



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**EFFECTO DE EXTRACTO DE PASTA DE AGUACATE cv.
'HASS' SOBRE CONDUCTAS DE SACIEDAD Y MARCADORES
HORMONALES ENTÉRICOS EN UN MODELO MURINO**

Por:

Dafne Velásquez Jiménez

TESIS PARA APROBAR POR LA

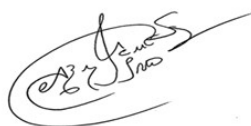
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

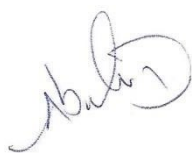
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Dafne Velásquez Jiménez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



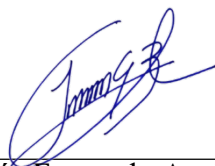
Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Director de tesis



Dr. Marcelino Montiel Herrera
Codirector de tesis



Dr. Jesús Abraham Domínguez Avila
Integrante del comité de tesis



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Efecto de Extracto de Pasta de Aguacate cv. ‘Hass’ Sobre Conductas de Saciedad y Marcadores Hormonales Entéricos en un Modelo Murino” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Dafne Velásquez Jiménez, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado durante la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD A.C.) por brindarme la oportunidad de alcanzar una meta más en mi desarrollo profesional y personal.

A los proyectos “Inducción de saciedad y modulación de la digestión intestinal de lípidos ejercidos por los compuestos fenólicos de aguacate Hass” (Instituto de Bebidas de la Industria Mexicana de Coca-Cola, PNCTA, 2019) y “Acciones de inducción de saciedad y modulación de digestión de lípidos ejercidas por los compuestos fenólicos de subproductos de aguacate. Un estudio enteroendócrino y conductual” (CONACYT, 265216).

A la empresa Avoleo S.A de C.V. por donar generosamente la materia prima que se utilizó para la realización de este proyecto.

Al Dr. Gustavo González Aguilar, mi director de tesis, por darme un espacio en su grupo de trabajo, por su confianza hacia mi persona y mis capacidades, por sus aportaciones a mi trabajo y por buscar que siempre dé lo mejor de mí misma.

Al Dr. Marcelino Montiel Herrera, mi codirector de tesis, por siempre estar al pendiente de todo lo necesario, por enseñarme con paciencia y tranquilidad el manejo de los animales, por confiar en mí y en todas las decisiones tomadas a lo largo del proyecto desde un inicio.

Al Dr. Fernando Ayala Zavala, por sus comentarios siempre acertados para lograr hacer lucir el trabajo lo mejor posible, por su apoyo a lo largo del proyecto y su gran disponibilidad para ayudar en lo que fuera necesario.

Al Dr. Abraham Domínguez Avila, por su gran interés en este proyecto, su confianza depositada en mí y permitirme formar parte de las decisiones tomadas en cada etapa de este trabajo, por su gran disponibilidad para ayudar profesional o personalmente, por su apoyo incondicional en cada momento de los ensayos con los animales, sus enseñanzas, sus correcciones, sus comentarios y sus consejos.

Al grupo de trabajo del Laboratorio de Alimentos Funcionales y Antioxidantes Naturales, a los que se fueron y los que se quedan, porque sin ustedes la experiencia no sería igual. Especialmente a la

técnico Q.B. Mónica Villegas, porque sin su apoyo, consejos y disponibilidad en todo momento, nada de esto podría llevarse a cabo.

A la Universidad de Sonora y el personal del Bioterio en el Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud por el suministro de los animales de experimentación, así como el apoyo durante su crianza hasta el momento que estuvieron listos para comenzar el experimento. Especialmente al personal administrativo, la QB Karla Zavala Ortega y la M.C. Denisse García Villa, por permitir continuar con este trabajo.

Al Dr. Humberto Astiazaran y su laboratorio, por permitirme usar las instalaciones del bioterio del CIAD A.C. durante todo el tiempo necesario y siempre estar disponible por las necesidades que surgían a lo largo del bioensayo.

Al Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM A.C.) por apoyarnos con el envío y recepción de la materia prima de este proyecto, especialmente a la Dra. Citlali Colin Chavez, quién se encargó de que las condiciones fueran las mejores para mantener la calidad de nuestro proyecto.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV), por otorgarme un espacio en sus instalaciones durante la realización de este trabajo, así como el apoyo otorgado por todo el personal de la misma a lo largo de estos dos años.

Al Dr. Martín Valenzuela Melendres y la Dra. Aida Peña Ramos, por su apoyo y orientación en la parte estadística de este trabajo.

A mis amigos, los nuevos y los viejos, por su apoyo, sus palabras de aliento, por escucharme, aconsejarme y siempre estar para mí en los peores y mejores momentos. Especialmente a Karla, Katya, Ángela, Diana, Dany Castro, Hervei, Dani Varela, Taco Laborin, Sarahí, Dania, Judas, Leira, Yesica, Chio, Sair, Rafael Canett, Ana Laura, Angelita, Isabella, Alejandro, Kike y a los cerealitos.

A mi familia, por su apoyo incondicional en todo momento, por nunca dejar que me rinda, por permitirme seguir mis sueños, por alentarme a continuar preparándome hasta lograr mi meta. Sin sus consejos, apoyo, regaños y palabras de aliento no estaría donde estoy en este momento. Mamá, Papá, Gamaliel y Damaris: este escalón en mi camino profesional es gracias y para ustedes.

A Roberto, por tu amor, apoyo, consejos, pláticas, cariño, por estar, por todo. Simplemente, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis abuelos, tres besos al cielo y uno al centro. Los amo.

A mis padres, sin su apoyo no estaría donde estoy. Los amo.

A mis hermanos, Gamy y Damaris. Los amo.

A Roberto, mi héroe, te amo.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
CONTENIDO	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE CUADROS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES	16
2.1. La Falta de Saciedad Puede Desencadenar Problemas de Salud.....	16
2.2. La Saciedad es un Proceso Fisiológico, Estrictamente Regulado por marcadores Hormonales Entéricos, Señales Nerviosas Periféricas y Neurotransmisores	17
2.3 Es Posible Medir la Sensación de Saciedad Haciendo Uso de Diferentes Tipos de Evaluaciones	23
2.4 La Generación de la Sensación de Saciedad Puede Darse por Moléculas Diferentes a los Macronutrientes.....	26
2.5 Los Subproductos de Aguacate Pueden Ser una Fuente de CFs con un Efecto de Saciedad	29
2.6 Mecanismo de Inducción de Saciedad de los CFs y su Relación con los Cambios en la Secreción de Hormonas que Regulan este Proceso	35
3. HIPÓTESIS	39
4.OBJETIVOS	40
4.1 Objetivo General.....	40
4.2 Objetivos Específicos	40
5. METODOLOGÍA	41
5.1 Obtención de la Materia Prima y Extracto Etanólico	41
5.2 Cuantificación de CFs Totales.....	42
5.3 Medición de la Capacidad Antioxidante	42
5.4 Caracterización de los CFs en el Extracto de PDA	43
5.5 Bioensayo: Medición de la Secuencia de Conducta de Saciedad.....	44
5.6 Bioensayo: Cuantificación de Hormonas Entéricas en Suero	46
5.7 Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
6.1 Contenido de CFs y Capacidad Antioxidante de la PDA.....	49

CONTENIDO (continuación)

6.2 Caracterización de CFs Presentes en el Extracto de PDA.....	50
6.3 Peso Corporal y Consumo de Alimento Durante el Bioensayo	53
6.4 Evaluación de la Secuencia de Conducta de Saciedad	56
6.5 Evaluación de la Concentración Sérica de Hormonas Entéricas	76
6.6 Modelos de Acción Propuestos para Explicar el Efecto Ocasionado por Parte de los CFs Presentes en el Extracto de PDA sobre la SCS	81
7. CONCLUSIONES	85
8. RECOMENDACIONES	86
8.1 Perspectivas Futuras	86
9. REFERENCIAS	87

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Representación de las células secretoras de a) ghrelina y b) CCK así como sus receptores en el epitelio gástrico e intestinal, respectivamente....	20
2	Representación gráfica de la transformación de hormonas en torrente a señales nerviosas.....	22
3	Ejemplo de resultados para la evaluación de la SCS.....	25
4	Compuestos bioactivos presentes en el aguacate.....	31
5	Propuesta del mecanismo de acción de los CFs sobre las células secretoras de hormonas reguladoras de saciedad.....	37
6	Jaula utilizada para la evaluación de conducta.....	45
7	Registro de peso corporal semanal.....	53
8	Registro de consumo de alimento semanal.....	55
9	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 1.....	56
10	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 2.....	58
11	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 3.....	60
12	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 4.....	63
13	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 5.....	65
14	Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 6.....	67
15	Consumo de alimento durante el tiempo de la evaluación de la SCS por semanas.....	73
16	Concentración sérica de CCK con respecto al tiempo.....	77
17	Modelo de acción propuesto de las alteraciones en las hormonas entéricas por parte del extracto de PDA y sus efectos sobre la conducta.....	82
18	Mecanismo de acción propuesto de las modificaciones en el cerebro ocasionadas por los CFs del extracto de PDA y su regulación sobre la SCS.....	83

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Descripción de las conductas para la evaluación de la SCS.....	45
2	Representación del diseño experimental de cuadro latino para la toma de muestra sanguínea.....	47
3	Contenido de CFs totales y capacidad antioxidante medida por diferentes métodos de la PDA.....	50
4	CFs identificados en el extracto etanólico de pasta desgrasada de aguacate.....	52
5	Consumo de alimento diario de los animales de experimentación.....	75

RESUMEN

La saciedad permite reducir voluntariamente la ingesta de alimento y se ha visto que puede modificarse por una regulación hormonal, llevada a cabo tras la ingesta de compuestos fenólicos (CFs). Anteriormente, el aguacate ha sido evaluado como inductor de saciedad; por su composición, se destina a la obtención de aceite, donde la industria aceitera genera como subproducto la pasta desgrasada de aguacate (PDA), compuesta de cáscara, semilla y pulpa, conservando el 90% de los CFs. Para conocer su efecto sobre la saciedad, es necesario el uso de pruebas como la evaluación de la secuencia de conducta de saciedad (SCS) y la cuantificación de hormonas relacionadas, como colecistoquinina (CCK) y ghrelina. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto agudo de la administración de un extracto rico en CFs provenientes de PDA cv. 'Hass', sobre la SCS y concentración sérica de CCK y ghrelina, en un modelo murino. Se midieron la capacidad antioxidante, CFs totales y perfil fenólico de la PDA, mediante cromatografía líquida (UPLC-DAD). Para el bioensayo se utilizaron 22 ratas Wistar macho (≈ 135 g). La evaluación de la SCS se llevó a cabo semanalmente, durante seis semanas; se monitoreó la conducta de 12 ratas durante los 40 min posteriores a la administración del extracto (50 mg/kg) o agua (control). Se cuantificó el alimento ingerido y el tiempo destinado a las conductas de alimentación, actividad, acicalamiento y descanso. Para la cuantificación de hormonas, se muestreó sangre de 10 ratas a diferentes tiempos (0-45 min), después de administrar el extracto (50 mg/kg) o control (agua). La concentración de CFs totales y la capacidad antioxidante sugiere que la PDA es fuente de compuestos bioactivos utilizables. El perfil de CFs presentó compuestos flavonoides y ácidos fenólicos. La administración del extracto de PDA provocó un patrón interrumpido de la SCS, generado por una mayor actividad, motivación para comer y falta de una SCS completa. La concentración sérica de CCK no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) debidas al tratamiento, pero existió una tendencia a aumentar 15 min después de consumir el extracto, siendo correlacionable con la SCS a partir de 15 min. En el caso de la ghrelina, no se observaron cambios cuantificables en su concentración sérica. El extracto de PDA contiene compuestos bioactivos que modifican la sensación de la saciedad de forma aguda pudiendo aprovecharse para su uso en la formulación de alimentos funcionales y nutraceuticos.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, secuencia de conducta de saciedad, regulación hormonal, subproductos agroalimentarios, ingesta de alimento.

ABSTRACT

Satiety induces a voluntary reduction in food intake, and it has been proved that phenolic compounds (PCs) can modify it by affecting some satiety-inducing hormones. Avocado is a fruit that has been evaluated as a satiety inducer; due to its composition, it is used as a source of vegetable oil. Its industrial processing generates avocado paste (AP), a by-product composed of peel, seed and defatted pulp, which retains approximately 90% of PCs. The use of objective tests is necessary to study the effects of AP on satiety, such as evaluating the behavioral satiety sequence (BSS) and quantifying serum concentration of hormones like cholecystokinin (CCK) and ghrelin, after its consumption. The aim of the present work was to evaluate the acute effects of consuming an AP-derived PC-rich extract, on BSS and serum concentration of CCK and ghrelin, in a murine model. Antioxidant capacity and total PCs of AP were quantified; PCs were also identified by UPLC. For the bioassay, a total of 22 male Wistar rats (≈ 135 g) were used. BSS was measured by monitoring the behavior of twelve rats during 40 min after the extract (50 mg/kg) or the control (water) were administered; this test was performed weekly for a total of six weeks. During this period, food consumption and time destined to eating, activity, grooming and resting behaviors was quantified. For hormone quantification, a blood sample was drawn at different times (0-45 min), from 10 rats that were administered either the extract (50 mg/kg) or control (water). Total PC concentration and antioxidant capacity suggests that AP retains usable bioactive compounds. Its PC profile contained flavonoids and phenolic acids. Intake of AP extract exerted an effect on BSS, causing an interrupted pattern due to increased activity, motivation to eat and lack of full satiety. Serum CCK concentration did not show significant differences ($p < 0.05$) due to treatment, but there was a tendency to increase 15 min after PDA extract was administered. In addition, its concentration was similar to BSS after 15 min, suggesting a correlation between these variables. In the case of ghrelin, no measurable changes were detected on its serum concentration. AP extract contains bioactive compounds that have an acute effect on satiety induction; this property of PCs can be used in the design of functional food or nutraceuticals.

Key words: *Persea americana* Mill, satiety sequence behavior, hormonal regulation, agricultural by-products, food intake.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, existe a nivel mundial una epidemia de sobrepeso y obesidad. Para combatirla, la OMS (2018) declaró que es necesario un cambio en el estilo de vida de las personas, implicando un aumento en la actividad física y disminución de la ingesta calórica. Sin embargo, llevar a cabo un cambio en el estilo de vida, puede resultar complicado de lograr si no se tiene la fuerza de voluntad del sujeto y un programa sistemático para tal propósito. Es ahí donde entra el uso de estrategias para detener la ingesta calórica de manera voluntaria, por ejemplo, a través de la inducción de saciedad. Existe una amplia gama de fármacos destinados a inducir saciedad por activación de diversos receptores entéricos y neurológicos, sin embargo, se ha demostrado que estos pueden generar efectos secundarios severos, que pueden resultar en la muerte (Rosa-Gonçalves y Majerowicz, 2019). Para evitar los efectos secundarios de los fármacos inductores de saciedad, se han buscado compuestos de origen natural que puedan ayudar al organismo a detener o mitigar la ingesta de alimentos de manera voluntaria, sin sufrir efectos colaterales. Una posible opción viable son los alimentos y subproductos de origen vegetal. En la búsqueda de alternativas que lleven a la regulación de saciedad, es necesario conocer el sistema y el posible mecanismo por el cual ésta se regula. Es conocido que los receptores de las células enteroendócrinas pueden interaccionar con los CFs y otros compuestos (Steinert y col., 2017), e inducir así la secreción de mediadores circulantes de saciedad.

Los CFs han sido ampliamente estudiados, siendo reconocidos por su efecto antioxidante, antimicrobiano, antiproliferativo y antiobesogénico, entre otros. Sin embargo, un efecto sobre el organismo que está tomando importancia en los últimos años, es su efecto como regulador de la saciedad (Josic y col., 2010, Al Shukor y col., 2014, González-Abuín y col., 2014, Boix-Castejón y col., 2018, Fernandes y col., 2018, Haldar y col., 2018a, Haldar y col., 2018b). González-Abuín y col. (2014) probaron el consumo de una mezcla de catequina, epicatequina, ácido gálico y dímero B2 de procianidina en un modelo murino, encontrando que estos compuestos contribuyen en diferente medida a la secreción de GLP-1 (por sus siglas en inglés, glucagon-like peptide 1). Además, en un estudio realizado con CFs de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) administrado a mujeres con sobrepeso, se encontró que incrementaron la secreción de GLP-1 y disminuyeron la de ghrelina (Boix-Castejón y col., 2018). Por lo que el estudio de los CFs sobre las hormonas implicadas en la

regulación de la saciedad es un área de oportunidad, ya que muchos de los frutos consumidos en nuestro país, como los frutos tropicales (mango, papaya, piña y aguacate), contienen una variedad y cantidad de CFs (Ruiz-Pardo, 2014, Pacheco-Ordaz y col., 2018, Villa-Rodriguez y col., 2020). En el caso particular del aguacate, se conoce muy poco sobre el posible efecto que tiene su consumo en la regulación de la saciedad y su relación con los CFs.

En México, el consumo per cápita de aguacate alcanza los 8 kg al año (Romo, 2016). A pesar de que el fruto es consumido como tal, es posible darle un valor agregado al generar diversos productos a partir de este. Durante el procesamiento del aguacate se generan tres subproductos principales: cáscara, semilla y pulpa (Rodriguez-Carpena y col., 2011). Debido a la composición del aguacate, uno de los principales productos generados a partir de él es el aceite. Una vez que este es extraído, se genera un subproducto compuesto de cáscara, semilla y pulpa desgrasada, que representa más del 60% del peso del fruto (USDA, 2018). En 2016, las cifras de producción de aceite de aguacate superaron las 600 millones de toneladas (Mdt), por lo que se desecharon 1200 Mdt de subproducto (Technavio, 2017). Se ha reportado que los subproductos de frutas representan una fuente de compuestos bioactivos, en ocasiones más importante que la porción comestible (Ayala-Zavala y col., 2011). Es por ello que el aprovechamiento del subproducto generado por la industria del aceite de aguacate representa un área de oportunidad para la formulación de alimentos funcionales y nutracéuticos.

La composición de aguacate es principalmente lipídica, sin embargo, algunos autores aseguran que también representa una fuente de CFs importante, la cual se ha estudiado muy poco (Villa-Rodriguez, 2011, Kosinska y col., 2012, López-Cobo y col., 2016, Figueroa y col., 2018a, Figueroa y col., 2018b). Aunque una porción de estos CFs son extraídos durante la producción de aceite, la mayoría permanecen en la PDA, donde la proporción de ácidos fenólicos puede ser de hasta un 90 %, con respecto a la pulpa íntegra (López-Cobo y col., 2016, Santana y col., 2019). De esta forma, la PDA generada durante la extracción de aceite contiene CFs que podrían ser utilizados por su funcionalidad para distintos propósitos, entre ellos, su uso como reguladores de saciedad.

Algunos estudios han evaluado el efecto del aguacate sobre hormonas y sensaciones de saciedad, administrando pulpa de aguacate a adultos con sobrepeso (Naveh y col., 2002, Sabaté y col., 2015). Se comprobó que el consumo de aguacate genera una modificación en la concentración sérica de hormonas anorexigénicas, así como una mayor saciedad y una reducción en el deseo de comer, logrando mantener la saciedad por un tiempo de hasta por dos horas (Naveh y col., 2002, Sabaté y

col., 2015). A pesar de los buenos resultados obtenidos, los autores no reportan una correlación entre las sensaciones de saciedad, con respecto a concentración sérica de las hormonas de los individuos después de dos horas de haberlo consumido. Esto sugiere que el aguacate es una fuente potencial de compuestos bioactivos que pueden ser utilizarse en la formulación de alimentos destinados a la regulación de saciedad. Sin embargo, es necesario el uso de métodos objetivos, tales como la cuantificación de hormonas relacionadas con la saciedad, complementado con el estudio conductual en animales de experimentación.

La medición de una sensación, como es la saciedad en humanos, puede llevar a resultados muy subjetivos según el método de evaluación utilizado. Una alternativa viable para la medición de la saciedad es la SCS, que está ampliamente caracterizada en roedores y se ve modificada por fármacos o moléculas externas (Oliveira y col., 2011). Algunos fármacos como la sibutramina y el rimonabant, así como moléculas opioides y cannabinoides, pueden modificar la sensación de saciedad, lo cual se ve reflejado en los tiempos destinados a comer o descansar, lo que puede ayudar a comprender en qué punto se puede inducir la saciedad (Tallett y col., 2008, Tallett y col., 2009). Con base a lo anterior, se sugiere estudiar la posible relación entre la composición de la PDA y la inducción de saciedad en modelos *in vitro* y murino. Debido a que este subproducto es una fuente de compuestos bioactivos, como CFs y flavonoides, su administración a un modelo murino podría resultar en alteraciones en la concentración sérica de hormonas reguladoras de saciedad. Estos cambios se podrían ver reflejados en la SCS, al modificar algunas de las conductas, conllevando a una reducción en el consumo de alimento de manera voluntaria y provocar cambios en los hábitos de alimentación y en la cantidad de alimento consumido.

2. ANTECEDENTES

2.1. La Falta de Saciedad Puede Desencadenar Problemas de Salud

El aumento en las cifras de obesidad y sobrepeso en la población mundial es considerado un problema de salud pública actual. Estas enfermedades son ocasionadas por un desbalance entre la ingesta calórica y el gasto energético. De la misma forma, el ambiente moderno y sedentario pueden favorecer el incremento del peso corporal (OMS, 2018). Cuevas García-Dorado y col. (2019) afirman que la globalización ha tenido un efecto negativo en los patrones nutricionales, ya que se ha potenciado la producción y consumo de alimentos de menor precio, pero con mayor contenido de lípidos, azúcares simples y densidad energética. El consumo descontrolado de estos alimentos conlleva al incremento del peso corporal, por lo que es necesario generar cambios en el estilo de vida y la forma de alimentación, con el fin de disminuir las cifras de obesidad y sobrepeso. La Organización Mundial de la Salud (2018) propone que para combatir el sobrepeso y la obesidad, es necesario generar cambios en el estilo de vida, que incluyen una alimentación balanceada y una actividad física adecuada. Sin embargo, llegar a un cambio en los hábitos alimenticios de las personas, requiere un compromiso muy grande por parte del interesado, lo que dificulta el seguir un régimen alimenticio (Rosa-Gonçalves y Majerowicz, 2019). Es por ello, que surge la necesidad de diseñar alternativas que colaboren con el consumidor, para mantener hábitos alimenticios adecuados.

Los hábitos alimenticios inadecuados pueden ser ocasionados por una interacción compleja entre factores fisiológicos, psicológicos, sociales y genéticos, los cuales intervienen directamente en aspectos como el horario de comida, la cantidad de alimento ingerido y la preferencia de los alimentos (Grimm y Steinle, 2011). Tener malas conductas alimentarias puede llevar a un desarrollo de la sensación de saciedad poco eficiente, lo que resulta en la sobre-ingesta de alimentos, tanto para la comida del momento como para las siguientes (Halford y col., 2010). Cuando la sensación de hambre no es inhibida de manera natural o se incrementa por una situación de estrés emocional, se genera hambre excesiva, pudiendo llevar a una regulación de peso deficiente (Das y col., 2009). De tal forma que una conducta de alimentación inapropiada puede

llevar a desórdenes alimenticios como la obesidad y sus comorbilidades (Magni y col., 2009). El consumo de alimentos debe ser regulado de forma eficiente, ya sea de manera natural por el organismo, o, en caso de ser necesario, utilizar la ayuda de fuentes externas.

Una manera de regular la cantidad y tipo de alimentos ingeridos es a través de una adecuada inducción de saciedad. La saciedad es definida como la sensación de satisfacción después de comer que ocasiona la detención voluntaria en el consumo de alimento, siendo crucial para mantener una ingesta calórica diaria estable (Njike y col., 2016). La generación de saciedad es un proceso complejo que depende de múltiples estímulos, como son hormonas, señalizaciones nerviosas e integración neurológica, que convergen en la supresión del deseo de comer, y, por lo tanto, detener la ingesta de alimentos. El proceso de ingerir alimentos depende del equilibrio entre los ciclos de hambre y saciedad, los cuales son regulados por control neurohormonal que radica en secciones especializadas del hipotálamo (Ochoa y Muñoz, 2014). La cascada de señales reguladoras de saciedad inicia previo al consumo de alimento, y persiste mientras este realiza su recorrido por el tracto gastrointestinal (TGI).

2.2 La Saciedad es un Proceso Fisiológico, Estrictamente Regulado por Marcadores Hormonales Entéricos, Señales Nerviosas Periféricas y Neurotransmisores

La señalización que lleva a la saciedad es regulada tanto por hormonas entéricas, como por neurotransmisores; la secreción hormonal varía con la peristasis del TGI, ya que estos movimientos determinan qué células de este sistema estarán expuestas a los nutrientes y por cuánto tiempo (Steinert y col., 2017). La señalización de las hormonas entéricas puede llevarse a cabo por tres mecanismos diferentes: 1) por señalización paracrina, la cual se da antes de la absorción de nutrientes; 2) por señal neuroendocrina, con un efecto en los aferentes neurales de las células vecinas, y el 3) la señalización en los axones por medio de neurópodos (Matzinger y col., 1999, Bohórquez y Liddle, 2011). Estas señalizaciones se integran en el cerebro para concluir en la saciedad, de esta forma, se detiene la conducta de la ingesta de alimento y facilita mejorar la toma de decisiones alimentarias.

Algunas hormonas entéricas encargadas de regular los ciclos de hambre y saciedad son la ghrelina,

colecistoquinina (CCK), péptido similar al glucagon-1 (GLP-1), péptido inhibidor gástrico (PIG) y péptido tirosina-tirosina (PYY). Estas hormonas son secretadas por distintas células localizadas a lo largo del TGI y pueden ser de carácter orexigénico o anorexigénico. Las principales hormonas con carácter anorexigénico son CCK, GLP-1 y PYY, y son producidas en el intestino delgado y colon. La hormona orexigénica más estudiada es la ghrelina, la cual es secretada por el estómago (Benelam, 2009). El conjunto de las interacciones entre estas y otras hormonas lleva a la saciedad, pero dos de las más estudiadas debido a su secreción rápida y efecto cuasi inmediato, son CCK y ghrelina.

La ghrelina es un péptido de 28 aminoácidos, secretado por células del tipo X/A presentes en la capa submucosal del estómago y en el núcleo arcuato del hipotálamo (Kojima y col., 1999). Esta hormona puede encontrarse con o sin una esterificación en la Cys-3, catalizada por la enzima ghrelina-O-aciltransferasa, siendo la forma acetilada la que presenta actividad biológica (Trivedi y col., 2017). La concentración de ghrelina total y acetilada incrementa antes de comer, disminuye de manera abrupta después del consumo de alimentos para incrementar gradualmente hasta la próxima comida (Hill y col., 2012). Su vida media en sangre es de aproximadamente 30 min y es regulada por la farmacodinámica de su forma acetilada (Vestergaard y col., 2007). De ahí el interés por el estudio de esta hormona en estudios de sensaciones de saciedad agudas. Por lo que, la reducción de la secreción o acetilación de ghrelina podría ser utilizada para provocar una disminución en la sensación de hambre, promoviendo una menor ingesta de alimento.

La concentración sérica de nutrientes puede inhibir la síntesis y acetilación de ghrelina, mientras que su secreción es inhibida por las señales nerviosas que son enviadas de manera inmediata al momento del consumo de alimento (Steinert y col., 2017). Las células secretoras de esta hormona expresan una gran cantidad de receptores sensibles a nutrientes, de forma que la secreción se ve inhibida cuando estos están presentes (Müller y col., 2015). Estos receptores (Figura 1) son el CASR sensible a calcio, FFAR2 y FFAR3 para ácidos grasos libres de cadena corta y larga (FFAR4), de gustoducina (GNAT3), de lactato (GPR81), de ácidos hidroxicarboxílicos (HCAR1) y de somatostatina (SSTR) (Steinert y col., 2017). La disminución en la secreción de ghrelina depende de la carga calórica y la composición de macronutrientes, siendo los lípidos los de menor efecto sobre los receptores y las proteínas las de mayor efecto, por lo que la detección de nutrientes en el estómago lleva a una reducción de ghrelina sérica (Hass y col., 2010). Debido a lo anterior, la estimulación de los receptores inhibidores para la secreción de ghrelina, puede ser una alternativa

que genere la sensación de saciedad de manera voluntaria.

La CCK es una hormona peptídica encargada de inducir la sensación de saciedad. Está compuesta por un conjunto de péptidos con la secuencia Gly-Trp-Met-Asp-Phe en el extremo amino terminal, además, se caracteriza por una sulfatación en los residuos de tirosina (Pathak y col., 2018). Su precursor es una cadena de 115 aminoácidos, que posteriormente es procesado a diversas formas, entre las cuales destacan CCK-8, CCK-33 y CCK-58 (Rehfeld, 2017). Las células productoras de CCK son las células I encontradas en el intestino delgado, las cuales tienen una estructura del tipo abierta, lo que provoca una conexión entre el lumen intestinal y el interior del enterocito (Steinert y col., 2017). Estos péptidos son reconocidos por los receptores CCK1Rs y CCK2Rs, presentes en la vesícula biliar, páncreas y píloro, así como en las neuronas vagales del TGI, donde son importantes para la regulación del apetito (Moran y col., 1987). La estimulación de la secreción de CCK, o sus receptores, podrían ser una alternativa para la regulación de la saciedad y propiciar buenas decisiones alimentarias.

La presencia de nutrientes en el TGI estimula los receptores para la secreción de CCK, de manera que a lo largo de su recorrido se va incrementando la producción de la misma, generando una sensación de saciedad. La presencia de proteínas y triacilglicerolos en el TGI es necesaria para lograr la secreción de CCK, además, los ácidos grasos de cadena larga llevan a una mayor secreción, mientras que la digestión de carbohidratos no tiene un efecto sobre los receptores de esta hormona (Enç y col., 2001, Feinle-Bisset y col., 2014, Steinert y col., 2014). Los nutrientes presentes en el lumen intestinal estimulan a las células I mediante diferentes receptores, tales como CASR, de trombospondina (CD36), FFAR1, FFAR4, GNAT3, de ácido lipofosfatídico (LPAR5), y del gusto tipo 1, 2 y 3 (GT1, GT2, GT3) (Steinert y col., 2017). Algunos estudios relacionados con polimorfismos en los receptores de esta hormona han obtenido resultados que indican la relación entre estas modificaciones y la obesidad, ocasionada por una mala regulación de la ingesta alimentaria (de Krom y col., 2007). De manera que estimular positivamente estos receptores para la secreción de CCK, parece ser una alternativa para favorecer la inducción de saciedad.

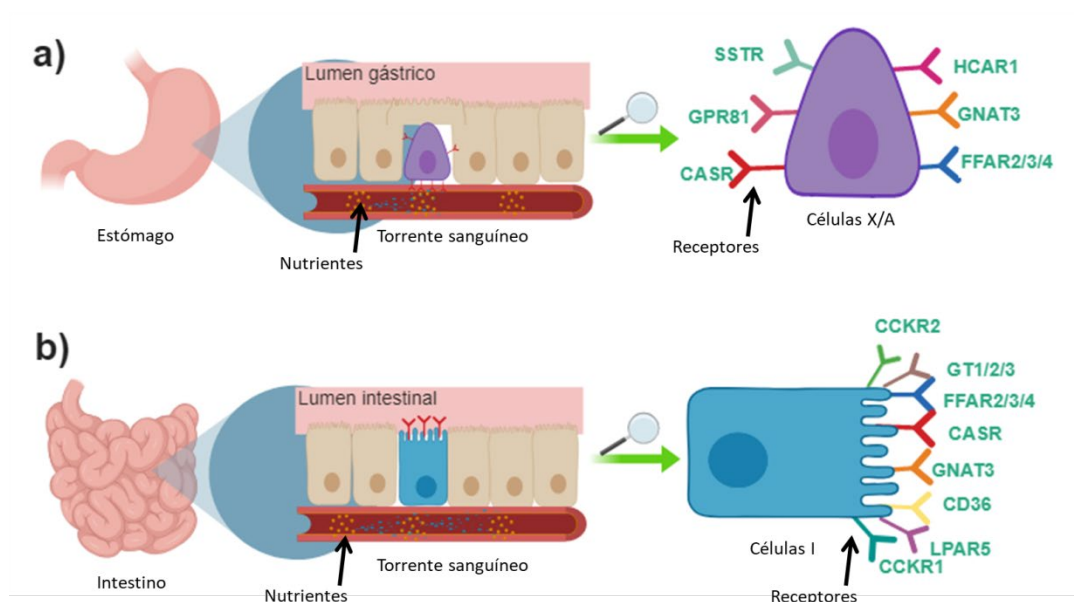


Figura 1. Representación de las células secretoras de a) ghrelina y b) CCK, así como sus receptores en el epitelio gástrico e intestinal, respectivamente. En las células X/A (moradas) se encuentran los receptores: sensible a calcio (CASR), de ácidos grasos libres de cadena corta (FFAR2 y FFAR3) y larga (FFAR4), de gustoducina (GNAT3), de lactato (GPR81), de ácidos hidroxicarboxílicos (HCAR1) y de somatostatina (SSTR). En las células I (azules) están presentes los receptores CASR, de trombospodina (CD36), FFAR1, FFAR4, GNAT3, de ácido lisofosfatídico (LPAR5), y del gusto tipo 1, 2 y 3 (GT1, GT2, GT3).

La simple presencia de estas hormonas no es suficiente para generar la sensación de saciedad, por lo que es necesario traducir la concentración sérica de las mismas a una respuesta neurológica, tal como se representa en la Figura 2. Todas las señales enviadas por la presencia de estas hormonas se integran en el hipotálamo, que es considerado el centro de control del apetito (Morgane y Jacobs, 1969). Dentro del hipotálamo se encuentra el núcleo arcuato, el cual contiene receptores específicos para diversas señales neuronales y permite la regulación de la saciedad (Ueno y Nakazato, 2016). Las señales producidas por las hormonas viajan a través de las neuronas vagales, que terminan siendo enviadas al núcleo arcuato. Este núcleo puede separarse en dos secciones, una ubicada en la parte ventral central y otra en el centro del núcleo. La primera se caracteriza por la presencia de neuronas que, al activarse, generan la sensación de hambre, mientras que la segunda es conocida por producir la sensación de saciedad y el rechazo hacia el alimento (Uher y Treasure, 2005, Goldstone, 2006, Ochoa y Muñoz, 2014). Debido a que el cerebro integra las señales de saciedad, es importante que los estímulos lleguen a este, por lo que una correcta señalización hormonal puede

contribuir al estado de saciedad general.

Ueno y Nakazato (2016) aseguran que para proponer un método seguro y efectivo que lleve al control de peso corporal, es necesario entender el mecanismo a través del cual las señales hormonales son integradas en sensaciones. Como se mencionó con anterioridad, dentro del hipotálamo se encuentra el núcleo arcuato, el cual contiene neuronas que promueven el hambre o la saciedad. En el caso del aumento del hambre, las neuronas encargadas son aquellas que señalizan con neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con Agouti (AgRP), mientras que las supresoras del hambre son aquellas que contienen y señalizan con proopiomelanocortina (POMC) (Ollmann y col., 1997, Cowley y col., 1999, Elmquist y col., 1999). La regulación del hambre y la saciedad en el cerebro se da, básicamente, por una interacción de estas moléculas con sus receptores. De tal forma que cuando el NPY se encuentra con el receptor de NPY y la AgRP interacciona con el receptor de melanocortina 4 (MC4R), se genera hambre; sin embargo, la presencia de POMC puede competir contra AgRP por el receptor MC4R para inhibir el hambre (Ueno y Nakazato, 2016). El balance en la activación de estos receptores es el encargado de regular los ciclos de hambre y saciedad, por lo que manipular su activación puede ser una manera de potenciar la sensación de saciedad.

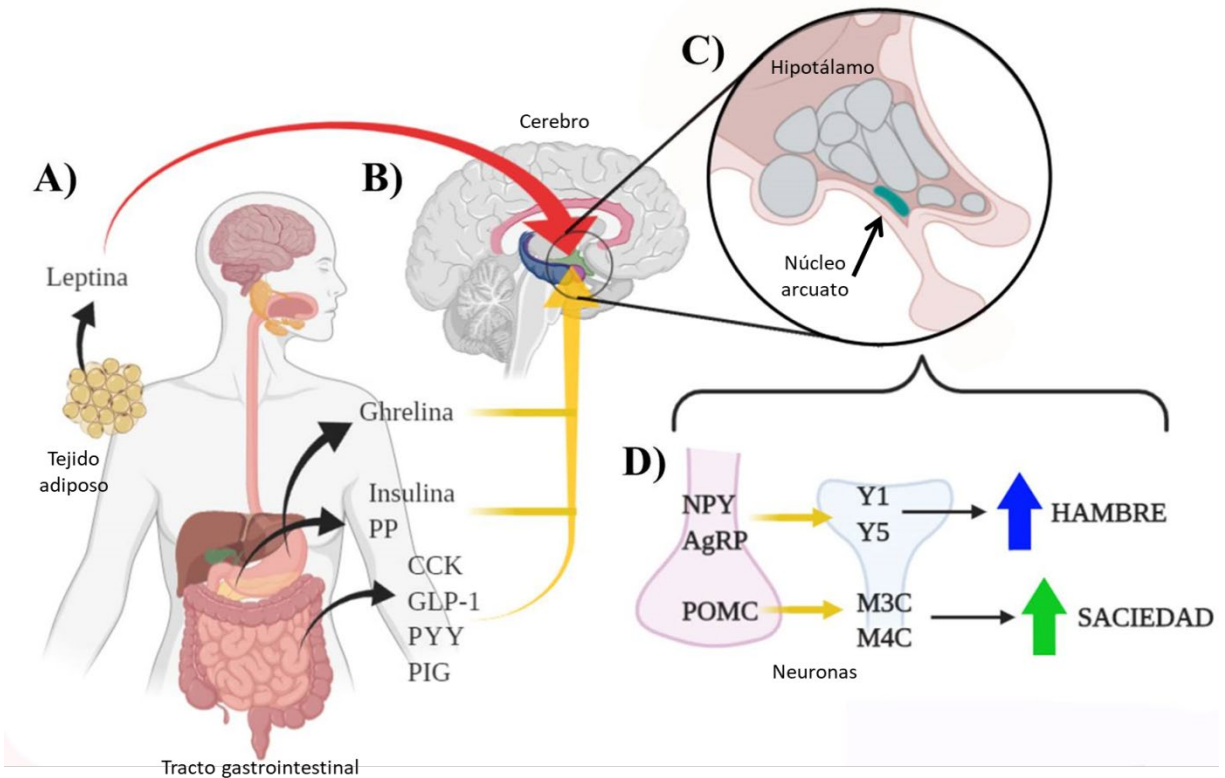


Figura 2. Representación gráfica de la transformación de hormonas en torrente a señales nerviosas. A) Flechas negras indican secreción de hormonas por distintos órganos: en el estómago, ghrelina; en páncreas insulina y péptido pancreático (PP); en intestino colecistoquinina (CCK), péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), péptido tirosina-tirosina (PYY), péptido inhibidor gástrico (PIG); en tejido adiposo, leptina. B) Flecha roja indica entrada directa al cerebro a través del torrente sanguíneo; flechas amarillas indican señales nerviosas por una estimulación de aferentes vagales que llegan hasta el hipotálamo (indicado con color verde). C) Posición del núcleo arcuato dentro del hipotálamo, aquí convergen y se integran las señales nerviosas para ser interpretadas. D) Los neurotransmisores neuropéptido Y (NPY) y proteína relacionada a Agouti (AgRP) interaccionan con sus receptores Y1 y Y5 para incrementar la sensación de hambre; mientras que el transmisor proopiomelanocortina (POMC) interacciona con los receptores M3C y M4C para incrementar la sensación de saciedad.

Cada hormona entérica tendrá un efecto sobre el cerebro, pudiendo resultar en una integración de las señales enviadas por el nervio vago, tal es el caso de ghrelina, GLP-1, PYY y CCK, o bien, entrar directamente al cerebro y ejercer un efecto, como la hormona leptina. Se ha reportado que la leptina producida por el tejido adiposo tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y activar las neuronas con POMC, así como inhibir las que contienen NPY y AgRP (Zhang y col., 1994, Cowley y col., 1999, Pinto y col., 2004). A diferencia de la leptina, el resto de las hormonas de saciedad señalizan a través del nervio vago, esto se logra al unirse a sus

receptores encontrados en las fibras terminales de este nervio, las cuales se extienden a través de la mucosa del TGI (Ueno y Nakazato, 2016). En el caso de la ghrelina, esta estimula los aferentes vagales y el núcleo del tracto solitario (NTS) por una supresión de la descarga del aferente vagal; las señales llegan al cerebro para activar las neuronas NPY y AgRP, además de suprimir la actividad de las neuronas POMC (Nakazato y col., 2001, Date y col., 2002, Date y col., 2006). La CCK, en vez de generar una supresión de la descarga del aferente vagal, genera la activación de la misma; su mecanismo de acción es por la activación del factor de crecimiento EGR-1, generando una regulación positiva en la expresión del transcrito regulador de cocaína y anfetaminas (CART) que provoca la inhibición del hambre (de Lartigue y col., 2010). La comprensión de la regulación de un sistema tan preciso como la saciedad facilita generar modificaciones en el mismo, con el fin de propiciar las buenas decisiones alimentarias, sin embargo, es necesario medir que estos cambios se estén llevando a cabo.

2.3 Es Posible Medir la Sensación de Saciedad Haciendo Uso de Diferentes Tipos de Evaluaciones

Un estudio que evalúe la regulación de la saciedad es complejo de realizar; para determinar si esta sensación está presente, así como su intensidad, es necesario cuantificar las sensaciones producidas por los alimentos. La escala análoga visual (VAS por sus siglas en inglés) es utilizada en la mayoría de los estudios relacionados a sensaciones en humanos. Esta es un instrumento de medidas psicométricas utilizado para documentar de manera rápida y reproducible los síntomas en pacientes con diversos tratamientos (Benelam, 2009). A pesar de que estas escalas fueron diseñadas inicialmente para cuantificar dolor, pueden utilizarse también para cualquier tipo de sensación. Por ejemplo, en los estudios de saciedad se suelen hacer preguntas como “¿Qué tan hambriento estás?”, “¿qué tan satisfecho te sientes?”, “¿qué tan lleno te sientes?”, entre otras, y sus respuestas generalmente se numeran de 0 a 10 (Benelam, 2009). Sin embargo, el uso de sólo escalas de sensaciones es poco objetivo y tiende a irregularidades, por lo cual es necesario realizar otras mediciones o ensayos que complementen y que arrojen resultados más objetivos, como son la medición de las hormonas relacionadas con estas sensaciones.

Una manera de complementar los resultados obtenidos con las VAS es mediante la concentración sérica de hormonas reguladoras de saciedad, la cual es otra herramienta utilizada en la mayoría de las investigaciones realizadas con este fin. Entre las hormonas más estudiadas destacan ghrelina, CCK, GLP-1, leptina y PYY (de Krom y col., 2007, Boix-Castejón y col., 2018, Fernandes y col., 2018, Haldar y col., 2018a, Haldar y col., 2018b, Pathak y col., 2018). De esta manera, es posible comprobar los efectos de los compuestos evaluados para la generación de la sensación de saciedad de una manera objetiva.

La SCS en animales es un proceso controlado por sistemas tanto fisiológicos como psicobiológicos, que puede considerarse como un conjunto de operaciones naturales que llevan a la saciedad. El estudio de este proceso es una opción viable para probar compuestos que provoquen saciedad, debido a que está ampliamente caracterizado y reportado (Goodson y col., 2004). En ratas, el orden que sigue la SCS es la ingesta de alimento, acicalamiento, un periodo de actividad y termina en el descanso, indicando que el animal ha llegado al punto de saciedad (Oliveira y col., 2011). En general, los estudios realizados en conductas de saciedad van dirigidos al uso de moléculas con efectos conductuales específicos, como pueden ser generar o inhibir la saciedad. Este tipo de estudios, junto con la cuantificación sérica de las hormonas relevantes, permiten precisar la medición de la saciedad de una manera objetiva y evitando subjetividades que los sujetos de estudio podrían ocasionar.

Para el estudio de la SCS, los animales de experimentación son sometidos a un ayuno parcial, para posteriormente administrarles el tratamiento por vía oral o peritoneal según se requiera. Inmediatamente después, los animales son colocados en la jaula de experimentación y se monitorean las conductas llevadas a cabo en los minutos siguientes, así como el consumo de alimento durante dicho periodo (Goodson y col., 2004, Lievens y col., 2009). Para la interpretación de los datos, el tiempo destinado a la medición de la SCS se divide en periodos de 5 min cada uno, de forma que se cuantifican los segundos que el animal dedica a cada una de las conductas durante esos 5 min. A continuación, las conductas son clasificadas dentro de una categoría, como son: alimentación, acicalamiento, descanso, actividad, entre otras, dependiendo de los criterios del investigador (Lievens y col., 2009). El tiempo (en s) destinado a cada conducta se grafica como aparece en la Figura 3, para su posterior análisis y comparación. Se considera que la saciedad llega en el momento en que el tiempo dedicado a la alimentación se iguala al destinado al descanso, y se denomina “punto de transición” (Goodson y col., 2004). Sin embargo, no todos los compuestos ejercen el mismo efecto sobre la SCS, pudiendo modificar los patrones conocidos como regulares.

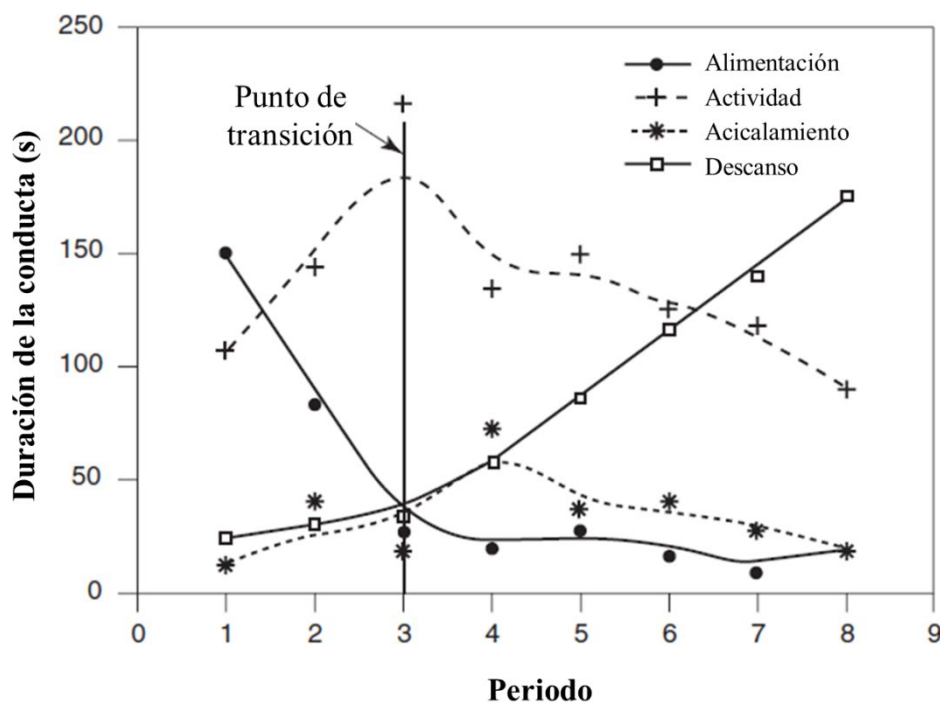


Figura 3. Ejemplo de resultados para la evaluación de la SCS. En el eje de las abscisas se presenta el periodo de 5 min correspondientes (40 min total) y en las ordenadas el tiempo (en s) destinado a cada actividad durante el periodo. El punto de transición se indica con una línea vertical en la intersección del descanso y la alimentación. Tomado y adaptado de Goodson y col. (2004).

La SCS se ve modificada por diversas moléculas, como pueden ser fármacos u hormonas, y dependiendo de dónde tenga su absorción y su receptor diana, será el efecto que ejercerá esta molécula sobre los patrones de conducta. Se han caracterizado los efectos ejercidos por algunas moléculas sobre la SCS, como los fármacos antidepresivos, bloqueadores de algún receptor en específico en el cerebro y drogas como las anfetaminas y los alcaloides (Oliveira y col., 2011). Algunos fármacos que anteriormente se utilizaban como parte del tratamiento para la obesidad, como fenfluramina y sibutramina, han sido evaluados respecto a su efecto sobre el patrón de la SCS, encontrando que este incrementa, es decir, que contribuyen a que los animales lleguen a la saciedad de forma rápida (Halford y col., 1998). Sin embargo, se han documentado múltiples efectos secundarios, algunos de ellos graves, ocasionados por su consumo, lo que incentiva la búsqueda de alternativas seguras que induzcan saciedad en el consumidor.

2.4 La Generación de la Sensación de Saciedad Puede Darse por Moléculas Diferentes a los Macronutrientes

Debido a que algunas moléculas en específico contribuyen a la regulación de la secreción de hormonas, es necesario identificarlas para llevar a cabo una correcta estimulación de los receptores. A pesar de que los macronutrientes son los principales activadores de estos receptores, existen otras moléculas que también pueden estimularlos, por ejemplo, la secreción de ghrelina se ve inhibida por la presencia de ácidos hidroxicarboxílicos (Hass y col., 2010, Steinert y col., 2017). De esta manera, queda abierta la posibilidad de que otras moléculas activen receptores que provoquen la secreción de CCK o inhiban la de ghrelina; algunas de estas moléculas son los fármacos destinados a generar la saciedad.

Un ejemplo de un fármaco inductor de saciedad es la sibutramina. Este compuesto incrementa los niveles de serotonina en el organismo, activando las señales nerviosas de carácter anorexigénico, a la vez que inhibe las orexigénicas, generando la inhibición del hambre y deteniendo la ingesta de alimento (Rosa-Gonçalves y Majerowicz, 2019). Sin embargo, el uso de fármacos puede ocasionar efectos secundarios adversos sobre el organismo, tales como incremento en la presión arterial, riesgo de padecer un infarto al miocardio, derrames, y en caso de un consumo prolongado, cáncer por su genotoxicidad (Araldi y col., 2015, Siebenhofer y col., 2016). Rosa-Gonçalves y Majerowicz (2019) aseguran que es necesario el desarrollo de alternativas a los fármacos destinados a la saciedad. Una posible alternativa viable, efectiva y segura es el uso de plantas y sus extractos, ya que se ha demostrado que sus componentes pueden activar varios procesos fisiológicos, tales como la saciedad (Vasileva y col., 2018). Por lo cual, se requiere indagar si el uso de productos de origen vegetal, pueden ayudar a generar un cambio en el estilo de vida, reduciendo, o bien, evitando así el uso de fármacos.

Un conjunto de moléculas que han sido estudiadas en la regulación de saciedad son los CFs (Josic y col., 2010, Al Shukor y col., 2014, González-Abuín y col., 2014, Boix-Castejón y col., 2018, Fernandes y col., 2018, Halder y col., 2018a). Estos se encuentran distribuidos ampliamente en el reino vegetal, y destacan en la composición de las plantas comestibles, relacionadas con resultados en el incremento de la saciedad. Sin embargo, el papel de estos sobre la saciedad es un tema de reciente estudio, por lo que son un área de oportunidad para indagar en este ámbito.

El té verde es una de las bebidas más estudiadas por su efecto sobre la regulación de la saciedad, tal como lo ha reportado Josic y col. (2010). En este estudio se administró una taza de té verde como acompañamiento de una comida, y se obtuvo un aumento en la sensación de saciedad desde los 60 hasta los 120 min con respecto al control, sin embargo, no existió diferencia significativa ($p>0.05$) en los deseos de comer de nuevo ni en la sensación de hambre, con respecto al control. Al realizarse un análisis de los principales compuestos encontrados en el té verde, se encontraron como mayoritarios los CFs, destacando epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina y galato de epigallocatequina (EGCG) (además de compuestos de otros tipos como la cafeína). A pesar de que estos resultados fueron prometedores, no son objetivos, debido a las discrepancias entre las sensaciones de hambre y saciedad, por lo que surge la necesidad de utilizar otras metodologías para estudiar la inducción de saciedad.

De manera similar a lo realizado con el té verde, se llevaron a cabo un par de investigaciones (Halder y col., 2018a, Halder y col., 2018b) utilizando curry en dos concentraciones diferentes en una comida. Las especias utilizadas en el curry han sido reportadas como una rica fuente de CFs. En este caso, se observó una disminución del hambre del 54 % y 51 % usando 6 y 12 g de curry, respectivamente. Además, se redujo el deseo de comer en un 62 % y 60 %, con respecto al control, al consumir la dosis de 6 y 12 g, respectivamente, así como un aumento en la sensación de lleno del 20 % al consumir ambas dosis. Los autores reportaron un aumento en la concentración sérica de GLP-1 del 7 y 32 % en quienes consumieron 6 y 12 g de curry, respectivamente, pero no en la concentración de ghrelin. Esto sugiere que el curry puede incrementar la saciedad por su influencia sobre las hormonas entéricas, corroborando lo encontrado en la evaluación de las sensaciones. Asimismo, es posible atribuir estos efectos a los compuestos encontrados en el curry, que este caso son en su mayoría CFs.

En un estudio realizado por Domínguez-Avila y col. (2019) se administró una dieta con fibra, CFs y pulpa de mango en un modelo murino. Los autores reportan que los tratamientos generaron una reducción en la cantidad de alimento ingerido. Los CFs del mango ejercieron un efecto significativamente mayor ($p>0.05$) a la pulpa del fruto, lo que indica su posible potencial para generar la saciedad, siendo incluso mayor que el atribuido a la fibra del mismo fruto. Los autores proponen que este efecto parece estar modulado por la secreción del GLP-1 y la hormona leptina. Estos resultados demuestran la efectividad del consumo de mango y sus CFs, para inducir la sensación de saciedad en las ratas.

El sorgo es otro de los alimentos alto en CFs, que ha sido evaluado para la inducción de saciedad en adultos sanos. Stefoska-Needham y col. (2016) realizaron una evaluación de los efectos de bizcochos de sorgo sobre la secreción de ghrelina, GLP-1, PYY y PIG en adultos sanos. Los voluntarios consumieron bizcochos con sorgo de diferentes colores (rojo, blanco y café) y un control elaborado con trigo. La sensación de hambre y el deseo de comer se vieron disminuidos alrededor de 5 unidades sobre 100, mientras que la satisfacción y el sentimiento de lleno incrementaron entre 5 y 6 unidades, cuando se consumieron bizcochos con sorgo. Asimismo, la concentración sérica de GLP-1, PYY y PIG, incrementó significativamente ($p < 0.05$) en los individuos que consumieron el sorgo, con respecto a los que consumieron el control de trigo. Sin embargo, la concentración de ghrelina no se vio afectada al consumir sorgo. Además, existe una tendencia en los resultados de la concentración sérica de hormonas a obtener un incremento directamente proporcional al contenido total de CFs. De acuerdo con estos resultados, se concluyó que los CFs presentes en el sorgo, tuvieron un efecto positivo tanto en las sensaciones como en la concentración de las hormonas de saciedad.

Debido al potencial de los CFs y a la creciente demanda de alimentos funcionales y nutraceuticos, la investigación en el ámbito de la saciedad puede dirigirse al uso de extractos naturales. La evaluación de un nutraceutico a base de jamaica y cedrón (*Aloysia citrodora*) fue realizada por Boix-Castejón y col. (2018), el cual presentaba un contenido de 3.5 % de antocianinas y 15 % de verbascósido. La sensación de hambre se redujo 3.34 unidades, una hora después de comer al tomar el tratamiento, mientras que en el control aumentó 0.23 unidades. Por otro lado, la estimación de lo que podría comer, así como las ganas de comer disminuyeron. Los autores realizaron el análisis de las hormonas entéricas; en el caso de la ghrelina, se apreció un aumento en el grupo control, con respecto al tratado con el nutraceutico. Respecto a las hormonas anorexigénicas, hubo un aumento en la concentración de GLP-1 en el grupo tratado y una disminución en el control, mientras que la concentración de leptina disminuyó para el grupo tratado. Estos resultados sugieren que el uso de CFs fuera de la matriz alimentaria podría presentar un efecto más potenciado sobre las hormonas reguladoras de saciedad, posiblemente debido a su mayor biodisponibilidad.

En un estudio realizado por González-Abuín y col. (2014) se administró extracto de semilla de uva rico en procianidinas (GSPE, por sus siglas en inglés) a ratas Wistar hembra de 200 a 225 g, con el fin de probar su efecto sobre las hormonas GLP-1, PIG e insulina. A las ratas se les administró 1 g de extracto/kg de peso corporal, a los 40 min se les alimentó con glucosa y se sacrificaron 20 min

después. El extracto consistió principalmente de una mezcla de catequina, epicatequina, dímeros de procianidina y ácido gálico. Los autores encontraron un incremento significativo ($p < 0.05$) sobre la concentración de GLP-1 e insulina, así como una reducción en la concentración de PIG y glucosa circundante. Esto demuestra que los compuestos presentes en el GSPE ejercen un efecto sobre las hormonas reguladoras de saciedad, lo que puede resultar importante para la generación de alimentos funcionales basados en flavonoides.

Una de las hormonas encargadas de suprimir la sensación de hambre de manera inmediata es la CCK, sin embargo, existen pocos estudios del efecto de los CFs sobre esta hormona, ya que la mayoría están enfocados a los macronutrientes. Para la evaluación del efecto de los CFs sobre la concentración sanguínea de la CCK, Panda y Shinde (2017) utilizaron un extracto fenólico de espinaca compuesto específicamente de 12 flavonoides. En este caso, el extracto fue administrado a ratas Sprague-Dawley en dosis baja (200 mg/kg) y alta (400 mg/kg) por vía intraperitoneal. Los autores realizaron una cinética de concentración sérica de CCK, encontrando que la dosis alta de extracto de espinaca es comparable, y tiende a ser mayor que el control positivo (fluoxetina), después de 30 y 60 min de la ingesta. Además, se apreció que con el consumo crónico se obtiene una disminución del peso de 8 y 10 % para la dosis baja y alta, respectivamente. Esto indica una regulación hormonal por parte del extracto de espinaca atribuida a los compuestos de tipo flavonoide presentes en este.

Debido a lo anterior, es posible sugerir que existe evidencia que algunos alimentos ricos en CFs generan un cambio en las sensaciones de saciedad. Sin embargo, como se mencionó con anterioridad, el consumo de ciertos alimentos está regulado por algunos factores, dentro de los cuales están los sociales y culturales. Lo que sugiere la búsqueda de alimentos dentro de la dieta regular del mexicano que puedan inducir la sensación de saciedad.

2.5 Los Subproductos de Aguacate Pueden Ser una Fuente de CFs con un Efecto de Saciedad

Uno de los frutos que genera una disminución en la ingesta calórica después de su consumo, y que además forma parte de la dieta regular de los mexicanos, es el aguacate. En 2016, el consumo per cápita mexicano fue de 7.2 kg, lo cual representa 0.87 Mdt de las 1.89 Mdt producidas en el país

durante ese año (Romo, 2016, SAGARPA, 2017). Entre los beneficios del consumo de este fruto, destacan aquellos que se asocian con una mejora en la ingesta de nutrientes en la dieta (Fulgoni y col., 2013). La adición de hojas y pulpa de aguacate a una dieta alta en grasa, demostraron un efecto positivo sobre la reducción del peso corporal, en un modelo murino con hipercolesterolemia inducida (Naveh y col., 2002, Brai y col., 2007). De estos dos tratamientos probados, solamente la inclusión de la pulpa de aguacate en la dieta tuvo un efecto sobre la ingesta de alimento a lo largo del bioensayo, lo que sugiere que los compuestos presentes en la pulpa de aguacate, pero que no están presentes en las hojas, podrían estar influenciando de manera positiva la regulación de saciedad, al disminuir la ingesta de alimento. Por lo cual, el consumo de aguacate podría ser utilizado como un modelo de estudio para evaluar dietas ricas en él, en estudios cuyo objetivo sea el aumento de saciedad y una disminución del alimento ingerido, utilizando este fruto de importante consumo en la población mexicana.

El aguacate es un fruto tropical y subtropical, dependiendo de la variedad, de origen mexicano y centroamericano que actualmente está tomando mucha popularidad y aceptación a lo largo del mundo, debido a sus beneficios en la salud del consumidor (Araújo y col., 2018). Su forma es oval, su pulpa es de color verdoso y tiene una consistencia cremosa. Es utilizado en la gastronomía mexicana como complemento de diversos platillos típicos, debido a su alto contenido de proteínas, vitaminas y minerales (SAGARPA, 2017). Entre sus componentes bioactivos se encuentran algunos capaces de prevenir y disminuir enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer (Villa-Rodriguez, 2011). Debido a sus propiedades nutricionales, disponibilidad y valor económico, el aguacate es uno de los frutos tropicales más importantes en México. Por lo que su aprovechamiento integral, incluyendo el de sus subproductos generados durante el procesamiento, es de gran importancia y relevancia económica. Los componentes de estos subproductos podrían ser aprovechados con el fin de obtener ingredientes funcionales para su adición a suplementos alimenticios, nutraceuticos y alimentos funcionales.

El fruto se compone de semilla, cáscara y pulpa, y es rico en compuestos bioactivos, por lo que es considerado como un alimento funcional. La pulpa abarca alrededor del 68 % del fruto, mientras que la cáscara y la semilla conforman el 11 y 18 %, respectivamente (Wang y col., 2010). La cantidad de lípidos en la pulpa de aguacate representa un porcentaje importante de su composición de macronutrientes, rondando el 55 % en base seca (Galvão y col., 2014, USDA, 2018). Aunado a su composición de macronutrientes, el aguacate también contiene compuestos bioactivos, como

son los ácidos fenólicos y flavonoides, ácidos grasos mono- y poliinsaturados, algunos compuestos fitoquímicos, fibra, vitaminas y minerales (USDA, 2018). Debido a la naturaleza de la pulpa de aguacate, los compuestos bioactivos mayoritarios son los ácidos grasos insaturados, sin embargo eso no indica una falta de compuestos hidrofílicos, destacando los CFs como los más representativos (Donetti y Terry, 2014). La Figura 4 muestra los principales compuestos bioactivos presentes en la cáscara, semilla y pulpa de aguacate.

Un estudio realizado por Wang y col. (2010) evaluó el contenido de CFs en la pulpa de diferentes variedades de aguacate. De acuerdo con la variedad estudiada, el contenido de CFs y su capacidad antioxidante presentaron valores diferentes, siendo mayoritarios en los aguacates del cv. ‘Hass’. El contenido de CFs en la pulpa varió de 0.6 a 4.9 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g, lo cual se correlacionó con la capacidad antioxidante. Además, los autores demostraron la presencia de procianidinas en la pulpa de aguacate de la variedad ‘Choquette’, siendo mayores las del tipo B, respecto al tipo A. Se comprobó la existencia de monómeros, dímeros, trímeros y tetra-hexámeros (0.3, 0.3, 0.3, 0.2 mg/g, respectivamente) en la pulpa de aguacate. Esto indica que la pulpa de aguacate es una fuente rica en CFs.

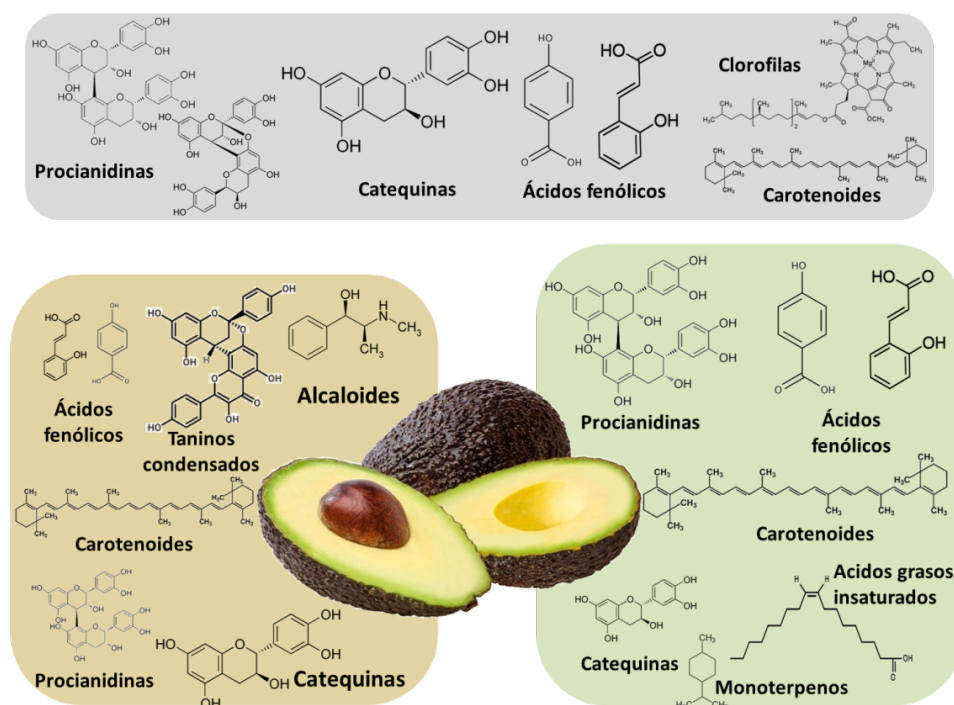


Figura 4. Compuestos bioactivos presentes en el aguacate. Con color gris se encuentran los principales compuestos bioactivos en la cáscara, con color café en semilla y con verde en la pulpa.

López-Cobo y col. (2016), evaluaron el contenido de CFs presentes en la pulpa de aguacate por medio de cromatografía líquida de alta resolución (UPLC), identificando 23 compuestos, entre los cuales incluyen ácidos orgánicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos, aminoácidos, azúcares, nucleósidos, alcoholes fenólicos y monoterpenos. Los ácidos fenólicos presentes fueron ácido sinápico, *p*-cumárico y su rutinósido, glucósidos de ácido *p*-cumárico, ferúlico, y cafeico, así como galato de octilo, e isómeros del ácido feruloilquínico, variando de 0.7 a 8.5 mg/100 g de peso seco (PS). Además, se encontró la presencia de monómeros de catequina y epicatequina, reportándose 0.071 mg de catequina/g PS. Respecto a las proantocianidinas evaluadas, se encontraron las del tipo B, en forma de dímeros, trímeros y tetrámeros, con una concentración total de 39.4 µg/g PS. Cabe destacar que el ácido *p*-cumárico es el de mayor proporción en la pulpa de aguacate, alcanzando valores de casi 15 mg/100 g PS. Estos resultados indican que la mayoría de los CFs presentes en la pulpa de aguacate se encuentran como ácidos fenólicos, pero es posible encontrar algunos flavonoides y sus polímeros.

El contenido de CFs presentes en la pulpa del aguacate es menor que el encontrado en otras partes del fruto, como son la semilla y la cáscara. Ayala-Zavala y col. (2011) afirman que el contenido de compuestos bioactivos en subproductos agroalimentarios, tales como la cáscara y semilla, supera el presente en la porción comestible de los frutos. El contenido de CFs totales presentes en la semilla alcanza los 9.51 mg de equivalentes de catequina/g PS (Kosinska y col., 2012). La identificación de los CFs presentes en la semilla de aguacate fue realizada por Figueroa y col. (2018b), en donde los autores encontraron un total de 84 compuestos diferentes, siendo los más destacados los taninos condensados, ácidos fenólicos y flavonoides. Además, la presencia de ácidos hidroxicinámicos, derivados de alcoholes fenólicos, catequinas y procianidinas, podrían estar contribuyendo considerablemente a la actividad antioxidante. Por lo tanto, la semilla de aguacate representa una fuente de compuestos con actividad biológica con potencial para ser utilizada en la industria alimentaria.

Para el caso de la cáscara, Kosinska y col. (2012) evaluaron tanto el contenido de CFs totales como su composición por HPLC acoplado a masas. Respecto al contenido de CFs totales, se reporta que alcanza los 25.32 mg de equivalentes de catequina/g PS. Los autores identificaron 11 compuestos diferentes, siendo el compuesto mayoritario la catequina, con 148.8 µg/g PS. Asimismo, se encuentran derivados de quercetina, dímeros de procianidinas A y B y ácidos fenólicos. De manera que la cáscara de aguacate representa una fuente importante de CFs que, al no verse aprovechados

después del consumo de la fruta, pueden explotarse para darles un segundo uso.

El procesamiento del aguacate incrementa el valor agregado y contribuye a la rentabilidad del cultivo (Rodríguez-Carpena y col., 2011). Aprovechar el fruto entero es una tarea complicada para la industria alimentaria, lo que genera subproductos en cantidades que pueden significar una fuente de contaminación ambiental (Salmerón-Ruiz, 2014). La industrialización del procesamiento de aguacate genera tres subproductos: cáscara, semilla y parte de la pulpa, cuyos porcentajes del peso total del fruto se reportan entre el 11-16%, 14-24% y 5-10%, respectivamente (Bressani y col., 2009, Rodríguez-Carpena y col., 2011). De acuerdo con estas cifras, los subproductos de aguacate representan un área de oportunidad para la búsqueda de compuestos bioactivos, con el fin de utilizarlos como nutraceuticos o ingredientes funcionales.

Por su composición, el aguacate es utilizado para la producción de aceite, generando un residuo que contiene todos los compuestos hidrofílicos que no son extraídos. De acuerdo con la USDA (2018), la pasta seca y libre de lípidos representa alrededor del 12.3 % del peso de la pulpa, además, si se suma el porcentaje de semilla y cáscara que se desecha para obtener la pulpa del aguacate, esta cifra aumenta hasta alrededor del 60 %. La producción de aceite de aguacate en 2016 alcanzó, tan solo en América, las 600.3 Mdt, lo cual puede traducirse a una producción de alrededor de 1200 Mdt de PDA que no fueron aprovechadas (Technavio, 2017). Por lo que es de gran importancia resaltar que esta pasta aún puede ser procesada para aprovechar al máximo compuestos bioactivos, como CFs y fibra, los cuales podrían ser utilizados como ingredientes funcionales.

Debido al carácter anfipático de los CFs, una fracción puede ser extraída al momento de obtener el aceite, sin embargo, otra porción permanece en el subproducto resultante. En un estudio realizado por Santana y col. (2019) se evaluó el contenido de CFs presentes en el aceite de aguacate. El principal ácido fenólico encontrado en el aceite de aguacate es el ácido *p*-cumárico (1.29 mg/100 g), seguido del ácido ferúlico (0.72 mg/100 g), además se reportó la presencia de ácido gálico, ácido 3,4 di-OH-*p*-fenilacético y quercetina. Los autores reportan un contenido de CFs totales de 3.15 mg/100 g, demostrando que existe la presencia de CFs en el aceite de aguacate, y que estos no permanecen en su totalidad en el residuo obtenido de su procesamiento.

Si se comparan las cifras obtenidas por López-Cobo y col. (2016) y Santana y col. (2019), es posible establecer una relación de cuántos son los CFs residuales en la PDA. Respecto al ácido *p*-cumárico, el principal ácido fenólico contenido en el aguacate, en la pasta se encuentra el 91.27 % del total, ya que el porcentaje extraído en el aceite es del 8.73 %. Otros ácidos importantes, como

los ácidos caféico y protocatéico, permanecen intactos en la PDA obtenida, esto puede ser debido a que su polaridad es mayor que la del ácido *p*-cumárico, lo que explicaría por qué no pueden solubilizarse en el aceite. La PDA tiene un remanente de ácido gálico y ácido ferúlico del 42.26 % y 63.08 %, respectivamente, lo cual indica que estos ácidos sí son extraídos en el aceite con mayor facilidad. De esta manera, es posible apreciar que en la PDA queda una cantidad importante de CFs que están siendo desperdiciados, pudiendo aprovecharse en la formulación de alimentos funcionales o nutraceuticos.

Uno de los efectos benéficos de la pulpa de aguacate que ha sido estudiado por diversos autores es la reducción del peso corporal. Como se mencionó con anterioridad, actualmente se buscan estrategias para controlar el sobrepeso y obesidad a nivel mundial; una de las opciones relevantes para la población adulta es el consumo de una comida completa que pueda producir saciedad de manera prolongada (Sabaté y col., 2015). Debido a su composición de macronutrientes, el aguacate puede afectar algunos factores biológicos y prolongar de manera favorable la sensación de saciedad (Sabaté y col., 2015, Campbell y col., 2017). Por lo cual, se han realizado estudios en los que se evalúa el efecto de la ingesta de aguacate sobre patrones y hormonas de saciedad, así como de biomarcadores, con el fin de encontrar un efecto en la reducción del hambre y prolongar la saciedad.

En un estudio realizado por Sabaté y col. (2015) se evaluó el efecto de la inclusión y adición de aguacate a una comida sobre las hormonas encargadas de la regulación en la sensación de saciedad. Los autores administraron medio aguacate en la comida de participantes con sobrepeso, y evaluaron la expresión de cinco hormonas gástricas después de tres horas. Los tratamientos evaluados fueron uno con aguacate incluido dentro de las calorías de la comida, uno con el aguacate añadido sobre las calorías totales y un grupo control. Se presentó un incremento de la concentración sérica de leptina en ambos grupos tratados con aguacate, pero en el grupo con adición, hubo también un descenso en la concentración de GLP-1 asociado a la cantidad de calorías presentes en la porción de aguacate. Se concluyó que es necesario realizar más estudios debido a las inconsistencias reportadas en la secreción de hormonas, ya que los autores reportan que en otros estudios no sucede lo encontrado en sus resultados.

En un estudio complementario al anterior (Wien y col., 2013), a los mismos sujetos de investigación se les solicitó rellenar encuestas respecto a sus sensaciones de saciedad y hambre. Se determinó que después de tres horas de su consumo, el grupo con el aguacate incluido mostró un

incremento del 22 % en la satisfacción, mientras que, en el grupo con aguacate añadido, su satisfacción aumentó un 26 % y el deseo de comer se redujo en un 40%. Se evaluó el contenido calórico de la siguiente comida, sin embargo, no se observó ningún efecto por el aguacate, lo cual se asoció a que a las cinco horas después de la ingesta los resultados arrojan que las sensaciones de los tratamientos convergen con el control. Los autores concluyeron que la inclusión y adición de aguacate reduce el deseo de comer y aumenta la sensación de saciedad, debido a los azúcares y la fibra presentes en el fruto. Sin embargo, no se propuso ningún mecanismo respecto a de qué manera la composición del aguacate influye en la secreción de hormonas ni en la sensación de saciedad.

2.6 Mecanismo de Inducción de Saciedad de los CFs y su Relación con los Cambios en la Secreción de Hormonas que Regulan este Proceso

Para llegar al mecanismo por el cual los CFs presentes en el fruto, o los subproductos de éste, podrían llegar a regular la generación de saciedad, es necesario conocer el efecto de los CFs sobre diferentes receptores para la secreción de hormonas, así como la influencia de estos compuestos sobre las funciones de los órganos del TGI. Estos efectos se describen en la siguiente sección, con el fin de explicar los posibles mecanismos de acción de los CFs sobre la inducción de saciedad.

Debido a los beneficios múltiples asociados al té verde, la investigación de sus componentes en forma de compuesto puro ha resultado de importancia en los últimos años. En un estudio realizado por Fernandes y col. (2018) se evaluó el efecto de la EGCG, sobre las sensaciones de saciedad, hormonas reguladoras y su capacidad para reducir la velocidad del vaciamiento gástrico. En el caso de la sensación de hambre no existió una diferencia significativa ($p < 0.05$) al administrar cápsulas de EGCG, sin embargo, los voluntarios sí indicaron una mayor saciedad a los 90 min. Los autores también evaluaron las hormonas leptina y adiponectina; la primera resultó sin cambios durante el ensayo, mientras que la segunda incrementó 60 % a los 150 min. Además, se evaluó el efecto de la EGCG sobre el vaciamiento gástrico, encontrando que a los 30 y 90 min de consumir la cápsula con EGCG el vaciamiento disminuyó su velocidad, mientras que a los 150 min se igualó con el control. De manera que al alentar el vaciamiento gástrico, los macronutrientes y CFs tienen mayor

oportunidad de interaccionar con los receptores de las células secretoras de hormonas y generar una mayor sensación de saciedad como consecuencia a la ingesta de EGCG.

Los receptores encargados de la secreción de CCK son estimulados, en su mayoría, por los macronutrientes, y los resultados son la secreción y síntesis de esta hormona. En un estudio realizado por Al Shukor y col. (2014), se evaluó el efecto de ocho CFs (ácido tánico, ácido gálico, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido protocatéico, quercetina, kaempferol y resveratrol) sobre los receptores CCK1R. Los autores encontraron que los receptores del tipo 1 no se ven estimulados por la presencia de los CFs, a excepción del ácido tánico, cuya interacción llevó a bloquear los receptores, evitando la secreción de la hormona. Además, discutieron que el bloqueo de los receptores puede deberse a que las concentraciones utilizadas fueron excesivas en comparación con lo ingerido regularmente. Los autores concluyeron que a pesar de que los CFs no presentan efecto sobre los receptores tipo 1, los de tipo 2 no han sido estudiados, y su estimulación positiva por CFs sí podría estarse llevando a cabo. De manera que es necesario realizar más estudios respecto al efecto de los CFs, sobre los receptores de hormonas entéricas.

Debido a la complejidad de sus componentes, los extractos naturales no ejercen un solo mecanismo de acción sobre el organismo, por ello se puede suponer que los CFs no siempre intervienen en la secreción hormonal de manera directa sobre las células diana. Algunos CFs han sido evaluados respecto a su capacidad para incrementar la lipólisis y la β -oxidación por una modulación hormonal y epigenética de diversas enzimas encargadas del metabolismo de lípidos (Rupasinghe y col., 2016). Los compuestos con capacidad de generar estas modificaciones epigenéticas sobre los genes de las enzimas de la ruta de la β -oxidación, son flavonoides de frutas cítricas, galato de epicatequina, resveratrol, capsaicina y curcumina (Rupasinghe y col., 2016). Entre los receptores de las células que generan hormonas entéricas se encuentran, los de ácidos grasos libres, por ello, al existir una mayor cantidad de éstos se puede estimular la secreción de CCK e inhibir la de ghrelina.

Por lo anterior, en la Figura 5 se propone el posible mecanismo de acción de los CFs sobre las células secretoras de hormonas reguladoras de saciedad. Al ingerir los CFs, éstos comienzan a generar un efecto en los diferentes órganos del TGI. En el epitelio gástrico (Figura 5a), los CFs pueden llevar a cabo una acción directa sobre los receptores de la célula, al existir receptores para los ácidos hidroxicarboxílicos, y algunos de estos compuestos cuentan con una estructura adecuada para interactuar con ellos y activarlos. Además, también pueden llevar un efecto indirecto, debido

a que en los adipocitos se activa la β -oxidación por acción de estos compuestos. En este caso, los ácidos grasos libres generados pueden interaccionar con los receptores de las células X/A. También sucede que debido a que la mayoría de los CFs se encuentran en la naturaleza en forma glicosilada, el carbohidrato unido a la molécula puede generar un estímulo sobre las células, similar al generado por los azúcares presentes en los alimentos. Con este mecanismo, es posible establecer la posible relación que tienen los CFs sobre la inhibición de la secreción de ghrelina.

Durante el trayecto por el TGI, los CFs ejercen efecto sobre el epitelio intestinal (Figura 5b). En el caso de la EGCG, al generar un tránsito intestinal más lento, promueve la interacción entre los macronutrientes con las células enteroendócrinas, provocando una mayor oportunidad de estimular las células I y que se dé la estimulación en la secreción de CCK. De manera similar a lo mencionado con el estómago, los ácidos grasos libres generados por la estimulación de los adipocitos pueden interactuar con los receptores de las células I y promover la secreción de CCK. En el caso de los CFs glicosilados, también mimetizan la acción de los carbohidratos sobre las células intestinales. Por esta evidencia, es posible entender que los CFs también pueden generar un efecto para promover la secreción de CCK y llevar a una sensación de saciedad.

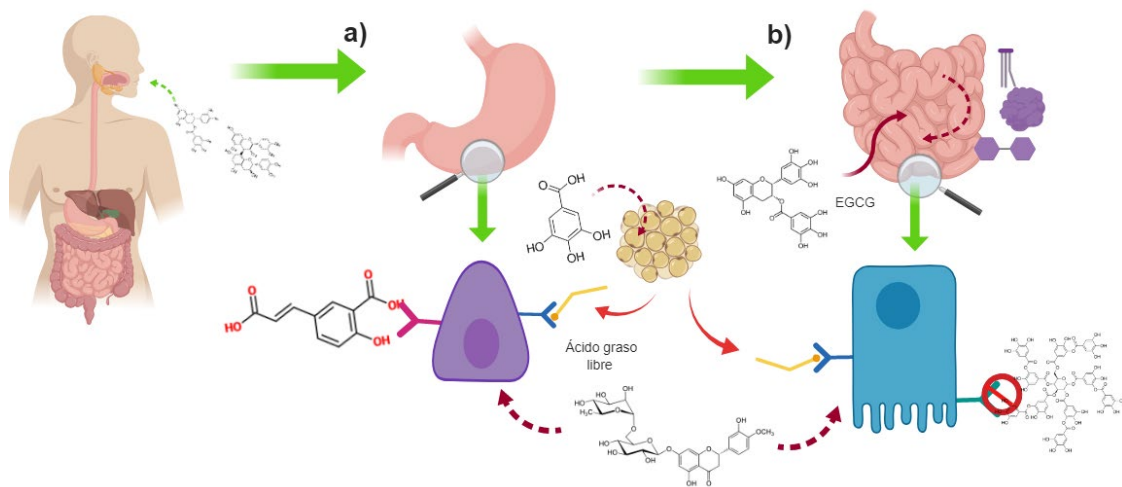


Figura 5. Propuesta del mecanismo de acción de los CFs sobre las células secretoras de hormonas reguladoras de saciedad. La sección a) presenta el efecto de los CFs sobre las células X/A (moradas) ubicadas en la capa submucosa del estómago; la sección b) presenta el efecto de los CFs sobre las células I (azules) del intestino delgado. Al ingerirse, los CFs llevan a cabo efectos directos o indirectos a lo largo del TGI, tanto en otros tejidos como sobre las células secretoras de hormonas reguladoras de saciedad: Flechas sólidas representan un efecto directo sobre el órgano, tejido o célula; flechas punteadas representan estimulación indirecta de los CFs sobre las células secretoras de hormonas.

Lo anterior resalta la importancia de la presencia de los CFs en las diferentes partes del aguacate y su efecto sobre la regulación de la saciedad, sin embargo, el efecto del consumo del subproducto agroindustrial de aguacate no ha sido estudiado en este ámbito. La falta de resultados contundentes y correlacionables en el estudio de hormonas de saciedad y VAS sugiere que es necesario su estudio por métodos más objetivos, abriendo un área de oportunidad para el desarrollo de alimentos funcionales y nutraceuticos que ayuden a la regulación del peso corporal.

3. HIPÓTESIS

La administración de un extracto rico en CFs de pasta de aguacate cv ‘Hass’ a un modelo murino, tiene un efecto agudo y modifica los tiempos en la evaluación de la secuencia de conducta de saciedad, reduciendo el tiempo de alimentación e incrementando el de acicalamiento, a la vez que incrementa concentración sérica de CCK y reduce la de ghrelina.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto agudo de la administración de un extracto rico en CFs proveniente de pasta de aguacate cv 'Hass', sobre la secuencia de conducta de saciedad y concentración sérica de CCK y ghrelina, en un modelo murino.

4.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto del suministro de un extracto de pasta de aguacate cv. 'Hass' en el desarrollo de la secuencia de conducta de saciedad de un modelo murino.
2. Determinar la concentración sérica de las hormonas CCK y ghrelina en el modelo murino, a diferentes tiempos después de administrar un extracto de pasta de aguacate cv. 'Hass'.
3. Evaluar la posible correlación que existe en el desarrollo de la secuencia de la saciedad y las hormonas séricas estudiadas.

5. METODOLOGÍA

5.1 Obtención de la Materia Prima y Extracto Etanólico

La PDA fue donada por la empresa mexicana Avoleo S.A de C.V, ubicada en Uruapan, Michoacán. La PDA es el subproducto del procesamiento del fruto de aguacate íntegro después de someterse a una molienda y centrifugación en frío, por lo que está compuesta de semilla, cáscara y pulpa desgrasadas. La muestra fue enviada en condiciones de refrigeración al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD A.C.), en Hermosillo, Sonora. Posterior a su llegada, la PDA fue empacada en bolsas selladas conteniendo aproximadamente 200 g y se congelaron a -35 °C para ser liofilizadas (Labconco, FreeZone 6 Liter Benchtop Freeze Dry, Kansas City, MO, EUA). Una vez liofilizada, la PDA fue molida, colocada en bolsas de vacío con cierre hermético y almacenada a -20 °C hasta su análisis.

El extracto etanólico de PDA fue elaborado con extracción asistida por ultrasonido (EAU) de acuerdo a la metodología establecida por Villa-Rodriguez (2011) con ligeras modificaciones. En un tubo de 50 mL se colocó 1 g de PDA liofilizada y 20 mL de una solución etanol:agua (80:20) y se sometió a EAU (2510, Branson Ultrasonic Co., Danbury, CT, EUA) por 30 min. Posterior al tiempo de extracción, la solución se centrifugó (Beckman Coulter, Allegra 64R, Brea, CA, EUA) a 9300 g por 10 min y se recuperó el sobrenadante, el cual fue filtrado con papel Watman #1. Esta extracción se realizó dos veces más al precipitado obtenido, utilizando 10 mL de etanol:agua (80:20). Al finalizar las extracciones, el sobrenadante se aforó a 50 mL utilizando el mismo solvente de extracción. El extracto obtenido se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Para las pruebas *in vivo*, el extracto fue llevado a sequedad en un evaporador rotatorio (Rotavapor Buchi R-205, Flawil, Suiza) utilizando un baño de agua (Buchi B-490, Flawil, Suiza) a 35 °C, con el fin de eliminar el solvente y evitar su posible toxicidad. Una vez evaporado el solvente, el extracto se re-suspendió en agua para ser congelado a -35 °C y posteriormente liofilizado (Labconco, FreeZone 6 Liter Benchtop Freeze Dry, Kansas City, MO, EUA), una vez seco fue almacenado a -20 °C hasta su análisis.

5.2 Cuantificación de CFs Totales

El contenido de CFs totales del extracto de PDA fue cuantificado de acuerdo a la metodología de Singleton y Rossi (1965). Se colocaron 30 μ L de extracto en una placa de 96 pocillos, se añadieron 150 μ L de reactivo de Folin (2 N) y 120 μ L de carbonato de sodio (7.5 %). La mezcla de reacción se incubó por 30 min y fue leída en un espectrofotómetro (FLUOstar Omega, BMG LABTECH, Cary, NC, EUA) a 765 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico/g PS.

5.3 Medición de la Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante del extracto fue medida por tres métodos, inhibición del radical DDPH, FRAP y ORAC (Brand-Williams y col., 1995, Benzie y Strain, 1996, Robles-Sánchez y col., 2009). Para la determinación de la capacidad antioxidante por método de DPPH, se preparó una solución de radical a concentración de 25 ppm disuelta en etanol puro, la absorbancia se ajustó a 0.700 ± 0.020 (515 nm). Una vez ajustada la absorbancia del radical, se colocaron 20 μ L de extracto en una microplaca de 96 pocillos y 280 μ L de radical, la mezcla se incubó por 30 min y se leyó la absorbancia a 515 nm. Los resultados se transformaron a porcentaje de inhibición y fueron expresados como mg equivalentes de Trolox (ET)/g PS.

Para el caso de la actividad antioxidante por el método de reducción del hierro (FRAP), se prepararon tres soluciones. La solución A fue un buffer de acetato 30 mM con un pH=3.6; la solución B fue 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM disuelta en ácido clorhídrico (2 M); la solución C fue cloruro de hierro (III) 20 mM. Para llevar a cabo la medición de la capacidad antioxidante, se mezclaron 5 mL de la solución A, 0.5 mL de la solución B y 0.5 mL de la solución C, lo cual se denominó mezcla de reacción. Se colocaron 20 μ L de muestra en una placa de 96 pocillos y 280 μ L de la mezcla de reacción, se incubó por 30 min y se leyó la absorbancia a 595 nm. Los resultados fueron expresados como mg ET/g PS.

La capacidad antioxidante por el método de ORAC fue determinada por el método establecido por

Robles-Sánchez y col. (2009). Para llevar a cabo la medición, se generó una mezcla de reacción que contenía 100 μL de extracto, 1.65 mL de buffer de fosfatos 75 mM (pH 7.0), 150 μL de reactivo AAPH (0.8 M) y 100 μL de fluoresceína (0.106 μM). Las muestras se preincubaron por 15 min a 37 °C, posteriormente se adicionó el AAPH. La emisión de la fluoresceína ($\lambda_{\text{ex}}=484$, $\lambda_{\text{em}}=515$ nm) se monitoreó en intervalos de 5 min hasta que se alcanzó menos del 5% del valor inicial. Las mediciones se realizaron por triplicado. El buffer fue utilizado como blanco y las muestras se contrastaron con una curva estándar de Trolox para expresar los resultados como mg ET/g PS.

5.4 Caracterización de los CFs en el Extracto de PDA

Para la identificación y cuantificación de CFs en el extracto de PDA se siguió el protocolo establecido por Pacheco-Ordaz y col. (2018). Se tomaron 500 mg de PDA liofilizada y se mezclaron con 7 mL de etanol con 10 % de ácido acético, la mezcla se sometió a EAU por 30 min y se centrifugó a 9300 g por 10 min. Se tomó una alícuota de 1 mL este extracto, al cual se le denominó fracción libre. A la mezcla restante, se le adicionaron 12 mL de NaOH (10 mol/L) y se incubó en la oscuridad con agitación por 16 h. Después de la incubación, la muestra se llevó a pH 2 y se procedió a extraer con 15 mL de una mezcla de acetato de etilo:éter etílico (1:1 v/v); la extracción se realizó por triplicado y se juntaron los volúmenes. La mezcla de solventes se evaporó por un evaporador rotatorio y se resuspendió en 1.5 mL de metanol absoluto, a este extracto se le denominó fracción alcalina. A la solución restante se le adicionaron 2.5 mL de HCl (10 mol/L) y se incubó en un baño de agua (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) a 85 °C por 30 min. La muestra se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se ajustó el pH 2. Se llevó a cabo la misma extracción con acetato de etilo:éter etílico (1:1 v/v) y al extracto se le denominó fracción ácida.

Las fracciones del extracto de PDA se analizaron respecto al contenido de CFs por cromatografía líquida de ultra-resolución (Acquity, Waters, Milford, MA, EUA) con una columna C-18 (3.0 mm x 100 mm, 5 μm , Waters). La temperatura de la columna y el detector fueron 60 y 25 °C, respectivamente. El volumen de inyección fue de 10 μL . La fase móvil (FM) consistió en un gradiente de agua acidificada con ácido fórmico (A) y metanol absoluto (B). El flujo inicial fue de

0.4 mL/min con una proporción 80 % de A. En el tiempo 0.25 min, el flujo disminuyó a 0.15, manteniendo la proporción de FM; a los 5 min el flujo aumentó a 0.2 mL/min con la misma proporción de FM. Una vez llegados los 12 min, la proporción de FM cambió a 55 % de A y el flujo disminuyó a 0.18 mL/min. A los 25 min el flujo bajó a 0.1 mL/min y la FM consistió únicamente de metanol. A los 26 min, el flujo aumentó a 0.2 mL/min y la FM tuvo proporción de 60% A. Posterior a eso, a los 27 min el flujo fue de 0.4 mL/min con una proporción en la FM de 80% A hasta completar los 30 min. Los cromatogramas obtenidos fueron analizados con el software Empower 3 (Waters).

5.5 Bioensayo: Medición de la Secuencia de Conducta de Saciedad

Previo al inicio del bioensayo, el protocolo utilizado se sometió al comité de bioética del CIAD A.C., siendo aprobado el 14 de octubre de 2019 bajo el oficio CE/014_1/2019. La medición de la SCS se llevó a cabo con 12 ratas Wistar macho de 100 a 150 g de peso inicial, las cuales fueron proporcionadas por el bioterio del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora. Las ratas fueron alimentadas con la dieta estándar LabDiet A5001, manteniendo agua y comida *ad libitum*. La temperatura del bioterio se mantuvo en 20-25 °C y el bioensayo se realizó en los meses de enero a marzo del 2020 en las instalaciones del CIAD A.C., en Hermosillo, Sonora. Las ratas se mantuvieron con fotoperiodos de luz/oscuridad de 12 h con ciclos de luz invertidos para trabajar las evaluaciones durante la fase nocturna (Goodson y col., 2004). Las ratas permanecieron dos semanas en adaptación a las condiciones del bioterio, ayuno, manejo, jaula de experimentación y administración del tratamiento, todo esto de manera escalonada para permitir una mejor adaptación.

Una vez que inició el tiempo de ensayo, las ratas se sometieron una vez a la semana a la administración de 500 µL de agua por una cánula (tratamiento control) y en una segunda ocasión al tratamiento experimental con 50 mg de extracto/kg de peso, disueltos en 500 µL de agua (Domínguez Avila y col., 2017, Domae y col., 2019). Después de la administración del tratamiento (control o extracto) se procedió a colocar a la rata en la jaula de experimentación (Figura 6). La jaula de evaluación de conducta consistió en una jaula de vidrio de 60 x 30 x 45 cm (largo x ancho

x alto), en la que se colocó un comedero en el centro y un bebedero al costado, manteniendo agua y comida *ad libitum* durante el tiempo de evaluación, tal y como se muestra en la Figura 6A. Para la grabación de la conducta se utilizó una cámara con visión nocturna (Stereon, CCTV-207) bajo la luz roja y desde un ángulo de 90°, como se muestra en la Figura 6B, para grabar los siguientes 40 min (Goodson y col., 2004). Este procedimiento se realizó durante 6 semanas.

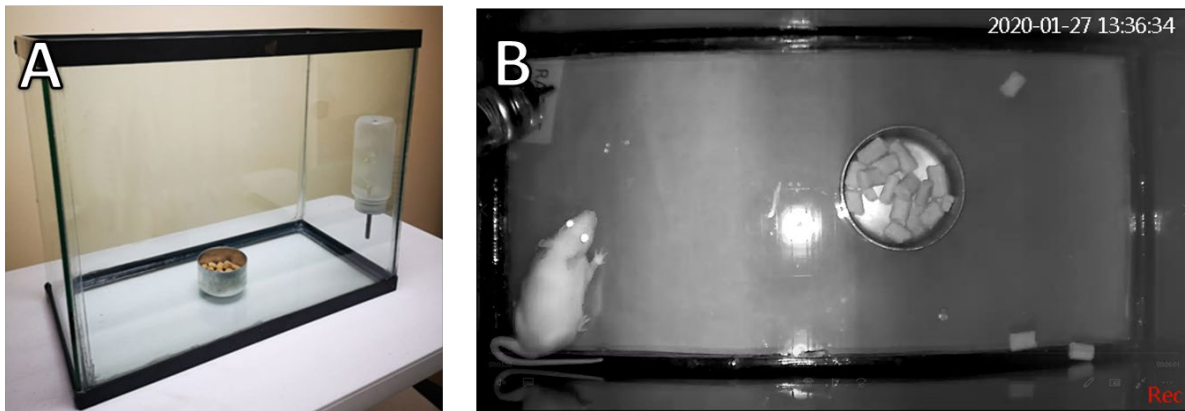


Figura 6. Jaula utilizada para la evaluación de conducta. A) Vista lateral en donde se muestra la localización del comedero y bebedero. B) Vista desde el ángulo de grabación (superior) tomada bajo condiciones de oscuridad.

Para la presentación de resultados, los 40 min de ensayo se dividieron en 8 periodos de 5 min cada uno, y se graficaron los segundos destinados a cada una de las conductas durante cada periodo (Figura 3). Las conductas se clasificaron, de acuerdo a lo establecido por Goodson y col. (2004) y Rocha Levone y col. (2014), en alimentación, actividad, acicalamiento y descanso, donde cada una de las conductas son mutuamente excluyentes. La descripción de cada categoría se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de las conductas para la evaluación de la SCS.

Conducta	Descripción
Alimentación	Morder, roer, tragar, masticar o sostener la comida; contacto con el comedero, beber agua.
Actividad	Caminar por la jaula (locomoción), dar vueltas, pararse sobre sus patas traseras, escalar, olfatear rápidamente, movimiento de cabeza.

Acicalamiento	Lamerse, rascar o morder el cuerpo, patas, genitales y cola.
Descanso	Posición relajada con la cabeza apuntando al cuerpo, sentado, acostado o cualquier inactividad con respiración y olfateo leve.

Adaptado de: Goodson y col. (2004), Rocha Levone y col. (2014).

5.6 Bioensayo: Cuantificación de Hormonas Entéricas en Suero

Para llevar a cabo la toma de suero para la cuantificación de hormonas entéricas, 10 ratas Wistar macho (100-150 g) fueron aleatorizadas de acuerdo con su peso inicial en dos grupos: control y con extracto (50 mg/kg). Al igual que las ratas de la medición de conducta, estas también se mantuvieron en fotoperiodos de luz oscuridad invertidos de 12 h, con agua y comida *ad libitum*, y las mediciones se realizaron en los meses de enero a marzo de 2020 con 2 semanas previas de adaptación a todas las condiciones. Las ratas se sometieron a ayuno por 4 h, posteriormente se administró el tratamiento correspondiente y se procedió a la toma de muestra sanguínea. Se tomaron muestras en los tiempos 0, 7, 15, 30 y 45 min después de la aplicación del tratamiento, alternando para que cada una de las 5 ratas correspondientes a cada grupo tuviera una medición en cada uno de los tiempos, tomando muestras durante 5 semanas, simulando un diseño de cuadro latino (Cuadro 2) (Domínguez Avila y col., 2017, Domae y col., 2019). Las muestras de sangre fueron centrifugadas inmediatamente (3500 g x 10 min) para obtener el suero, el cual permaneció a -80 °C hasta su análisis. Las hormonas entéricas medidas fueron CCK y ghrelina, su concentración en suero se cuantificó por medio de un Kit ELISA y se siguieron las instrucciones del fabricante. En el caso de la hormona ghrelina se utilizó el kit ELISA EMD # EZRGRA-90K (EMD Milipore Corporation). Para la medición de la hormona CCK se utilizó el kit ELISA LS-F13108 (LifeSpan BioSciences Inc.). En ambos casos, la concentración de hormonas fue expresada como pg/mL de suero.

Cuadro 2. Representación del diseño experimental de cuadro latino para la toma de muestra sanguínea.

Rata		Semanas				
		1	2	3	4	5
1	Tiempo (min)	0	45	30	15	7
2		7	0	45	30	15
3		15	7	0	45	30
4		30	15	7	0	45
5		45	30	15	7	0

5.7 Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico

Para la caracterización del extracto, se llevó a cabo estadística descriptiva utilizando media $\pm$ error estándar. Las variables de respuesta fueron la concentración de CFs totales y la actividad antioxidante por ORAC, FRAP y DPPH. Al no ser una comparación entre varias muestras, los resultados de la cuantificación de CFs en las diversas fracciones del extracto de PDA, fueron sometidos a estadística descriptiva y se presentan como media $\pm$ desviación estándar de al menos 2 repeticiones.

El diseño experimental de la evaluación de la SCS consistió en un diseño de mediciones repetidas con bloques completos al azar donde cada rata funcionó como su propio control. El factor de variación fue el tratamiento con dos niveles: control y extracto. Los bloques consistieron en el tiempo de evaluación del video, el video fue dividido en 8 periodos de 5 min cada uno (40 min total), para facilitar su análisis pero el tiempo fue bloqueado con el fin de conocer solo el efecto del tratamiento. Se llevó a cabo un ANOVA de modelos lineales bloqueando el tiempo de ensayo y eliminando la variabilidad de cada individuo. Las variables de respuesta fueron el tiempo destinado a comer, actividad, acicalamiento y descanso, siendo cada una de estas variables mutuamente excluyentes. En caso de existir diferencias significativas se llevó a cabo la prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). Los resultados fueron expresados como media $\pm$ error estándar, con al menos $n=11$.

Para la medición de hormonas de saciedad se llevó a cabo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2×5 . El primer factor, al igual que en la etapa anterior, fue el tratamiento con dos niveles: control y extracto. El segundo factor fue el tiempo de extracción con cinco niveles: 0,

7, 15, 30 y 45 min. Se llevó a cabo un ANOVA de modelos lineales considerando la interacción de ambos factores. Las variables de respuesta fueron la concentración sérica de ghrelina y CCK. En caso de existir diferencias significativas se llevó a cabo la prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). Los resultados fueron expresados como media $\pm$ error estándar, utilizando tres replicas biológicas medidas por duplicado.

En todos los casos, se llevaron a cabo pruebas de normalidad para confirmar la confiabilidad de los datos. Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico NCSS Versión 20. El análisis del perfil fenólico por UPLC se llevó a cabo usando el software Empower 3 para la identificación y cuantificación de los CFs presentes. Las gráficas fueron realizadas en el software SigmaPlot versión 12.3.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Contenido de CFs y Capacidad Antioxidante de la PDA

El Cuadro 3 muestra el contenido de CFs y capacidad antioxidante del extracto de PDA. Respecto al contenido de CFs totales presentes en la muestra, se aprecia que fue mayor a lo reportado en pulpa de aguacate, por ejemplo, Rodríguez-Carpena y col. (2011) indican un contenido de 0.92 mg EAG/g PS en el estado de madurez comercial, mientras que la cáscara y semilla alcanzan los 78.41 y 35.11 mg EAG/g PS, respectivamente. Al comparar el contenido de CFs totales en la PDA, este se encontró por debajo de la cáscara y semilla, lo cual es esperado, ya que la PDA resulta de la combinación de todas las partes del fruto molidas y desgrasadas. Por lo anterior, al ser mayor el contenido de CFs con respecto a la pulpa, se sugiere que la presencia de cáscara y semilla generó un aumento en la concentración de éstos, sin embargo, este incremento no fue suficiente para alcanzar valores similares a los de la cáscara y semilla por separado, debido a la dilución que generó la presencia de la pulpa desgrasada.

Respecto a la capacidad antioxidante determinada por el método de inhibición del radical libre DPPH, la PDA presentó un valor similar a lo reportado para la pulpa, 2.90 mg ET/g PS (Wang y col., 2010). Sin embargo, al compararse con las partes del fruto por separado también se apreció una reducción de los valores, siendo estos de 107 y 158 mg ET/g PS para semilla y cáscara, respectivamente (Wang y col., 2010). Este comportamiento fue similar al de los CFs totales, además de ser esperado por la proporción de pulpa, cáscara y semilla presentes en la PDA analizada.

Las pruebas de FRAP y ORAC presentaron un comportamiento similar a lo anterior, encontrándose valores inferiores a los reportados para semilla y cáscara. En el caso de la prueba de FRAP, para semilla y cáscara se han reportado 79.24 y 118.37 mg ET/g PS, respectivamente (Salmerón-Ruiz, 2014, Segovia y col., 2018). Al compararse con lo presente en la PDA, se apreció una reducción importante de la capacidad antioxidante. Lo mismo sucedió en la prueba de capacidad antioxidante por ORAC, donde el valor para la PDA se encontró hasta nueve veces por debajo de lo reportado por otros autores para semilla, cáscara y pulpa, donde la bibliografía presenta valores de 77.58,

117.63 y 70.25 mg ET/g PS, respectivamente (Villa-Rodriguez, 2011, Kosinska y col., 2012, Figueroa y col., 2018b).

Cuadro 3. Contenido de CFs totales y capacidad antioxidante de la PDA medida por diferentes métodos.

Contenido de compuestos bioactivos (mg EAG/g PS)	
CFs totales	1.77 ± 0.06
Capacidad antioxidante (mg ET/g PS)	
DPPH	2.22 ± 0.05
FRAP	3.05 ± 0.09
ORAC	8.86 ± 0.19
Reportado como media de al menos tres repeticiones ± error estándar de al menos n=3	

El comportamiento anteriormente mencionado pudo deberse a que, cuando se lleva a cabo el procesamiento para la obtención de aceite, y al ser la PDA un desecho agroindustrial, esta no recibe los cuidados necesarios para la preservación de sus componentes funcionales. Čmolík y Pokorný (2000) reportaron que para la pasta obtenida tras la extracción de aceite de canola, ocurría una degradación de los componentes nutricionales debido al procesamiento. Además, García-Lomillo y González-SanJosé (2017) reportaron que en el caso del bagazo de uva, un subproducto agroindustrial proveniente de la preparación de vino, pueden presentarse variaciones en la cantidad y tipo de compuestos bioactivos como consecuencia tanto de la composición intrínseca de las uvas, así como a las condiciones del procesamiento. De esta manera, la capacidad antioxidante de la PDA pudo verse disminuida con respecto a las partes del fruto por separado. Sin embargo, hubo remanentes de compuestos bioactivos que hacen viable su uso para la elaboración de alimentos funcionales o nutraceuticos.

6.2 Caracterización de CFs Presentes en el Extracto de PDA

El Cuadro 4 muestra los CFs identificados mediante UPLC, en las diferentes fracciones del extracto etanólico de la PDA. Los compuestos encontrados fueron flavonoides y ácidos fenólicos, ya que la

mayoría de los compuestos presentes en cáscara y semilla son de tipo flavonoide, donde destacan algunas procianidinas, catequinas y sus derivados (López-Cobo y col., 2016, Figueroa y col., 2018a), mientras que en la pulpa destacan los ácidos fenólicos, como es el caso del ácido *p*-cumárico y ácido protocatéico (López-Cobo y col., 2016, Villa-Rodriguez y col., 2020). La presencia de flavonoides en el extracto, tales como catequina, quercetina y sus derivados, así como de ácidos fenólicos, resultan de importancia para evaluar su bioactividad posterior a su consumo, como es el caso del presente trabajo.

En un estudio realizado en humanos saludables con catequinas provenientes de té verde, este aumentó las sensaciones de saciedad y lleno por 90 y 120 min, respectivamente (Josic y col., 2010). Además, al probar los mismos compuestos de té verde en líneas celulares, se encontró que la producción de hormonas como GLP-1 y CCK incrementó, inclusive más que en los controles positivos, siendo estos, proteína de chicharo y ácidos grasos de cadena corta (Planes-Munoz y col., 2018). De manera similar, al evaluar el efecto de la administración oral en un modelo murino de un extracto con 18 flavonoides de espinaca (200 y 400 mg de extracto/kg de peso), Panda y Shinde (2017) encontraron una mayor secreción de CCK hasta por 60 min, inclusive al compararlo con fluoxetina, un fármaco establecido como tratamiento para la regulación de saciedad.

Aun cuando los compuestos del tipo flavonoide son los más estudiados en el aspecto de la generación de saciedad, no solo la presencia de éstos puede llegar a alterar esta sensación, por ejemplo, se ha demostrado que compuestos del tipo ácido fenólico también pueden llegar a ejercer un efecto similar. Tal es el caso del trabajo de Zeeni y col. (2014), quienes administraron un extracto de *Tragopogon porrifolius* a ratas Sprague-Dawley en diferentes dosis (50, 100 y 250 mg/kg de peso) durante 4 semanas, con una composición fenólica de ácido clorogénico y ácido cafeico principalmente. Los autores encontraron que a esas dosis y por ese tiempo de administración, el consumo de extracto logró reducir la ganancia en peso, el consumo de alimento y la grasa intra-abdominal de una manera dosis-dependiente. De manera similar, Serrano y col. (2016a) evaluaron el efecto de GSPE sobre marcadores de saciedad en un modelo murino, y aseguran que la presencia de ácido gálico en el tratamiento a administrar es necesaria para la modificación de las hormonas, como sería el caso del GLP-1. Los autores también concluyen que los galatos de compuestos flavonoides, como quercetina o catequina, son requeridos para incrementar la sensación de saciedad, resultando más eficientes que la forma libre de los mismos. Por lo que la presencia de ácido gálico en el extracto puede contribuir a incrementar el efecto sobre la saciedad.

De acuerdo a la bibliografía, la composición fenólica del extracto de PDA indica que este representa una opción para evaluar el efecto de los CFs sobre la saciedad, al contener algunos de los compuestos más evaluados en este tipo de ensayos. A pesar de que otros autores han evaluado el efecto del aguacate sobre la regulación de las hormonas y las sensaciones de saciedad, no se ha realizado esta evaluación específicamente utilizando este subproducto. Los resultados de capacidad antioxidante y de composición fenólica demuestran que la PDA, al ser un subproducto, sufre degradación en sus componentes funcionales, sin embargo, estos aún representan un potencial efecto benéfico para los organismos que la consuman. Todo lo anterior sugiere que la evaluación del extracto fenólico de PDA sobre la regulación de la saciedad es posible y representa un área que debería explorarse y aprovecharse para la formulación de alimentos funcionales o nutraceuticos.

Cuadro 4. CFs identificados y cuantificados en el extracto etanólico de pasta desgrasada de aguacate.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Fracción del extracto	Concentración (µg/g)
Ácido gálico	2.97	Libre	0.94 ± 0.01
		Alcalina	Trazas
Catequina	3.00	Libre	Trazas
		Alcalina	13.06 ± 1.80
Ácido protocatéico	4.04	Ácida	9.86 ± 0.45
Ácido cafeico	6.40	Ácida	Trazas
		Alcalina	15.75 ± 0.28
Ácido <i>p</i> -cumárico	10.17	Ácida	6.71 ± 0.85
Ácido ferúlico	11.93	Alcalina	29.01 ± 1.17
		Ácida	10.96 ± 1.67
Quercetina	14.50	Libre	Trazas
		Ácida	4.55 ± 0.03
Quercetina-3,4-diglucósido	15.00	Libre	0.17 ± 0.00
		Alcalina	0.13 ± 0.00
		Ácida	0.14 ± 0.00
Quercetina-3-glucurónido	15.50	Libre	Trazas
Kaempferol	19.70	Libre	Trazas
		Ácida	2.40 ± 0.08
		Libre	1.11 ± 0.01
Totales		Alcalina	58.38 ± 0.90
		Ácida	35.22 ± 3.01

Concentración presentada como media ± desviación estándar de al menos n=2

6.3 Peso Corporal y Consumo de Alimento Durante el Bioensayo

La Figura 7 muestra el peso de los animales durante el periodo experimental. Es posible apreciar que todos comenzaron con un peso homogéneo de aproximadamente 135 g. Al concluir el experimento, el grupo control pesó 275.15 ± 13.69 g, mientras que los animales que consumieron el tratamiento una vez a la semana alcanzaron los 283.92 ± 5.76 g, siendo estadísticamente similares entre sí ($p > 0.05$). Estos resultados sugieren que la administración semanal del extracto, no tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el correcto desarrollo de los animales de experimentación.

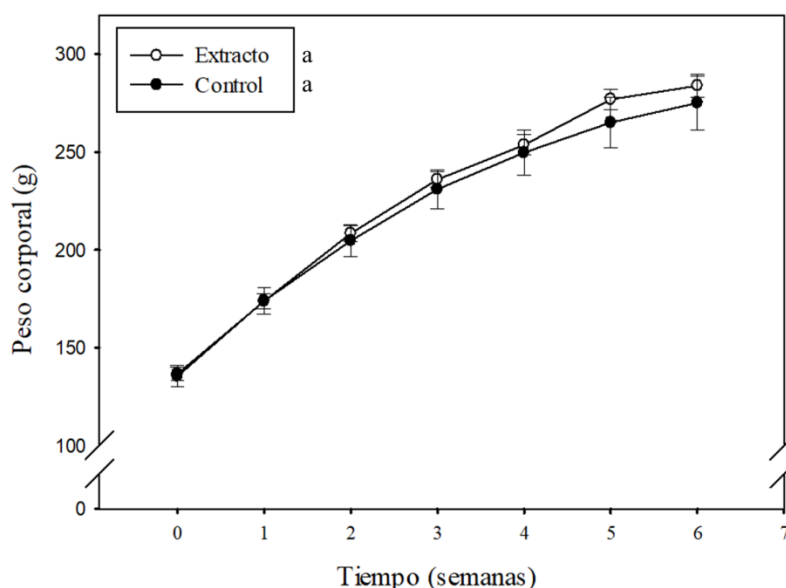


Figura 7. Registro de peso corporal semanal. En el eje de las ordenadas se presenta el peso corporal en g y en las abscisas las semanas de ensayo. Literales diferentes indican diferencias significativas al final de las seis semanas de experimento ($p < 0.05$).

Además, el peso final de los animales de experimentación (en promedio 280.68 ± 6.07 g) es similar a lo reportado en la literatura para ratas Wistar de entre 10 y 11 semanas de edad. Por ejemplo, Marques y col. (2016) sugieren que una rata de 11 semanas de edad debe pesar alrededor de 300 ± 9.1 g, mientras que Kitada y col. (2018) aseguran que a las 10 semanas de edad, una rata saludable

alcanza los 250 g. Esta comparación confirma que la dieta de mantenimiento fue adecuada para el desarrollo y crecimiento de una rata Wistar, y que la administración semanal de extracto no provocó un efecto negativo sobre los patrones de crecimiento.

La suplementación de la dieta con CFs de fuentes vegetales sobre animales saludables puede ejercer un efecto directo sobre la regulación de peso corporal. Tal es el caso del estudio realizado por Serrano y col. (2016d), donde se administró extracto de GSPE a ratas Wistar, con una dieta estándar para el control de ratas de laboratorio. Los autores encontraron que al administrar 0.5 y 1.0 g de GSPE/kg de peso, las ratas comenzaron a perder peso en vez de ganarlo, contrario a lo que debería suceder en un crecimiento normal. En un estudio similar, donde se administró extracto de *Tragopogon porrifolius* a ratas Sprague-Dawley (Zeeni y col., 2014), se encontró una disminución de peso de manera dosis-dependiente, independiente de la dieta (estándar o alta en grasa), donde el mejor efecto fue al administrar 250 mg de extracto/kg de peso. La dosis de extracto en ambos ensayos es más alta que lo utilizado en el presente trabajo, lo que sugiere que la dosis debería incrementarse si se desean cambios en la composición corporal. Además, en el caso de este trabajo el extracto se administró una vez a la semana, mientras que los ensayos de Serrano y col. (2016d) y Zeeni y col. (2014) administran la dosis diariamente, lo cual sugeriría que la acumulación de CFs en el organismo es necesaria para modificar el peso corporal.

La Figura 8 muestra el consumo de alimento por semana para el grupo control y el experimental. Al evaluar la interacción tratamiento-tiempo, no se presentaron diferencias significativas en el consumo de alimento por efecto de esta interacción ($p > 0.05$). Sin embargo, al realizar un bloqueo del tiempo y evaluar solamente el efecto por los tratamientos, se encuentra que el grupo tratado con el extracto de PDA consumió más alimento ($p < 0.05$), con respecto al control. Se aprecia que el mayor consumo de alimento se obtuvo en la tercera y cuarta semana, donde la cantidad de alimento osciló entre los 23 y 25 g. Para valorar los datos referidos en la literatura, los valores de ingesta de alimento se transformaron a ingesta calórica; se encontró que a pesar del aumento ($p < 0.05$) en el consumo de alimento ocasionado por el tratamiento con extracto, los valores de ingesta calórica (67.52 ± 1.13 kcal/día) coinciden por lo reportado por otros autores, donde ratas de 12 y 14 semanas consumen un promedio de 78.4 y 71.2 ± 0.7 kcal/día, respectivamente (Cázares-Camacho, 2019, Valdecantos y col., 2019). Esto sugiere que el tratamiento semanal con extracto de PDA, afecta los patrones de alimentación de las ratas, sin modificar el desarrollo de los animales de experimentación.

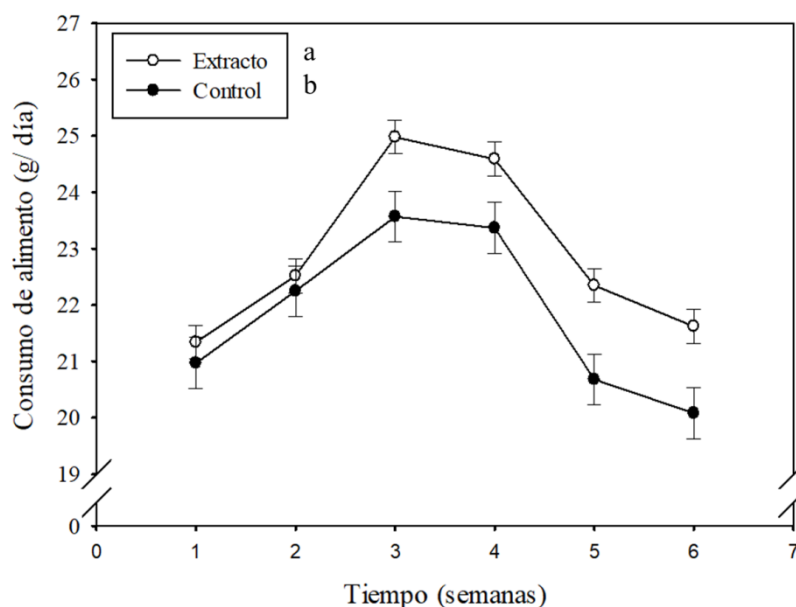


Figura 8. Registro de consumo de alimento semanal. En el eje de las ordenadas se presenta el consumo de alimento en g/día y en las abscisas las semanas de ensayo. Literales diferentes indican diferencias significativas al final de las seis semanas de experimento ($p < 0.05$).

Anteriormente, se ha estudiado el efecto de los CFs sobre la ingesta de alimento, y algunos autores han encontrado una disminución de la misma, sin embargo, estas modificaciones en las calorías consumidas parecen estar relacionadas con la composición del extracto *per se*. Por ejemplo, en el caso de la administración de GSPE, compuesto principalmente por procianidinas, que a dosis desde 350 mg logra disminuir de manera significativa ($p < 0.05$) el consumo de alimento (Serrano y col., 2016a). Al evaluar el efecto del consumo de extracto de *Tragopogon porrifolius* en ratas, cuya composición es principalmente ácidos clorogénico y cafeico (Zeeni y col., 2014), se encontró la disminución de la ingesta calórica después de un tratamiento subcrónico. Sin embargo, en otro estudio donde se administró café, siendo conocido por la presencia mayoritaria de ácido clorogénico (Bakuradze y col., 2014), a adultos saludables, no se encontraron modificaciones en la ingesta calórica después de varias semanas consumiéndolo. Esta discrepancia entre los resultados reportados sugiere que la presencia de flavonoides es más efectiva que la administración de ácidos fenólicos para reducir la ingesta calórica. Sin embargo, el hecho de que en este estudio se esté aumentando la ingesta de alimento al ser tratado con extracto de PDA, da pie a proponer que la ingesta alimentaria se está modificando por un mecanismo diferente, como podría ser el caso de los receptores de sabor amargo, lo cual se discutirá a fondo en la siguiente sección.

6.4 Evaluación de la Secuencia de Conducta de Saciedad

En la siguiente sección se discuten los resultados de la evaluación de la SCS. Las Figuras 9-14 muestran la SCS ordenada por semanas, de forma que se presentan resultados de las seis semanas de bioensayo, cada una por separado.

La Figura 9 muestra la evaluación de la SCS de la semana 1, donde se representan las cuatro conductas correspondientes: alimentación, actividad, acicalamiento y descanso. El tratamiento con extracto de PDA generó una disminución significativa ($p<0.05$) en el tiempo destinado a alimentación, con respecto al control. De forma opuesta, el tiempo de actividad y acicalamiento presentó un incremento significativo ($p<0.05$), mientras que el de descanso no presentó diferencias significativas ($p>0.05$), aunque es posible apreciar una tendencia al incremento en esta última variable tras consumir el extracto de PDA.

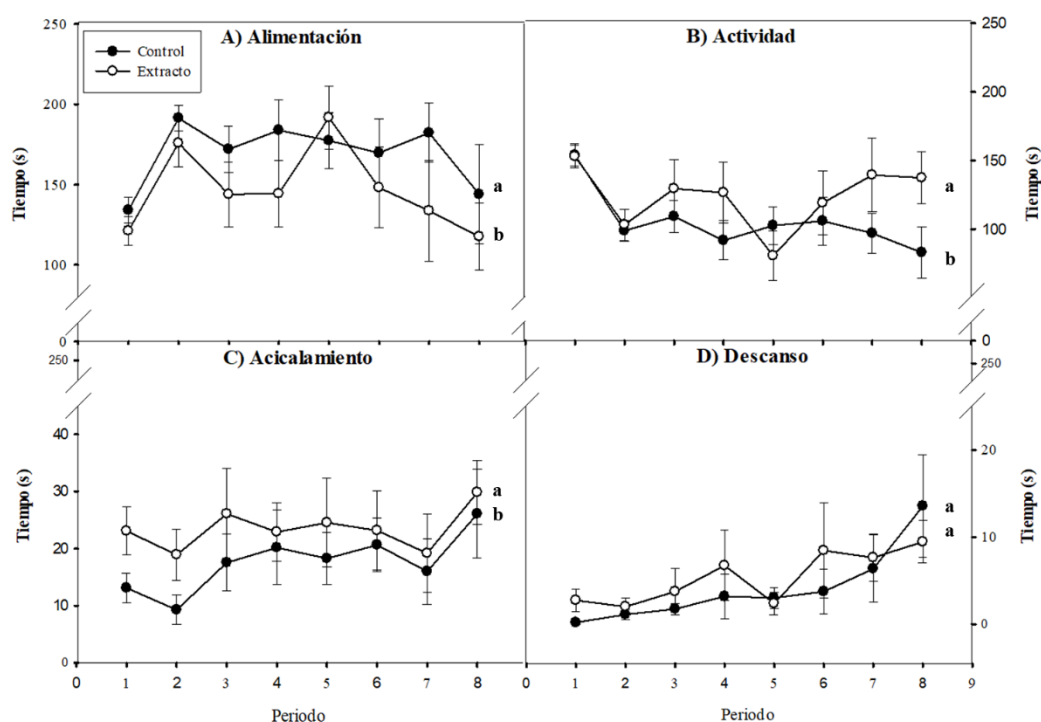


Figura 9. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 1. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Al evaluar la regulación de saciedad, es necesario tener en consideración algunos parámetros a través de los cuales los resultados pueden verse afectados, como pueden ser la dosis del tratamiento, los compuestos presentes en el mismo y el estrés generado por el procedimiento de las evaluaciones (Serrano y col., 2016a). Una manera de evitar los cambios resultantes por efecto del estrés, es manteniendo una rutina específica y sin variaciones, así como ambientar a los animales a todo el procedimiento que se realizará para la evaluación de la saciedad (Goodson y col., 2004, Serrano y col., 2016a). En el caso particular de este proyecto, el estrés no formó parte relevante de la respuesta conductual, ya que se procedió a realizar una rutina diaria constante, respetando los horarios para cada una de las actividades. Además, los animales de experimentación fueron previamente habituados al proceso de manejo, pesado, administración del tratamiento y evaluación de la SCS. Por lo anterior, se puede inferir que las diferencias en los tiempos de la SCS son resultado de los compuestos presentes en el extracto de PDA y sus acciones sobre el organismo.

Estos patrones de comportamiento de los animales de experimentación pueden compararse con lo reportado por otros autores (López-Alonso y col., 2007, Pringle y col., 2008). Por ejemplo, Pringle y col. (2008) administraron fenfluramina a ratones y les evaluaron su SCS, encontrando que el tiempo destinado a alimentación disminuyó y aumentó el de actividad, lo cual se atribuyó a un bloqueo en los receptores de serotonina. López-Alonso y col. (2007) realizaron un estudio similar, donde al administrar Ro-60-0175, un bloqueador específico para el receptor de serotonina 5-HT_{2C}, encontraron un aumento en el tiempo de actividad y una disminución en el de alimentación. Estos patrones de comportamiento son similares a lo obtenido después de administrar el extracto de PDA, por lo cual podría sugerirse que los componentes presentes en el extracto están actuando a nivel de neurotransmisores y sus receptores. Sin embargo, con los análisis realizados no es posible asegurar esta aseveración.

La Figura 10 muestra los resultados de la evaluación de la SCS en la semana 2. En el tiempo destinado a alimentación, se aprecia una tendencia a la disminución; durante los primeros 15 min (periodos 1 al 3), las ratas dedicaron más tiempo a la alimentación, con respecto al control, para luego disminuir el tiempo destinado al consumo de alimento, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$). Para el caso del tiempo de actividad, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$), pero sí es posible apreciar una tendencia inversa con respecto al tiempo de alimentación. Durante los primeros tres periodos, el grupo tratado con extracto destinó menos tiempo a la actividad, mientras que a los 15 min posteriores a la

administración del tratamiento se observa un aumento no significativo ($p>0.05$). Respecto al acicalamiento, tampoco se presentó una diferencia significativa ($p>0.05$) por efecto del tratamiento, sin embargo, a los 30 min (Periodo 6) se aprecia una tendencia al aumento en el grupo tratado con extracto de PDA. Por último, en el caso del descanso, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos, lo cual demuestra que el extracto no modificó los tiempos destinados al descanso.

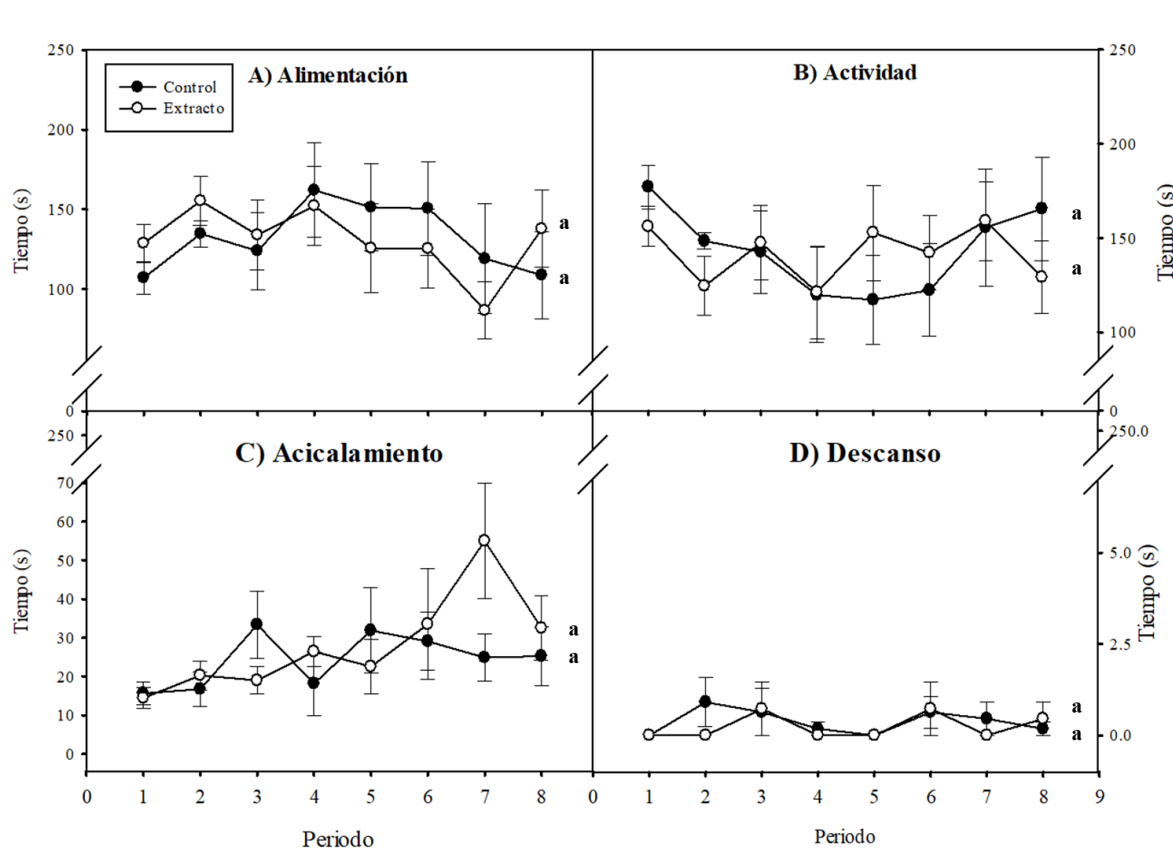


Figura 10. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 2. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

El patrón normal para llegar a la saciedad consiste en la relación entre la disminución del tiempo destinado a alimentación y el aumento del acicalamiento e inactividad. En contraste, Halford y col. (1998) definen como interrumpido al comportamiento de la SCS similar al observado en el presente

estudio. Este se caracteriza por no seguir el patrón normal de la saciedad, al no presentarse el aumento en el descanso y acicalamiento, pero destacando el incremento en la actividad, lo cual resulta característico para drogas como las anfetaminas y la fenfluramina. Como se mencionó con anterioridad, la regulación de la saciedad depende de diferentes neurotransmisores y sus receptores, en el caso de la SCS se ve influenciada por los receptores de serotonina, como son los 5-HT_{1b}, 5-HT_{2a}, 5-HT_{2b} y 5-HT_{2c} (Nonogaki, 2012, Voigt y Fink, 2015). Anteriormente, se relacionó la SCS de la semana 1 con algunos trabajos donde se bloquearon los receptores de serotonina y se obtuvieron resultados similares, específicamente del receptor 5-HT_{2c} (López-Alonso y col., 2007). La persistencia de estos patrones de SCS sugiere que el extracto de PDA podría ejercer un efecto a nivel de la producción de serotonina.

Un ejemplo del efecto de los CFs sobre las sensaciones de saciedad por efecto de hormonas y neurotransmisores que llevan cambios en la composición corporal es el estudio de Bakuradze y col. (2014). Se reporta que 90 individuos saludables consumieron 750 mL de café al día, siendo característico por la presencia de ácido clorogénico, con el fin de registrar cambios en marcadores relacionados con las sensaciones de hambre/saciedad después de un ciclo de cuatro semanas, una desintoxicación del mismo tiempo y otro ciclo de cuatro semanas. Los autores no encontraron diferencias en el peso corporal, incluso indican un ligero aumento de peso después del segundo ciclo de ingesta de café, de forma similar a los resultados obtenidos para el registro de peso en este proyecto (Figura 8). A pesar de ello, la composición corporal sí se vio modificada, disminuyendo el porcentaje de tejido adiposo corporal. Los autores reportaron también disminuciones significativas ($p < 0.05$), tanto en la concentración sérica de ghrelina como su expresión genética. Un resultado a resaltar de este estudio es el hecho de que la concentración de serotonina en plasma aumentó significativamente ($p < 0.05$) después del tratamiento con café. Estos resultados sugieren que los CFs de diversas fuentes sí tienen efectos sobre la concentración de serotonina, lo cual podría relacionarse con los patrones de SCS interrumpidos que fueron observados en este trabajo.

La Figura 11 muestra la SCS de los animales de experimentación en la semana 3 del bioensayo. En el tiempo destinado a alimentación, a pesar de no existir una diferencia significativa ocasionada por los tratamientos, se aprecia una tendencia a la disminución a partir de los periodos 1 a 3. El tiempo de actividad comenzó a aumentar a los 15 min (periodos 1-3) posteriores a la ingesta del extracto de PDA, de manera inversamente proporcional al tiempo de alimentación, pero sin presentarse cambios estadísticamente significativos ($p > 0.05$). Los tiempos de acicalamiento y

descanso no presentaron diferencias entre tratamientos ($p>0.05$). La falta de tiempo destinado al acicalamiento y el descanso, así como el aumento de la locomoción, sugieren que el extracto de PDA potencia la hiperactividad e interrumpe en la SCS al desplazar la inactividad de los animales.

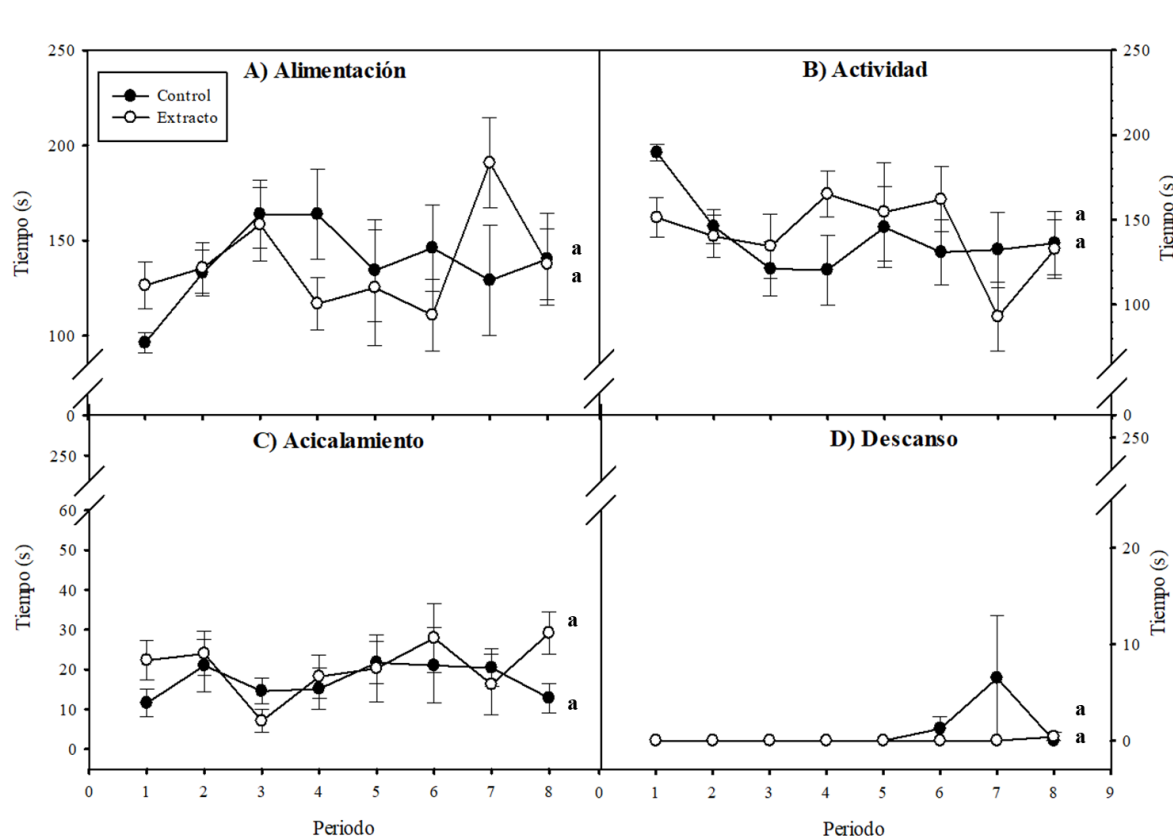


Figura 11. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 3. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Algunos autores especifican que la influencia sobre el receptor 5-HT_{2c} interviene en la ingesta de alimento, al generar hiperactividad y falta de sueño (Feijó y col., 2011, Nonogaki, 2012). Un ejemplo de esto es la droga 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina, la cual ha demostrado generar una SCS en ratas Sprague-Dawley, donde se destaca la hiperactividad y la pérdida del patrón común cuando se administra desde 0.1 mg/kg de peso (Kitchener y Dourish, 1994). Otro bloqueador del receptor 5-HT_{2c} es la droga RU-24969, que se caracteriza por un incremento en la actividad de las ratas,

específicamente en la locomoción, que es definida como el caminar por la jaula de experimentación dando vueltas (Kitchener y Dourish, 1994). La molécula de RU-24969 ejerce también un efecto sobre la dopamina, de manera que la locomoción se ve activada por una relación serotonina-dopamina, además, se ha demostrado que la liberación de dopamina y noradrenalina por parte del receptor 5-HT_{2c} evita la sensación de sueño (Kennett y col., 1987, Nonogaki, 2012). En el patrón de SCS de este ensayo, se apreció que la actividad fue principalmente del tipo locomoción, por lo cual podría esperarse que se esté rigiendo un mecanismo de influencia sobre el receptor 5-HT_{2c}, así como una relación de dopamina-serotonina. De forma que los compuestos presentes en el extracto podrían estar modificando la SCS, al bloquear los receptores de serotonina y generar un aumento en la transmisión serotoninérgica en el hipotálamo, lo cual se traduciría a una disminución en la ingesta calórica debido a una mayor actividad (Rothman y Baumann, 2002). Sin embargo, al administrar la PDA, no se mantiene el efecto de reducir la ingesta de alimento, lo que sugiere que se podrían estar modificando otros mecanismos, como puede ser las sensaciones de sabor amargo. Los resultados de la SCS en ratas durante los primeros 40 min después de consumir el extracto, pueden ser comparados con lo obtenido en humanos utilizando las VAS para realizar mediciones de saciedad. Estas mediciones de sensaciones permiten llegar a inferir cuando se llegó a la saciedad, algo similar a lo obtenido al analizar los resultados de la SCS. Por ejemplo, Bligh y col. (2015) evaluaron el efecto de las dietas ricas en alimentos de origen vegetal, simulando una dieta paleolítica rica en compuestos bioactivos como los CFs, sobre las sensaciones de hambre y saciedad en 24 adultos saludables. De manera similar a este trabajo, los autores encontraron que durante los primeros 45 min posteriores a la ingesta de la comida, los resultados presentaron mayores diferencias. Para el caso de las sensaciones de hambre y deseo de comer, las cuales podría compararse con la conducta de alimentación, se disminuyen en el tratamiento experimental con respecto al control. Mientras que la sensación de satisfacción aumenta desde los 15 min y perdura más allá de las 2 h, lo cual podría compararse con las conductas diferentes a la alimentación, ya que al no tener sensación de hambre se dedican a otras conductas, como la actividad o el acicalamiento. La comparación entre los resultados de este trabajo con lo reportado en la bibliografía, sugiere que es posible que los CFs actúen sobre la regulación de saciedad desde el momento en que son ingeridos, y que esto perdure horas después del consumo. Sin embargo, y como se mencionó anteriormente, los efectos son propios tanto de la matriz alimentaria como de la fuente de los CFs y las dosis aplicadas (Serrano y col., 2016a, Serrano y col., 2016d) .

El patrón de la SCS de la semana 4 se muestra en la Figura 12. Al igual que lo sucedido en la semana 3, el tiempo destinado a alimentación no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$), pero sí es posible apreciar una tendencia a la disminución a partir de los 15 min en el tratamiento con extracto, con respecto al control. La actividad de los animales de experimentación no presentó diferencias significativas ($p>0.05$), sin embargo, para el caso del extracto, a los 15 min (Periodo 3) posteriores a la ingesta del mismo se aprecia nuevamente una tendencia al aumento. El acicalamiento y el descanso no se vieron afectados por la ingesta del extracto de PDA ($p>0.05$), lo que indica una vez más que el extracto está generando un efecto de hiperactividad, en vez de un efecto sobre la inducción del acicalamiento y descanso.

A pesar de que en las primeras semanas de ingesta de extracto de PDA existe un efecto o tendencia a modificaciones cuasi inmediato, para la tercera y cuarta semana existe una distinta respuesta observada durante los 40 min posteriores a la ingesta del tratamiento (Fig. 11 y 12). Esta tendencia sugiere que el extracto de PDA necesita más tiempo para comenzar a actuar (periodo 1-3) sobre la SCS y potenciar la hiperactividad presentada. Esto es de esperarse, ya que es necesario que exista un tiempo para que el tratamiento transite a través del TGI y ejerza su efecto sobre las células secretoras de hormonas directamente, o se absorban para estimular sistemas una vez en el torrente sanguíneo. Para el caso de los CFs, regularmente se encuentran en forma de glucósidos, ésteres o formas poliméricas, por lo que no son absorbidos directamente y el organismo necesita algunas reacciones para hidrolizarlos y ser absorbidos (Chen y col., 2018). A pesar de lo anterior, algunos compuestos del tipo ácido benzoico, como es el ácido cafeico, pueden ser ionizados en el estómago y absorberse de pasivamente (Kay y col., 2017); de forma similar, flavonoides como quercetina y daidzeína pueden absorberse a nivel gástrico (Chen y col., 2018). A nivel intestino, el ácido clorogénico puede ser permear por los canales de sodio (Fратиanni y col., 2016). En el caso de flavonoides como la quercetina, su absorción se ve favorecida si se encuentran en forma aglicona o glucosilados, alcanzando su máximo de absorción entre los 30 y 40 min posteriores a la ingesta (Guo y Bruno, 2015). Por lo anterior, los primeros 15 min (periodo 1-3) donde no se aprecia un efecto del extracto de PDA sobre los patrones de la SCS, puede deberse a que los compuestos presentes en el extracto estén siendo absorbidos a lo largo del TGI y distribuidos a los órganos.

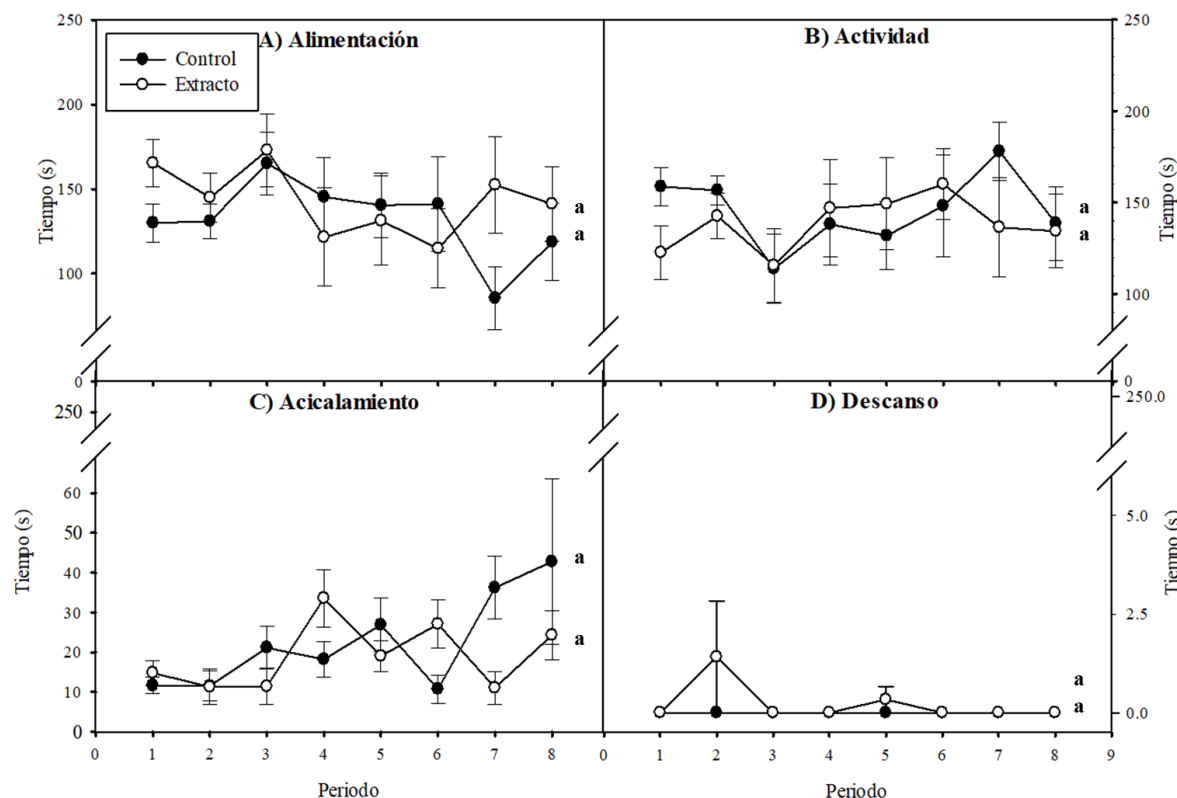


Figura 12. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 4. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Al evaluar los efectos agudos justo al momento de administrar los CFs de diferentes fuentes vegetales, se pueden observar diferencias, incluso durante un mismo ensayo, dependiendo de las dosis, sujeto de experimentación, tiempo de exposición al tratamiento, genero, edad, entre otros factores. Por ejemplo, en el estudio de Gomes da Silva y col. (2017), se administró jarabe de yacón, el cual presenta un alto contenido de ácido caféico, ferúlico y clorogénico, a 20 voluntarios saludables durante dos semanas, posteriormente, se analizaron las sensaciones de saciedad desde el momento que se administró hasta 3 h después. Se encontró que, a la dosis administrada, existe un ligero aumento en las sensaciones de satisfacción, mientras que la sensación de hambre disminuyó en el grupo tratado con jarabe de yacón, sin embargo, estos cambios solamente resultaron significativos ($p < 0.05$) en el grupo conformado por mujeres. Los autores sugieren que es necesario establecer dosis y tiempos de exposición a los CFs presentes en el jarabe de yacón, así

como el efecto sobre el género. La discrepancia entre los resultados dentro de un mismo estudio sugiere que no siempre los CFs pueden ejercer los mismos efectos en el organismo que está recibiendo el tratamiento, indicando que para cada caso es necesario establecer tanto dosis como tiempos de exposición para llegar a los resultados deseados.

El patrón de la SCS obtenido durante la semana 5 se presenta en la Figura 13. La interacción de los factores no resultó significativa ($p>0.05$) para ninguna de las variables de respuesta, por lo que se bloqueó el factor periodo y se tomó en cuenta solo el efecto del tratamiento sobre las conductas correspondientes a la SCS. En el caso de la alimentación, se encontró que del inicio a los 30 min (periodo 6), existió una tendencia al aumento del tiempo con el tratamiento de extracto, para posteriormente igualarse con el tratamiento control. Para el tiempo destinado a la actividad, se encontró diferencia significativa ($p<0.05$) por el tratamiento, obteniendo mayor ($p<0.05$) tiempo destinado a la actividad al administrar el tratamiento control, sin embargo, como en el caso de la alimentación, los valores tienden a equipararse al periodo 6. No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en los tiempos destinados al acicalamiento o al descanso en respuesta al tratamiento.

En la semana 5 destacan dos patrones en los tiempos destinados a acicalamiento y al descanso. Para el caso del tiempo para acicalamiento en el tratamiento con extracto, se mantiene constante desde el inicio y hasta el final de los 40 min (entre 20 y 35 s por periodo), mientras que para el caso del tratamiento control, se observa un disparo en el tiempo destinado entre los 15 y 20 min (periodo 3-4). Este incremento por parte del tratamiento control podría deberse a que el animal está comenzando a tener una sensación de saciedad, lo que incrementa su tiempo de acicalamiento, a la vez que disminuye el de alimentación. Al no presentarse fluctuaciones en el tiempo de acicalamiento para el tratamiento con extracto, se podría interpretar como que el animal permanece con la misma sensación de saciedad de manera constante a lo largo de los 40 min. En el caso del descanso para ambos tratamientos, el tiempo destinado a esta conducta se mantuvo en 0 s, lo cual, además de no resultar diferente estadísticamente ($p>0.05$), corrobora que la SCS es interrumpida por el incremento en la hiperactividad en respuesta a la administración del extracto.

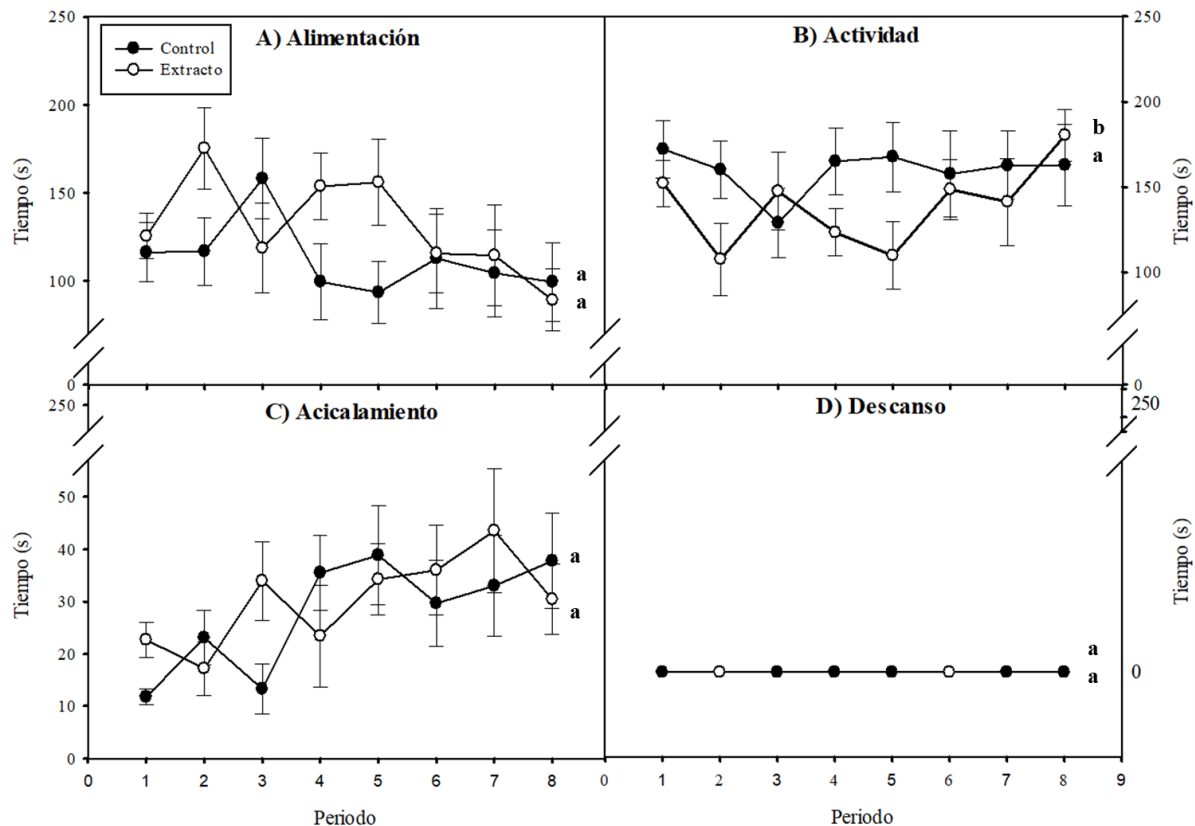


Figura 13. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 5. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Otro ejemplo de que los CFs pueden comenzar a realizar modificaciones sobre las sensaciones de hambre y saciedad al momento de su consumo, es el estudio de Campos-Vega (2020). En este ensayo se consideró el efecto de la adición de bagazo de café en bizcochos sobre las sensaciones de saciedad. Para ello, los autores proporcionaron bizcochos con la fibra antioxidante del café, oligosacáridos o un control a sujetos sanos en ayuno. La adición de la fibra antioxidante sobre los bizcochos generó un incremento en el contenido de CFs totales, a lo cual se le puede atribuir parte de sus efectos sobre la saciedad. Al medir la sensación de saciedad con una VAS, los autores encontraron que a los 15 min se alcanza el máximo de saciedad, siendo mayor para el tratamiento con fibra antioxidante, sin embargo, a los 75 min después de ingerir el alimento, la sensación de saciedad se equiparó con el control. Los autores reportan también que el consumo calórico total se vio disminuido en el tratamiento con fibra antioxidante, sin embargo, al separar el consumo en

desayuno y comida, el mayor efecto fue observado en la primera ingesta del día. Estos resultados sugieren que el efecto perdura por pocas horas, pudiendo ser por la dosis o el tiempo de exposición a los mismos, lo cual puede ser comparado con las primeras semanas de este bioensayo (Figuras 10 y 11), en donde se aprecian resultados al momento, sin embargo, no son vistos de forma posterior como modificaciones en la ingesta de alimento o en las siguientes dosis de extracto de PDA.

La Figura 14 muestra los resultados correspondientes a la SCS de la semana 6, donde el tratamiento no presentó diferencias significativas ($p>0.05$). Al igual que en la semana 5, el tiempo destinado a la alimentación tiende a ser mayor al administrar el extracto durante los primeros 35 min (periodo 1-7), sin embargo, para el periodo 8, se aprecia una disminución no significativa ($p>0.05$) para el tratamiento con extracto. En el tiempo de actividad no se encuentran diferencias entre tratamientos, además que los patrones de ambos tratamientos son prácticamente iguales. Para el tiempo destinado al acicalamiento, se observa una tendencia no significativa ($p>0.05$) contraria al tiempo de alimentación, donde el tiempo es mayor para el tratamiento control durante los primeros 35 min, mientras que a los 40 min el tratamiento con extracto aumenta de manera abrupta. Por último, el tiempo de descanso permaneció sin modificaciones por efecto del tratamiento ($p>0.05$) y prácticamente se redujo a cero durante toda la evaluación.

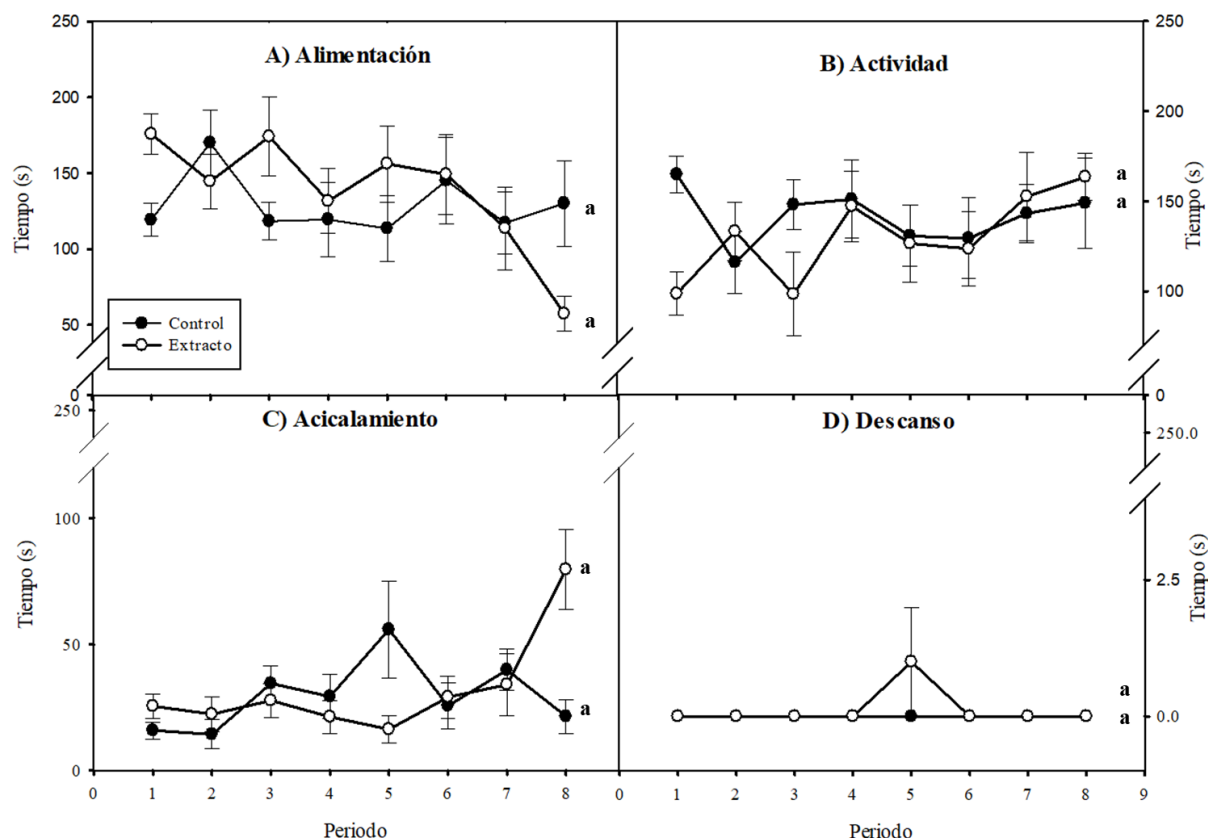


Figura 14. Evaluación de la secuencia de conducta de saciedad en la semana 6. En el eje de las ordenadas se presenta el tiempo destinado a cada conducta y en las abscisas el tiempo de evaluación dividido en ocho periodos de 5 min cada uno (40 min total). A) Alimentación. B) Actividad. C) Acicalamiento. D) Descanso. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

El estudio de los CFs sobre la regulación de la saciedad, y en específico de la SCS, es un tema que requiere estandarizaciones de todos los aspectos posibles para proporcionar los mejores resultados experimentales. Tal es el caso del trabajo de Serrano y col. (2016c) donde encontraron que para tener un efecto sobre la regulación de hormonas anorexigénicas, así como en la ingesta calórica, no es necesario administrar el GSPE con tiempo de anticipación, y los resultados se observan tanto al momento de la ingesta como si este se administra una hora antes de todo el tratamiento. Esto sugiere que existe una respuesta aguda de parte de los organismos para la regulación de saciedad por medio de los CFs, sin embargo, tiene relación con la composición y dosis del tratamiento administrado. En el caso del GSPE, los compuestos mayoritarios son del tipo procianidinas, y su concentración en el extracto es mayor que la presente en el extracto de PDA. Además, la dosis de GSPE administrada representa 16 veces más que la utilizada en este trabajo, lo que podría explicar

las diferencias en la tendencia de los resultados aquí obtenidos. Sin embargo, el que no se encuentren diferencias en algunas semanas, podría deberse a algún efecto del uso a largo plazo del extracto de PDA, lo cual se discutirá a continuación.

Al comparar las gráficas de los patrones de SCS a lo largo de las seis semanas de bioensayo (Figuras 9-14) es posible llegar a algunas aseveraciones de los resultados obtenidos. Respecto al tiempo destinado a la alimentación, se observa que, a la primera semana, el tratamiento control destinó en promedio 169.27 ± 7.03 s, mientras que para la semana 2 el tiempo destinado a la misma conducta fue de 131.16 ± 8.02 s, esto se puede traducir como un descenso en el tiempo destinado a la alimentación después de una segunda dosis de extracto. Durante las semanas 3 y 4, se mantuvieron tiempos similares a la semana dos, sin embargo, el tiempo de alimentación se redujo considerablemente para la semana 5 a solamente 112.5 ± 7.66 s, mientras que para la semana 6 el tiempo incrementó nuevamente a 129.12 ± 7.48 . Este descenso en el tiempo destinado a alimentarse a lo largo de las semanas para el tratamiento control puede deberse a un efecto acumulado, o algún tipo de estimulación tardía que perdure más allá de los 40 min evaluados durante este experimento. Cabe resaltar que a partir de la semana 2, el tiempo destinado a la alimentación del control se equipara con los resultados obtenidos para el tratamiento con extracto en la semana correspondiente, inclusive, es menor que el de la primera semana. De esta manera, es apreciable que existe un efecto correspondiente al uso de dosis múltiples.

En el caso del tiempo destinado a la actividad, se obtuvo un efecto inversamente proporcional a la alimentación, ya que este va incrementando a lo largo de las repetidas dosis de extracto de PDA. Durante la primera semana, las ratas destinaron 105.32 ± 6.05 s a la actividad después de administrárseles el tratamiento control, mientras que, para la segunda dosis, el tiempo de actividad incrementó a 144.15 ± 7.25 . Tal comportamiento podría interpretarse como un incremento debido a la segunda dosis de extracto. Estos valores de actividad se mantienen hasta la quinta semana, en donde, contrario a la alimentación, hay un incremento abrupto a 159.63 ± 6.82 s, para después en la semana 6 equipararse a la segunda. En este caso podría asumirse que existe una modificación en la actividad basal de las ratas, que se aprecia justo después de la primera dosis de extracto. En el caso de los tiempos destinados a la actividad, el tratamiento control se equipara con el tratamiento de extracto después de la segunda semana, sugiriendo que está ocurriendo una acumulación del efecto del mismo. Recordando lo mencionado anteriormente, el extracto parece estar produciendo hiperactividad sobre los animales. Por ejemplo, al presenciar que después de una dosis los animales

permanecen activos, se podría asumir que el efecto del extracto tarda en ser eliminado del organismo y continúa ejerciendo efecto sobre los neurotransmisores. El aumento en la actividad de los animales (locomoción y exploración) después de la primera semana es lo contrario a lo esperado, ya que conforme pasan las semanas, el animal debería estar más acostumbrado a la jaula, y, por lo tanto, dedicar menos tiempo a la exploración. El hecho de que sigan realizando este nivel de actividad podría deberse al efecto directo sobre los neurotransmisores por parte del extracto.

Respecto al tiempo destinado para el acicalamiento, no hay un patrón observado a lo largo de las semanas en el tratamiento control. En la primera semana, el tiempo promedio por periodo destinado al acicalamiento, fue de 17.63 ± 2.01 s, mientras que en la semana 6 se alcanzó el máximo valor de 29.54 ± 3.12 . Al inicio del experimento, fue posible diferenciar los tiempos destinados al acicalamiento entre tratamientos, sin embargo, para la tercera semana, estos fueron equiparables. Por lo anterior, podría asumirse que se está manteniendo un efecto constante a lo largo de las semanas, pudiendo deberse a un efecto tardío o a la existencia de la hiperactividad ejercida, ya que, como se mencionó anteriormente, un patrón de SCS interrumpido se caracteriza por desplazar el tiempo de acicalamiento e incrementar el de actividad.

Por último, la conducta que resultó más afectada durante las seis semanas de ensayo fue el descanso. Durante la primera semana sí se presentó un tiempo destinado al descanso, alcanzando los 4.10 ± 0.99 s para el tratamiento control, sin embargo, al ir repitiendo las dosis de extracto a lo largo de las semanas, el tiempo de descanso alcanzó valores de 0 a partir la cuarta semana, igualando al tratamiento con extracto. Esto es relacionable con lo mencionado anteriormente, ya que se propone que los componentes presentes en el extracto de PDA están ejerciendo un efecto a nivel neurotransmisores y receptores de serotonina en el cerebro, generando hiperactividad y desplazando los tiempos de descanso.

Halford y col. (1998) demostraron que la SCS de los animales de experimentación puede variar durante los ensayos conductuales, especialmente cuando estos se extienden a lo largo del tiempo; estos cambios pueden utilizarse como un indicador en el desarrollo de hiperactividad, o bien, de efecto calmante. Un ejemplo de ello son los resultados mencionados anteriormente, donde el tiempo destinado a la alimentación fue disminuyendo a lo largo de las semanas para dar paso a un incremento en la actividad, inclusive cuando se administraba el tratamiento control. Resultados similares fueron obtenidos por Lievens y col. (2009), donde al administrar simmondicina en una segunda ocasión, la SCS presentó un aumento del tiempo de actividad de aproximadamente el

doble. Sin embargo, en contraste con lo anterior, al correr exámenes de la SCS en las semanas 5 y 6 a ratas que nunca consumieron el extracto de PDA, se aprecia que los segundos destinados a la alimentación, actividad y acicalamiento se encuentran entre los tiempos obtenidos para la semana 1 y 2, indicando que, además del efecto acumulado del extracto de PDA, existe una variabilidad en el comportamiento de las ratas por el paso del tiempo ocasionado por el paso del tiempo (Halford y col., 1998). Esto sugiere que quizá un primer contacto con los compuestos de interés no ocasiona el efecto final, sino que deben existir repetidas dosis para que la SCS se vea completamente interrumpida por un aumento en la hiperactividad.

Otro comportamiento de la SCS modificado por el paso del tiempo es el acicalamiento, ya que, durante una primera etapa, los animales destinan la mayor parte de su tiempo de acicalamiento a lamer su cara y patas, para después cambiarlo por la estimulación de sus genitales (Halford y col., 1998). Esto fue observado a lo largo del ensayo, donde la estimulación genital aumentó en la segunda y tercera semana, para posteriormente reducirse de nuevo y predominar el acicalamiento en otras secciones del cuerpo. Específicamente, el mayor aumento en la estimulación genital se observó cuando las ratas fueron sometidas a la segunda y tercera dosis de extracto de PDA, sugiriendo que el extracto puede actuar como un estimulante para distintas subclases de acicalamiento de los animales de experimentación.

Observar que la SCS presenta modificaciones significativas ($p < 0.05$) o tendencias con menos de 40 min después de administrar el tratamiento, sugiere que los CFs en el extracto de PDA pueden ser utilizados para la formulación de algún nutraceutico o alimento funcional. Lograr modificaciones agudas en la regulación de saciedad ha demostrado ser un reto anteriormente (Zeeni y col., 2014, Serrano y col., 2016b, Serrano y col., 2016c). Tal es el caso de Zeeni y col. (2014), quienes al alimentar ratas con una dieta suplementada con extracto de *Tragopogon porrifolius* y evaluar su efecto sobre la saciedad, encontraron que los primeros indicios se generaron 24 h después de iniciado el tratamiento. De manera similar, Serrano y col. (2016c) encontraron que, al administrar GSPE, tanto la ingesta de alimento como el vaciamiento gástrico y la concentración de hormonas relacionadas a la saciedad, se modifican de manera significativa ($p < 0.05$), de 3 a 12 h después del contacto con el extracto. Además, si se tiene un mayor tiempo de exposición al GSPE, se pueden inducir modificaciones epigenéticas, llegando directamente a variar la expresión génica de hormonas que regulan los ciclos de hambre y saciedad (Serrano y col., 2016b). Esto indica que los pronto resultados obtenidos en este trabajo son prometedores, sugiriendo que se realicen más

evaluaciones probando diferentes dosis y tiempos de exposición de los animales con el extracto de PDA, para llegar al fondo de los efectos ocasionados.

Además de los cambios sobre las hormonas reguladoras de los ciclos de hambre/saciedad y la ingesta de alimento, existen otros parámetros que afectan la sensación de saciedad, pero que no son tan comúnmente medidos, y a pesar de ello se ha demostrado que los CFs pueden llegar a modificarlos para ejercer efectos benéficos. Un ejemplo de esto es el estudio realizado por Bligh y col. (2015) en adultos con sobrepeso, a quienes se les administró una dieta rica en alimentos de origen vegetal, simulando una dieta paleolítica. Se encontró que la velocidad del vaciamiento gástrico disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$), lo que llevó a los comensales a tener una sensación de saciedad por más tiempo, con respecto al control. Además, Coe y Ryan (2016) probaron los efectos de un pan suplementado con CFs de té verde o fruta de adasonia, no encontraron diferencias en las sensaciones de saciedad o en la glucosa sérica en adultos sanos. Sin embargo, los sujetos que consumieron el pan suplementado mostraron una mejor regulación de la insulina liberada. Estos resultados de otros autores sugieren que es necesario analizar diversos factores para llevar a cabo una completa evaluación de la sensación de saciedad.

La Figura 15 muestra el consumo de alimento durante los 40 min de evaluación de la SCS, esto con el fin de relacionarse con los tiempos destinados a la ingesta de alimento. Durante la primera semana del bioensayo, a pesar de que el extracto logró disminuir el tiempo destinado a alimentación, no hubo cambio en la cantidad de alimento ingerida ($p > 0.05$), inclusive, se aprecia un ligero aumento no significativo ($p > 0.05$) al consumir el extracto de PDA. Tanto en la segunda como en la tercera semana, se aprecia una tendencia a disminuir el tiempo de consumo de alimento, sin embargo, no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) en la cantidad de alimento ingerido durante la evaluación. En la semana 4 se aprecia un aumento significativo ($p < 0.05$) en el alimento ingerido después de consumir el extracto, sin embargo, el tiempo destinado a la alimentación sigue presentando una tendencia a disminuir. Esta tendencia al aumento no significativa ($p > 0.05$) se mantiene durante las semanas restantes del ensayo, sin embargo, el tiempo destinado a la alimentación tiende a disminuir al administrar el extracto. El contraste entre el tiempo destinado a comer disminuido y el alimento ingerido incrementado ($p > 0.05$), sugiere que existe una motivación a comer más rápido y, por ende, consumir cantidades de alimento similares o mayores durante menos tiempo.

El comportamiento anteriormente descrito puede ser relacionado con lo obtenido por Lievens y

col. (2009), donde al administrar quinina, un alcaloide amargo, también encontraron una disminución en el tiempo destinado a la alimentación y un aumento en la actividad, pero sin llegar al punto de saciedad. La semilla de aguacate contiene 44 alcaloides diferentes (Ganiyu y col., 2016), por lo que es posible que alguno de estos compuestos se encuentre en el extracto de PDA y genere el patrón de SCS obtenido. La presencia de alcaloides podría justificar que no se llegue a la saciedad completa, ya que llevan a una motivación para comer pero sin presentar un patrón en la SCS normal, esto se le atribuye a la necesidad de retirar el sabor amargo de las moléculas, incentivando la ingesta de alimento (Lievens y col., 2009). Sin embargo, los alcaloides no son las únicas moléculas que pueden producir este efecto.

La activación de receptores del sabor amargo por parte de los CFs ha sido evaluada con anterioridad, y se propone como un mecanismo para modificar la secreción de algunas hormonas, lo cual podría llevar a diferentes efectos en el consumo de alimento dependiendo del tipo de CFs a los que se exponga el organismo, así como la concentración de los mismos. Tal es el caso de lo reportado por Serrano y col. (2016b), quienes tras administrar una dosis única de GSPE, encontraron una estimulación de los receptores de sabor amargo en las células secretoras de ghrelina, así como un incremento en la concentración de esta hormona. Los autores atribuyen la estimulación a la presencia de flavonoides monoméricos que interactúan con los receptores hTAS2R14 y hTAS2R39, logrando detectar concentraciones mínimas de 32 a 500 μ M, dependiendo del flavonoide en cuestión. De manera similar, Janssen y col. (2011) evaluaron el efecto de distintos inhibidores de los receptores de sabor amargo en ratones y encontraron que el consumo de alimento aumenta significativamente ($p < 0.05$) durante los primeros momentos después de su ingesta. La estimulación de estos receptores promueve la secreción de ghrelina como una estrategia de defensa contra sustancias tóxicas que generalmente son amargas (Serrano y col., 2016c).

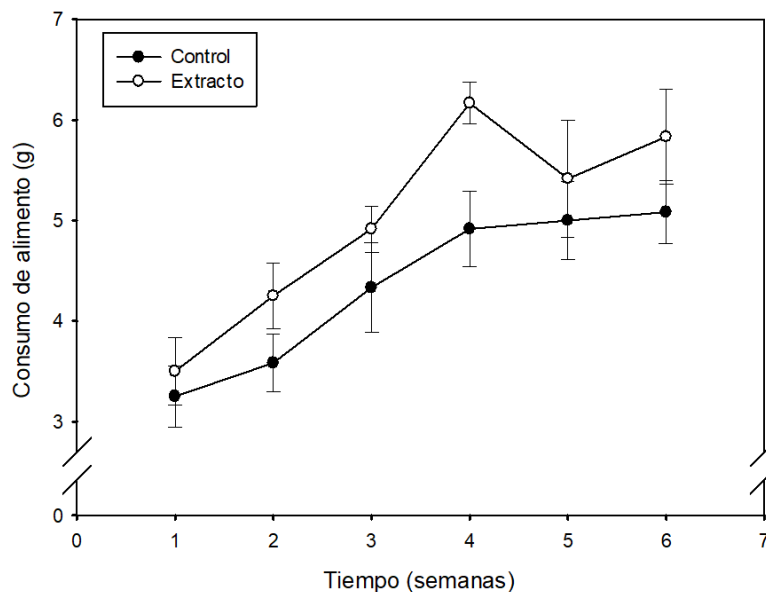


Figura 15. Consumo de alimento durante el tiempo de la evaluación de la SCS por semanas. En el eje de las X se presenta la semana de evaluación, en el eje de las Y el consumo de alimento durante los 40 min de evaluación de la SCS. Asterisco (*) indica diferencias significativas por prueba de t* pareada ($p < 0.05$). Los resultados se muestran como promedio $\pm$ error estándar de $n=12$ ratas.

Debido a que el extracto de PDA contiene flavonoides del tipo monoméricos (Cuadro 4) como catequina, quercetina y kaempferol, es posible que estos compuestos estén generando un efecto directo sobre los receptores del sabor amargo. Este efecto podría producir la mayor ingesta de alimento observada al momento de dar el tratamiento con extracto de PDA. Sin embargo, parece existir algún tipo de aprendizaje por parte del animal después de estar en contacto varias veces con los compuestos, ya que en el estudio de Serrano y col. (2016b) se comprobó que el incremento de ghrelina por parte del GSPE desaparece después de un tratamiento subcrónico durante ocho días. Los autores también encontraron que después de este tiempo, la concentración sérica de ghrelina comenzó a disminuir por efecto del consumo constante de GSPE, lo que sugiere que el organismo podría dejar de identificar a los CFs como una amenaza tóxica y comenzar a estimular otras secciones del organismo. Este efecto también se presentó en este estudio y se demuestra en el Cuadro 5.

Como se mencionó con anterioridad, la administración del extracto de PDA genera un patrón de SCS interrumpido, parecido al inducido por algunos derivados de anfetaminas. Sin embargo, el aumento de alimento ingerido durante los 40 min después de consumir el extracto indica que no se

llegó a una saciedad completa, y que, por el contrario, se motivó la ingesta de alimento. A pesar que se relaciona el patrón conductual con el bloqueo de receptores de serotonina, no se logra la hipofagia, esto puede relacionarse con la falta de interacción con el receptor 5-HT_{1b} (Feijó y col., 2011). Al receptor 5-HT_{1b} se le atribuye el efecto anorexigénico, de manera que para que la SCS se conserve y el animal llegue hasta la saciedad, es necesaria tanto la activación del receptor 5-HT_{1b} como la del 5-HT_{2c} (Feijó y col., 2011, Nonogaki, 2012). De forma que el extracto sí altera la SCS, pero sin llegar al punto de transición, el cual indica la saciedad.

Debido a que a lo largo del bioensayo los animales que consumieron el extracto una vez a la semana tuvieron un mayor consumo ($p<0.05$) global de alimento (Figura 7), y que durante el tiempo de evaluación de la SCS no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) por acción del tratamiento (Figura 16), se llevó a cabo una comparación entre el consumo de alimento de los diferentes días para determinar si existía un efecto horas después. En el Cuadro 5 se presenta el consumo de alimento diario, comparando los días de cada semana, resaltándose en particular el quinto día de la semana, que fue el día de administración del tratamiento con extracto de PDA.

Durante las primeras dos semanas, las ratas consumieron ligeramente más alimento el día que recibieron el tratamiento experimental, pero sin llegar a una diferencia significativa ($p>0.05$) con respecto al día del tratamiento control. Para los días 6 y 7 de las primeras dos semanas, se observa que el consumo de alimento incrementó ($p<0.05$), con respecto a los días previos. En las semanas 3 y 4, los valores del consumo de alimento se equiparan, teniendo solo un aumento ($p<0.05$) en el día de administración del extracto de PDA, pero para las 48 h posteriores, se asemeja a los días previos. Mientras que para las semanas restantes, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en el consumo de alimento a lo largo de los días. Estos resultados sugieren que para encontrar una disminución en el consumo de alimento, no basta con administrar una sola dosis de extracto de PDA, sino que son necesarias dosis múltiples. Esto puede ser comparado con lo obtenido por Serrano y col. (2016b), donde al administrar GSPE a ratas Wistar saludables, encontraron que la mejor manera de disminuir la cantidad de alimento ingerido fue después de un tratamiento subcrónico, con dosis repetidas por ocho días, comparado con el tratamiento dónde sólo se administró una dosis única.

Cuadro 5. Consumo de alimento diario de los animales de experimentación.

Semana	Días						
	1	2	3	4	5	6	7
1	20.92 ^a	20.92 ^a	19.91 ^a	20.91 ^a	21.33^{ab}	22.75 ^b	22.66 ^b
2	22.29 ^a	22.29 ^a	20.08 ^{ab}	21.66 ^{ab}	21.83^{ab}	25.08 ^c	24.41 ^b
3	24.83 ^{ab}	24.83 ^{ab}	25.00 ^{ab}	24.00 ^b	25.83^{ab}	24.25 ^{ab}	26.16 ^a
4	24.71 ^{ab}	24.71 ^{ab}	24.25 ^{ab}	25.00 ^{ab}	26.25^a	23.00 ^b	24.25 ^{ab}
5	22.25 ^a	22.25 ^a	28.92 ^b	18.33 ^a	20.92^a	21.5 ^a	22.33 ^a
6	19.67 ^a	19.67 ^a	21.17 ^a	22.08 ^a	22.75^a	21.76 ^a	22.16 ^a

Literales diferentes (a-c) indican diferencia significativa entre renglones ($p < 0.05$). Los resultados se muestran como promedio de $n=12$ ratas. Señalado con letras negritas el día de administración del extracto de PDA

El efecto de una modificación tardía en la ingesta de alimento ha sido reportado anteriormente por otros autores, sin embargo, hay algunas discrepancias dependiendo del tipo de CFs administrados, así como la dosis, demostrando que es importante establecer dosis y tiempos de acción únicos para cada extracto o nutraceutico a probar en este ámbito. Tal es el caso del uso de extracto de *Tragopogon porrifolius*, el cual, luego de ser administrado a ratas Sprague-Dawley, ejerce una disminución en la ingesta calórica 24 h después, de manera dosis-dependiente (Zeeni y col., 2014). En el caso de la administración de GSPE a ratas Wistar con resistencia a la glucosa, se encontró que al administrar una dosis de 846 mg de extracto/kg de peso, la ingesta de alimento se ve significativamente ($p < 0.05$) afectada entre 3 y 12 h después de recibir el tratamiento, por lo que aparentemente el efecto de sus CFs es independiente de si se administra junto a la comida o una hora antes (Serrano y col., 2016c). Los autores atribuyen esta disminución de ingesta después de horas a una modificación en el proceso de vaciamiento gástrico, ya que después de una hora del consumo de GSPE menos del 5 % del alimento consumido fue excretado, comparado con el 15 % que se excretaría en caso de consumir agua (Serrano y col., 2016c). Lo anterior indica que un efecto agudo no necesariamente se da al momento de la ingesta y puede suceder incluso hasta unos días después, como es el caso del uso de extracto de PDA.

Al relacionar los resultados de consumo diario con lo obtenido en la evaluación de la SCS, es posible llegar a algunas aseveraciones, como que el mecanismo de acción del extracto no se genera necesariamente de forma instantánea, pero continúa siendo de efecto agudo. Como se mencionó en

la sección de la SCS, es necesario que los componentes presentes en el extracto recorran el TGI y sean absorbidos. Esto explicaría el hecho de que no se genere una diferencia significativa ($p>0.05$) en el consumo de alimento al evaluar la SCS, pero que sí haya tendencias a las modificaciones en la misma, así como efectos en la ingesta alimentaria a lo largo de las siguientes horas. También, cabe resaltar que a lo largo de las semanas, la hiperactividad se vio como un patrón común que permaneció en las ratas, incluso después del tratamiento control, indicando que el efecto permanece varios días y sugiriendo que el extracto de PDA no ha sido completamente eliminado del organismo. La permanencia a mediano plazo de los efectos del extracto de PDA podría ser un buen indicio de que los efectos alcanzados permanezcan sin necesidad de tener una dosis diaria, pero sí repetida a lo largo del tiempo.

6.5 Evaluación de la Concentración Sérica de Hormonas Entéricas

En la Figura 16 se muestra la concentración sérica de CCK con respecto al tiempo, tras la administración del tratamiento control y con extracto de PDA. En este caso, ni el tiempo ni el tratamiento ejercieron un efecto significativo ($p>0.05$) sobre la concentración sérica de CCK, sin embargo, es posible apreciar una tendencia en ambos tratamientos. En el control, la concentración de CCK permanece casi constante durante los primeros 30 min (periodos 1-6 para la SCS), pero a los 45 min, esta disminuye en un 30%. De manera contraria, los animales tratados con el extracto de PDA presentan valores iniciales similares a los del control, pero que disminuyen abruptamente hasta los 15 min (periodos 1-3 para la SCS), para posteriormente aumentar hasta casi un 40%. Estos resultados indican que puede ocurrir una estimulación en la secreción de CCK por parte de los compuestos presentes en el extracto de PDA, cuando se administra a los animales de experimentación.

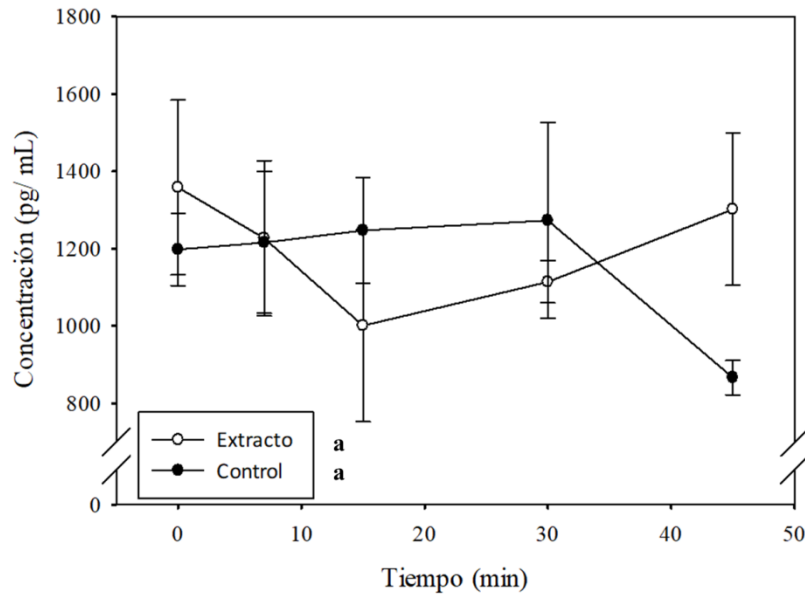


Figura 16. Concentración sérica de CCK con respecto al tiempo. En el eje de las ordenadas se presenta la concentración de CCK en pg/mL y en las abscisas el tiempo después de la ingesta de extracto. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Es posible relacionar la concentración circundante de CCK con lo obtenido para la evaluación de la SCS, ya que existe evidencia que el aumento de esta hormona en sangre promueve algunas conductas específicas. Si bien, no se presentaron diferencias ($p > 0.05$) entre la concentración de CCK entre tratamientos, el hecho de que a los 15 min (periodos 1-3 para la SCS) exista una tendencia a aumentar, puede explicar las tendencias obtenidas a lo largo de las semanas de evaluación de la SCS. Para la semana 1, el tiempo destinado al acicalamiento se mantiene con una diferencia ($p < 0.05$) significativa por encima del tratamiento control, lo que puede deberse al aumento en la concentración de CCK, ya que se ha reportado que una mayor concentración sérica de esta hormona lleva a un aumento en el acicalamiento (Verbaeys y col., 2009). Además, el tiempo destinado a la alimentación disminuyó significativamente para esta semana ($p < 0.05$) al administrar el extracto, lo cual puede deberse a la relación entre la concentración sérica de CCK con la saciedad a corto plazo (Pathak y col., 2018). Para el resto de las semanas no existieron diferencias entre los tratamientos para el acicalamiento y la alimentación, pero sí es posible notar ciertos patrones que se describen a continuación.

Durante el resto de las semanas del bioensayo en los resultados de la SCS, se apreciaron comportamientos que pueden coincidir con los cambios en la concentración de CCK. En el caso

del tiempo destinado a alimentación, se aprecia que después de los 15 min de administrar el extracto de PDA, este comienza a disminuir, mientras que tiende a aumentar en el control. Esto puede compararse con los 15 min posteriores a la ingesta, donde la concentración de CCK incrementa en el grupo tratado con extracto de PDA. Caso contrario, el tiempo de actividad comienza a aumentar después de los 15 min de consumir el extracto de PDA, mientras que disminuye en el control. Este resultado puede deberse a que al incrementarse la CCK, se reduce el tiempo de alimentación, pero al no ser suficiente la concentración de CCK para llevar al acicalamiento o el descanso, el tiempo de actividad va en aumento.

Respecto al tiempo destinado al acicalamiento, este tiende a disminuir en la semana 2, a la par del incremento en la concentración de CCK, sin embargo, este efecto no se presenta en las semanas 3 y 4, donde el tiempo de acicalamiento no tuvo diferencias con respecto al control. Para el caso del tiempo de acicalamiento en la semana 5, las ratas tratadas con el extracto mantuvieron un tiempo constante sin fluctuaciones, lo que podría indicar que la concentración de CCK en ese momento no varió notablemente y mantuvo un estatus de saciedad a corto plazo constante. Por último, a los 40 min en la semana 6, se aprecia un incremento abrupto del tiempo destinado al acicalamiento al consumir el extracto de PDA, así como un descenso del tiempo de alimentación. Al compararlo con la concentración sérica de CCK en ese momento, es posible apreciar que a los 45 min es cuando se dispara la concentración de esta hormona en los animales, indicando que en este punto las conductas de acicalamiento y alimentación se vieron modificadas por la concentración de CCK.

Lo anterior sugiere que la concentración sérica de CCK no fue suficiente para estimular el acicalamiento en la mayoría de los casos, pero esto no indica una falta de estimulación en las conductas por parte de esta hormona. Se ha demostrado que el aumento en la concentración sérica de CCK incrementa el acicalamiento a la vez que disminuye la actividad, pero genera principalmente un aumento en el tiempo de descanso (Verbaeys y col., 2009). Sin embargo, en este trabajo, el tiempo de descanso parece no relacionarse con la concentración de CCK, al no haber diferencias en esta variable. Esto indica una vez más que los animales de experimentación se vieron influenciados por la hiperactividad producida por el consumo de extracto de PDA, llevando al patrón de SCS interrumpido que se observó anteriormente.

La concentración sérica de CCK tiene un efecto directo sobre el comportamiento de los animales de experimentación y se ve reflejado en la SCS. Verbaeys y col. (2009) evaluaron el efecto de la concentración sérica de CCK sobre la SCS, encontrando que existe un efecto anorexigénico de

forma dosis-dependiente, al reducir la cantidad de alimento ingerido, el tiempo destinado a la alimentación, así como la frecuencia de la alimentación, además de aumentar el tiempo de descanso y acicalamiento. Los valores de referencia para la concentración de CCK en suero de rata varían dependiendo de las condiciones de alimentación, edad, ayuno previo a la toma de muestra, entre otros factores (Hidayat y Setiawan, 2016, Panda y Shinde, 2017, Saleh y col., 2018). Sin embargo, acorde a lo observado en la SCS y la ingesta de alimento durante los 40 min posteriores a la administración del tratamiento, es posible sugerir que los cambios en la concentración sérica de CCK no fueron suficientes para llegar a la saciedad, pero sí se sugiere la presencia de una alteración en su secreción por efecto de los CFs de la PDA.

La tendencia a aumentar la concentración de CCK después de los 15 min de la ingesta del extracto sugiere que, prolongando el tiempo de evaluación posterior a la ingesta, la concentración de CCK sí podría verse modificada significativamente. En un estudio realizado con flavonoides provenientes de espinacas, se encontró que en ratas Sprague-Dawley, los CFs incrementaban la concentración sérica de CCK hasta por dos horas (Panda y Shinde, 2017). En este estudio, los autores encontraron que la mayor concentración de CCK se obtenía entre los 30 y 60 min posteriores a la ingesta del extracto. Esto sugiere que es necesario un poco más de tiempo para que la hormona CCK se secrete a su máximo por efecto del extracto de PDA.

Los resultados de la concentración de la hormona ghrelina no permitieron detectar cambios medibles en su concentración sérica. El rango de detección del kit abarca de 8 a 2000 pg/mL de plasma, indicando que la concentración de ghrelina en las muestras fue menor al límite de detección del mismo (8 pg/mL). La concentración sérica de ghrelina presenta alta variabilidad interindividual, la cual depende del tiempo de ayuno, hora del día, edad de la rata, entre otros factores (Sánchez y col., 2004). Patrikakos y col. (2011) reportan que la concentración de ghrelina en ratas Wistar de 12 semanas de edad va de 150 a 300 pg/mL, sin embargo, en este caso los autores ayunaron previamente a las ratas por 12 horas. Después de un ayuno de toda la noche, ratas de 250 g alcanzan concentraciones de ghrelina sérica de alrededor de 600 pg/mL (Handjieva-Darlenska y Boyadjieva, 2009). Al comparar lo reportado por los autores contra lo obtenido en este trabajo, es posible sugerir que el tiempo de ayuno no fue suficiente para incrementar la concentración de ghrelina en plasma a más de 8 pg/mL. Existe también la posibilidad de que la administración tanto del tratamiento con extracto de PDA, como del control redujeran la cantidad de ghrelina presente en sangre por efecto de llenado gástrico. Se sabe que se reduce la liberación de ghrelina cuando el volumen gástrico es

ocupado, como sería en el caso de la administración de agua (Steinert y col., 2017).

A pesar de lo anterior, la administración de CFs ha demostrado tener diversos efectos sobre la concentración sérica de ghrelina. Stefoska-Needham y col. (2016) administraron sorgo café a adultos, y encontraron una menor concentración sérica de ghrelina, en comparación con sorgo blanco, efecto que los autores atribuyen a la cantidad de CFs presentes en el sorgo café. Los CFs de algarrobo fueron probados sobre la concentración sérica de ghrelina en sujetos saludables, donde se encontró una disminución de su forma acetilada (Gruendel y col., 2006). Además, al suministrar CFs de té verde en la dieta de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, se encontró que se redujo la expresión genética de ghrelina (Lu y col., 2012). Sin embargo, existen otras investigaciones relacionadas a la concentración sérica de ghrelina, donde se observa que los CFs no ejercen modificaciones sobre la concentración de la misma, como es el caso del trabajo de Halder y col. (2018b). Los autores reportan que, al administrar curry dentro de la comida de hombres con sobrepeso, no encontraron cambios en la concentración sérica de ghrelina acetilada. La falta de consistencia en estos resultados indica que el papel de los CFs sobre la regulación de ghrelina aún no está totalmente establecido.

Un ejemplo de lo variable que puede ser la expresión de la hormona ghrelina es en los estudios de Serrano y col. (2016b) y Serrano y col. (2016c), donde se encontró que al utilizar GSPE en ratas Wistar se pueden tener diferentes efectos según la dosis y tiempo de exposición a los CFs del extracto. Tal es el caso que cuando los compuestos fueron administrados por gavage oral y se cuantificó la concentración de ghrelina una hora después, se encontró que la misma se mantuvo sin cambios, pero la expresión relativa presentó una tendencia a aumentar después del tratamiento con GSPE (Serrano y col., 2016c). Por otro lado, cuando ratas Wistar se trataron con el mismo extracto de GSPE y epicatequina aislada por ocho días seguidos (Serrano y col., 2016b), se encontró que a los 80 min después del último tratamiento, la concentración de ghrelina se vio incrementada de forma proporcional a la dosis, tanto de GSPE como de epicatequina aislada, obteniendo mayores cambios cuando se aumentó la concentración del flavonoide como compuesto puro. Sin embargo, a pesar de este aumento en la concentración circundante, los autores también encontraron que la expresión genética de ghrelina disminuyó de manera dosis dependiente. Lo que confirma que el papel de los CFs sobre la hormona ghrelina no está completamente definido, y requiere un estudio más a fondo para cada uno de los elementos de estudio.

De acuerdo a lo anterior, se sugiere que es posible que los CFs presentes en el extracto de PDA

ejerzan un efecto sobre la regulación de ghrelina. Sin embargo, para definir el papel de la PDA sobre esta hormona es necesario incrementar el tiempo de ayuno, así como reducir el volumen de vehículo utilizado para dar el tratamiento. También se sugiere la evaluación de distintas dosis de extracto de PDA con el fin de encontrar la más apropiada para llegar a un efecto positivo.

6.6 Modelos de Acción Propuestos para Explicar el Efecto Ocasionado por Parte de los CFs Presentes en el Extracto de PDA sobre la SCS

El modelo de acción propuesto de cómo los CFs en el extracto de PDA alteran la concentración sérica de hormonas, y el efecto que esto tiene sobre las conductas de los animales de experimentación se presenta en la Figura 17. Los compuestos presentes en el extracto de PDA son del tipo flavonoide y ácidos fenólicos y estos fueron administrados por cánula (Figura 17A). Una vez que los compuestos empezaron su recorrido por el TGI (Figura 17B), al llegar al estómago, algunos ácidos fenólicos y flavonoides como la quercetina y el ácido ferúlico, pueden protonarse y absorberse pasivamente en la pared estomacal (Kay y col., 2017, Chen y col., 2018). Más adelante en el intestino delgado (Figura 17B), los algunos ácidos fenólicos como el ácido cafeico, son absorbidos a través de los canales de sodio; en el caso de los flavonoides como la catequina, estos pueden ser absorbidos por el mismo mecanismo en caso de ser agliconas, para el caso de los glucósidos, estos entran por transportadores de glucosa (Guo y Bruno, 2015, Fratianni y col., 2016). Una vez que los CFs entran en contacto con las células del estómago, estas pueden interaccionar con ellos a través de los receptores del sabor amargo (Figura 17C). Los receptores hTAS2R14 y hTAS2R39 son sensibles a los CFs, específicamente a algunos de los identificados en el extracto de PDA, y su activación lleva a la síntesis y acetilación de la ghrelina (Serrano y col., 2016b). Una mayor concentración de esta hormona por efecto del sabor amargo conlleva a incrementar la motivación para comer, como en este caso que los animales de experimentación consumen más alimento en menos tiempo, con el propósito de que el sabor amargo desaparezca.

En el intestino, los CFs pueden interaccionar con las células I, las secretoras de CCK (Figura 17D), a la vez que reducen la velocidad del tránsito intestinal, permitiendo que los macronutrientes tengan un contacto más prolongado con estas células (Serrano y col., 2016c, Fernandes y col., 2018). La

estimulación de las células I incrementa la concentración sérica de esta hormona, que a su vez promueve la conducta de acicalamiento, sin embargo, debido a otras interacciones de los CFs, esta conducta se presenta variada a lo largo del ensayo. El incremento en la concentración sérica de esta hormona reduce también los tiempos destinados a la alimentación (Figura 17D).

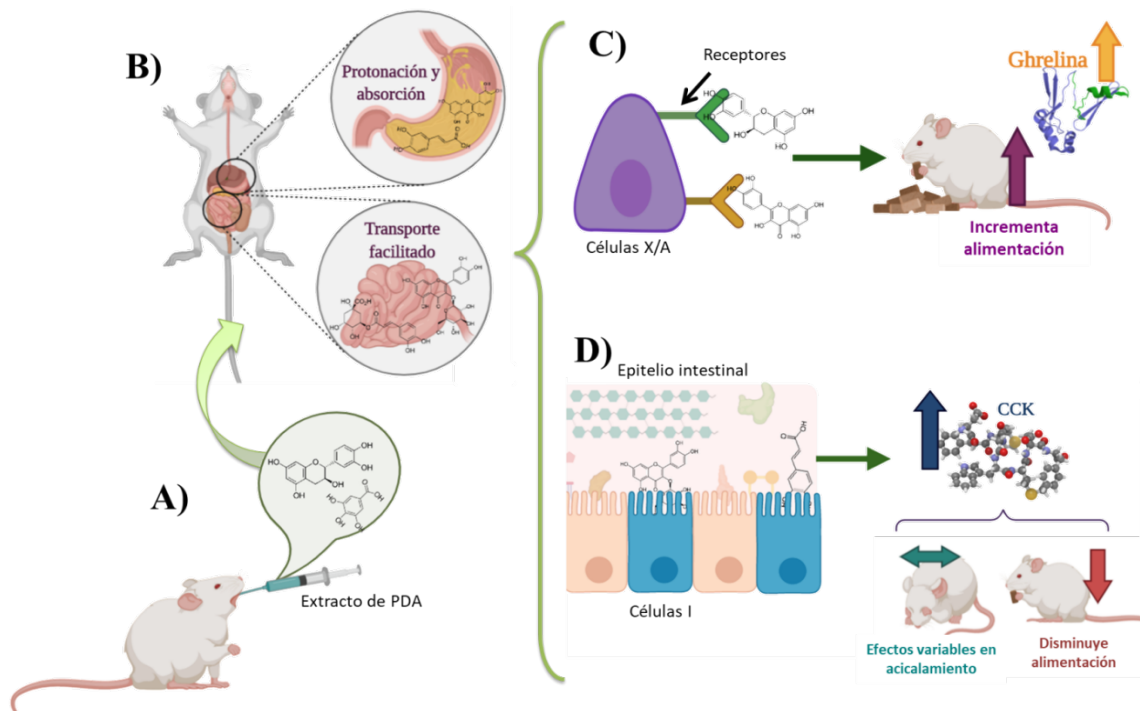


Figura 17. Modelo de acción propuesto sobre los cambios en la concentración sérica de las hormonas entéricas por el consumo de extracto de PDA y sus efectos sobre la conducta. A) El extracto de PDA, compuesto de flavonoides y ácidos fenólicos, ingresa al organismo. B) En estómago, algunos ácidos fenólicos y flavonoides aglicona se protonan y son absorbidos pasivamente. En el intestino, flavonoides aglicona y glucosilados son absorbidos activamente por medio de canales de sodio o transportadores de glucosa, respectivamente. C) Las células del tipo X/A tienen receptores del sabor amargo (receptores color verde y amarillo), los CFs los activan y generan la liberación de ghrelina, incrementando la conducta de alimentación. D) Las células I interactúan con los CFs para incrementar la secreción de CCK, resultando en variaciones en los tiempos de acicalamiento y reduciendo el de alimentación.

Los posibles efectos ejercidos a nivel de neurotransmisores por parte de los CFs presentes en el extracto de PDA, que conllevan a modificaciones en la conducta de los animales de experimentación, se presenta en la Figura 18. Una vez que los CFs son absorbidos en el TGI, estos se envían al torrente sanguíneo, el cual los distribuye a distintos órganos, entre ellos el cerebro

(Figura 18A). Se ha demostrado que algunos CFs tienen la capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica (Margalef y col., 2015) y ejercer un efecto directo sobre las células nerviosas, tal es el caso que, de acuerdo al patrón mostrado en la SCS, estos compuestos podrían estar bloqueando los receptores de serotonina (Halford y col., 1998). Al interactuar con los receptores de serotonina y bloquearlos, se genera una modificación en la relación serotoninérgica, generando un incremento en la síntesis de esta molécula (Rothman y Baumann, 2002).

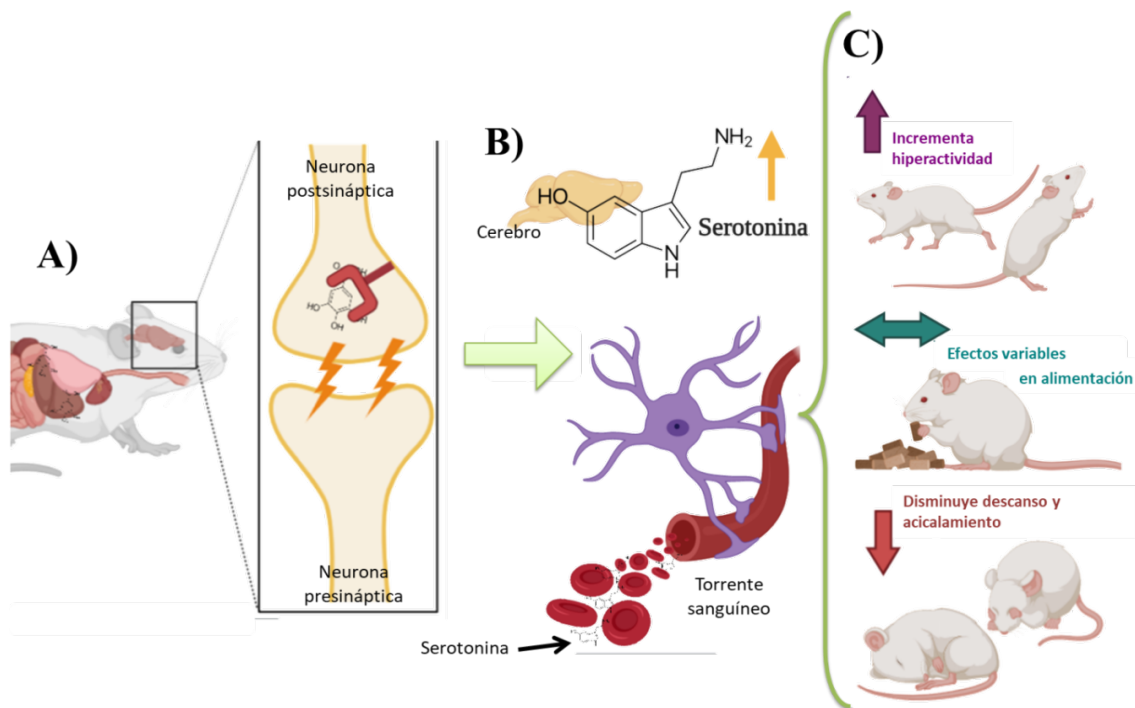


Figura 18. Mecanismo de acción propuesto sobre los posibles efectos ocasionados por los CFs del extracto de PDA y su regulación sobre la SCS, ejercidos a nivel cerebral. A) Cuando los CFs llegan al cerebro, estos interactúan con los receptores de serotonina (receptor color rojo). B) El bloqueo de los receptores de serotonina genera un cambio en la relación serotoninérgica, causando un incremento en su síntesis, para una posterior liberación al torrente sanguíneo. C) Los tiempos de las conductas en la SCS se ven modificadas por la liberación de la serotonina, causando una potenciación en la conducta de actividad, incrementando la locomoción, la alimentación se ve afectada de diferentes maneras dependiendo del receptor bloqueado, mientras que el acicalamiento y el descanso se ven disminuidos por la hiperactividad.

Las moléculas de serotonina son liberadas al torrente sanguíneo para comenzar a ejercer sus efectos sobre las conductas de los animales de experimentación (Figura 18B). En el caso de la conducta de actividad (Figura 18C), esta se ve potenciada por efecto de dicho incremento de serotonina,

motivando incluso a que los animales presentaran hiperactividad (Nonogaki, 2012). En el caso de la alimentación (Figura 18C), las modificaciones fueron variables, ya que esta conducta también se ve afectada por la regulación hormonal (Figura 16), pudiendo tanto incrementar como disminuir a lo largo del bioensayo, dependiendo del número de dosis aplicadas. El incremento de liberación de serotonina puede explicar el desplazamiento de las conductas de acicalamiento y descanso (Figura 18C), ya que al crear una sensación de hiperactividad estas conductas se ven desplazadas del patrón normal de SCS, llevando al patrón interrumpido presentado en este trabajo (Halford y col., 1998).

Aun cuando los patrones de la SCS indican una saciedad incompleta ocasionada por la hiperactividad, además que tanto la hormona CCK como ghrelina, no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), es necesario resaltar algunos comportamientos observados a lo largo del bioensayo. En la mayoría de los estudios donde se evalúa la SCS para indicar cuando un fármaco ejerce un efecto anorexigénico, el compuesto de interés en forma pura es inyectado por vía peritoneal. Los resultados obtenidos en este trabajo son prometedores, ya que, al ser administrado de forma oral, ser una mezcla de compuestos que atraviesan el TGI y aun así inducir a modificaciones notables sobre la SCS, sugiere que es necesario realizar más investigaciones con el extracto de PDA. Esta manera de administrar el extracto pretende simular lo que sucedería si el tratamiento se administra a humanos, ya que al ser una manera no invasiva que mimetiza al comportamiento de un alimento, resulta más atractiva en caso de destinarlo al mercado de los nutraceuticos. Además, que el extracto de PDA pueda influir sobre la ingesta de alimentos a lo largo de los días sugiere que es necesario evaluar la acción sobre el organismo durante un periodo más prolongado. La tendencia en la modificación de la concentración sérica de CCK sugiere que el extracto puede realizar cambios en la regulación hormonal y que estos cambios pueden presentarse a partir un tiempo más prolongado, o bien, con una dosis más alta. Otro aspecto positivo a considerar en el uso de extracto de PDA es que, a lo largo del bioensayo, no se encontraron efectos secundarios negativos aparentes sobre los animales de experimentación. Todo esto indica que los efectos ejercidos sobre la regulación de la saciedad por parte del extracto de PDA, pueden promover investigaciones futuras, en las cuales sea dirigido para implementarlo dentro de la formulación de un alimento funcional o nutraceutico.

7. CONCLUSIONES

De forma general, el tratamiento provocó un patrón de SCS interrumpido, generado por la hiperactividad, motivación a alimentación y falta de una saciedad completa. Esta tendencia permaneció inclusive cuando los animales consumían el alimento control, sugiriendo un efecto acumulativo.

El extracto de PDA provocó un efecto agudo sobre la SCS y la regulación hormonal, generando diversos efectos en los animales de experimentación a lo largo del bioensayo.

De manera global, es posible concluir que los efectos ejercidos en la regulación de la saciedad por parte del extracto de PDA, tanto en las modificaciones de la SCS, como en la regulación hormonal provocada, lo cual dan pie para continuar con este tipo de investigaciones.

8. RECOMENDACIONES

Se sugiere extender el tiempo entre las dosis de tratamiento y las mediciones de la SCS, con el fin de permitir el paso de los componentes presentes en el extracto de PDA a través del TGI y observar un efecto aumentado, así como alargar el tiempo de la curva de concentración de CCK sanguínea para correlacionarlo con las modificaciones de la SCS.

Se recomienda disminuir la cantidad de vehículo para la administración del tratamiento e incrementar el tiempo de ayuno para apreciar cambios en la concentración de ghrelina. Además, probar distintas dosis de extracto de PDA para observar cambios significativos sobre la concentración sérica de hormonas entéricas. Se puede también incursionar en el efecto del extracto sobre otros reguladores de la saciedad como son GLP-1, PIG, PYY y leptina, así como evaluar la liberación de serotonina para determinar algún efecto neurológico.

También se propone el estudio de los efectos a largo plazo de consumir el extracto PDA como son de carácter sub-crónico y crónico, con el fin de evaluar si existe un beneficio para el consumidor por el uso de repetidas dosis como parte de un tratamiento para el control del peso corporal.

8.1 Perspectivas Futuras

Se sugiere que nuevas investigaciones pueden hacer énfasis en la posibilidad de que el extracto de PDA y sus componentes sean dirigidos para implementarse dentro de la formulación de un alimento funcional o, bien, continuar con sus estudios como un posible nutracéutico.

La creación de estos productos podría dirigirse a la inducción de la sensación de saciedad de manera natural, y ayudar así a la correcta regulación del peso corporal, con el fin de evitar enfermedades como el sobrepeso y obesidad.

El aprovechamiento de estos subproductos de la industria del aguacate, abre una nueva opción de su uso como posible ingrediente en la industria de los alimentos y en la industria farmacéutica por sus propiedades biológicas ya comprobadas.

9. REFERENCIAS

- Al Shukor, N., K. Raes, J. Van Camp y G. Smagghe (2014). "Analysis of interaction of phenolic compounds with the cholecystokinin signaling pathway to explain effects on reducing food intake." *Peptides* **53**: 225-231.
- Araldi, R., N. Santos, T. Mendes, L. Carvalho, E. Ito, P. de-Sá-Júnior y E. Souza (2015). "Can spirulina maxima reduce the mutagenic potential of sibutramine?" *Genetics and Molecular Research* **14**(4): 18452-18464.
- Araújo, R. G., R. M. Rodriguez-Jasso, H. A. Ruiz, M. M. E. Pintado y C. N. Aguilar (2018). "Avocado by-products: Nutritional and functional properties." *Trends in Food Science & Technology* **80**: 51-60.
- Ayala-Zavala, J. F., V. Vega-Vega, C. Rosas-Domínguez, H. Palafox-Carlos, J. A. Villa-Rodriguez, M. W. Siddiqui, J. E. Dávila-Aviña y G. A. González-Aguilar (2011). "Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives." *Food Research International* **44**(7): 1866-1874.
- Bakuradze, T., G. A. M. Parra, A. Riedel, V. Somoza, R. Lang, N. Dieminger, T. Hofmann, S. Winkler, U. Hassmann, D. Marko, D. Schipp, J. Raedle, G. Bytof, I. Lantz, H. Stiebitz y E. Richling (2014). "Four-week coffee consumption affects energy intake, satiety regulation, body fat, and protects DNA integrity." *Food Research International* **63**: 420-427.
- Benelam, B. (2009). "Satiation, satiety and their effects on eating behaviour." *Nutrition Bulletin* **34**(2): 126-173.
- Benzie, I. F. F. y J. J. Strain (1996). "The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of "antioxidant power": The frap assay." *Analytical Biochemistry* **239**(1): 70-76.
- Bligh, H. F. J., I. F. Godsland, G. Frost, K. J. Hunter, P. Murray, K. MacAulay, D. Hyliands, D. C. S. Talbot, J. Casey, T. P. J. Mulder y M. J. Berry (2015). "Plant-rich mixed meals based on palaeolithic diet principles have a dramatic impact on incretin, peptide yy and satiety response, but show little effect on glucose and insulin homeostasis: An acute-effects randomised study." *British Journal of Nutrition* **113**(4): 574-584.
- Bohórquez, D. V. y R. A. Liddle (2011). "Axon-like basal processes in enteroendocrine cells: Characteristics and potential targets." *Clinical and Translational Science* **4**(5): 387-391.
- Boix-Castejón, M., M. Herranz-López, A. Pérez Gago, M. Olivares-Vicente, N. Caturla, E. Roche y V. Micol (2018). "Hibiscus and lemon verbena polyphenols modulate appetite-related biomarkers in overweight subjects: A randomized controlled trial." *Food & Function* **9**(6): 3173-3184.
- Brai, B., A. Odetola y P. Agomo (2007). "Effects of persea americana leaf extracts on body weight and liver lipids in rats fed hyperlipidaemic diet." *African Journal of Biotechnology* **6**(8): 1007-1011.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier y C. Berset (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT - Food Science and Technology* **28**(1): 25-30.
- Bressani, R., B. Rodas y A. S. Ruiz (2009). "La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate." Tegucigalpa (Guatemala): Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología-FONACYT, Universidad del Valle de Guatemala-UVG.
- Campbell, C. L., T. B. Wagoner y E. A. Foegeding (2017). "Designing foods for satiety: The roles of food structure and oral processing in satiation and satiety." *Food Structure* **13**: 1-12.

