



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

“Efecto del caldo de Alache (*Anoda cristata*) en un modelo murino de obesidad”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Maestro en Ciencias

PRESENTA:

Q.A. Aurea Raquel González Macías

Asesora de tesis:

Dra. María Amanda Gálvez Mariscal

[Facultad de Química](#)

Comité tutor:

Dra. Amelia Farrés González Saravia

[Facultad de Química](#)

Dr. Raúl Enriquez Habib

[Instituto de Química](#)

Ciudad Universitaria, CD. MX, Marzo 2024



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.

RECONOCIMIENTOS

Dra. María Amanda Gálvez Mariscal

Dra. Amelia Farrés González-Saravia

Dr. Raúl Enriquez Habib

Marisol Rivera Huerta

AGRADECIMIENTOS

Dr. Francisco Ruíz Terán

Dra. María Cristina Fernández Mejía

Dra. Ileana Patricia Canto Cetina

Dra. Sofía Moran Ramos

Mtra. María Isabel Gracia Mora

Lugar en donde se desarrolló el tema

Laboratorio 312, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Conjunto E de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Unidad de Investigación Preclínica (UNIPREC), Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Laboratorio 1-5, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Laboratorio 102, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

Esta tesis fue apoyada por la beca nacional CONACYT bajo el CVU 773276

*¿O fue creado
para estar siquiera un momento
en las cercanías de tu corazón?*

I. TURGENEV

(En Noches blancas de F.M. Dostoievski
con mucho cariño, una vez más, para Diego Robledo-Arratia)

Contenido

Introducción	1
Alimentación y agricultura	1
Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas (ETSS)	2
Quelites	3
Alache	4
¿Por qué rescatar las ETSS?	8
Potenciales terapéuticos.....	9
Situación de salud en México	11
Tratamientos actuales.....	14
Justificación	15
Objetivos.....	16
Hipótesis.....	16
Materiales y métodos.....	17
Resultados y discusión	23
Conclusiones	50
Referencias	51
Apéndices.....	55
Anexo 1. Receta tradicional de Alaches	55
Anexo 2. Dietas de los animales.....	56
Anexo 3. Consumo de alimento.....	58
Anexo 4. Gráficas complementarias de las pruebas bioquímicas y hemáticas.	58
Información complementaria	65

Gráfica 1 Peso de las ratonas con respecto al tiempo	28
Gráfica 2 Peso de las ratonas independiente del tiempo	29
Gráfica 3 Glucosa inicial en sangre con respecto al tiempo.....	31
Gráfica 4 Glucosa inicial en sangre independiente del tiempo.....	32
Gráfica 5 Glucosa final en sangre con respecto al tiempo	33
Gráfica 6 Glucosa final en sangre independiente del tiempo	34
Gráfica 7 Área bajo la curva de la prueba de tolerancia a la glucosa	35
Gráfica 8 Glucosa en plasma	36
Gráfica 9 Hemoglobina glicosilada	37
Gráfica 10 Colesterol	38
Gráfica 11 Lipoproteínas de alta densidad.....	39
Gráfica 12 Lipoproteínas de baja densidad.....	40
Gráfica 13 Triglicéridos.....	41
Gráfica 14 Nitrógeno ureico en sangre	42
Gráfica 15 Urea en sangre.....	43
Gráfica 16 Creatinina en sangre	43
Gráfica 17 Hemoglobina.....	44
Gráfica 18 Hematocrito	45
Gráfica 19 Volumen Globular Medio	46
Gráfica 20 Concentración globular media en hemoglobina.....	46
Gráfica 22 Neutrófilos	47

Introducción

Alimentación y agricultura

Actualmente en el mundo hay 7.6 mil millones de habitantes, para el 2050 se estima que se alcancen casi los 9 mil millones de habitantes (ONU, 2019). El reto para la alimentación de estas personas es hacerlo de manera sustentable y al mismo tiempo, proteger al ambiente; proveerles de comida nutritiva y saludable, revalorando el trabajo de los campesinos y diversificando los sistemas agrícolas.

Como tal, suena a una tarea compleja y más cuando se toma en cuenta que las tierras de cultivables se han perdido por la urbanización, la desertificación, salinización, erosión y otras consecuencias del manejo inadecuado de suelos y otros recursos. Tomar nuevas tierras de cultivo tampoco es una solución viable si tomamos en consideración el impacto que tendría la pérdida de ecosistemas, la biodiversidad en ellos y el cambio climático. Por lo que el escenario más probable es producir más comida de las tierras actuales de cultivo, o inclusive de menos (Godfray, y otros, 2010).

Sin embargo, hay que considerar también que cuando los sistemas agrícolas dependen de un pequeño número de variedades de cultivos, y especies domésticas de animales, la vulnerabilidad de estos sistemas incrementa y pone la seguridad alimentaria y nutricional en riesgo (FAO, 2018).

Se estima que hay 30,000 especies de plantas comestibles en el mundo, de esta cifra 7,000 se han vuelto cultivos importantes; sin embargo, esta variedad se ha ido perdiendo por diferentes razones políticas, hábitos de consumo, factores medio ambientales y otros. Hoy día se estima que, de la totalidad de cultivos en el mundo, el 30% satisfacen el 95% de las necesidades de energía alimentaria de la humanidad, cuatro de estos (arroz, trigo, maíz y papa) representan más del 60% de la ingesta calórica individual proveniente de cultivos (FAO, 2017).

En cuanto a diversidad biológica, México es uno de los doce países considerados como megadiversos, es decir cuenta con alrededor del 70% de la diversidad mundial de las especies, por lo que la oportunidad de acción es amplia; además, si no actuamos, el impacto de las grandes pérdidas podría ser devastador.

Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas (ETSS)

Se definen como aquellos productos agrícolas que no son considerados cultivos principales, son llamados también NUS, por sus siglas en inglés, *Neglected Underutilized Species* o cultivos huérfanos. Estos productos agrícolas han sido desatendidos por distintas razones, principalmente económicas, sociales y culturales; han sido ignorados por quienes elaboran política, así como excluidos de las agendas de investigación y desarrollo. Generalmente son especies silvestres, semi-domesticadas o domesticadas en comunidades rurales, por lo tanto, no hay un buen banco de semilla, su producción y consumo es local y son utilizadas con base al conocimiento tradicional de la comunidad (Padulosi, Thomson, & Rudebjer, 2013).

Hay ejemplos de Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas distribuidas en todos los grupos de alimentos, como raíces, tubérculos, cereales, nueces, legumbres, especias, condimentos, frutas y verduras. De manera ilustrativa se mencionan algunos en la tabla 1, sin embargo, se le dará más énfasis al rubro de vegetales ya que en este se ubican los quelites.

Tabla 1 Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas (ETSS)

Raíces y tubérculos	Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>), ulluco (<i>Ullucus tuberosus</i>), arracacha (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>), maca (<i>Lepidium meyenii</i>), oca (<i>Oxalis tuberosa</i>), chirivia (<i>Pastinaca sativa</i>)
Cereales	Mijo (<i>Digitaria exilis</i>), Cañihua (<i>Chenopodium pallidicaule</i>), Ragi (<i>Eleusine coracana</i>), Mijo koda (<i>Paspalum scrobiculatum</i>), Mijo menor/ Moha (<i>Setaria italic</i>), Mijo pequeño (<i>Panicum sumatrense</i>)
Legumbres	Frijol mungo (<i>Vigna radiata</i>), Frijol adzuki (<i>Vigna angularis</i>), Altramuz/chocho/lupino (<i>Lupinus mutabilis</i>), Maní Bambara (<i>Vigna subterranea</i>), Almorta/chícharo (<i>Lathyrus sativus</i>), Zarandaja/Judía de Egipto (<i>Lablab purpureus</i>)
Especias y condimentos	Makoni (<i>Fadogia ancylantha</i>), Fenogreco (<i>Trigonella foenum-graecum</i>), Pandán/ Pandano (<i>Pandanus amaryllifolius</i>), Poligonato/ beatamaria/ lágrimas de David (<i>Poligonum odoratum</i>)
Frutas y nueces	Nogal maya/ojoche/ guaimaro (<i>Brosimum alicastrum</i>), Yaca/ nanca (<i>Artocarpus heterophyllus</i>), Jujube mauritano/ ponsigué (<i>Ziziphus mauritiana</i>), Chirimoya (<i>Annona cherimola</i>), Mangostan (<i>Garcinia mangostana</i>), Naranja de Mono (<i>Strychnos cocculoides</i>), Fruto de la Serpiente (<i>Salacca spp.</i>), Palma Nipa (<i>Nypa fruticans</i>), lanzón (<i>Lansium domesticum</i>), Boscía (<i>Boscía spp.</i>), Acacia (<i>Acacia toritilis</i>), Castaña de Malabar/ Castaña de Guayana (<i>Pachira aquatica</i>), Camu-camu

	(<i>Myrciaria dubia</i>), Pitahaya (<i>Hylocereus spp.</i>), Fruta milagrosa/ baya mágica (<i>Synsepalum dulcificum</i>)
Vegetales	Moringa (<i>Moringa oleifera</i>), Berenjena africana (<i>Solanum aethiopicum</i>), Amaranto (<i>Amaranthus spp.</i>), brassica (<i>Brassica rapa varieties</i>), Algarrobo (<i>Parkia biglobosa</i>), Frijol alado (<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>), Chayote (<i>Sechium edule</i>), Crisantemo (<i>Chrysanthemum coronarium</i>), Calabaza amarga (<i>Momordica charantia</i>), Calabaza angular (<i>Luffa acutangula</i>), Calabaza serpiente (<i>Thrichosantes cucumerina var. anguina</i>), Espinacs de Ceilán (<i>Basella rubra</i>), Planta araña (<i>Cleome gynandra</i>), Yute (<i>Corchorus olitorius</i>), Mora negra (<i>Solanum nigrum</i>), calabaza hiedra (<i>Coccinia grandis</i>), Flor de amor/ borlones (<i>Celosia argentea</i>), Dika (<i>Irvingia spp.</i>), Melon de agua (<i>Citrullus lanatus</i>), Frijol Marama (<i>Tylosema esculentum</i>), Karité (<i>Vitellaria paradoxa</i>), Taro Gigante del Pantano (<i>Cyrtosperma merkusii</i>), Gundelia (<i>Gundelia tournefortii</i>), Crambe (<i>Crambe spp.</i>), Cardo (<i>Cynara cardunculus</i>), Erú (<i>Gnetum africanum</i>), Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>), Cardo dorado (<i>Scolymus hispanicus</i>), Vernonia amarga/ Amargosa africana (<i>Vernonia amygdalina</i>)

Con el objetivo de promover la reinserción de las Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas en los grandes mercados y en la dieta de los mexicanos, se han hecho esfuerzos para estudiarlos con un enfoque multidisciplinario demostrando sus propiedades benéficas (Gomez-Chang, 2018).

Quelites

Los quelites son tradición gastronómica en México, es el nombre genérico en náhuatl para designar a las plantas verdes comestibles. Representan a aquellas plantas cuyas hojas, tallos tiernos y en ocasiones inflorescencias inmaduras, se consumen como verdura. Los quelites, en su mayoría, no se cultivan a gran escala ni de manera intencional, pues crecen al interior de sistemas agrícolas de mayor importancia económica (Castro, Basurto, Mera, & Bye, 2011).

El uso de los quelites en México se desarrolla desde la época prehispánica; a la fecha no hay un inventario regional o nacional de quelites, pero se estima que pueden ser alrededor de 500 las especies en el sentido amplio del concepto; acotando a las hojas tiernas comestibles, la cifra alcanza las 358 especies (Bye & Linares, 2000) de las cuales apenas unas cuantas son las más conocidas.

Los quelites que cuentan con mayor popularidad en México son: verdolaga (*Portulaca oleracea*), berro (*Nasturtium officinale*), epazote (*Dysphania ambrosioides*), quintoniles (*Amaranthus spp.*), quelite cenizo (*Chenopodium berlandieri* Moq.), chaya (*Cnidoscolus chayamansa*), pápalo (*Porophyllum ruderale subsp. macrocephalum*), alache (*Anoda cristata*), jiltomate (*Jaltomata procumbens*), chepiles (*Crotalaria spp.*), lengua de vaca (*Rumex mexicanus*), entre otros.

Los quelites en otros lugares del mundo son considerados como malezas, plantas de ornamento o forraje (Bartra, 2017). En las ciudades el desconocimiento del campo y de los procesos de producción de alimentos influyen en la falta de familiaridad con los quelites y por tanto en su consumo (Barros, 2017). Sin embargo, es cada vez más común ver su demanda por consumidores informados y su uso en cocinas gourmet ya que contribuyen con aromas, colores y sabores al platillo además de proporcionar fibra, vitaminas, minerales y fitoquímicos.

Alache

En los años posteriores a la conquista, los botánicos españoles Martín Sessé y José Mariano Muciño fueron los encargados de una expedición científica a la Nueva España con la misión de examinar y describir las plantas de México; *Sida anoda* S. & M. fue el nombre con el cuál éstos dos biólogos clasificaron al alache (Ramos-Lara, 2016). Posteriormente la clasificación cambiaría a *Anoda cristata* (L.) Schltldl. Con el cual se le conoce hoy en día.



Ilustración 1 Flor y hojas de Anoda cristata (L.) Schtdl

El alache es un quelite nativo importante en México que se encuentra prácticamente en todo el territorio nacional (Villaseñor, 2016), la palabra proviene del náhuatl “*alaztic*” que significa resbaladizo, sin embargo, el nombre varía de acuerdo con la zona geográfica y a la influencia indígena de la misma, derivándose nombres del mixteco, tarasco, tzotzil, rarámuri y tzeltal. En la tabla 2 se resumen los nombres que recibe el alache de acuerdo con el estado de la república en donde se localice.

Tabla 2 Nombres del Alache en México

Estado	Nombre(s)
Aguascalientes	Malva
Chiapas	Momol, yax noch, yaxal
Chihuahua	Rehué
Ciudad de México	Alache, amapola de campo, amapolita morada, violeta
Estado de México	Alache, amapola de campo, amapolita morada, xihuitl

Guanajuato	Malva chica
Guerrero	Alache, alachi, malva, violeta, yao nundo, yiwa taro
Hidalgo	Quesitos
Jalisco	Amapolita morada, malva
Michoacán	Altea, bimalva, itsukaua tsipata, malva, malvavisco, violeta
Morelos	Malva, violeta
Oaxaca	Pie de gallo, yuatayoo
Puebla	Alache, alachi, altea, alushi, amapolita morada, bimalva, malvavisco
Sinaloa	Violeta silvestre
Sonora	Malva, quesitos
Veracruz	Amapolita, campanita, hierba del ojo, tulipancillo, violeta de campo

Tabla adaptada de (Rendon, Bye, & Nunez, 2001)

Un elemento que hace al alache muy característico es el mucílago que suelta la hoja al momento de guisarla. Los mucílagos son producidos por procesos metabólicos de la pared celular de algunas plantas, son constitutivos y funcionan como reserva de agua y nutrientes. Al tacto se consideran resbaladizos y pueden encontrarse en distintas especies de semillas y vegetales. Químicamente son biopolímeros, generalmente, de polisacáridos complejos, están relacionados en composición a las hemicelulosas, salvo que los azúcares suelen ser galactosa y arabinosa (Prajapati, Jani, Moradiya, & Randeria, 2013).

El alache, además de producir mucílago cuenta con distintos fitoquímicos que han sido estudiados en otros trabajos. Los fitoquímicos son sustancias que se encuentran en los alimentos de origen vegetal, biológicamente activos que no son nutrientes esenciales, pero tienen efectos positivos en la salud.

Por ejemplo, a partir de la hoja cruda y con la técnica de hidrodestilación, se obtuvo el aceite esencial de *Anoda cristata*, en el cual se identificaron 70 metabolitos secundarios con la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). De los compuestos identificados 26 son mayoritarios, de los mismos, algunos ya tienen actividad

reportada, destacan el terpinen-4-ilo que es antiespasmódico, inmunomodulador y antibacteriano; y el timol que es antiinflamatorio, anticancerígeno, antioxidante y antimicrobiano (Juarez-Reyes, 2016).

Del alache se han aislado dos flavonas, la acetina y diosmetina (Ilustración 2) las cuales son consideradas fitoalexinas y se metabolizan en el complejo enzimático del citocromo P450 (CYP). Las fitoalexinas son definidas como compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular producidos por las plantas en respuesta a la infección, agentes químicos, daño mecánico o al estrés. La mayoría de las fitoalexinas identificadas derivan de la ruta biosintética de los fenilpropanoides y constituyen un grupo químicamente heterogéneo de varias clases de productos naturales (García & Pérez, 2003). Estas flavonas se ha demostrado que actúan como sustratos o inhibidores de diferentes enzimas CYP y que en casos de cáncer podrían estar participando en la inhibición del crecimiento tumoral (Doostdar, Burke, & Mayer, 2000). También se ha demostrado que disminuyen el nivel de glucosa en sangre en un modelo animal con ratas con hiperglucemia, así como disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos en estos animales, determinándose que los extractos de diosmetina y acetina son insulínotropicos y antihiperoglucémicos (Juárez-Reyes, y otros, 2015).

