.1	47.3	38.6	8.7	55.7	49.7	6.0	49.7	43.7	
11	53.1	35.5	17.6	54.3	28.0	26.3	54.4	33.9	20.5	51.8	31.6	
20	45.1	38.6	7.5	46.6	36.9	9.7	38.9	31.2	5.7	31.2	25.6	

Dieta Alta en Grasa con 5 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.



Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/2020			Fecha 01/07/20			Fecha 03/07/2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
10	43.7	35.9		35.9	29.9		37.1	30.3		30.3	23.4	
11	67.5	39.4		72.1	53.4		53.4	38.9		56.1	28.3	
20	45.1	36.4		36.4	30.8		39.6	33.9		33.9	25.5	
	06/06/2020			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
10	42.5	34.7		34.7	28.9		63.6	53.3		53.3	46.8	
11	46.2	29.8		63.1	44.4		65.4	39.1		39.1	24.5	
20	61.0	55.8		55.8	49.0		69.1	59.2		59.2	53.8	
	15/07/20			17/07/20			20/07/20			22/07/20		
10	46.8	40.7		40.7	32.4		32.4	25.9		43.7	37.1	
11	65.1	44.7		44.7	20.5		53.9	32.0		68.7	46.7	
20	53.8	47.6		47.6	38.9		38.9	34.3		50.0	41.5	

Observaciones:

Dieta Amapola Casera con 10 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*
 Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
 Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
 Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 26/06/2020			Fecha 29/06/20			Fecha 01/07/20			Fecha 03/07/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
12	38.6	28.4		28.4	21.6		45.5	37.5		37.5	27.1	
13	38.2	29.4		29.4	23.8		36.8	29.5		40.0	30.7	
14	38.8	30.4		30.4	25.1		35.7	28.9		40.9	31.2	
15	43.6	34.5		34.5	29.2		46.9	40.5		40.5	31.7	
16	31.5	18.9		42.3	32.2		40.3	32.2		32.2	22.2	
17	40.6	31.9		31.9	26.7		46.3	39.1		39.1	31.7	
	06/06/20			08/07/20			10/07/20			13/07/20		
12	27.1	20.5		42.7	34.8		34.8	25.3		25.3	20.1	
13	30.7	22.8		48.8	42.3		42.3	33.2		33.2	28.0	
14	31.2	26.8		48.6	43.1		43.1	34.4		34.4	29.6	
15	31.7	26.8		54.6	47.7		47.7	39.2		39.2	34.0	
16	46.3	37.2		50.3	42.2		42.2	32.2		32.2	24.4	
17	55.3	49.4		49.4	43.5		43.5	36.2		36.2	30.8	

Observaciones:

g/dia x ratón

Dieta Amapola Casera con 10 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*
 Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.
 Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:
 Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 08/06/2020			Fecha 10/06/2020			Fecha 12/06/2020			Fecha 15/06/20		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
12	47.9	19.3	28.1	40.2	20.1	20.1	47.9	47.1	29.3	47.1	39.3	7.8
13	47.7	38.5	8.5	18.6	12.9	5.7	60.0	50.3	9.7	50.3	49.3	6.0
14	47.5	36.7	10.8	36.7	28.6	8.1	79.4	65.6	8.8	65.6	62.7	3.5
15	45.1	38.4	6.7	38.5	32.3	6.2	57.6	49.0	8.6	49.0	43.7	5.3
16	—	—	—	28.1	20.7	7.4	43.7	32.0	11.7	32.0	25.2	6.8
17	—	—	—	19.9	8.6	11.3	40.5	29.1	11.4	44.9	38.9	6.5
	17/06/20			19/06/2020			22/06/2020			24/06/2020		
12	59.3	46.4	7.9	63.8	54.0	9.8	54.0	48.9	5.1	46.5	38.6	
13	44.3	38.3	6.0	49.9	40.3	9.6	40.3	34.3	6.0	34.3	27.9	
14	62.1	57.3	4.8	57.3	49.3	8.0	49.3	44.1	5.2	44.1	38.8	
15	43.7	38.1	5.6	51.9	42.3	9.0	42.3	37.6	4.7	37.6	32.0	
16	55.9	46.5	9.4	46.5	33.8	12.7	33.8	27.0	6.8	27.0	20.6	
17	38.4	32.1	6.3	47.4	38.2	9.2	38.2	32.8	5.4	32.8	27.1	

Observaciones:

Dieta Alta en Grasa con 20 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 08 06 2020			Fecha 10 06 2020			Fecha 12 06 2020			Fecha 15 06 2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
18	49.5	16.8	32.7	43.5	21.0	22.5	67.9	37.8	29.6	86.8	64.3	22.5
19	51.6	35.3	16.3	58.8	45.7	13.1	95.9	78.5	16.9	78.5	70.3	8.2
	17/06/20			19-06-2020			22/06/2020			24/06/2020		
18	64.3	44.2	20.2	56.5	26.8	29.7	57.1	35.2	21.9	74.5	51.5	
19	70.3	60.3	10	60.3	44.5	15.8	44.5	34.3	10.2	34.3	23.4	

Dieta Alta en Grasa con 20 mg del Extracto Polifenólico de los Frutos de *Acacia farnesiana*

Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana*, sobre las alteraciones metabólicas en ratones machos C57BL6 con obesidad inducida por dieta.

Folio de registro: CICUAL-NAN-1988-20-22-1. Bioterio del INCMNSZ, cuarto:

Investigador responsable del proyecto: Dra. Claudia Delgadillo Puga.

Caja	Fecha 26 06 2020			Fecha 29 06 2020			Fecha 01 07 2020			Fecha 03 07 2020		
	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo	Inicial	Final	Consumo
18	61.0	29.0		60.3	40.1		64.9	43.2		43.2	15.8	
19	35.2	18.5		36.3	24.0		50.6	38.3		38.3	21.1	
	06/06/2020			08/06/2020			10/06/2020			13/06/2020		
18	65.0	42.0		56.3	33.8		83.6	60.4		60.4	41.1	
19	72.2	59.5		59.5	47.9		47.9	31.4		31.4	22.1	
	15/07/20			17/07/20			20/07/20			22/07/20		
18	59.3	35.5		69.0	34.1		65.6	43.1		43.1	21.1	
19	53.0	40.8		40.8	24.4		41.5	29.1		29.1	20.1	
	29/07/20			27/07/20			29/07/20			31/07/20		
18	57.2	19.3		68.2	46.4		46.4	24.3		60.5	30.3	
19	52.6	32.2		47.6	34.1		48.4	34.9		50.4	33.4	

Observaciones: