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

EFECTO SUBCRÓNICO DE UNA DIETA SUPLEMENTADA CON EXTRACTO FENÓLICO DE PASTA DE AGUACATE CV. 'HASS' SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HORMONAS DE SACIEDAD EN UN MODELO MURINO

Por:

Diana Alejandra Corella Salazar

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

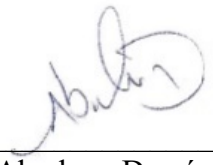
Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

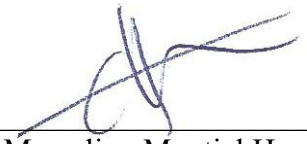
Hermosillo, Sonora Noviembre 2020

APROBACIÓN

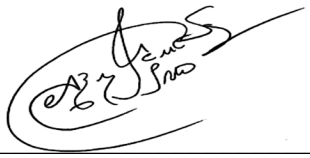
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Diana Alejandra Corella Salazar, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



Dr. Jesús Abraham Domínguez Ávila
Director de Tesis



Dr. Marcelino Montiel Herrera
Co-Director



Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Integrante del comité de tesis

Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Efecto Subcrónico de una Dieta Suplementada con Extracto Fenólico de Pasta de Aguacate cv. 'Hass' sobre la Concentración de Hormonas de Saciedad, 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 Diana Alejandra Corella Salazar, 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.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

CIAD

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la oportunidad de llevar a cabo mis estudios de maestría gracias al apoyo económico otorgado durante la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C (CIAD) por brindarme la oportunidad de cultivarme como profesional, alcanzando una meta personal y de aprendizaje para lograr proyectar nuevos retos a futuro.

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 Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal (CTAOV), por otorgarme la oportunidad de trabajar dentro de sus instalaciones durante los últimos dos años.

Al Dr. Jesús Abraham Domínguez Ávila, mi director de tesis, por la oportunidad de trabajar con juntos, así como la confianza depositada en mi persona y en mi trabajo. Por su grandísima paciencia y tolerancia al momento de resolver dudas y por su apertura a la amistad desarrollada manteniendo siempre un ambiente de respeto. Finalmente, agradezco sus aportaciones teóricas y prácticas, así como su interés en impulsarme a dar lo mejor de mí.

Al Dr. Marcelino Montiel Herrera, mi codirector de tesis, por sus aportaciones teóricas y prácticas al proyecto, sobre todo con el manejo y entendimiento de los animales de experimentación, por el permitirme hacer uso de sus instalaciones.

A los miembros del comité de tesis, Dr. Gustavo A. González Aguilar, por permitirme formar parte de su laboratorio y confiarme el uso de las herramientas disponibles dentro de él, así como apoyarme en el proceso y desarrollo de este proyecto. Al Dr. Humberto Astiazarán García por todo el conocimiento compartido y por la orientación brindada durante mi formación profesional.

Al equipo de trabajo y personal del Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, en particular a la Q.B Mónica Villegas Ochoa, por su gran disposición a apoyar a pesar de la constante carga laboral. Al equipo de trabajo y personal del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Cereales,

en particular a la Q.B María del Carmen Granados, por permitirme hacer uso de sus equipos e instalaciones.

Finalmente, a mis compañeras de laboratorio Dafne y Shain, por el apoyo, trabajar en equipo y por hacer de este tiempo más ameno y llevadero.

DEDICATORIA

Principalmente a mi familia, a mis padres por brindarme educación de alta calidad durante todas las etapas de la vida y por proveer las herramientas para lograr mis objetivos. A mi hermano menor Luis Ángel por ser siempre un apoyo, por motivarme a ser un buen ejemplo a seguir y buscar ser una persona que busca actuar con ética personal y profesional. A mi pareja, Israel, por ser mi más grande soporte durante todo este proceso, por motivarme cuando parecía imposible, por apoyarme con las vueltas, por aprender a limpiar charolas y hacer tareas que no te correspondían solo por quitarme un peso de encima, por siempre estar pendiente para poder ayudarme en lo que surgiera y sobre todo por invitarme un café para las mañanas frías de diciembre y enero en el bioterio, siempre estaré agradecida.

A mis mejores amigos, los que siempre están, aunque el tiempo pase y la gente cambie: Ángela, Karem, Paulina, Tere, Sylvia, Fernanda, Estela, Guillermo, Diego. Por las pláticas, por las risas, las posadas en pijamas, las palabras de motivación (muy a nuestra manera), el apoyo y todo el amor que me brindan constantemente de forma tan desinteresada. A mis amigas por todos los planes, los viajes puestos en pausa, las pláticas extensas y los mensajes de voz aún más largos. A mi amigo Juan por compartir la experiencia del posgrado bajo otra perspectiva muy distinta, por los planes de vida a las 4 de la mañana en cuarentena y por todos los consejos brindados en los momentos más difíciles, por reafirmarme y recordarme mantenerme firme a mis criterios y a confiar en el proceso. Finalmente, a todas las personas que cruzaron mi vida durante los últimos dos años y dejaron parte de su esencia en mi formación, genuinamente aprecio sus aportaciones y sus vivencias. Gracias a todos por su cariño, su paciencia y sobre todo su comprensión cuando más lo necesitaba y quizás no lo merecía. Por todo esto y más estaré eternamente agradecida.

CONTENIDO

APROBACIÓN 2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL 3
AGRADECIMIENTOS 4
DEDICATORIA 6
CONTENIDO 7
LISTA DE CUADROS 9
LISTA DE FIGURAS 10
RESUMEN 11
ABSTRACT 13
1. INTRODUCCIÓN 14
2. ANTECEDENTES 17
2.1. La Obesidad: Desbalance Energético y Alteraciones de la Saciedad 17
2.2. Regulación de la Saciedad: Eje Intestino-Cerebro 19
2.3. Tratamientos de Intervención Actuales y Alternativas Emergentes 25
2.4. Compuestos Fenólicos como Moduladores de Hormonas Inductoras de Saciedad 27
2.5. Subproductos de Aguacate como Fuente de Compuestos Fenólicos 31
3. HIPÓTESIS 37
4. OBJETIVOS 38
4.1. Objetivo General 38
4.2. Objetivos Específicos 38
5. MATERIALES Y MÉTODOS 39
5.1. Materia Prima y Obtención del Extracto Fenólico 39
5.2. Cuantificación de los Compuestos Fenólicos Totales en el Extracto 40
5.3. Medición de la Capacidad Antioxidante del Extracto 40
5.4. Bioensayo 42
5.5. Cuantificación de Hormonas 44
5.8. Diseño Experimental y Análisis Estadístico 45
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 46
6.1. Compuestos Fenólicos Totales y Capacidad Antioxidante del Extracto Fenólico 46
6.2. Bioensayo: Biomarcadores Sanguíneos 48
6.3. Bioensayo: Consumo de Alimento 55
6.4. Bioensayo: Cambio de Peso y Composición Corporal 58
6.5. Bioensayo: Concentración Plasmática de Hormonas Inductoras de Saciedad 63
7. CONCLUSIONES 77
8. RECOMENDACIONES 78

CONTENIDO (continuación)

9. REFERENCIAS 79

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Farmacoterapia de la obesidad: mecanismo de acción y receptores blanco……	26
2	Tratamiento con compuestos fenólicos y su efecto sobre hormonas reguladoras de saciedad en distintos modelos …….	29
3	Distribución del porcentaje de calorías provenientes de macronutrientes de las dietas experimentales……..…….	43
4	Composición de las dietas experimentales (g/kg) ……...	43
5	Compuestos fenólicos totales (mg EAG/g muestra seca) y capacidad antioxidante (mg ET/ g de muestra seca) del extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass'……..	46
6	Niveles de glucosa sanguíneos al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo …….....	49
7	Niveles de lípidos sanguíneos al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo……....	52
8	Cambio de peso (g/semana) entre grupos durante la duración del bioensayo (8 semanas) …….……	59

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Principales vías de regulación de la saciedad por las diferentes hormonas peptídicas en el eje intestino-cerebro……..	23
2	Clasificación general de los compuestos fenólicos en flavonoides y no flavonoides……..	30
3	Principales compuestos bioactivos presentes en los subproductos (cáscara y semilla) y pulpa de aguacate cv. 'Hass'……...	32
4	Principales compuestos fenólicos identificados en la cáscara, semilla y pulpa de aguacate cv. 'Hass'…….....	34
5	Modelo de interacción de los compuestos fenólicos sobre la inhibición de la micelización del colesterol……..	50
6	Consumo de alimento semanal……	57
7	Porcentaje de tejido adiposo al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo…….	61
8	Cambio en el porcentaje (%) de tejido adiposo……...	62
9	Concentración en plasma de la hormona anorexigénica GLP-1 (pg/mL)……...	67
10	Concentración en plasma de la hormona adiponectina (µg/mL)……	69
11	Efecto de las dietas altas en grasa sobre la secreción de adiponectina y cómo los compuestos fenólicos pueden interferir en dicho proceso…….	71
12	Concentración en plasma de la hormona leptina (pg/mL)……..	72
13	Concentración en plasma de la hormona anorexigénica CCK (pg/mL)……..	74

RESUMEN

La pasta de aguacate cv. 'Hass' es un subproducto agroindustrial derivado de la extracción del aceite del fruto, está compuesta por cáscara, semilla y pulpa desgrasada. A su vez, ésta contiene diversos compuestos fenólicos, los cuales, al ser consumidos, pueden proveer propiedades benéficas a la salud. Uno de los efectos más relevantes de estos compuestos es la capacidad de estimular e incrementar la concentración plasmática de hormonas inductoras de saciedad como leptina, adiponectina, colecistoquinina (CCK) y péptido similar al glucagón (GLP-1). Sin embargo, muy pocos estudios han evaluado el efecto de los compuestos fenólicos provenientes de subproductos, en modelos *in vivo* al ser consumidos de forma subcrónica. Para poder conocer la influencia de dichos compuestos sobre la regulación de la saciedad, se evaluaron los efectos del consumo subcrónico (entre 29 a 90 días de duración) de una dieta suplementada con extracto fenólico (EF) de pasta de aguacate cv. 'Hass', sobre la concentración plasmática de hormonas inductoras de saciedad y biomarcadores asociados, en un modelo murino. Para ello, se formularon cuatro dietas experimentales: 1) dieta estándar (DE), 2) dieta alta en grasa (DAG), 3) dieta estándar + extracto fenólico (DE+EF) y 4) dieta alta en grasa + extracto fenólico (DAG+EF). Las dietas fueron administradas *ad libitum* a 4 grupos de 6 ratas Wistar macho, durante 8 semanas con 2 semanas de aclimatación previas. La ingesta de alimento, el peso corporal, el porcentaje de tejido adiposo (absorciometría dual de rayos X, DXA), la concentración plasmática de leptina, adiponectina, CCK y GLP-1 (ELISA) y biomarcadores sanguíneos (glucosa y lípidos plasmáticos) fueron cuantificados y registrados. Los grupos suplementados con el EF presentaron una mayor saciedad, asociada a una menor ingesta de alimento con respecto a sus controles ($p<0.05$), sin presentar diferencias en la ganancia de peso ni porcentaje de tejido adiposo ($p>0.05$). Asimismo, los grupos tratados con el EF presentaron un incremento en la concentración de leptina (DE + EF: 300% y DAG + EF: 200%) y de GLP-1 (DE + EF: 115% y DAG + EF:120%), en comparación a los grupos controles. La adiponectina mostró una tendencia no significativa ($p>0.05$) a incrementar, mientras que la concentración de CCK no varió ($p>0.05$) por efecto del EF. Por lo anterior, se sugiere que la suplementación con EF de pasta de aguacate cv. 'Hass', ejerce un efecto de saciedad en un modelo murino, relacionado a un aumento en la concentración plasmática de leptina y GLP-1, sin presentar alteraciones en adiponectina y CCK.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, Hormonas entéricas, Ácidos fenólicos, Subproductos

ABSTRACT

Avocado paste cv. 'Hass' is an agro-industrial by-product derived from the extraction of oil from the fruit, and it is made up of peel, seed and defatted pulp. This paste contains various phenolic compounds, which, when consumed, can provide beneficial properties for health and overall well-being. One of the most relevant effects of these compounds is the ability to stimulate and increase plasma concentration of satiety-inducing hormones, such as leptin, adiponectin, cholecystokinin (CCK) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1). However, very few studies have evaluated the sub-chronic effect of these compounds from by-products, in *in vivo* models. In order to understand the influence of these compounds on satiety regulation, the effects of sub-chronic consumption of a diet supplemented with a phenolic extract (PE) of avocado paste cv. 'Hass' was conducted. The study focused on evaluating changes induced by these compounds on the concentration of satiety-inducing hormones and associated biomarkers, in a murine model. For this, four experimental diets were formulated: 1) standard diet (SD), 2) high fat diet (HFD), 3) standard diet + phenolic extract (SD+PE), and 4) high fat diet + phenolic extract (HFD+PE). All diets were administered *ad libitum* to 4 groups of 6 male Wistar rats, during 8 weeks with 2 weeks of previous acclimatization. Food intake, body weight, percentage of adipose tissue (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA), plasmatic concentration of leptin, adiponectin, CCK, and GLP-1 (ELISA) and serum biomarkers such as glucose and lipids were quantified. Increased satiety was observed in PE-supplemented groups, according to a lower food intake, as compared to their controls ($p < 0.05$), with no differences in weight gain or percentage of adipose tissue ($p > 0.05$). Likewise, PE-treated groups had an increased concentration of leptin (SD+PE: 300% and HFD+PE: 200%) and GLP-1 (SD+PE: 115% and HFD+PE: 120%), as compared to their controls. Adiponectin showed a non-significant tendency ($p > 0.05$) to increase, while CCK concentration was not altered ($p > 0.05$). Therefore, it is suggested that supplementing a diet with PE from avocado paste cv. 'Hass', exerts a satiety effect in a murine model, related to an increased leptin and GLP-1 plasma concentration, without changes in adiponectin or CCK.

Keywords: *Persea americana* Mill, Enteroendocrine hormones, Phenolic acids, By-products

1. INTRODUCCIÓN

La prevalencia de obesidad ha aumentado exponencialmente en el mundo durante las últimas décadas, convirtiéndola en una de las causas de mayor mortalidad y uno de los principales problemas de salud pública en Norteamérica (Organización Mundial de la Salud, 2014). En 2016, se reportaron más de 1.9 billones de personas con obesidad en el mundo, con un crecimiento proyectado del 300% para el año 2050, de no corregirse la problemática (Hales et al., 2015; OMENT 2016). El tratamiento tradicional de dicho padecimiento consiste en la restricción calórica, aunado al aumento en la actividad física. No obstante, la falta de saciedad subsecuente a hábitos y padecimientos endócrinos puede afectar el seguimiento de la intervención y dificultar el tratamiento (González-Muniesa et al., 2017). Debido a ello, la industria se ha dedicado a desarrollar fármacos enfocados a la supresión del apetito y promoción de la saciedad, que a pesar de ser catalogados como seguros, pueden ocasionar efectos secundarios adversos al consumidor (Fenske et al., 2011). En consecuencia, las alternativas de origen natural a estos fármacos han ganado aceptación por los consumidores, liderando así el interés científico y comercial como coadyuvantes del tratamiento tradicional de esta enfermedad.

El proceso de regulación de saciedad es complejo e involucra señalizaciones neuronales y endócrinas que son moduladas por factores alimenticios, fisiológicos y ambientales. Dicho proceso es mediado por hormonas peptídicas que estimulan receptores cerebrales promotores o supresores de hambre (Panickar et al., 2013). Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que es posible estimular o reprimir dichos mecanismos, a través del aumento o disminución de la concentración plasmática de hormonas anorexigénicas en el torrente sanguíneo. La concentración plasmática de dichas hormonas puede ser modificada por la incorporación de extractos puros de compuestos fenólicos (CF), así como fuentes alimentarias ricas en ellos, dentro de la dieta de los individuos (de forma crónica y subcrónica) (Song et al., 2015; Haldar et al., 2018). Los mecanismos de acción por los cuales se llevan a cabo dichas modificaciones no han sido completamente elucidados. No obstante, diversos autores lo atribuyen a fenómenos epigenéticos mediados por la acción de los compuestos fenólicos provenientes de la dieta, por lo que cada vez son más los estudios que enfocan su interés en la investigación de dichas interacciones (Bag y Bag, 2018; Silva et al., 2019) .

Aunque los compuestos fenólicos son conocidos principalmente por su efecto antioxidante, se sabe

que el consumo prolongado y sostenido de fuentes alimentarias ricas en ellos, puede ocasionar cambios en la secreción y concentración plasmática de diversos mediadores con funciones fisiológicas específicas asociadas al adecuado funcionamiento del organismo (metabolismo energético, ingesta de alimentos, regulación hormonal, etc.). Recientemente se ha estudiado la capacidad de algunos compuestos fenólicos de regular la concentración de las principales hormonas encargadas de la regulación de la saciedad (Al Shukor et al., 2016; Boix-Castejón et al., 2018a; Haldar et al., 2018). Compuestos como la catequina, la epicatequina, el ácido clorogénico, el ácido gálico y las procianidinas han sido utilizados en modelos *in vivo* e *in vitro con* resultados positivos sobre la estimulación de hormonas anorexigénicas como la CCK y GLP-1 (Casanova-Martí et al., 2018; Planes-Muñóz et al., 2018; Serrano et al., 2017)

Lo anterior ha sido evaluado en los principales órganos secretores del tracto gastrointestinal, como el intestino delgado, uno de los principales implicados en la digestión y la regulación hormonal asociada al metabolismo energético, la regulación de la saciedad y a la absorción de nutrientes (Nuñez-Sánchez et al., 2017). Con base en lo anterior, es posible sugerir que los compuestos fenólicos pueden ejercer cambios significativos sobre órganos secretores de hormonas de saciedad, después de ser administrados en la dieta de forma constante y subcrónica (entre 29 y 90 días de duración), resultando en una alternativa viable para las terapias destinadas a la promoción de la salud física y bienestar.

Los frutos tropicales representan una muy buena fuente de fitoquímicos con actividad biológica, particularmente de compuestos fenólicos. Sin embargo, se requieren análisis en alimentos de uso común e importancia económica en México, para maximizar así su aceptabilidad y efectividad en el mayor número posible de consumidores. Particularmente, el aguacate es un fruto de gran relevancia nacional, su producción anual supera los 870 mil millones de toneladas, de las cuales, el 4% será destinada para la producción de aceite de aguacate. La transformación del fruto a aceite puede generar más de 40 millones de toneladas de subproductos al año. Estos subproductos consisten en cáscara, semilla y pulpa desgrasada, los cuales forman una pasta rica en compuestos fenólicos que actualmente no son aprovechados (SAGARPA, 2017). Aunque una fracción de estos compuestos fenólicos son extraídos durante la producción de aceite, la mayoría permanecen en la pasta de aguacate , donde la proporción de ácidos fenólicos puede ser de hasta un 90 %, con respecto a la pulpa en estado fresco (Song et al., 2015; Al Shukor et al., 2016). Debido a lo anterior, el aprovechamiento del subproducto de la producción de aceite de aguacate cv. 'Hass' (pasta de

aguacate), resulta de interés para su uso como un adyuvante en distintos propósitos de índole biológico, como la regulación de la saciedad, debido a la presencia de compuestos fenólicos capaces de influir sobre este este proceso fisiológico.

Estudios más específicos han evaluado el efecto del consumo de aguacate sobre la concentración de hormonas de saciedad, así como la sensación de saciedad subjetiva (Sabaté et al., 2015). Los autores evidenciaron que el consumo del fruto promovió una mayor concentración en los niveles de hormonas anorexigénicas como el péptido similar al glucagón (GLP-1) y el péptido tirosina tirosina (PYY), a su vez reportaron un aumento en la sensación de saciedad subjetiva y una disminución del impulso a ingerir alimentos. Lo anterior sugiere que el aguacate es una fuente de compuestos bioactivos con potencial uso para la formulación de alimentos funcionales destinados al manejo y control de la saciedad, por lo que resulta necesario continuar con el estudio de este fruto, sus compuestos y el mecanismo detrás de su influencia sobre las hormonas de saciedad.

Con base en lo anterior, se sugiere que tras la suplementación con el extracto fenólico extraído de la pasta de aguacate cv. 'Hass', se incrementará la concentración plasmática de hormonas de saciedad con efecto anorexigénico, mediado por cambios ejercidos en los órganos secretores de dichas hormonas, en respuesta al estímulo por los compuestos fenólicos. De esta forma, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto del consumo subcrónico (entre 29 y 90 días de duración) de una dieta suplementada con extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass', sobre la concentración de hormonas peptídicas inductoras de saciedad y biomarcadores relacionados, en un modelo murino.

2. ANTECEDENTES

2.1. La Obesidad: Desbalance Energético y Alteraciones de la Saciedad

El aumento de la prevalencia de obesidad y sobrepeso durante los últimos 30 años es considerado uno de los principales retos de salud pública a nivel mundial. Específicamente, la incidencia de obesidad durante las últimas décadas ha aumentado en proporciones pandémicas, trayendo consigo una amplia variedad de problemas sociales y perjuicios económicos para las naciones más afectadas. La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Una forma simple de medir la obesidad es el índice de masa corporal (IMC), esto es el peso de una persona en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros. Una persona con un IMC igual o superior a 30 es considerada obesa y con un IMC igual o superior a 25 es considerada con sobrepeso (OMS, 2020). Esta patología está fuertemente asociada con el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas como las cardiovasculares, reumáticas, endócrinas, oncológicas, entre otras. En vista de las consecuencias que se le atribuyen a dicho padecimiento, el interés en investigación ha ido en aumento durante los últimos años, con especial enfoque en entender su etiología para así diseñar estrategias útiles, prácticas y sustentables con el fin de disminuir su incidencia.

A pesar del creciente conocimiento disponible acerca de la obesidad y el desarrollo de nuevos tratamientos para la enfermedad, el número de personas fuera del rango normal de peso se encuentra en aumento constante, no sólo en países desarrollados, sino también mostrando un incremento en países en vías de desarrollo. Según la OMS (2016), la cantidad de personas con obesidad registradas a nivel mundial ascendía los 215 millones para el año de 1975, triplicándose en menos de 40 años. Para el año 2016, las cifras de sobrepeso alcanzaron los 1.9 billones de casos, de los cuales, más del 34% padecía de obesidad (NCD Risk Factor Collaboration 2017). Por otro lado, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2020) las cifras de obesidad en adultos (>20 años) en México imitaron la corriente global, con una prevalencia combinada de 75.2% (39.1% sobrepeso y 36.1% obesidad). Actualmente, estas cifras representan daños a la infraestructura en salud y economía del país, trayendo repercusiones a corto y a largo plazo, como

el incremento de enfermedades crónico-degenerativas derivadas de dicho padecimiento.

Según la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) (2018), México es el segundo país con mayor número de casos de obesidad a nivel mundial, superado únicamente por Estados Unidos. Siendo cada vez más los casos reportados en México, estimaciones proyectan que para el año 2030, uno de cada dos habitantes tendrá obesidad si no se toman medidas preventivas y correctivas (Rtveladze et al., 2014). El aumento a nivel global, a la par del nacional, ha llevado a la búsqueda de los mecanismos encargados de promover dicho padecimiento, para así establecer medidas preventivas que puedan detener el incremento y prevenir la incidencia de nuevos casos.

Un factor importante que influye sobre el desarrollo de la obesidad es el exceso en la ingesta energética. La estimulación por productos ricos en azúcares y lípidos, los cuales se asocian a una sobreestimulación del paladar y al sistema de regulación de saciedad, pueden influir en el aumento desmedido del consumo energético (Stice et al., 2013). De igual forma, estudios han reportado que las dietas altas en grasa, la inflamación causada por obesidad y la disbiosis colónica pueden dañar al endotelio intestinal, disminuyendo la secreción de las diversas hormonas inductoras de saciedad (Duca y Lam, 2014). Esta condición genera un ciclo constante, donde la presencia de obesidad generará una mayor alteración o falta de saciedad, teniendo como efecto un aumento en el padecimiento mismo, volviendo extremadamente difícil la recuperación por métodos convencionales. A pesar de la dificultad que representa la comprensión de los procesos que regulan la saciedad, su entendimiento resulta imperativo para direccionar nuevos tratamientos enfocados a este factor promotor de la enfermedad.

La información sobre los mecanismos que regulan la ingesta de alimentos y la saciedad, ha conducido a una mayor comprensión de la obesidad y ha permitido el desarrollo de suplementos y fármacos enfocados a la manipulación de dichos procesos. La ingesta de alimentos está sujeta a una regulación compleja por parte del hipotálamo y otros centros cerebrales, incluido el tallo cerebral y el hipocampo. El tracto gastrointestinal es el órgano endócrino más grande, al secretar una variedad de hormonas peptídicas que juegan un gran papel clave en la regulación de la saciedad (Panickar et al., 2013). Dichas hormonas son sintetizadas y liberadas por difusión a la vena porta hepática por células endócrinas, en respuesta a la ingesta de alimento y detección de nutrientes en el lumen intestinal. Las hormonas circulantes son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, donde interactuarán con receptores cerebrales encargados de integrar la señalización de todas y generar una respuesta coordinada al resto del organismo. El entendimiento de estos procesos

permite establecer el efecto que pueden ejercer diferentes compuestos nutricios y no nutricios para regular la saciedad, y, por consiguiente, crear una homeostasis de energía para la regulación del peso y demás factores causantes de obesidad.

2.2. Regulación de la Saciedad: Eje Intestino-Cerebro

Distintos procesos intervienen de forma sinérgica en el eje intestino-cerebro para coordinar la sensación de saciedad y el estímulo que promueve la ingesta de alimentos. Los núcleos vagales y el nervio vago inervan la mayor parte del tracto gastrointestinal, éste se encarga de la promoción de la saciedad y finalmente de los procesos asociados a la digestión (Wilson y Enriori, 2015). Estos nervios son estimulados por el cambio en la tensión viscosa cuando el alimento pasa por el tracto gastrointestinal, e indirectamente por estímulos químicos que activan los receptores del gusto, liberando péptidos de las células enteroendócrinas en la mucosa (Camilleri et al*.,* 2015). Algunos de estos péptidos actúan para inducir apetito (un efecto orexigénico, como la ghrelina), mientras que otros (colecistoquinina [CCK], péptido similar al glucagón-1 [GLP-1], leptina o el neuropéptido tirosina-tirosina [PYY]) inducen saciedad, logrando un efecto anorexigénico. El tronco encefálico controla el sistema nervioso entérico en respuesta a los nutrientes circulantes, modulando la función intestinal superior o señalizando a los circuitos hipotalámicos para reducir la ingesta de calorías (Panickar *et al.,* 2013). Dichos nutrientes pueden estimular a la vez la secreción de hormonas entéricas, que en conjunto con complejos procesos neuronales y endócrinos, atribuyen al eje que involucra a la saciedad y a la ingesta de alimentos.

La señalización que lleva al estado de saciedad es regulada por dichas hormonas y algunos neurotransmisores. La secreción de estas hormonas depende en gran parte del posicionamiento del tracto gastrointestinal por efecto de la peristalsis, ya que estos movimientos determinan la cantidad y tipo de células entéricas que estarán expuestas a los nutrientes, y por cuánto tiempo (Steinert et al., 2017a). La posterior señalización de las hormonas entéricas puede llevarse a cabo a través de tres distintos mecanismos: señalización paracrina (se lleva a cabo antes de la absorción de los nutrientes), señalización neuroendocrina (al tener un efecto sobre los aferentes neurales de las células vecinas) y finalmente por señalización en axones por medio de neurópodos (Bohórquez y

Liddle, 2011). Estas señalizaciones son integradas en el cerebro, teniendo como efecto la saciedad, que se ve reflejada en cambios físicos como la disminución en la velocidad de la peristalsis del tracto gastrointestinal (entre otros) y conductuales como la toma de decisiones para reducir la ingesta de alimentos.

Numerosas hormonas juegan un papel importante por su rol sobre la regulación de la saciedad, a través de su efecto sobre los distintos centros neuronales o fuera del sistema nervioso central (SNC), en los órganos de la periferia. Los adipocitos, el tracto gastrointestinal (estómago, intestino delgado y colon) y el páncreas son algunos de los principales sitios de producción y acción de estas hormonas. Una de las primeras hormonas implicada en la regulación de la ingesta de alimentos es la CCK, la cual está compuesta por un conjunto de péptidos con la secuencia Gly-Trp-Met-Asp-Phe en el extremo amino terminal y se caracteriza por una sulfatación en los residuos de tirosina. Esta hormona es secretada por las células I del duodeno y yeyuno en respuesta a ácidos grasos saturados y de cadena larga, aminoácidos y algunos péptidos (Gibbons et al., 2016). Además, estudios han demostrado que existe una reducción en el consumo de alimentos de forma dosis-dependiente de CCK en humanos y animales. Es decir, a mayores niveles de CCK, menor será el deseo de ingerir alimento (Rehfeld et al*.,* 2017). Por lo anterior, autores reportan que el aumento en la señalización de CCK pudiera ser una alternativa factible a la farmacoterapia enfocada en inducir saciedad (Steinert et al., 2017b).

Una baja concentración sérica de CCK se asocia a un aumento en la sensación de hambre y mayor impulso a consumir alimentos, por lo que la modulación de esta hormona pudiera tener efectos sobre la homeostasis de energía y el control del peso. Los nutrientes que atraviesan el lumen intestinal estimulan a las células I a través de distintos receptores, tales como CASR, CD36, FFAR1, FFAR4, GNAT3, LPAR5 y del gusto tipo 1, 2 y 3 (GT1, GT2 y GT3, respectivamente). Estudios han demostrado que estos receptores son de gran importancia para la regulación de la saciedad, por lo que modificaciones y polimorfismos en ellos podrían desencadenar en alteraciones en este proceso, teniendo como consecuencia un aumento de peso y desarrollo de enfermedades como la obesidad (Steinert et al., 2017b). Es por ello que la estimulación de dichos receptores pareciera ser una alternativa para promover y favorecer la inducción de saciedad.

Otra hormona anorexigénica de gran importancia por su participación e influencia en diversos procesos fisiológicos relacionados con la regulación de la saciedad, es el GLP-1. Éste es un péptido de 30 aminoácidos, derivado del procesamiento del precursor preproglucagon, sintetizado por las

células endócrinas L del tracto gastrointestinal tras la ingesta de nutrientes, especialmente glucosa (Camilleri, 2015). La concentración plasmática de esta hormona es baja durante el ayuno, pero incrementa de forma abrupta tras la ingesta de nutrientes. Diversos estudios han demostrado que uno de los roles principales de esta hormona es el inhibir la motilidad y el vaciamiento gástrico, al igual que la secreción de ácido gástrico, disminuyendo así la señalización biológica que promueve la ingesta de alimento (Meneguetti et al., 2019). Las atribuciones de esta hormona son mediadas por receptores localizados principalmente en el páncreas, y aunque su modulación es influenciada por acción de dicho órgano, el sitio donde se lleva a cabo la mayor regulación relacionada a saciedad ocurre en el cerebro. Sin embargo, la regulación de la saciedad no es el único objetivo de regulación de esta hormona, por lo que su vida media, secreción y modulación transcripcional dependen de distintas condiciones y procesos biológicos.

Otra de las principales hormonas relacionadas al control de la saciedad y del metabolismo energético es la leptina. Ésta es una hormona lipostática secretada en su mayoría por el tejido adiposo y en menor cantidad por los enterocitos (Harris, 2014). La leptina es capaz de ejercer diferentes efectos en el organismo, adaptando funciones específicas en proporción a la cantidad de tejido adiposo presente en el organismo. No obstante, su rol principal es la regulación de la saciedad, el cual ejerce a través de la disminución del apetito tras la estimulación de la secreción de otros péptidos anorexigénicos (hormonas como CCK, GLP-1, entre otros) por el hipotálamo. Además, promueve el metabolismo basal, reduce la lipogénesis y aumenta la lipólisis como vía de generación de energía (Abella et al., 2017). A pesar de que dicha hormona juega un papel importante en la regulación de la saciedad, estudios han demostrado que las personas con obesidad pueden generar una resistencia a la leptina. Es decir, los efectos de su señalización no ocurren debido a una poca o nula señalización de la hormona, ocasionados por un exceso en la producción de ésta, teniendo como consecuencia la supresión a la sensibilidad de la misma (Myers, Cowley, y Münzberg, 2008). No obstante, cuando no se presentan alteraciones metabólicas como el exceso de tejido adiposo (o demás padecimientos que podrían alterar la sensibilidad a la hormona), una mayor concentración circulante de leptina se relaciona de forma directa a una mayor sensación de saciedad e inhibición del apetito.

Por otro lado, la adiponectina es otra hormona peptídica secretada únicamente por los adipocitos del tejido adiposo blanco, aunque sus funciones no están directamente relacionadas al control y regulación de la saciedad, cumple un papel importante en la regulación del eje previamente

mencionado al modular la glicemia y promover la oxidación de lípidos para la generación de energía metabólica (Maeda et al., 2020). Adiponectina es una de las hormonas que se encuentran en mayor proporción en el torrente sanguíneo, pudiendo ser hasta 6 veces más abundante que la leptina. La concentración plasmática de adiponectina es inversamente proporcional al porcentaje de tejido adiposo, y, por ende, a la concentración de leptina. Una marcada deficiencia en la concentración circulante de adiponectina tiene como consecuencia una pobre regulación del metabolismo de la glucosa, pudiendo desencadenar complicaciones más graves como resistencia a la insulina, o diabetes (Wang y Scherer, 2016). Algunos componentes dietéticos como los lípidos y las dietas hipercalóricas son capaces de modificar negativamente a la señalización de esta hormona, por lo que el regularla positivamente pudiera traer beneficios que se reflejarían en un adecuado metabolismo energético y estado global de saciedad (Katsiki, Mantzoros, y Mikhailidis, 2017).

Debido a que estas hormonas se encuentran naturalmente en circulación por factores asociados al metabolismo energético, no es suficiente su presencia para inducir saciedad, por lo que resulta necesario traducir la concentración y acción de dichas hormonas a señalizaciones neurológicas, llevando a cabo el eje intestino-cerebro. Como se ha mencionado anteriormente, todas las señalas enviadas son integradas en el hipotálamo, el cual se conoce como el centro del apetito. Dentro del hipotálamo se encuentra el núcleo arcuato, este recibe las señales producidas por las mismas hormonas a través de los nervios vagales. El núcleo arcuato puede ser dividido en dos secciones: la primera es caracterizada por la presencia de neuronas que al ser activadas generan sensación de hambre, mientras que la segunda produce saciedad (Murphy, Dhillo, y Bloom, 2006).

Las neuronas encargadas de promover el hambre son aquellas que señalizan al neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con Agouti (AgRP). Por otro lado, las encargadas de suprimir el hambre señalizan con el polipéptido proopiomelanocortina (POMC). Por lo que la integración de las señales de saciedad se lleva a cabo en respuesta a la interacción de dichas moléculas con su respectivo receptor. En este sentido, cuando el NPY se une a su receptor, y la AgRP interacciona con el receptor de melanocortina 4 (MC4R), se promueve la sensación de hambre. En contraste, la presencia de POMC puede competir contra AgRP por dicho receptor, para así inhibir el hambre y promover la saciedad (Ueno y Nakazato, 2016). Este proceso se resume en la **Figura 1**.

Cada hormona con efecto sobre la regulación de hambre y saciedad tendrá su rol sobre la señalización y los diferentes procesos que se llevan a cabo para llegar hasta el cerebro, quien dicta

las órdenes de regulación en el consumo de alimentos. Esto pudiera ocurrir a través de una integración por el nervio vago (como ya se mencionó anteriormente), como en el caso de la GLP-1, CCK y PYY, o bien, como en el caso de la leptina, ejercer su efecto directamente sobre el cerebro al tener la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica, activando las neuronas de POMC e inhibiendo a las de NPY y AgRP (Kleinert et al., 2018).

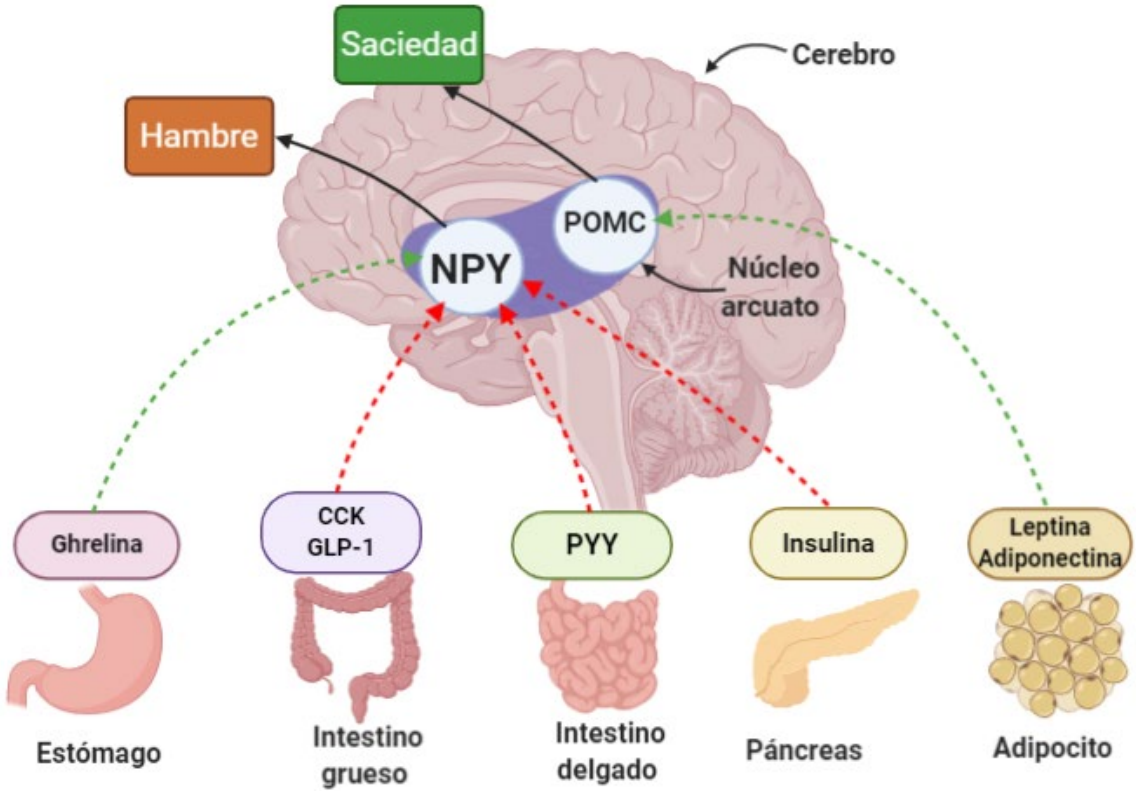


Figura 1. Principales vías de regulación de la saciedad por las diferentes hormonas peptídicas en el eje intestino-cerebro**.** Los tejidos y órganos son fuentes de péptidos que estimulan o inhiben a las neuronas reguladoras del apetito en el núcleo arcuato del hipotálamo. Dependiendo del balance de dicha estimulación e inhibición, esas neuronas secretan NPY, melanocortina, POMC, entre otros polipéptidos, para generar una sensación consciente de hambre o saciedad. El color verde en las flechas indica estimulación, mientras que el color rojo inhibición. CCK: colecistoquinina, GLP-1: péptido similar al glucagón, PYY: neuropéptido tirosina-tirosina, NPY: neuropéptido Y, POMC: proopiomelanocortina.

Por otro lado, la expresión de las diversas hormonas involucradas en la promoción de la saciedad depende de factores específicos inherentes a las características y condiciones de secreción a las que

éstas están sometidas. La expresión de las hormonas anorexigénicas (leptina, adiponectina, CCK y GLP-1) es específica al tejido regulatorio, puede verse influenciada por la etapa de desarrollo del individuo y está regulada en múltiples niveles (Rehfeld y Nielsen, 1995). Sin embargo, el control primario de la expresión se ejerce a nivel transcripcional, a pesar que los estímulos que la controlan son en gran parte desconocidos. En las células neuronales se ha informado que el mRNA de CCK está inducido por factores de crecimiento, AMP cíclico (cAMP), dopamina y estrógeno (Delghandi et al., 2005). Por otro lado, la expresión del gen de CCK y GLP-1 en el intestino está regulada principalmente por la ingesta de alimentos, pero los glucocorticoides también pueden estimular este proceso.

Muchas señales en el SNC se transducen a través de la unión de ligandos a su receptor específico, que a su vez activa proteínas G acopladas al receptor. La proteína G activada, activa a su vez a la enzima adenilato ciclasa, que convierte ATP en cAMP. El principal objetivo del cAMP en la mayoría de las células es que la proteína quinasa A (PKA) dependiente de cAMP, fosforile proteínas que participan en el control de una variedad de funciones biológicas (Monstein et al.,1990). La vía de señalización de cAMP estimula principalmente la transcripción de genes a través de la activación de CREB, el cual es un factor de transcripción expresado de manera ubicua e involucrado en una variedad de procesos biológicos. CREB se fosforila en el residuo Ser-133 en respuesta a cAMP, el cual es un proceso crucial para la transcripción mediada por CREB. Posteriormente, CREB fosforilado recluta la proteína de unión a CREB del coactivador transcripcional, que sirve como adaptador transcripcional, que une el CREB fosforilado a la maquinaria transcripcional basal (Hansen, 2001a).

Diversas hormonas del sistema enteroendócrino se expresan tanto en el tejido gastrointestinal y los adipocitos, como en el SNC. Las células de estos dos sistemas se derivan de las mismas células madre endodérmicas, y, por lo tanto, se cree que su desarrollo depende en parte de los mismos factores de transcripción (Rawdon y Andrew, 1993). Estudios de inactivación de genes han demostrado que los factores de transcripción implicados en la maduración de las células y en la regulación de los genes en el sistema nervioso también son necesarios para la diferenciación normal de las células y para la expresión de hormonas en el intestino. Situación que sugiere una posible alteración en la transcripción de hormonas a nivel intestinal, que pueda influenciar la secreción neuronal, mediada por compuestos que, a su vez, logren una estimulación de los receptores iniciadores del ciclo de transcripción anteriormente mencionado.

2.3. Tratamientos de Intervención Actuales y Alternativas Emergentes

Las estrategias utilizadas para el tratamiento de la obesidad y los desórdenes relacionados a ella se pueden clasificar en tres categorías principales: cambios en el estilo de vida, tratamientos farmacológicos y, como última instancia, cirugía bariátrica (le Roux & Heneghan, 2018). La restricción calórica aunada a un aumento en la actividad física son la primera línea de intervención, pero requieren de un tiempo prolongado para lograr resultados significativos (Haslam et al., 2016). Personas con hábitos de alimentación establecidos y que incluso pudiesen presentar alteraciones en los sistemas endócrinos, suelen tener problemas para cumplir con estas modificaciones en la dieta y actividad física, recuperando el peso perdido después de terminado el tratamiento (Mills, Larkin, Deng, & Thomas, 2019). Por ello, ciertos fármacos son prescritos frecuentemente como coadyuvantes a esta medida preventiva, con resultados superiores de pérdida de peso de hasta un 5% adicional, versus el cambio de estilo de vida por sí solo (Srivastava y Apovian, 2018). No obstante, el tratamiento farmacológico de la obesidad comprende un pequeño grupo de fármacos aprobados, cuyos efectos adversos a la salud generan opiniones conflictuadas y pueden variar entre individuos.

Históricamente, se han utilizado una gran variedad de fármacos para tratar la obesidad (**Cuadro 1**), sin embargo, gran porcentaje de ellos han sido retirados de los mercados por los efectos adversos a la salud presentados en una gran cantidad de individuos. Entre los efectos mayormente reportados se destacan la recuperación inmediata del peso (rebote), apnea del sueño, ansiedad, depresión, afectaciones cardiovasculares e incluso el desarrollo de adicciones (Fenske et al., 2011). Existen dos categorías de fármacos actualmente aprobados, agentes periféricos para la inhibición de nutrientes en el tracto gastrointestinal y agentes centrales que modifican los centros de saciedad en el cerebro (Saunders et al., 2018). Los fármacos con efecto sobre la saciedad son habitualmente del grupo de los simpaticomiméticos, los cuales aumentan las señales noradrenérgicas y dopaminérgicas, disminuyendo así las señales de hambre. Debido a que estos fármacos son estructuralmente similares a las anfetaminas, comparten a su vez efectos secundarios asociados al consumo de estos narcóticos (Fenske et al., 2011). Por consiguiente, la gran mayoría de ellos requieren aprobación médica antes de iniciar el tratamiento y seguimiento constante durante el mismo.

Cuadro 1. Farmacoterapia de la obesidad: mecanismo de acción y receptores blanco.

Fármaco	Descripción	Receptor blanco	Referencia
Sibutramina	Inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, noradrenalina y, en menor medida, de la dopamina en SNC*	↑ Activación de las neuronas de POMC ↓ Inhibición de las neuronas de NPY	(Kim, 2016)
Orlistat	Impide la absorción de los lípidos provenientes de alimentos en el TGI** por la inhibición de enzimas hidrolíticas	↓ Inhibición de la lipasa pancreática	(Avenell et al., 2018)
Lorcaserina	Agonista selectivo del receptor de serotonina 2C ($5\text{-}HT_{2C}$)	↑ Activación de las neuronas de POMC/CART	(Bohula et al., 2018)
Fentermina y topiramato	Acción amino-simpatomimética supresora de apetito (análogo atípico de anfetaminas)	No elucidado	(Rosa-Gonçalves & Majerowicz, 2019)
Liraglutida	Agonista del receptor de GLP-1 con un 97% de similitud con el GLP-1 humano	↑ Activación de las neuronas de POMC/CART	(Russell-Jones, 2009)
Naltexona y bupropión	Inhiben la recaptación de dopamina y noradrenalina, bloquea los receptores de β-endorfinas, prolongando la vida media de las neuronas de POMC.	↑ Activación de las neuronas de POMC/CART	(Igel et al., 2017)

SNC: Sistema nervioso central.
TGI: Tracto gastrointestinal.

Como se ha mencionado, son pocos los fármacos que aún permanecen en el mercado al no representar daños graves a la salud. A pesar de ser catalogados como seguros, diferentes estudios han demostrado efectos secundarios tras un tratamiento prolongado como dependencia, tolerancia, taquicardia, hipoglicemia, nausea, vómito, entre otros (Voigt y Fink, 2015). El promedio de pérdida de peso reportado al utilizar esta vía de tratamiento puede variar desde un 2.5% hasta un 5% del peso total anual, que si es medido en una persona con obesidad mórbida, no resulta suficiente para reducir los riesgos asociados a la enfermedad (Srivastava y Apovian, 2017). A su vez, este método debe ser acompañado de cambios en el estilo de vida, requiriendo de largos períodos de tiempo para presenciar cambios significativos (Coen y Goodpaster, 2016). Por ende, en el ámbito clínico

resulta común recurrir en casos de obesidad mórbida a tratamientos más invasivos como la cirugía bariátrica, la cual representa la última y más drástica instancia en el tratamiento de dicho padecimiento.

Nuevas alternativas coadyuvantes para el tratamiento de la obesidad han surgido debido a que las técnicas tradicionales de pérdida de peso no siempre son eficaces, y la cirugía bariátrica resulta invasiva e inaccesible (Wolfe et al., 2016). Los consumidores muestran un interés cada vez mayor por los ingredientes naturales y fácilmente accesibles, por lo que la industria hace énfasis en desarrollar productos con estas cualidades (Fonseca-Santos et al., 2015; Dostal et al., 2017). Sin embargo, estos deben ser evaluados y respaldados con evidencia científica para comprobar su eficacia, seguridad al consumidor y mecanismos de acción para poder atribuirles nuevas propiedades bioactivas. El principal enfoque de estos productos consiste en alterar los mecanismos de respuesta cerebrales para la homeostasis de energía y la conducta de saciedad con una subsecuente pérdida de peso (Manning, Pucci, & Finer, 2014). Bajo este contexto, el desarrollo de alternativas alimenticias con capacidad saciante y sin efectos adversos pudiera ayudar a los individuos a controlar su ingesta y por ende su peso corporal sin depender del estigma de la fuerza de voluntad que no siempre es eficaz como método de abordaje.

2.4 Compuestos Fenólicos como Moduladores de Hormonas Inductoras de Saciedad

Factores distintos a la nutrición pueden tener un efecto regulador en la concentración de las hormonas inductoras de saciedad, por lo que diversos estudios se han centrado en determinar cuáles compuestos específicos pueden llevar a cabo este mecanismo. Los compuestos fenólicos son algunos de los más importantes en la dieta, al estar ampliamente presentes en alimentos de origen vegetal. Estos son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, para cumplir funciones específicas en el crecimiento, desarrollo y sobre todo supervivencia o resistencia a las adversidades, ejercidas por estrés biótico y abiótico (Nimse y Pal, 2015). Existen diferentes formas de clasificar a estos compuestos; dependiendo de su estructura, se pueden clasificar como flavonoides y no flavonoides (**Figura 2**). Actualmente se conocen más de 6,000 flavonoides en la naturaleza, que se distinguen por su esqueleto de carbono C6-C3-C6 organizado como tres anillos fenólicos (A, B y

C). Dentro de esta clasificación se encuentran los flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas y antocianidinas. Por otro lado, los compuestos no flavonoides incluyen ácidos fenólicos derivados de ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos, estilbenos, cumarinas, lignanos, xantonas, taninos, entre otros (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

La creciente importancia de estos compuestos reside en su alto potencial antioxidante, así como en propiedades biológicas benéficas, tras ser ingeridos de forma constante como parte de la dieta. Los compuestos fenólicos resultan particularmente relevantes, al existir evidencia de que algunos de ellos pueden atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer efectos benéficos a nivel central y periférico. Debido a esto, estudios en animales y cultivos celulares han tratado de elucidar una relación entre estos compuestos y las hormonas encargadas de la regulación de saciedad y el gasto energético (Domínguez-Ávila et al., 2017). Entre los principales efectos ejercidos tras la administración de diferentes dosis de estos compuestos, están el aumento de la concentración de hormonas anorexigénicas, disminución de las orexigénicas, aumento en la saciedad subjetiva y modificaciones en los biomarcadores de saciedad, entre otros (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Tratamiento con compuestos fenólicos y su efecto sobre hormonas reguladoras de saciedad en distintos modelos.

Compuesto	Modelo	Dosis y tiempo	Efecto	Referencia
Quercetina, kaempferol, apigenina y rutina	Células SCT-1	20 µM de cada flavonoide (única dosis)	↑ CCK	(Al Shukor et al., 2016)
GEC	Células CaCo-2	100 µL (única dosis)	↑ CCK ↑ PYY ↑ GLP-1	(Song et al., 2015)
Proantocianidinas de extracto de semilla de uva	Modelo murino	*Ad libitum* por 8 días	↑ GLP-1	(Casanova-Martí et al., 2018)
Extracto rico en flavonoides de espinaca	Modelo murino	200 y 400 mg (única dosis)	↑ CCK. ↓Tiempo de secreción de CCK	(Panda y Shinde 2017)
Extractos fenólicos de jamaica y cedrón	Mujeres adultas con sobrepeso	500 mg/60 días	↑GLP-1 ↓Ghrelina ↓Medidas antropométricas	(Boix-Castejón et al., 2018b)
GEC	Mujeres adultas sanas	752 mg (única dosis)	↑Saciedad subjetiva ↑Adiponectina	(Fernandes et al., 2018)

GEC: galato de epicatequina

Se ha demostrado en estudios *in vivo*, en ratas alimentadas con dietas altas en grasa y suplementadas con compuestos fenólicos extraídos de plantas, que dichos compuestos tienen un efecto regulador del peso corporal y del tejido adiposo. Por ejemplo, la administración de compuestos fenólicos obtenidos de la cáscara y el fruto de *Camellia sinensis* mostró una disminución de hasta el 40% del tejido adiposo, 15% del peso corporal, así como de biomarcadores asociados a obesidad (Tian et al., 2013; Chaudhary et al., 2014). Por otro lado, al evaluar el efecto de los compuestos fenólicos de *Citrus limon* L. e *Ilex paraguariensis* en un modelo murino, se obtuvo como resultado una disminución del 18% en los niveles de triacilgliceroles, descenso en la ingesta de alimento, pérdida de peso del 44%, así como menor resistencia a la insulina de hasta un 75% (Lima et al., 2014; Fukuchi et al., 2008). A pesar de que se han logrado resultados prometedores, los mecanismos por los cuales se lleva a cabo esta regulación aún son inciertos y gran parte de las fuentes alimenticias

empleadas no son de uso común en México. Además, gran parte de estos estudios son evaluados de forma aguda, y los efectos del consumo de forma subcrónica, es decir, superior a 28 y menor a 90 días (en modelos murinos) ha sido poco reportado.

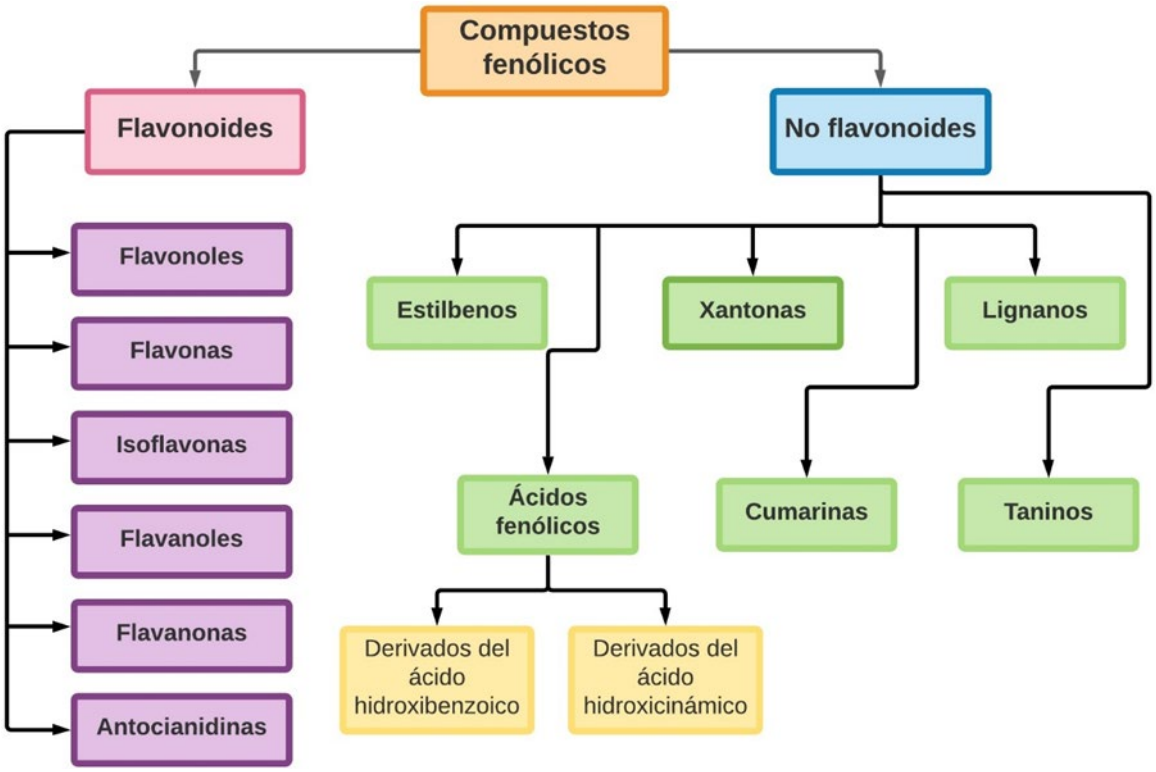


Figura 2. Clasificación general de los compuestos fenólicos en flavonoides y no flavonoides. Modificado de Shahidi y Ambigaipan (2015).

Aunque se desconoce la forma en que dicha modificación ocurre, son cada vez más los estudios que demuestran la influencia de la dieta y los compuestos contenidos en ella sobre la expresión de diversos genes y sus productos proteicos, de forma particular, se ha atribuido dicho potencial a los compuestos fenólicos. En estudios *in vivo e in vitro* donde se aplicaron distintas dosis de compuestos fenólicos derivados de diversas fuentes como vino, manzana y granada de forma constante y subcrónica (35 días), se modificó la expresión de genes relacionados a la inflamación en colon (efecto supresor), el sistema cardiovascular y tumoración (Dolara et al., 2005; Nicholson et al., 2008; Nuñez-Sánchez et al., 2017). Por consiguiente, es posible sugerir que los compuestos

fenólicos pueden ejercer cambios significativos en la regulación de genes y sus productos proteicos, tras ser administrados en la dieta de forma constante y subcrónica.

2.5. Subproductos de Aguacate como Fuente de Compuestos Fenólicos

La producción y procesamiento de frutos exóticos ha incrementado recientemente, debido a su alta demanda desde los distintos mercados internacionales. Dicho aumento es gracias a su aceptación sensorial por parte del consumidor, además del creciente reconocimiento de sus propiedades benéficas a la salud. A pesar de que el principal consumo de estos frutos es de forma directa dentro de la dieta, algunos de ellos poseen cualidades que los hacen óptimos para su procesamiento y la generación de nuevos productos, aumentando así su valor agregado (Ayala-Zavala et al., 2011). Cuando dicho procesamiento es llevado a cabo en masa, o en cantidades importantes (toneladas), desencadena en la generación de subproductos, los cuales son desechados directamente, promoviendo la contaminación ambiental, generación de plagas y gases orgánicos perjuiciosos. Entre los principales subproductos generados por el procesamiento de frutos están la cáscara y la semilla, ya que el mesocarpio (pulpa) suele ser el centro focal para el consumo y procesamiento, debido a sus características organolépticas, contenido de macronutrientes, de vitaminas y de diversos compuestos bioactivos (Sun-Waterhouse, Wen, Wibisono, Melton, y Wadhwa, 2009). Sin embargo, estudios han demostrado que tanto la semilla como la cáscara de algunos de estos frutos pueden ser fuentes significativas de compuestos bioactivos (como los compuestos fenólicos), por lo que su recuperación y aprovechamiento como aditivos o suplementos resulta de gran interés por sus propiedades biológicas (Leão et al., 2017).

El aguacate cv. ‘Hass’ es un fruto de gran relevancia económica en México. Es uno de los principales alimentos exportados (alrededor de 40 millones de toneladas anuales) y consumidos en el país (aproximadamente 7 kg per cápita), debido a su amplia variedad de usos y su valiosa composición nutricional. El fruto es de origen centroamericano y es considerado de tipo tropical y subtropical. El fruto es la baya de una semilla perteneciente a un árbol, su peso puede variar entre los 100 y 500 g y su pulpa está principalmente constituida por lípidos, además de contener micronutrientes como vitaminas, minerales, carotenoides, compuestos fenólicos y demás

compuestos bioactivos (**Figura 3**) (SAGARPA, 2017). El contenido total de pulpa puede llegar a representar alrededor del 68 % del fruto, mientras que la cáscara y la semilla conforman aproximadamente el 10% y 20%, respectivamente (Wang et al., 2010). La proporción de lípidos, el principal macronutriente en la pulpa de aguacate, representa alrededor del 55 % en peso seco, con un perfil de ácidos grasos caracterizado por compuestos mono- y poliinsaturados, los cuales han sido reconocidos por sus capacidades bioactivas en el organismo.

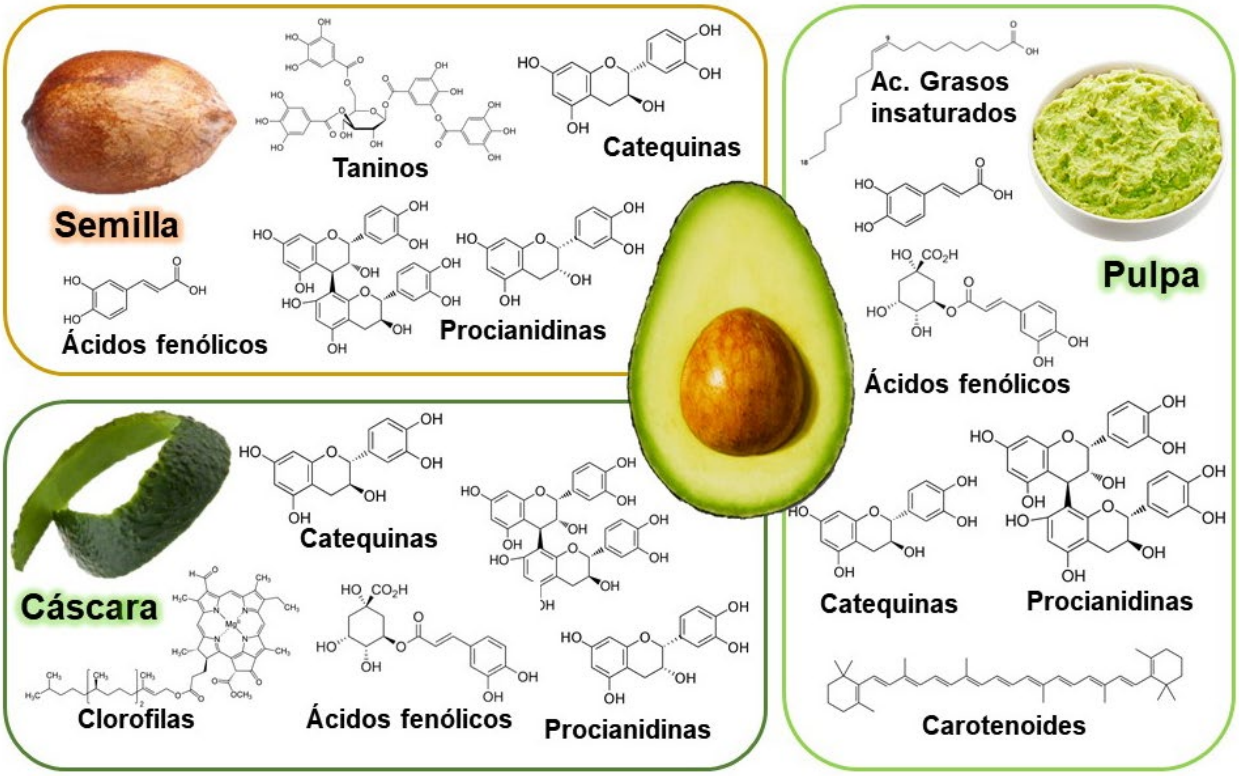


Figura 3. Principales compuestos bioactivos presentes en los subproductos (cáscara y semilla) y pulpa de aguacate cv. 'Hass'.

En estudios recientes, se ha reportado que las dietas enriquecidas con aguacate mejoran los perfiles de lípidos plasmáticos, en comparación con una dieta alta en carbohidratos en sujetos sanos y en aquellos con diabetes tipo 2 (Lu et al., 2009). Por ello y más, el conocimiento de los efectos benéficos a la salud por el consumo del fruto es bien reportado y validado por diversos estudios en el ámbito científico. Sin embargo, la incorporación en crudo a la dieta no es la única forma en que

el fruto es consumido. Gran parte de la producción y exportaciones de éste estarán destinadas a su procesamiento para la obtención de aceite de aguacate (entre otros productos de menor importancia económica), añadiendo valor agregado a su cultivo. La producción de aceite tiene como consecuencia la generación de subproductos como cáscara, semilla y pulpa desgrasada, los cuales representan aproximadamente el 50% del peso total de las exportaciones. Los subproductos generados no tienen un uso actualmente, por lo que el contenido de compuestos bioactivos en estas fracciones, particularmente los compuestos fenólicos, es desaprovechado.

Algunos de los principales compuestos fenólicos presentes en los distintos componentes del aguacate han sido ampliamente estudiados, y se ha determinado que el tipo y cantidad de cada compuesto dependerá enteramente del tejido evaluado. Por ejemplo, en la pulpa o mesocarpio se encuentran cantidades variables de ácido gálico, ácido clorogénico, epicatequina, ácido vanílico, ácido protocatéquico, así como quercetina y kaempferol en menor medida (Villa-Rodriguez et al., 2020). López-Cobo y col. (2016) evaluaron, además, el contenido de compuestos fenólicos presentes en la pulpa de aguacate utilizando cromatografía líquida de alta resolución. Los autores lograron identificar algunos ácidos fenólicos como el ácido sinápico, ácido *p*-cumárico y su rutinósido, glucósidos de ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, octil galato e isómeros del ácido feruloilquínico, variando de 0.7 a 8.5 mg/100 g de peso seco. Al mismo tiempo, los autores determinaron la presencia de catequina y epicatequina, reportando hasta 0.071 mg/g de peso seco. Entre otros compuestos encontrados destacaron las procianidinas, siendo las del tipo B las más presentes en el fruto en diferentes representaciones (dímeros, trímeros y tetrámetros), alcanzando un valor de 0.0394 mg/g de peso seco. El componente en mayor proporción en la pulpa fue el ácido *p*-cumárico (hasta 15 mg/mg de peso seco), sugiriendo que la pulpa de aguacate es una fuente importante de este ácido fenólico. Por lo anterior, el aguacate es una fuente importante de algunos flavonoides, procianidinas y ácidos fenólicos. Algunos de los principales compuestos fenólicos reportados en el aguacate se muestran en la **Figura 4.**

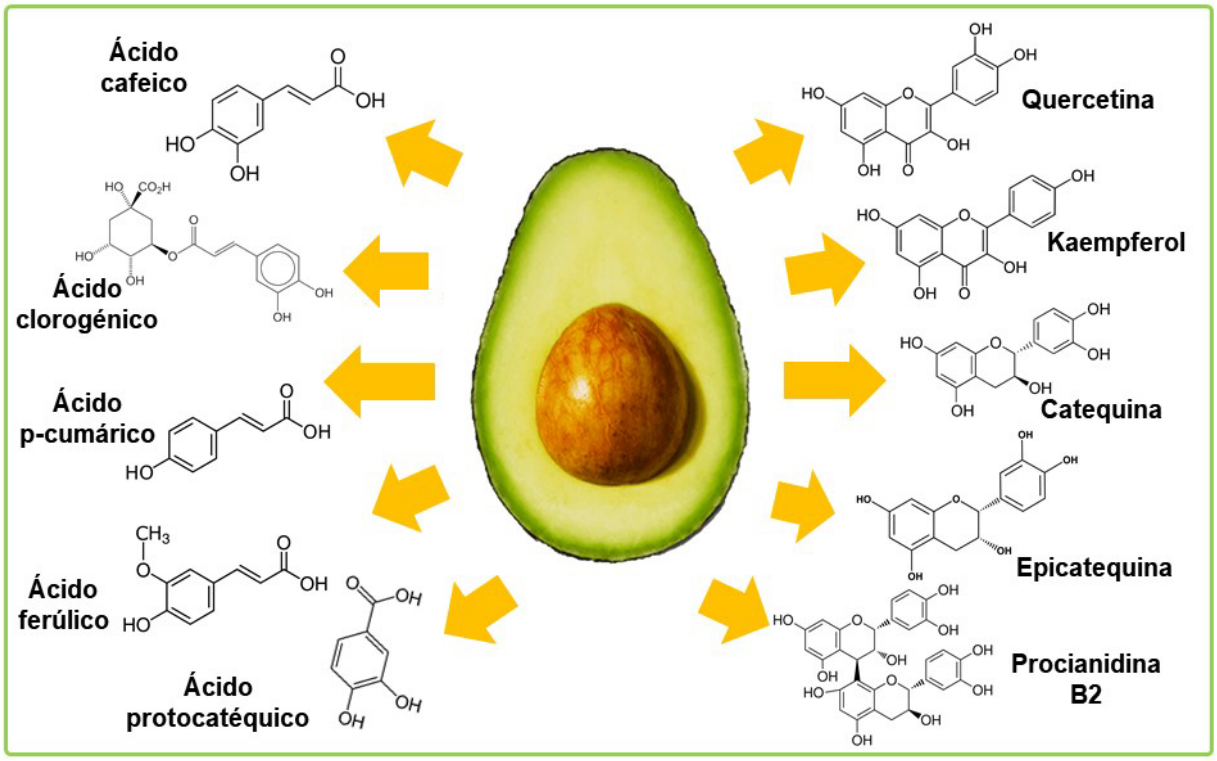


Figura 4. Principales compuestos fenólicos identificados en la cáscara, semilla y pulpa de aguacate cv. 'Hass'.

Cabe destacar que la presencia de compuestos fenólicos en la pulpa, es significativamente menor que lo encontrado en la cáscara y semilla del fruto, gracias a la naturaleza de dichos compuestos y la tendencia de éstos a estar más disponibles en esos componentes, no sólo en el aguacate, sino en cualquier fruto. Ayala-Zavala y cols. (2011) determinaron que el contenido de compuestos bioactivos (particularmente compuestos fenólicos y algunos ácidos grasos) en subproductos agroalimentarios como la cáscara, semilla y bagazo de frutos, supera de forma significativa la cantidad de dichos compuestos presentes en el mesocarpio del fruto (fracción comestible). En el caso del aguacate, se ha reportado que el contenido de compuestos fenólicos totales en la cáscara alcanza hasta los 25.32 mg equivalentes de catequina/g, mientras que en la semilla, el valor puede llegar hasta los 9.5 mg equivalentes de catequina/g, ambos en peso seco (Kosińska et al., 2012). Al analizar el perfil fenólico de la cáscara utilizando HPLC acoplado a masas, se lograron identificar 11 compuestos, siendo la catequina el compuesto mayoritario (148.8 µg/g de peso seco). Sin embargo, también se encontraron diversos ácidos fenólicos, derivados de quercetina y algunos

oligómeros de procianidinas.

Estudios complementarios reportan que, al analizar el perfil fenólico utilizando la misma metodología (HPLC), se lograron identificar alrededor de 84 compuestos distintos, siendo los más destacados algunos ácidos fenólicos, taninos condensados y flavonoides. Además, se le atribuye la mayor capacidad antioxidante a la notable presencia a derivados de ácidos hidroxicinámicos, catequinas y procianidinas. Finalmente, destacan también otros compuestos reportados como el ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, entre otros (Kosińska et al., 2012; Rosero et al., 2019; W. Wang et al., 2010). De acuerdo a lo anterior, se ha determinado que los tres componentes del aguacate, cáscara, semilla y pulpa, son buenas fuentes de compuestos con actividad biológica, y su aprovechamiento es de suma importancia para su uso como ingredientes funcionales.

Como se ha mencionado previamente, el procesamiento del fruto genera un valor agregado, por lo tanto, hace su cosecha más rentable y costo-eficiente. Por lo que el aprovechamiento integral de la porción comestible y de sus subproductos, resulta de vital importancia para la industria productora de aguacate en México. Debido a que la obtención de aceite es el método de procesamiento para el cual el aguacate es utilizado, gran parte de los compuestos químicos hidrofílicos o anfipáticos se pierden en las porciones restantes o subproductos generados. Por el carácter anfipático de los compuestos fenólicos, una porción de estos es extraído en el aceite, sin embargo, un mayor porcentaje permanecen en los subproductos resultantes (López-Cobo et al., 2016).

Los compuestos fenólicos contenidos en el fruto son algunos de los principales asociados a la regulación de saciedad por modificación de la concentración de hormonas entéricas (reportado en otras matrices alimentarias), por lo que su posible efecto sobre la regulación de este proceso biológico no puede ser descartado. Recientemente, en un estudio realizado en humanos donde se administró pulpa de aguacate para evaluar su efecto sobre la saciedad subjetiva y global, se reportó un aumento en la saciedad subjetiva y un aumento en la secreción de hormonas anorexigénicas como el GLP-1 (Haddad *et al.,* 2018). De igual forma, un estudio realizado por Sabaté y cols. (2015) reporta el efecto postprandial del consumo de aguacate sobre algunas de las principales hormonas de saciedad, en pacientes con sobrepeso. Tras administrar una porción de aguacate (1/2 pieza), los autores reportaron un incremento en la concentración sérica de leptina, así como en la de GLP-1. Sin embargo, los autores concluyen con la recomendación de realizar más estudios, esto debido a los altos niveles de error obtenidos y las inconsistencias asociadas a ello. El mecanismo de acción por el cual estas interacciones pudiesen haber ocurrido no fue evaluado, así como los

factores que podrían interferir sobre la secreción de estas hormonas.

Si bien, se ha buscado relacionar el consumo del fruto con una regulación positiva de la saciedad, no se hace énfasis en qué componentes de éste pudiesen estar llevando a cabo dicha regulación. Algunos de los compuestos fenólicos presentes en el aguacate cv. 'Hass', han sido previamente asociados con la modificación de la concentración plasmática de hormonas entéricas de saciedad, estudiado en diferentes matrices. De igual forma, estudios realizados en cultivos celulares y modelos murinos han demostrado el efecto de algunos de estos compuestos fenólicos para estimular o inhibir factores de transcripción y receptores asociados al metabolismo, composición corporal e inflamación a nivel intestinal, teniendo como efecto una mayor expresión de genes y productos proteicos de interés (Delghandi et al., 2005; Hansen, 2001b; Moon et al., 2007). Por lo que el efecto tras la exposición subcrónica de estos compuestos fenólicos, pudiera mediar la concentración plasmática de las hormonas de interés, a través de la estimulación a nivel intestinal de las células secretoras. Esta situación culminaría con una mayor y mejor producción de dichas hormonas entéricas, entre otros compuestos de interés (M.-J. Zhu, 2018). A pesar de existir diferentes métodos o factores que estimulen la secreción de estas hormonas, la exposición continua a compuestos que estimulen dicha acción pudiera tener un efecto sobre la saciedad del individuo a largo plazo.

3. HIPÓTESIS

El consumo subcrónico de una dieta suplementada con extracto fenólico de pasta de aguacate cv. ‘Hass’, ejerce un efecto de saciedad, al incrementar la concentración plasmática de hormonas inductoras de saciedad, en un modelo murino.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del consumo subcrónico de una dieta suplementada con el extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass', sobre la concentración plasmática de hormonas inductoras de saciedad y biomarcadores asociados, en un modelo murino.

4.2 Objetivos Específicos

1. Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante del extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass'.
2. Evaluar el efecto subcrónico de una dieta suplementada con extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass', sobre el consumo de alimento, cambio de peso, composición corporal y biomarcadores plasmáticos en un modelo murino.
3. Evaluar el efecto subcrónico de una dieta suplementada con extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass', sobre la concentración plasmática de hormonas de saciedad (CCK, GLP-1, leptina y adiponectina) en un modelo murino.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los experimentos con seres vivos se realizaron de acuerdo a las políticas de ética para el cuidado, manejo y manipulación de animales de experimentación del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), contando con la aprobación del proyecto por parte del comité de ética de esta institución (CE/014_1/2019). El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales de la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal del CIAD unidad Hermosillo, en colaboración con el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sonora.

5.1 Materia Prima y Obtención del Extracto Fenólico

La pasta de aguacate fue donada por la empresa AVOLEO S.A de C.V, ubicada en Uruapan, Michoacán. La muestra fue enviada bajo refrigeración y consistió en una mezcla homogénea de cáscara, semilla y pulpa desgrasada, los cuales son subproductos generados después del procesamiento y obtención en frío de aceite de aguacate. Tras su recepción en el laboratorio, la pasta de aguacate fue empacada en bolsas selladas con aproximadamente 200 g de la muestra, para posteriormente ser congelada a -35 °C y liofilizada utilizando un liofilizador de charolas FreeZone (Labconco, EUA). La muestra liofilizada fue posteriormente pulverizada en licuadora y almacenada en bolsas de cierre hermético, con una mínima exposición a oxígeno y luz a -20 °C hasta su posterior uso.

Para la obtención del extracto fenólico, se realizó una extracción etanólica basada en la metodología descrita por Palafox-Carlos *et al*. (2012). La pasta fue homogenizada a temperatura ambiente, en un tubo de 50 mL, con una solución de etanol (Sigma-Aldrich, EUA) y agua (80:20 v/v) en proporción 1:20 p/v. Posteriormente, el homogenizado fue sometido a sonicación durante 30 min, utilizando un sonicador Bransonic 2210 (Bransonic Ultrasonic, EUA), con temperatura del agua controlada (<20°C). La muestra sonicada fue centrifugada a 9400 x *g* durante 15 min a 4 °C; se recuperó el sobrenadante obtenido y el residuo fue sometido a dos extracciones más, utilizando

una proporción 1:10 p/v de la solución de extracción, siguiendo las mismas condiciones previamente descritas. Los sobrenadantes fueron recolectados y filtrados utilizando papel filtro Whatman No. 1, lo recuperado fue evaporado a plenitud utilizando un baño de agua (Büchi B-490, Büchi, Suiza) a 35 °C, con el fin de eliminar el solvente de extracción y así evitar la toxicidad por exposición a etanol. Una vez evaporado el solvente, el extracto fue resuspendido en agua para posteriormente ser congelado a -35 °C y liofilizado hasta obtener el extracto concentrado en seco, el cual fue almacenado a -20°C para su posterior uso.

5.2 Cuantificación de los Compuestos Fenólicos Totales en el Extracto

Se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos totales de la pasta de aguacate, ya que, como se mencionó anteriormente, ésta es un subproducto industrial y cuya concentración de compuestos bioactivos no ha sido estudiada previamente. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Singleton y Rossi (1965) con mínimas adaptaciones. Se colocaron 30 µL de extracto en una placa de 96 pocillos, inmediato a esto se añadieron 150 µL de reactivo de Folin (2 N) y 120 µL de carbonato de sodio (7.5 %). La mezcla de reacción fue incubada por 30 min a temperatura ambiente, para posteriormente ser leída en un espectrofotómetro FLUOstar Omega (BMG Labtech, EUA) a 765 nm. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico/g de peso seco (mg EAG/g PS).

5.3 Medición de la Capacidad Antioxidante del Extracto

La capacidad antioxidante fue determinada en el extracto fenólico de pasta de aguacate cv. ‘Hass’, utilizando tres de los métodos más convencionales para determinar dicha variable, DPPH, FRAP y ORAC. La capacidad antioxidante por el método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil) fue determinada utilizando el método propuesto por Brand-Williams, Cuvelier, y Berset (1995). Se preparó una solución del radical a una concentración de 25 ppm disuelto en etanol puro, se ajustó

la absorbancia de la solución a 0.700 ± 0.020, a 515 nm con un espectrofotómetro FLUOstar Omega. Una vez ajustada la absorbancia, se mezclaron 20 µL de extracto con 280 µL de radical, en una microplaca de 96 pocillos. La placa fue posteriormente incubada durante 30 min y se leyó su absorbancia a 515 nm. Los resultados fueron transformados a porcentaje de inhibición y expresados como mg equivalentes de Trolox ((ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxilico) /g PS (mg ET/g PS).

La capacidad antioxidante utilizando la metodología del poder antioxidante de reducción de hierro (FRAP, por sus siglas en inglés) fue determinada utilizando el método propuesto por Benzie y Strain (1996). Se prepararon tres soluciones: a) buffer de acetato de sodio (0.03 M, pH 3.6) (NaAc), b) solución TPTZ 10 mM (0.031 g en 10 mL de HCL 40 mM) y c) solución de cloruro férrico ($FeCl_3$) 20 mM (0.05406 g en 10 mL de H_2O). Para preparar el reactivo de FRAP, se mezclaron 5 mL de NaAc, 0.5 mL de TPTZ y 0.5 mL $FeCl_3$. Para la determinación de la capacidad antioxidante, se mezclaron 20 µL de extracto con 280 µL del reactivo FRAP, posteriormente, la mezcla se incubó 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia fue leída a 595 nm usando un espectrofotómetro FLUOstar Omega. La concentración de Fe^{+2}, fue calculada con la comparación de la absorbancia a 595 nm con el estándar Trolox de la curva de concentración. La capacidad antioxidante fue expresada como mg ET/g PS.

La capacidad antioxidante de acuerdo a la metodología de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés) fue determinada utilizando el método propuesto por Robles-Sánchez et al., (2009). Para ello, se preparó una mezcla de reacción que contenía 100 µL de extracto, 1.65 µL de buffer de fosfatos 75 mM (pH 7.0), 150 µL de reactivo AAPH [2,2′-azobis(2-metilpropionamidina) dihidrocloruro, 0.8 M] y 100 µL de fluoresceína (0.106 µM). Las muestras fueron pre-incubadas durante 15 min a 37 °C, y posteriormente se agregó la solución de AAPH. La emisión de la fluoresceína fue observada en intervalos de 5 min hasta alcanzado menos del 5% del valor inicial. Se utilizó buffer de fosfatos como blanco, y las muestras fueron contrastadas con una curva estándar de Trolox para expresar los resultados como mg ET/g PS.

5.4 Bioensayo

Se utilizaron 24 ratas Wistar macho jóvenes de entre 1 y 2 meses de edad con peso inicial de 150-200 g, las cuales fueron proporcionadas por el bioterio del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Sonora. Los animales de experimentación se mantuvieron en el bioterio del CIAD durante 10 semanas (de noviembre de 2019 hasta febrero de 2020). Éstos fueron alojados en jaulas metálicas individuales, bajo condiciones de temperatura controlada (25 ± 2 °C), ciclos de luz-oscuridad de 12 h (09:00-21:00) y agua y alimentación *ad libitum* en plato de metal y bebedero con agua potable.

Previo al inicio del bioensayo, los animales fueron sometidos a dos semanas de aclimatación a la dieta, condiciones ambientales, espacio y manejo por parte del evaluador (sometimiento, pesado y manipulación). Al finalizar la aclimatación, los animales se distribuyeron en cuatro grupos, homogenizando los pesos para lograr una desviación estándar similar para cada grupo. Los grupos fueron asignados a consumir una de las cuatro dietas experimentales elaboradas, dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG) y estas mismas suplementadas con el extracto fenólico de la pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF). Las dietas fueron elaboradas manualmente en el laboratorio, utilizando material y equipo sanitizado y adaptado para consumo, en condiciones inocuas.

La composición de la DE está basada en la dieta de mantenimiento con macronutrientes balanceados Laboratory Rodent Diet 5001 (Círculo ADN, México), mientras que la DAG se elaboró con base a lo reportado por Domínguez-Avila et al., 2015. El aporte calórico de cada macronutriente se presenta en el **Cuadro 3**, en donde se muestra que la DE y la DAG, además de las suplementadas con el extracto fenólico, diferían en su porcentaje de carbohidratos y lípidos, pero mantuvieron la misma densidad energética (isocalóricas). Asimismo, el porcentaje de proteína y micronutrientes fue similar en todas las dietas y adecuado para el crecimiento de roedores de esta edad. La composición detallada de las dietas se presenta en el **Cuadro 4.**

Cuadro 3. Distribución del porcentaje de calorías provenientes de macronutrientes de las dietas experimentales.

Dieta	Carbohidratos	Lípidos	Proteína	Extracto fenólico	Densidad energética
DE	57 %	15 %	28 %	-	2.92 kcal/g de dieta
DAG	22 %	50 %	28 %	-	
DE + EF	57 %	15 %	28 %	1 g/kg de dieta	
DAG + EF	22 %	50 %	28 %	1 g/kg de dieta	

DE: dieta estándar, DAG: dieta alta en grasa, EF: extracto fenólico.

Cuadro 4. Composición de las dietas experimentales (g/kg).

Ingrediente	DE	DAG	DE + EF	DAG + EF
Almidón[1]	399	113	399	113
Sacarosa	30	30	30	30
Celulosa	60	60	60	60
Caseína[2]	257.30	258.30	257.30	258.30
Aceite vegetal	23.75	80.45	23.75	80.45
Manteca vegetal	23.75	80.45	23.75	80.45
Mix de vitaminas[3]	18	18	18	18
Mix de minerales[4]	60	60	60	60
Cloruro de colina[5]	2	2	2	2
Agua	126.2	297.80	126.2	297.80
Extracto fenólico[6]	-	-	1	1

DE: dieta estándar, DAG: dieta alta en grasa, EF: extracto fenólico. Todos los macronutrientes fueron ajustados para brindar la misma cantidad de energía en ambas dietas. Bio-Serv #3200[1], #1100[2], #F800[3], #6105[5], extracto etanólico extraído de acuerdo a lo descrito en la metodología[6].

El bioensayo tuvo una duración de ocho semanas después concluidas las dos semanas de aclimatación. El porcentaje de tejido adiposo corporal de los animales fue cuantificado al inicio y final del experimento, utilizando absorciometría dual de rayos X (DXA) con un densitómetro (Hologic mod. ASY-05119, EUA). Para ello, se introdujeron los datos de peso y talla de los animales en el Software Lunar versión 5.0 (Lunar, EUA) y se recopilaron los datos generados. Los animales se colocaron y sujetaron firmemente al equipo (previamente anestesiados con 40 mg/kg de peso de pentobarbital sódico), según el protocolo estipulado para la medición en roedores y las condiciones del fabricante. De igual forma, al inicio y final del bioensayo se realizó la medición de glicemia en ayuno (OneTouch UltraMini® meter, LifeScan, EUA), así como del perfil lipídico

(triacilgliceroles, colesterol total, HDL y LDL). Durante las ocho semanas del bioensayo, se registró diariamente el consumo de alimento y tres veces por semana el peso corporal utilizando una balanza digital, con el objetivo de monitorear la ingesta dietaria y el aumento de peso.

Al término del bioensayo, los animales se anestesiaron con 120 mg/kg de peso de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal; tras confirmar la ausencia total de reflejos se practicó la eutanasia. Se diseccionaron el tejido adiposo epididimal, duodeno e íleon, los cuales fueron lavados con buffer de fosfatos (pH=7.0), y se conservaron para análisis posteriores. De igual forma, se obtuvo una muestra de sangre, para cuantificar la concentración de hormonas de saciedad y perfil lipídico.

El perfil lipídico se cuantificó utilizando kits comerciales para la determinación de colesterol total #1010-430, colesterol HDL #0590 y triacilgliceroles #2100 (Stanbio, EUA); la concentración de colesterol LDL se determinó de acuerdo a la Ecuación 1:

$$LDL = colesterol\ total - HDL - (\frac{Triacilgliceroles}{5}) \quad (1)$$

5.5. Cuantificación de Hormonas

Las muestras sanguíneas fueron almacenadas en tubos con anticoagulante (Vacutainer®, BD, Inglaterra), posteriormente, fueron centrifugadas a 3500 x *g*/15 min para la total obtención del plasma. El plasma fue alicuotado en tubos Eppendorf estériles y almacenados a -80 °C hasta su posterior uso. La cuantificación de hormonas se realizó utilizando kits comerciales ELISA, siguiendo las metodologías descritas por el proveedor para cada kit en cuestión. Para la hormona CCK se utilizó el kit ELISA LS-F13108, para GLP-1 el kit LS-C183012, para adiponectina el kit LS-C19515 y para leptina el kit LS-B4651, todos del mismo proveedor (LifeSpan BioSciences Inc., EUA). Al finalizar cada ensayo, se obtuvieron las absorbancias de la reacción utilizando un espectrofotómetro (FLUOstar Omega). Las absorbancias obtenidas fueron analizadas mediante una regresión logarítmica de cuatro parámetros (4-PL), expresando la concentración como pg/mL (CCK, GLP-1 y leptina) o ng/mL (adiponectina).

5.6. Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Los resultados correspondientes a la caracterización del extracto se analizaron utilizando estadística descriptiva: media ± error estándar. Se realizaron pruebas de normalidad para asegurar el comportamiento de los datos. Las variables de respuesta fueron el contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante por ORAC, FRAP y DPPH. Para el bioensayo se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, homogenizando los pesos para cada grupo de experimentación. Primeramente, se comprobó la normalidad de los datos, tras confirmarla, se realizó estadística descriptiva para los datos obtenidos, utilizando medias ± error estándar.

El diseño del experimento se dividió en dos etapas: La primera etapa consistió en el análisis de los datos utilizando un análisis de varianza (ANOVA) con bloques completos con un nivel de confianza del 95% y una significancia de $p<0.05$, utilizando como factor los grupos experimentales (DE, DAG, DE + EF y DAG + EF), como variable respuesta el consumo diario de alimento, ganancia de peso y cambio del porcentaje de tejido adiposo, finalmente se bloqueó el tiempo transcurrido en semanas durante el bioensayo.

La segunda etapa consistió en un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía o unifactorial, con un nivel de confianza del 95% y una significancia de $p<0.05$, teniendo nuevamente como factor de variación a los grupos experimentales y como variable de respuesta la concentración de hormonas plasmáticas: adiponectina, leptina, colecistoquinina y GLP-1. Para ambos casos, de haber obtener diferencias significativas se realizaron comparaciones de medias utilizando el método de Tukey-Kramer con un nivel de confianza del 95% ($p<0.05$). Los análisis estadísticos fueron realizados en el software NCSS 2020 (Statistical Analysis and Graphics, EUA) y las gráficas fueron diseñadas en SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., EUA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Compuestos Fenólicos Totales y Capacidad Antioxidante del Extracto Fenólico

El contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante (determinada por tres ensayos distintos) del extracto fenólico de pasta de aguacate se resumen en el **Cuadro 5.** El contenido de compuestos fenólicos totales fue superior a lo reportado en la literatura para el mesocarpio (pulpa) del aguacate de la misma variedad (0.92 mg EAG/g PS), sin embargo, fue significativamente menor a los valores en la cáscara y en la semilla, 78.41 y 35.11 mg EAG/g PS, respectivamente (Rodríguez-Carpena et al., 2011; Villa-Rodriguez et al., 2020). Estas diferencias en la concentración de compuestos fenólicos totales en la pasta de aguacate, en comparación a la disponible en la cáscara y la semilla por separado, son esperados, ya que la pasta de aguacate está compuesta por las tres fracciones del fruto, previamente desgrasadas. Algunos compuestos fenólicos pueden perderse durante la extracción de los lípidos debido a su naturaleza anfipática, al igual que por el efecto del procesamiento, manejo y molienda del fruto. A pesar que la incorporación de la cáscara y la semilla logran incrementar el contenido de compuestos fenólicos, al estar estos degradados, no logra igualar al de dichas fracciones en su estado fresco o recién procesado.

Cuadro 5. Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante, cuantificada por tres métodos, del extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass'.

Muestra	Compuestos fenólicos totales	DPPH	FRAP	ORAC
Extracto fenólico	1.95 ± 0.13	2.52 ± 0.06	3.77 ± 0.03	8.86 ± 0.19

Valores expresados como media ± desviación estándar de al menos tres repeticiones. Compuestos fenólicos totales expresados como mg EAG/g PS, capacidad antioxidante por DPPH, FRAP y ORAC expresada como mg ET/g PS. EAG: Equivalentes de ácido gálico; ET: Equivalentes de Trolox.

La capacidad antioxidante del extracto de pasta de aguacate presenta un comportamiento similar, al ser comparada con los datos reportados para los diferentes tejidos del fruto por separado. Respecto a los resultados obtenidos para la prueba de DPPH, se encuentra que éste fue similar, pero ligeramente inferior al valor reportado por Wang y cols., (2010) para la pulpa, siendo éste de 2.90 mg ET/g PS. No obstante, al comparar los valores de la semilla y la cáscara (107 y 158 mg ET/g PS, respectivamente), éstos exceden de forma significativa lo reportado para la pasta de aguacate del presente estudio. Lo anterior puede ser explicado al comparar el fenómeno observado con los compuestos fenólicos totales, además que, al trabajar con un subproducto, se espera que algunos de estos compuestos bioactivos y fenólicos presentes en la pasta pudieran estar degradados, disminuyendo así la capacidad antioxidante de la pasta (Ayala-Zavala et al., 2011). Por otro lado, al trabajar con un producto, solamente se puede asumir la proporción de pulpa desgrasada, semilla y cáscara que conforman la pasta de aguacate, ya que, al ser una mezcla homogénea, no es posible saber con exactitud cuál es la proporción correcta.

De igual forma, las pruebas realizadas para FRAP y ORAC presentaron un comportamiento similar al de DPPH, en el cual, los valores encontrados en el presente estudio fueron significativamente inferiores a los reportados por distintos autores trabajando con las partes del fruto por separado. Por ejemplo, Segovia y cols., (2018) reportan 79.24 mg ET/g PS en la semilla para FRAP, mientras que para ORAC se reportan valores hasta de 77.58, 117.63 y 70.25 mg ET/g PS para semilla y pulpa, respectivamente (Kosińska et al., 2012; Villa-Rodríguez et al., 2011). Estos valores son hasta 10 veces más elevados de los encontrados en la pasta de aguacate.

Lo anterior podría justificarse al considerar las prácticas de manejo de la pasta de aguacate, ya que, por tratarse de un desecho sin relevancia económica para la industria, estas no son las óptimas. En un estudio realizado por García-Lomillo et al., (2017), donde buscaban añadir bagazo de uvas de vino tinto para incrementar la capacidad antioxidante de carne de res, determinaron que la bioactividad del bagazo dependía de forma significativa del manejo y manipulación del subproducto, siendo ésta mayor cuando se tomaban medidas precautorias como un adecuado manejo y almacenamiento con temperatura, humedad y exposición a la luz solar controladas. Debido a esto, se propone que la bioactividad de la pasta de aguacate, específicamente su capacidad antioxidante, puede verse modificada tanto por la composición de ésta (porcentaje de pulpa, semilla y cáscara), así como por su manejo y manipulación.

Saavedra y cols., (2017), tras identificar el gran potencial de los subproductos de aguacate, proponen un método de conservación de bajo costo para la pasta de aguacate, el cual tuvo un efecto positivo sobre la preservación de los compuestos fenólicos, conservando de igual forma la bioactividad de éstos. Los autores proponen el uso del secado por convección, en un rango de temperatura de 45 °C a 75 °C con flujo de aire constante (0.8 m/s a 1.8 m/s), logrando una conservación de hasta el 62.82% del contenido de compuestos fenólicos totales en el subproducto, en comparación con el fruto en fresco. No obstante, con los resultados obtenidos en el presente estudio, y a pesar de trabajar con un subproducto industrial al cual no se le dio ningún tipo de procesamiento adicional al empaquetado al vacío y refrigerado, aún hay remanentes significativos de los compuestos fenólicos de interés, que inclusive conservan parte de su funcionalidad y bioactividad, por lo que es viable su uso para la elaboración de alimentos funcionales y nutracéuticos.

6.2 Bioensayo: Biomarcadores Sanguíneos

Existen estudios que reportan un efecto protector de las células β del páncreas por efecto de algunos ácidos fenólicos y flavonoides al reducir y regularizar los niveles de glucosa en ratas hiperglucémicas. El efecto protector de dichos compuestos también se logró visualizar en muestras histológicas del páncreas, además que se logró disminuir la pérdida de peso asociada a los signos clínicos de la diabetes (Bhadoriya et al., 2018). De igual forma, se ha demostrado que dichos compuestos pueden a su vez promover la transcripción de genes relacionados con la regeneración de las células β, disminuyendo la apoptosis y estimulando la secreción de insulina por las células remanentes, en modelos con diabetes inducida (Wang et al., 2014). A su vez, se ha demostrado que estos compuestos, al incrementar la concentración de GLP-1 por parte de las células L del intestino delgado, se estimula la secreción de insulina postprandial y mejora su respuesta a nivel periférico (Domínguez Avila et al., 2017).

En el **Cuadro 6** se muestran los niveles de glucosa sanguíneos de los animales de experimentación antes (0 semanas) y después (8 semanas) del ensayo, los niveles de glucosa tanto al inicio como al final del bioensayo se encontraron en datos normales correspondientes a la edad y el sexo (Cázares-

Camacho et al., 2020). Los grupos experimentales comenzaron el ensayo con valores de glucosa estadísticamente iguales ($p>0.05$). Lo anterior era esperado, ya que los grupos fueron homogenizados con este particular propósito de evitar sesgos y variaciones entre grupos, por lo que se esperaban dentro de un mismo rango. De igual forma, no se presentaron diferencias estadísticas entre grupos ($p>0.05$) al final del experimento. Se encontró que, a pesar de un ligero incremento en el grupo DAG, en comparación con el resto de los grupos, éste no fue significativo ($p>0.05$). Aún y cuando no se presentaron cambios significativos en los niveles de glucosa por efecto de la dieta o la adición del extracto, se logra apreciar que el grupo de DAG + EF mostró una tendencia similar a los valores de los grupos DE y DE + EF, sugiriendo que la adición del extracto fenólico promovió una mayor regulación de la glicemia en los animales alimentados con dietas altas en grasa. Lo anterior pudiera deberse a los mecanismos propuestos por los autores previamente discutidos, donde los compuestos fenólicos ejercieron un efecto hipoglucémico a través de distintos medios de acción.

Cuadro 6. Niveles de glucosa sanguíneos al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo.

Parámetro	Semanas	DE	DE + EF	DAG	DAG + EF
Glucosa (mg/dL)	0	84.3 ± 3.4 [a]	80.4 ± 5.5 [a]	77.5 ± 3.9 [a]	82.8 ± 5.0 [a]
	8	82.3 ± 9.6 [a]	83.2 ± 11.0 [a]	96.7 ± 8.7 [a]	83.9 ± 1.9 [a]

DE: Dieta estándar; DE + EF: Dieta estándar + extracto fenólico, DAG: Dieta alta en grasa; DAG + EF: Dieta alta en grasa + extracto fenólico. Los resultados se representan como la media ± Error estándar (E.E.) de la glicemia final e inicial con al menos 7 h de ayuno. Literales diferentes indican diferencias significativas entre renglones ($p<0.05$) por grupos ($n=6$/grupo).

Se han reportado diferentes resultados respecto al efecto del consumo prolongado de compuestos fenólicos, sobre el perfil lipídico. Uno de los efectos más estudiados es la capacidad de algunos compuestos fenólicos, particularmente las catequinas, de interactuar con las micelas de colesterol, inhibiendo su adecuada formación, y, por consiguiente, su absorción, haciendo que éste sea excretado por vía fecal (**Figura 5)**. Este fenómeno ocurre debido a que la catequina y el galato de epigalocatequina (ambos presentes en la pasta de aguacate), disminuyen la solubilidad de la fosfatidilcolina y el colesterol en las soluciones micelares, eliminándolos de las micelas por interacciones entre la catequina y los ácidos taurocólicos (ácidos biliares involucrados en la

absorción de lípidos) (Ogawa, Hirose, Nagaoka, y Yanase, 2016). Además de las catequinas, algunos autores han reportado este efecto al utilizar procianidinas (algunas también presentes en la pasta de aguacate), particularmente las procedentes de la manzana cv. 'Annurca', donde la solubilidad *in vitro* del colesterol disminuyó en un 86%. Tras suministrar este extracto de manzana a adultos con dietas altas en colesterol, se observó de igual forma un aumento en el colesterol fecal (35%), en comparación con el grupo control y el placebo (Tenore et al., 2018). Lo anterior indica que el uso de extractos de plantas ricos en catequinas y procianidinas, además de otros compuestos fenólicos, pueden ser utilizados como nutracéuticos o coadyuvantes para las enfermedades ocasionadas por el exceso de absorción de lípidos de la dieta.

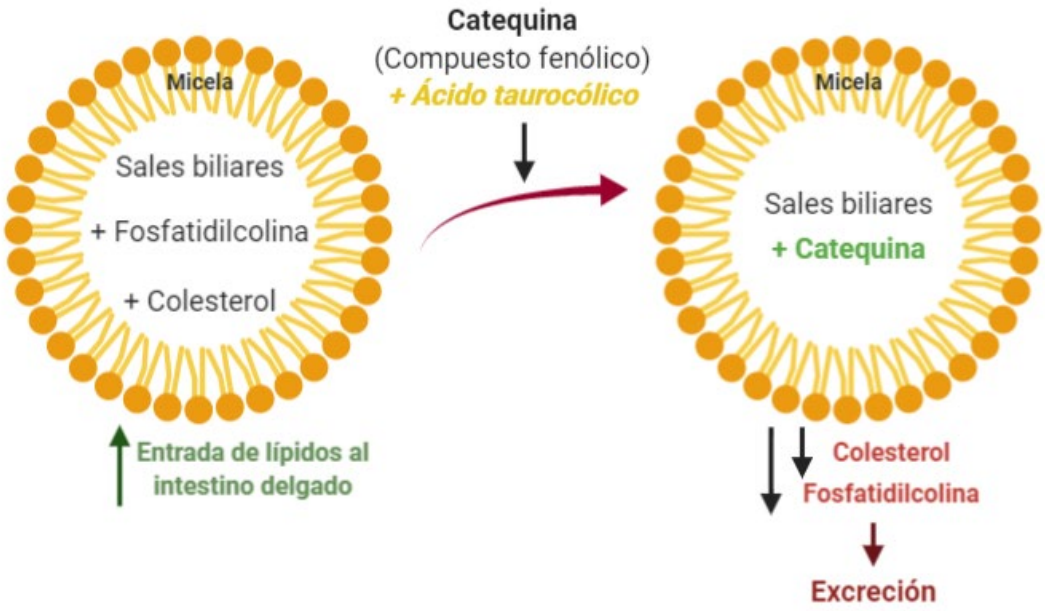


Figura 5. Modelo de interacción de los compuestos fenólicos sobre la inhibición de la micelización del colesterol. El color verde indica entrada o ingreso, mientras que el color rojo indica salida o expulsión. Este proceso se lleva a cabo dentro del intestino delgado como parte del proceso de digestión de los lípidos dietarios.

En el **Cuadro 7** se muestran los niveles de lípidos sanguíneos antes (0 semanas) y después (8 semanas) del bioensayo. Al igual que con la glucosa, se aprecia que todos los grupos iniciaron el bioensayo con valores estadísticamente similares ($p>0.05$) para todos los parámetros (triacilgliceroles, colesterol total, HDL y LDL), sin embargo, algunos de estos valores se

diferenciaron para el término de las 8 semanas.

En el análisis de los triacilgliceroles de la semana 8 (fin del bioensayo), el grupo DAG tuvo la mayor concentración, siendo estadísticamente similar al DAG + EF, y DE ($p>0.05$), pero diferente al DE + EF ($p<0.05$), asimismo, este último fue significativamente menor al grupo con la mayor concentración para esta variable ($p<0.05$). Se proyecta además una tendencia de aumento en su concentración por efecto de las dietas altas en grasa (DAG y DAG + EF), manteniendo similitud entre dieta. A pesar de no presentar una disminución en la concentración de triacilgliceroles en los grupos DAG y DAG + EF, sí se encontraron diferencias entre el grupo DE y DAG.

En relación a los resultados publicados por otros autores, Della Pepa y cols., (2020) reportaron una disminución en el área bajo la curva de los triacilgliceroles postprandiales al igual que las lipoproteínas plasmáticas, en sujetos con alta predisposición a enfermedades cardiovasculares, cuando consumieron dietas altas en compuestos fenólicos de origen vegetal, durante 8 semanas de intervención. Los autores atribuyeron estos cambios a que las dietas altas en compuestos fenólicos promovieron la regulación de la proporción de lipoproteínas posprandiales al reducir el colesterol y los triglicéridos en VLDL1. A pesar de no haber analizado el mecanismo de acción por lo cual esto pudiese haber ocurrido, se propone que los compuestos fenólicos podrían reducir la disponibilidad de los lípidos a nivel intestinal tras inhibir a la lipasa pancreática y así reducir la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos, también influenciada por una menor disponibilidad de colesterol y ácidos grasos cortos en el hígado (Annuzzi et al., 2014; Buchholz & Melzig, 2015). De igual forma, los compuestos fenólicos pueden disminuir la actividad de Acil-CoA colesterol aciltransferasa, inhibir la proteína de transferencia de triglicéridos microsomales y aumentar la oxidación de ácidos grasos, lo que podría explicar la reducción de los lípidos en VLDL1.

Nuevamente, la falta en la diferenciación de estos niveles pudiera deberse a la cantidad de extracto fenólico empleada en el presente estudio, siendo este menor a lo utilizado en los estudios donde activamente buscan modificar el perfil de lípidos sanguíneos. De igual forma, y a pesar de no haber obtenido cambios, las dietas altas en grasa no elevaron la concentración de triacilgliceroles a valores fuera de lo habitual para ratas del mismo sexo y edad.

Cuadro 7. Concentración de lípidos sanguíneos al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo.

Parámetro	Semana	DE	DE + EF	DAG	DAG + EF
Triacilgliceroles	0	105.6 ±8.6 [a]	104.7 ± 3.1 [a]	103.2 ± 2.1 [a]	101.8 ± 3.2 [a]
	8	137.5 ± 5.1 [ab]	132.7 ± 5.7 [b]	150.9 ± 2.7 [a]	141.8 ± 3.2 [ab]
Colesterol total	0	80.2 ± 2.7 [a]	79.5 ± 2.2 [a]	79.3 ± 4.1 [a]	77.5 ± 4.4 [a]
	8	91.7 ± 2.5 [b]	96.3 ± 3.4 [b]	117.8 ± 3.1 [a]	114.8 ± 3.7 [a]
HDL	0	26.7 ± 1.7 [a]	24.5 ± 1.5 [a]	27.8 ± 1.6 [a]	25.2 ± 1.2 [a]
	8	31.5 ± 2.3 [a]	29.8 ± 1.3 [a]	24.3 ± 1.2 [b]	28.1 ± 1.2 [a]
LDL	0	32.2 ± 4.2 [a]	40.8 ± 5.2 [a]	30.6 ± 3.4 [a]	35.8 ± 3.8 [a]
	8	32.7 ± 3.1 [b]	40.0 ± 3.7 [b]	63.3 ± 3.6 [a]	58.0 ± 3.8 [a]

DE: Dieta estándar; DE + EF: Dieta estándar + extracto fenólico, DAG: Dieta alta en grasa; DAG + EF: Dieta alta en grasa + extracto fenólico. Los resultados se representan como la media ± error estándar (E.E.). Unidades en mg/dL. Valores cuantificados con al menos 7 h de ayuno. Literales diferentes indican diferencias significativas entre renglones ($p<0.05$) por grupos (n=6/grupo).

Respecto a los niveles de colesterol total al final del bioensayo, se determinó que los grupos DE y DE + EF presentaron valores significativamente inferiores que los grupos DAG y DAG + EF ($p<0.05$). Esto sugiere que las dietas altas en grasa influyeron de forma directa en la acumulación y aumento en la concentración de colesterol total de los grupos experimentales, indicando el efecto de esta dieta sobre este parámetro. No obstante, la adición del extracto fenólico no modificó su concentración, por lo que el efecto ejercido puede ser atribuido únicamente a la variación de las dietas, y no al tratamiento con el extracto fenólico. Similarmente, Domínguez-Avila y cols., (2015) tras administrar dietas altas en grasa durante 9 semanas a ratas Wistar macho, reportaron un incremento sobre los niveles de colesterol total, al compararse con el grupo control con dieta estándar balanceada en macronutrientes. No obstante, los valores de colesterol fueron igualados con el grupo control, tras incorporar un extracto con compuestos fenólicos de nuez pecana a la misma dieta alta en grasa. Los autores atribuyeron la capacidad de dicho extracto para disminuir los valores de colesterol total a la posible interacción de los compuestos fenólicos y la micelización del colesterol, como previamente fue abordado.