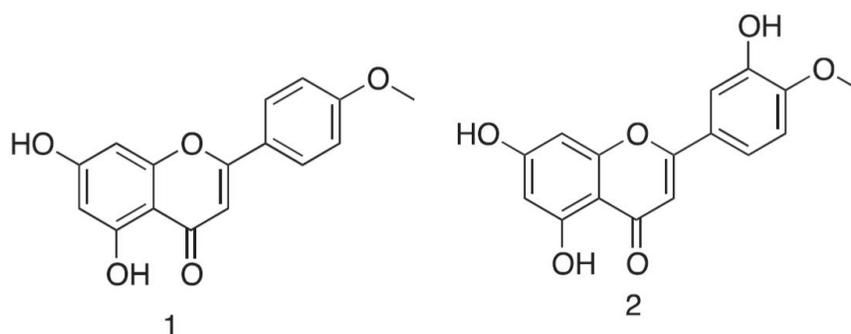


Ilustración 2 Estructura química de (1) acetina y (2) diosmetina

¿Por qué rescatar las ETSS?

Las familias en las áreas rurales las consumen, las usan como remedio y moneda de cambio. Para el campesino involucra el saber cuáles son, en qué temporada se dan y cuándo cortar; involucra también el conocimiento culinario, cómo escogerlos, limpiarlos y prepararlos. Como comunidad implica reconocer la labor que se ha hecho durante muchas generaciones de salvaguardar el conocimiento de su uso *medicinal* (Padulosi, Thomson, & Rudebjer, 2013) & (Barros, 2017).

Ofrecen también la oportunidad de mejorar la dieta de las personas, empoderar a las comunidades indígenas, reafirmar la identidad nacional, hacer los sistemas de producción agrícola más resilientes a enfrentar el cambio climático; además no están sujetos a las políticas gubernamentales por lo que pueden abrir brecha en los mercados internacionales (Padulosi, Thomson, & Rudebjer, 2013).

Sumado a lo anterior, el interés en la medicina tradicional ha revivido, las farmacopeas modernas contienen al menos un 25% de fármacos derivados de plantas (Ameri, Heydarirad, Jafari, Ghobadi, & Choopani, 2015), por lo que su uso puede ser un doble acierto en procurar la salud, con alimentación saludable y utilizando sus bondades en la medicina.

Potenciales terapéuticos

La medicina persa es un capítulo importante en la historia de la misma, en sus manuscritos el uso de los mucílagos es de los más citados, de manera oral o tópica para el tratamiento de males gastrointestinales, respiratorios, urinarios, musculoesqueléticos, genitales y problemas de piel (Ameri, Heydarirad, Jafari, Ghobadi, & Choopani, 2015).

Su uso industrial es muy atractivo porque son económicos, fácilmente disponibles, no tóxicos y potencialmente biodegradables y biocompatibles. Cuentan con muchas aplicaciones en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética, hay reportes también de su uso en la industria de textiles, pinturas y fabricación de papel. Por sus características, se ocupan como estabilizadores de emulsiones, espesantes, aglutinantes, gelificantes y formadores de películas (Ameri, Heydarirad, Jafari, Ghobadi, & Choopani, 2015) & (Prajapati, Jani, Moradiya, & Randeria, 2013).

Se ha visto que Especies Tradicionales Subvaloradas y Subutilizadas usadas en la medicina contra padecimientos de tipo gástrico, actúan también de manera directa sobre el principal agente causal de la gastritis, la úlcera péptica y el cáncer de estómago: la bacteria *Helicobacter pylori*, la cual es capaz de evadir las defensas primarias del cuerpo y establecerse generando infecciones persistentes. De acuerdo con experimentos recientes (Gomez-Chang, 2018) se determinó que el mucílago de alache tiene un efecto en la capacidad de adhesión sobre una línea de adenocarcinoma gástrico humano, la inhibición en la capacidad de adhesión fue superior al 25%, por lo que su consumo de manera regular podría tener un efecto en la prevención y el control de enfermedades relacionadas con *H. pylori*.

Atendiendo también a las demandas del consumidor moderno, la industria de alimentos está investigando nuevas opciones como el uso de las fibras solubles e insolubles, prebióticos, vitaminas, minerales, extractos herbales y otros fitoquímicos como ingredientes principales para sustituir o enriquecer las antiguas formulaciones (Konar, Toker, Sirin, & Osman, 2016).

El mucílago de alache pertenece a la fibra soluble ya que en agua aumenta su volumen, y como consecuencia de su viscosidad, aumenta la distensión del estómago, prolonga la sensación de saciedad y, además disminuye la velocidad de vaciado del estómago. A nivel del intestino delgado, los mucílagos actúan como barrera que han de atravesar los solutos para alcanzar la membrana de los enterocitos, lo que provoca una disminución en la velocidad de absorción de glucosa, lípidos y aminoácidos (Escudero Álvarez & González Sánchez, 2006). Las dietas con un elevado contenido de fibra requieren mayor tiempo de masticación, por lo que disminuyen la velocidad de deglución y aumentan la salivación. Las fibras se han hecho populares como alimento funcional, son añadidas a las formulaciones de algunos alimentos porque tienen bajo contenido calórico, gran capacidad de absorber agua y apoyar al sistema digestivo.

Situación de salud en México

La obesidad y el sobrepeso son consideradas enfermedades crónicas no transmisibles, de gran prevalencia y crecimiento en las últimas cuatro décadas. Son enfermedades multicausales, no exclusiva de países económicamente desarrollados, que involucra a todos los grupos de edad, distintas etnias y clases sociales, por lo que se le ha llamado “La Epidemia del Siglo XXI” (Dávila-Torres, González-Izquierdo, & Barrera-Cruz, 2015).

Sumado a la obesidad, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo 2, son los problemas de salud pública más importantes que la población mexicana está padeciendo hoy día. De manera dramática, en México se pueden observar dos escenarios sumamente alarmantes; por un lado, la desnutrición a pesar de los esfuerzos de instituciones y dependencias gubernamentales, que continúa siendo un problema de prevalencia como resultado de una inapropiada disponibilidad de alimentos, falta de educación y mala distribución de recursos y oportunidades. Por el otro lado, en México el 73% de los adultos y 36% de los niños y adolescentes tienen sobrepeso u obesidad (Álvarez-Sánchez, y otros, 2018), esto incrementa significativamente el riesgo de padecer una larga lista de comorbilidades como hipertensión arterial, dislipidemia, enfermedad coronaria, apnea del sueño, enfermedad cerebro-vascular, osteoartritis y algunos cánceres (mama, esófago, colon, endometrio, riñón, entre otros) (Dávila-Torres, González-Izquierdo, & Barrera-Cruz, 2015).

Los factores principales a los cuales se atribuyen los problemas de salud antes mencionados son: el aumento en el consumo de alimentos hipercalóricos, ricos en grasas, sal y azúcares, y pobres en vitaminas, minerales y fibra; así como el descenso en la actividad física, originado por los modelos de urbanización y sedentarismo de la población. Se estima que cerca del 58% de las calorías consumidas en la dieta de los mexicanos están conformadas por alimentos y bebidas empaquetados (Nieto-Orozco, y otros, 2017). Por lo que, a pesar de las medidas públicas tomadas, como el fomento de campañas de salud e incluso el incremento de los impuestos a los alimentos hipercalóricos, las predicciones siguen mostrando un aumento en la incidencia de casos en países como el nuestro.

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que aparece cuando el cuerpo no puede producir suficiente insulina o no puede usar la insulina eficazmente. La insulina es una hormona secretada por las células β , que se encuentran en los islotes de Langerhans en el páncreas, que permite principalmente el transporte de glucosa en sangre a los diferentes tejidos como el adiposo y muscular. Una persona con diabetes mantiene de manera prolongada una alta concentración glucosa en el torrente sanguíneo, por lo que sigue circulando (hiperglucemia) y con lo cual se generan daños en los tejidos del cuerpo con el tiempo, como enfermedades del corazón, pérdida de la visión y daños en los riñones; cabe señalar que estos daños con el tiempo pueden llegar a ser mortales. En los pacientes con diabetes, la aterosclerosis es una de las principales causas de pérdida de la esperanza de vida, así mismo, la nefropatía diabética y la retinopatía son los principales contribuyentes a la enfermedad renal terminal y la ceguera (Wang, Zhao, Yang, Wang, & Kuang, 2016)

Los tipos de diabetes más comunes son:

- **Tipo 1:** causada por una reacción autoinmune por lo que el cuerpo ya no puede producir la insulina que necesita.
- **Tipo 2:** el cuerpo puede producir insulina, pero esto no es suficiente o el cuerpo no puede responder a sus efectos, dando lugar a una gran acumulación de glucosa en sangre.
- **Gestacional:** Se da en mujeres con alta glucosa en sangre durante el embarazo, por lo general alrededor de la semana 24 de gestación, la condición se produce debido a que la acción de la insulina es bloqueada por las hormonas producidas por la placenta, provocando insensibilidad a la insulina.

Con datos publicados por la Organización Mundial de la Salud, en México se registraban el mayor número de fallecimientos por diabetes en Latinoamérica, cerca del 14% de los decesos en el país se debieron a esta enfermedad que en el 2016 terminó con la vida de 47 mil personas mayores de 30 años (WHO, 2018). Sin embargo, es importante destacar la situación de salud global desde el surgimiento del coronavirus (COVID-19) en Wuhan, China en el 2019. Las diferencias demográficas, la prevalencia de comorbilidades, la capacidad del sistema de salud y las políticas de seguridad empleadas por cada país, hicieron que se observara a nivel mundial un escenario diferente.

Basados en resultados obtenidos por el grupo de investigación de Escobedo, en el 2021 con pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la prevalencia de diabetes en pacientes de COVID-19 hospitalizados alcanzaba cifras del 37.2 y 30% en mujeres y hombres respectivamente (Escobedo-De la Peña, y otros, 2021), siendo este grupo poblacional uno de los de mayor riesgo ante la pandemia respiratoria resiente. Metaanálisis de los estudios recabados hasta el momento a nivel mundial, sugieren que hay un riesgo incrementado de dos a tres veces mayor de desarrollar cuadros severos de COVID-19, admisiones hospitalarias y mortalidad, en personas con diabetes, obesidad, hipertensión, cardiopatías, daño crónico en riñones o pulmón (Vas, Hopkins, Feher, Rubino, & White, 2020).

También es relevante resaltar el impacto económico que la pandemia tendrá a corto plazo, por el cual el cultivo y consumo de quelites puede ser una alternativa viable para la sana alimentación del país en momentos de dificultades económicas.

Tratamientos actuales

El tratamiento farmacológico de la diabetes incluye compuestos como las *sulfonilureas*, las *tiazolidinedinas*, los inhibidores de α -glucosidasa y las *biguanidas*, cuyo producto comercial más conocido es la metformina; este fármaco se ha usado por varias décadas como tratamiento estándar para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Culturalmente en México, se observa la tendencia al uso de tratamientos complementarios y herbolarios para mitigar los malestares asociados a distintas enfermedades, incluida la diabetes tipo 2, la medicina herbolaria ha jugado un papel importante en el tratamiento de enfermedades como la diabetes en comunidades rurales, sumado además a los distintos hábitos y costumbres en torno a el consumo de alimentos.

La medicina ancestral proporciona una guía rica de opciones a explorar en el descubrimiento y estudio de principios activos contra la diabetes y otras enfermedades, debido a la mega diversidad intrínseca de México, el potencial es mayor. Tomemos en cuenta también el constante desarrollo de tecnologías y protocolos científicos que respalda la investigación para interpretar mejor el uso de tratamientos a base de hierbas siendo los polisacáridos los de mayor atractivo para la diabetes tipo 2.

Justificación

El comportamiento de pacientes con diabetes ha tenido una alta tendencia en el uso de alimentos funcionales y en el uso de la medicina complementaria o alternativa. Por testimonios locales recolectados en el mercado de Ozumba (Edo. Mex.) se sabe que el alache es consumido como platillo medicinal principalmente para tratar la diabetes tipo 2 y aunque ya se identificó la actividad aislada de la acacetina y diosmetina, no se han estudiado los efectos biológicos del consumo del mucílago de alache, tal y como sucede cuando se consume en forma de sopa el platillo tradicional preparado en esta región, y que es altamente apreciado por las personas que padecen diabetes tipo 2.

También se sabe que los roedores son el modelo más exhaustivamente usado para estudiar enfermedades como la diabetes tipo 2, obesidad y cáncer. La cepa de ratones C57BL/6 es de la más estudiadas en experimentación animal, a lo largo de la historia se derivaron diferentes subcepas, principalmente la J mantenida por los laboratorios Jackson (JAX) y la N mantenida por los Institutos Nacionales de Salud (por sus siglas en inglés NIH). En 1983 la subcepa C57/BL6NHsd mantenida por Harlan, se derivó a lo que es hoy.

Sumado a lo anterior, se realizó un experimento preliminar, en ratas macho Wistar sanas, administrándoles por inyección peritoneal, el caldo de alache sin procesos de purificación después de obtenido en el platillo, salvo su esterilización parcial por exposición a radiación UV. Los resultados mostraron que el caldo de alache bajó los niveles de glucosa en sangre con un efecto mayor al de la insulina (resultados del experimento en la sección de Información complementaria) por lo que se decidió hacer el contenido de este trabajo experimental, dándole una mayor fuerza estadística y con animales sometidos a una alimentación que reflejara la problemática actual de salud en el país (alta en grasas y azúcares).

Por lo que en este trabajo se propone estudiar el efecto de consumir el mucílago de alaches, preparados bajo la receta tradicional en un modelo animal de ratones C57BL/6 NHsd mantenidos con una dieta alta en grasa y azúcares de manera crónica, para observar el comportamiento bioquímico en sangre de los marcadores más comunes.

Objetivos

El objetivo de este trabajo es obtener información sobre el mucilago de alache obtenido a través de la receta tradicional de Ozumba, Edo. de México; así como desarrollar un modelo animal que refleje la mala alimentación del país. Por último, analizar los efectos del caldo rico en mucílago sobre la bioquímica sanguínea, la biometría hemática, histología y uroanálisis en un modelo animal que haya sido alimentado con una dieta alta en grasas y azucares de manera crónica.

Hipótesis

Por lo antes reportado el mucilago de alaches podría reducir los niveles de glucosa en sangre en animales con diabetes y tendría un comportamiento sobre los parámetros bioquímicos, hemáticos y uroanálisis similar al uso del medicamento estándar para el tratamiento de diabetes.

Debido a la formación de películas, el consumo del mucilago podría evitar lesiones en los tejidos de los animales, evitando su deterioro con el tiempo.

Materiales y métodos

Caldo de alache

Los alaches fueron comprados en el mercado de Ozumba (Edo. De Mex.) a recolectores locales, estos fueron trasladados a la Ciudad de México en donde fueron preparados de acuerdo con la receta tradicional utilizada en la zona de los volcanes (Anexo 1), que de manera general implica lavarlos y guisarlos en agua junto con cebolla, sal y tequesquite por 30 min o hasta que las hojas queden cocidas, suaves y suelten en el caldo su característico mucilago, a manera de ayuda ilustrativa para el lector no familiarizado, tiene una sutil similitud al agua de cocción de los nopales, pero con un color más profundo.

El guiso (hojas y caldo) se dividió en porciones individuales y fue mantenido en congelación a -20°C hasta el momento de su utilización. Llegado el momento se descongeló una porción y fue centrifugada (8 500 rpm/ 4°C/ 20 min/) con la finalidad de separar el caldo de las hojas. Una vez teniendo la fracción líquida, se esterilizó en autoclave (121 °C/ 15 min) y se guardó en alícuotas de 15 mL en refrigeración hasta el momento de uso.

Los sólidos totales se midieron tomando una alícuota pesada de 1 mL de caldo, y llevándola al horno para evaporar el agua (65 °C/ 5 h), pasado el tiempo, se calculó por diferencia de peso los sólidos totales contenidos en el caldo, de los cuales se asume que en su totalidad corresponden al mucilago de alache; a partir de este dato se hicieron los cálculos para su uso durante el experimento.

Modelo animal

Se emplearon ratones C57BL/6NHsd hembras (3-7 semanas de edad) obtenidas de Envigo® México, bajo la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química (OFICIO/FQ/CICUAL/238/17) y del protocolo preclínico FPP-UNAM-UNIPREC-01 solicitud UNIPREC/17/016, para el desarrollo de este experimento.

Los animales fueron alojados en la sala 5, bajo condiciones ambientales controladas en el área de experimentación animal de la Unidad de Investigación Preclínica de la Facultad de Química de la UNAM, las cuales incluyen extracción e inyección de aire con al menos 18 recambios por hora, éste se realizó mediante filtros HEPA filtrándose partículas de hasta 3 µm en el aire de inyección. Los animales se mantuvieron en condiciones constantes con ciclos de 12 horas luz/oscuridad a 22°C y humedad relativa del cuarto experimental de 40-70%, con libre acceso al agua y comida. A los animales se les mantuvo en jaulas de polisulfonato con dimensiones de 18.41 cm x 29.21 cm x 12.7 cm con 4 individuos, cambiando posteriormente a 2 individuos por jaula para minimizar los conflictos y tener un mejor manejo de las muestras, todo en conformidad a la norma NOM-062-ZOO-1999. La cama que se utilizó fue Pine Shavings Beeding de Envigo®.

Los animales fueron numerados e identificados por medio de muescas en las orejas y divididos de manera aleatoria en cuatro grupos. A un cuarto de la población se les administró una dieta de mantenimiento para roedores y agua purificada por UV (2018S Teklad Global Diets, Envigo USA, composición en anexo 2), a los tres cuartos restantes se les administró una dieta alta en grasa (Tso's High fat diet, Global Diets, Envigo USA, composición anexo 2) y agua purificada por UV con azúcar al 12% durante 24 semanas para inducirles un estado de enfermedad asociado a la dieta.

Una vez alcanzadas las 24 semanas con dieta alta en grasa y azúcar en el agua de bebida, el grupo se dividió de manera aleatoria en 3 grupos experimentales (n=8) más el grupo control (n=8) que fue alimentado exclusivamente con dieta de mantenimiento pero que estuvieron en las mismas condiciones de alojamiento que los otros 3 grupos.

Una vez formados los cuatro grupos experimentales, se llevó el registro de su consumo de alimento y peso semanalmente. Adicionalmente para los grupos con agua azucarada, se hizo el recambio de las soluciones cada dos días, registrando el volumen de agua consumida entre cada cambio.

En este experimento se plantean tres puntos temporales importantes:

- 1) Antes de comenzar el tratamiento y momento que se considera como el inicio del experimento (t_0)
- 2) A los 45 días del tratamiento (t_{45}) para determinar el progreso de los animales con los tratamientos;
- 3) A los 90 días del tratamiento (t_{90}) cuando se considera el final del experimento.

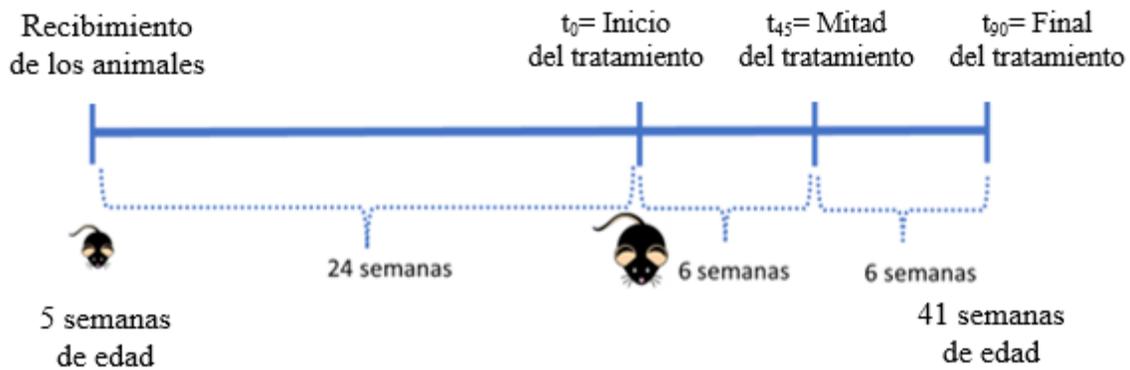


Ilustración 3 Diseño experimental

Los grupos recibieron el tratamiento descrito en la tabla siguiente. Los grupos que recibieron mucilago de alache, éste fue administrarlo tomando de las alícuotas en refrigeración previamente descritas, un volumen de 60 μ L del mucilago para el grupo de dosis baja y 600 μ L del mucilago para el grupo de dosis alta; diluyendo los volúmenes señalados en 150 mL de solución azucarada, correspondientes al volumen de cada uno de los bebederos de las jaulas con estos tratamientos.

Tabla 3 Dosis administradas

Grupo experimental (n=8)	Dosis	Vía de administración	Dieta
Control	N/A	N/A	Alimento estándar (Teklad Global 2018S) / agua natural.
Metformina	50 mg/Kg p.c.	Sonda oral	Alimento alto en grasa (Tso's High Fat Diet) / agua con azúcar al 12%
Mucílago Dosis Baja	1X	Mezclado en el agua de bebida	
Mucílago Dosis Alta	10X		

Prueba oral de tolerancia a la glucosa

La prueba se realizó al principio del experimento (t_0) y al final de este (t_{90}); el día de la prueba se les retiró el alimento y el agua a los animales para garantizar 6 horas de ayuno, posteriormente se les administró con una sonda oral glucosa (1g/kg) a los grupos. La muestra sanguínea fue tomada de la punta de la cola y se monitoreó el cambio en la concentración de glucosa en sangre con un glucómetro y tiras reactivas (Accu-Chek, Roche) a los tiempos 0, 15, 30, 45, 60 y 120 minutos después de la administración. Para la comparación, los valores de concentración de glucosa se normalizaron, utilizando el valor de concentración de glucosa inicial individual en mg/dL como el 100%, a partir de este se calculó el porcentaje que incrementaba o disminuía con respecto a la medición de glucosa de cada ratón.

Para apreciar de manera evidente el efecto global de la glucosa en sangre con respecto al tiempo, se calculó el área bajo la curva con el método del trapecio, utilizando el software Graph Pad Prism 9.5.1. a partir de las gráficas creadas.

Análisis Sanguíneo

El muestreo se hizo al t_0 , t_{45} y t_0 de acuerdo con los protocolos normalizados de la UNIPREC. El día de la prueba, se les retiró el alimento y el agua a los animales para garantizar seis horas de ayuno, los animales fueron anestesiados con isoflurano y la toma de muestra se hizo a través del plexo ocular, la muestra de sangre fue recolectada en Microtainers con heparina para evitar la coagulación de la muestra. El volumen de sangre se recolectó por parejas para garantizar una muestra suficiente y completar las pruebas bioquímicas y hemáticas.

Bioquímica sanguínea: En suero se hizo el seguimiento de estándares bioquímicos como glucosa, nitrógeno ureico en sangre, por sus siglas en inglés BUN, creatinina, colesterol, triglicéridos, alanin-aminotransferasa (ALT), aspartatoamino transferasa (AST), fosfatasa alcalina, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), albúmina, globulina, urea, bilirrubina y proteínas totales; en el último muestreo (t_{90}) se midió además la hemoglobina glucosilada (HbA1c) con un kit comercial (Crystal Chem, IL).

Biometría hemática: Se midió la concentración de los hematocritos, hemoglobina, eritrocitos, reticulocitos, plaquetas, leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos, así como el volumen globular medio (VGM) y la concentración globular media en hemoglobina (CGMH).

Uroanálisis

Para este estudio los animales fueron colocados en jaulas metabólicas, con acceso únicamente a agua filtrada (Millipore) por periodos menores a seis horas o hasta obtener por pareja, un volumen de 5 mL para analizar pH, proteínas, glucosa, cetonas, urobilinógeno, bilirrubina, hemoglobina, así como la realización de un examen físico, que incluye apariencia, color, densidad y examen microscópico, eritrocitos, leucocitos y células epiteliales.

Histología

Se realizó la necropsia de los animales de acuerdo con el procedimiento normalizado de operación para la realización de necropsias de la UNIPREC (PNONE-UNAM-UNIPREC-01). Se recolectaron muestras de bazo, hígado, riñón, glándula adrenal, corazón, tejido adiposo subcutáneo y mesentérico, páncreas, nodos linfáticos (uno relacionado con vía de administración y otro distante a ruta). Los tejidos fueron fijados en formol amortiguado al 10% e incluidas en casetes. Las muestras fueron deshidratadas y posteriormente incluidas en parafina, de las mismas se obtuvieron cortes de 3 micras de grosor. Los cortes fueron teñidos de manera convencional mediante la técnica hematoxilina y eosina. Las laminillas se observaron en el microscopio LEICA DM500.

Análisis estadístico

Los datos son mostrados como la media de los experimentos \pm la desviación estándar de la media. Las comparaciones estadísticas fueron realizadas utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con múltiples comparaciones, utilizando la prueba *post hoc* de Tukey para comparaciones múltiples con $P < 0.05$ para considerar diferencia significativa. Las gráficas y el análisis fueron realizados utilizando el software Graph Pad Prism 9.5.1.

Resultados y discusión

Caldo de alache

Se determinó de manera rutinaria para cada etapa del experimento la concentración de sólidos totales en el mucílago del platillo de alaches, teniendo en promedio 30 mg/mL de sólidos totales.

De los sólidos presentes, se considera que el mucílago es el compuesto mayoritario, mismo que al precipitarlo con etanol en relación 1:1 v/v se desplaza hacia la parte superior del recipiente, dejando entrever que forma una estructura compacta, elástica y con poca densidad, como se muestra en la Ilustración 4.



Ilustración 4 Mucílago de alache precipitado

Se sabe que de entre las plantas dicotiledóneas, el orden de las Malvales posee los depósitos más abundantes de mucílagos, particularmente cierto en el caso de la familia *Malvaceae*, familia a la cual pertenece el alache.

El mucílago se encuentra localizado en idioblastos, conductos de mucílago, cavidades y células epiteliales especializadas. Para *M. sylvestris* la concentración que se tiene reportada en hojas es 6.0-7.2%, en flores 3.8-7.3% y en raíces 7.5%. Químicamente están formados

de ácido glucurónico, ácido galacturónico, ramnosa, galactosa, fructosa, glucosa y trehalosa. El estudio estructural de los mucílagos conlleva un arduo trabajo y la aplicación consecutiva de varias técnicas, para el caso de *M. sylvestris*, se propuso una estructura a principios de la década de los 90's, que se describe como (1→4)-[O-β-(D-glucopiranosil ácido urónico)-(1-3)]-O-α-(D-galactopiranosil ácido urónico)-(1→2)-O-α-L-ramnopiranososa + residuo (1→2) unido α-ramnopiranosil ramnopiranososa unidades en la cadena central (Tomoda, Ryoko, Shimizu, & Yamada, 1989) & (Gasparetto, Martins, Hayashi, Otuky, & Pontarolo, 2012) Lo anterior queda ejemplificado en la siguiente ilustración.

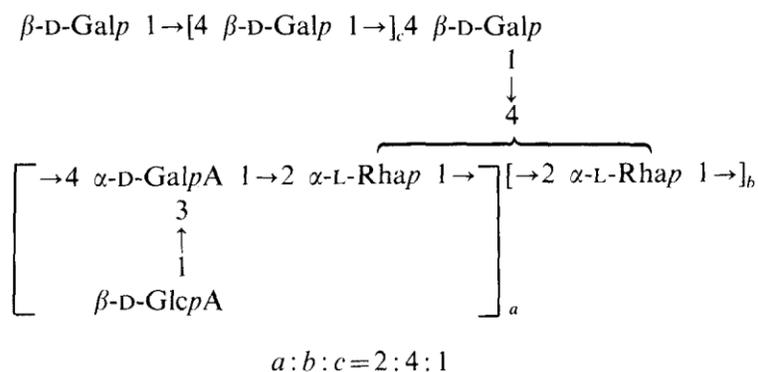


Ilustración 5 Estructura propuesta de mucílago de M. Sylvestris.

El uso de *M. sylvestris* para el tratamiento de diferentes padecimientos le ha otorgado el respaldo científico con el que cuenta hoy día. *A. cristata* es una planta que cuenta también con uso medicinal desde hace muchos años, sin embargo, el desconocimiento de esta especie por la comunidad científica no le ha otorgado todo ese reconocimiento con el que cuentan otras especies de la misma familia. Se puede suponer una composición y estructura semejante a lo descrito anteriormente ya que *A. cristata* pertenece a la misma familia que *M. sylvestris*.

Modelo Animal

Al inicio del experimento (t_0) los animales tenían en promedio 29 semanas de edad y al finalizarlo (t_{90}) 41 semanas. Se llevó registro del consumo de alimento y agua semanalmente durante todo el experimento y dicha información se muestra como parte del anexo 3 en este trabajo.

En la ilustración 6 se muestra la comparativa de un animal con alimentación estándar versus uno con alimentación alta en grasa en donde se observan las diferencias de tamaño debido a la dieta de cada uno.



Ilustración 6 (Izq.) Ratona con dieta alta en grasa (Der.) Ratona con dieta estándar

Durante los 90 días del experimento, fue recurrente encontrar animales con laceraciones a la altura de la nuca, con una leve o grave falta de pelo en el dorso del animal o una combinación de ambas situaciones. Al encontrar individuos lesionados se les aplicó una solución en aerosol comercial de plata iónica y zeolita para favorecer el proceso de cicatrización y evitar la progresión de la herida. De acuerdo con el informe técnico sobre el manejo de ratones C57BL6 (Montes Garcia, 2017), cuando hay peleas entre individuos de esta cepa las lesiones ocurren mayoritariamente por mordeduras entre adversarios en la base de la cola, por lo que las lesiones halladas en este estudio coinciden con heridas autoinfligidas, demostrando así un comportamiento altamente estresado.

Alrededor de la semana 6 de experimentación, se percibió que los casos de agresión entre individuos eran recurrentes e incrementaban; en la semana 7, dos animales se encontraron sin vida presuntamente por el ataque de sus compañeras, por lo que se optó por hacer el reacomodo de los animales, colocando dos por caja, en un esfuerzo por disminuir el estrés de las ratonas y minimizar los casos de agresiones. Estos dos decesos pertenecieron al grupo experimental de Metformina. Los ratones son de actividad esencialmente nocturna, por lo que la visión está muy poco desarrollada, por lo que sus sentidos más importantes para la socialización dependen del tacto y el olfato, en la orina existen compuestos odoríferos que sirven para marcar el territorio y regular la actividad social del grupo (Montes Garcia, 2017) por lo que los grupos con una dieta alta en grasa y azúcares probablemente produjeron compuestos por la orina que impactaron en la conducta de los animales.

En la semana 9, una ratona con lesiones progresivas fue sacrificada al tener una lesión inflamatoria en el ojo, siendo parte del grupo experimental de Mucilago Dosis Alta. Esto coincide con la literatura reportada sobre la cepa que, al estar sometida a estrés, excreta por la zona periocular, una sustancia de color marrón relacionada con las porfirinas (Montes Garcia, 2017).

Finalmente, en la semana 10, se perdió un elemento del grupo Control durante la toma de muestra de sangre para validar el kit comercial de hemoglobina glucosilada, quedando solo el grupo de Mucilago Dosis Baja con todos los elementos iniciales durante la experimentación.

Cabe señalar que fue más recurrente encontrar animales lesionados o con alopecia en los grupos que tenían alimentación alta en grasa y agua azucarada. El grupo de Metformina era el que tenía mayor manipulación, ya que el tratamiento era administrado por medio de una sonda oral por lo que, aunque la agresividad puede deberse en parte a la naturaleza de la cepa, también puede estar relacionado a la manipulación, el estrés, la dieta y la duración del experimento.

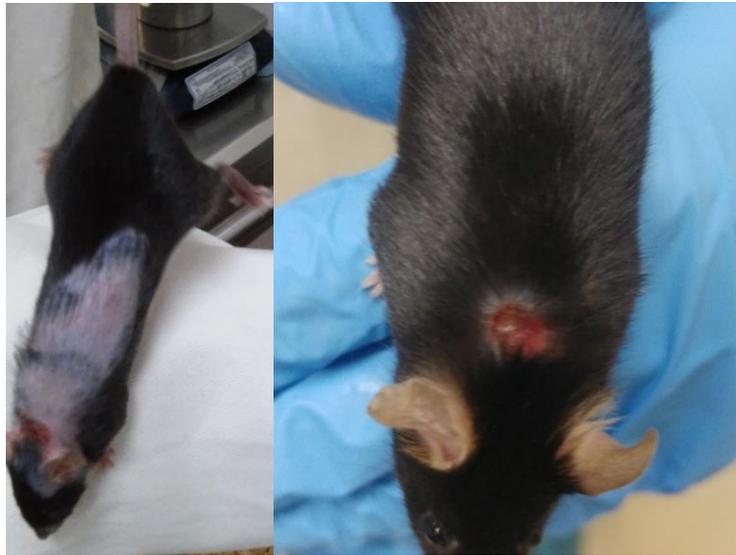


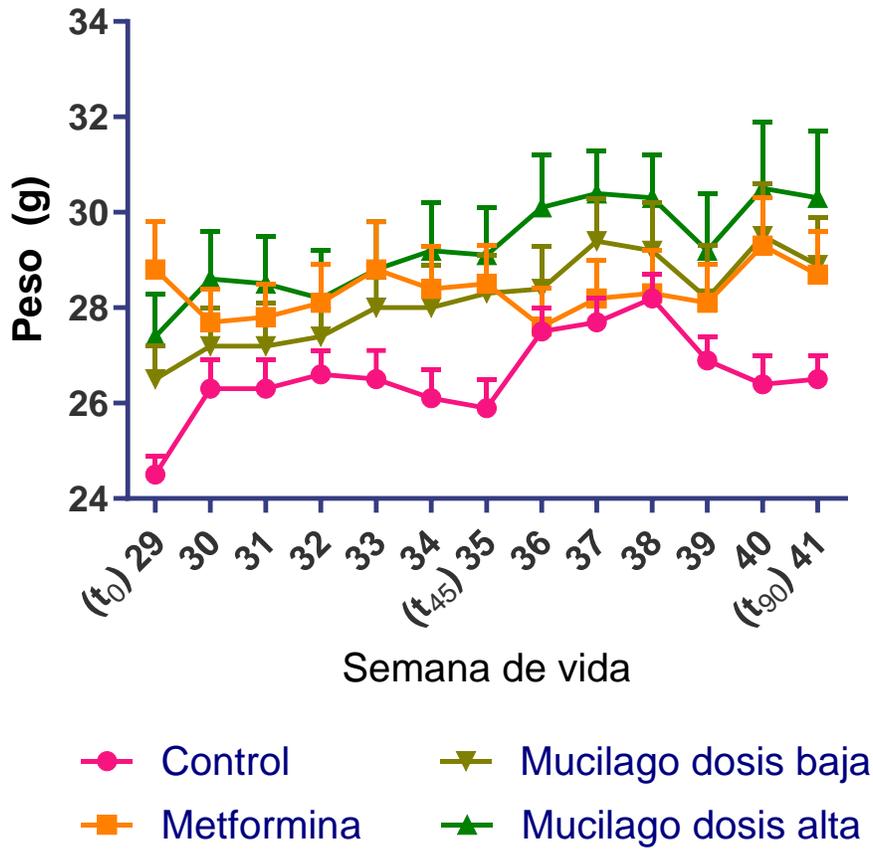
Ilustración 7 (Izq.) Ratona con lesión en la nuca y alopecia. (Der.) Ratona con lesión lacerante en la nuca

Se llevo un registro semanal del peso de cada individuo durante el experimento, reflejado visualmente en la Gráfica 1, en la cual se puede ver el comportamiento gradual con respecto al tiempo de esta ganancia.

