



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTOS DEL EXTRACTO ACUOSO COMPLETO DE LAS SEMILLAS DE *P. CANARIENSIS* L. Y SUS
FRACCIONES HEXÁNICA Y ACUOSA SOBRE EL SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO POR FRUCTOSA
EN RATAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MENDIOLA ALMARAZ LORENA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. GIL ALFONSO MAGOS GUERRERO
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM.
COMITÉ TUTOR: DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM.
COMITÉ TUTOR: DR. MANUEL MIRANDA ANAYA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2017



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.



Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 14 de agosto de 2017, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **MENDIOLA ALMARAZ LORENA** con número de cuenta **97172350**, con la tesis titulada **"EFECTOS DEL EXTRACTO ACUOSO COMPLETO DE LAS SEMILLAS DE *P. canariensis* L. Y SUS FRACCIONES HEXÁNICA Y ACUOSA SOBRE EL SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO POR FRUCTOSA EN RATAS"**, realizada bajo la dirección del **DR. GIL ALFONSO MAGOS GUERRERO**:

Presidente: DR. RICARDO REYES CHILPA
Vocal: DR. JOSÉ GUILLERMO ÁVILA ACEVEDO
Secretario: DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ
Suplente: DR. MANUEL JIMÉNEZ ESTRADA
Suplente: DR. MANUEL MIRANDA ANAYA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 26 de octubre de 2017


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS:

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada durante el periodo de estudios de Doctorado.

A mi tutor principal el Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero.

A los miembros del Comité Tutorial:

Dr. Mariano Martínez Vázquez.

Dr. Manuel Miranda Anaya.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Académicos

A la Técnico María Juana García Mondragón y al Químico Juan Luis Escobar, por su apoyo en la parte experimental de este proyecto.

A la Doctora Dolores Ramírez González por permitirnos el espacio para realizar la primera parte experimental del proyecto.

Al personal del bioterio central de la Facultad de Medicina por su colaboración y ayuda.

Al personal del bioterio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina por su apoyo en el mantenimiento de los animales.

Familiares

A mi padre por ser un gran hombre, por todo el apoyo, los consejos y la gran lección de vida que me ha dado a lo largo de este último año y medio.

A mis hermanas: Carnalita, May y Brujis, por ayudarme y apoyarme en cada una de las cosas que emprendo y sobre todo por continuar luchando hombro a hombro por mantener la alegría a pesar de las adversidades.

Al resto de mi familia por mantenerse cerca de mí y ayudarme a salir adelante en estos tiempos difíciles.

A mis amigos por creer en mí y ayudarme a cumplir mis sueños.

A ti por seguir apoyándome y sorprendiéndome en la realidad y en mis sueños.

DEDICATORIA

Dedicado a la memoria de la Maestra María Estela Almaraz Rentería, quien además de mi madre fue mi mejor amiga, maestra y la inspiración para buscar siempre la superación personal y académica.

Mi pequeña mariposa, el viento nos ha separado físicamente, pero el amor nos mantendrá unidas por siempre.

ÍNDICE

Lista de figuras	I
Lista de cuadros	III
Lista de abreviaturas	IV
Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Planteamiento del problema	4
3. Objetivos	5
4. Hipótesis	6
5. Antecedentes	6
5.1. Enfermedades no transmisibles	6
5.2. Síndrome Metabólico	8
5.3. Fructosa y SM	10
5.3.1. Metabolismo de fructosa	11
5.3.2. Fructosa y dislipidemia	12
5.3.3. Fructosa y obesidad	13
5.3.4. Fructosa e hipertensión	14
5.3.5. Fructosa e hiperglucemia y resistencia a la Insulina	14
5.4. Modelos animales para el estudio del SM	15
5.4.1. SM inducido por dietas altas en fructosa	16
5.5. Tratamiento del SM	17
5.6. Antecedentes de la planta utilizada	18
5.6.1. Descripción botánica	19
5.6.2. Distribución	20
5.6.3. Usos medicinales	20
5.6.4. Estudios farmacológicos	21
5.6.5. Estudios químicos y nutricionales	22
5.6.5.1. Macronutrientes	23
5.6.5.2. Fibra	24
5.6.5.3. Azúcares solubles	25
5.6.5.4. Minerales	25
5.6.5.5. Ácidos grasos	26
5.6.5.6. Aminoácidos	28
5.6.5.7. Vitaminas	29
5.6.5.8. Esteroles y tocoferoles	30
5.6.5.9. Antinutrientes	30
5.6.5.10. Ácidos fenólicos	31
5.6.5.11. Alcaloides	32
5.6.5.12. Glucósidos cianogénicos	32
6. Metodología	34
6.1. Material	34
6.2. Preparación del extracto.	35

6.3. Animales	35
6.4. Inducción del síndrome metabólico	36
6.5. Tratamiento del SM	36
6.6. Consumo	37
6.6.1. Consumo total de agua y alimento	37
6.6.2. Consumo energético (Kcal/100g pc)	37
6.7. Determinación de alteraciones metabólicas y clínicas	38
6.7.1. Medición de la presión sanguínea	38
6.7.2. Parámetros de obesidad	38
6.7.3. Química sanguínea	39
6.8. Análisis estadístico	39
7. Resultados	39
7.1. Inducción del SM en ratas Wistar	39
7.2. Tratamiento del síndrome metabólico	44
7.3. Fracción hexánica	47
7.4. Fracción acuosa	52
7.5. Tratamiento preventivo	54
8. Discusión	57
9. Conclusiones	63
10. Literatura citada	65
11. Anexos	76
11.1. Anexo A. Artículo requisito	76
11.1. Anexo B. Semillas de <i>Phalaris canariensis</i> L.	84
11.2. Anexo C. Marcha fitoquímica	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1a. Principales causas de muerte en México	7
Figura 1b. Prevalencias de las principales de enfermedades relacionadas con el SM en México	10
Figura 3. Metabolismo hepático de la fructosa	12
Figura 4. Imagen fotográfica de la planta de <i>P. canariensis</i>	19
Figura 5. Imagen fotográfica de las semillas de <i>P. canariensis</i>	20
Figura 6. Distribución actual de <i>P. canariensis</i> en México	21
Fig. 7. Estructura de algunos de los componentes más abundantes en las semillas de <i>P. canariensis</i>	33
Figura 8. Efecto de la administración de 10, 20 y 30% de fructosa sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa	41
Figura 9. Efecto de la administración de 10, 20 y 30% de fructosa sobre los valores de IL, CA y la PAS	42
Figura 10. Efecto de la administración de 10, 20 y 30% de fructosa sobre el consumo total de agua y alimento	43
Figura 11. Efecto de la administración de 10, 20 y 30% de fructosa sobre el consumo kilocalórico total	43
Figura 12. Efecto de la administración de 10, 20 y 30% de fructosa sobre el consumo kilocalórico proveniente de este azúcar, adicionado al alimento y al agua	44
Figura 13. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa	45
Figura 14. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre los valores de IL, CA y la PAS	46
Figura 15. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre el consumo kilocalórico total	47
Figura 16. Efecto de la administración de Tween o la fracción hexánica de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada en el alimento y el agua de beber sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa	49
Figura 17. Efecto de la administración de Tween o la fracción hexánica de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada en el alimento y el agua de beber sobre los valores de IL, CA y PAS	50
Figura 18. Efecto de la administración de Tween o la fracción hexánica de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada en el alimento y el agua de beber sobre el consumo kilocalórico total.	51
Figura 19. Efecto de la administración de Solución salina o la fracción acuosa de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa	52
Figura 20. Efecto de la administración de Solución salina o la fracción acuosa de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre los valores de IL, CA y PAS.	53

Figura 21. Efecto de la administración de Solución salina o la fracción acuosa de las semillas de <i>P. canariensis</i> , en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber sobre el consumo kilocalórico total.	54
Figura 22. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto acuoso completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa.	55
Figura 23. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto acuoso completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> sobre los valores de IL, CA y PAS.	56
Figura 24. Efecto de la administración de solución salina, sibutramina, o el extracto acuoso completo de las semillas de <i>P. canariensis</i> sobre el consumo kilocalórico total	57

LISTA DE CUADROS

Cuadro I. Composición nutrimental de <i>P. canariensis</i>	24
Cuadro II. Composición de la fibra de <i>P. canariensis</i>	24
Cuadro III. Azúcares solubles presentes en <i>P. canariensis</i>	25
Cuadro IV. Minerales presentes en <i>P. canariensis</i>	26
Cuadro V. Ácidos grasos presentes en <i>P. canariensis</i>	27
Cuadro VI. Aminoácidos presentes en <i>P. canariensis</i>	28
Cuadro VII. Vitaminas presentes en <i>P. canariensis</i>	29
Cuadro VIII. Esteroles y tocoferoles presentes en <i>P. canariensis</i>	30
Cuadro IX. Composición de antinutrientes de <i>P. canariensis</i>	31
Cuadro X. Ácidos fenólicos presentes en <i>P. canariensis</i>	31
Cuadro XI. Determinación del contenido de alcaloides en <i>P. canariensis</i>	32
Cuadro XII. Determinación del contenido de glucósidos cianogénicos en <i>P. canariensis</i>	33

LISTA DE ABREVIATURAS

Akt/PKB- proteína cinasa B

CA- Circunferencia abdominal

ChREBP - elementos de unión a proteína sensibles a carbohidratos

CPT1- carnitin palmitoil transferasa 1

DM2-Diabetes mellitus tipo 2

ECA- enzima convertidora de angiotensina

ECAV-Enfermedades cardiovasculares

EGIR -Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a Insulina (*European Group for the Study of Insulin Resistance*).

ENT- Enfermedades No Transmisibles

ERO- especies reactivas de oxígeno

FAS- sintasa de ácidos grasos

g pc- gramos de peso corporal

HDL-C- Colesterol de alta densidad

HSL- lipasa sensible a hormonas

IL- Índice de Lee

JMAF-jarabe de maíz alto en fructosa

Kcal- Kilocalorías

NCEP-ATPIII-National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III

NOSe- sintasa de óxido nítrico endotelial

OMS- Organización Mundial de la Salud

NO-Óxido nítrico

PHD- piruvato deshidrogenasa

PAS- Presión arterial sistólica

SCD-1- esteroil CoA desaturasa-1

SCD1- la esteroil coenzima A desaturasa-1

SM-Síndrome metabólico

SRI- sustratos del receptor a insulina

TG- Triglicéridos

RESUMEN

Phalaris canariensis L. (*P. canariensis*), comúnmente conocida como alpiste, se utiliza en la medicina tradicional de México para el tratamiento de la hipertensión, la diabetes y la obesidad. Los estudios preclínicos realizados recientemente, con diferentes extractos de semillas de *P. canariensis*, apoyan tales usos. El interés principal de este estudio fue describir el efecto protector de las semillas contra el síndrome metabólico (SM) inducido por fructosa en ratas Wistar y evaluar los beneficios obtenidos del uso de un extracto acuoso completo. Nuestros resultados indican que él o los componentes antihipertensivos de las semillas de *P. canariensis* se encuentran en la fracción acuosa y que las sustancias responsables de los efectos sobre la obesidad se encuentran tanto en la fracción acuosa como en la hexánica, siendo estos efectos independientes de una reducción en el consumo kilocalórico total. Se concluye que ambas fracciones son efectivas para atenuar las manifestaciones del SM y que la administración del extracto acuoso completo de la semilla de *P. canariensis* es necesaria para el control efectivo cuando estas semillas se utilizan como medicina herbal alternativa.

ABSTRACT

Phalaris canariensis L. (*P. canariensis*), commonly known as canaryseed, is used in the traditional medicine of Mexico for the treatment of hypertension, diabetes, and obesity. Recent preclinical studies with different *P. canariensis* seed extracts support such uses. The main interest of this study was to describe the protective effect of the seeds on fructose-induced metabolic syndrome (MS) in rats *and to assess the benefits gained from use of a complete aqueous extract*. Our results indicate that the antihypertensive component(s) of *P. canariensis* seeds is (are) found in the aqueous fraction and that the substances responsible for the effects on obesity are found in both the aqueous and the hexane fractions. These effects were independent of a reduction in total kilocaloric intake. We conclude that both fractions are effective in attenuating manifestations of MS, and that administration of the complete aqueous extract of the *P. canariensis* seed is necessary for effective control when the *P. canariensis* seeds are used as an alternative herbal medicine.

1. INTRODUCCIÓN

En la presente tesis se describen los estudios farmacológicos preclínicos realizados en torno a la semilla de *Phalaris canariensis* Linneo, 1753. (Poaceae) conocida popularmente como alpiste o grano de las canarias, una especie vegetal empleada como alimento para pájaros ⁽¹⁾ y en el folclor mexicano, como remedio medicinal contra la obesidad ⁽²⁾, hipertensión ⁽³⁾ y diabetes ⁽⁴⁾.

Se carece de estudios de campo sistematizados que describan las características reales sobre las formas de empleo del alpiste. Sin embargo, los datos obtenidos de la literatura informal, indican que la semilla se remoja en agua, se muele y cuele, para remover la cascara. Este preparado bebible es denominado “leche de alpiste”.

Debido a que las propiedades medicinales popularmente conferidas a la semilla, parece lógico postular que este producto podría tener algún beneficio en el tratamiento del síndrome metabólico (SM), padecimiento que engloba las principales entidades clínicas para las cuales la gente lo emplea.

En el mundo y particularmente en la ciudad de México, la prevalencia del SM se ha incrementado de manera alarmante, por ejemplo, en niños y adolescentes obesos tratados en una clínica hospitalaria en México, la prevalencia fue de 36.7% ⁽⁵⁾. El manejo de este problema de salud pública, se basa principalmente en intervenciones en el estilo de vida (dieta y actividad física) e intervenciones que tratan por separados la obesidad, las dislipidemias, la hipertensión y la diabetes ⁽⁶⁾.

Debido a que las plantas medicinales contienen numerosos ingredientes activos, surge la posibilidad de tratar las alteraciones metabólicas que caracterizan el SM, con una sola planta que contenga la o las sustancias activas para dicho fin. En los últimos cinco años, ha surgido evidencia científica sobre el papel de las semillas de *P. canariensis* como agente terapéutico prometedor en el tratamiento de trastornos metabólicos. En ratones con diabetes inducida por estreptozotocina se ha demostrado que el extracto de hexano de las semillas de *P. canariensis* reduce la glucemia e inhibe la resistencia a la insulina, las anomalías lipídicas y el estrés oxidativo

(2). En un modelo de inflamación crónica (granuloma inducido por gránulos de algodón), un extracto de cloroformo de *P. canariensis* mostró efecto antiinflamatorio a través de mecanismos que implicaban un menor flujo de neutrófilos y una menor producción de citocinas proinflamatorias (7). En ratas Wistar anestesiadas un extracto acuoso de las semillas de *P. canariensis* mostró efecto hipotensor y efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico (NO) (8). También, en ratas Wistar normotensas y espontáneamente hipertensas, la administración de un extracto acuoso de semillas de dicha planta produjo disminución significativa de la presión arterial sanguínea (9).

Debido al hecho de que gran parte de los trabajos experimentales sobre *P. canariensis* fueron realizados con extractos polares o no polares, el objetivo del presente estudio fue establecer, de manera sistemática, el perfil de efectos que caracteriza la administración intraoral de un extracto acuoso completo de semillas de *P. canariensis* sobre el SM inducido por fructosa adicionada en el alimento y en el agua de beber de ratas Wistar. Además, caracterizar el perfil de actividad que muestra contra el mismo SM, dos extractos obtenidos del extracto acuoso completo, que contienen sustancias de polaridad extrema.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México y en el mundo el SM se considera como predictor de morbilidad y mortalidad cardiovascular. Por tal motivo, ocupa los primeros lugares., es preocupante y alarmante que, en la ciudad de México se haya incrementado la prevalencia de este complejo de anormalidades metabólicas.

El tratamiento del SM incluye la modificación de los hábitos de vida dirigidos a perder peso y aumentar la actividad física y un adecuado control de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular como la dislipidemia, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus.

El tratamiento medicamentoso se basa en la administración de fármacos para controlar cada uno de dichos factores de riesgo, muchas veces sin éxito. Debido a que la semilla de *P. canariensis* es un cereal que recientemente ha mostrado propiedades potenciales nutraceuticas para el humano y que, en la medicina popular mexicana es empleado para el tratamiento de la hipertensión arterial, diabetes y obesidad, es posible postular que se puede tratar el SM con esta única planta y en primera instancia, realizar investigación preclínica.

Debido a que las investigaciones preclínicas de esta planta, han sido llevadas a cabo con extractos obtenidos con disolventes de diferente polaridad y en modelos experimentales que incluyen por separado hipertensión, obesidad o diabetes, parece pertinente estudiar, los efectos de la semilla de *P. canariensis*, de manera sistematizada, en un modelo experimental de SM, que incluya al menos tres alteraciones. El principal propósito del presente estudio es buscar evidencias que permitan responder ¿Cuál es el perfil de efectos de un extracto crudo acuso de semilla de *P. canariensis* sobre el síndrome metabólico inducido por la adición de fructosa en el alimento y en el agua de beber de ratas Wistar? y contrastarlo comparar su efecto cualitativo y cuantitativo en el mismo SM tratado de manera independiente con dos fracciones obtenidas del extracto “completo” de las semillas.

OBJETIVOS

- Preparar y obtener en el laboratorio, el modelo experimental más adecuado de SM inducido en ratas Wistar macho, por el consumo de alimento y agua con alto contenido de fructosa.
- Determinar sí el tratamiento con dosis únicas diarias de un extracto acuoso “completo” de las semillas de *P. canariensis*, previene o modifica las manifestaciones clínicas del SM en ratas Wistar.

- Determinar si el tratamiento con dosis únicas diarias de las fracciones hexánica y acuosa del extracto completo de las semillas de *P. canariensis*, modifican las manifestaciones clínicas del SM en ratas Wistar, como las modifica el extracto acuoso completo.

3. HIPÓTESIS

La administración oral repetida de un extracto acuoso “completo” de las semillas de *P. canariensis* modificará la presentación y el desarrollo de las manifestaciones clínicas del SM en ratas inducido por el consumo de altas concentraciones de fructosa.

La administración oral repetida de las fracciones hexánica y acuosa del extracto acuoso “completo” de las semillas de *P. canariensis*, modificarán las manifestaciones clínicas del SM inducido en ratas con el consumo de altas concentraciones de fructosa. La suma de las modificaciones producidas por cada extracto, reflejará el perfil de efectos observados con la administración oral repetida del extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis*.

4. ANTECEDENTES

5.1 Enfermedades no transmisibles (ENT)

En el año 2015 las ENT causaron el 70% de las muertes en el mundo. En los países de ingresos altos, nueve de las 10 principales causas de muerte son ENT, aunque en cifras absolutas el 78% de las defunciones por estas enfermedades ocurrió en los países de ingresos medianos y bajos. De los 56,4 millones de defunciones registradas en el mundo en 2015, la cardiopatía isquémica y el accidente cerebrovascular, ocasionaron 15 millones de defunciones (26.5%) y han sido las principales causas de mortalidad durante los últimos 15 años. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) causó 3,2 millones de fallecimientos (5.6%), mientras que las infecciones de las vías respiratorias inferiores continúan siendo la enfermedad transmisible más letal; en 2015 causaron 3,2 millones de defunciones (5.6%) en todo el mundo, y el cáncer de

pulmón, junto con los de tráquea y de bronquios, se llevó la vida de 1,7 millones de personas (3.0%). La cifra de muertes por diabetes, que era inferior a un millón en 2000, alcanzó los 1,6 millones (2.8%) en 2015 (Figura 1).

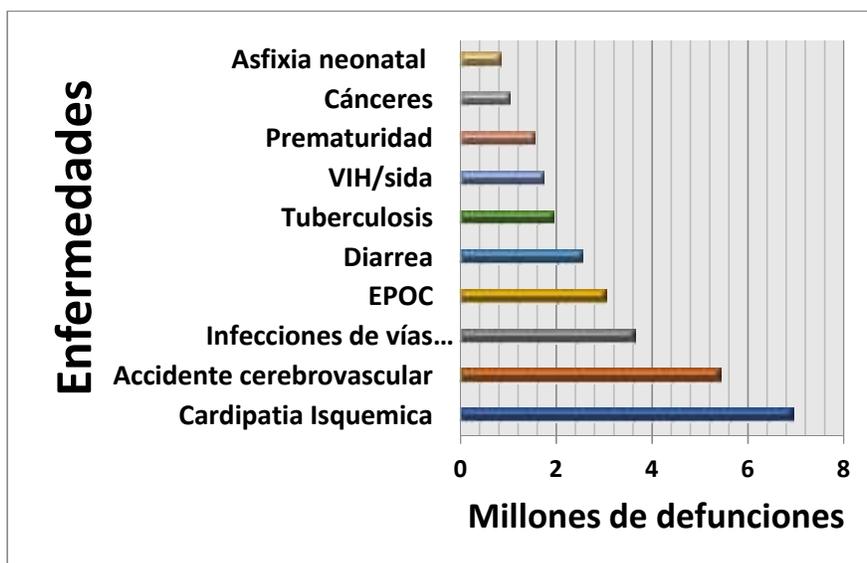


Fig 1a. Principales causas de muerte en México.

En México las ENT también son las principales causas de muerte, pero la diabetes mellitus (15.0%) y los tumores malignos (12.1%) ocupan, después de las enfermedades cardiovasculares (ECaV) (19.6%), el segundo y tercer lugar, respectivamente ⁽¹⁰⁾.

La mayoría de las ENT están fuertemente asociadas y causalmente relacionadas con cuatro comportamientos particulares: el consumo de tabaco, la inactividad física, la dieta poco saludable y el uso nocivo de alcohol ⁽¹¹⁾. Estos comportamientos conducen principalmente a cuatro cambios fisiológicos o alteraciones metabólicas: presión arterial elevada, sobrepeso/obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia ⁽¹¹⁾, que cuando coinciden en una persona se denomina síndrome metabólico (SM).

5.2 Síndrome metabólico

El SM es un término utilizado para definir a un individuo que presenta más de tres de las alteraciones metabólicas señaladas en el párrafo anterior ⁽¹²⁾; las cuales incrementan, en adultos, el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular y algunos tipos de cáncer ⁽¹³⁾.

Aunque ya en 1980 Margaret Albrink resaltaba la relación entre obesidad, hipertrigliceridemia e hipertensión y, en 1988 Gerald Reaven acuñó el término “Síndrome X” para describir la interrelación entre resistencia a insulina, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y ECaV, fue hasta 1998 cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) dio la primera definición formal de SM ⁽¹⁴⁾. En esta definición se consideran como criterios necesarios para diagnosticarlo la resistencia a insulina, identificada por hiperinsulinemia e intolerancia a glucosa o DM2 al momento del diagnóstico, dislipidemia (reducido colesterol HDL e incremento en los triacilglicérols, comúnmente conocidos como triglicéridos), hipertensión y/o microalbuminuria ⁽¹⁵⁾. El propósito principal de la OMS al establecer el diagnóstico de SM, fue identificar pacientes con alto riesgo de desarrollar ECaV o DM2.

El Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a Insulina (*European Group for the Study of Insulin Resistance*= EGIR) poco tiempo después publicó un conjunto de criterios en los que define al SM como “un síndrome de anomalías leves que, en combinación, incrementan el riesgo de presentar ECaV”. Su definición de SM es muy similar a la de la OMS pero, esta organización, no considera como criterio necesario la presencia de microalbuminuria ⁽¹⁶⁾.

En 2001 el NCEP-ATPIII (National Cholesterol Education Program’s Adult Treatment Panel III) publicó un conjunto de criterios basados en mediciones clínicas comunes: circunferencia de cintura, presión sanguínea y glucosa en ayuno. En esta definición la presencia de resistencia a insulina, *per se*, no es un criterio necesario para hacer el diagnóstico. El propósito principal de la

definición del NCEP: ATPIII fue identificar individuos con alto riesgo de ECaV que excedieran los factores de riesgo cardiaco tradicionales ⁽¹⁷⁾.

Otras instituciones como la Asociación Americana de Endocrinología Clínica han puesto mayor interés sobre la resistencia a insulina y han excluido a los individuos con DM2 enfocándose en la búsqueda de una definición que describa la interdependencia de la ECaV y la metabólica ⁽¹⁴⁾.

En 2004 la Federación Internacional de Diabetes enfatizó en su definición del SM, como criterio diagnóstico, la presencia de obesidad central y reconoció la dificultad de identificar criterios aplicables entre poblaciones y etnias, argumentando que, las múltiples definiciones del SM, dificultan la comparación de datos entre estudios y no provee un criterio unificado para su diagnóstico, por lo que propone puntos de corte específicos por raza y etnia ⁽¹⁸⁾.

Diversas instituciones internacionales han intentado armonizar la definición del SM ⁽¹²⁾ con la finalidad de facilitar el diagnóstico de los individuos que lo padecen ^(12, 19, 20), sin embargo, hasta ahora solo se pueden señalar coincidencias como la importancia de identificar a individuos con riesgo de padecer ECaV a través del diagnóstico del SM y que, dentro del núcleo de componentes de este síndrome, están incluidos la obesidad, la dislipidemia y la hipertensión.

En la actualidad el SM es señalado como un factor de riesgo para desarrollar DM2 y ECaV ⁽²¹⁾. Sin embargo, cada uno de sus componentes, *per se*, es un factor de riesgo y, por lo tanto, el riesgo total del SM representa la suma de cada uno de los factores que coexisten en el sujeto. En México, la alta prevalencia de las alteraciones metabólicas presentes en el SM, representa un serio problema de salud pública ^(22, 23, 24) (**Figura 1**).

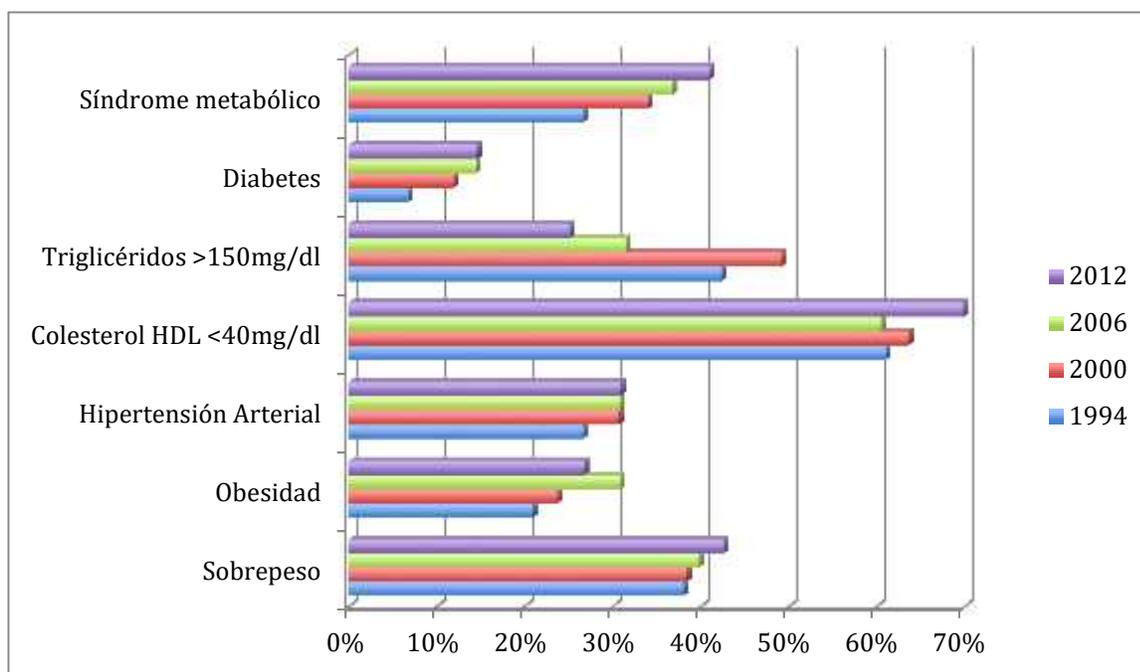


Figura 1b. Prevalencias de las principales de enfermedades relacionadas con el SM en México (INSP, 2006). Fuente: Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012. Aguilar Salinas, C. (n.d.). Las enfermedades crónicas no transmisibles. El principal problema de salud en México.

5.3. Fructosa y SM

La fructosa es un monosacárido que se encuentra en frutas y vegetales, pero se consume en la dieta del humano principalmente como sacarosa (un disacárido compuesto de moléculas de fructosa y glucosa) o como un componente de los jarabes de maíz altos en fructosa (JMAF), de los cuales, el más empleado contiene 55 % de fructosa ⁽²⁵⁾. Actualmente, el JMAF debido a su bajo costo de producción, su estabilidad y su potencia como edulcorante, es utilizado ampliamente para endulzar alimentos y bebidas ^(25, 26).

Hay pruebas convincentes de que el consumo de grandes cantidades de alimentos de alta densidad energética, como los alimentos procesados que son ricos en grasas y azúcares, promueven la obesidad ⁽¹¹⁾ y, se ha señalado que, el consumo excesivo de azúcar refinada

particularmente de fructosa, es un factor muy importante que contribuye a la alta prevalencia del SM ⁽²⁷⁾.

En humanos el consumo promedio de 77 mg/100 g pc día⁻¹, equivalente al 10% de Kcal totales (28), aumenta el riesgo relativo de padecer SM a 1.20 o DM2 a 1.2 ⁽²⁹⁾.

5.3.1. Metabolismo de la fructosa

La fructosa consumida es absorbida en el intestino mediante un transportador específico llamado GLUT5. Este transportador se encuentra localizado en las membranas de las células intestinales llamadas enterocitos, las cuales constituyen el borde en cepillo del intestino delgado ^(30, 31). Una vez alcanzado el espacio intersticial, la fructosa se difunde a la sangre del lecho vascular venoso mesentérico que confluye en la vena porta. Este vaso, lleva la fructosa al hígado en donde el transportador GLUT2 le facilita atravesar la membrana de las células hepáticas para llegar al citosol ⁽³²⁾, donde la fructosa es metabolizada.

El metabolismo hepático de la fructosa difiere marcadamente del de la glucosa por varias razones. En primer lugar, la entrada de glucosa a la glucólisis está controlada por la hexoquinasa IV, o glucoquinasa, esta enzima se caracteriza por una alta Km para la glucosa y, por lo tanto, la tasa de fosforilación de glucosa varía con los cambios de la concentración de glucosa en la vena porta. La glucosa - 6 - P se convierte a continuación en fructosa - 6 - P y, posteriormente, se convierte en fructosa - 1 ,6 - di-P a través de una reacción catalizada por la enzima fosfofructoquinasa. La actividad de la fosfofructoquinasa es inhibida por ATP y citrato, lo que modula la reacción de acuerdo con el estado de energía de la célula. La fructosa - 1 ,6 - di - P es convertida a piruvato antes de su entrada en el ciclo de Krebs. Esta conversión de glucosa a piruvato es regulada por la insulina, que estimula la expresión del gen de la glucoquinasa y activa las enzimas glucolíticas, y por el estado de energía de la célula. En contraste, la conversión de fructosa a triosa - P se produce independientemente de la insulina y es un proceso rápido debido

a la baja K_m de fructoquinasa para la fructosa, y la ausencia de una inhibición dada por el ATP o citrato ⁽³⁰⁾.

Una porción de las triosas - P obtenidas a partir de fructosa pueden ser convertidas en glucosa y glucógeno a través de la gluconeogénesis; otra porción se convierten en lactato, el cual es liberado en la circulación sistémica y otra porción pueden convertirse posteriormente en piruvato y oxidarse hasta CO_2 y H_2O o bien pueden ser utilizadas para la síntesis de ácidos grasos o la síntesis de triglicéridos, ya sea como un resto acilo graso o como un esqueleto de glicerol ⁽³¹⁾.

(Figura 3).

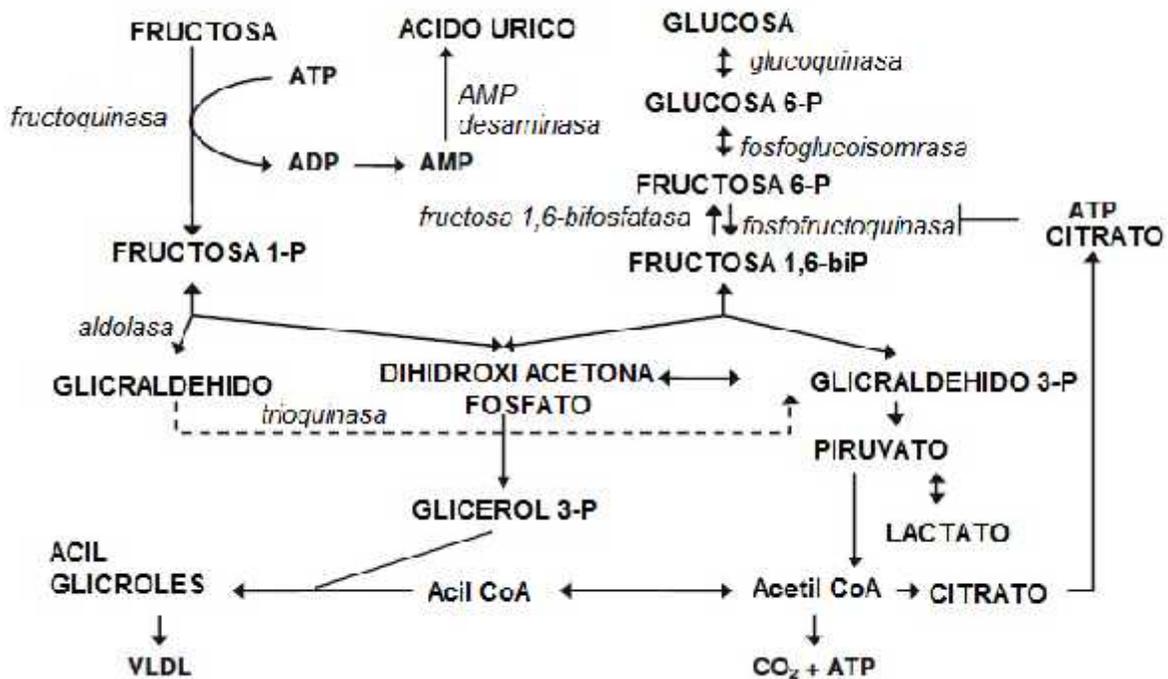


Figura 3. Metabolismo hepático de la fructosa. Modificado de: Mol Cell Biochem, 2009. Vol. 332, pp. 145-159.

5.3.2. Fructosa y dislipidemia

Los mecanismos por los cuales la fructosa induce dislipidemia han sido parcialmente elucidados. Se ha señalado que la fructosa, proporciona grandes cantidades de triosas-fosfato hepáticas que pueden ser precursores para la síntesis de ácidos grasos que, al no ser reguladas por el estado

energético celular, pueden dar paso a un estado celular altamente lipogénico; de hecho, se ha observado en varios estudios que la síntesis hepática de *novo* del glicerol y las partes acilo-graso de los triglicéridos son estimulados después del consumo de una dosis de fructosa. También se ha señalado que este azúcar aumenta la actividad de la piruvato deshidrogenasa (PHD) debido a que inhibe la PDK, activa la transcripción de los elementos de unión a proteína sensibles a carbohidratos (ChREBP) e induce la expresión del factor de transcripción SREBP-1c (mediada por PGC1b y XBP1s), el cual a su vez puede aumentar la presencia de la esteroil CoA desaturasa-1 (SCD-1), enzima que cataliza la conversión de ácidos grasos saturados a ácidos grasos monoinsaturados como el oleil- CoA, con lo que promueve la expresión de enzimas lipogénicas como la sintasa de ácidos grasos (FAS) y la acetil-CoA carboxilasa ^(31, 33).

5.3.3. Fructosa y obesidad

La obesidad presentada por el consumo de grandes cantidades de fructosa parece estar muy relacionada al hecho de que la fructosa promueve un estado lipogénico en la célula que, como ya se mencionó, aumenta la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos libres ⁽³⁴⁾, con lo que se estaría favoreciendo tanto la hipertrofia (un aumento tanto en los lípidos intracelulares como en el tamaño del adipocito), como la hiperplasia del adipocito (incremento en el número de adipocitos) ⁽³⁵⁾. Estos cambios en el tejido adiposo están relacionados con anormalidades intracelulares particularmente estrés del retículo endoplásmico y disfunción mitocondrial, con lo que puede aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) las cuales activan enzimas como: c-Jun N-terminal kinasa y factor nuclear κ B, que están asociadas a la inflamación leve y crónica relacionada a la obesidad y en general, al SM ⁽³⁶⁾. Además, se ha reportado que la dieta occidental, rica en grasas e hidratos de carbono altamente refinados como el JMAF y baja en polisacáridos de plantas complejas podría estar causando alteraciones en la microbiota intestinal que, aunque es controversial, podría estar asociada a la obesidad y al SM ^(37, 38).

5.3.4. Fructosa e hipertensión

Se ha señalado que la hipertensión presentada en ratas alimentadas con fructosa, puede estar relacionada a un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático ^(39, 40) que provoca alteraciones en la relajación vascular dependiente del endotelio debido a un incremento de endotelina, angiotensina II, estrés oxidativo o alteraciones en los niveles del óxido nítrico debido a la poca disponibilidad de este gas producido por la sintasa de óxido nítrico endotelial (NOSe), enzima que cataliza la formación de óxido nítrico a partir de arginina ⁽³⁹⁾.

Además, se ha señalado que el mal funcionamiento de los sustratos del receptor a insulina (SRI) puede desencadenar daños en la cascada de fosforilación de cinasas disminuyendo la actividad de la enzima Akt/PKB (proteína cinasa B), que en consecuencia disminuye la actividad de la enzima NOSe, lo que incrementa los mecanismos vasoconstrictores que participan en la regulación de la presión arterial sanguínea ⁽³⁶⁾.

5.3.5. Fructosa e hiperglucemia y resistencia a la insulina

Como ya se mencionó, al inicio de esta sección, el metabolismo de fructosa puede aumentar la producción de glucosa al promover la gluconeogénesis, pero además de este efecto, el consumo excesivo de fructosa parece estar implicado en la aparición de la resistencia a insulina.

Se ha señalado que el incremento del estrés oxidativo provocado por el consumo excesivo de este azúcar atenúa la señal de la insulina debido al mal funcionamiento de los SRI particularmente el SRI-1 ^(41, 42). Este mal funcionamiento se debe a la fosforilación en los residuos de serina de los SRI llevado a cabo por dos cinasas la JNK e IκB, que son activadas por el aumento en las ERO.

5.4. Modelos animales para el estudio del SM

Un modelo animal se define como: "...un organismo vivo con una enfermedad heredada o adquirida ya sea de forma natural o inducida por procesos patológicos, que se asemeja mucho a la misma condición que se da en el humano. Por lo tanto, no se debe esperar que los modelos animales sean ideales ni universalmente adecuados para todos los aspectos de la enfermedad...". Debe recordarse que los modelos animales se utilizan para poner a prueba nuevas hipótesis, descubrir mecanismos patológicos básicos y desarrollar nuevos tratamientos; sin embargo, la extrapolación de los resultados de los experimentos con animales a tratamientos efectivos en ensayos clínicos en seres humanos no es una tarea sencilla ⁽⁴¹⁾.

Los efectos dañinos ocasionados por las alteraciones metabólicas del SM, han motivado la realización de estudios experimentales preclínicos que buscan comprender la etiopatogenia del síndrome para argumentar nuevas intervenciones terapéuticas que reduzcan la repercusión de esta entidad clínica en el sistema sanitario. Sin embargo, debido al carácter multifactorial del SM, resulta difícil seleccionar un modelo experimental adecuado que represente mejor la fisiopatología del SM de los humanos.

Para el estudio del SM se realizan experimentos en diversas especies de animales como: perros, gatos, monos, cerdos, caballos; pero los más comúnmente utilizados son los roedores, de los cuales los más usados son las ratas y los ratones debido a los bajos costos y la facilidad de hacer seguimientos de linaje durante varias generaciones; además de que su manipulación genética es relativamente sencilla y se pueden combinar variables genéticas (modelos genéticos) y ambientales como la dieta (modelos ambientales) y la cantidad de ejercicio a la que son sometidos ⁽⁴¹⁾.

Se considera que el modelo más cercano al SM humano es el que emplea un alto contenido de carbohidratos y grasa en la dieta ⁽⁴³⁾. Un solo tipo o una combinación con alto contenido de

sacarosa, fructosa o grasa en la dieta, se han convertido en la piedra angular para inducir SM en ratas Sprague-Dawley, Wistar, ratones C57BL/6J y hámster sirio dorado ^(27, 44-46).

5.4.1. SM inducido por dietas altas en fructosa

Cuando el consumo de carbohidratos excede los requerimientos diarios de energía, la concentración de glucosa en la sangre permanecerá elevada y la insulina será secretada constantemente por el páncreas para permitir que las células capten glucosa para: la glucólisis, la formación de glucógeno en el hígado y en los músculos y, a través de insulina, se promueva la síntesis de ácidos grasos y se inhiba la liberación de los ácidos grasos disponibles ⁽³⁹⁾. Sustancial evidencia ha demostrado una fuerte asociación entre un consumo elevado de carbohidratos y la resistencia a la insulina ⁽⁴⁴⁾.

La dieta enriquecida con fructosa es uno de los modelos más empleados para inducir SM. La fructosa, comúnmente conocida como “azúcar de frutas”, es un monosacárido utilizado como potenciador del sabor, para hacer la comida más apetitosa. En realidad, no hay necesidad de fructosa en la dieta; es sólo un intermediario durante el metabolismo de la glucosa. La concentración circulante de fructosa (~ 0,01 mmol/L) en sangre periférica es muy baja en comparación con la glucosa (~ 5,5 mmol/L) ⁽⁴⁵⁾. Lamentablemente, el consumo de fructosa hoy en día es excesivo debido al consumo de bebidas y alimentos azucarados. Debido a sus propiedades lipogénicas (productoras de grasa), teóricamente una gran afluencia de fructosa en el hígado es causa de la acumulación de triglicéridos, colesterol e incremento de resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa ^(27, 46).

El conocimiento sobre el metabolismo de la fructosa reveló, en comparación con la glucosa o el almidón ^(47,48), su superioridad para inducir SM. Además, existe una correlación indiscutible entre el consumo elevado y crónico de fructosa con mayor: consumo de energía, peso corporal, adiposidad, hipertrigliceridemia, hiperlipidemia, hipertensión, intolerancia a la glucosa y

disminución de la sensibilidad a la insulina, todos padecimientos relacionados al SM ^(48, 49). Un estudio en animales realizado por Thirunavukkarasu et al. ⁽⁵⁰⁾ mostró, en ratas alimentadas con una dieta donde la fructosa proporcionaba más del 60% del total de calorías, un aumento en: la presión arterial, la glusemia, la intolerancia y disminución de la sensibilidad a la insulina. Otro estudio realizado por Sánchez-Lozada y col. ⁽⁵¹⁾ informó que el 10% de fructosa en el agua potable indujo hipertensión e hiperlipidemia, en ratas macho Sprague- Dawley, aunque en magnitud inferior que el estudio anteriormente mencionado.

En resumen, se ha señalado que la fructosa, en seres humanos y animales, se comporta más como una grasa que como un carbohidrato y, que una concentración de 10% de fructosa en el agua potable (10%), es suficiente para inducir SM en animales.

Las dietas ricas en fructosa en ratas, además, pueden provocar: presión elevada, resistencia a insulina, daño en la tolerancia a glucosa y dislipidemia. También dilatación e hipertrofia ventricular, disminución de la función contráctil ventricular e infiltración de células inflamatorias en el corazón. En el hígado puede provocar esteatosis micro y macrovesicular con fibrosis periportal e inflamación lobular. Además de daño tubular renal, depósito de colágeno en el intersticio y aumento en la infiltración de macrófagos con aumento en la proliferación de hiperplasia a lo largo de los túbulos renales proximales. Y conducir a resistencia a leptina sin cambios en el peso ni en la adiposidad; en el plasma aumenta los niveles de ácido úrico y los triglicéridos sin que se presenten cambios en los niveles de colesterol y se ha reportado que provoca obesidad, aunque esto último aun es debatible ⁽⁵¹⁻⁵⁹⁾.

5.5. Tratamiento del SM

Actualmente se desconoce la etiopatogenia del SM y, en consecuencia, no existe un tratamiento específico etiológico para corregir simultáneamente todas las alteraciones, sino que se utilizan medidas que incidan en cambios del estilo de vida y medicamentos dirigidos a controlar cada

una de las alteraciones metabólicas por separado (antihipertensivos, antidislipidémicos, antidiabéticos) ⁽⁶⁰⁾. Ante este complejo problema, la búsqueda de un tratamiento multifactorial que modifique de manera integral el SM, es un campo de estudio vigente. Por este hecho, los tratamientos alternativos como las plantas medicinales que contienen más de un compuesto, resultan prometedores para el tratamiento (medicamento herbolario) o como materia prima de nuevas moléculas que dentro de su espectro terapéutico involucre a más de un factor de riesgo del SM ⁽⁶¹⁾.

5.6. ANTECEDENTES DE LA PLANTA UTILIZADA

Ubicación taxonómica de la especie

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsita

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: Phalaris

Especie: *Phalaris canariensis* L.

Nombre común: alpiste o alpiste blanco.

Phalaris canariensis L.: (Figura 4)

Conocida popularmente como alpiste, es una especie nativa de la región del Mediterraneo considerada a nivel mundial como un cereal de cultivo menor que se cultiva en muchas áreas de climas templados ⁽⁶²⁾. Hoy en día la principal área de producción de alpiste se encuentra en las provincias del suroeste de Canadá ⁽⁶³⁾, y en menor escala, en Argentina, Australia, Hungría y

México ⁽⁶⁴⁾. El uso principal de las semillas de esta especie es para la alimentación de aves domésticas, pero se disponen de informes de su utilización como una mezcla de harina para uso alimentario ⁽⁶⁵⁻⁶⁸⁾.



Figura 4. Imagen fotográfica de la planta de *Phalaris canariensis*. Fuente: Jardinería.pro, imagen tomada del sitio: <http://www.jardineria.pro/tag/medicinales> (fecha de actualización: 19 de septiembre 2012)

5.6.1. Descripción botánica

P. canariensis es una planta anual de hasta 1.2 m de alto con tallo glabro (sin pelos), simple o ramificado en la base. Hojas lígulas membranáceas, de 2 a 8 mm de largo, de 0.8 a 1.8 cm de ancho. Lámina plana, de 10 a 30 cm de largo y hasta 1 cm de ancho, márgenes ásperos. Inflorescencia: panícula espiciforme, ovada a oblongo ovada, densa, de 1.2 a 4 cm de largo y hasta 2 cm de ancho. Espiguillas de 7 a 9 mm de largo; glumas de 2 a 2.5 mm de ancho, con una ala de más o menos 1 mm de ancho en la quilla; las dos lemas estériles, en forma de escama, de 2.5 a 4.5 mm de largo; lema fértil densamente pubescente, de 4 a 6 mm de largo, aguda o recta en el ápice. Las semillas (**Figura 5**) de ± 4 mm de largo, oval lanceoladas son de color marrón brillante y se encuentran envueltas por una pequeña cáscara ⁽⁶⁹⁾.

5.6.2. Distribución

En México se encuentra en los estados de Sinaloa, Durango, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León ⁽⁷⁰⁾. Villaseñor y Espinosa (1998) ⁽⁷¹⁾ la citan también para Baja California Norte, Chiapas, Distrito Federal, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Yucatán ^(72,73) (**Figura 6**).

5.6.3. Usos medicinales:

En algunos estudios, la semilla de *P. canariensis* ha sido reportada como agente diurético ⁽⁷⁴⁾, hipotensor ⁽⁷⁵⁻⁷⁸⁾ hipocolesteremiante ⁽⁷⁹⁾ y antidiabético ^(79,80). En el Distrito Federal y Tlaxcala se emplea contra la presión alta preparada como cocimiento con los frutos que se cuele y se toma por una semana, como agua de tiempo sin endulzar ⁽⁷⁰⁾. Recientemente se ha reportado, en Tabasco, el uso de un licuado de las semillas de alpiste para el tratamiento de la obesidad ⁽⁸¹⁾.



Figura 5. Imagen fotográfica de la semilla de *Phalaris canariensis* L. Fotografía tomada por el Dr. Miguel Ángel Contreras (24 de febrero de 2011).

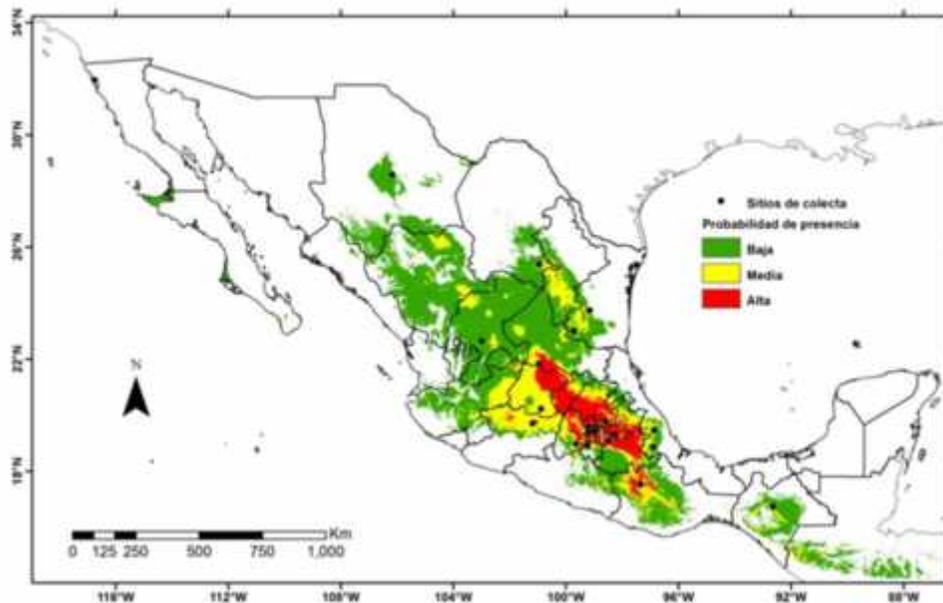


Figura 6. Distribución actual de *Phalaris canariensis* en México. Fuente: Zita, PG. Resistencia de malas hierbas a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa. Edafología y Química Agrícola, Universidad de Córdoba. Córdoba : Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, 2012. p. 208, Tesis.

5.6.4. Estudios farmacológicos:

Ribeiro et al (1986)⁽⁷⁸⁾ reportó la actividad hipotensora de un extracto agua: etanol (50:50) de las semillas de *P. canariensis* en ratas hipertensas espontáneas (SHR) y en ratas Wistar normotensas conscientemente (17). Posteriormente Balbi et al (2008)⁽⁷⁷⁾ señala que el efecto hipotensor observado en su estudio realizado en ratas Wistar macho normotensas anestesiadas, no depende de la excreción renal de agua y sal. Recientemente Dos Santos Passos et al (2012)⁽⁹⁾ reportó el efecto antihipertensivo de un extracto acuoso de las semillas de *P. canariensis* en ratas consientes Wistar adulto normotensas, SHR y SHR jóvenes (prehipertensas) y señala que el tratamiento con este extracto no provocó cambios en la función renal, la diuresis, ni la excreción de Na⁺ y señalan que la actividad antihipertensiva de este extracto puede deberse a una

supresión del tono simpático de estos animales causado por el triptófano presente en las semillas.

Novas et al (2004) ⁽⁸³⁾ reportó que la infusión de las semillas de *P. canariensis* presenta una actividad antioxidante similar a la del ácido ascórbico.

Estrada-Salas et al (2014) ⁽⁸⁾ reportó que los péptidos contenidos en las semillas de *P. canariensis* tienen una actividad inhibitoria sobre la dipeptidil peptidasa IV (DPPVI) y la enzima convertidora de angiotensina (ECA), enzimas que pueden ser blancos para el tratamiento de la diabetes y la hipertensión.

Magnuson et al (2014) ⁽⁸⁴⁾ demostró la seguridad del consumo de las semillas de *P. canariensis* como parte de la dieta en ratas Wistar macho y hembra y apoya el uso de las semillas de alpiste como un cereal para alimento.

Pérez et al (2014) ⁽²⁾ reportó la actividad antiobesidad, hipotrigliceridemiante, antioxidante e hipoglucemiante de un extracto hexánico de las semillas de *P. canariensis* en ratones CD1 con obesidad inducida por una dieta alta en grasas y ratones con diabetes moderada y severa inducida por estreptozotosina.

5.6.5. Estudios químicos y nutricionales

Químicamente se ha señalado que las semillas de *P. canariensis* son un cereal con potencial para el consumo humano por poseer una composición única cuando se le compara con otros cereales como el trigo, el maíz y la soya. Esto se debe a que presenta alto contenido de grasas crudas, aminoácidos esenciales (principalmente triptófano, cisteína y arginina) ⁽⁶⁵⁾, carotenoides (principalmente luteína, zexantina y beta-caroteno) ⁽⁸⁴⁾ y ácidos fenólicos (principalmente ácido

ferúlico, ácido caféico y ácido *p*-cumárico) ⁽²⁾, además de tener un bajo contenido de grasas saturadas, fibras y azúcares solubles ⁽⁸⁵⁾.

Se carece de estudios fitoquímicos dirigidos para buscar principios activos de la semilla de *P. canariensis*. Sin embargo, diversos estudios se han realizado para determinar la composición química nutricional del alpiste. Entre los estudios químicos más importantes se encuentra el realizado por el “Department of Plant Sciences, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada” ⁽⁸⁶⁾, en el cual, el análisis fitoquímico mostró similitud con el trigo. Los nutrientes como el almidón, proteínas (aminoácidos), ácidos grasos insaturados y fibras, mostraron potencial utilización para productos alimenticios y no alimenticios. Los alcaloides y otros “antinutrientes” no parecen estar presentes o no fueron detectados.

5.6.6.1. Macronutrientes

La concentración de proteínas para *P. canariensis* es de 18.7 %. Estos valores proteicos son superiores a los encontrados en la avena (13.8-22.5 %) ⁽⁶⁶⁾. El nivel de proteína para la semilla es más alto que los niveles en otros cereales, como el amaranto (16,8% N x 5,85) ⁽⁶⁷⁾, trigo sarraceno (12.5% N x 5.7), arroz integral (7.9% N x 6.25) y quinoa (14.5% X 5.96) ⁽⁶⁸⁾. La semilla tiene un mayor contenido de grasa cruda (8.7 %) en comparación con el trigo y la cebada (2,31%), el mijo (4.22%), el centeno (2.53%) y el sorgo (3.32%) ⁽⁸⁷⁾. El contenido de grasa cruda en la semilla de alpiste es muy similar al de avena (3.1-11.6%), quinoa (5.01-5.95%) y amaranto (6.56-10.3%), pero superior al trigo sarraceno (2.4-2.8%) ⁽⁸⁸⁾ y al arroz (2,9%) ⁽⁸⁹⁾. El contenido de cenizas en los granos es de 2.1 %. Este rango es comparable al contenido de cenizas encontrado en otros cereales comunes, como el maíz de campo (1.1-3.9%) ⁽⁹⁰⁾ y pseudocereales como la quinoa (2.4-3.3%) ⁽⁸⁸⁾. El almidón tiene cristales tipo A, características de la mayoría de los almidones de cereales con un alto grado de cristalinidad ⁽¹⁾. El contenido de amilosa (16.2-19.5%)

en el almidón, es menor que el trigo (22.7%) y el maíz (24,5%), pero dentro del rango de las líneas de la quinoa (3-20%) ⁽⁹¹⁾.

Cuadro I. Composición nutrimental de *P. canariensis*.

Macronutrientes ⁽⁷⁾	g/100g
Proteína (Nx 5.7)	18.7
Carbohidratos	65.0
Almidón	61.0
Fibra dietética total	6.0
Grasa cruda	8.7
Azúcares solubles	1.7
Cenizas totales	2.1

5.6.6.2. Fibra

En comparación con otros cereales, el alpiste contiene menos fibra dietética total (6.0 %), siendo la mayoría insoluble y menos del 1% soluble ⁽¹⁾. La semilla tiene un contenido de fibra dietética similar al alforfón (~7 %) ⁽⁸⁸⁾, menor que la quinoa (12,88 %) y amaranto (11,14 %) y, similar al arroz integral (3.5-4.6%) ⁽⁸⁹⁾.

Cuadro II. Composición de la fibra de *P. canariensis*.

Fibra ⁽⁷⁾	g/100g
Fibra soluble	0.9
Fibra insoluble	5.1
Fibra total	6.0

5.6.6.3. Azúcares solubles

Los cereales contienen pequeñas cantidades de azúcares libres: trigo (1-2%), cebada (2-3%), maíz (1-3%), avena (1-2%) y centeno (~3%)⁹⁹. Los azúcares libres varían entre los granos de cereales, con predominio de sacarosa, glucosa y fructosa. Se han reportado otros azúcares en cereales incluyendo rafinosa, estaquiosa y arabinosa. Los granos de alpiste contienen 1.75 % de azúcares solubles. Los azúcares libres individuales presentes en la semilla de alpiste son de 0.83 % de sacarosa, 0.07 % de fructosa y 0.06 % de glucosa. La sacarosa es el azúcar predominante. También se detectó arabinosa, pero no maltosa ⁽¹⁾.

Cuadro III. Azúcares solubles presentes en *P. canariensis*.

Azúcares solubles ⁽⁷⁾	g/100g
Arabinosa	0.04
Fructosa	0.07
Glucosa	0.06
Maltosa	No detectado
Sacarosa	0.83
Desconocidos	0.79
Azúcares totales	1.75

5.6.6.4. Minerales

Los cereales constituyen una importante fuente dietética de minerales y oligoelementos. Los cereales en una dieta occidental típica contribuyen con el 50 % de manganeso y hierro, ~30 % de cobre y magnesio y con ~20 % de zinc y fósforo ⁽⁹³⁾.

Existen diferencias sustanciales en las concentraciones de micronutrientes en los cereales dependiendo del tipo de grano, genotipo, condiciones de cultivo y fertilizante empleado ⁽⁹⁴⁾. En el

trigo el hierro, zinc, cobre y manganeso son bajos. Los valores obtenidos para P, S, Mg, Ca, Fe, Mn y Zn son comparables a los reportados en la literatura con los de trigo, excede a la avena y cebada en contenido de fósforo, magnesio y hierro, pero tiene un contenido mineral más bajo que el amaranto (3.25 %) y más alto que el trigo sarraceno (1.37-1.67 %) ^(88,89).