- Cázares-Camacho, R. (2019). Efecto neuroprotector de compuestos bioactivos del mango cv. 'Ataulfo', sobre el estrés oxidativo en un modelo murino con diabetes inducida. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Hermosillo, Sonora. , Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. **Maestría en Ciencias**: 93.
- Čmolík, J. y J. Pokorný (2000). "Physical refining of edible oils." *European Journal of Lipid Science and Technology* **102**(7): 472-486.
- Coe, S. y L. Ryan (2016). "White bread enriched with polyphenol extracts shows no effect on glycemic response or satiety, yet may increase postprandial insulin economy in healthy participants." *Nutrition Research* **36**(2): 193-200.
- Cowley, M. A., N. Pronchuk, W. Fan, D. M. Dinulescu, W. F. Colmers y R. D. Cone (1999). "Integration of npy, agrp, and melanocortin signals in the hypothalamic paraventricular nucleus: Evidence of a cellular basis for the adipostat." *Neuron* **24**(1): 155-163.
- Cuevas García-Dorado, S., L. Cornselsen, R. Smith y H. Walls (2019). "Economic globalization, nutrition and health: A review of quantitative evidence." *Globalization and Health* **15**(1): 19.
- Chen, L., H. Cao y J. Xiao (2018). 2 - polyphenols: Absorption, bioavailability, and metabolomics. *Polyphenols: Properties, recovery, and applications*. C. M. Galanakis, Woodhead Publishing: 45-67.
- Das, S. K., E. Saltzman, C. H. Gilhooly, J. P. DeLany, J. K. Golden, A. G. Pittas, G. E. Dallal, M. V. Bhopkar, P. J. Fuss y C. Dutta (2009). "Low or moderate dietary energy restriction for long-term weight loss: What works best?" *Obesity* **17**(11): 2019-2024.
- Date, Y., N. Murakami, K. Toshinai, S. Matsukura, A. Nijima, H. Matsuo, K. Kangawa y M. Nakazato (2002). "The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats." *Gastroenterology* **123**(4): 1120-1128.
- Date, Y., T. Shimbara, S. Koda, K. Toshinai, T. Ida, N. Murakami, M. Miyazato, K. Kokame, Y. Ishizuka, Y. Ishida, H. Kageyama, S. Shioda, K. Kangawa y M. Nakazato (2006). "Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus." *Cell Metabolism* **4**(4): 323-331.
- de Krom, M., Y. T. van der Schouw, J. Hendriks, R. A. Ophoff, C. H. van Gils, R. P. Stolk, D. E. Grobbee y R. Adan (2007). "Common genetic variations in cck, leptin, and leptin receptor genes are associated with specific human eating patterns." *Diabetes* **56**(1): 276-280.
- de Lartigue, G., G. Lur, R. Dimaline, A. Varro, H. Raybould y G. J. Dockray (2010). "Egr1 is a target for cooperative interactions between cholecystokinin and leptin, and inhibition by ghrelin, in vagal afferent neurons." *Endocrinology* **151**(8): 3589-3599.
- Domae, C., F. Nanba, T. Maruo, T. Suzuki, H. Ashida y Y. Yamashita (2019). "Black soybean seed coat polyphenols promote nitric oxide production in the aorta through glucagon-like peptide-1 secretion from the intestinal cells." *Food & Function* **10**(12): 7875-7882.
- Domínguez-Avila, J. A., H. Astiazaran-García, A. Wall-Medrano, L. A. de la Rosa, E. Alvarez-Parrilla y G. A. González-Aguilar (2019). "Mango phenolics increase the serum apolipoprotein a1/b ratio in rats fed high cholesterol and sodium cholate diets." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **99**(4): 1604-1612.
- Domínguez Avila, J. A., J. Rodrigo García, G. A. González Aguilar y L. A. de la Rosa (2017). "The antidiabetic mechanisms of polyphenols related to increased glucagon-like peptide-1 (glp1) and insulin signaling." *Molecules* **22**(6): 903.
- Donetti, M. y L. A. Terry (2014). "Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass." *Journal of Food Composition and Analysis* **34**(1): 90-98.
- Elmqvist, J. K., C. F. Elias y C. B. Saper (1999). "From lesions to leptin: Hypothalamic control of

- food intake and body weight." *Neuron* **22**(2): 221-232.
- Enç, F. Y., N. İmeryüz, L. Akin, T. Turoğlu, F. Dede, G. Haklar, N. İ. Tekeşi'n, N. Beki'roğlu, B. Yeğen, J. F. Rehfeld, J. J. Holst y N. s. B. Ulusoy (2001). "Inhibition of gastric emptying by acarbose is correlated with glp-1 response and accompanied by cck release." *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **281**(3): G752-G763.
- Feijó, F. d. M., M. C. Bertoluci y C. Reis (2011). "Serotonina e controle hipotalâmico da fome: Uma revisão." *Revista da Associação Médica Brasileira* **57**: 74-77.
- Feinle-Bisset, C., M. Horowitz, S. Standfield, R. E. Steinert, N. D. Luscombe-Marsh, T. J. Little y B. Otto (2014). "Effects of intraduodenal infusion of l-tryptophan on ad libitum eating, antropyloroduodenal motility, glycemia, insulinemia, and gut peptide secretion in healthy men." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **99**(9): 3275-3284.
- Fernandes, R. C., V. A. Araújo, B. M. Giglio, A. C. B. Marini, J. F. Mota, K.-I.-S. S. Teixeira, P. A. Monteiro, F. S. Lira y G. D. Pimentel (2018). "Acute epigallocatechin 3 gallate (egcg) supplementation delays gastric emptying in healthy women: A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study." *Nutrients* **10**(8): 1122-1235.
- Figueroa, J. G., I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sanchez y A. Segura-Carretero (2018a). "Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by hplc-dad-esi-qtof-ms." *Food Research International* **105**: 752-763.
- Figueroa, J. G., I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez y A. Segura-Carretero (2018b). "Comprehensive identification of bioactive compounds of avocado peel by liquid chromatography coupled to ultra-high-definition accurate-mass q-tof." *Food Chemistry* **245**: 707-716.
- Fратиanni, F., M. N. Ombra, A. Cozzolino, R. Riccardi, P. Spigno, P. Tremonte, R. Coppola y F. Nazzaro (2016). "Phenolic constituents, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of different endemic italian varieties of garlic (*allium sativum* l.)." *Journal of Functional Foods* **21**: 240-248.
- Fulgoni, V. L., 3rd, M. Dreher y A. J. Davenport (2013). "Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in us adults: Results from the national health and nutrition examination survey (nhanes) 2001-2008." *Nutrition Journal* **12**: 1-7.
- Galvão, M. d. S., N. Narain y N. Nigam (2014). "Influence of different cultivars on oil quality and chemical characteristics of avocado fruit." *Food Science and Technology* **34**(3): 539-546.
- Ganiyu, O., O. O. Veronica, B. Fatai, O. A. Ayokunle, I. O. Sunday, E. N. Emem y O. A. Adedayo (2016). "Aqueous extracts of avocado pear (*persea americana* mill.) leaves and seeds exhibit anti-cholinesterases and antioxidant activities in vitro." *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* **27**(2): 131-140.
- García-Lomillo, J. y M. L. González-SanJosé (2017). "Applications of wine pomace in the food industry: Approaches and functions." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **16**(1): 3-22.
- Goldstone, A. P. (2006). *The hypothalamus, hormones, and hunger: Alterations in human obesity and illness. Progress in brain research.* A. Kalsbeek, E. Fliers, M. A. Hofman et al., Elsevier. **153**: 57-73.
- Gomes da Silva, M. d. F., A. P. Dionísio, A. A. Ferreira Carioca, L. Silveira Adriano, C. O. Pinto, F. A. Pinto de Abreu, N. J. Wurlitzer, I. M. Araújo, D. dos Santos Garruti y D. Ferreira Pontes (2017). "Yacon syrup: Food applications and impact on satiety in healthy volunteers." *Food Research International* **100**: 460-467.
- González-Abuín, N., N. Martínez-Micaelo, M. Margalef, M. Blay, A. Arola-Arnal, B. Muguerza,

- A. Ardévol y M. Pinent (2014). "A grape seed extract increases active glucagon-like peptide-1 levels after an oral glucose load in rats." *Food & Function* **5**(9): 2357-2364.
- Goodson, S., J. Halford y J. Blundell (2004). "Direct, continuous behavioral analysis of drug action on feeding." *Current Protocols in Neuroscience* **29**(1): 8.6C.1-8.6C.11.
- Grimm, E. R. y N. I. Steinle (2011). "Genetics of eating behavior: Established and emerging concepts." *Nutrition reviews* **69**(1): 52-60.
- Gruendel, S., A. L. Garcia, B. Otto, C. Mueller, J. Steiniger, M. O. Weickert, M. Speth, N. Katz y C. Koebnick (2006). "Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fiber and polyphenols enhances lipid oxidation and lowers postprandial acylated ghrelin in humans." *The Journal of Nutrition* **136**(6): 1533-1538.
- Guo, Y. y R. S. Bruno (2015). "Endogenous and exogenous mediators of quercetin bioavailability." *The Journal of Nutritional Biochemistry* **26**(3): 201-210.
- Halдар, S., S. C. Chia y C. J. Henry (2018a). "Polyphenol-rich curry made with mixed spices and vegetables increases postprandial plasma glp-1 concentration in a dose-dependent manner." *European Journal of Clinical Nutrition* **72**(2): 297-301.
- Halдар, S., J. Lim, S. Chia, S. Ponnalagu y C. Henry (2018b). "Effects of two doses of curry prepared with mixed spices on postprandial ghrelin and subjective appetite responses—a randomized controlled crossover trial." *Foods* **7**(4): 47-56.
- Halford, J. C., E. J. Boyland, J. E. Blundell, T. C. Kirkham y J. A. Harrold (2010). "Pharmacological management of appetite expression in obesity." *Nature Reviews Endocrinology* **6**(5): 255.
- Halford, J. C. G., S. C. D. Wanninayake y J. E. Blundell (1998). "Behavioral satiety sequence (bss) for the diagnosis of drug action on food intake." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **61**(2): 159-168.
- Handjieva-Darlenska, T. y N. Boyadjieva (2009). "The effect of high-fat diet on plasma ghrelin and leptin levels in rats." *Journal of physiology and biochemistry* **65**: 157-164.
- Hass, N., K. Schwarzenbacher y H. Breer (2010). "T1r3 is expressed in brush cells and ghrelin-producing cells of murine stomach." *Cell and Tissue Research* **339**(3): 493-504.
- Hidayat, M. y I. Setiawan (2016). "The effective dose and pattern of soybean extract administration to regulate body weight of laboratory rats." *Health Science Journal of Indonesia* **7**(1): 17-25.
- Hill, B. R., M. J. D. Souza, D. A. Wagstaff, R. Sato y N. I. Williams (2012). "24-hour profiles of circulating ghrelin and peptide yy are inversely associated in normal weight premenopausal women." *Peptides* **38**(1): 159-162.
- Janssen, S., J. Laermans, P.-J. Verhulst, T. Thijs, J. Tack y I. Depoortere (2011). "Bitter taste receptors and α -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**(5): 2094-2099.
- Josic, J., A. T. Olsson, J. Wickeberg, S. Lindstedt y J. Hlebowicz (2010). "Does green tea affect postprandial glucose, insulin and satiety in healthy subjects: A randomized controlled trial." *Nutrition Journal* **9**(1): 63-71.
- Kay, C., G. Pereira Caro, I. Ludwig, M. Clifford y A. Crozier (2017). "Anthocyanins and flavanones are more bioavailable than previously perceived: A review of recent evidence." *Annual Review of Food Science and Technology* **8**(155-180).
- Kennett, G. A., C. T. Dourish y G. Curzon (1987). "5-HT_{1b} agonists induce anorexia at a postsynaptic site." *European Journal of Pharmacology* **141**(3): 429-435.
- Kitada, M., Y. Ogura, T. Suzuki, I. Monno, K. Kanasaki, A. Watanabe y D. Koya (2018). "A low-protein diet exerts a beneficial effect on diabetic status and prevents diabetic nephropathy in

- wistar fatty rats, an animal model of type 2 diabetes and obesity." *Nutrition & metabolism* **15**: 20-20.
- Kitchener, S. J. y C. T. Dourish (1994). "An examination of the behavioural specificity of hypophagia induced by 5-HT_{1b}, 5-HT_{1c} and 5-HT₂ receptor agonists using the post-prandial satiety sequence in rats." *Psychopharmacology* **113**(3): 369-377.
- Kojima, M., H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo y K. Kangawa (1999). "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach." *Nature* **402**(6762): 656-660.
- Kosinska, A., M. Karamac, I. Estrella, T. Hernandez, B. Bartolome y G. A. Dykes (2012). "Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* mill. Peels and seeds of two varieties." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**(18): 4613-4619.
- Lievens, S., I. Verbaeys, G. Flo, R. Briers, E. Decuyper y M. Cokelaere (2009). "Disruption of the behavioral satiety sequence by simmondsin." *Appetite* **52**(3): 703-710.
- López-Alonso, V. E., J. M. Mancilla-Díaz, M. Rito-Domingo, B. González-Hernández y R. E. Escartín-Pérez (2007). "The effects of 5-HT_{1a} and 5-HT_{2c} receptor agonists on behavioral satiety sequence in rats." *Neuroscience Letters* **416**(3): 285-288.
- López-Cobo, A., A. M. Gómez-Caravaca, F. Pasini, M. F. Caboni, A. Segura-Carretero y A. Fernández-Gutiérrez (2016). "HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado." *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **73**: 505-513.
- Lu, C., W. Zhu, C.-L. Shen y W. Gao (2012). "Green tea polyphenols reduce body weight in rats by modulating obesity-related genes." *PLOS ONE* **7**(6): e38332-e38332.
- Magni, P., E. Dozio, M. Ruscica, F. Celotti, M. A. Masini, P. Prato, M. Broccoli, A. Mambro, M. Morè y F. Strollo (2009). "Feeding behavior in mammals including humans." *Annals of the New York Academy of Sciences* **1163**(1): 221-232.
- Margalef, M., Z. Pons, F. I. Bravo, B. Muguerza y A. Arola-Arnal (2015). "Tissue distribution of rat flavanol metabolites at different doses." *The Journal of Nutritional Biochemistry* **26**(10): 987-995.
- Marques, C., M. Meireles, S. Norberto, J. Leite, J. Freitas, D. Pestana, A. Faria y C. Calhau (2016). "High-fat diet-induced obesity rat model: A comparison between wistar and sprague-dawley rat." *Adipocyte* **5**(1): 11-21.
- Matzinger, D., J.-P. Gutzwiller, J. Drewe, A. Orban, R. Engel, M. D'Amato, L. Rovati y C. Beglinger (1999). "Inhibition of food intake in response to intestinal lipid is mediated by cholecystokinin in humans." *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **277**(6): R1718-R1724.
- Moran, T. H., G. P. Smith, A. M. Hostetler y P. R. McHugh (1987). "Transport of cholecystokinin (CCK) binding sites in subdiaphragmatic vagal branches." *Brain Research* **415**(1): 149-152.
- Morgane, P. J. y H. L. Jacobs (1969). "Hunger and satiety." *World Review of Nutrition and Dietetics*: 100-213.
- Müller, T. D., R. Nogueiras, M. L. Andermann, Z. B. Andrews, S. D. Anker, J. Argente, R. L. Batterham, S. C. Benoit, C. Y. Bowers, F. Broglio, F. F. Casanueva, D. D'Alessio, I. Depoortere, A. Geliebter, E. Ghigo, P. A. Cole, M. Cowley, D. E. Cummings, A. Dagher, S. Diano, S. L. Dickson, C. Diéguez, R. Granata, H. J. Grill, K. Grove, K. M. Habegger, K. Heppner, M. L. Heiman, L. Holsen, B. Holst, A. Inui, J. O. Jansson, H. Kirchner, M. Korbonsits, B. Laferrère, C. W. LeRoux, M. Lopez, S. Morin, M. Nakazato, R. Nass, D. Perez-Tilve, P. T. Pfluger, T. W. Schwartz, R. J. Seeley, M. Sleeman, Y. Sun, L. Sussel, J. Tong, M. O. Thorner, A. J. van der Lely, L. H. T. van der Ploeg, J. M. Zigman, M. Kojima, K. Kangawa, R. G. Smith, T. Horvath y M. H. Tschöp (2015). "Ghrelin." *Molecular Metabolism*

4(6): 437-460.

- Nakazato, M., N. Murakami, Y. Date, M. Kojima, H. Matsuo, K. Kangawa y S. Matsukura (2001). "A role for ghrelin in the central regulation of feeding." *Nature* **409**(6817): 194-198.
- Naveh, E., M. J. Werman, E. Sabo y I. Neeman (2002). "Defatted avocado pulp reduces body weight and total hepatic fat but increases plasma cholesterol in male rats fed diets with cholesterol." *The Journal of Nutrition* **132**(7): 2015-2018.
- Njike, V. Y., T. M. Smith, O. Shuval, K. Shuval, I. Edshteyn, V. Kalantari y A. L. Yaroch (2016). "Snack food, satiety, and weight." *Advances in nutrition* (Bethesda, Md.) **7**(5): 866-878.
- Nonogaki, K. (2012). Chapter twelve - serotonin conflict in sleep–feeding. *Vitamins & hormones*. G. Litwack, Academic Press. **89**: 223-239.
- Ochoa, C. y G. M. Muñoz (2014). "Hambre, apetito y saciedad." *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* **24**(2): 268-279.
- Oliveira, L. d. S., S. L. d. Souza y R. Manhães-De-Castro (2011). "Behavioral satiety sequence: An experimental model for studying feeding behavior." *Revista de Nutrição* **24**(4): 619-628.
- Ollmann, M. M., B. D. Wilson, Y.-K. Yang, J. A. Kerns, Y. Chen, I. Gantz y G. S. Barsh (1997). "Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein." *Science* **278**(5335): 135.
- OMS (2018, última actualización). "Obesity and overweighth." de <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Pacheco-Ordaz, R., M. Antunes-Ricardo, J. A. Gutierrez-Urbe y G. A. Gonzalez-Aguilar (2018). "Intestinal permeability and cellular antioxidant activity of phenolic compounds from mango (*mangifera indica* cv. Ataulfo) peels." *Int J Mol Sci* **19**(2).
- Panda, V. y P. Shinde (2017). "Appetite suppressing effect of spinacia oleracea in rats: Involvement of the short term satiety signal cholecystokinin." *Appetite* **113**: 224-230.
- Pathak, V., P. R. Flatt y N. Irwin (2018). "Cholecystokinin (cck) and related adjunct peptide therapies for the treatment of obesity and type 2 diabetes." *Peptides* **100**: 229-235.
- Patrikakos, P., K. G. Toutouzas, M. Gazouli, D. Perrea, E. Menenakos, S. Papadopoulos y G. Zografos (2011). "Long-term plasma ghrelin and leptin modulation after sleeve gastrectomy in wistar rats in comparison with gastric tissue ghrelin expression." *Obesity Surgery* **21**(9): 1432-1437.
- Pinto, S., A. G. Roseberry, H. Liu, S. Diano, M. Shanabrough, X. Cai, J. M. Friedman y T. L. Horvath (2004). "Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin." *Science* **304**(5667): 110.
- Planes-Munoz, D., R. Lopez-Nicolas, C. A. Gonzalez-Bermudez, G. Ros-Berruezo y C. Frontela-Saseta (2018). "In vitro effect of green tea and turmeric extracts on glp-1 and cck secretion: The effect of gastrointestinal digestion." *Food & Function* **9**(10): 5245-5250.
- Pringle, A., K. A. Jennings, S. Line, D. M. Bannerman, S. Higgs y T. Sharp (2008). "Mice overexpressing the 5-hydroxytryptamine transporter show no alterations in feeding behaviour and increased non-feeding responses to fenfluramine." *Psychopharmacology* **200**(2): 291-300.
- Rehfeld, J. F. (2017). "Cholecystokinin—from local gut hormone to ubiquitous messenger." *Frontiers in Endocrinology* **8**: 1-8.
- Robles-Sánchez, R. M., M. A. Rojas-Graü, I. Odriozola-Serrano, G. A. González-Aguilar y O. Martín-Belloso (2009). "Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'kent' mango (*mangifera indica* l.)." *Postharvest Biology and Technology* **51**(3): 384-390.
- Rocha Levone, B., E. Cella, L. Kochenborger, E. Simão da Silva, A. Taschetto, S. Mansur, M.

- Terenzi, M. Faria y M. Paschoalini (2014). "Ingestive and locomotor behaviours induced by pharmacological manipulation of α -adrenoceptors into the median raphe nucleus." *Neuropharmacology* **89**: 136-145.
- Rodriguez-Carpena, J. G., D. Morcuende y M. Estevez (2011). "Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage." *Meat Science* **89**(2): 166-173.
- Romo, P. (2016, última actualización). "Cayó 10% consumo anual per cápita de aguacate." *El Economista*. Consultado 11 de mayo 2019, de <https://www.eleconomista.com.mx/estados/Cayo-10-consumo-anual-per-capita-de-aguacate-20161121-0038.html>.
- Rosa-Gonçalves, P. y D. Majerowicz (2019). "Pharmacotherapy of obesity: Limits and perspectives." *American Journal of Cardiovascular Drugs* **19**: 1-16.
- Rothman, R. B. y M. H. Baumann (2002). "Therapeutic and adverse actions of serotonin transporter substrates." *Pharmacology & therapeutics* **95**(1): 73-88.
- Ruiz-Pardo, C. A. (2014). Liberación y absorción pasiva (*in vitro*) de compuestos lipofílicos e hidrofílicos de aguacate cv. Hass y su potencial antioxidante y antiproliferativo. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Hermosillo, Sonora, Centro de investigación en alimentación y desarrollo, A.C. **Maestría en ciencias**: 89pp.
- Rupasinghe, H. P., S. Sekhon-Loodu, T. Mantso y M. I. Panayiotidis (2016). "Phytochemicals in regulating fatty acid beta-oxidation: Potential underlying mechanisms and their involvement in obesity and weight loss." *Pharmacology & therapeutics* **165**: 153-163.
- Sabaté, J., M. Wien y E. Haddad (2015). "Post-ingestive effects of avocados in meals on satiety and gastric hormone blood levels." *Human Health and Nutrition*: 459-461.
- SAGARPA (2017). Planeación agrícola nacional: Aguacate mexicano. g. Secretaría de agricultura, desarrollo rural, pesca y alimentación. México: 16pp.
- Saleh, S., H. Jahromi, Z. K. Jahromi, S. Kamfiruzi y F. Zahediniya (2018). "Effect of ethanol extract of devil's claw on serum levels of cholecystokinin hormone and body weight in male rats." *Asian Journal of Pharmaceutics* **12**: S170-S172.
- Salmerón-Ruiz, M. L. (2014). Fracción indigestible, bioaccesibilidad *in vitro* y actividad antioxidante, de compuestos fenólicos de la cáscara de aguacate cv "hass". Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Hermosillo, Sonora, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. **Maestría en ciencias**: 79pp
- Sánchez, J., P. Oliver, C. Picó y A. Palou (2004). "Diurnal rhythms of leptin and ghrelin in the systemic circulation and in the gastric mucosa are related to food intake in rats." *Pflügers Archiv* **448**(5): 500-506.
- Santana, I., V. N. Castelo-Branco, B. M. Guimaraes, L. O. Silva, V. Peixoto, L. M. C. Cabral, S. P. Freitas y A. G. Torres (2019). "Hass avocado (persea americana mill.) oil enriched in phenolic compounds and tocopherols by expeller-pressing the unpeeled microwave dried fruit." *Food Chemistry* **286**: 354-361.
- Segovia, F. J., G. I. Hidalgo, J. Villasante, X. Ramis y M. P. Almajano (2018). "Avocado seed: A comparative study of antioxidant content and capacity in protecting oil models from oxidation." *Molecules* **23**(10).
- Serrano, J., À. Casanova-Martí, M. Blay, X. Terra, A. Ardévol y M. Pinent (2016a). "Defining conditions for optimal inhibition of food intake in rats by a grape-seed derived proanthocyanidin extract." *Nutrients* **8**(10): 652.
- Serrano, J., À. Casanova-Martí, I. Depoortere, M. T. Blay, X. Terra, M. Pinent y A. Ardévol (2016b). "Subchronic treatment with grape-seed phenolics inhibits ghrelin production despite

- a short-term stimulation of ghrelin secretion produced by bitter-sensing flavanols." *Molecular Nutrition & Food Research* **60**(12): 2554-2564.
- Serrano, J., À. Casanova-Martí, K. Gil-Cardoso, M. T. Blay, X. Terra, M. Pinent y A. Ardèvol (2016c). "Acutely administered grape-seed proanthocyanidin extract acts as a satiating agent." *Food & Function* **7**(1): 483-490.
- Serrano, J., A. Casanova, A. Gual, A. Pérez-Vendrell, M. Blay, X. Terra, A. Ardèvol y M. Pinent (2016d). "A specific dose of grape seed-derived proanthocyanidins to inhibit body weight gain limits food intake and increases energy expenditure in rats." *European Journal of Nutrition* **56**: 1629-1636.
- Siebenhofer, A., K. Jeitler, K. Horvath, A. Berghold, N. Posch, J. Meschik y T. Semlitsch (2016). "Long-term effects of weight-reducing drugs in people with hypertension." *Cochrane Database of Systematic Reviews*(3).
- Singleton, V. L. y J. A. Rossi (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American Journal of Enology and Viticulture* **16**(3): 144.
- Stefoska-Needham, A., E. J. Beck, S. K. Johnson, J. Chu y L. C. Tapsell (2016). "Flaked sorghum biscuits increase postprandial glp-1 and gip levels and extend subjective satiety in healthy subjects." *Molecular Nutrition & Food Research* **60**(5): 1118-1128.
- Steinert, R. E., C. Feinle-Bisset, L. Asarian, M. Horowitz, C. Beglinger y N. Geary (2017). "Ghrelin, cck, glp-1, and ppy(3-36): Secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after rygb." *Physiological Reviews* **97**(1): 411-463.
- Steinert, R. E., N. D. Luscombe-Marsh, T. J. Little, S. Standfield, B. Otto, M. Horowitz y C. Feinle-Bisset (2014). "Effects of intraduodenal infusion of l-tryptophan on ad libitum eating, antropyloroduodenal motility, glycemia, insulinemia, and gut peptide secretion in healthy men." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **99**(9): 3275-3284.
- Tallett, A. J., J. E. Blundell y R. J. Rodgers (2008). "Endogenous opioids and cannabinoids: System interactions in the regulation of appetite, grooming and scratching." *Physiology & Behavior* **94**(3): 422-431.
- Tallett, A. J., J. E. Blundell y R. J. Rodgers (2009). "Sibutramine-induced anorexia: Potent, dose-dependent and behaviourally-selective profile in male rats." *Behavioural Brain Research* **198**(2): 359-365.
- Technavio (2017, última actualización). "Global avocado oil market - geographical segmentation, trends, and analysis ". Consultado 11 de mayo, 2019, de <https://www.businesswire.com/news/home/20170802005594/en/Global-Avocado-Oil-Market---Geographical-Segmentation>.
- Trivedi, A., S. Babic, M. Heiman, W. T. Gibson y J.-P. Chanoine (2017). "Ghrelin, ghrelin o-acyltransferase, and carbohydrate metabolism during pregnancy in calorie-restricted mice." *Hormone and Metabolic Research* **49**(01): 64-72.
- Ueno, H. y M. Nakazato (2016). "Mechanistic relationship between the vagal afferent pathway, central nervous system and peripheral organs in appetite regulation." *Journal of diabetes investigation* **7**(6): 812-818.
- Uher, R. y J. Treasure (2005). "Brain lesions and eating disorders." *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* **76**(6): 852-857.
- USDA (2018, última actualización). "Basic report: 09037, avocados, raw, all commercial varieties." Consultado 10 de abril 2019, de <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/301058>.
- Valdecantos, M. P., P. Pérez-Matute, P. Prieto-Hontoria, M. J. Moreno-Aliaga y J. A. Martínez (2019). "Impact of dietary lipoic acid supplementation on liver mitochondrial bioenergetics and oxidative status on normally fed wistar rats." *International Journal of Food Sciences and*

Nutrition **70**(7): 834-844.

- Vasileva, L. V., A. S. Marchev y M. I. Georgiev (2018). "Causes and solutions to "globesity": The new fa(s)t alarming global epidemic." Food and Chemical Toxicology **121**: 173-193.
- Verbaeys, I., F. León-Tamariz, K. De Buyser, J. Buyse, E. Decuypere, H. Pottel y M. Cokelaere (2009). "Dose-response effects of pegylated cholecystokinin on the behavioral satiety sequence." Physiology & Behavior **98**(1): 198-204.
- Vestergaard, E. T., T. K. Hansen, L. C. Gormsen, P. Jakobsen, N. Moller, J. S. Christiansen y J. O. L. Jorgensen (2007). "Constant intravenous ghrelin infusion in healthy young men: Clinical pharmacokinetics and metabolic effects." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism **292**(6): E1829-E1836.
- Villa-Rodriguez, J. A. (2011). Efecto de la maduración poscosecha sobre el metabolismo de ácidos grasos, compuestos fitoquímicos y capacidad antioxidante de aguacate cv. Hass (*persea americana*). Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Hermosillo, Sonora, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. **Maestría en ciencias**: 96pp.
- Villa-Rodriguez, J. A., E. M. Yahia, A. González-León, I. Ifie, R. E. Robles-Zepeda, J. A. Domínguez-Avila y G. A. González-Aguilar (2020). "Ripening of 'hass' avocado mesocarp alters its phytochemical profile and the in vitro cytotoxic activity of its methanolic extracts." South African Journal of Botany **128**: 1-8.
- Voigt, J.-P. y H. Fink (2015). "Serotonin controlling feeding and satiety." Behavioural Brain Research **277**: 14-31.
- Wang, W., T. R. Bostic y L. Gu (2010). "Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars." Food Chemistry **122**(4): 1193-1198.
- Wien, M., E. Haddad, K. Oda y J. Sabaté (2013). "A randomized 3×3 crossover study to evaluate the effect of hass avocado intake on post-ingestive satiety, glucose and insulin levels, and subsequent energy intake in overweight adults." Nutrition Journal **12**: 155-155.
- Zeeni, N., C. F. Daher, L. Saab y M. Mroueh (2014). "Tragopogon porrifolius improves serum lipid profile and increases short-term satiety in rats." Appetite **72**: 1-7.
- Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold y J. M. Friedman (1994). "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." Nature **372**(6505): 425-432.