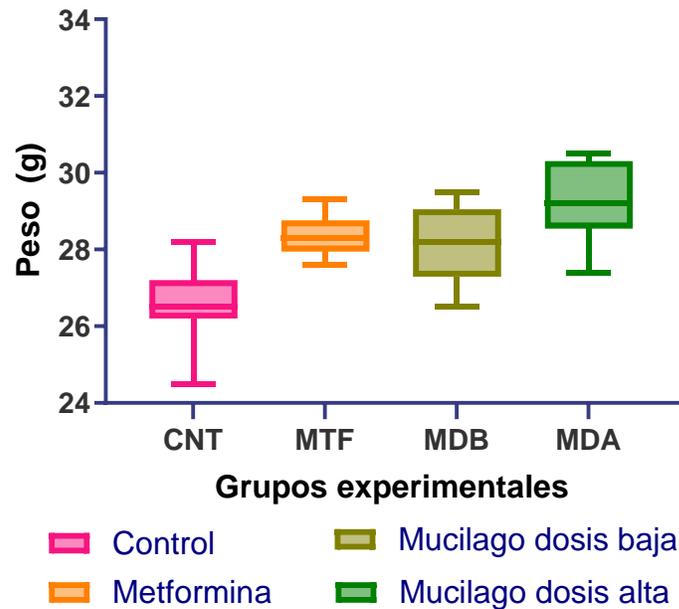
El peso promedio durante el experimento de los grupos fue de 26.57 g para el Control, 28.33 g para el grupo de Metformina, 28.17 g para el grupo con Mucílago Dosis Baja y finalmente 29.28 g para el grupo Mucílago Dosis Alta, la dispersión de los datos independiente del tiempo se aprecia de manera condensada en la gráfica 2, este comportamiento es el que se esperaba, ya que los animales con el alimento alto en grasa y agua azucarada consumieron más calorías que el grupo control, por lo que ganaron más peso que los animales con alimento estándar.

Si bien se aprecian diferencias significativas de los grupos experimentales con respecto al grupo control, estas se deben a la diferente dieta, un grupo Control más adecuado para este estudio debió ser aquel con una dieta alta en grasa y agua azucarada sin ningún tratamiento.

Gráfica 1 Peso de las ratonas con respecto al tiempo



Gráfica 2 Peso de las ratonas independiente del tiempo



El grupo de Mucilago Dosis Alta desde el comienzo tuvo una tendencia a ganar más peso en comparación con los otros dos grupos, ya que fue el grupo que más alimento consumió y el que más agua bebió, estimándose un consumo extra de 60-68 kcal por semana, con respecto a los otros dos grupos, esto refuerza que el grupo Mucilago Dosis Alta aumentara más de peso, aunque en promedio no existió una diferencia estadísticamente significativa al comparar los pesos con los otros dos grupos de alimentación alta en grasa (Metformina y Mucilago Dosis Baja).

La dosis de mucílago de alache que tomaban los grupos experimentales dependía directamente del agua que bebían ya que el mucílago se encontraba disuelto en la misma. Se llevó un registro diario del agua consumida durante el experimento, datos que se presentan como parte del anexo 3 de este trabajo. el grupo Mucilago Dosis Baja tomó una dosis promedio de 130 ± 24 mg/kg p.c. y el grupo de Mucilago Dosis Alta de 1338 ± 210 mg/kg p.c.

Por la bibliografía se sabe que dentro de las generalidades de la cepa C57BL/6, se describe que las hembras ganan peso de manera más discreta que los machos; sin embargo, ambos

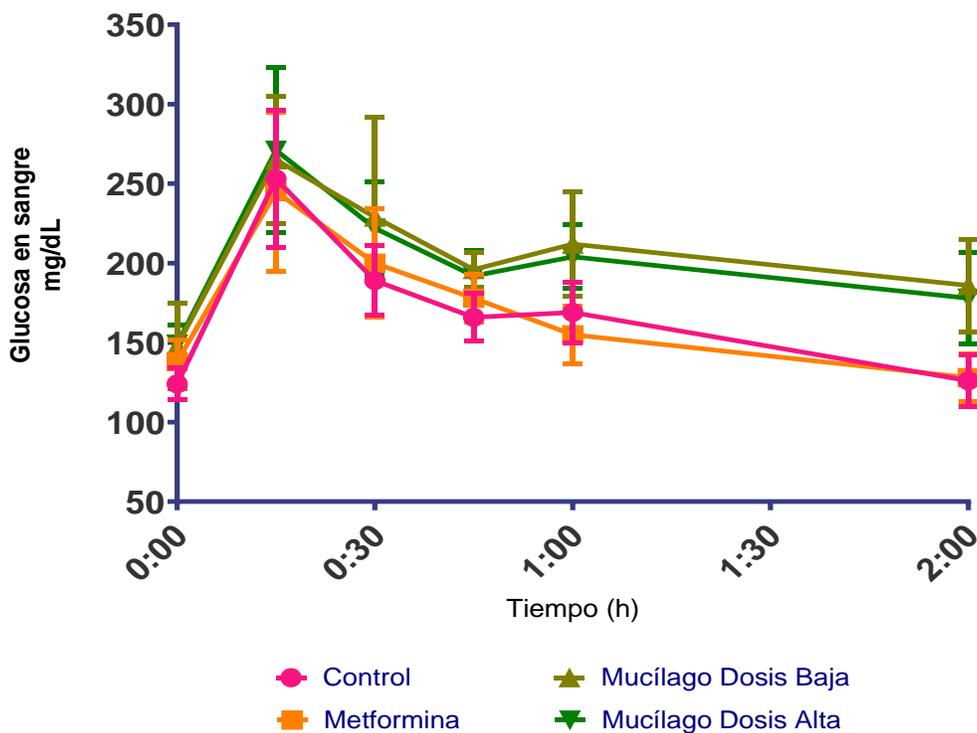
tienden a ganar peso conforme envejecen. También se sabe que esta cepa presenta una mutación en el gen *Lep (leptin)* responsable de la hormona que regula el control de peso; la presencia de este gen mutado produce una marcada obesidad asociada con hiperfagia e hiperinsulinemia (Benavides & Guenet, 2000) por lo que, los resultados obtenidos son consistentes con la bibliografía; sin embargo, tomando en cuenta las conductas agresivas de los animales durante el desarrollo de este experimento, los resultados indican que para experimentos con un largo periodo de duración, como éste, el modelo no resulto ser idóneo, ya que la conducta pudo haber tenido un efecto no identificado sobre los resultados obtenidos.

Prueba oral de tolerancia a la glucosa

La prueba consiste en el monitoreo de la glucemia, en un individuo con ayuno después de dar una carga de glucosa, con el objetivo de diagnosticar diabetes a individuos que hayan presentado glucosa alterada en ayuno o que tenga factores de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 (Asociación Latinoamericana de Diabetes, 2006).

En la gráfica 3 se muestran los resultados obtenidos al inicio del experimento, es decir al t_0 , todos los grupos presentan el mismo comportamiento, de un incremento en promedio, casi del doble después de ser administrados con glucosa, y la disminución paulatina hasta los 120 minutos, alcanzando todos en promedio el valor basal inicial.

Gráfica 3 Glucosa inicial en sangre con respecto al tiempo



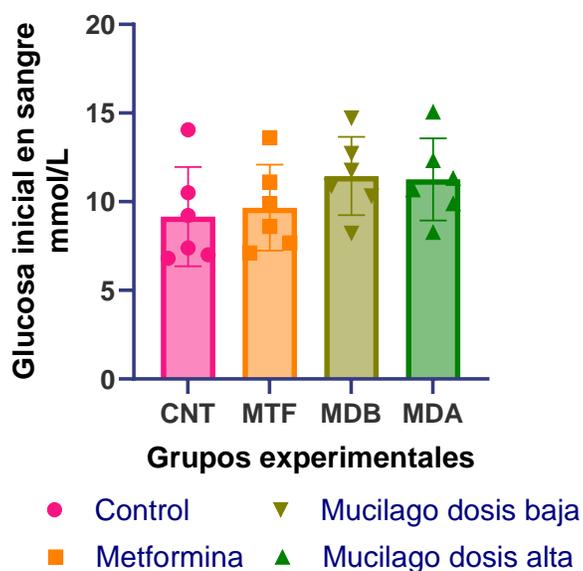
Los criterios para el diagnóstico de diabetes varían, según la fuente y el origen de la muestra para hacer el estudio (plasma o sangre) sin embargo, de manera general se considera en humanos un valor de glucemia en ayunas normal de entre 110 - 126 mg/dL (6.1 - 7.0 mmol/L) y después de la prueba se consideran normales valores de glucosa menores a 140 mg/dL (7.8 mmol/L) después de las 2 horas (Asociación Latinoamericana de Diabetes, 2006).

El grupo control obtuvo valores normales en ayunas y después de las dos horas de prueba con valores de 6.8 mmol/L y 7.0 mmol/L respectivamente. Los valores obtenidos para los grupos experimentales con dieta alta en grasa indicaron una glucemia en ayunas de en promedio 8 mmol/L, y después de las dos horas un valor promedio de 9.1 mmol/L, lo cual se considera como intolerancia a la glucosa. Estos valores se ven en la gráfica 4, donde se aprecia la dispersión de los datos independientes del tiempo.

Después del análisis estadístico de los datos, se comprueba que no hay diferencia entre los grupos experimentales al comenzar el experimento, lo cual es congruente sin contar al control, ya que se esperaba observar en esta etapa un comportamiento diferente entre las

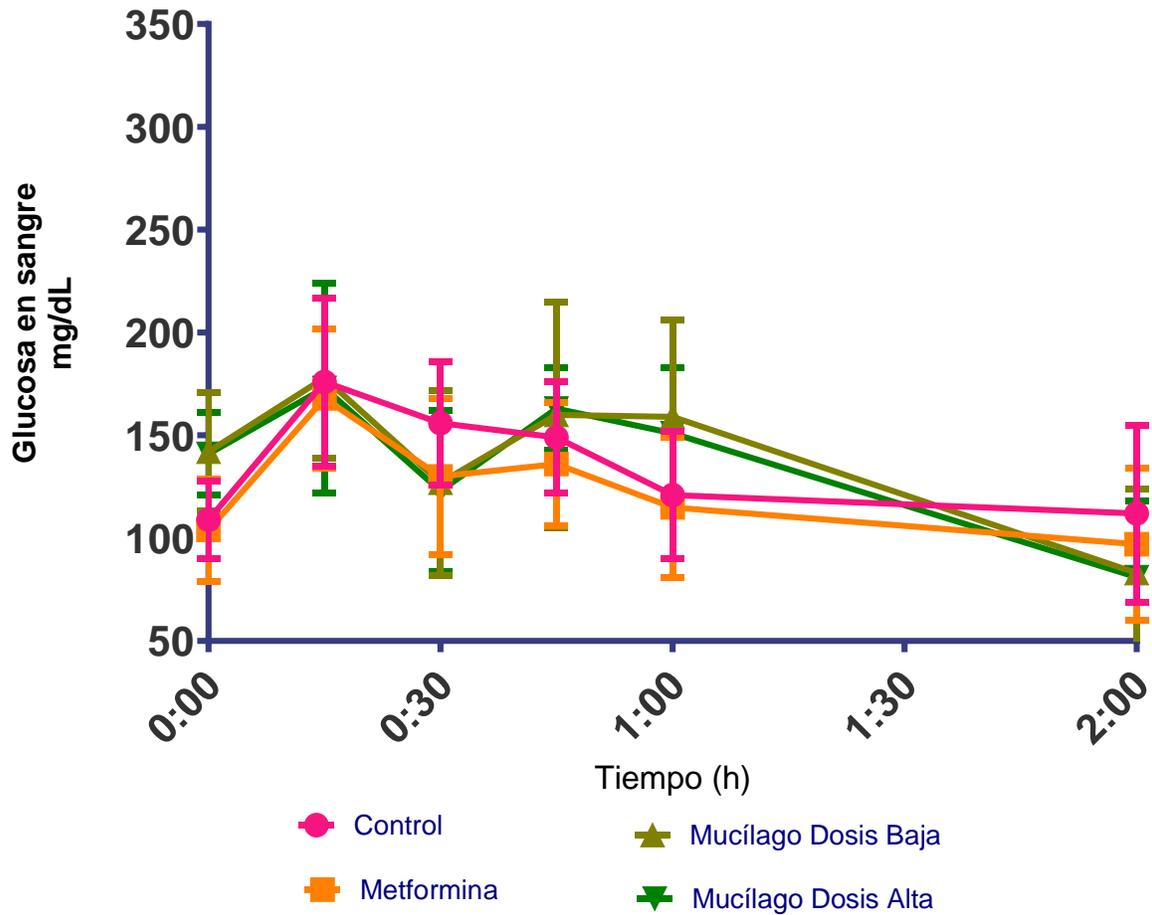
dietas, es decir, el grupo control y los grupos alimentados con la dieta alta en grasa, poniendo en evidencia la diferencia de las dietas en la gluconeogénesis del hígado en ayunas, la respuesta de la glucosa en sangre y la asimilación de la misma en el tejido muscular e hígado.

Gráfica 4 Glucosa inicial en sangre independiente del tiempo



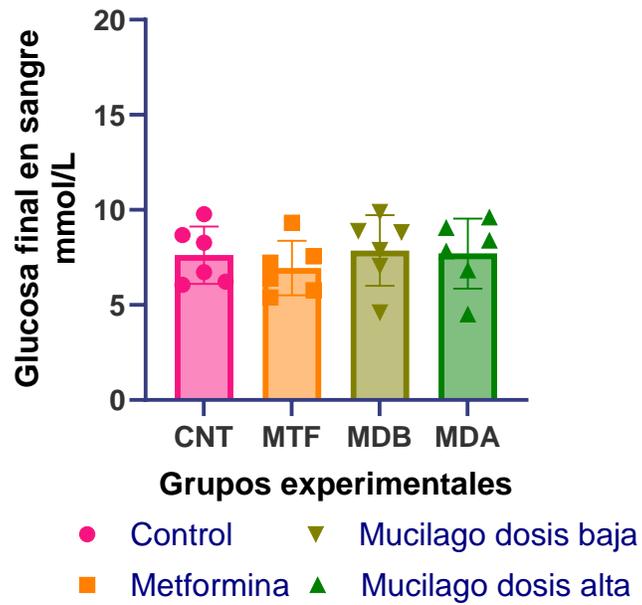
En las gráficas 5 se observan los valores al finalizar el estudio, es decir al t_{90} , mostrando un comportamiento diferente con respecto a la gráfica 3 y 4. Se aprecia que no tuvieron un incremento abrupto en los primeros minutos de la prueba, manteniendo un comportamiento discreto con forme al tiempo, es decir, estos grupos no presentaron picos exacerbados después de la administración; se observa también una tendencia a recuperarse o regresar al valor de glucosa inicial, en un menor tiempo.