Cuadro IV. Minerales presentes en *P. canariensis*.

Minerales ⁽⁹⁵⁾	mg/100g
Calcio	40
Hierro	6.5
Magnesio	200
Fósforo	640
Potasio	385
Sodio	10
Zinc	3.9
Cobre	0.2
Manganeso	6.3
Azufre	305
Selenio	0.2

5.6.6.5. Ácidos Grasos

En la semilla de alpiste el ácido palmítico está presente en niveles más bajos (~11.95 %) con respecto al trigo (~16%), u otras variedades de trigo (17-24%), cebada (19-28%) y centeno (12-19%) ⁽⁸⁷⁾.

La semilla presenta un nivel relativamente más alto de ácido oleico (~30.93 %) que otros cereales como el trigo (8-21 %), cebada (9-17 %) y centeno (12-17 %) o muy similar a la avena (22-39%) ⁽⁹⁶⁾ y trigo sarraceno (37 %) ⁽⁹⁷⁾. El ácido linoleico es el principal ácido graso en el aceite de alpiste

~ 51.07 % del total de ácidos grasos, similar si se compara con el 61 % en el aceite de trigo. La semilla contiene aproximadamente el ~ 88.23 % de ácidos grasos insaturados, de los cuales el ~32.92 % es monoinsaturado y el ~55.31% son ácidos grasos poliinsaturados. La semilla tiene una mayor proporción de grasas insaturadas a saturadas (~88:13) comparada con el trigo, la cebada y la avena (todas alrededor de 75:25), pero contiene un porcentaje menor de ácidos grasos poliinsaturados (~55 %) que el trigo (~66 %) y cebada (~60 %) pero, más que la avena (~48%). Se ha encontrado que la semilla tiene propiedades antioxidantes para las grasas y aceites debido a la presencia de ésteres de ácido cafeico y fitoesteroles ⁽⁸³⁾.

Cuadro V. Ácidos grasos presentes en *P. canariensis*.

Ácidos grasos ⁽¹⁾	g/100g (% aceite total)
Mirístico (C14)	0.01 (0.18)
Palmitico (C16)	0.66 (11.95)
Hexadecanoico (C16:1)	0.01 (0.16)
Margárico (C17)	0.002 (0.05)
Esteárico (C18)	0.07 (1.29)
Oleico n-9 (C18:1)	1.72 (30.93)
Octadecanoico (C18:1)	0.04 (0.71)
Linoleico n-6 (C18:2)	2.85 (51.07)
-Linolénico n-3 (C18:3)	0.12 (2.21)
Araquidonico (C20)	0.007 (0.13)
Eicosanoico (C20:1)	0.05 (0.97)
Eicosanoico n-6 (C20:2)	0.002 (0.03)
Behenico (C22)	0.003 (0.05)
Erucico n-9 (C22:10)	0.01 (0.11)
Lignocerico (C24)	0.003 (0.05)
Nervónico n-9 (C24:1)	0.003 (0.05)

Continúa...	
Otros	0.005 (0.09)
Total de ácidos grasos saturados	0.76 (13.7)
Total de ácidos grasos monoinsaturados	1.84 (32.92)
Total de ácidos grasos poliinsaturados	3.09 (55.31)
Total de omega 3	0.12 (2.21)
Total de omega 6	2.86 (51.1)
Total de omega 9	1.79 (32.09)

5.6.6.6. Aminoácidos

En comparación con otros cereales, las proteínas de la semilla de alpiste tienen un mayor contenido de triptófano, fenilalanina, cisteína y arginina. El triptófano es de importancia nutricional, ya que es un precursor de importantes metabolitos como la serotonina y la nicotinamida ⁽⁹⁸⁾. Los niveles de triptófano reportados (todos como g aminoácidos/100 g de proteína) es mayor en el alpiste con respecto al trigo, 1.16; quinoa, 1.14; sorgo, 1.1; avena, 0.97; mijo perla, 0.97; cebada, 0.96; centeno 0.82 y maíz, 0.49.

Cuadro VI. Aminoácidos presentes en *P. canariensis*.

Aminoácidos ⁽¹⁾	g/100g de proteína
Alanina	4.1
Arginina	6.9
Ácido aspártico	4.4
Cisteína	3.3
Ácido glutámico	30.6
Glicina	3.0
Histidina	1.8
Isoleucina	3.5

Continúa...	
Leucina	7.0
Lisina	1.3
Metionina	1.4
Fenilalanina	6.7
Prolina	5.4
Serina	4.2
Treonina	2.7
Triptófano	2.8
Tirosina	3.2
Valina	4.6

5.6.6.7. Vitaminas

El contenido de tiamina en la semilla de alpiste (~0.65 mg/100 g db) es casi el doble que el del trigo CWRS (0,4 mg / 100 g db), siendo los niveles de riboflavina muy similares (~0,09 mg/100 g db). Sin embargo, el contenido de niacina es de ~1,2 mg/100 g db) el cual, es significativamente menor al del trigo CWRS (7,3 mg/100 mg db). Los niveles medidos de piridoxina son de ~0.16 mg/100 g (db) ⁽⁹⁴⁾.

Cuadro VII. Vitaminas presentes en *P. canariensis*.

Vitaminas ⁽⁹⁵⁾	mg/100g
Niacina (B3)	1.2
Tiamina (B1)	0.65
Riboflavina (B2)	0.09
Piridoxina (B6)	0.16

5.6.6.8. Esteroles y tocoferoles

Los derivados de tocol (tocoferoles y tocotrienoles) son responsables de la actividad de la vitamina E en los tejidos vegetales, varias combinaciones de los ocho derivados del tocol han sido encontrados entre los granos de los cereales ⁽⁸⁷⁾.

Los granos de la semilla de alpiste tienen el mismo perfil de esteroles que otros cereales comunes, el β -sitosterol es el esteroles primario ~ 41,5 a 43% de los esteroles totales de la semilla, seguido de campesterol y estigmasterol. Sin embargo, el rango de esteroles totales es similar a la avena (0.35-0.49 mg/g dm) ⁽⁹⁹⁾ pero menor que el encontrado en el trigo (0,67 - 0,96 mg/g dm) ⁽¹⁰⁰⁾ y la cebada (0,89-1,1 mg/g dm) ⁽¹⁰¹⁾.

Cuadro VIII. Esteroles y tocoferoles presentes en *P. canariensis*.

Esteroles ⁽¹⁰²⁾ y tocoferoles ⁽⁹⁵⁾	mg/100g
-Tocoferol	0.51
-Tocoferol	1.98
Campesterol	181.00
Estigmasterol	17.03
-Sitosterol	326.00
Otros esteroles	237.00

5.6.6.9. Antinutrientes

El fitato (ácido fítico y sus sales) se encuentra en el cotiledón de leguminosas y semillas oleaginosas o en el salvado de los granos ⁽¹⁰³⁾. Se considera un antinutriente debido a su papel en la quelación de minerales como el calcio y el zinc en el cuerpo humano. Por otro lado, se ha reportado que el fitato tiene algunos efectos beneficiosos potenciales, como su capacidad para disminuir la glucosa en la sangre y su papel en la reducción del colesterol plasmático y

triacilgliceroles y el riesgo de cáncer ⁽¹⁰⁴⁾. El contenido de fitato en los cereales según lo informado es 2,4-10,5 mg/g en trigo, 8,5-11.8 mg / g en la cebada y, 9.0-14.2 g / mg en la avena ⁽¹⁰⁵⁾.

Los compuestos fenólicos están presentes en una variedad de formas químicas en las plantas, tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes debido a su astringencia y a su papel en la reducción de la disponibilidad de ciertos minerales y aminoácidos. Por el contrario, los compuestos fenólicos tienen actividad antioxidante, que controla la oxidación de los lípidos ⁽¹⁰⁶⁾.

En los diversos análisis a la semilla de alpiste no se han detectado taninos condensados (proantocianidinas) ⁽¹⁰⁷⁾.

Cuadro IX. Composición de antinutrientes de *P. canariensis*.

Antinutrientes ⁽¹⁰⁸⁾	mg/g
Fitato	18.8
Fenoles totales	0.87
Taninos condensados	No Detectado

5.6.6.10. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos predominantes en el alpiste son ferúlico, caféico, sinápico y p-cumárico ⁽¹⁰⁹⁾.

El ácido ferúlico es el ácido fenólico predominante en el trigo y también en la cebada ⁽¹⁰⁶⁾.

Cuadro X. Ácidos fenólicos presentes en *P. canariensis*.

	Ácidos fenólicos ⁽¹⁰⁷⁾ mg/100g		
	Solubles libres	Solubles	Insolubles
Protocatechuico	ND	ND	ND
Vainílico	ND	0.18	0.31
Caféico	ND	0.17	ND
Siríngico	ND	0.22	ND

Continúa...			
p-Coumarico	0.15	0.39	5.3
Ferúlico	0.26	1.46	29.71
Sinápico	0.54	0.7	4.82
Total	0.95	3.12	40.14

5.6.6.11. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y que pueden ser potencialmente tóxicos. Se encuentran en algunas especies y familias de plantas superiores, particularmente en leguminosas como subproductos del metabolismo vegetal, como reservorio para la síntesis de proteínas o como protección. No ha habido informes de alcaloides en las semillas (grano/grañones) del alpiste, así como en estudios realizados a las especies de *Phalaris*. (su determinación se ha restringido totalmente al análisis del material foliar) ^(109,110).

Cuadro XI. Determinación del contenido de alcaloides en *P. canariensis*.

Alcaloides ⁽⁸⁸⁾	
Hordadina	No Encontrado
Gramina	No Encontrado
Triptamina	No Encontrado
-Carbolinas	No Encontrado

5.6.6.12. Glucósidos cianogénicos

Si la planta sufre heladas o sequía, se forma durrina, un glucósido que se descompone formando ácido prúsico, que es tóxico; cuando la planta se recupera los niveles desaparecen. En la semilla de alpiste no ha sido encontrado.

Cuadro XII. Determinación del contenido de glucósidos ciaogénicos en *P. canariensis*.

Glucósidos ciaogénicos ⁽⁸⁶⁾	
Durrina	No Encontrado

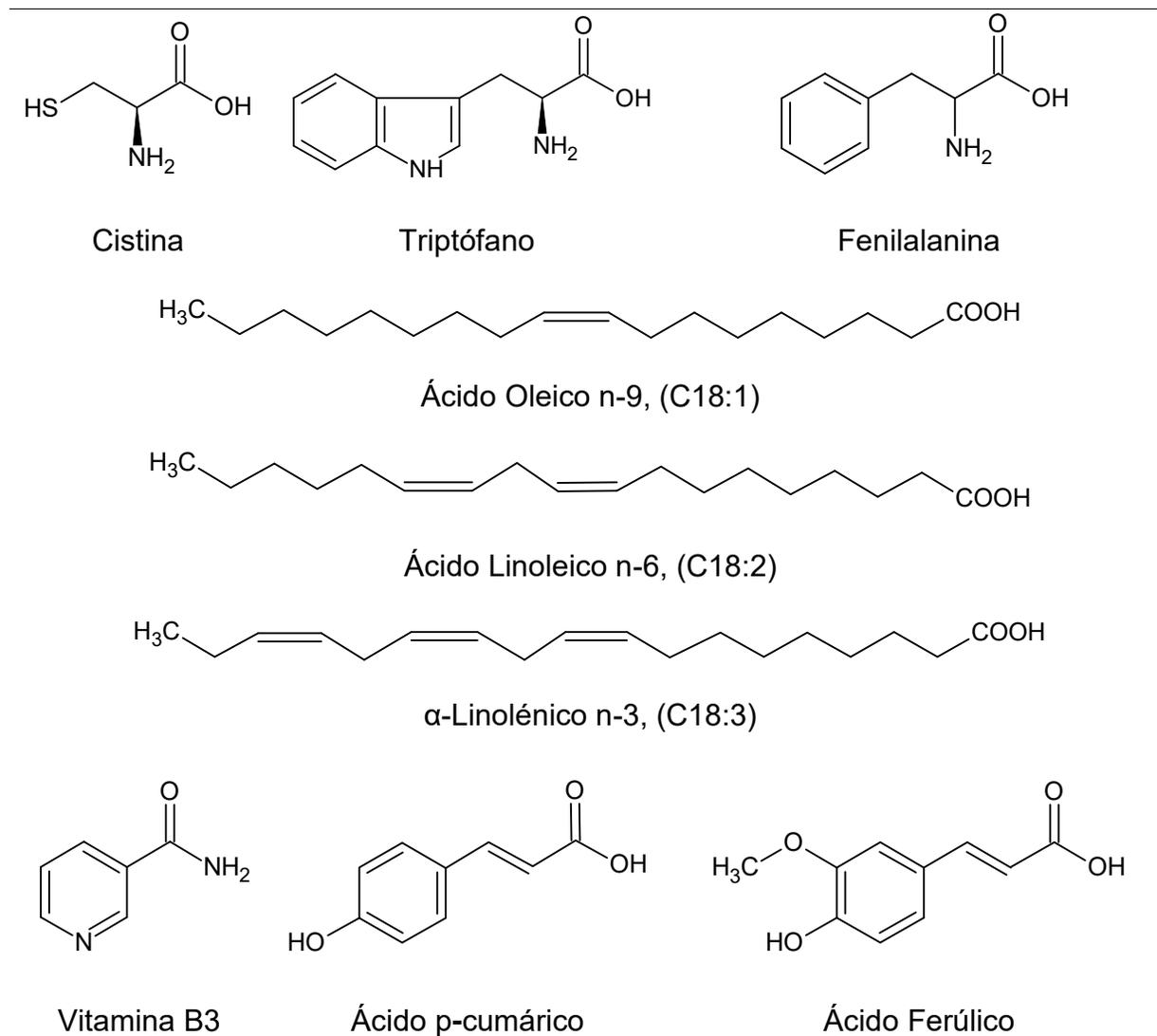
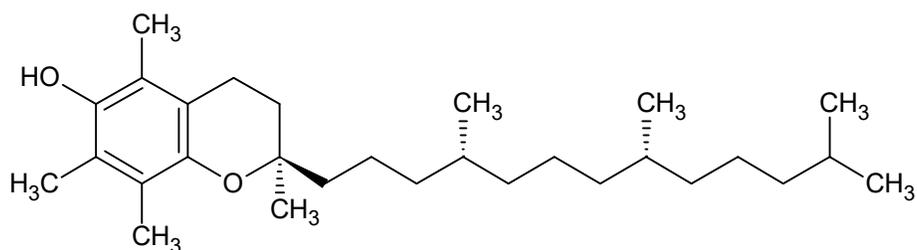
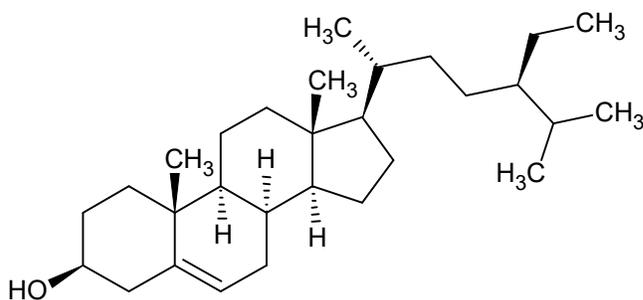


Fig. 7. Estructura de algunos de los componentes más abundantes en las semillas de *P. canariensis*.

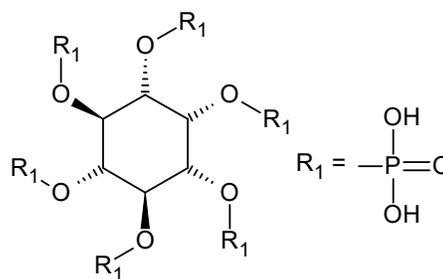
Continúa...



α -tocoferol



B-Sitosterol



Ácido Fítico

Fig. 7. Estructura de algunos de los componentes más abundantes en las semillas de *P. canariensis*.

5. METODOLOGÍA

6.1. Material

Se utilizó una formulación comercial de fructosa cristalina en polvo (Archer Daniels Midland Company, EE.UU.). Las semillas de *P. canariensis* fueron compradas en el mercado de Sonora de la Ciudad de México. Los cortes histológicos de la semilla mostraron la ausencia de espículas en las glumas (palea y lemma), indicando que el material utilizado fue *P. canariensis*

(Anexo B). Los kits para la determinación de los TG séricos, HDL-C y glucosa fueron suministrados por Polymer Technology Systems®. Todos los productos químicos utilizados en el estudio fueron de alta pureza, con grado analítico, obtenidos de Sigma y Merck.

6.2. Preparación del extracto

Un total de 100 g de semillas de *P. canariensis* se maceraron en agua bidestilada a temperatura ambiente (20-22 °C) durante 8 h. El macerado se licuó y se filtró a través de un filtro de malla media de plástico. El filtrado se secó a temperatura ambiente con ventilación constante durante 6 h. El residuo seco se pulverizó hasta un tamaño de partícula capaz de pasar a través de una malla de 60 micrómetros, produciendo el extracto acuoso completo (rendimiento = 35%). Una parte de este extracto “*bruto*” (10 g) se fraccionó con hexano. Se obtuvieron dos fracciones de este proceso: la parte soluble (3,58%) y la parte insoluble en hexano (96%). El último extracto se filtró y concentró mediante un evaporador rotatorio al vacío y se mantuvo en un desecador con vacío para la eliminación completa del hexano.

6.3. Animales

El estudio se realizó en ratas Wistar macho, de 90 días de edad. Todos los animales fueron estudiados en el bioterio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM por personal capacitado, alojados en jaulas de alambre (3 por jaula), mantenidos a una temperatura entre 21-23 °C, humedad del 60%, con un ciclo de 12-h luz / 12-h oscuridad y, con alimento en pellets (Purina 5001 Roedor Laboratorio Chow) y agua del grifo *ad libitum* durante tres semanas para que pudieran adaptarse al ambiente de laboratorio antes de los experimentos. Los experimentos reportados en este estudio fueron realizados de acuerdo con las Normas Federales de Experimentación y Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999 y NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002) y las guías internacionales oficiales (Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, publicación NIH 85-23, revisada en 1985).

6.4. Inducción del síndrome metabólico

Con el fin de determinar la concentración y el tiempo de consumo de fructosa necesarios para inducir el SM, en una primera serie de experimentos, 40 animales fueron asignados aleatoriamente en los siguientes cuatro grupos (10 ratas por grupo): tres grupos fueron alimentados con dietas experimentales adicionadas con fructosa, que consistieron en: 70%, 80% o 90% de pellets normales de Purina adicionados, respectivamente, con fructosa al 10%, 20% o 30%, más acceso libre al 10% (grupo 10SM), 20% (grupo 20SM) o 30% (grupo 30SM) de fructosa p/v en agua potable durante 12 semanas, para la inducción del SM. Las ratas del grupo testigo recibieron alimento de Purina sin fructosa añadida y agua potable normal.

6.5. Tratamiento del SM

En una segunda serie de experimentos, veinticuatro ratas con SM inducido después tres meses del consumo de fructosa al 10% en el alimento y el agua potable se dividieron aleatoriamente en los siguientes cuatro grupos (6 ratas por grupo): grupo testigo SM + SS: las ratas recibieron una dosis oral de 0,2 ml /100g/día de solución salina (SS); Grupo SM + Pc: las ratas recibieron una dosis oral de 310mg/kg/día del extracto acuoso completo de semillas de *P. canariensis*; grupo SM + sib: las ratas recibieron una dosis oral de 5mg/kg/día de sibutramina. Todos los tratamientos duraron 8 semanas, durante las cuales las ratas fueron alimentadas con la misma dieta utilizada para inducir el SM. Grupo de no-SM: las ratas recibieron alimento de Purina sin adición de fructosa y agua potable normal.

En una tercera serie de experimentos, veinticuatro ratas con SM inducido después tres meses del consumo de fructosa al 10% en el alimento y el agua potable se dividieron aleatoriamente en los siguientes 4 grupos (6 ratas por grupo): grupo testigo SM + SS: las ratas recibieron una dosis oral de 0,2ml/100g/día de SS; grupo SM + acuoso: las ratas recibieron una dosis oral de 310mg/kg/día de la fracción acuosa (parte insoluble en hexano) de las semillas de *P. canariensis*;

grupo, SM + Tween: las ratas recibieron una dosis oral de 0,2ml/100g/día de SS con 1% de Tween 80. Grupo SM + hex: las ratas recibieron una dosis oral de 310mg/kg/día de hexano (parte soluble en hexano). Todos los tratamientos duraron 8 semanas, durante las cuales las ratas fueron alimentadas con la misma dieta utilizada para inducir el SM. Grupo de no-SM (n=6): las ratas recibieron alimento de Purina sin adición de fructosa y agua potable normal.

6.6. Consumo

6.6.1. Consumo total de agua y alimento

Para obtener la cantidad total de agua y alimento consumidos por cada 100 g de PC, se restó a la cantidad colocada (150g de alimento y 400ml de agua) a la cantidad consumida para cada caja (consumo de tres animales) y, posteriormente, se calculó la cantidad de alimento consumido por cada 100gPC con la siguiente fórmula: $((100 * \text{la cantidad de alimento consumido por caja (g)}) / \text{la suma del peso corporal de los tres animales (g)})$.

6.6.2. Consumo energético (Kcal/ 100g PC)

El total de las Kcal consumidas se calculó como la suma de las Kcal aportadas por cada macronutriente. Para esto, en una primera fase, se calcularon, de acuerdo a la composición química de los pellets de Purina (77), las Kcal provenientes por: grasas, proteínas y carbohidratos diferentes de fructosa (glucosa, lactosa y la mitad de los provenientes de sacarosa, denominados "otros Ch") multiplicando la cantidad total consumida (g) por las Kcal aportadas por cada uno de estos macronutrientes; recordando que: las grasas aportan 9 Kcal/g y, tanto proteínas como carbohidratos, aportan 4 Kcal/g. En la segunda fase se calcularon las Kcal provenientes de la fructosa; las del alimento se calcularon como: la suma de los gramos de fructosa, más la mitad de los gramos de sacarosa, ambos contenidos en los pellets de Purina,

más los gramos de la fructosa adicionada tanto en el agua como en el alimento y se multiplicaron por 4 Kcal/g que aportan los carbohidratos.

6.7. Determinación de alteraciones metabólicas y clínicas

Se midió la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y media (PAM), la frecuencia cardiaca (FC); el índice de Lee (IL), la circunferencia abdominal (CA), el peso corporal (PC), los TGs, el HDL-C y la glucosa, cada mes, durante dos a tres meses consecutivos. Tanto el IL como la CA se determinaron en las ratas previamente anestesiadas con pentobarbital sódico (30mg/kg).

6.7.1. Medición de la presión sanguínea

El registro de la PAS se realizó por el método indirecto manteniendo a las ratas inmovilizadas en una trampa adecuada al tamaño de los animales, colocada en una cámara de calentamiento a 32 ± 2 °C (LE 5650/6). Los registros se llevaron a cabo por la mañana y se realizaron por triplicado a través de un transductor de pulso (LE 5160) colocado alrededor de la cola de la rata, el cual estaba conectado a un sensor conectado directamente a una computadora automática (LE 5007) para su registro.

6.7.2. Parámetros de obesidad

El peso de los animales despiertos se midió semanalmente por la mañana, con una balanza digital con capacidad de 2000g (EXCELL®). Al término de cada mes y posterior a la medición del peso, los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (30 mg/Kg) (Sigma–Aldrich. St. Louis, MO USA); una vez anestesiados se colocaron de cúbito dorsal y se midieron tanto la circunferencia abdominal, tomada 2 cm abajo del borde de las costillas, como la longitud de la punta del hocico al ano, ambas con una cinta métrica plastificada suave (Mariposa ®). Posteriormente se calculó el índice de Lee (IL) de acuerdo a la siguiente fórmula: $IL = (\sqrt[3]{p}) / L_{na}$; dónde $\sqrt[3]{p}$ = raíz cúbica, p= peso (g) y L_{na} longitud naso-anal (cm) ⁽¹¹¹⁾.

6.7.3. Química sanguínea

Para determinar los valores sanguíneos de triglicéridos, HDL-C y glucosa se utilizaron colectores capilares de 40 μ L, tiras reactiva para panel metabólico (REF 2400) y un analizador CardioChek P. A (Polymer Technology Systems ®). La sangre se obtuvo de la vena caudal de los animales a la misma hora por la mañana y una hora después de retirar el alimento.

6.8. Análisis estadístico

Los experimentos para inducir el síndrome metabólico se llevaron a cabo diez veces, y los otros experimentos se llevaron a cabo seis veces. Los resultados se presentan como el valor medio \pm el error estándar de la mediana. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism 7 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EE.UU.). Para las comparaciones múltiples, se realizó una ANOVA de una vía seguido por una prueba de Dunnett ($p < 0,05$) para detectar diferencias estadísticamente significativas.

6. RESULTADOS

7.1 Inducción de síndrome metabólico en ratas Wistar

Los indicadores del SM para la primera serie de experimentos se muestran en las Figuras 8 y 9. En todos los grupos (10MS, 20MS y 30MS), el consumo de fructosa adicional aumentó significativamente los TGs y los tres indicadores clínicos: relación peso/ longitud (IL), CA y la PAS ($p < 0,05$, $p < 0,005$). Este perfil del SM fue muy consistente a los 60 y 90 días.

Se observó un aumento significativo en los niveles de TG en todos los grupos después de los 30 días de consumo de fructosa. Se observaron diferencias inconsistentes en los niveles de HDL-C (10MS) y glucosa (30MS) entre el grupo testigo y los grupos alimentados con fructosa. Con base en esta primera serie de experimentos, se consideró que, en ratas adultas, una dieta adicionada

con 10% de fructosa en el agua potable y el mismo porcentaje en el alimento, durante 90 días, era un protocolo apropiado para el resto de los experimentos descritos en este trabajo.

Los cambios en el consumo de agua, alimento, kilocalorías totales y consumo de fructosa total adicionada tanto al agua de beber como al alimento, debidos al consumo de las dietas adicionadas con fructosa se muestran en las Figuras 10, 11 y 12. En todos los grupos (10MS, 20MS y 30MS), el consumo de agua y alimento varió durante todo el experimento, manteniendose significativamente diferente al grupo testigo, al tercer mes. El consumo de kilocalorías totales varió durante todo el experimento hasta ser similar, en todos los grupos, respecto al grupo control, al tercer mes (representando, en promedio, el 76.05% \pm 0.09, del consumo kilocalórico total al inicio); el consumo de fructosa proveniente del agua y el alimento, aumentó significativamente en todos los grupos desde el primer mes de tratamiento.