Gráfica 5 Glucosa final en sangre con respecto al tiempo



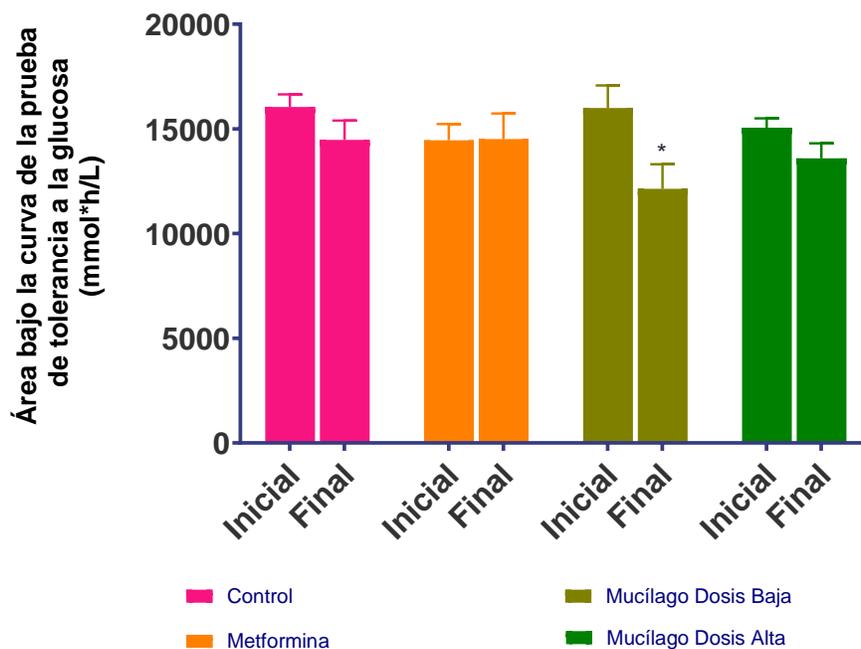
Los valores de glucosa en sangre en ayunas del grupo Control y Metformina al t_{90} se consideran normales con 6.06 y 5.78 mmol/L respectivamente, mientras que los grupos de Mucilago de alache como intolerancia a la glucosa, con 7.89 mmol/L para el grupo de Mucilago Dosis Baja y 7.83 mmol/L para el grupo Mucilago Dosis Alta. Se aprecia también que después de las 2 horas de la prueba todos los grupos regresaron a valores iniciales e incluso alcanzaron valores por debajo de estos.

Gráfica 6 Glucosa final en sangre independiente del tiempo



Se calculó el área bajo la curva de ambas pruebas, inicial y final, para para poder apreciar el comportamiento de cada grupo. Se puede observar en la gráfica 7, que todos los grupos tienen el mismo comportamiento, no encontrando diferencias entre los valores iniciales con respecto a los finales, salvo para el grupo de Mucilago Dosis Baja.

Gráfica 7 Área bajo la curva de la prueba de tolerancia a la glucosa



Bioquímica sanguínea

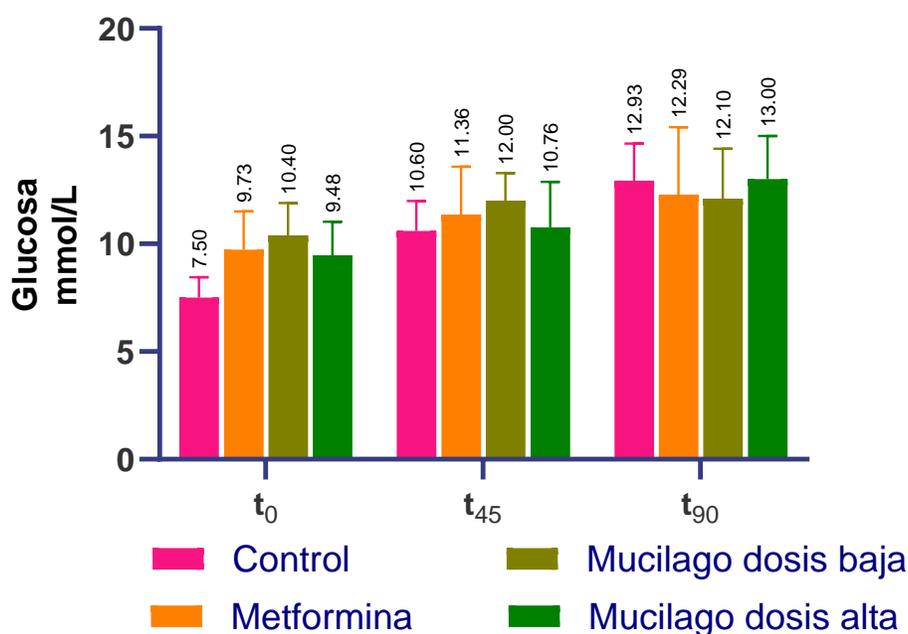
Muchos de los aspectos de la diabetes humana pueden ser estudiados en ratones con diabetes genética o inducida como es el caso de este experimento; las muestras de plasma fueron analizadas para evaluar el efecto del mucílago sobre los parámetros bioquímicos más comunes en la práctica clínica y que indican un daño renal o alteraciones en el metabolismo como lo son: glucosa, colesterol, triglicéridos, nitrógeno ureico en sangre, lipoproteínas de alta y baja densidad, así como hemoglobina glicosilada. La otra parte de los resultados de los parámetros clínicos indicados en materiales y métodos se encuentra en la sección de Anexos de este trabajo.

El parámetro de glucosa en plasma se determinó al t_0 , t_{45} y t_{90} del experimento, separando mediante centrifugación la muestra de sangre recolectada, obteniendo un valor de concentración de glucosa mayor con respecto a la técnica de tiras reactivas. De acuerdo con los valores obtenidos todos los animales muestran un trastorno de la tolerancia a la glucosa, ya que en ayunas tuvieron valores mayores a 7 mmol/L (126 mg/dL) (Asociación Latinoamericana de Diabetes, 2006), después del análisis estadístico no se encontró

diferencia significativa entre los grupos alimentados con dieta alta en grasa en ninguno de los tres tiempos.

Es importante destacar que en el caso del grupo Mucilago Dosis Baja el valor de glucosa en sangre no incrementó después de los 45 días, mientras que el resto de los tratamientos mostraron una tendencia a incrementar con el tiempo, dicho comportamiento puede estar asociado con el consumo del mucílago de alache a dosis bajas y coincide la apreciación con respecto al área bajo la curva obtenida en la prueba de tolerancia a la glucosa mostrada previamente.

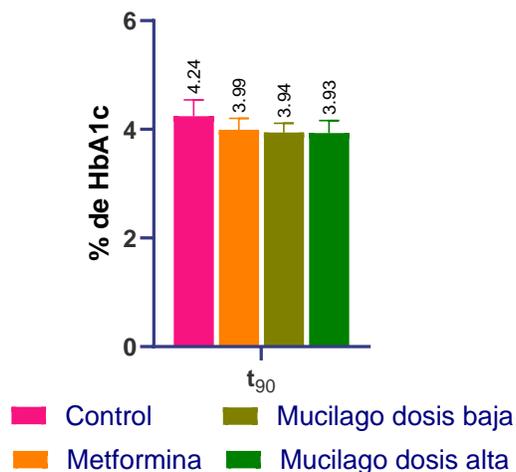
Gráfica 8 Glucosa en plasma



La hemoglobina es una proteína que se encuentra en los glóbulos rojos y que transporta el oxígeno desde los pulmones a todas las células del organismo. La glucosa de la sangre se une a esta proteína para formar la hemoglobina glicosilada (HbA1c). Cuanto más azúcar hay en la sangre, más HbA1c se forma. Además, esta proteína permanece aumentada en la sangre durante 120 días, por lo que sus niveles representan un promedio del nivel de glucosa en los últimos dos o tres meses, a diferencia del simple análisis de glucosa en la sangre, que sólo indica su estado en un momento determinado. Este marcador ayuda a valorar el tratamiento en pacientes diabéticos, que, como múltiples estudios han

confirmado, es un importante factor de riesgo cardiovascular. También ayuda a diferenciar la hiperglucemia (niveles elevados de glucosa o azúcar en la sangre) en los diabéticos de otras causas agudas, como el estrés o un evento coronario (Jiménez Mateos-Caceres, 2009). Con lo anterior dicho se puede observar que todos los grupos en este experimento muestran valores muy similares entre sí. Estos datos se acercan a lo reportado para un estudio de ratones macho albinos diabéticos en el que se obtienen valores de HbA1c de 4.4 – 4.6 % para el control y valores de 6.7 – 7.9 % para los animales diabéticos (Miranda, y otros, 2004), sugiriendo que los grupos de este experimento presentaron hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, pero no se alcanzó un diagnóstico de diabetes.

Gráfica 9 Hemoglobina glicosilada

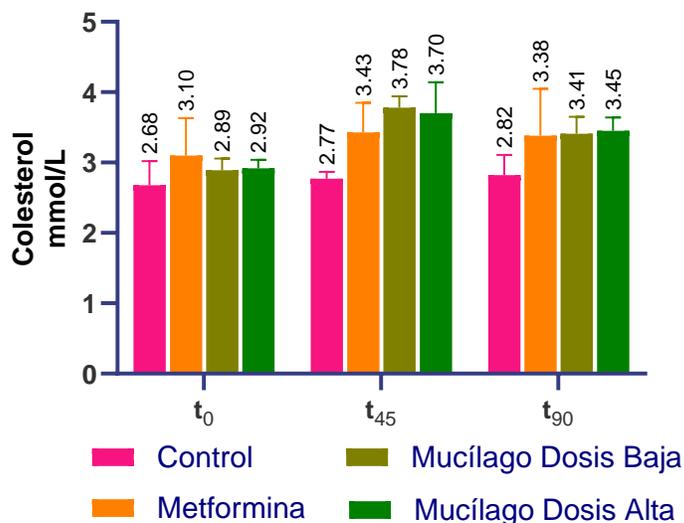


En algunos modelos murinos, los niveles de glucosa y resistencia a la insulina se ven incrementados de manera dependiente a la edad; además las hembras parecen ser más resistentes al desarrollar diabetes (King, 2012) La naturaleza heterogénea de la diabetes tipo 2 y el hecho de que se prevé que su prevalencia incremente en las próximas décadas, hace que cualquier información proveniente de modelos animales sea de ayuda, incluso aunque el modelo no represente apropiadamente la condición humana (King, 2012), por lo que aunque no se alcanzaron condiciones de diabetes en los animales, se puso en manifiesto el efecto de la dieta alta en grasas y el consumo de agua azucarada en los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo de los carbohidratos.

Para el caso del colesterol en sangre se puede observar que los grupos alimentados con una dieta alta en grasa tuvieron un incremento significativo con respecto al tiempo. La herencia genética puede jugar un papel determinante en algunos factores bioquímicos como lo es el colesterol, de acuerdo con estudios (Bruell & Daroczy, 1962) para este tipo de cepa, alimentada con una dieta control sus reportes indican un valor promedio de 111 ± 29 mg/100 mL (2.87 ± 0.75 mmol/L), lo cual coincide con lo obtenido en el presente experimento. Este autor propone también que el factor con más influencia es el género sobre la edad, en otras palabras, habrá mayor diferencia en los niveles de colesterol de los ratones macho comparados con los de las hembras y entre cada género será mayor el valor para los especímenes adultos comparados con los jóvenes. Aunque en este experimento no se utilizaron elementos machos, el comportamiento coincide con lo reportado en la literatura para esta cepa.

En ratones obesos se ha reportado un valor de colesterol en sangre de 160 – 200 mg/100mL ($4.1 - 5.1$ mmol/L) (Bruell & Daroczy, 1962) sin embargo no se especifica el género de los ratones, por lo que de manera general se pueden considerar los resultados obtenidos en este experimentos como en el limite alto para este parámetro bioquímico, no encontrando diferencia entre los grupos alimentados con dieta alta en grasa, sugiriendo que ninguno de los tratamientos tuvo impacto en este parámetro.

Gráfica 10 Colesterol

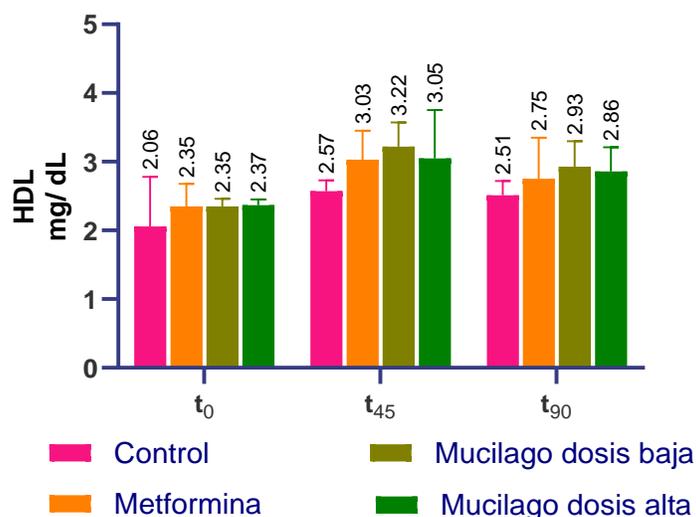


El nivel de colesterol en sangre va a estar ligado a la cantidad de colesterol transportado por las lipoproteínas, principalmente por las de baja densidad (por sus siglas en inglés, LDL) y alta densidad (por sus siglas en inglés HDL).

Las lipoproteínas de alta densidad, identificado coloquialmente como el colesterol bueno, son partículas que transportan el colesterol desde los tejidos hasta el hígado donde puede ser eliminado, evitan que el exceso de colesterol exógeno obtenido por la dieta ocasione problemas al organismo. Por lo tanto, se considera que los niveles de HDL se correlacionan inversamente con el riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular (*Jiménez Mateos-Caceres, 2009*).

En este experimento se obtuvo el mismo comportamiento para todos los grupos no importando la dieta. Aquellos que fueron alimentados con una dieta alta en grasa mostraron valores mayores, pero no mostraron diferencias significativas entre ellos, sugiriendo que ninguno de los tratamientos tuvo impacto en este parámetro y que el aumento de este parámetro es consecuencia directa del consumo obtenido por la dieta.

Gráfica 11 Lipoproteínas de alta densidad

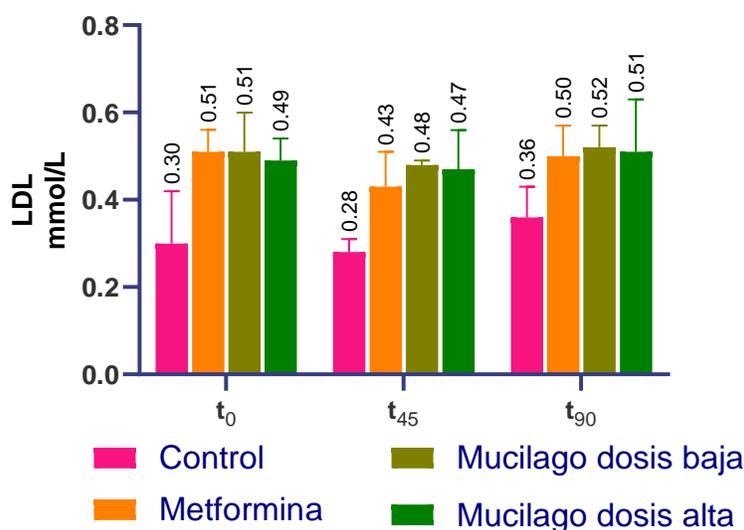


El colesterol transportado por las LDL se conoce coloquialmente como colesterol malo ya que, en las personas con niveles elevados de colesterol, las LDL se pueden acumular en las paredes de las arterias, donde pueden ser modificadas y participar en los procesos

implicados en el desarrollo de la placa aterosclerótica (Cachofeiro, 2009). Además, las LDL pueden oxidarse y tienen un efecto aún más deletéreo sobre los vasos sanguíneos. Debido a esta característica, son consideradas un factor potencial en el proceso de daño vascular (Jiménez Mateos-Caceres, 2009).

Los resultados obtenidos en estos experimentos muestran que aquellos que fueron alimentados con una dieta alta en grasa mostraron valores mayores, pero no mostraron diferencias significativas entre ellos, sugiriendo nuevamente que ninguno de los tratamientos tuvo impacto en este parámetro y que el aumento es consecuencia directa del consumo obtenido por la dieta. Finalmente, esto es congruente con lo observado en las gráficas 10, 11 y 12.

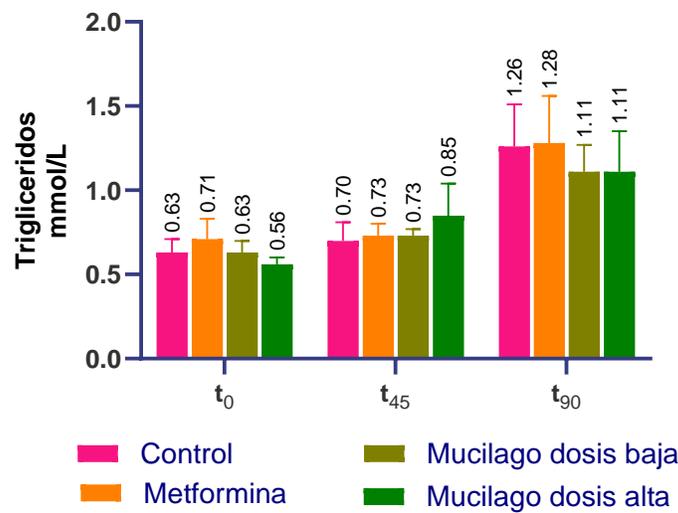
Gráfica 12 Lipoproteínas de baja densidad



Los triglicéridos son la forma en que los lípidos pueden almacenarse en el organismo, para el cual son una fuente importante de energía. Los triglicéridos proceden tanto de la alimentación como de su propia síntesis en el hígado (Cachofeiro, 2009). Los triglicéridos son la principal fuente de energía del organismo en los períodos entre las comidas, los triglicéridos van desde el hígado a los distintos tejidos para cubrir sus necesidades metabólicas. Los triglicéridos no utilizados se depositan en el tejido adiposo.

Los resultados obtenidos muestran un comportamiento semejante para todos los grupos, sugiriendo que no hubo diferencias en este parámetro con respecto a la dieta administrada. De acuerdo con estudios (Eisinger, y otros, 2014) el colesterol en ratones alimentados con una dieta alta en grasa tiende a ser elevado mientras que los triglicéridos en suero no se muestran tan incrementados comparados con el control. Lo anterior coincide con lo obtenido en este experimento, donde los valores de colesterol son mayores que el de los triglicéridos. Al t_{90} , tanto colesterol como triglicéridos se muestran incrementados con respecto al t_0 , relacionado este cambio con la edad de los animales y no con el tratamiento.

Gráfica 13 Triglicéridos

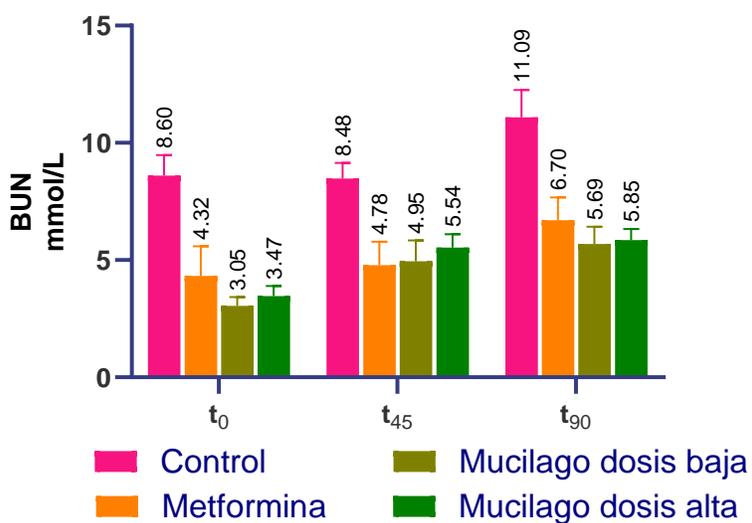


Se denomina hiperlipemia, de manera general, al aumento de los niveles en la sangre de cualquier tipo de lípido, hipercolesterolemia si es el colesterol, o hipertrigliceridemia, si son los triglicéridos, si ambos están aumentados, recibe el nombre de hiperlipemia mixta. La principal consecuencia del exceso de colesterol en la sangre es el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares (Cachofeiro, 2009). Por lo obtenido, se puede concluir que no hubo hiperlipemia de ningún tipo en las ratonas durante el experimento, considerando un límite alto al final del experimento relacionado con la edad de los animales y no con la dieta o los tratamientos administrados.

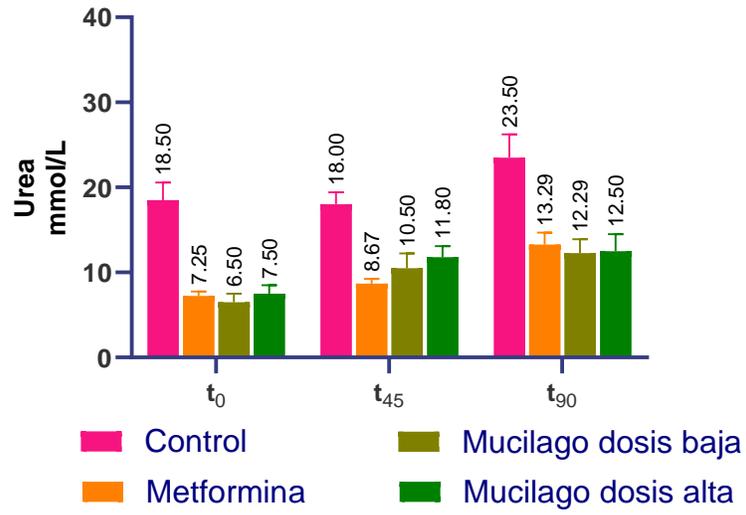
A través de estudios de química sanguínea se puede evaluar la función renal al cuantificar metabolitos como la creatinina, la urea y el nitrógeno ureico en sangre (por sus siglas en inglés BUN) (Olay Fuentes, y otros, 2013). En el caso de la urea y el nitrógeno ureico en

sangre, ambas pruebas muestran el mismo comportamiento, aumentado para el grupo con dieta control y disminuido para los grupos con dieta alta en grasa. En el caso de la creatinina todos los grupos presentan el mismo comportamiento. Al comparar con los resultados histológicos y uroanálisis mostrados más adelante, se puede inferir que no hubo una afectación a nivel del riñón y la diferencia en los valores de urea y BUN puede deberse al estado de hidratación de los animales, ya que los que llevaban una dieta alta en grasa consumían más agua y los analitos pudieran estar diluidos en estos grupos.

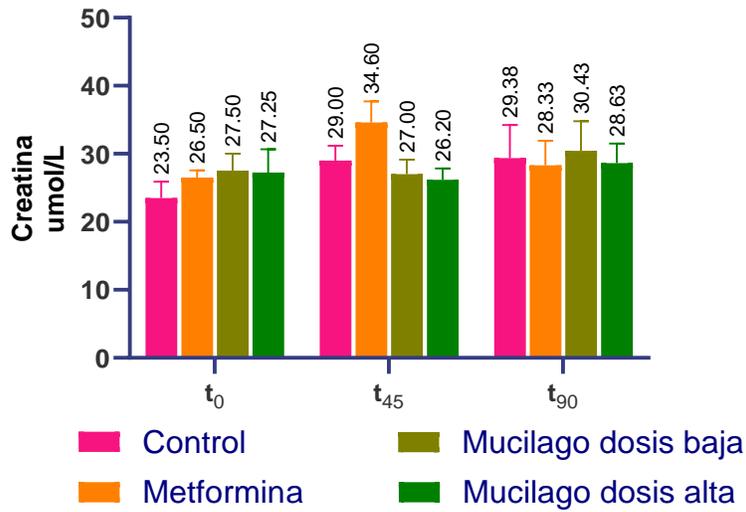
Gráfica 14 Nitrógeno ureico en sangre



Gráfica 15 Urea en sangre



Gráfica 16 Creatinina en sangre

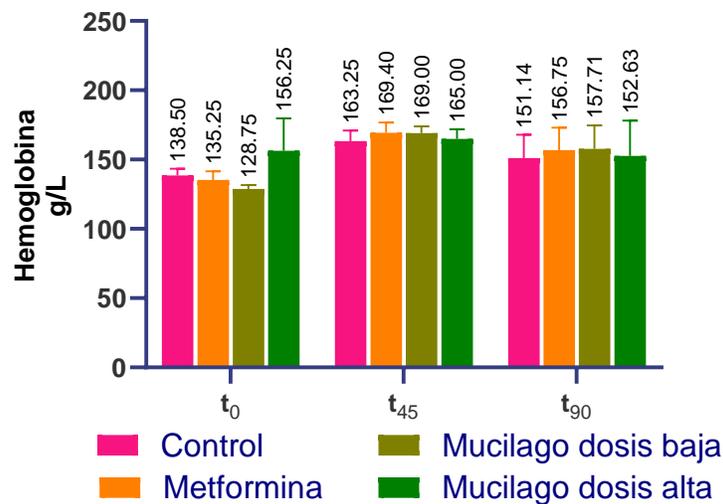


BIOMETRÍA HEMATICA

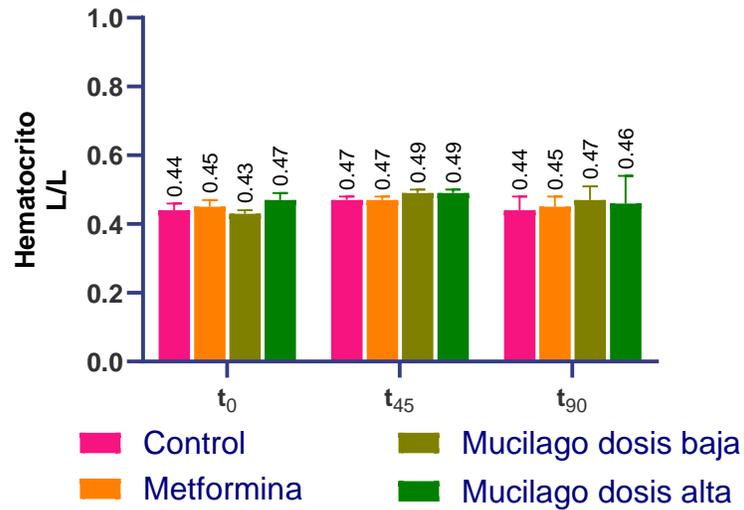
El estudio de la biometría hemática puede dar a conocer patologías hematológicas y también daños en otros órganos y sistemas por lo que su análisis es de suma importancia. El análisis de la serie roja incluye la cuantificación de hemoglobina, volumen globular medio, concentración globular media de hemoglobina, eritrocitos y hematocrito.

La hemoglobina es la proteína encargada de captar y transportar de O_2 de los pulmones a los tejidos. La proporción que guarda el eritrocito con el plasma sanguíneo se le conoce como hematocrito. La cuantificación de este marcador puede ayudar a detectar anemia. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado para este género y cepa, 148 – 151 g/L para hemoglobina y 0.45 – 0.50 L/L (Raabe, Artwohl, Purcell, Lovaglio, & Fortman, 2011) concluyéndose que un comportamiento normal y ausencia de padecimientos como la anemia en los animales.

Gráfica 17 Hemoglobina

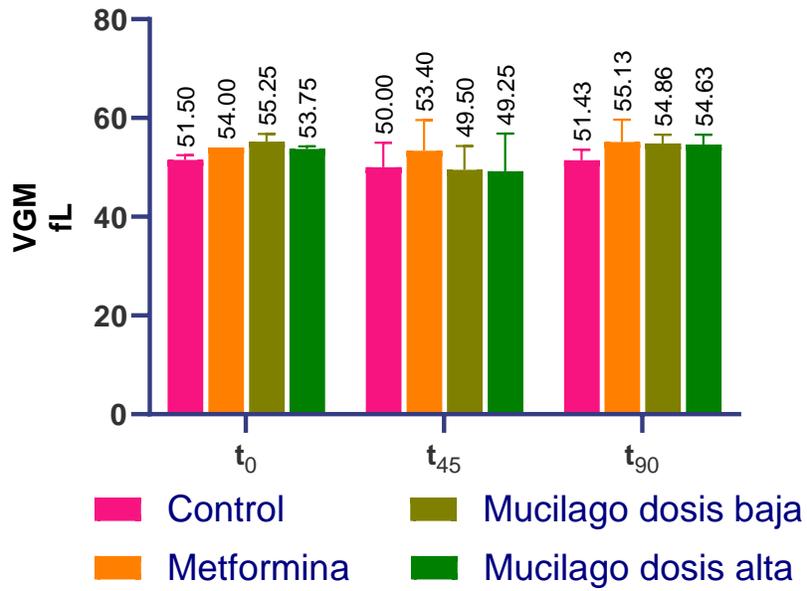


Gráfica 18 Hematocrito

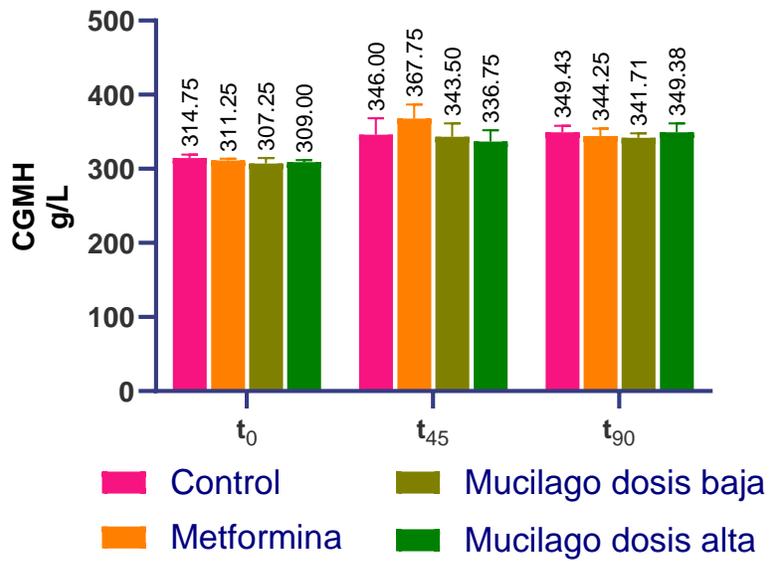


El volumen globular medio (VGM) indica el tamaño promedio del eritrocito, dependiendo del resultado se puede clasificar como normocítica, microcítica o macrocítica. La concentración globular media de hemoglobina (CGVM) nos da el promedio de la concentración de hemoglobina en 100 mL de eritrocitos. Por los resultados observados se puede concluir que todos los grupos tuvieron un comportamiento normocítico durante el experimento, y se excluyen patologías como talasemia, e insuficiencia de vitamina B12 y ácido fólico.

Gráfica 19 Volumen Globular Medio

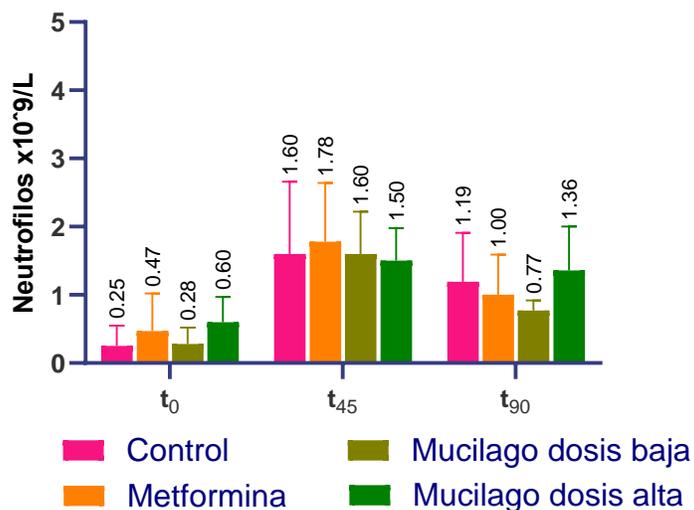


Gráfica 20 Concentración globular media en hemoglobina



Un incremento en los valores de neutrófilos en sangre se asocia con infecciones, inflamación, daño tisular y estrés (López-Santiago, 2016). Este comportamiento se puede observar en la gráfica 22, ya que conforme el tiempo del experimento aumentó, el valor de los neutrófilos en sangre también aumentó, coinciden con las observaciones descritas sobre el comportamiento de los animales, los cuales estuvieron estresados y propensos a comportamientos agresivos, reflejándose en las lesiones presentadas en la mayoría de ellos. Para el grupo de Mucílago dosis baja se aprecia una reducción en sus niveles de neutrófilos al t_{90} , lo cual puede estar asociado al efecto del consumo del mucilago de alaches.

Gráfica 21 Neutrófilos



UROANALISIS

Tabla 4 Uroanálisis

	CNT	MTF	MDB	MDA
Apariencia	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
Color	Amarillo intenso	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro
Densidad	1.035 ± 0.012	1.011 ± 0.007	1.010 ± 0.007	1.019 ± 0.016
pH	6.6 ± 0.8	7.1 ± 0.9	7.1 ± 0.5	6.8 ± 0.8
Cetonas (mM)	0.75 ± 0.77	0.08 ± 0.34	No detectado	0.19 ± 51
Bilirrubina (µM)	11.7 ± 8.1	No detectado	No detectado	No detectado
Sangre (erit/µL)	35 ± 8	40 ± 9	No detectado	34 ± 8

El color de la orina depende principalmente de la hidratación del cuerpo, la orina normal es una solución transparente que va desde casi incolora al ámbar. Por lo observado en la tabla, la apariencia fue transparente en todos los casos variando en la intensidad del color, el mayor consumo de agua por los animales que tenían una dieta alta en grasa y glucosa, tuvieron una menor tonalidad en la orina. Estos grupos también tuvieron pH altos que podría sugerir una relación con la dieta.

Durante el experimento también se midió proteínas y glucosa en orina, sin embargo, no se detectó ninguna concentración en ningún grupo experimental; de haber encontrado glucosa en la orina, indicaría glucosuria, presente sobre todo en pacientes con diabetes mellitus. De haber detectado presencia de proteínas en la orina, se designa como proteinuria que está relacionada con enfermedades como glomerulonefritis, infecciones, intoxicaciones, diabetes entre otras.