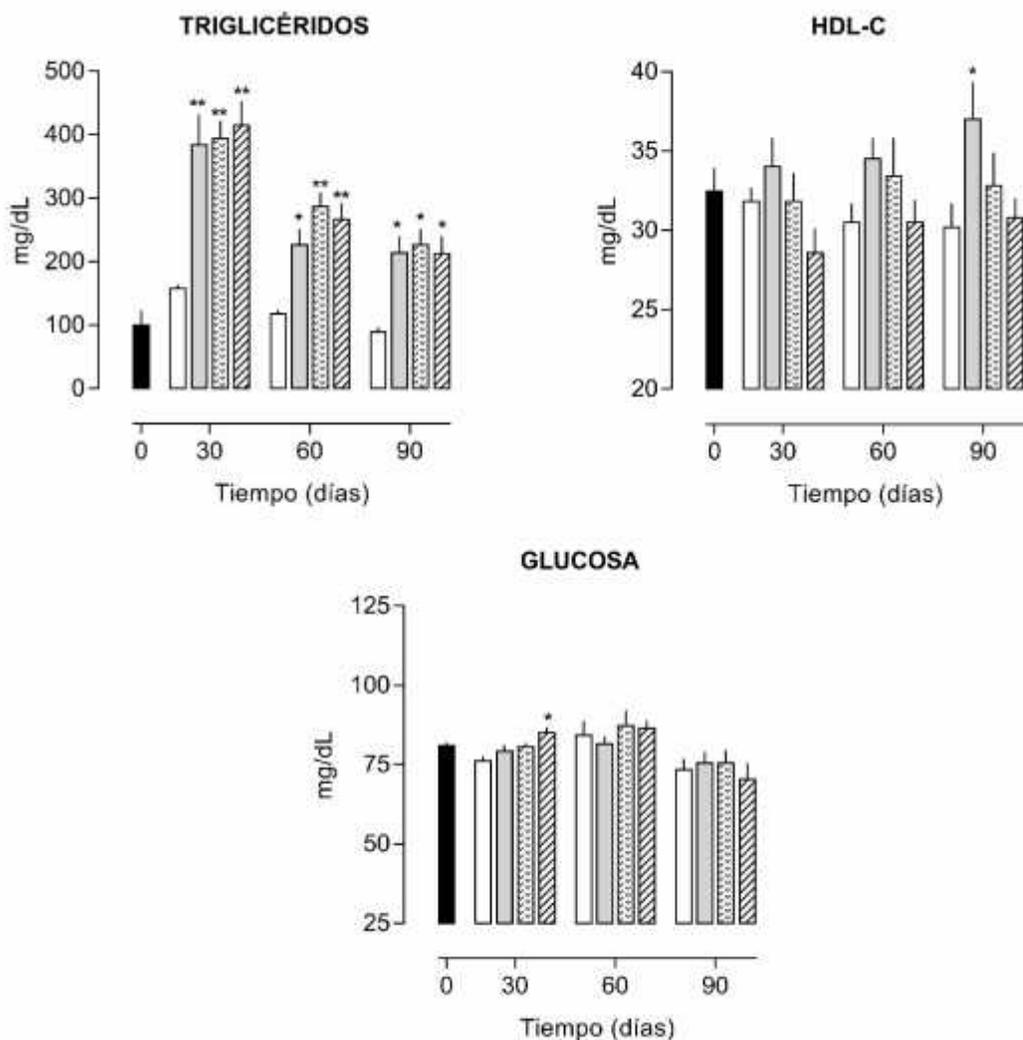


Fig 8. Efecto de la administración de 10% (□ 10SM), 20% (▤ 20SM), y 30% (▨ 30SM) de fructosa sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa. La fructosa fue adicionada al alimento y al agua en el mismo porcentaje. Estos indicadores fueron determinados al tiempo cero (■, n=40^a) y, posteriormente, ya formados los grupos (10 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días del consumo de fructosa. En el grupo testigo (□), la fructosa no fue adicionada ni al alimento ni al agua de beber. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, ** = p<0.005, el nivel de significancia fue comparado con el grupo testigo correspondiente. ^aEl tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

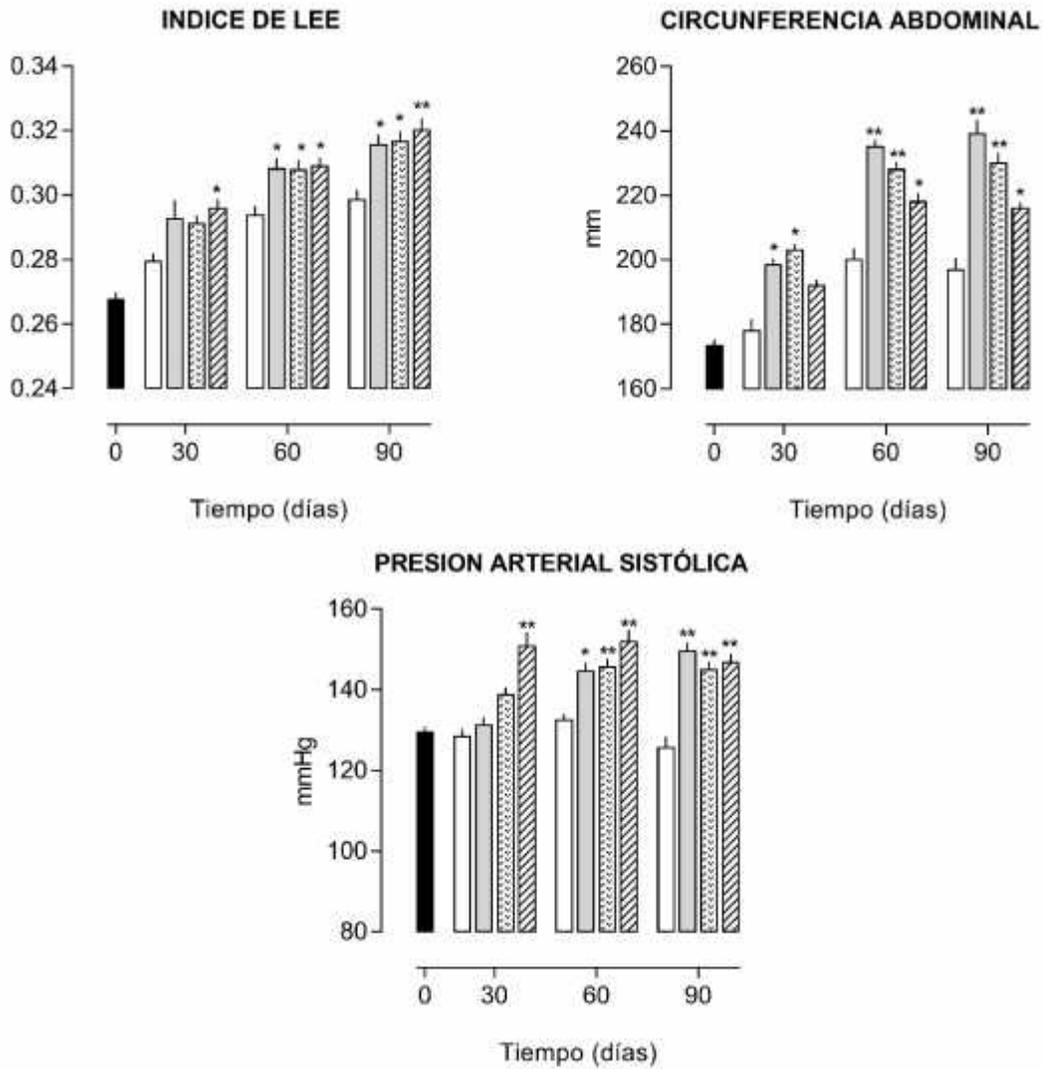


Fig 9. Efecto de la administración de 10% (■ 10SM), 20% (▨ 20MS), y 30% (▩ 30SM) de fructosa sobre los valores de IL, CA y la PAS. La fructosa fue adicionada al alimento y al agua de beber en el mismo porcentaje. Estos indicadores fueron medidos al tiempo cero (■, n=40^a) y posteriormente, ya formados los grupos (10 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días del consumo de fructosa. En el grupo testigo (□), la fructosa no fue adicionada ni al alimento ni al agua de beber. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, ** = p<0.005, el nivel de significancia fue comparado con el grupo testigo correspondiente.
^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

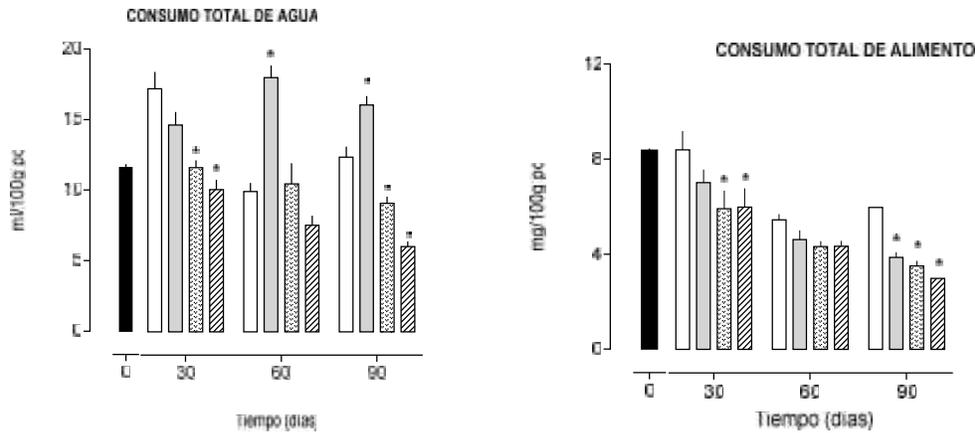


Fig 10. Efecto de la administración de 10% (10SM), 20% (20MS), y 30% (30SM) de fructosa sobre el consumo total de agua y alimento. La fructosa fue adicionada al alimento y al agua de beber en el mismo porcentaje. El consumo fue medido al tiempo cero (n=40^a) y, posteriormente, ya formados los grupos (10 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días del consumo de fructosa. En el grupo testigo (Control), la fructosa no fue adicionada ni al alimento ni al agua de beber. Cada barra representa la media \pm SEM. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.005$, el nivel de significancia fue comparado con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

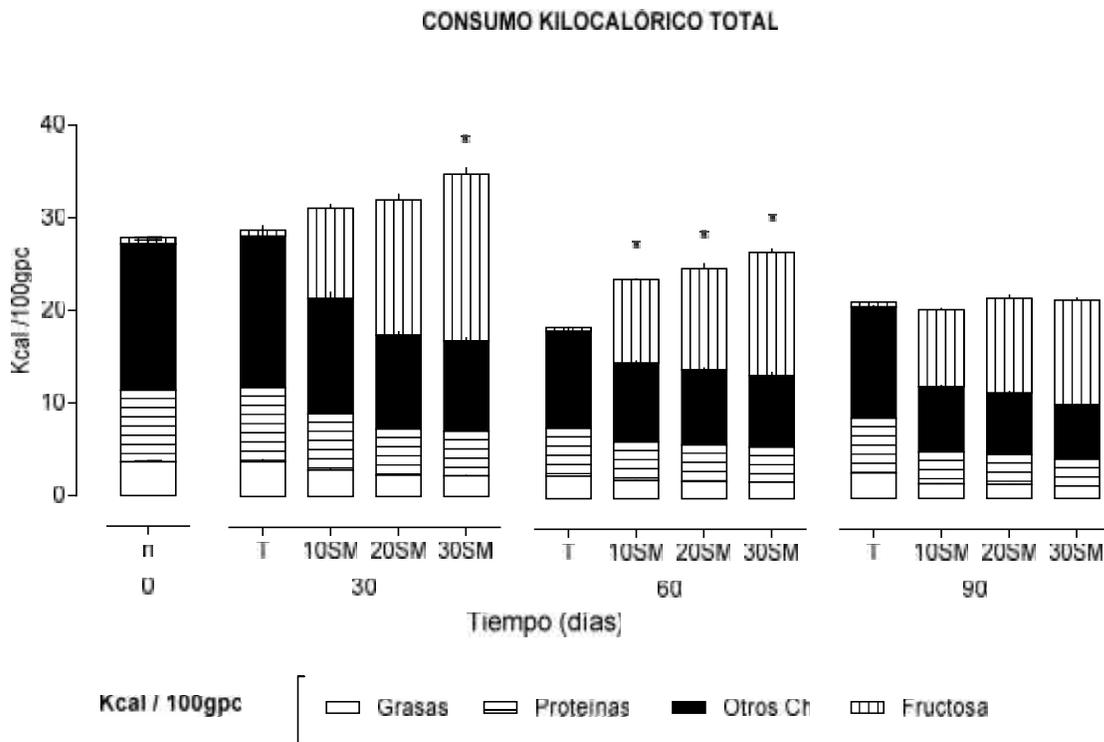


Fig 11. Efecto de la administración de 10% (10SM), 20% (20MS), y 30% (30SM) de fructosa sobre el consumo kilocalórico total. La fructosa fue adicionada al alimento y al agua de beber en el mismo porcentaje. Estos indicadores fueron medidos al tiempo cero (n=40^a) y, posteriormente, ya formados los grupos (10 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días del consumo de fructosa. En el grupo testigo (Control), la fructosa no fue adicionada ni al alimento ni al agua de beber. Cada barra representa la media de las kilocalorías totales \pm SEM. * = $p < 0.05$, el nivel de significancia fue comparado con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

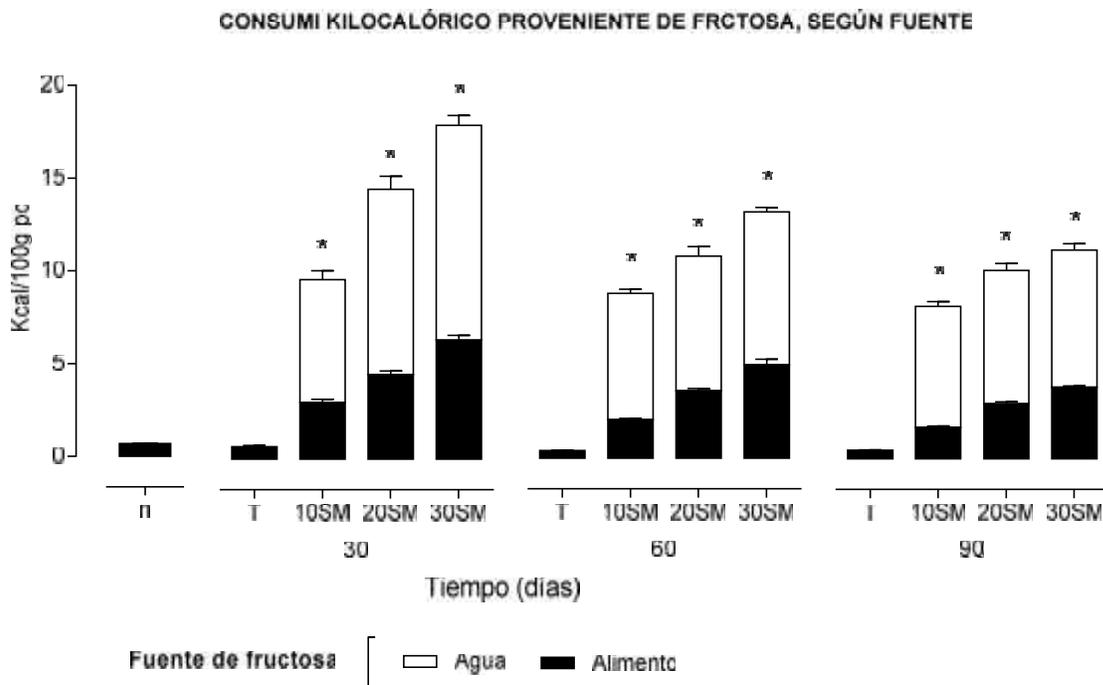


Fig 12. Efecto de la administración de 10% (10SM), 20% (20MS), y 30% (30SM) de fructosa, sobre el consumo kilocalórico proveniente de este azúcar, adicionado tanto al alimento (■) como al agua de beber (□) en el mismo porcentaje. Estos indicadores fueron medidos al tiempo cero (grupo n, n=40^a) y, posteriormente, ya formados los grupos (10 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días del consumo de fructosa. En el grupo testigo (T), la fructosa no fue adicionada ni al alimento ni al agua de beber. Cada barra representa la media de las kilocalorías totales consumidas por fructosa, según la fuente, ± SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia fue comparado con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

7.2. Tratamiento del síndrome metabólico

Los cambios en las manifestaciones clínicas, debidos a la administración oral de SS (2 ml / 100 g / día), sibutramina (5 mg / kg / día) o del extracto acuoso completo de semillas de *P. canariensis* (310 mg / kg / día), en ratas con SM inducido por una dieta adicionada con fructosa al 10%, durante 90 días, se resumen en las Figuras 13 y 14.

Los resultados de esta segunda serie de experimentos muestran que la administración oral del extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* (grupo SM + Pc), a una dosis de 310mg/kg/día, en ratas con SM, durante 60 días, redujo significativamente (p <0,05, p <0,005) los altos valores registrados en el IL, CA, TGs y PAS, mientras que, en comparación con el grupo testigo (SM + SS), no se observaron efectos para el HDL-C ni para la glucosa.

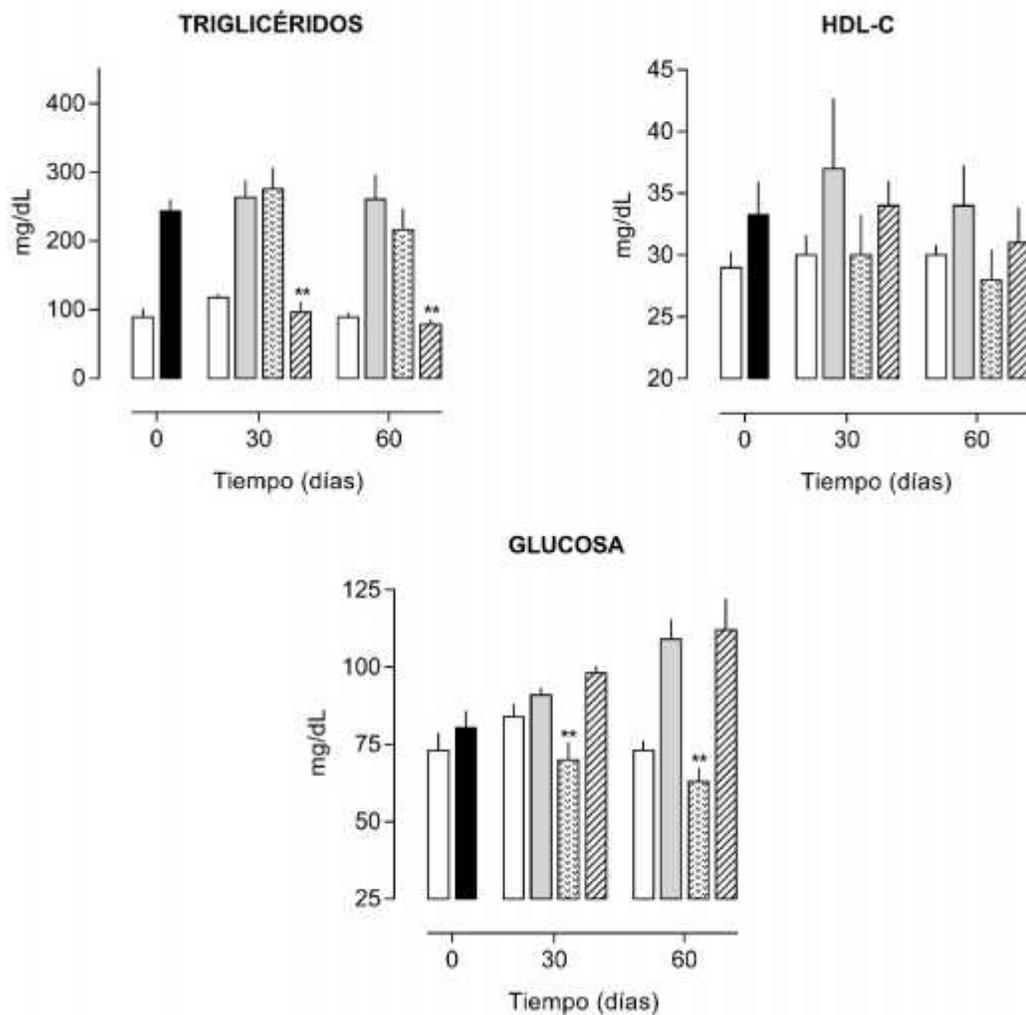


Fig 13. Efecto de la administración de solución salina (▒ grupo SM + SS), sibutramina (▤ grupo SM + sib), o el extracto completo de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo SM + Pc), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los niveles de TG, HDL-C, y glucosa fueron determinados al tiempo cero (■, n=24^a) y posteriormente, ya formados los grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más la coadministración del tratamiento. En el grupo no-SM (□), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, ** = p<0.005 el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▒ grupo SM + SS). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

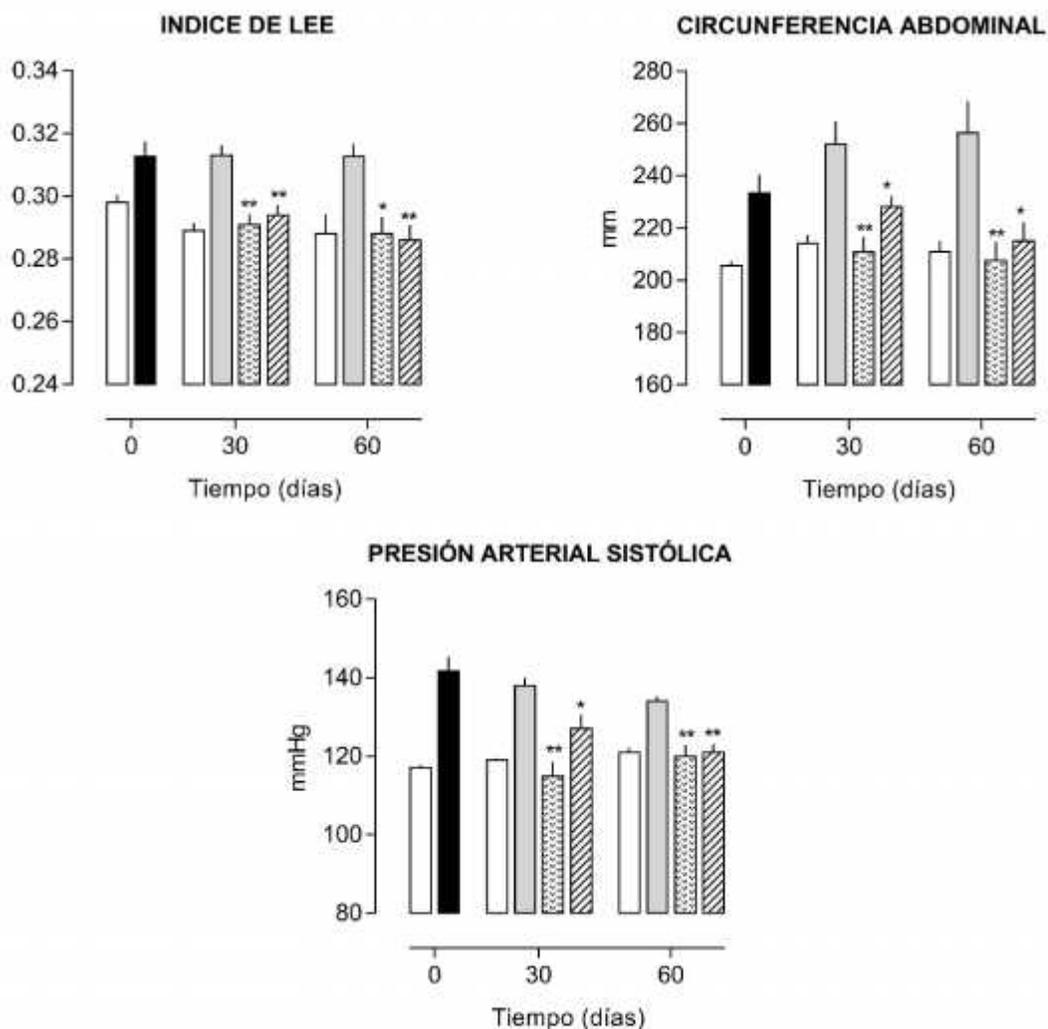


Fig 14. Efecto de la administración de solución salina (▬ grupo SM + SS), sibutramina (▨ grupo SM + sib), o el extracto completo de las semillas de *P. canariensis* (▩ grupo SM + Pc), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores del IL, CA y PAS fueron medidos al tiempo cero (■, n=24^a) y posteriormente, ya formados los grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más la coadministración del tratamiento. En el grupo no-SM (▬), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, ** = p<0.005, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▬ SM + grupo SS). ^aEl tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

La administración diaria de sibutramina a una dosis de 5 mg / kg / día en el grupo testigo positivo (grupo SM + sib) durante 60 días, redujo significativamente las mismas manifestaciones clínicas del SM que las que redujo el extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis*. Además, de reducir significativamente el nivel de glucosa en la sangre (p <0,05).

Los efectos obtenidos con la administración del extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* fueron independientes de una reducción en el consumo kilocalórico total; a diferencia de los obtenidos con la administración de sibutramina, la cual produjo una reducción significativa en el consumo de kcal totales a los 30 y 60 días (Figura 13).

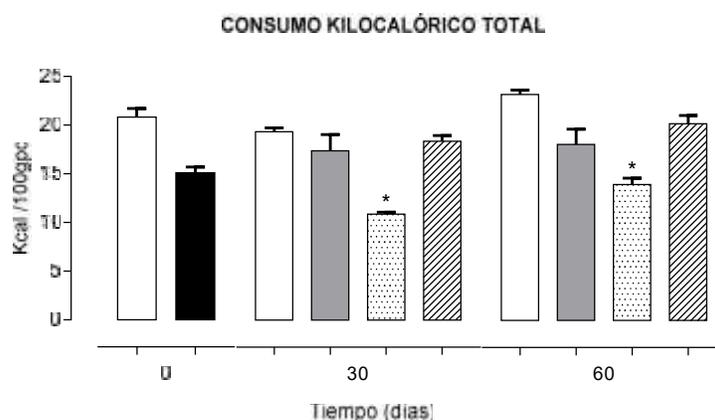


Fig 15. Efecto de la administración de solución salina (▬ grupo SM + SS), sibutramina (■ grupo SM + sib), o el extracto completo de las semillas de *P. canariensis* (▨ SM + grupo Pc), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores del consumo kilocalórico total fueron determinados al tiempo cero (■, n=24^a) y, posteriormente, ya formados los grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más la coadministración del tratamiento. En el grupo no-SM (▬), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media \pm SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▬ grupo SM + SS). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

7.3. Fracción hexánica

Los cambios, en las manifestaciones clínicas, debidos a la administración oral de 0,2 ml / 100 g / día de SS con Tween 80 al 1% (grupo MS + Tween), 310 mg / kg / día de la fracción hexánica de las semillas de *P. canariensis* (grupo SM + hex), 0,2 ml / 100 g / día de SS (grupo MS + SS) o 310 mg / kg / día de la fracción acuosa de las semillas de *P. canariensis* (grupo MS +acuoso) en ratas con SM inducido por una dieta adicionada con 10% fructosa durante 90 días, así como las modificaciones en el consumo kilocalórico total, se muestran en las figuras 16 a 22. En todas estas figuras, el tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados, y las medias de los registros obtenidos del grupo no-SM son las mismas.

La tercera serie de experimentos reveló que la administración oral de la fracción hexánica de las semillas de *P. canariensis* (grupo MS + hex) a una dosis de 310 mg / kg / día en ratas con SM durante 60 días, redujo significativamente ($p < 0,05$) los valores de la CA, mientras que, en comparación con el grupo de testigo (MS + Tween), no se observaron efectos en los otros indicadores del SM (Figura 16 y 17). Por el contrario, la administración diaria de la fracción acuosa de las semillas de *P. canariensis*, a una dosis similar de 310 mg / kg / día en las ratas con SM durante 30 y 60 días redujo significativamente la PAS ($p < 0,005$, $p < 0,05$). Los resultados también demuestran un control significativo de TGs hasta los 60 días de tratamiento con respuestas que fueron inferiores a las observadas en el grupo MS + Pc (Figuras 19 y 20). Todos los efectos observados, tanto con la fracción hexánica como con la acuosa, son independientes de una reducción del consumo kilocalórico total (Figuras 18 y 21).

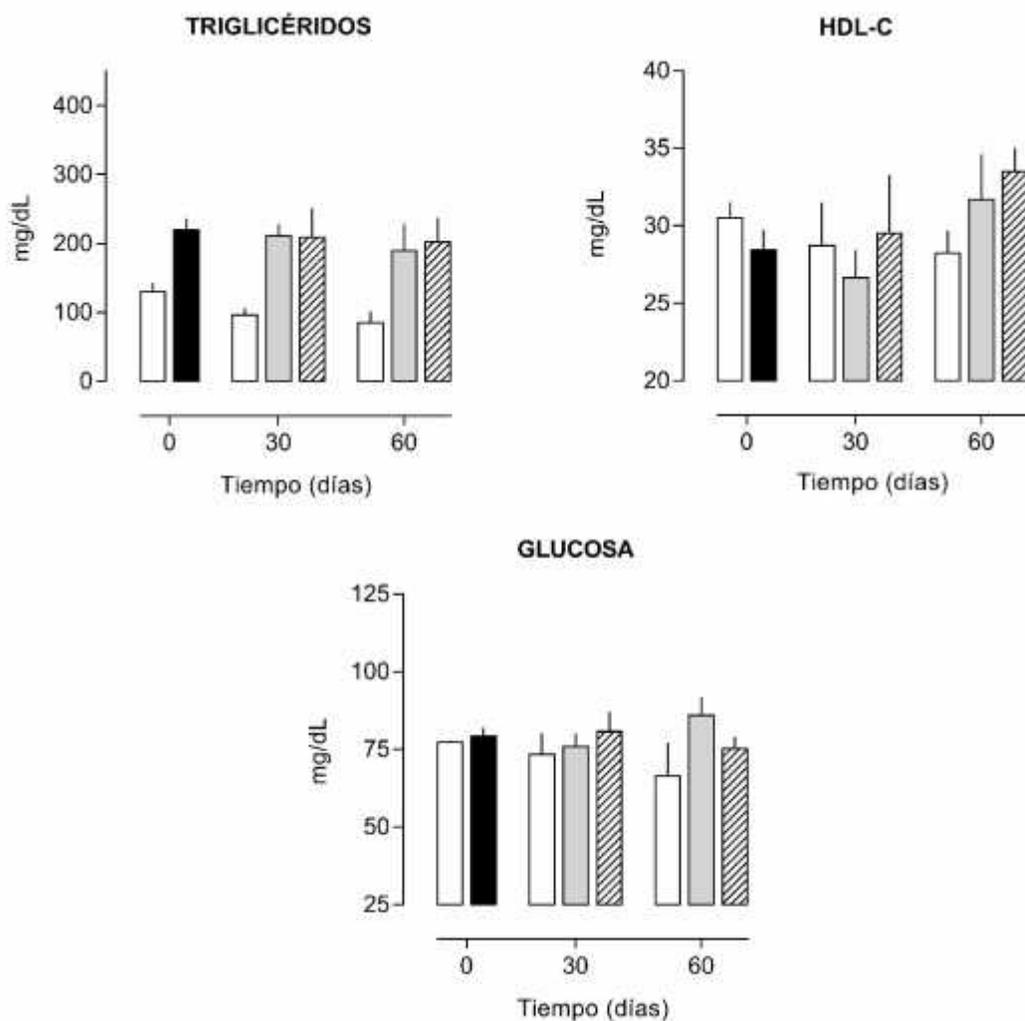


Fig 16. Efecto de la administración de Tween ( SM + grupo testigo Tween) o la fracción hexánica de las semillas de *P. canariensis* ( SM + grupo hex), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada en el alimento y el agua de beber. Los niveles de TG, HDL-C y glucosa fueron determinados al tiempo cero (, n=12 ^a) y posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más la fracción hexánica o el Tween. En el grupo no-SM (, las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicionada y agua de beber normal. Cada barra representa la media \pm SEM. * = $p < 0.05$, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente ( grupo SM + Tween). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

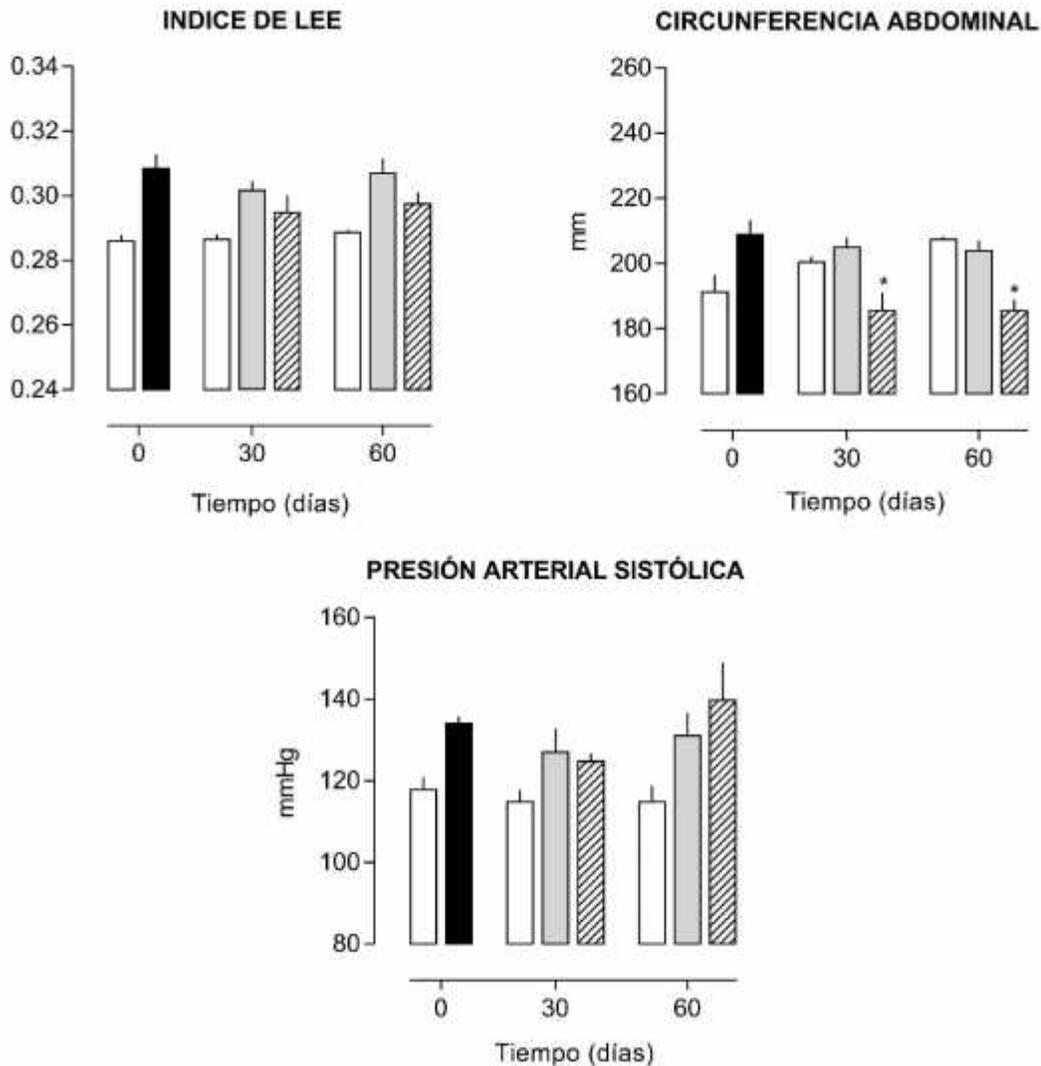


Fig 17. Efecto de la administración de Tween (■ grupo testigo SM + Tween) o la fracción hexánica de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo SM + hex), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores de IL, CA y PAS fueron medidos al tiempo cero (■, n=12^a) y, posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más el Tween o la fracción hexánica. En el grupo no-SM (□), las ratas recibieron alimento sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media \pm SEM. * = $p < 0.05$, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (■ grupo SM + Tween). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

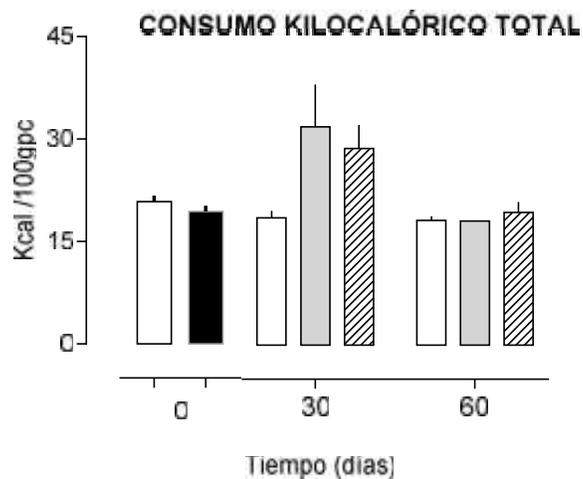


Fig 18. Efecto de la administración de Tween (grupo testigo SM + Tween) o la fracción hexánica de las semillas de *P. canariensis* (grupo SM + hex), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores de consumo kilocalórico total fueron medidos al tiempo cero (, n=12 ^a) y, posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más el Tween o la fracción hexánica. En el grupo no-SM (), las ratas recibieron alimento sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media \pm SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (grupo SM + Tween). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

7.4. Fracción acuosa

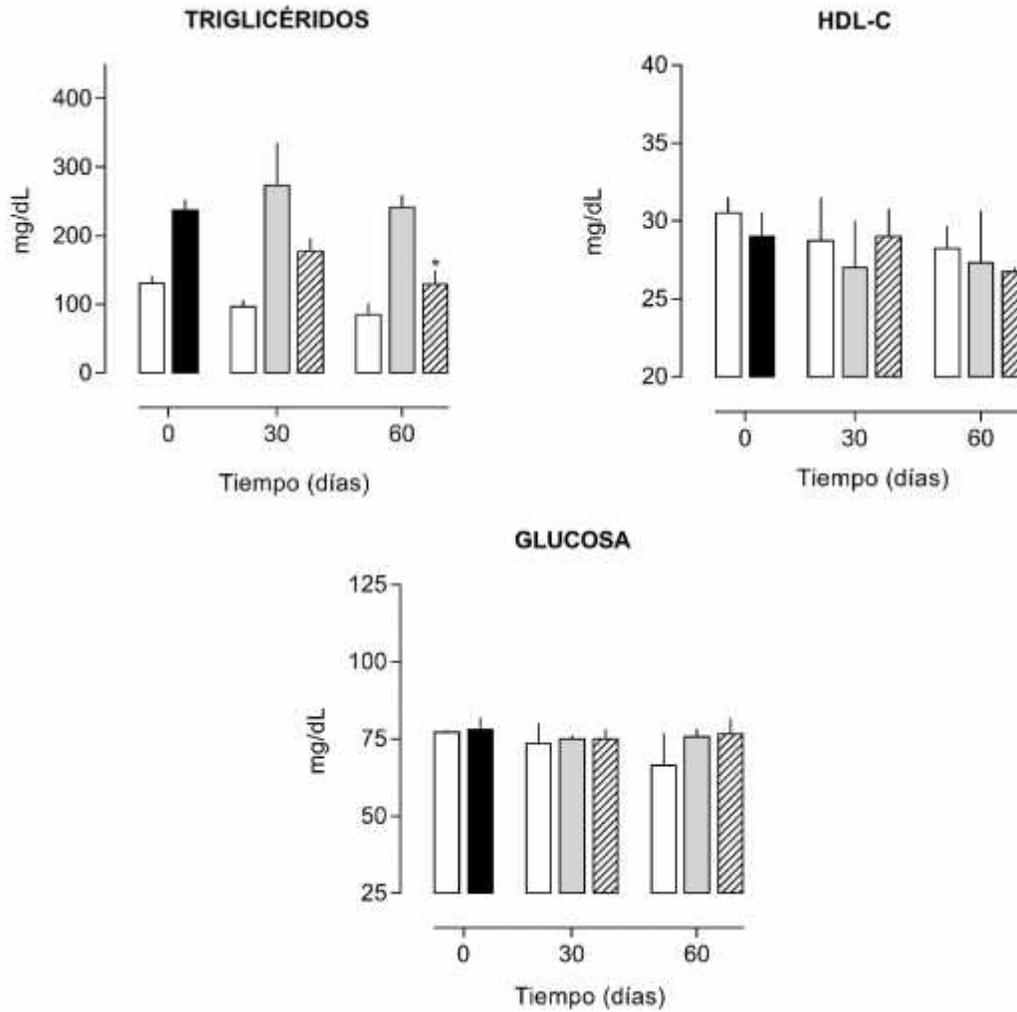


Fig 19. Efecto de la administración de SS (▬ grupo SM + testigo SS) o la fracción acuosa de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo SM + acuoso), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los niveles de TG, HDL-C y glucosa fueron determinados al tiempo cero (■, n=12^a) y posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más SS o el extracto polar. En el grupo no-SM (▬), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▬ grupo testigo SM + SS). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

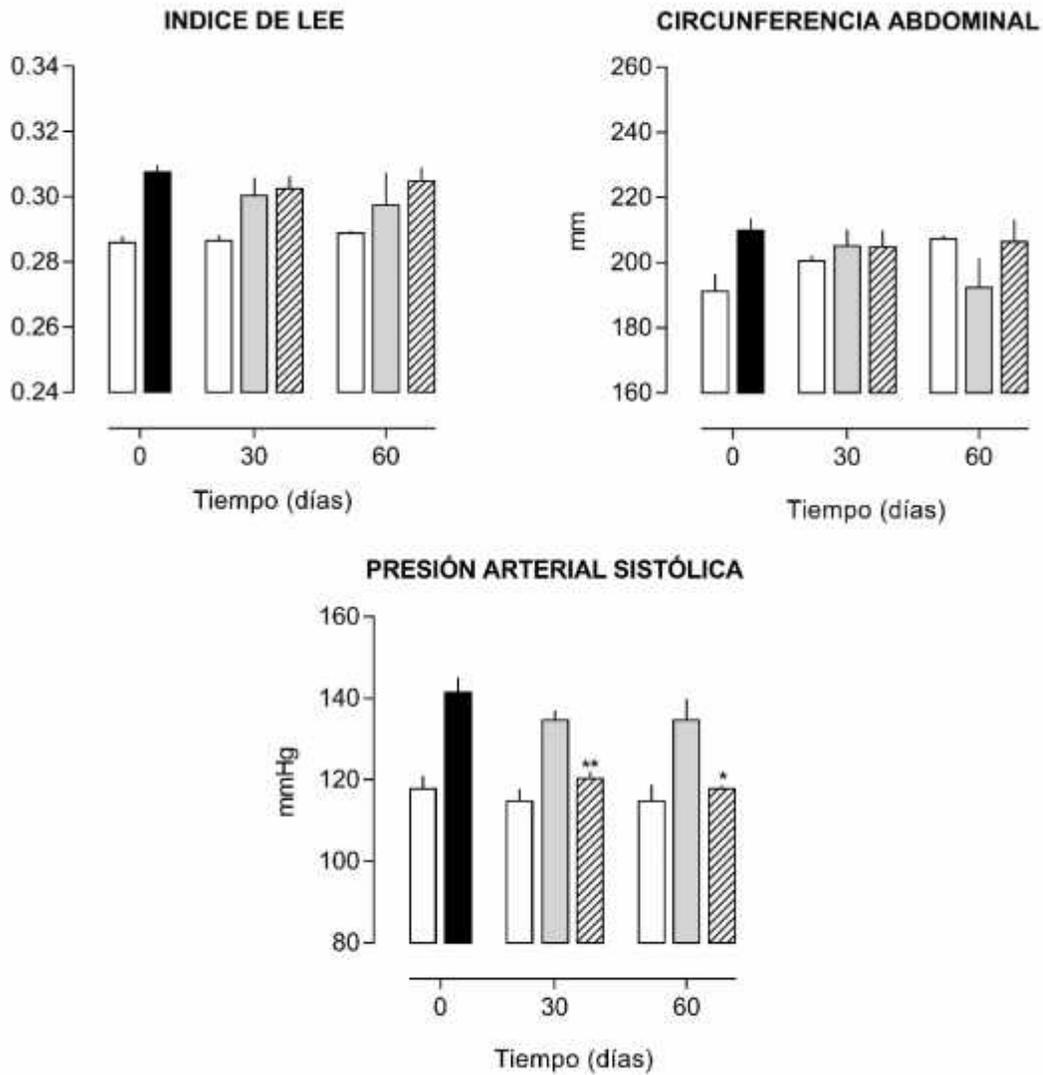


Fig 20. Efecto de la administración de (▒ grupo testigo SM + SS) o fracción acuosa de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo SM + acuoso), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores de IL, CA y PAS fueron medidos al tiempo cero (■, n=12^a) y posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más SS o el extracto polar. En el grupo no-SM (□), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▒ grupo testigo SM + SS). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

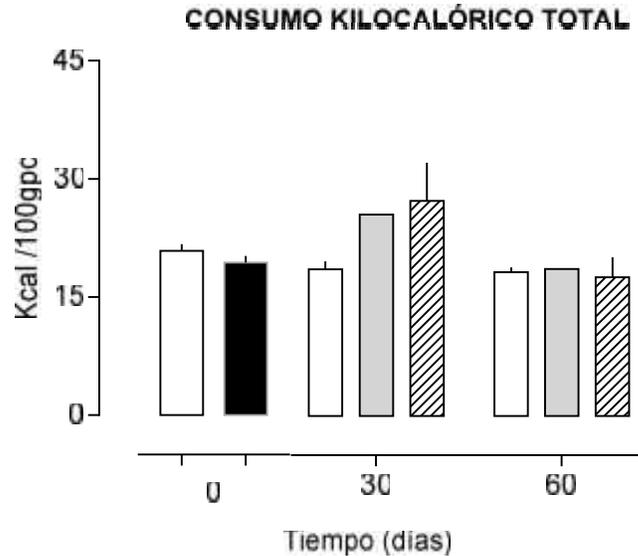


Fig 21. Efecto de la administración de (▒ grupo testigo SM + SS) o fracción acuosa de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo SM + acuoso), en ratas con SM inducido con 10% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber. Los valores del consumo kilocalórico total fue determinado al tiempo cero (■, n=12^a) y posteriormente, ya formados los dos grupos (6 por grupo), a los 30 y 60 días del consumo de fructosa más SS o el extracto polar. En el grupo no-SM (□), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. * = p<0.05, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente (▒ grupo testigo SM + SS). ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

7.5. Tratamiento preventivo

Los efectos observados en los niveles de TG, HDL-C y glucosa, así como en el IL y la CA y el consumo kilocalórico total, debidos a la administración oral de fructosa más la coadministración de SS (2 mL / 100 g / día), sibutramina (5 mg / kg / Día) o el extracto acuoso completo de semillas de *P. canariensis* (310 mg / kg / día), durante 90 días en ratas normales se muestran en las Figuras 22 a 24.

Esta cuarta y última serie de experimentos mostraron que una dosis de 310 mg / kg / día del extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* impidió significativamente un aumento en el IL (p <0,005) y la CA a los 90 días, mientras que, en comparación con el grupo testigo (fructosa + SS), no se observaron efectos en los otros indicadores del SM (Figura 22).

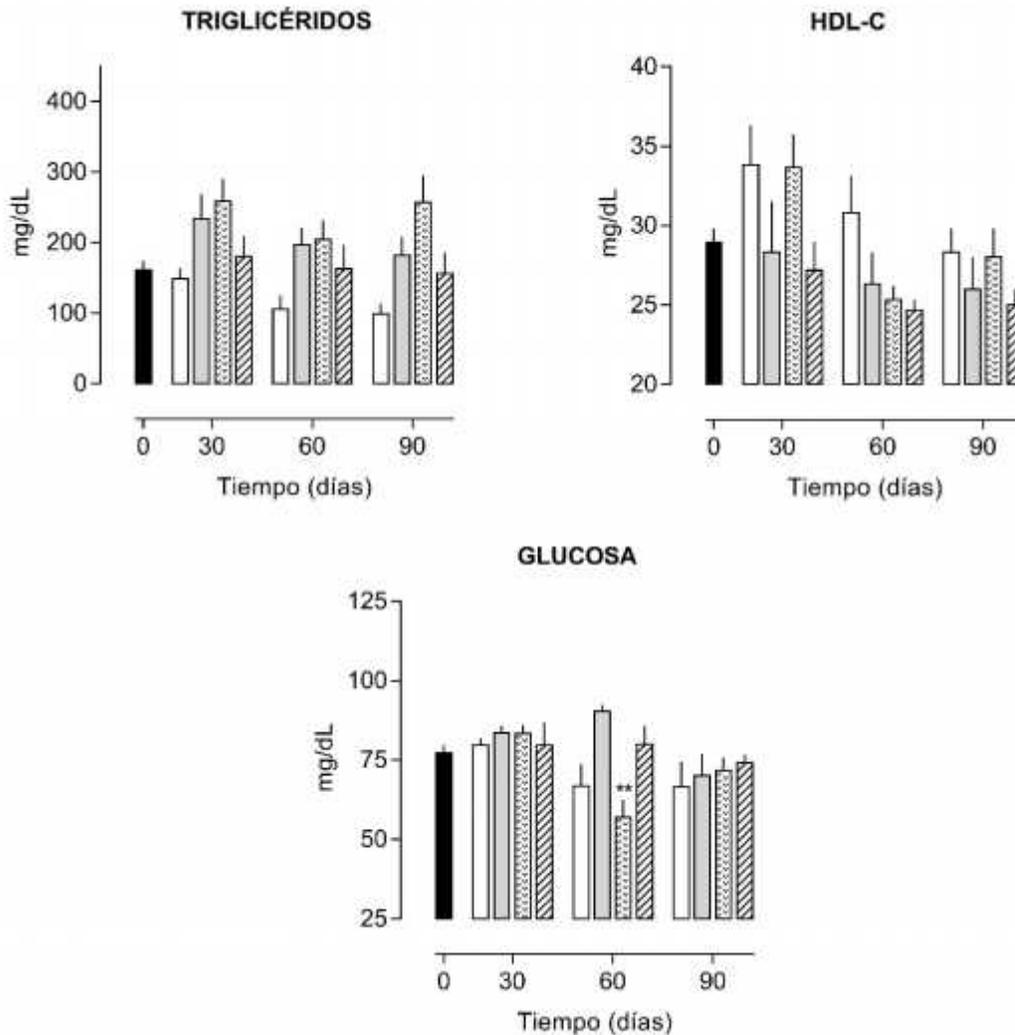


Fig 22. Efecto de la administración de solución salina (▬ grupo testigo fructosa + SS), sibutramina (▨ grupo Fructosa + sib), o el extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* (▩ grupo fructosa + Pc) sobre los niveles de TG, HDL-C y glucosa. La fructosa fue adicionada en el mismo porcentaje (10%) al alimento y al agua de beber. Estos indicadores fueron determinados al tiempo cero (■, n=24^a) y posteriormente, ya formados los tres grupos (6 ratas por grupo), a los 30, 60 y 90 días de tratamiento. En el grupo no-fructosa (▬), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. ** = p<0.005, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

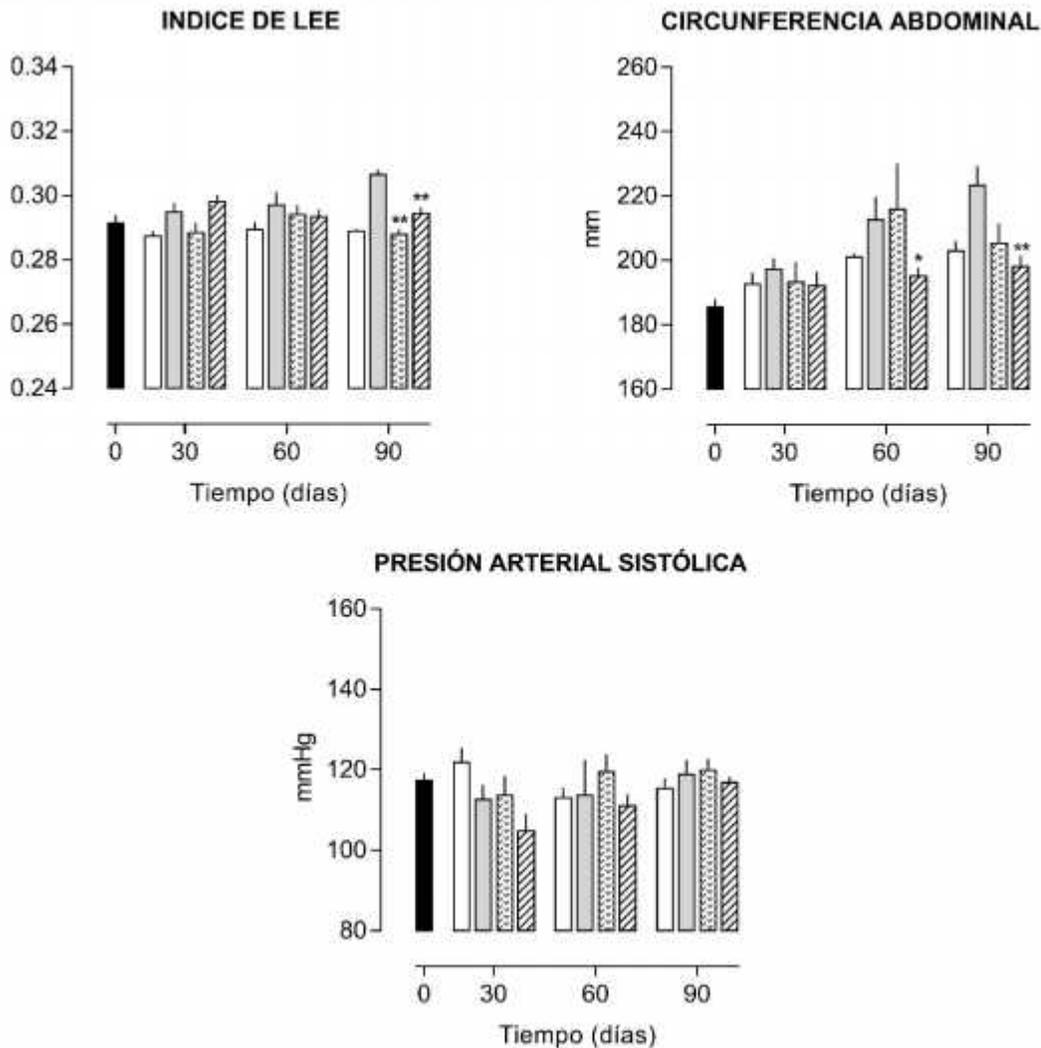


Fig 23. Efecto de la administración de solución salina (□ grupo testigo fructosa + SS), sibutramina (▨ grupo fructosa + sib), o el extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* (▩ grupo fructosa + Pc) sobre los valores de IL, CA y PAS. La fructosa fue adicionada en el mismo porcentaje (10%) al alimento y al agua de beber. Estos indicadores fueron medidos al tiempo cero (■, n=24^a) y posteriormente, ya formados los tres grupos (6 ratas por grupo) a los 30, 60 y 90 días de tratamiento. En el grupo no-fructosa (□), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media \pm SEM. ** = $p < 0.005$, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

La administración oral de una dosis diaria de sibutramina (5 mg / kg / día) en ratas que consumieron 10% de fructosa en alimentos y el agua potable, también evitó un aumento del IL a los 90 días y una reducción significativa ($p < 0,005$) de la glucosa en sangre a los 60 días. En esta

fase experimental los efectos observados con la administración del extracto acuoso completo de *P. canariensis*, a diferencia de los efectos observados con la administración de sibutramina, se dieron independientes de una disminución en el consumo kilocalórico total (Figura 23).

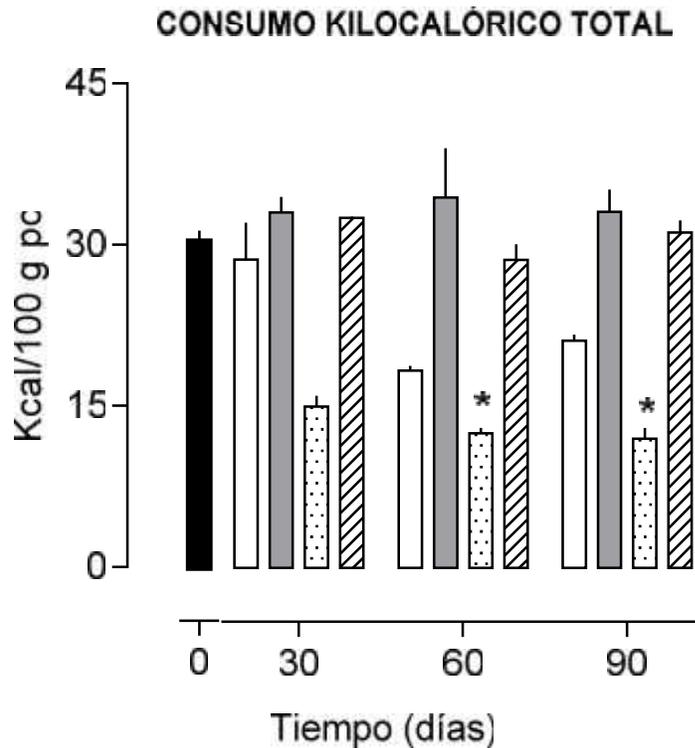


Fig 24. Efecto de la administración de solución salina (▬ grupo testigo fructosa + SS), sibutramina (▤ grupo fructosa + sib), o el extracto acuoso completo de las semillas de *P. canariensis* (▨ grupo fructosa + Pc) sobre los valores del consumo kilocalórico total. La fructosa fue adicionada en el mismo porcentaje (10%) al alimento y al agua de beber. Estos indicadores fueron medidos al tiempo cero (■, n=24^a) y posteriormente, ya formados los tres grupos (6 ratas por grupo) a los 30, 60 y 90 días de tratamiento. En el grupo no-fructosa (▬), las ratas recibieron alimento de Purina sin fructosa adicional y agua de beber normal. Cada barra representa la media ± SEM. ** = p<0.005, el nivel de significancia se comparó con el grupo testigo correspondiente. ^a El tiempo cero representa la media de todos los animales estudiados.

7. DISCUSIÓN

El consumo, durante 60 y 90 días de 10 %, 20% o 30% de fructosa adicionada al alimento y al agua de beber produjo, en ratas Wistar, un incremento de los valores de: TGs, IL y PAS, de similar magnitud en las tres concentraciones de fructosa empleadas. Estos resultados

concuerdan con numerosos estudios donde el consumo de fructosa causa alteraciones metabólicas en modelos animales, principalmente: ganancia de peso, hiperlipidemia (2) e hipertensión ⁽²⁵⁾. También concuerdan con lo informado para ratas Sprague-Dawley en las cuales 10% de fructosa en el agua de beber produce similares efectos de hipertensión e hiperlipidemia a los obtenidos cuando las ratas consumen 60 % de fructosa adicionada en la dieta ⁽²⁶⁾. La elección de emplear 10% de fructosa para inducir el síndrome metabólico y administrar los tratamientos de *P. canariensis*, se fundamentó en el mejor balance nutricional logrado en los animales que recibieron esta concentración. Existe evidencia de que la cantidad de alimento que consumen las ratas, está dada más en función de balancear su consumo total de kilocalorías (Kcal) que, en función del olor, sabor y color del alimento, que son importantes para el consumo kilocalórico excesivo en el humano ⁽³³⁾. Nuestros resultados, muestran que los animales alimentados con dietas adicionadas con fructosa (10, 20, y 30%), desde el primer mes de tratamiento, comienzan a modular su consumo de Kcal disminuyendo significativamente su consumo de alimento, con respecto al consumido por el grupo testigo y, por ende, esta compensación kilocalórica se da a expensas de la cantidad de kcal obtenidas a partir de las grasas y proteínas provenientes del alimento, pero manteniendo significativamente elevado, a comparación del grupo testigo, su consumo de kcal de carbohidratos, principalmente, provenientes de la fructosa adicionada al agua de beber. Esta conducta compensa el incremento kilocalórico total y, está acorde, con lo informado por Steve M. et al que encuentran disminución paulatina del consumo de alimento en ratas que tienen acceso *ad libitum*, por largos periodos, a dietas ricas en carbohidratos⁵⁴ y, también concuerda, con Sánchez-Lozada et al que señala que el excesivo consumo de carbohidratos simples (más del 10% de las Kcal/día recomendadas), principalmente contenido en las bebidas, es un factor que aumenta el riesgo para desarrollar SM ⁽⁶⁵⁾.