El grupo de Mucilago Dosis Baja fue el único en el cual no se detectaron metabolitos disueltos en la orina, sugiriendo que las etapas de filtración glomerular y reabsorción tubular de este grupo no se alteraron durante el experimento. Hay que resaltar también que fue el único grupo experimental en el cual no hubo decesos.

HISTOLOGIA

Descripción macroscópica

En los animales del grupo control no se observaron lesiones macroscópicas en ninguno de los órganos estudiados. Mientras que, en los animales con dieta alta en grasa, es decir, el grupo metformina y ambas dosis de mucílago, la única observación macroscópica observable se encontró a nivel de hígado con un aumento de tamaño, aspecto suave y amarillo. El resto de los órganos estudiados no presentaron lesiones macroscópicas.

Descripción microscópica

De manera aleatoria en los grupos con dieta alta en grasa se observó que entre 10-70% de lo hepatocitos, contienen en su citoplasma múltiples vacuolas de gran tamaño que desplazan el núcleo a la periferia. Estas lesiones están relacionadas a esteatosis hepática de leve a grave.

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que los animales con dieta alta en grasa desarrollaron esteatosis macrovascular en el hígado, comparados con los que tuvieron la dieta estándar de mantenimiento.

En la siguiente tabla se muestra el resumen de resultados:

Tabla 5 Cambios histológicos

Grupo	Baz	Híg	Riñ	G.Ad	Cor	TAS	TAD	Pán	NLA	NLD
CNT	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP	SCHP
MTF	SCHP	EST ⁺	SCHP							
MDB	SCHP	EST ⁺⁺	SCHP							
MDA	SCHP	EST ⁺	SCHP							

CNT=Control, MTF=Metformina, MDB=Mucílago dosis baja, MDA=Mucílago dosis alta, Baz = Bazo, Híg = Hígado, Riñ = Riñón, G.Ad = Glándula adrenal, Cor = Corazón, TAS = Tejido adiposo subcutáneo, TAD=Tejido adiposo mesentérico, Pán =Páncreas, NLA = Nodos linfáticos relacionados a la vía de administración, NLD=Nodos linfáticos distales relacionados a la vía de administración. SCHP= Sin cambio histopatológico, EST= Esteatosis, += leve, ++=moderada, +++=grave.

Conclusiones

Se determinó que el mucilago de alache forma una estructura compacta, elástica y con poca densidad con potenciales medicinales.

Dadas las mutaciones genéticas de la cepa C57BL6, la vuelven idóneas para modelos de estudio de alteraciones como obesidad y diabetes; sin embargo, el modelo animal de ratones hembra C57BL6 mostró alta susceptibilidad al estrés y un comportamiento agresivo durante los 90 días del experimento, teniendo un impacto no medido en los resultados, lo cual debe considerarse para el uso de este modelo en futuros estudios sobre la cepa.

Los grupos experimentales de Metformina, Mucilago dosis baja y Mucilago dosis alta recibieron una dieta alta en grasas y agua azucarada durante 36 semanas, durante este tiempo los animales generaron sobrepeso, trastorno de la tolerancia a la glucosa y esteatosis hepática. En estos grupos no se observó alteraciones en la vía de lípidos, ni alteraciones cardíacas o en la función renal, también se descartaron insuficiencias vitamínicas importantes.

El grupo de Mucilago dosis baja tuvo el menor valor en el área bajo la curva de la prueba a la tolerancia a la glucosa, no se detectó cetonas, bilirrubina o sangre en la orina y tuvo una mejoría en la cuantificación de neutrófilos en sangre. También se destaca que no hubo ningún descenso en los miembros del grupo experimental, asociando estas mejorías al consumo del mucilago de alaches.

Si bien se aprecian diferencias significativas de los grupos experimentales con respecto al grupo control, estas se deben a la diferente dieta, es necesario incluir en el estudio un grupo control con una dieta alta en grasa y agua azucarada sin ningún tratamiento para determinar el efecto de los tratamientos.

Referencias

- Álvarez-Sánchez, C., Contenido, I., Jiménez-Aguilar, A., Koch, P., Lee-Gray, H., Guerra, L. A., . . . Shamah-Levy, T. (2018). Does the Mexican sugar-sweetened beverage tax have a signaling effect? ENSANUT 2016. *PLoS ONE*, *13*(8), 1-18.
doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199337>
- Ameri, A., Heydarirad, G., Jafari, J. M., Ghobadi, A. R., & Choopani, R. (2015). Medicinal plants contain mucilage used in traditional Persian medicine (TPM). *Pharmaceutical Biology*, *53*(4), 615-623. doi:<https://doi.org/10.3109/13880209.2014.928330>
- Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2006). Definición y diagnóstico de la diabetes mellitus y otros problemas metabólicos asociados a regulación alterada de la glucosa. En *Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2* (Vol. XIV, págs. 107-110).
- Barros, C. (2017). La sabia alimentación campesina, reconocida por la ciencia. *La Jornada del campo*, *122*, 6-7.
- Bartra, A. (2017). Lo que va de los abrojos a los quelites. *La Jornada del Campo*, *122*, 2-3.
- Benavides, F., & Guenet, J.-L. (2000). Modelos Murinos de Enfermedades Humanas. *Medicina*, *61*, 215-231. Obtenido de http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol61-01/2/v61_n2_p215_231.pdf
- Bruell, J. H., & Daroczy, A. F. (1962). Stain and Sex Differences in Serum Cholesterol Levels of Mice. *Science*, 1071-1072.
- Bye, R., & Linares, E. (2000). Los quelites, plantas comestibles de México: Una reflexión sobre intercambio cultural. *CONABIO*, *31*, 11-14.
- Cachofeiro, V. (2009). Alteraciones del colesterol y enfermedad cardiovascular. En M. M. Lopez Farré A., *Libro de la Salud Cardiovascular* (págs. 131-139). Bilbao: Fundación BBVA.
- Carranza-Madrigal, J. &.-C. (2008). El síndrome metabólico en México. *Med Int Mex*, *24*(4), 251-261.
- Castro, D., Basurto, F., Mera, L., & Bye, R. (2011). *Los Quelites Tradición Milenaria en México*. Texcoco, Mexico: Universidad Autónoma Chapingo.
- Dávila-Torres, J., González-Izquierdo, J., & Barrera-Cruz, A. (2015). Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, *53*(2), 240–249.

- Eisinger, K., Liebisch, G., Schmitz, G., Aslanidis, C., Krautbauer, S., & Buechler, C. (2014). Lipidomic Analysis of Serum from High Fat Diet Induced Obese Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 2991-3002.
- Escobedo-De la Peña, J., Rascón-Pacheco, R. A., Ascencio-Montiel, I., González-Figueroa, E., Fernández-Gárate, J. E., Medina-Gómez, O. S., . . . Borja-Aburto, V. H. (May de 2021). Hypertension, Diabetes and Obesity, Major Risk Factors for Death in Patients with COVID-19 in Mexico. *Archives of Medical Research*, 52(4), 443-449. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.12.002>
- Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P. (2006). La fibra dietetica. *Nutrición Hospitalaria*, 21(2), 61-72.
- FAO. (2017). *Promoting neglected and underutilized crop species*. Obtenido de <http://www.fao.org/news/story/en/item/1032516/icode/>
- FAO. (2018). *Biodiversidad para un mundo sustentable*. Obtenido de <http://www.fao.org/biodiversity/componentes/plantas/es/>
- García, M. R., & Pérez, L. R. (2003). Fitoalexinas: Mecanismo de defensa de las plantas-. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 9(1), 5-10. doi:<https://doi.org/10.4270/ruc.2010216>
- Gasparetto, J. C., Martins, C. A., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., & Pontarolo, R. (2012). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: A millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(2), 172–189. doi:<https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01383.x>
- Godfray, H., Beddington, J., Crute, I., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J., & Toulmin, C. (28 de January de 2010). Food Security: The challenge of feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812-818. doi:10.1126/science.1185383
- Gomez-Chang, E. U.-E.-M.-M. (2018). Anti-Helicobacter pylori Potencial of Three Edible Plants Known as Quelites in Mexico. *Journal of Medicinal Food*. doi:<https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0137>
- Jorge Escobedo-De la Peña, R. A.-P.-M.-F.-G.-G.-B.-O. (2021). Hypertension, Diabetes and Obesity, Major Risk Factors for Death in Patients with COVID-19 in Mexico. *Archives of Medical Research*, 52, 443-449. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.12.002>
- Juarez-Reyes, K. (2016). Estudio de la especie *Anoda cristata* (L.) Schldl. (Malvaceae) como fuente potencial de agentes útiles para el tratamiento de la diabetes mellitus y sus complicaciones. Facultad de Química, UNAM.

- Juárez-Reyes, K., & Mata-Essayag, R. (Abril de 2016). Estudio de la especie *Anoda cristata* (L.) Schltndl. (Malvaceae) como fuente potencial de agentes útiles para el tratamiento de la diabetes mellitus y sus complicaciones (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Juárez-Reyes, K., Brindis, F., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2015). Hypoglycemic, antihyperglycemic, and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata*. *Journal of Ethnopharmacology*, *161*, 36-45. doi:http://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.052
- King, A. J. (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*, *166*(3), 887-894. doi:http://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x
- Konar, N., Toker, O. S., Sirin, O., & Osman, S. (March de 2016). Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, *49*, 35-44. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.002
- López-Santiago, N. (2016). La biometría hemática. *Acta Pediatr Mex*, 246-249.
- Martínez-Martínez, M. (2016). Estudio del potencial Anti-*Helicobacter pylori* de extractos y alimentos preparados a partir de tres especies subvaloradas y subutilizadas de quelites. Ciudad Universitaria, Ciudad de México, México.
- Miranda, M., Muriach, M., Johnsen, S., Bosch-Morell, F., Araiz, J., Romá, J., & Romero, F. (2004). Oxidative stress in a model for experimental diabetic retinopathy: treatment with antioxidants. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, *79*(6), 289-294. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-66912004000600007&lng=es&tlng=en
- Montes Garcia, E. S. (2017). *Diseño de protocolo para el manejo de ratones cepa C57BL/6*. Instituto Tecnológico de Colima. Villa de Alvarez: SEP. Obtenido de <https://dspace.itcolima.edu.mx/bitstream/handle/123456789/809/EVELYN%20SARAH%20MONTES%20GARC%c3%8dA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Nieto-Orozco, C., Chanin Sangochian, A., Tamborrel Signoret, N., Vidal González, E., Tolentino-Mayo, L., & Vergara-Castañeda, A. (2017). Percepción sobre el consumo de alimentos procesados y productos ultraprocesados en estudiantes de posgrado de la Ciudad de Mexico. *Journal of Behavior, Health/ Social Issues*, *9*(2), 82-88. doi:http://doi.org/10.1016/j.jbhsi.2018.01.006
- Olay Fuentes, G., Díaz Piedra, P., Hernández Gómez, R., Cervantes-Villagrana, R. D., Presno-Bernal, J. M., & Alcántara Gómez, L. E. (2013). Determinación de intervalos de referencia química clínica en población mexicana. *Rev Latinoamer Patol Clin*, *60*(I), 43-51.

- ONU. (2019). *La población mundial sigue en aumento, aunque sea cada vez más vieja*. Obtenido de Departamento de Asuntos Economicos y Sociales: <https://www.un.org/es/desa/world-population-prospects-2019>
- Padulosi, S., Thomson, J., & Rudebjer, p. (2013). Species. Fighting poverty hunger and malnutrition with neglected And underutilized species (nus): Needs, challenges and the way forward. *Online Journal on Biodiversity International*. Obtenido de <http://www.biodiversityinternational.org/e-library/publications/detail/fighting-poverty>
- Prajapati, V. D., Jani, G. K., Moradiya, N. G., & Randeria, N. P. (2013). Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilagues and teir modified forms. *Carbohydrate Polymers*, 92(2), 1685-1699. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.021>
- Prashanth Vas, D. H. (2020). Diabetes, obesity and COVID-19: A complex interplay. *Diabetes Obes Metab.*, 1892–1896. doi:[10.1111/dom.14134](https://doi.org/10.1111/dom.14134)
- Ramos-Lara, M. d. (2016). *Plantae Novae Hispaniae (Martin de Sessé y José Mariano Mociño 1893)*. Ciudad de Mexico: Universidad Nacional Autonoma de Mexico.
- Rendon, B., Bye, R., & Nunez, J. (2001). Ethnobotany of *Anoda cristata* (L.) schl. (Malvaceae) in central Mexico: Uses, managment and population differentiation in the community of Santiago Mamalhuazuca, Ozumba, State of Mexico. *Economic Botany*, 5(4), 545-554.
- Tomoda, M., Ryoko, G., Shimizu, N., & Yamada, H. (1989). An Anti-complementary Mucilage from the leaves of *Malva sylvestris* var. *mauritiana*. *Chem. Pharm. Bull*, 37(11), 3029–3032. doi:<http://doi.org/10.1061/ASCE1090-02412003129:112>
- Vas, P., Hopkins, D., Feher, M., Rubino, F., & White, M. B. (2020). Diabetes, obesity and COVID-19: Acomplex interplay. *Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 1892-1896. doi: <https://doi.org/10.1111/dom.14134>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb/2016.06.017>
- Wang, P. C., Zhao, S., Yang, B. Y., Wang, Q. H., & Kuang, H. X. (2016). Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 148, 88-97. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.060>
- WHO. (2018). Obtenido de WHO (2018)Obesidad y sobrepeso: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Apéndices

Anexo 1. Receta tradicional de Alaches

Ingredientes:

Alaches limpios	500 g
Agua	834 g
Cebolla blanca	162 g
Sal	7 g
Tequesquite*	1.4 g

* El tequesquite se solubiliza en ≈ 5 mL de agua y se le agrega a la preparación por decanto. Los sedimentos no se le adicionan.

Preparación:

1. Se lavan a chorro de agua las hojas de alache y se escurren un poco.
2. En una cacerola de acero inoxidable se coloca el agua hasta alcanzar el hervor (aprox. 10 min.)
3. Se añaden las hojas de alache y se tapa la cacerola.
4. Cuando el volumen de las hojas se disminuye, se le agrega la cebolla, la sal y la solución de tequesquite.
5. Se bate enérgicamente la preparación para ablandar los tricomas de las hojas y homogenizar el platillo. (aprox. 20 min.)

Una vez obtenido el platillo se separa el caldo de las hojas por centrifugación (10 min/ 7500 rpm) y se esteriliza en autoclave para su conservación (121°C/15 min).

Anexo 2. Dietas de los animales

Alimento estándar 2018S Teklad Global 18% protein Rodent Diet (Sterilizable)

Ingredientes: Trigo molido, maíz molido, harina de soya, aceite de soya, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, levadura cervecera deshidratada, sal yodada, L-lisina, DL-metionina, cloruro de colina, kaolin, complejo de bisulfito sódico de menadiona, oxido de magnesio, acetato de vitamina E, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, oxido manganoso, niacina, sulfato ferroso, oxido de zinc, riboflavina, acetato de vitamina A, clorhidrato de piridoxina, sulfato de cobre, suplemento de vitamina B12, ácido fólico, yodato de calcio, biotina, suplemento de vitamina D3, carbonato de cobalto.