El estudio fue realizado utilizando la dosificación empleada del extracto acuoso de las semillas de *P. canariensis* de 310 mg/kg, fue estimada con base en la información proporcionada por curanderos del mercado de Sonora en la Ciudad de México, que preparan una formulación casera, denominada leche de alpiste, para una persona que pesa alrededor de 70 Kg de peso corporal. Esta dosis, también empleada en las fracciones de hexano y agua, permitió dispersar cada uno de los tratamientos, en sus respectivos vehículos y administrarlos diariamente con relativa facilidad, por vía intraoral.

Los resultados de este trabajo revelaron que la administración diaria de 310 mg/kg/día, por vía oral, de un extracto acuoso de semilla de *P. canariensis* es más eficaz para tratar el SM inducido por 10% de fructosa, que la administración de las fracciones de hexano y agua obtenidas de dicho extracto y, que ninguno de los efectos observados, ni del extracto acuoso completo ni de las fracciones probadas de dicho extracto, se relacionan con una disminución en el consumo kilocalórico total de los animales, como el observado en el grupo tratado con 5 mg/Kg/día de sibutramina (SM + sib), efecto que era esperado ya que, la sibutramina, es un medicamento simpatomimético que provoca hipofagia ⁽¹¹²⁾.

La disminución significativa de TGs y PAS observada en el grupo SM + *Pc* concuerda con lo informado en el 34th Congress of the Spanish Society of Pharmacology por otro grupo de investigación quien además señala, que la semilla de *P. canariensis* disminuye la glucosa y protege del daño oxidativo en ratas con SM ⁽¹¹³⁾. La disminución del IL y de la CA mostradas en el grupo SM + *Pc* de nuestros experimentos, fortalecen la evidencia, altamente significativa, de que un extracto acuoso completo de las semillas de alpiste es eficaz, desde los 30 hasta los 60 días de tratamiento, para aminorar el incremento encontrado en los tres indicadores (TGs, IL y PAS) que permitieron caracterizar el SM inducido con fructosa.

Una de las teorías para explicar la inducción de SM causado por el consumo de altas concentraciones de fructosa (como el modelo empleado en este estudio), es la teoría de glucolipototoxicidad la cual indica que, la formación incrementada de glucosa y ácidos grasos libres promueven el estrés oxidativo en diferentes tipos de células, donde se incrementa la producción de moléculas reactivas de oxígeno las cuales: alteran el funcionamiento mitocondrial, activan enzimas sensibles a estrés y aumentan la producción de citosinas proinflamatorias; lo que da como consecuencia una cascada de daños celulares que finalizan en los padecimientos incluidos en el SM ⁽³⁶⁾.

Se sabe que las semillas de *P. canariensis* contienen compuestos con capacidad antioxidante, similar a la del ácido ascórbico ⁽⁸³⁾ y esta actividad podría explicar, en parte, los efectos benéficos observados en las ratas con SM tratadas con el extracto completo de las semillas de esta planta ya que, se estaría frenando la producción de especies reactivas de oxígeno, con esto se rompería la cascada de daños celulares y, por ende, los padecimientos englobados en el SM disminuirían.

Uno de los componentes presentes en las semillas de *P. canariensis* que provee actividad antioxidante es el fitato (18.2 mg/g) ⁽¹⁰⁸⁾, que tiene una actividad quelante la cual, por un lado, al atrapar al hierro evita que este catalice la formación de especies reactivas de oxígeno, principalmente los radicales hidroxilos ⁽¹⁰⁴⁾ y, por otra parte, al quelar el zinc disminuye el cociente zinc/cobre en plasma ayudando a la disminución de colesterol y triglicéridos ⁽¹¹⁴⁾.

Estudios de campo indican que la semilla de *P. canariensis* tiene propiedades hipocolesteremiantes ^{7, 23}, antidiabéticas, diuréticas ^(3,115-119) y antihipertensivas ⁽³⁾. Sin embargo, su empleo para el tratamiento de la obesidad carece de estudios etnobotánicos que permitan caracterizar apropiadamente dicho uso. A pesar de esta carencia, estudios experimentales demuestran que 400mg/kg/día, administrados por 30 días de un extracto obtenido de la semilla de *P. canariensis* con hexano, produce en ratones obesos alimentados con grasa adicionada y

en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina una significativa disminución en el peso corporal, glucosa sanguínea, colesterol sérico, TGs, lipoproteínas e incremento de HDL-C, insulina sérica, probablemente, como ya se mencionó, disminuyendo el estrés oxidativo ⁽²⁾ o, a través de la inhibición de enzimas relacionadas con la obesidad y la diabetes mellitus ⁽²⁾. En contraste, nuestros resultados muestran que, en ratas Wistar, el tratamiento con un extracto de hexano (grupo SM + hex), solo disminuyó significativamente la CA, sin modificar el IL ni los TGs. Una posible explicación de esta diferencia se apoya en los efectos informados para el tipo de ácidos grasos insaturados que contiene la semilla de *P. canariensis* (el total de grasa cruda (8.7%) entre los que se encuentran ácidos como: linoleico 55%, oleico 29% y linolénico 2.5%) ⁽¹⁾ y, que son extraídos por hexano. Se ha informado que, en ratas con obesidad inducida por una dieta modificada, los ácidos grasos antes mencionados, producen redistribución de los lípidos desde el abdomen hacia todo el cuerpo. Sin embargo, los ácidos linoleico y alfa-linolénico no incrementan la adiposidad corporal como sí lo hace el ácido oleico, que además disminuye el colesterol plasmático total, pero no modifica los niveles de TGs ni tampoco los ácidos grasos no esterificados ⁽¹²⁰⁾. El efecto que parece predominar en nuestros resultados es la redistribución de la grasa abdominal, lo que disminuyó la CA, sin modificar el peso corporal y los niveles de TGs. Esto concuerda con los datos observados en el humano en donde el consumo de ácidos grasos insaturados no parece tener mayores efectos sobre el peso corporal y los lípidos séricos ⁽¹²¹⁾. En contraste, el tratamiento durante 60 días del grupo (SM + acuoso) con la fracción acuosa, produjo disminución significativa de la PAS y de los TGs. El primer efecto ha sido referido en numerosos estudios que evalúan extractos acuosos ^(8,9,77,122) que se basan en su alto contenido de proteínas (18.7%) y aminoácidos como: cistina, triptófano, fenilalanina, leucina y arginina (3.3, 2.8, 6.7, 7.0 y 6.4 g/100g de proteína, respectivamente) ⁽¹⁾.

Los aminoácidos triptófano y arginina, contenidos en la fracción acuosa del extracto de la semilla de *P. canariensis*, podrían ayudar a explicar los efectos benéficos sobre la hipertensión mostrada

en el presente estudio, la cual podría estar relacionada a un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático ^{39,40} que puede provocar daños en la relajación vascular dependiente del endotelio, causado por un aumento en la endotelina, la angiotensina II, el estrés oxidativo o alteraciones en los niveles del ON ³⁹.

La actividad atribuida al triptófano se puede deber a que este aminoácido puede ser metabolizado a kinurenina, por la triptófano-2,3-dioxigenasa o por la indoleamina-2,3-dioxigenasa (IDO), y esto contribuye a la relajación vascular dependiente del endotelio. Y por otro lado el ácido kinurénico, derivado también del metabolismo del triptófano, puede provocar una disminución del tono vasomotor simpático, aumentado en ratas alimentadas con fructosa.

Aunado a este efecto la arginina, es un aminoácido que es metabolizado por la sintasa de NOSe a ON, aumentando así la disponibilidad de este último y mejorando, por ende, la vasorelajación dependiente del endotelio ⁽¹²³⁾ que se ve afectada por la disfunción endotelial debida a la baja producción de ON por parte de la NOSe.

La arginina al ser un precursor del ON puede ayudar a la activación de la AMPK, enzima que participaría no sólo en la inhibición de la síntesis de ácidos grasos al disminuir la activación de la lipasa sensible a hormonas (HSL), la expresión de la sintasa de ácidos grasos (FAS) y la esteroil coenzima A desaturasa-1 (SCD1), sino que también puede aumentar la oxidación de ácidos grasos debido a que promueve la expresión de la carnitin palmitoil transferasa 1 (CPT1), y de la malonil CoA descarboxilasa provocando una disminución de la malonil CoA que es un potente inhibidor alostérico de la CPT1 (34). La forma activa de AMPK promueve la desfosforilación de la HSL y bloquea la activación de la HSL inducida por PKA, lo cual ayudaría a la inhibición de la lipólisis (35). Particularmente se ha reportado que la suplementación con arginina por vía oral, disminuye el tejido adiposo blanco en ratas con obesidad inducida genéticamente o por dieta, así

como en ratones alimentados con una dieta isocalórica baja en proteínas, en ovejas obesas preñadas y en humanos obesos con diabetes mellitus tipo 2 ^(124,126-128).

Existen otros compuestos en las semillas del alpiste que podrían ayudar a explicar su actividad antihipertrigliceridemiante como la luteína (39), que aumenta la lipólisis (40) o el ácido ferúlico (11) que debido a su actividad antioxidante podría disminuir la hipertrigliceridemia en ratas ⁽¹³¹⁾.

Como puede observarse en las Figuras 9 a13, la suma de los efectos producidos, por la administración de las fracciones hexánica y acuosa, no reproduce todos los efectos, como tampoco reproducen la misma mejoría de las manifestaciones clínicas del SM que se observa con la administración del extracto acuoso completo. Es evidente que la presencia de varios compuestos de diferente polaridad en el extracto acuoso completo, incrementan la eficacia y probablemente la potencia de los principios activos. Sin embargo, aún falta por identificar la actividad de cada uno de los compuestos para proceder a explorar sus posibles interacciones farmacodinámicas y farmacocinéticas y así, fundamentar la superioridad que tiene el extracto completo sobre las fracciones en el tratamiento del SM experimental. Es importante mencionar que, durante el desarrollo de los experimentos, no se observaron efectos de toxicidad con ninguno de los tratamientos de la semilla de *P. canariensis*, lo que concuerda con un extenso estudio toxicológico que concluye que, las semillas de *P. canariensis* son seguras para el consumo humano.

8. Conclusiones

Esta investigación muestra que un extracto acuoso completo de semilla de *P. canariensis* administrado por vía intraoral, es superior a las fracciones obtenidas de dicho extracto contra algunos indicadores de SM semejantes como: hipertrigliceridemia, incremento de la CA y del IL, observados en ratas Wistar por la adición de fructosa en el alimento y en el agua de beber. Este estudio provee evidencia y apoya la idea general, de que la mezcla completa de sustancias

contenidas en la forma natural de algunas plantas, mejora el efecto cuando se emplean para tratamiento de entidades clínicas que como en el SM, donde se presentan múltiples manifestaciones fisiopatológicas. El efecto paliativo y preventivo del extracto acuoso completo de la semilla de *P. canariensis*, aunado a su alto contenido proteico, de aminoácidos esenciales y de ácidos grasos insaturados, hacen de esta planta un buen prospecto para investigarla en humanos y fundamentar la realidad de su utilidad clínica.

10. LITERATURA CITADA

1. Abdel-Aal E-SM, Hucl PJ, Sosulski FW. Structural and Compositional Characteristics of Canaryseed (*Phalaris canariensis* L.). J Agric Food Chem, 1997; 45(8): 3049-55.
2. Perez-Gutierrez RM, Madrigales-Ahuatzi D y Cruz-Victoria T. Inhibition by Seeds of *Phalaris canariensis* Extracts of Key Enzymes Linked to Obesity. Altern Ther Health M, 2016, 22: 8-14.
3. Alvarado-Orozco M y Mendoza-Nuñez, VM. Prevalencia y factores de riesgo para polifarmacia en adultos mayores del Valle del Mezquital, Hidalgo. Rev Mex Cienc Farm, 2006, 37(4):12-20.
4. Romero-Cerecero O, Reyes-Morales H, Aguilar-Santamaría L, Huerta-Reyes M, Tortoriello-Garcia J. Use of medicinal plants among patients with diabetes mellitus type 2 in Morelos. BLACPMA, 2009; 8(5): 380-88.
5. Romero-Velarde E, Aguirre-Salas LM, Álvarez-Román YA, Vásquez-Garibay EM, Casillas-Toral EC y Fonseca-Reyes S. Prevalence of metabolic syndrome and associated factors in children and 399 adolescents with obesity, in Mexico. Rev Med Inst Mex Seguro Soc, 2016, 54(5): 568-75.
6. Cardona VS, Guzmán VL, Cardona-Arias JA. Systematization of clinical trials related to treatment of metabolic syndrome, 1980–2015. Endocrinol Diabetes Nutr, 2017; 64(2): 82-91.
7. Madrigales-Ahuatzi, D y Perez-Gutierrez, RM. Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Seeds of *Phalaris canariensis*. Drug Res (Stuttg), 2016, 66(1): 23-7.
8. Estrada-Salas PA, Montero-Morán GM, Martínez-Cuevas PP, González C y Barba de la Rosa AP. Characterization of Antidiabetic and Antihypertensive Properties of Canary Seed (*Phalaris canariensis* L.) Peptides. J Agr Food Chem, 2014, 62(2): 427-433.
9. Dos Santos Passos C, De Carvalho LN, Campos RR, Boim MA. Renal and vascular effects of *Phalaris canariensis* in normotensive and spontaneously hypertensive rats. Can J Physiol Pharmacol, 2012; 90(2): 201-8.
10. Instituto Nacional de Geografía y Estadística. <http://www3.inegi.org.mx>. [En línea] Electrónica, 2013. [Citado el: 2 de junio de 2014.] http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/continuas/vitales/demograficas/2011/cua_est_dem2011.pdf.

11. Organization, World Health. <http://www.who.int/>. [En línea] 2009. [Citado el: 4 de junio de 2014.]
http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf.
12. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WPT, Loria CM, Smith SC. Harmonizing the Metabolic Syndrome a Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 2009, 120:1640-1645.
13. Organization, World Health. <http://www.who.int/>. [En línea] 2012. [Citado el: 3 de junio de 2014.]
http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2012_Full.pdf.
14. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H y Eckel RH. The Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews*, 2008, 29(7): 777-822.
15. Alberti KGMM y Zimmet PZ. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 1998, 15: 539–553.
16. O’Rahilly SP. The metabolic syndrome: all in the mind? *British Diabetic Association. Diabetic Medicine*, 1999, 16: 355-357.
17. Cleeman JI. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *The Journal of the American Medical Association*, 2001, 285(19): 2486: 2497.
18. Alberti KG, Zimmet P y Shaw J. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*. 2006, 23:469-480.
19. Knowles KM, Paiva LL, Sanchez SE, Revilla L, Lopez T, Yasuda MB, Yanes ND, Gelay B y Williams MA. Waist Circumference, Body Mass Index, and Other Measures of Adiposity in Predicting Cardiovascular Disease Risk Factors among Peruvian Adults. *Int J Hypertens*, 2011, 2011: 1-10.
20. Gikins MLA y Clifford CB. Clinical Laboratory Parameters for CrI:WI(Han). *Charles River Laboratories accelerating drug development exactly*, 2008, 1: 14.

21. Lyssenko V, Sjögren M, Almgren P, Anevski D, Orho-Melander M, Isomaa B, Tuomi T, Taskinen MR, Groop L. Genetic prediction of the Metabolic Syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2008, 2(4): 245-252.
22. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX).
23. Aguilar-Salinas C A, Gómez-Pérez F J, Rull, J., Villalpando, S., Barquera, S y Rojas, R. Prevalence of dyslipidemias in the Mexican national health and nutrition survey. *Salud publica de Mexico*, 2010, 52: S44-S53.
24. Villalpando, S., Shamah-Levy, T., Rojas, R., & Aguilar-Salinas, C. A. (2010). Tendencia en la prevalencia de diabetes tipo 2 y otros indicadores de riesgo cardiovascular en México entre 1993-2006. *Salud Pública de México*, 2010, 52: S72-S79.
25. Hanover LM, Whit JS. Manufacturing, composition, and applications of fructose. *Am J Clin Nutr*, 1993, 58:7245-7325.
26. Tappy L, Lé KA. Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiol Rev*, 2010, 90:23–46.
27. Basciano H, Federico L y Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metabolism*, 2005, 2(1): 5.
28. Vos, MB, y otros. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. [En línea] 2008. [Citado el: 4 de Junio de 2014.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2525476/>.
29. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP, Willett WC y Hu FB. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2010, 33(11): 2477-2483.
30. Madero M, Arriaga JC, Jalal D, Rivard C, McFann K, Pérez-Méndez O, Vázquez A, Ruiz A, Lanaspá MA, Roncal Jimenez C, Johnson RJ, Sánchez Lozada LG. The effect of two energy-restricted diets, a low-fructose diet versus a moderate natural fructose diet, on weight loss and metabolic syndrome parameters: a randomized controlled trial. *Metabolism*, 2011, 60(11): 1551-1559.
31. Samuel, VT. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrin Met*, 2012, 22: 60-65.
32. Jurgoński, A, Juśkiewicz, J y Zduńczyk, Z. Ingestion of Black Chokeberry Fruit Extract Leads to Intestinal and Systemic Changes in a Rat Model of Prediabetes and Hyperlipidemia. *Plant Foods Hum Nutr*, 2008, 63: 176-182.

33. Bennett, M. K., Lopez, J. M., Sanchez, H. B., & Osborne, T. F. Sterol Regulation of Fatty Acid Synthase Promoter. Bennett, MK, y otros. *J Biol Chem*, 1995, 270(43): 25578-25583.
34. Rutledge, AC y Adeli, K. Fructose and the Metabolic Syndrome: Pathophysiology and Molecular Mechanisms. *Nutrition Reviews*, 2007, 65: S13-S23.
35. Wu, Z., Satterfield, M. C., Bazer, F. W., & Wu, G. Regulation of brown adipose tissue development. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2012, 15(6): 529–538.
36. Chang, YC y Chuang, LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transplant*, 2010, 2(3): 316-331.
37. Payne, AN, Chassard, C y Lacroix, C. Gut microbial adaptation to dietary consumption of fructose, artificial sweeteners and sugar alcohols: implications for host–microbe interactions contributing to obesity. *Obes Rev*, 2012, 13(9): 799–809.
38. Kovatcheva-Datchary, P y Arora, T. Nutrition, the gut microbiome and the metabolic syndrome. *Bst Pract Res Cl Ga*, 2013, 27(1): 59-72.
39. Tran LT, Yuen VG, & McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem*, 2009, 332(1-2), 145-159.
40. Verma S, Bhanot S, & McNeill JH. Sympathectomy prevents fructose-induced hyperinsulinemia and hypertension. *Eur J Pharmacol*, 1999, 373(2), R1-R4.
41. Mittra S, Bansal VS, & Bhatnagar PK. From a glucocentric to a lipocentric approach towards metabolic syndrome. *Drug Discov Today*, 2008, 13(5), 211-218.
42. Poitout V, & Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and β -cell dysfunction. *Endocr Rev*, 2008, 29(3), 351-366.
43. Chen Y. Metabolism: Carbohydrate. Mooren FC, editor. *Encyclopedia of Exercise Medicine in Health and Disease*. Berlin: Springer Berlin, 2012, 570–573.
44. Bessesen, DH. The role of carbohydrates in insulin resistance. *J Nutr*, 2001, 131(10), 2782S-2786S.
45. Bray GA. How bad is fructose? *Am J Clin Nutr*, 86(4): 895–6.
46. Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T. R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., ... & Ristow, M. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res*, 2005, 13(7), 1146-1156.

47. Tong YC, & Cheng JT. Alterations of M₂, 3-muscarinic receptor protein and mRNA expression in the bladder of the fructose fed obese rat. *The Journal of urology*, 2007, 178(4), 1537-1542.
48. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, ... & Sánchez-Lozada LG. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease., *Am J Clin Nutr* 2007, 86(4), 899-906.
49. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, & Hu FB. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*, 2004, 292(8), 927-934.
50. Thirunavukkarasu, V, Anitha Nandhini, AT y Anuradha, CV. Lipoic acid attenuates hypertension and improves insulin sensitivity, kallikrein activity and nitrite levels in high fructose-fed rats. 2004, *J Comp Physiol B*, 174(8): 587–92.
51. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Jiménez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T, & Herrera-Acosta J. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292(1), F423-F429.
52. Buettner R, Ottinger I, Gerhardt-Salbert C, Wrede CE, Schölmerich J, & Bollheimer LC. Antisense oligonucleotides against the lipid phosphatase SHIP2 improve muscle insulin sensitivity in a dietary rat model of the metabolic syndrome. *Am J Physiol-Endoc M*, 2007, 292(6), E1871-E1878.
53. Rajasekar, P, Viswanathan, P y Anuradha, CV. Beneficial impact of L-carnitine in liver: a study in a rat model of síndrome X., *Amino Acids*, 2008, 35(2): 475-483.
54. Kim HY, Okubo T, Juneja LR, & Yokozawa T. The protective role of amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) against fructose-induced metabolic syndrome in a rat model. *Br J Nutr*, 2010, 103(4), 502-512.
55. Tan HW, Liu X, Bi XP, Xing SS, Li L, Gong HP, ... & Zhang W. IL-18 overexpression promotes vascular inflammation and remodeling in a rat model of metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 2010, 208(2), 350-357.
56. Rajasekar, P, Palanisamy, N y Anuradha, CV. Increase in nitric oxide and reductions in blood pressure, protein kinase C β II and oxidative stress by L- Carnitine: a study in the fructose-fed hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens*, 2007,29(8): 517-530.

57. Kannappan, S y Anuradha, CV. Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in dietary model of metabolic syndrome. *Eur J Nutr*, 2010, 49(2): 101-109.
58. Aguilera AA, Díaz GH, Barcelata ML, Guerrero OA, & Ros RM. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- α in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*, 2004, 15(6):350-357.
59. Shirakawa H, Sugita Y, Koseki T, & Komai M. Anti-metabolic syndrome effects of adenosine ingestion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet. *Brit J Nutr*, 2010, 104(1), 48-55.
60. Consenso Mexicano sobre el tratamiento integral del síndrome metabólico. DEL SÍNDROME, G. D. E. *Rev Mex Cardiol*, 2002, 13(1), 4-30.
61. Baños, G, Pérez-Torres, I y El Hafidi, M. Medicinal Agents in the Metabolic Syndrome. *Cardiovasc Hematol Disord: Drug Targets*, 2008, 6(4): 237-252.
62. Parodi. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 1987:137-138.
63. Cogliatti. *Canaryseed Crop. Scientia Agropecuaria*. 2012: 75-78.
64. Nations, Food and Agriculture Organization of the United. *The Agricultural and Food Engineering Technical Reports*: 2005.
65. Abdel-Aal, E-SM; Pierre, H; Patterson, A; Gray, D. Fractionation of hairless Canary Seed (*Phalaris canariensis*) into Starch, Protein and oil. *J. Agric. Food Chem*. 2010, 58(11): 7046-7050.
66. McMullen MS. Oats. *Handbook of Cereal Science and Technology*. 2. New York: Kulp K and Ponte JG. (Eds.). Marcel Dekker, 2000, págs. 127-148.
67. Bejosano FP, & Corke H. Protein quality evaluation of Amaranthus wholemeal flours and protein concentrates. *J Sci Food Agric*, 1998, 76(1), 100-106.
68. Alvarez-Jubete L, Arendt EK, & Gallagher E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends Food Sci Technol*, 2010, 21(2), 106-113.
69. Rzendowski y Rzendowski. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2011.
70. Argueta, 1994. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/> [Revisado el 4 de junio de 2014].
71. Villaseñor, JL; Espinosa, GFJ. *Catálogo de malezas de México*. 1998. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica.
72. Perdomo, RF; Mondragón, PJ; Vibrans, H. 2009. <http://www.conabio.gob.mx> [Revisado el 4 de junio de 2014].

73. Zita, PG. *Resistencia de malas hierbas a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa*. Edafología y Química Agrícola, Universidad de Córdoba. Córdoba : Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, 2012. p. 208, Tesis.
74. de Albuquerque, UP; Muniz de Medeiros, P; de Almeida, AL; Monteiro, JM; Machado de Freitas, LNE; Gomes de Melo, J; dos Santos JP. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *J Ethnopharmacol*. 2007, 114: 325-354.
75. Benítez, G; González-Tejero, MR; Molero-Mesa, J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): thnopharmacological synthesis. *J Ethnopharmacol*. 2010. 129: 87-105.
76. Berenzon, S; Saavedra, N. Presencia de la herbolaria en el tratamiento de los problemas emocionales: entrevista a los curanderos urbanos. *Salud Mental*. 2002, 25: 55-66.
77. Balbi, APC; Campos, KE; Alves, MJQF. Efeito hipotensor do extrato aquoso de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) em ratos. *Rev Bras PI Med*. 2008. 10: 51-56.
78. Ribeiro, RA; Fiuza de Melo, MM; De Barros, F; Gomes, C; Trolin, G. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo. *J Ethnopharmacol*. 1986, 15: 261-269.
79. Benítez, G; González-Tejero, MR; Molero-Mesa, J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): thnopharmacological synthesis. *J Ethnopharmacol*. 2010, 129: 87-105.
80. Jouad, H; Haloui, M; Rhiouani, H; El Hilaly, J; Eddouks, M. Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *J Diabetes Metab*. 2002, 10: 33-50.
81. Aguilar Mariscal, H; Méndez Córdova, E; Rodríguez Vázquez, T; Blé Castillo, JL; Ramón Farías, T; Tovilla Zárate, CA. Plantas utilizadas en la medicina tradicional de Tabasco para bajar de peso. Laboratorios Mixim, Villahermosa, México. 2013.
82. Ribeiro, RA; Barros, F; Fiuza, MMR; Celi Muniz, MC; Chielia, S; Wenderley, G; Gomes, C; Trolin, G. Acute diuretic effects in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo, Brazil. *J Ethnopharmacol*. 1988, 24: 19-29.
83. Novas MJ, Jiménez AM y Asuero AG. Determination of Antioxidant Activity of Canary Seed Infusions by Chemiluminescence 1. *J Anal Chem*, 2004, 59(1): 84-86.
84. Magnuson, BA; Patterso, CA; Hucl, P; Newkirk, RW; Rame, JI; Classen, HL. Safety assessment of consumption of glabrous canary seed (*Phalaris canariensis* L.) in rats *Food Chem Toxicol*. 2014, 63: 91-103.

85. Abdel-Aal, E-SM; Hucl, M; Miller, P; Patterson, S; Gray, CAD. Microstructure and nutrient composition of hairless canary seed and its potential as a blending flour for food use. *Food Chemistry*. 2011, 125: 410-416.
86. Hucl P, Han HL, Abdelaal EM, & Hughes GR. Development and Quality of Glabrous Canaryseed, April 1, 1997-March 31, 2001: Final Report. 2001. Canada-Saskatchewan: Agri-Food Innovation Fund, 2001.
87. Chung, OK y Ohm, JB. Cereal Lipids. [ed.] Marcel Dekker. Handbook of Cereal Science and Technology. 2. New York : Kulp, K and Ponte, J.G. (Eds), 2000, págs. 417-477.
88. Schoenlechner, R, Siebenhandl, S y Berghofer, E. Pseudocereals. [ed.] E.K and Dal Bello, F Arendt. Gluten-free cereal products and beverages. New York : Elsevier, 2008, págs. 149-190.
89. Rosell, CM y Marco, C. Rice. [ed.] E.K and Dal Bello, F. Arendt. Gluten-free cereal products and beverages. 2008, págs. 81-100.
90. OECD. Consensus. Document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients, and secondary plant metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6. [En línea] 2002. <https://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815196.pdf>.
91. Lindeboom N, Chang PR, Falk KC, & Tyler RT. Characteristics of starch from eight quinoa lines. *Cereal Chem*, 2005, 82(2), 216-222.
92. Buckwheat. Wijngaard, HH y Arendt, EK. *Cereal Chem*, 2006, 83: 391-401.
93. Knan K y Shewry PR. Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. 4a Ed. (Eds.). AACC International Inc. [ed.] *Wheat Chemistry and Technology*. Minesota: AACC International Inc., 2009: 179-222.
94. Zhao FJ, Su YH, Dunham SJ, Rakszegi M, Bedo Z, McGrath SP, & Shewry PR. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *J Cereal Sci*, 2009, 49(2), 290-295.
95. Patterson CA y Magnuson B. Documentation Supporting the Generally Recognized. as Safe (GRAS) Status of Glabrous Annual Canary Seed (*Phalaris canariensis* L.) as a Food Cereal Grain. Canaryseed Development Commission of Saskatchewan. 2014.
96. Youngs, VL y Püskülcü H. Variation in fatty acid composition of oat groats from different cultivars. *Crop Sci*, 1976, 16(6): 881-883.
97. Taira H, Akimoto I y Miyahara T. Effects of seeding time on lipid content and fatty acid composition of buckwheat grains. *J Agric Food Chem*, 1983, 34(1): 14-17.

98. Latham-Michael C. Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29. [En línea] 2000.
<http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s00.htm#Contents>.
99. Määttä K, Lampi AM, Petterson J, Fogelfors BM, Piironen V, & Kamal-Eldin A. Phytosterol content in seven oat cultivars grown at three locations in Sweden. *J Sci Food Agric*, 1999, 79(7), 1021-1027.
100. Piironen V, Lampi AM, Ekholm P, Salmenkallio-Marttila M, & Liukkonen KH. Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. *Wheat: Chemistry and technology*, (Ed. 4), 2009: 179-222.
101. Andersson AA, Lampi AM, Nyström L, Piironen V, Li L, Ward JL, ... & Fras A. Phytochemical and dietary fiber components in barley varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(21): 9767-9776.
102. Takagi T, & Iida T. Antioxidant for fats and oils from canary seed: Sterol and triterpene alcohol esters of caffeic acid. *J Am Oil Chem Soc*, 1980, 57(10), 326-330.
103. Reddy NR. Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. *Food phytates*, 2002: 25-51.
104. Kumar V, Sinha AK, Makkar HP, & Becker K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem*, 2010, 120(4), 945-959.
105. Hídvégi M, & Lásztity R. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with proteins. *Periodica Polytechnica. Chem. Eng*, 2002, 46(1-2), 59.
106. Naczki M y Shahidi R. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2006, 41(5):1523-1542.
107. Li W, Qiu Y, Patterson CA, & Beta T. The analysis of phenolic constituents in glabrous canaryseed groats. *Food Chem*, 2011, 127(1), 10-20.
108. Abdel-Aal ESM, Hucl P, Patterson CA, & Gray D. Phytochemicals and heavy metals content of hairless canary seed: A variety developed for food use. *LWT-Food Sci Technol*, 2011, 44(4), 904-910.
109. Anderton N, Cockrum PA, Colegate SM, Edgar JA, & Flower K. Assessment of potential for toxicity of *Phalaris* spp. via alkaloid content determination: *P. coerulescens*, a case example. *Phytochem Anal*, 10(3), 113-118. Anderton, N, y otros. 3, 1999, *Phytochem Anal*, Vol. 10, págs. 113-118.
110. Zhou L, Hopkins AA, Huhman DV, & Sumner LW. Efficient and sensitive method for quantitative analysis of alkaloids in hardinggrass (*Phalaris aquatica* L.). *J Agric Food Chem*, 2006, 54(25), 9287-9291.

111. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol*, 1928, 89(1): 24-33.
112. Inchiosa, MA. Evidence (mostly negative) with the use of sympathomimetic agents for weight loss. *J Obesity*, 2011: 1-4.
113. Acosta JA, Alvarado RRG, & Mendoza YP. Phalaris Canariensis effect In The Prevention And Control Of Metabolic Syndrome Induced For Hypercaloric Diet. Modulating Oxidative Stress In Rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2011, 113:16-17.
114. Klevay, LM. Hypocholesterolemia due to sodium phytate. *Nutr Rep Int*, 1977, 15: 587-95.
115. Bonet MA y Vallès J. Pharmaceutical Ethnobotany in the Montseny Biosphere Reserve (Catalonia, Iberian Peninsula). General Results and New or Rarely Reported Medicinal Plants. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(2): 259-70.
116. Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, & Lemhadri A. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 2007, 5(4), 194-203.
117. Merzouki A, Ed-Derfoufi F y Molero-Mesa J. Contribution to the Knowledge of Rifian traditional medicine III: Phytotherapy of Diabetes in Chefchaouen province (North of Morocco). *Ars Pharmaceutica*, 2007, 44(1): 59-67.
118. Costa-Neto EM y Oliveira MVM. The use of medicinal plants in the county of Tanquinho, State of Bahia, northeastern Brazil. *Rev Bras PI Med*, 2000, 2(2): 1-8.
119. Wright CI, Van-Buren L, Kroner CI, & Koning MMG. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. *J Ethnopharmacol*, 2007, 114(1): 1-31.
120. Poudyal H, Kumar SA, Iyer A, Waanders J, Ward LC, & Brown L. Responses to oleic, linoleic and α -linolenic acids in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(7): 1381-1392.
121. Smedman, A y Vessby, B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans metabolic effects. *Lipids*, 2001, 36(8): 773-81.
122. Valverde ME, Orón-Tamayo D, Nieto-Rendón B, & Paredes-López O. Antioxidant and Antihypertensive Potential of Protein Fractions from Flour and Milk Substitutes from Canary Seeds (*Phalaris canariensis* L.). 1, 2017, *Plant Foods Hum Nutr*, 2017, 72(1): 20-5.
123. Huang, P. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *TEAM*, 2009, 20: 295-302.

124. Bi'e Tan XL, Yin Y, Wu Z, Liu C, Tekwe CD, & Wu G. Regulatory roles for L-arginine in reducing white adipose tissue. *Front Biosci*, 2012, 7: 2237–2246.
125. Mohan S, Patel H, Bolinaga J & Soekamto N. AMP-activated protein kinase regulates L-arginine mediated cellular responses. *Nutr Metab*, 2013,10(1): 1-9.
126. Wu G, Collins JK, Perkins-Veazie P, Siddiq M, Dolan KD, Kelly KA, ... & Meininger CJ. Dietary supplementation with Watermelon Pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*, 2007, 137(2): 2680-2685.
127. Clemmensen C, Madsen AN, Smajilovic S, Holst B, Bräuner-Osborne H. L-Arginine improves multiple physiological parameters in mice exposed to diet-induced metabolic disturbances. *Amino Acids*, 2012, 43(3): 1265-1275.
128. Wu Z, Satterfield MC, Bazer FW, & Wu G. Regulation of brown adipose tissue development and white fat reduction by L-arginine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2012, 15(6): 529-538.
129. Li, W y Beta, T. An evaluation of carotenoid levels and composition of glabrous canaryseed. *Food Chem*, 2012, 133(3): 782-786.
130. Rayalam S, Della-Fera y Baile CA. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J Nutr Biochem*, 2008, 19(11): 717-726.
131. Paiva LBD, Goldbeck R, Santos WDD, & Squina FM. Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. *Brazilian Journal Pharmaceutical Sciences*, 2013, 49(3): 395-411.



E-ISSN: 2321-2187
P-ISSN: 2394-0514
IJHM 2017; 5(4): 39-46
Received: 09-05-2017
Accepted: 10-06-2017

Lorena Mendiola Almaraz
Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Apartado Postal No.
70-297, 04510 Ciudad de México,
México

Juan Luis Escobar Ramírez
Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Apartado Postal No.
70-297, 04510 Ciudad de México,
México

Jacinto Santiago Mejía
Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Apartado Postal No.
70-297, 04510 Ciudad de México,
México

Gil Alfonso Magos Guerrero
Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Apartado Postal No.
70-297, 04510 Ciudad de México,
México

Correspondence
Gil Alfonso Magos Guerrero
Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Apartado Postal No.
70-297, 04510 Ciudad de México,
México

Effects profiles of complete aqueous extract and hexane and aqueous fractions of *Phalaris canariensis* L. seeds on fructose-induced metabolic syndrome in rats

Lorena Mendiola Almaraz, Juan Luis Escobar Ramírez, Jacinto Santiago Mejía and Gil Alfonso Magos Guerrero

Abstract

Phalaris canariensis L. (*P. canariensis*), commonly known as canary seed, is used in the traditional medicine of Mexico for the treatment of hypertension, diabetes, and obesity. Recent preclinical studies with different *P. canariensis* seed extracts support such uses. The main interest of this study was to describe the protective effect of the seeds on fructose-induced metabolic syndrome (MS) in rats and to assess the benefits gained from use of a complete aqueous extract. Our results indicate that the antihypertensive component(s) of *P. canariensis* seeds is (are) found in the aqueous fraction and that the substances responsible for the effects on obesity are found in both the aqueous and the hexane fractions. We conclude that both fractions are effective in attenuating manifestations of MS, and that administration of the complete aqueous extract of the *P. canariensis* seed is necessary for effective control when the *P. canariensis* seeds are used as an alternative herbal medicine.

Keywords: *Phalaris canariensis*, metabolic syndrome, seeds extract, rats

1. Introduction

Metabolic syndrome (MS) is characterized by high waist circumference (WC), atherogenic dyslipidemia, elevated blood pressure, insulin resistance, high fasting glucose, increased risk for cardiovascular disease (CVD), and diabetes mellitus type 2 [1]. MS is diagnosed if a person has at least three of the following metabolic risk factors: a large waistline, high blood pressure, high fasting blood glucose, high serum triglycerides (TGs), and a low HDL-C level [2]. In Mexico, the prevalence of MS has increased alarmingly; for example, in obese children and adolescents treated at a hospital clinic, the prevalence of MS was 36.7%; it was higher in females (41.7 vs. 33.3%) [3]. Lifestyle (diet and physical activity) interventions have been indicated as most important for treating this multifactorial syndrome and further trials are needed on interventions affecting three or more factors [4].

Since medicinal plants contain numerous active ingredients, it is possible to treat SM with a single plant. The ability of herbs and spices to reduce the symptoms associated with metabolic syndrome is promising. Based on cell cultures along with animal and human studies, it appears that several commonly used spices have the potential to regulate glucose, lower LDL and total cholesterol, and exert antioxidant and anti-inflammatory effects [5]. In recent years, increasing scientific evidence has emerged regarding the role of *P. canariensis* seeds as a promising therapeutic agent in the treatment of metabolic disorders. Canary seed (*Phalaris canariensis*) is used as food for birds but this cereal has recently been shown to have promising nutraceutical potential for humans [6]. In Mexican traditional medicine, it is used for the treatment of hypertension, diabetes, and obesity [7-9]. In laboratory experiments, the hexane extract of *Phalaris canariensis* seeds has been shown to reduce serum glucose and inhibit insulin resistance, lipid abnormalities, and oxidative stress in streptozotocin-induced mildly diabetic and severely diabetic mice [9]. However, no change in plasma lipids was observed in rats with induced hyperlipidemia treated with the hydroalcoholic extract of canary grass seeds [10]. In a chronic inflammation model (cotton pellet-induced granuloma), the chloroform extract of *P. canariensis* exhibited an anti-inflammatory effect through mechanisms involving reduced neutrophil influx and decreased production of inflammatory cytokines [11]. The aqueous extract of *P. canariensis* showed a hypotensive effect in anesthetized Wistar rats, without renal alterations [12], in addition to a vasodilator effect by nitric oxide induction of venous inflow [13]. In adult normotensive Wistar rats and spontaneously hypertensive rats (SHRs) and in prehypertensive young SHRs (SHRYs, 3 weeks old) treated with *P. canariensis*, an antihypertensive effect was observed, without induction of any significant risk of

nephrotoxicity [14]. Due to the fact that much of the aforementioned work on *P. canariensis* was carried out with either polar or non-polar extracts, the aim of the present study was to systematically establish the *in vivo* effects of the complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds on fructose-induced metabolic syndrome in rats in addition to the activity against the same MS of two fractions containing substances of different solubility.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals

A commercial formulation of crystalline fructose powder (Archer Daniels Midland Company, USA) was used. Seeds of *P. canariensis* were purchased at the Sonora market in Mexico. Histological sections of the seed ruled out the presence of spicules in the glumes (palea and lemma), indicating that the material used was *P. canariensis* [15]. Kits for determination of serum TGs, HDL-C, and glucose were supplied by Polymer Technology Systems®. All chemicals used in the study were high purity analytical grade obtained from Sigma-Aldrich and Merck.

2.2 Preparation of plant extracts

A total of 100 g of *P. canariensis* seeds was macerated with double distilled water at room temperature (20-22 °C) for 8 h. The macerate was liquefied and filtered through a medium mesh plastic strainer. The filtrate was dried at room temperature with constant ventilation for 6 h. The dried residue was pulverized to a particle size capable of passing through a 60-micron mesh, producing the complete aqueous extract (yield=35%). A part of this crude extract (10 g) was partitioned with hexane. Two parts were obtained from this process: the hexane-insoluble part (96%) and the soluble part (3.58%). The latter extract was filtered and concentrated by a rotary vacuum evaporator and kept in a vacuum desiccator for complete hexane removal.

2.3 Animals

The study was conducted in 90-day-old male Wistar rats. All animals were studied at the vivarium of the Department of Pharmacology at the UNAM School of Medicine by trained personnel, housed in wire cages (3 per cage), maintained at 21–23 °C and 60% humidity, subjected to a 12-h light/12-h dark cycle, and given pellet food (Purina 5001 Rodent Laboratory Chow) and tap water *ad libitum* for three weeks so that they might adapt to the laboratory environment prior to the experiments. The experiments reported in this study were conducted in accordance with our Federal Regulations for Animal Experimentation and Care (NOM-062-ZOO-1999 and NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002) and official international guidelines (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication 85-23, revised in 1985).

2.4 Induction of metabolic syndrome

In order to determine the concentration and time of fructose intake needed to induce MS, in a first series of experiments, forty animals were randomly divided into the following four groups (10 rats per group): three groups were fed with experimental high-fructose diets consisting of 70%, 80%, or 90% normal rat chow pellets enriched, respectively, with 10%, 20%, or 30% fructose, plus free access to 10% (10MS group), 20% (20MS group), and 30% (30MS group) fructose w/v in drinking water for 12 weeks for induction of MS. Control group rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water.

2.5 Metabolic syndrome treatment

In a second series of experiments, twenty-four rats with MS induced after three months of ingesting 10% fructose in the food and drinking water were randomly divided into the following four groups (6 rats per group): MS + SS control group: rats received an oral dose of 0.2 mL/100g/day of saline solution (SS); MS + *Pc* group: rats received an oral dose of 310 mg/kg/day of complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds; MS + sib group: rats received an oral dose of 5 mg/kg/day of sibutramine. All treatments lasted 8 weeks, during which the rats were fed the same diet that induced MS. Non-MS group: rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water. In a third series of experiments, thirty-six rats with MS induced after three months of ingesting 10% fructose in the food and drinking water were randomly divided into the following 6 groups (6 rats per group): MS + SS control group: rats received an oral dose of 0.2 mL/100g/day of SS; MS + aqueous group: rats received an oral dose of 310 mg/kg/day of aqueous fraction (hexane-insoluble part) of *P. canariensis* seeds; MS + Tween group: rats received an oral dose of 0.2 mL/100g/day for SS with 1% of Tween 80. MS + hex group: rats received an oral dose of 310 mg/kg/day of hexane fraction (hexane-soluble part). All treatments lasted 8 weeks, during which the rats were fed the same diet that induced MS. Non-MS group: rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water.

2.6 Prevention of metabolic syndrome

In a fourth series of experiments, twenty-four rats were randomly divided into the following 4 groups (6 rats per group): fructose + SS control group: rats received an oral dose of 0.2 mL/100g/day of SS; fructose + *Pc* group: rats received an oral dose of 310 mg/kg/day of complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds; fructose + sib group: rats received an oral dose of 5 mg/kg/day of sibutramine. All treatments lasted 12 weeks, during which the rats received Purina chow and drinking water with 10% fructose each. Non-MS group: rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water.

2.7 Determination of metabolic and clinic alterations

Systolic blood pressure (SBP), Lee index (LI), waist circumference (WC), body weight (BW), TGs, HDL-C, and glucose were measured every month and for two to three consecutive months. LI and WC were determined in rats previously anesthetized with sodium pentobarbital (30 mg/kg).

2.8 Measurement of blood pressure

SBP measurements were taken monthly; the rats were maintained at 32 °C in an LE 5650/6 heater and scanner unit (Leticia Scientific instruments). A pulse transducer and pressure cuff (LE 5160/R) were placed around the rat tail and connected to an LE 5007 automatic blood pressure computer. SBP was recorded using the standard tail cuff method three times for each. The mean of three consecutive readings was used.

2.9 Obesity indicators

The body weight of each rat was measured once per week and the total amount of food consumed was recorded three times each week. In previously anesthetized rats, WC was measured 2 cm below the rib rim and rat length was measured from the tip of the snout to the anus. Subsequently, IL was calculated according to the following formula [16]: $IL = ({}^3\sqrt{p})/L_{na}$, where

$\sqrt[3]{}$ = cubic root, p = body weight (g), L_{na} = naso-anal length (cm).

2.10 Biochemical tests

TGs, HDL-C, and glucose were determined using metabolic panel reagent strips (REF 2400) and a CardioChek PA analyzer (Polymer Technology Systems®). Every morning, one hour after the food was removed, 40 μ L of blood was taken from the capillaries of the caudal vein.

2.11 Statistical analysis

Experiments to induce metabolic syndrome were carried out ten times, and the other experiments were carried out six times. The results are reported as mean values \pm the standard

error of the median. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 7 software (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). For multiple comparisons, a one-way ANOVA followed by Dunnett's test ($p < 0.05$) was performed in order to detect statistical differences.

3. Results

3.1 Induction of metabolic syndrome

The MS indicators for the first series of experiments are shown in Figure 1. In all groups (10MS, 20MS, and 30MS), additional fructose intake significantly increased TGs and three clinical indicators: weight/length ratio (LI), WC, and SBP ($p < 0.05$, $p < 0.005$). This MS profile was very consistent at 60 and 90 days.

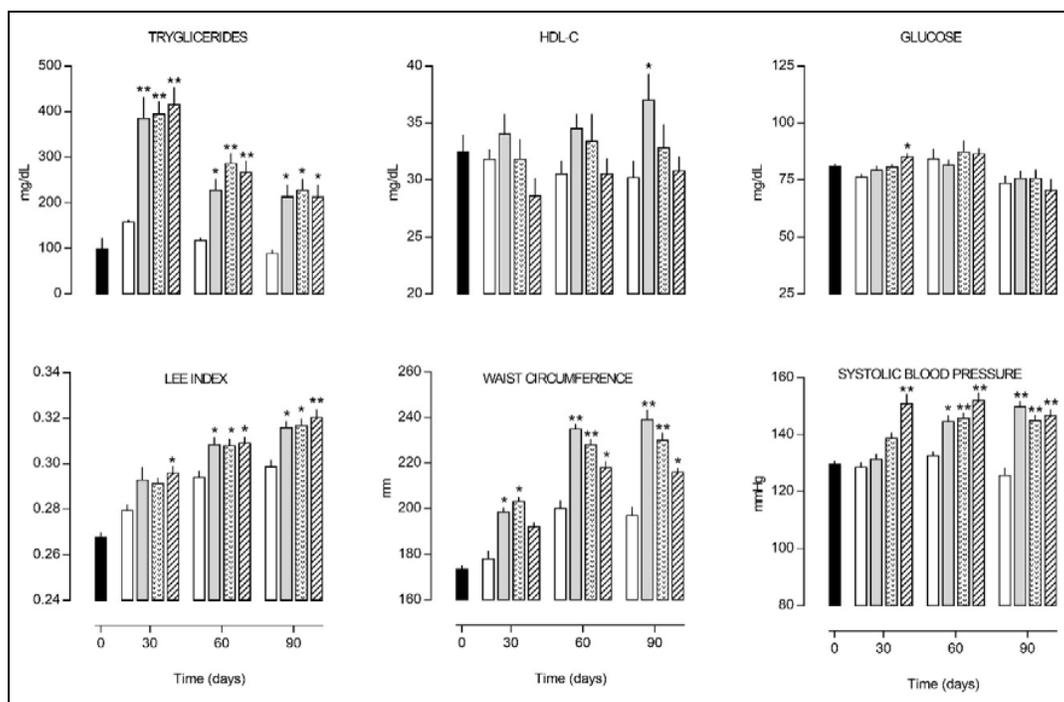


Fig 1: Effect of administration of 10% (□ 10MS), 20% (▨ 20MS), and 30% (▩ 30MS) fructose on TG, HDL-C, glucose, LI, WC, and SBP levels. Fructose was added to the food and drinking water in the same percentage. These indicators were measured at time zero (■, n=40^a) and after the three groups were formed (10 rats per group) at 30, 60, and 90 days of fructose consumption. In the control group (□), fructose was not added to food or water. Each bar represents the mean \pm SEM. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.005$ significance level compared to the corresponding control group. ^aTime zero represents the mean of all animals studied.

A significant increase in TG levels was observed in all groups after the 30 days of fructose consumption. Inconsistent differences were observed in HDL-C (1MS) and glucose (3MS) levels between the control group and the fructose-fed groups. Based on this first series of experiments, feeding adult rats with a purified high-fructose (10%) diet plus 10% in drinking water for 90 days was judged to be an appropriate protocol for the rest of the experiments reported in this work.

3.2. Treatment of metabolic syndrome

The profile effects due to the oral administration of SS (2 mL/100 g/day), sibutramine (5 mg/kg/day), or complete

aqueous extract of *P. canariensis* seeds (310 mg/kg/day) in rats with MS induced by a diet supplemented with 10% fructose for 90 days are summarized in Figure 2.

The results of this second series of experiments show that the oral administration of complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds (MS + Pc group) at a dose of 310 mg/kg/day to SM rats for 60 days significantly ($p < 0.05$, $p < 0.005$) reduced the high recorded values of LI, WC, TGs, and SBP, while no effects were observed for HDL-C or glucose compared to the control group (MS + SS control group).

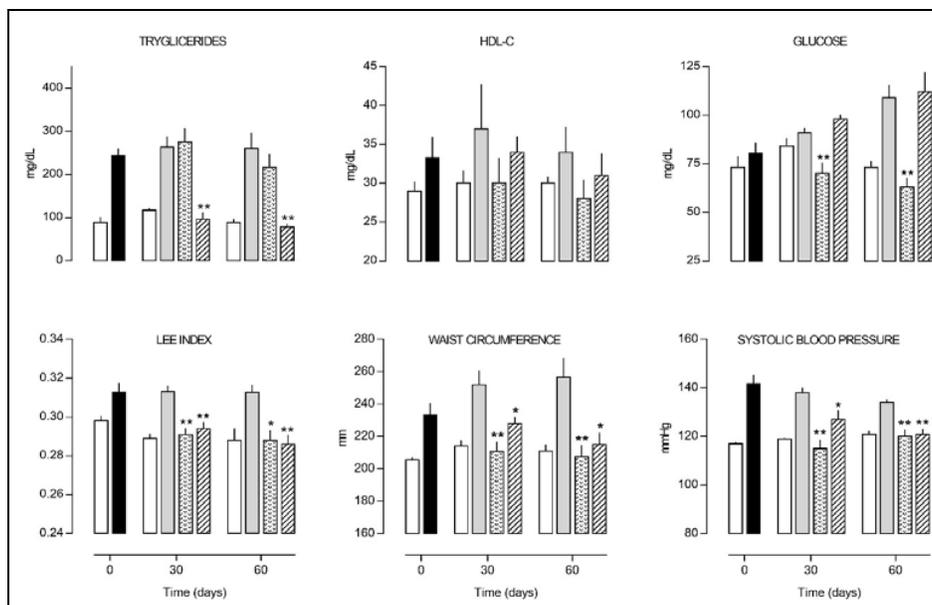


Fig 2: Effect of administration of saline solution (□ MS + SS group), sibutramine (▨ MS + sib group), or complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds (▩ MS + Pc group), in rats with MS induced with 10% fructose added in food and drinking water. TG, HDL-C, glucose, LI, WC, and SBP levels were measured at time zero (■, n=18^a) and after the three groups were formed (6 per group) at 30 and 60 days of fructose consumption plus co-administration of treatments. In the non-MS group (□), rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water. Each bar represents the mean ± SEM. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.005$ significance compared to the corresponding control group (□ MS + SS group). ^a Time zero represents the mean of all animals studied.

The daily administration of sibutramine at a dose of 5 mg/kg/day to the positive control group (MS + sib group) for 60 days significantly reduced the same indicators of MS that the complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds reduced. In addition, sibutramine produced a significant reduction in blood glucose level ($p < 0.05$).

The profile effects due to the oral administration of 0.2 mL/100 g/day of SS with 1% Tween 80 (MS + Tween group), 310 mg/kg/day of hexane fraction of *P. canariensis* seeds

(MS + hex group), 0.2 mL/100 g/day of SS (MS + SS group), or 310 mg/kg/day of aqueous fraction of *P. canariensis* seeds (MS + aqueous group) in rats with MS induced by a diet supplemented with 10% fructose for 90 days are summarized in Figures 3 and 4. In both figures, time zero represents the mean of all animals studied, and the means of the records obtained from the non-MS group are the same.

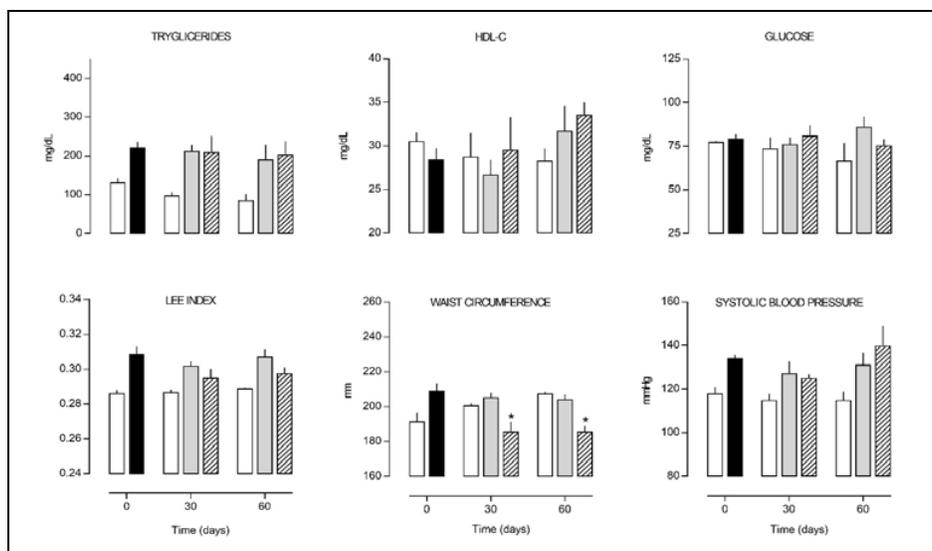


Fig 3: Effect of administration of Tween (□ MS + Tween control group) or hexane fraction of *P. canariensis* seeds (▨ MS + hex group), in rats with MS induced with 10% fructose added in food and drinking water. TG, HDL-C, glucose, LI, WC, and SBP levels were measured at time zero (■, n=12^a) and after the three groups were formed (6 per group) at 30 and 60 days of fructose consumption plus Tween or hexane fraction. In the non-MS group (□), rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water. Each bar represents the mean ± SEM. * = $p < 0.05$ significance compared to the corresponding control group (□ MS + Tween group). ^a Time zero represents the mean of all animals studied.

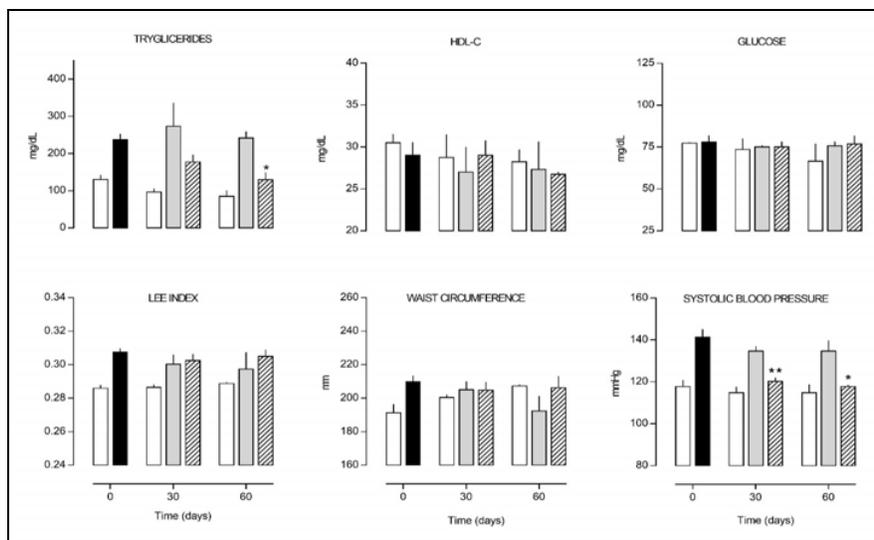


Fig 4: Effect of administration of SS (▨ MS + SS control group) or aqueous fraction of *P. canariensis* seeds (▩ MS + aqueous group), in rats with MS induced with 10% fructose added in food and drinking water. TG, HDL-C, glucose, LI, WC, and SBP levels were measured at time zero (■, n=12^a) and after the three groups were formed (6 per group) at 30 and 60 days of fructose consumption plus SS or polar extract. In the non-MS group (□), rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water. Each bar represents the mean ± SEM. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.005$ significance compared to the corresponding control group (▨ MS + SS control group). ^a Time zero represents the mean of all animals studied.

This third series of experiments revealed that the oral administration of hexane fraction of *P. canariensis* seeds (MS + hex group) at a dose of 310 mg/kg/day in SM rats for 60 days significantly reduced ($p < 0.05$) the high recorded values of WC, while no effects were observed in the other SM indicators when compared to the MS + Tween control group (Figure 3). In contrast, daily administration of or aqueous fraction of *P. canariensis* seeds at a similar dose of 310 mg/kg/day to SM rats for 30 and 60 days significantly reduced SBP ($p < 0.005$, $p < 0.05$). The results also demonstrate a significant control of TGs up to 60 days of treatment with

responses that were lower than those observed in the MS + *Pc* group.

3.3 Prevention of metabolic syndrome

The effects observed in TG, HDL-C, and glucose levels, as well as in LI and WC due to the oral administration of fructose plus co-administration of SS (2 mL/100 g/day), sibutramine (5 mg/kg/day), or complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds (310 mg/kg/day) for 90 days in normal rats are summarized in Figure 5.