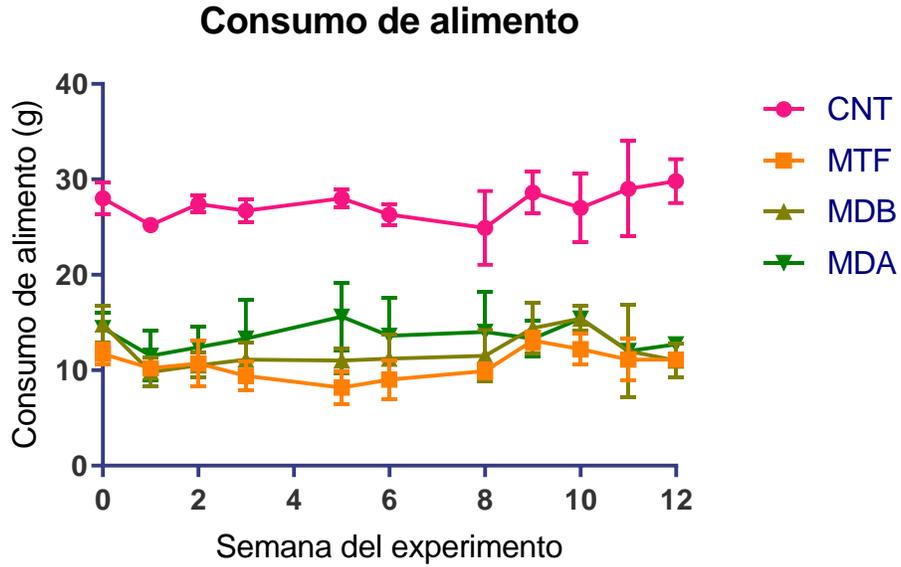
Macronutrientes	Por 100 g
Proteína cruda	18.6
Lípidos	6.2
Carbohidratos	44.2
Fibra	3.5
Cenizas	5.3
Densidad energética	3.1 kcal/g

Alimento alto en grasa Tso's High Fat Diet with mostly butter fat D03082706

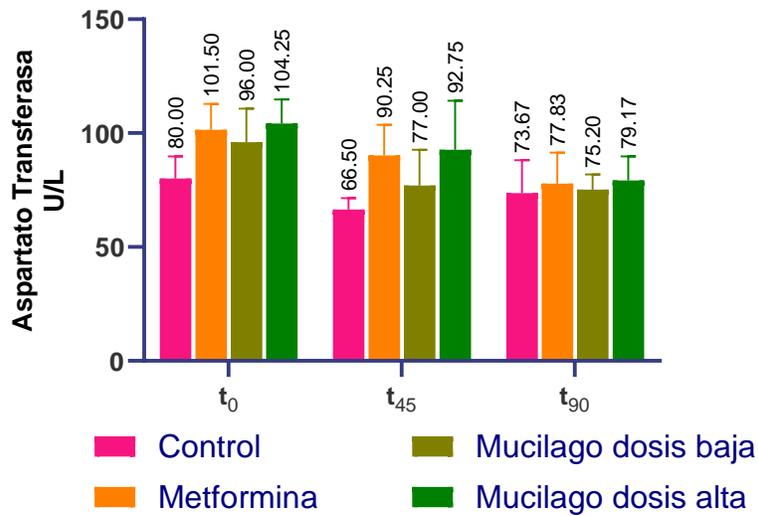
Ingredientes: Caseína, L-cisteína, almidón de maíz, maltodextrina 10, sucrosa, celulosa BW200, aceite de soya, mantequilla anhidra, sales AIN93 G y M, vitaminas AIN93, bitartrato de colina, colorantes FD&C Azul #1 y Amarillo #5.

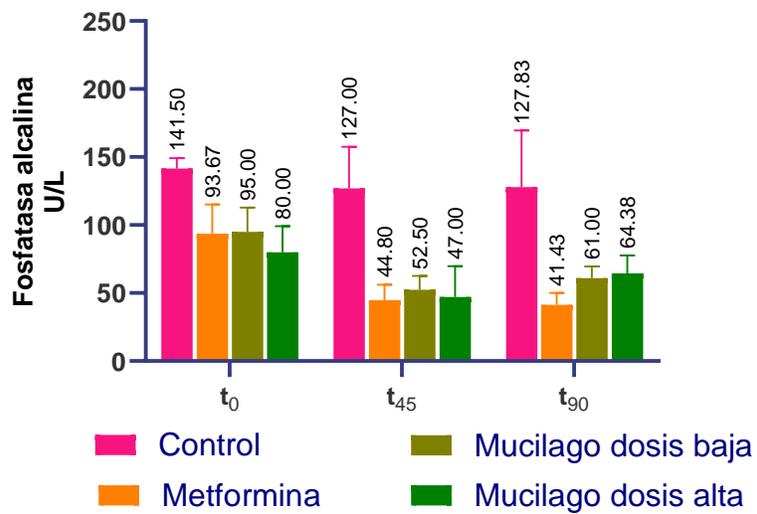
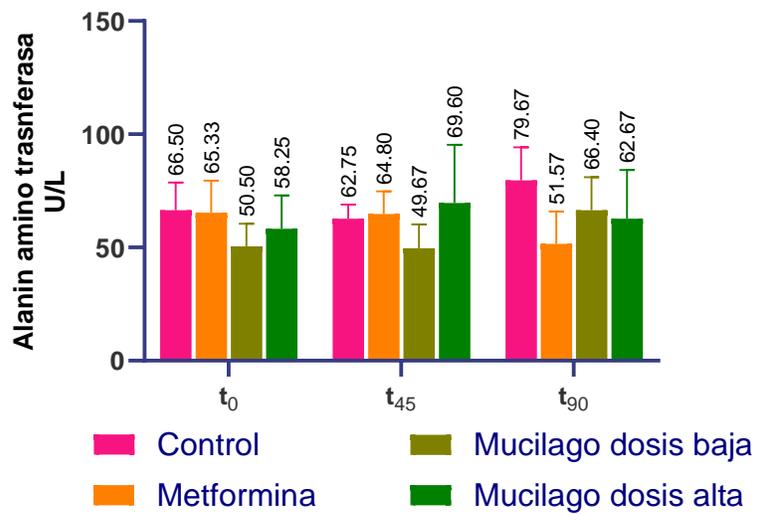
Macronutrientes	Por 100 g
Proteína cruda	15.03
Lípidos	19.78
Carbohidratos	46.46
Fibra	9.95
Cenizas	3.18
Densidad energética	4.5 kcal/g

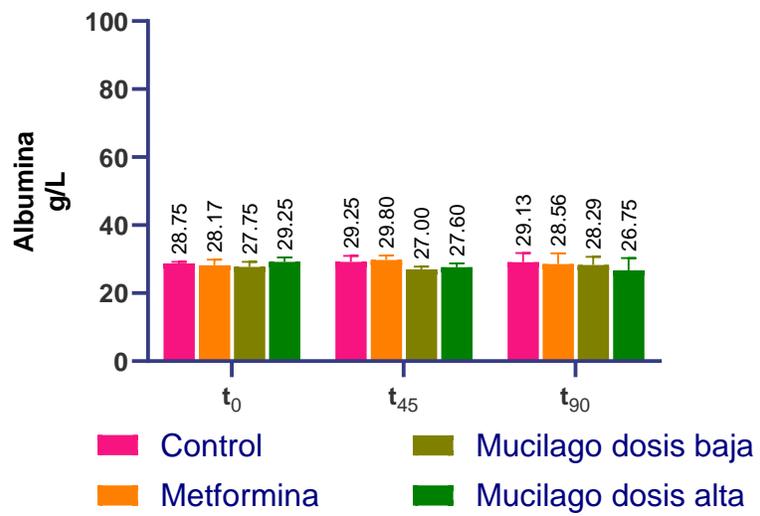
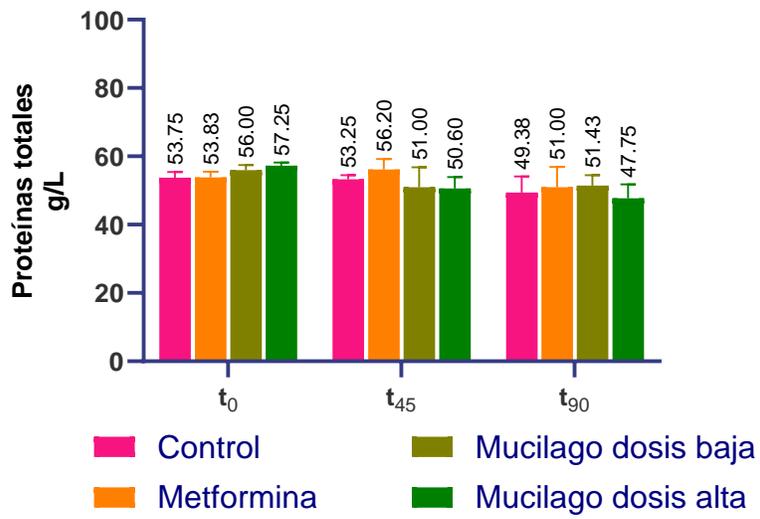
Anexo 3. Consumo de alimento

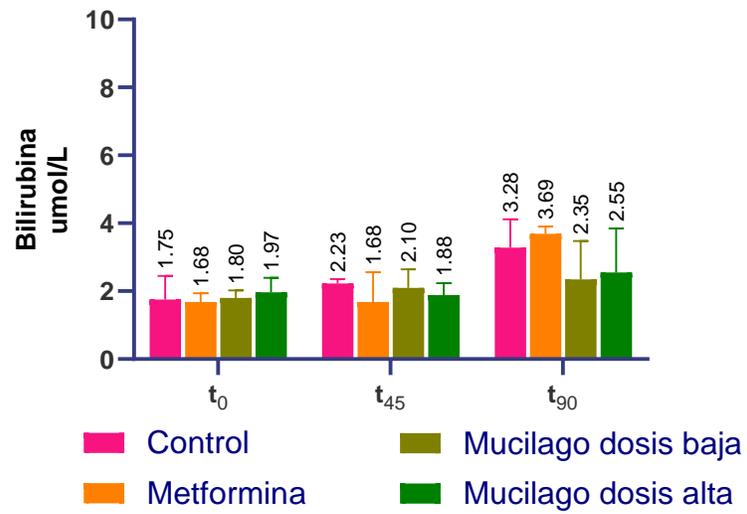
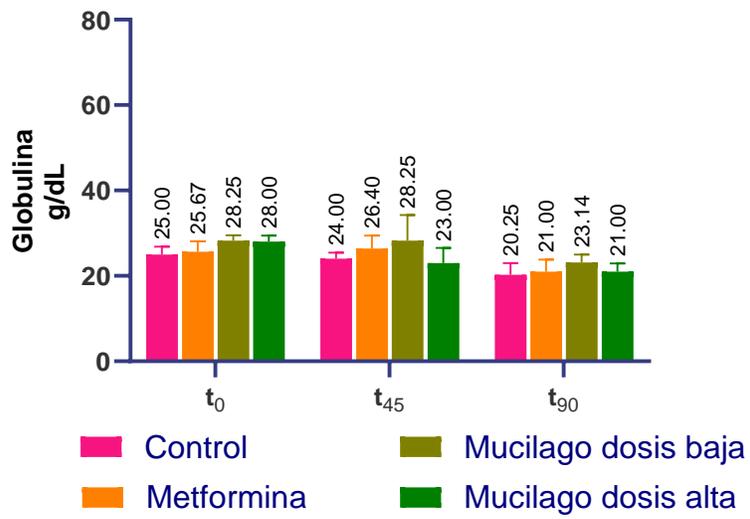


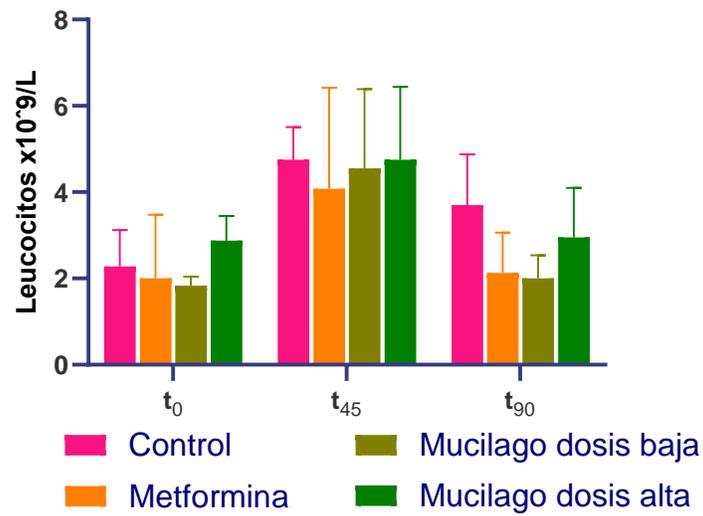
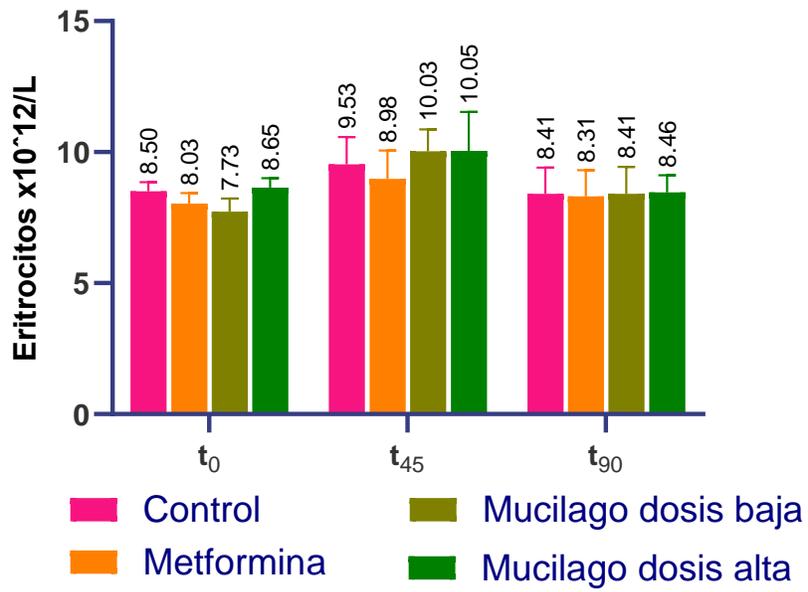
Anexo 4. Gráficas complementarias de las pruebas bioquímicas y hemáticas.

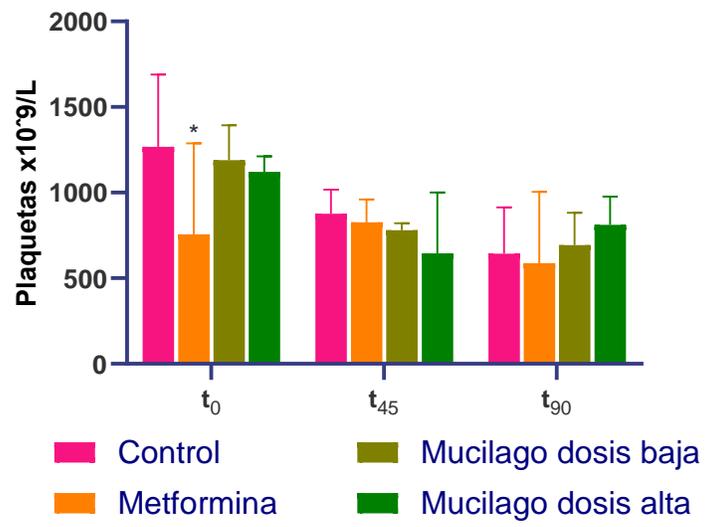












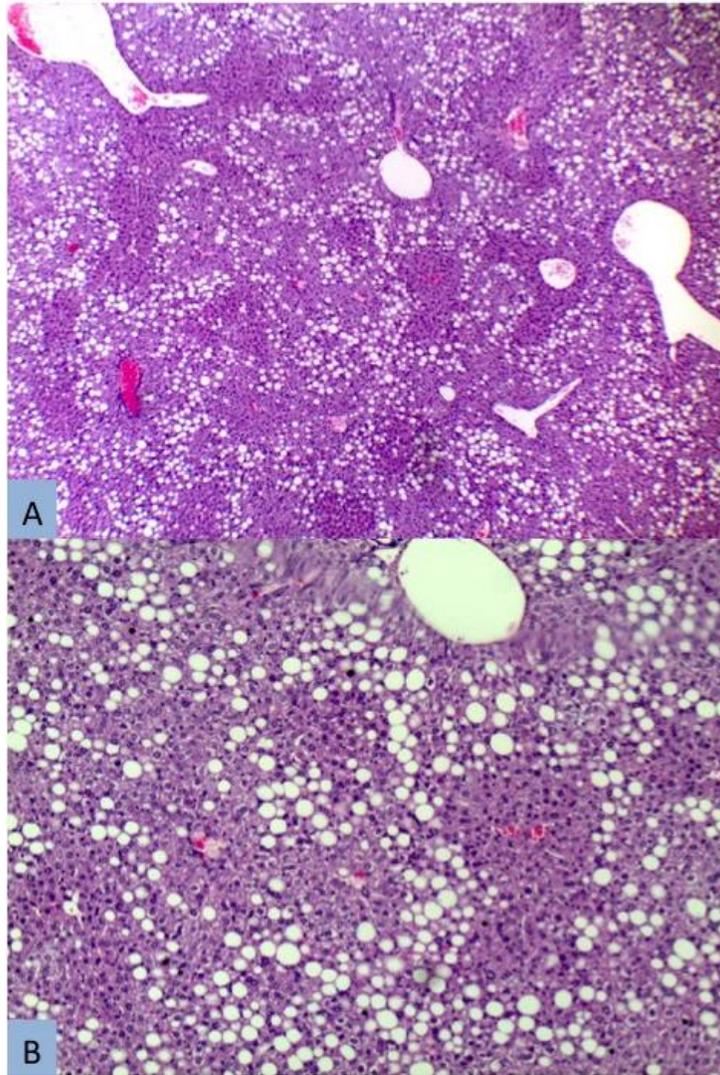


Ilustración 8 A) Corte histológico de hígado 5X, B) 10X

Información complementaria

Experimento preliminar realizado en el Instituto de Fisiología celular

El objetivo de este experimento fue evaluar la respuesta de los animales sanos al administrarles el caldo de alache. Por la facilidad de descomposición de este quelite, se evaluó si después del secado y almacenamiento de las hojas, estas mantenían sus propiedades.

En la gráfica se muestra la cinética de la glucosa en sangre después de administrarles el Caldo de Alache Fresco (CAF) y el Caldo de Alache obtenido a partir de hojas Secas (CAS).

Tolerancia a la insulina