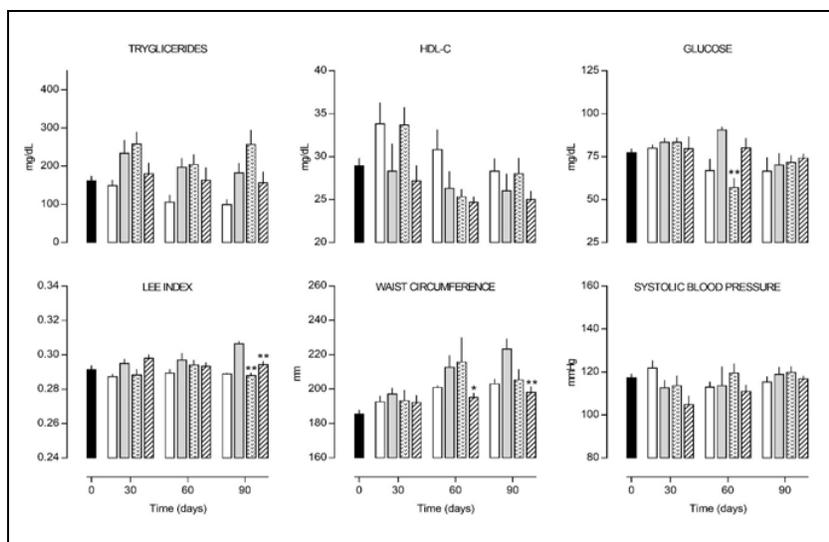


Fig 5: Effect of administration of saline solution (▨ fructose + SS control group), sibutramine (▩ Fructose + sib group), or complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds (▩ fructose + *Pc* group) on TG, HDL-C, glucose, LI, WC, and SBP levels. Fructose was added in the same percentage (10%) to the food and drinking water. These indicators were measured at time 0 (■, n=24^a) and after the three groups were formed (6 rats per group) at 30, 60, and 90 days of treatment. In the non-fructose group (□), rats received Purina chow without added fructose and normal drinking water. Each bar represents the mean ± SEM. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.005$ significance compared to the corresponding control group. ^a Time zero represents the mean of all animals studied.

This fourth and final series of experiments showed that a dose of 310 mg/kg/day of complete aqueous extract of *P. canariensis* seeds significantly prevented an increase in LI ($p < 0.005$) and WC at 90 days, while no effects were observed in the other SM indicators compared to the fructose + SS control group (Figure 4). The oral administration of a daily dose of sibutramine (5 mg/kg/day) in rats that consumed 10% in food and drinking water also prevented an increase in LI at 90 days and significantly ($p < 0.005$) reduced blood glucose at 60 days.

4. Discussion

Intake for 60 and 90 days of 10%, 20%, or 30% fructose added to the food and drinking water of the Wistar rats resulted in increased TGs, LI, and SBP to a similar degree at all three concentrations of fructose employed. These results are consistent with numerous studies in which intake of fructose was shown to cause metabolic changes in animal models, mainly with regard to weight gain, hyperlipidemia [17], and hypertension [18]. They also agree with a study conducted in Sprague-Dawley rats in which 10% fructose in drinking water produced hypertensive and hyperlipidemic effects similar to those obtained when the rats consumed 60% fructose added to the diet [19]. The decision to use 10% fructose to induce SM and administer the *P. canariensis* treatments was based on the fact that the animals that received this concentration had the best nutritional balance. There is evidence that the amount of food that rats eat depends more on the balance of kilocalorie (kcal) intake than it does on the smell, taste, and color of the food, which are important factors in the excessive intake of calories in humans [20]. Our results, not yet published, show that animals fed diets supplemented with fructose (10, 20, and 30%), from the first month modulate and compensate their kcal intake by eating less food than the control group. This behavior compensates for increased calories due to the addition of fructose to the food and drinking water, and it is consistent with Steve M. *et al.*, who observed a gradual decrease in food intake in rats that had *ad libitum* access to high-carbohydrate diets for long periods of time [21]. However, in the groups treated with 20% and 30% fructose, the lower food intake significantly decreased the intake of proteins and fats compared to the group treated with 10% fructose.

The results of this study reveal that the daily oral administration of 310 mg/kg aqueous extract of *P. canariensis* seed is more efficacious in the treatment of MS induced by 10% fructose than the administration of the hexane and water fractions obtained from this extract. The significant decrease in TGs and SBP observed in the MS + *Pc* group coincides with the findings of a study presented at the 34th Congress of the Spanish Society of Pharmacology by another research group, which also noted that the *P. canariensis* seed decreases glucose and protects against oxidative damage in rats with MS [22]. The decreases in LI and WC observed in this study's MS + *Pc* group strengthen the highly significant evidence that a complete aqueous extract of canary seed is effective; from 30 to 60 days of treatment, it reduces the increase found in the three indicators (TGs, LI, and SBP) that allowed for the characterization of the fructose-induced MS.

The 310 mg/kg dose of aqueous extract that we utilized was estimated based on information provided by folk healers from the Sonora market in Mexico, who prepare a homemade formulation called *leche de alpiste* (canary seed milk) for a person with approximately 70 kg body weight. This dose, also used in the hexane and water fractions, allowed for the dispersion of each treatment in its respective vehicle and for a

relatively uncomplicated daily intraoral administration.

Field studies indicate that the *P. canariensis* seed has anti-diabetic [8, 23-25], diuretic [7, 26, 27], hypocholesterolemic [7, 23] and antihypertensive [7] properties. However, with regard to its use in the treatment of obesity, there is a lack of ethnobotanical studies that would allow for the appropriate characterization of such use. Nevertheless, experimental studies found that 400 mg/kg/day for 30 days of a *P. canariensis* seed extract obtained with hexane produced a significant reduction in body weight, blood glucose, serum cholesterol, TGs, lipoproteins, and increased HDL-C in high-fat-diet-induced obese and streptozotocin-induced diabetic mice, probably as a result of serum insulin decreasing oxidative stress [28] or through the inhibition of enzymes related to obesity and diabetes mellitus [9]. In contrast, our results show that in Wistar rats, the treatment of the MS + hex group with a hexane extract significantly decreased only WC without modifying the LI or TGs. One possible explanation for this difference lies in the effects reported for the type of unsaturated fatty acids contained in *P. canariensis* seeds (the total amount of crude fat, 8.7%, contains 55% linoleic, 29% oleic, 11% palmitic, and 2.5% linolenic acid) [15], which are extracted by hexane. It has been reported that in rats with diet-induced obesity, the aforementioned fatty acids produce a redistribution of lipids from the abdomen to the rest of the body. Linoleic acid and alpha-linolenic acid, unlike oleic acid, do not increase body adiposity; oleic acid reduces total plasma cholesterol but does not affect TG or non-esterified fatty acid levels [29]. The effect that seems to prevail in our results is the redistribution of abdominal fat, which decreased WC without modifying body weight and TG levels. This finding coincides with data observed in humans in which consumption of unsaturated fatty acids does not appear to produce major effects on body weight or serum lipids [30]. In contrast, 60 days of treatment with the aqueous extract in the MS + aqueous group resulted in a significant decrease in SBP and TG levels. The hypotensive and antihypertensive effects has been reported in numerous studies that evaluated aqueous extracts [6, 12-14, 31] of *P. canariensis* seeds, which, in relation to the high protein content (18.7%) and high concentrations of amino acids such as cystine, tryptophan, phenylalanine and leucine (3.3, 2.8, 6.7 and 7.0g/100 g of protein respectively) [15], explained the hypotensive effect of the seed through the contribution to vessel relaxation and reduction of blood pressure made by the metabolism of tryptophan to kynurenine effected by the indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) pathway [32], and it was also explained by encrypted peptides in the seed's proteins that exhibit inhibitory activity against angiotensin-converting enzyme, a target in the treatment of systemic hypertension [6, 13].

The decrease in TGs due to the components of the seed that are soluble in an aqueous medium may be associated with the presence of phytate (18.2 mg/g) [33] because it has been observed that at physiological dosages (0.1–0.5% of diet), phytate inhibits rise in hepatic total lipids and triglycerides, resulting from administration of sucrose. The mechanism of this hypolipidaemic effect in the liver appears to be related to the inhibition of hepatic enzymes involved in lipogenesis [34].

As shown in Figures 4 and 5, the sum of the effects produced by the administration of the hexane and the aqueous fractions does not reproduce all of the effects nor the same improvement in MS observed with the administration of the complete aqueous extract. It is clear that the presence of various compounds of different polarity in the complete aqueous extract increases the efficacy and probably the potency of the active substances. However, the activity of

each compound has yet to be identified, so that their possible pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions may be explored, thus substantiating the superiority shown by the complete extract over the fractions in the treatment of experimental MS. It is important to mention that during the conduct of the experiments no toxic effects were observed with any of the *P. canariensis* seed treatments, which is consistent with an extensive toxicological study that concluded that glabrous canary seed groats would be generally recognized as safe for consumption in their intended use in food [35]. In contrast, sibutramine used in this study as positive control has been withdrawn from the world market because it increases the risk of cardiovascular adverse events [36].

5. Conclusion

This study shows that an intraorally administered complete aqueous extract of *P. canariensis* seed is superior to the fractions obtained from this extract against some indicators of MS such as hypertriglyceridemia and increased WC and LI, observed in Wistar rats as a result of the addition of fructose in food and drinking water. This study provides evidence for and supports the general idea that the complete mixture of substances contained in the natural form of some plants improves effectiveness in the treatment of clinical entities that, as in MS, have multiple physiopathological manifestations. The preventive and palliative effects of the complete aqueous extract of *P. canariensis* seed in addition to the large concentrations of protein, essential amino acids, and unsaturated fatty acids that it contains make this plant a good prospect for studies in humans in order to substantiate its clinical utility.

6. Acknowledgments

This paper constitutes a partial fulfilment of the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of Mexico (UNAM). Lorena Mendiola Almaraz acknowledges the scholarship and financial support provided by the National Council of Science and Technology (CONACyT).

We wish to recognize Mr. Patrick Weill for the correction of the English language and translation into the English language of this text.

7. References

- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005; 365(9468):1415-28.
- Parikh RM, Mohan V. Changing definitions of metabolic syndrome. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012; 16(1):7-12.
- Romero-Velarde E, Aguirre-Salas L, Alvarez-Roman Y, Vasquez-Garibay E, Casillas-Toral E, Fonseca-Reyes S. Prevalence of metabolic syndrome and associated factors in children and adolescents with obesity, in Mexico. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2016; 54(5):568-75.
- Cardona VS, Guzmán VL, Cardona-Arias JA. Systematization of clinical trials related to treatment of metabolic syndrome, 1980–2015. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2017; 64(2):82-91.
- Panickar KS. Beneficial effects of herbs, spices and medicinal plants on the metabolic syndrome, brain and cognitive function. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2013; 13(1):13-29.
- Valverde ME, Orona-Tamayo D, Nieto-Rendón B, Paredes-López O. Antioxidant and Antihypertensive Potential of Protein Fractions from Flour and Milk Substitutes from Canary Seeds (*Phalaris canariensis* L.). *Plant Foods Hum Nutr*. 2017; 72(1):20-5.
- Alvarado-Orozco M, Mendoza-Núñez VM. Prevalencia y factores de riesgo para polifarmacia en adultos mayores del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Rev Mex Cienc Farm*. 2006; 37(4):12-20.
- Romero-Cerecero O, Reyes-Morales H, Aguilar-Santamaría L, Huerta-Reyes M, Tortoriello-García J. Use of medicinal plants among patients with diabetes mellitus type 2 in Morelos, BLACPM. 2009; 8(5):380-88.
- Perez-Gutierrez RM, Madrigales-Ahuatzi D, Cruz-Victoria T. Inhibition by Seeds of *Phalaris canariensis* Extracts of Key Enzymes Linked to Obesity. *Altern Ther Health Med*. 2016; 22(1):8-14.
- Vizconde-Rodriguez AP, Salazar-Castillo ML, Rodriguez-Haro IM, Calderon-Pena AA, Fernandez-Rodriguez LJ. Effect of canary grass (*Phalaris canariensis*) seed extract on the lipid profile of rats with induced hyperlipidemia. *FACEB J*. 2016; 30(1):1016-7.
- Madrigales-Ahuatzi D, Perez-Gutierrez RM. Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Seeds of *Phalaris canariensis*. *Drug Res (Stuttg)*. 2016; 66(1):23-7.
- Balbi APC, Campos KE, Alves MJQF. Efeito hipotensor do extrato aquoso de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) em ratos. *Rev Bras Pl Med Botucatu*. 2008; 10(3):51-6.
- Estrada-Salas PA, Montero-Morán GM, Martínez-Cuevas PP, González C, Barba de la Rosa AP. Characterization of Antidiabetic and Antihypertensive Properties of Canary Seed (*Phalaris canariensis* L.) Peptides. *J Agric Food Chem*. 2014; 62(2):427-33.
- Dos Santos Passos C, De Carvalho LN, Campos RR, Boim MA. Renal and vascular effects of *Phalaris canariensis* in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012; 90(2):201-8.
- Abdel-Aal E-SM, Hucl PJ, Sosulski FW. Structural and Compositional Characteristics of Canaryseed (*Phalaris canariensis* L.). *J Agric Food Chem*. 1997; 45(8):3049-55.
- Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol*. 1928; 89:24-33.
- Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*. 1987; 10(5):512-16.
- Kasim-Karakas SE, Vriend H, Almario R, Chow LC, Goodman MN. Effects of dietary carbohydrates on glucose and lipid metabolism in golden Syrian hamsters. *J Lab Clin Med*. 1996; 128(2):208-13.
- Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Jimenez A, Bautista P, Cristobal M, Nepomuceno T *et al*. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 292(1):F423-9.
- Stubbs RJ, Whybrow S. Energy density, diet composition and palatability: influences on overall food energy intake in humans. *Physiol Behav*. 2004; 81(5):755-64.
- Esteve M, Rafecas I, Fernandez-Lopez J, Remesar X, Alemany M. Effect of a Cafeteria Diet on Energy Intake and Balance in Wistar Rats. *Physiol Behav*, 1994; 56(1):65-71.
- Alvarado-Acosta JL, Noriega-Alvarado RG, Yahuaca-Mendoza P. *Phalaris canariensis* effect in the prevention and control of metabolic syndrome induced for

- hypercaloric diet. Modulating oxidative stress in rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2013; 113:16-7.
23. Bonet MA, Vallès J. Pharmaceutical Ethnobotany in the Montseny Biosphere Reserve (Catalonia, Iberian Peninsula). General Results and New or Rarely Reported Medicinal Plants. *J Pharm Pharmacol.* 2003; 55(2):259-70.
 24. Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie.* 2007; 5(4):194-203.
 25. Merzouki A, Ed-Derfoufi F, Molero-Mesa J. Contribution to the Knowledge of Rifian traditional medicine III: Phytotherapy of Diabetes in Chefchaouen province (North of Morocco). *Ars Pharmaceutica.* 2003; 44(1):59-67.
 26. Costa-Neto EM, Oliveira MVM. The use of medicinal plants in the county of Tanquinho, State of Bahia, northeastern Brazil. *Rev Bras Pl Med.* 2000; 2(2):1-8.
 27. Wright CI, Van-Buren L, Kroner CI, Koning MM. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. *J Ethnopharmacol.* 2007; 114(1):1-31.
 28. Perez-Gutierrez RM, Ahuatzí DM, Horcacitas MC, García-Baez E, Cruz-Victoria T, Mota-Flores JM. Ameliorative effect of hexane extract of *Phalaris canariensis* on high fat diet-induced obese and streptozotocin-induced diabetic mice. *Evid-Based Complement Alternat Med.* 2014; 2014(8):1-13.
 29. Poudyal H, Kumar SA, Iyer A, Waanders J, Ward LC, Brown L. Responses to oleic, linoleic and α -linolenic acids in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem.* 2013; 24(7):1381-92.
 30. Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans--metabolic effects. *Lipids.* 2001; 36(8):773-81.
 31. Passos CS, Carvalho LN, Pontes RB Jr, Campos RR, Ikuta O, Boim MA. Blood pressure reducing effects of *Phalaris canariensis* in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2012; 90(2):201-8.
 32. Wang Y, Liu H, McKenzie G, Witting PK, Stasch JP, Hahn M *et al.* Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation. *Nat Med.* 2010; 16(3):279-85.
 33. Abdel-Aal ESM, Hucl PJ, Patterson CA, Gray D. Phytochemicals and heavy metals content of hairless canary seed: a variety developed for food use. *Food Sci. Technol.* 2011b; 44(4):904-10.
 34. Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, Becker K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem.* 2000; 120(4):945-59.
 35. Patterson CA, Magnuson B. Documentation Supporting the Generally Recognized. as Safe (GRAS) Status of Glabrous Annual Canary Seed (*Phalaris canariensis* L.) as a Food Cereal Grain. Canaryseed Development Commission of Saskatchewan, 2014.
 36. Inghiosa MA. Evidence (mostly negative) with the use of sympathomimetic agents for weight loss. *J Obesity,* 2011, 1-4.

11.2. ANEXO B. Semillas de *Phalaris canariensis* L.

Antes de 1997, las semillas de *P. canariensis* no eran un cereal viable para el consumo, como cereal, para el humano debido a la presencia de espículas, que recubren a la semilla, las cuales, son muy irritantes al entrar en contacto con la piel o los pulmones y se relacionaban con cáncer de esófago. Diversos trabajos fueron realizados para intentar remover las espículas de estas semillas, empleando diversos métodos tanto mecánicos como químicos, pero sin resultados contundentes; no fue hasta los años 90 que se desarrolló un cultivo desarrollado mutagénesis, que permitió eliminar totalmente las espículas y, con esto, evitando los efectos tóxicos presentados con anterioridad (Abdel-Aal et al, 2010).

Micrografías de las semillas completas, utilizadas en el estudio y, cortes histológicos, muestran la ausencia de espículas o restos de estas en la zona de la aleurona y subaleurona; así como también el endospermo amiláceo con gránulos de almidón de diferentes tamaños, que concuerda con el reportado para esta especie (Abdel-Aal et al, 2011).

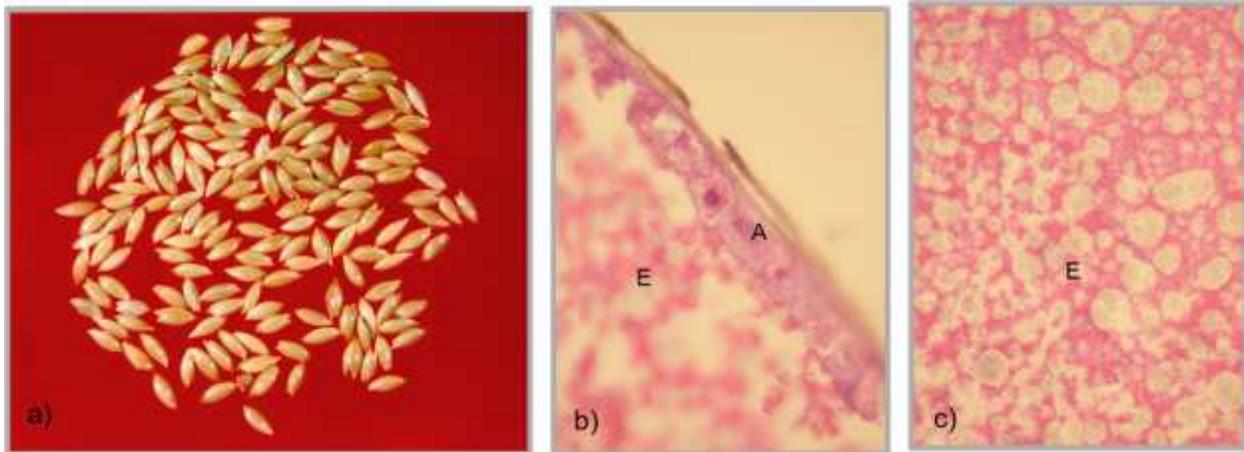


Fig. XIII. Fotografía de las semillas completas de *Phalaris canariensis* (a). Micrografías en campo claro que muestran las regiones aleurona/subaleurona (b) y endospermo amiláceo (c). Imágenes tomadas por el Dr. Miguel Ángel Contreras (24 de febrero de 2011).

11.3. ANEXO C. Marcha fitoquímica

El estudio sistemático de un extracto vegetal con usos populares o descripciones de toxicidad pueden realizarse desde diferentes enfoques: etnofarmacológico, farmacológico, microbiológico, toxicológico y fitoquímico. Este último tiene como finalidad aislar e identificar los diferentes tipos de compuestos que biosintetiza la planta (los que podrán tener o no alguna actividad o toxicidad), y recibe el nombre de screening fitoquímico, tamizaje fitoquímico, marcha fitoquímica o estudio fitoquímico sistemático.

El estudio basado en una marcha fitoquímica, consiste en efectuar una extracción (del material previamente colectado, secado y molido) que permita obtener la mayor parte de los constituyentes químicos (extracto total o crudo o bruto). Para ello se debe utilizar un solvente universal que solubilice (y cosolubilice) la mayoría de los compuestos, siendo los más utilizados el metanol y el etanol. Posteriormente el extracto total se puede fraccionar mediante un cambio de pH, partición con solvente de menor polaridad (acetato de etilo, cloroformo etc.), obteniéndose una serie de fracciones sobre las que se realizan ensayos que permitirán obtener datos sobre los grupos fitoquímicos presentes.

La marcha fitoquímica debe de cumplir con los siguientes requisitos:

- Debe ser simple y rápida.
- Debe ser reproducible.
- Utilizar equipos sencillos.
- Ser relativamente sensible y específica para la o las sustancias a detectar.
- Dará información adicional sobre los grupos detectados.
- Será cualitativa y semicuantitativa.

Los datos positivos obtenidos en general no ofrecen dudas, salvo en el caso de falsos positivos. Un resultado negativo puede resultar necesario asegurarlo considerando que tal vez no se ha realizado un perfecto fraccionamiento, teniendo en cuenta las posibles variaciones estacionales y ecológicas de la planta, y la metodología de la extracción que puede no haber alcanzado a extraer todos los componentes sobre todo si se hallan en muy baja concentración.

Metodología

1. Saponinas.

Tomar 1 mL de los extractos y colocarlos en tubos de ensayo agregar agua caliente, esperar durante 15 a 30 minutos, agitar vigorosamente durante 3 a 5 min. La formación de espuma con apariencia de panal de abeja, estable por unos 30 minutos, se considera positiva. (Domínguez, 1973)

2. Polifenoles (General)

Colocar 0,5 mL del extracto en un tubo de ensayo, agregando 5 gotas de reactivo de Folin y 2 gotas de Na_2CO_3 al 7.5 %. Si presenta coloración amarilla no existen fenoles, coloración verdosa hay fenoles en baja cantidad, coloración azul clara hay fenoles en cantidad moderada y coloración azul intensa presentan fenoles en altas cantidades.

3. Taninos (hidrolizables y condensados)

Hidrolizables: Agregar 0.5 mL de los extractos y 0.5 mL de etanol en un tubo de ensayo, posteriormente agregar 3 mg de nitrito de sodio y tres gotas de ácido acético glacial. La coloración de rosa a café se considera positiva.

Condensados: Tomar 2 mL de los extractos, mezclar con 2 mL de butanol, agitar y esperar a la separación de fases. Transferir la fase superior (butanol) a un tubo de ensayo, agregar 0.5 mL de ácido clorhídrico y calentar a la flama suavemente. La coloración inicial roja y si al agregar NaHCO_3 cambia a azul se considera positiva.

4. Flavonoides

Shinoda b

Agregar 1 mL de los extractos y un trocito de viruta de magnesio amalgamado, con unas gotas de ácido clorhídrico concentrado (desprendimiento de hidrogeno gaseoso). La aparición de colores que van del amarillo a rojo indica la presencia de una flavanona, el color magenta indica la presencia de un dihidroflavanol y la coloración magenta, violeta o azul indican la presencia de Dihidrochalconas. Si no presentan color podría tratarse de Isoflavonas, clalconas o auronas. (Fragoso, 2001).

Hidróxido de sodio

A 1 mL de los extractos, agregar unas gotas de hidróxido de sodio diluido. La aparición de colores amarillo o naranja se considera indicativa de la presencia de flavonoides. (Fragoso, 2001)

5. Fenilpropanoides

Colocar 1 mL de los extractos en el tubo de ensaye y agregar 2 mL de ácido clorhídrico 0,5 N, 2 mL de nitrito de sodio al 10 % (reactivo de arrow) y finalmente agregar hidróxido de sodio 2 N. Se considera positiva si presenta coloración naranja y al agregar NaOH Cambia de naranja a rosa o púrpura.

6. Antraquinonas

Colocar 0.20 g de los extractos y agregar 5 mL de cloroformo, agitar por 5 min y dejar reposar durante 15 min. Filtrar y agregar 1 mL de hidróxido de sodio al 5 % en agua. La reacción es positiva si la fase acuosa es de color rojiza.

7. Terpenos/esteroides (Reacción de Lieberman-Burchard)

Agregar 1 mL de los extractos en 1 mL de cloroformo. Agregar resbalando por las paredes del tubo, 1 mL de anhídrido acético y se deja reposar en frío. La aparición de colores rojo, rosa, verde, púrpura o azul en la interfase cuando se añade 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, se considera positiva (Fragoso, 2001).

8. Carotenoides

Agregar 0.5 mL de los extractos en un tubo de ensaye, mezclar con cloroformo y agregar cuidadosamente 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, dejar reposar en frío. Si la interfase presenta coloración roja o azul es positiva la reacción.

9. Alcaloides

Agregar a 0.5 mL de los extractos ácido clorhídrico, agitar y filtrar, hasta que el filtrado sea completamente transparente. El filtrado se ensaya con los reactivos para alcaloides; Mayer y Dragendorff,. Se considera como reacción positiva, la prueba en las que aparece un precipitado (Domínguez, 1973).

10. Cumarinas

Agregar 2 mL de extracto en un tubo de ensaye, tapar con papel impregnado de solución diluida de hidróxido de sodio, llevar a baño María durante 10 min. Remover el papel filtro. Si el papel exhibe puntos fluorescentes bajo luz U.V. se considera positiva la reacción (Fragoso, 2001).

11. Antocianidinas

Colocar 0.5 mL de los extractos en un tubo de ensaye. Agregar 1 gotas de ácido clorhídrico concentrado, agitar y agregar 0.5 mL de hidróxido de sodio al 20 %. Se considera positiva la reacción si se vuelve incolora o presenta color morado.

12. Aminoácidos

Colocar 0.5 mL de los extractos en un tubo de ensaye, agregar de 3 gotas de reactivo de ninhidrina. Calentar a baño María, hasta la reducción de volumen a 1/3 del total. Se considera positiva la reacción si presenta coloración violeta, azul o rosada.

13. Azucares no reductores

Reacción de Seliwanoff

A 1.0 mL de los extractos, agregar 1 mL de ácido clorhídrico concentrado calentar suavemente y agregar 1.5 mg de resorcinol. Colocar la mezcla a baño María de 2-10 min. Coloración naranja o rojo cereza se considera positiva la reacción.

14. Ácidos grasos

Saponificación

Colocar 1 mL de los extractos, 1 mL de etanol y 0,5 mL de hidróxido de sodio al 40%, calentar suavemente. Agregar unas gotas de ácido sulfúrico. Si presenta enturbiamiento (liberación de ácidos grasos) se considera positiva la reacción.

15. Almidones

Pesar 5 mg de muestra, agregar 2 mL de agua destilada y de 2-3 gotas de lugol recién preparado. Si se presenta una coloración azul es positiva la reacción.

16. Glucósidos cianogénicos

Reacción de Grignard

Colocar 0.5 g o 2 mL de los extractos en un tubo grande agregar 1 mL de agua, agregar una gota de cloroformo (favorece la reacción enzimática). Colocar una tira de papel filtro previamente humectado y secado con una mezcla de ácido pícrico al 0.5 % y carbonato de sodio al 5 % en solución, sin que toque los bordes del tubo la tira de papel y cerrarlo. Calentar en estufa a 35 °C durante 24 h. Un color rojo o rosa se considera positivo. (Fragoso, 2001)

Resultados

Cuadro XIV. Resultados de la marcha fitoquímica del extracto acuoso de las semillas de *P. canariensis*.

Prueba	Extracto Hexánico	Extracto Metanólico	Extracto Acuoso	Control positivo
Saponinas	-	-	-	n.d
Polifenoles	-	+	+	Té verde (azul intenso), Quersetina (verde)
Taninos				
Hidrolizables	-	-	-	Té verde (café)
Condensados	-	-	-	Guazuma (proantocianidina b y c)
Flavonoides	-	-	-	Quersetina (flavona)
Fenilpropanoides	-	-	-	Noradrenalina
Antraquinonas	-	-	-	n.d
Terpenos/esteroides	+	-	-	Dexametasona
Carotenoides	-	-	-	Licopeno
Alcaloides	-	-	-	Berberina
Cumarinas	-	-	-	4-hidroxycumarina
Antocianidinas	-	-	-	Cianidina-3-glucosido
Aminoácidos	-	+	+	L- arginina
Azúcares no reductores	-	+	+	Sacarosa
Ácidos grasos (saponificación)	+	-	-	Aceite de maíz
Glucósidos cianogénicos	-	-	-	n.d
Almidones	-	-	+	Almidón

Reacción: Positiva (+); Negativa (-); n.d: no disponible.