Las lipoproteínas son estructuras complejas, compuestas de múltiples proteínas que transportan todas las moléculas insolubles (lípidos) dentro de la circulación sistémica. Por lo general, se componen de 80 a 100 proteínas por partícula, y cada una transporta hasta cientos de moléculas lipídicas. Las lipoproteínas de alta densidad, mejor conocidas como colesterol HDL (high density lipoprotein), son una de las 5 principales lipoproteínas en el organismo. Las HDL son

coloquialmente conocidas como “colesterol bueno”, debido a su capacidad de transportar colesterol de la periferia de regreso al hígado. Una vez ahí, distintos mecanismos eliminan el exceso, y, por ende, permiten regularizar su concentración circulante. Es por ello que niveles bajos de esta lipoproteína se asocian a complicaciones como la aterosclerosis y demás problemas vasculares (Rohatgi et al., 2014).

Estudios han demostrado que algunos compuestos fenólicos tienen la capacidad de incrementar la concentración de HDL, tras ser introducidos a la dieta. Por ejemplo, Chew y cols., (2019) proporcionaron 450 mL de una bebida de arándanos baja en calorías, rica en compuestos fenólicos a hombres y mujeres con sobrepeso y grasa abdominal, diariamente, durante 8 semanas. Los autores reportan que el consumo de la bebida de arándano incrementó los niveles de HDL, reduciendo así el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, en comparación al grupo control y al placebo. Aunque los autores reportan que los componentes o mecanismos de acción que ejercen el efecto hipolipemiante y regulador de HDL no han sido elucidados, estudios previos han demostrado que las antocianinas presentes en los arándanos tienen la capacidad de aumentar los niveles de HDL y reducir los de LDL al inhibir a la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP) (Zhu et al., 2013). Dicha proteína facilita el transporte de ésteres de colesterol y triglicéridos entre las lipoproteínas. Transporta los triglicéridos desde las VLDL o LDL y las intercambia por ésteres de colesterol de HDL, y viceversa. La mayoría del tiempo, sin embargo, CETP hace un hetero-intercambio, cambiando triglicérido por un éster de colesterol, o bien un éster de colesterol por un triacilglicerol, lo que explicaría un intercambio en la proporción de HDL y LDL visualizado en el estudio anterior (Qin et al., 2009).

Al analizar la concentración de HDL en la semana 8, se determinó que el grupo DAG presentó el menor valor ($p<0.05$), comparado con el resto de los grupos. La disminución del HDL ha sido previamente asociada con la inactividad física y la distribución de macronutrientes dentro de la dieta. A pesar de que no existe evidencia contundente al respecto, estudios han asociado las dietas altas en grasa a la disminución de dicha lipoproteína, en conjunto al aumento del colesterol total, entre otros biomarcadores (Annamalai et al., 2017). Sin embargo, al considerar que la DAG disminuyó de forma significativa la concentración de HDL, en comparación al control, la DAG + EF logró igualar los valores de la lipoproteína con los grupos DE y DE + EF ($p>0.05$). Esto indica que la incorporación del extracto fenólico de pasta de aguacate tuvo un efecto positivo sobre el colesterol HDL, a pesar de la disminución ejercida por un alto contenido de lípidos en la dieta.

En un estudio transversal donde se incluyeron más de 6 mil hombres y mujeres con síndrome metabólico asociado a malas prácticas alimentarias (entre ellas incluidas las dietas altas en grasa), se concluyó que los niveles de colesterol HDL más elevados dentro de los participantes, se asociaban directamente a un mayor consumo de compuestos fenólicos incorporados a la dieta (Castro-Barquero et al., 2020). En un estudio controlado, aleatorizado, doble ciego y cruzado con dos semanas de duración, en donde los participantes fueron hombres con hipercolesterolemia, se les administró aceite de oliva adicionado con compuestos fenólicos procedentes de distintas secciones del fruto. Se determinó que la adición de los compuestos fenólicos tuvo un efecto sobre el perfil de lípidos séricos, incrementando la concentración de HDL y disminuyendo la de LDL (Fernández-Castillejo et al., 2016). Lo anterior resulta benéfico, ya que el incrementar el HDL mejora la capacidad para promover la salida de colesterol de las células periféricas, actividad que es considerada una de las principales funciones antiaterogénicas de las HDL, e inversamente relacionada con el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Uno de los mecanismos de acción que justifican el incremento en la concentración de HDL tras el consumo de compuestos fenólicos, puede relacionarse parcialmente al mismo mecanismo propuesto en la **Figura 5**, donde la absorción de colesterol disminuye por la interacción de los compuestos fenólicos con algunos ácidos biliares, mejorando así las proporciones de lípidos en sangre, teniendo por consecuencia un aumento en los niveles de HDL. Como se ha mencionado anteriormente, otros mecanismos sugeridos por los cuales los compuestos fenólicos podrían modular la proporción de colesterol HDL son la capacidad de estos compuestos para disminuir la actividad de Acil-CoA colesterol aciltransferasa, aumentar la oxidación de ácidos grasos, así como la capacidad de inhibir a la CETP. No obstante, algunos autores a su vez sugieren que esta modulación puede ser llevada a cabo por la capacidad de algunos compuestos fenólicos de estimular la activación de la transcripción de la enzima paraoxonasa 1 (PAON1). Esta enzima está involucrada en la protección de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) contra la peroxidación lipídica. Lo anterior implicaría una mejor conservación y funcionamiento de las HDL presentes en el organismo, que, en conjunto con los mecanismos previamente propuestos, podrían mejorar la proporción de esta lipoproteína en el torrente sanguíneo.

Por otro lado, las lipoproteínas de baja densidad o LDL (low density lipoprotein), conocidas coloquialmente como “colesterol malo”, se encargan de transportar colesterol y otras moléculas no solubles desde el hígado hacia las células periféricas. Una concentración anormalmente alta de estas lipoproteínas se ha asociado con el desarrollo y progresión de la aterosclerosis y el bloqueo

de la luz de la arteria, y, por lo tanto, a enfermedades cardiovasculares. Los resultados del presente estudio muestran que los grupos que consumieron dietas altas en grasa (DAG y DAG + EF) presentaron los valores más elevados para esta lipoproteína ($p<0.05$), mientras que los grupos con la dieta estándar (DE y DE + E) presentaron los menores, sin existir diferencias significativas por efecto de la adición del extracto fenólico ($p>0.05$). Esto sugiere que las dietas altas en grasa alteraron la concentración de dicha lipoproteína, incrementándose en los grupos alimentados con este tipo de dieta. La incorporación del extracto fenólico de pasta de aguacate no tuvo un efecto significativo sobre el colesterol LDL, a pesar de haber influido de forma significativa sobre el HDL. Contrario a lo expuesto en el presente estudio, Hernáez y cols., (2015) reportaron una disminución significativa de hasta el 16% en los niveles de colesterol LDL, tras administrar 25 mL de aceite de oliva, rico en compuestos fenólicos, a hombres jóvenes, durante tres semanas. Los autores atribuyeron dicho efecto a una acelerada oxidación de las LDL tras el consumo de estos compuestos fenólicos. De igual forma, Xie y cols., (2017) reportan un efecto similar sobre el LDL, al administrar 500 mg de un extracto fenólico de bayas de saúco a adultos fumadores, en riesgo de enfermedad cardiovascular, durante 12 semanas. Los autores reportan que los niveles de colesterol total se redujeron en un 8%, lo cual correlacionó positivamente con la concentración de compuestos fenólicos excretados en la orina. A pesar de encontrar resultados positivos, el mecanismo de acción de cómo ocurrieron estos cambios no fueron elucidados por los autores, sin embargo, los valores administrados en ambos estudios son considerablemente superiores a los utilizados en el presente estudio. Con base en lo anterior, es posible que se requiera incrementar la dosis de extracto fenólico para propiciar cambios significativos sobre la concentración de LDL en este modelo de estudio, particularmente si se busca disminuir los niveles de dicha lipoproteína tras el aumento propiciado por las dietas altas en grasa. Esto según los datos reportados y las modificaciones presentadas en los animales de experimentación en el presente estudio.

6.2 Bioensayo: Consumo de Alimento

La **Figura 6** muestra el consumo de alimento diario, representado como el promedio semanal para los cuatros grupos experimentales alimentados con diferentes dietas. El consumo de alimento promedio de los cuatro grupos experimentales se encontró en el rango de 22-30 g/día. Estos valores

coinciden con los reportados en la literatura para la ingesta de alimento en ratas Wistar macho adultas, lo cual, según las dietas experimentales utilizadas, son equivalentes a 63.58 ± 0.75 a 86.7 ± 0.54 kcal/día (Della-Zuana et al., 2002). La ingesta energética coincide con lo reportado por diferentes autores, en donde ratas Wistar macho de 12 a 14 semanas consumieron 78.4 kcal/día aproximadamente (Cázares-Camacho, et al., 2020). Al analizar los consumos semanales, los cuatro grupos experimentales iniciaron con consumos similares durante la primera semana, y estos fueron diferenciándose con respecto al tiempo, presentando variaciones notorias a mitad del bioensayo.

Al analizar las diferencias en la variabilidad de consumo de alimento global, es decir, lo consumido cada semana, por cada grupo durante las ocho semanas de duración del ensayo, se determinó que los grupos tratados con el extracto fenólico (DE + EF, DAG + EF) tuvieron una ingesta significativamente menor ($p<0.05$), en comparación con sus respectivos controles no suplementados (DE y DAG). De igual forma, no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre las dietas no suplementadas. Por ejemplo, la DAG no promovió la hiperfagia en los animales de experimentación, lo cual es atribuido a la adaptación ambiental intrínseca de dichos animales. De forma similar, en ambas dietas tratadas con el extracto tampoco se diferenciaron de forma significativa ($p>0.05$).

Lo anterior sugiere que el extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass', tuvo un efecto significativo ($p<0.05$) sobre el consumo global de alimento, disminuyendo la ingesta, al influir positivamente en la sensación de saciedad tanto en el grupo alimentado con DE y con DAG. Estos resultados son similares a los presentados por Domínguez-Avila y cols., (2015), donde tras administrar una dieta alta en grasa adicionada con el extracto fenólico de nuez pecana (*Carya illinoinensis)* a ratas Wistar macho, se observó una disminución significativa en la ingesta de alimento, en comparación con el control alto en grasa no suplementado. Los autores atribuyen este efecto a la capacidad de algunos de los compuestos fenólicos y demás fitoquímicos de la nuez, de aumentar la sensación de saciedad, por ende, disminuyendo el consumo de alimento de los animales de experimentación.

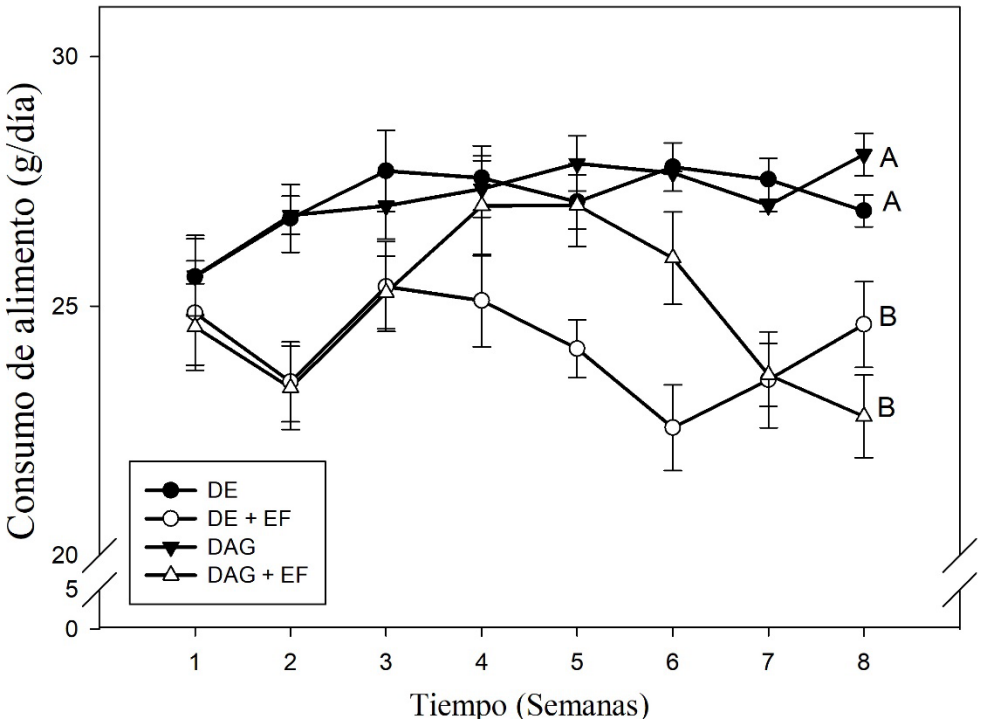


Figura 6. Consumo de alimento semanal promedio de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF), durante 8 semanas. En el eje de las ordenadas se muestran las semanas transcurridas y en las abscisas el consumo de alimento (promedio de g/día). Literales diferentes indican diferencias significativas globales ($p<0.05$).

En un estudio realizado por Domínguez-Avila y cols., (2019), se observó un comportamiento similar, mostrando una disminución en la ingesta de alimento tras suplementar dietas altas en colesterol con pulpa de mango liofilizada y extracto de compuestos fenólicos provenientes de la pulpa. Los autores atribuyeron este efecto de saciedad a la fibra soluble y a los compuestos fenólicos disponibles en el fruto, esto debido a que estudios previos han demostrado ambos componentes pueden promover la saciedad a corto plazo retrasando la motilidad gástrica e intestinal, alterando la viscosidad del bolo alimenticio (principalmente la fibra soluble). Sin embargo, también se atribuyó este efecto anorexigénico a la capacidad de los compuestos fenólicos para incrementa la secreción de GLP-1 (a corto plazo) y de leptina (largo plazo), de acuerdo a lo reportado por otros autores (Stefoska-Needham et al., 2016). Los autores proponen otra posible vía de modulación de saciedad mediada por los compuestos fenólicos, la cual consiste en la modificación del eje intestino-cerebro, ya que estudios previos han demostrado que dichos compuestos tienen un impacto sobre el crecimiento selectivo de bacterias benéficas de la

microbiota al promover la formación de ácidos grasos de cadena corta, lo que culminaría en una eubiosis intestinal y una mayor producción de hormonas de saciedad como la leptina, GLP-1, PYY y CCK (Burcelin, 2017; Pacheco-Ordaz et al., 2018b).

6.3 Bioensayo: Cambio de Peso y Composición Corporal

En la **Cuadro 8** se muestra la ganancia de peso de los grupos experimentales; esto se realizó con el objetivo de evaluar los cambios de peso de por individuo dentro de cada grupo y su relación con la dieta experimental asignada. Para lograr analizar los cambios en la ganancia de peso de los diferentes grupos experimentales fue necesario bloquear el tiempo, esto debido a que el tratamiento no se modificó durante las 8 semanas de duración del ensayo, por lo que no se esperaba obtener cambios debido a este factor.

Los 4 grupos experimentales iniciaron y concluyeron el bioensayo con una ganancia de peso similar y homogénea, sin tener cambios significativos a lo largo de las 8 semanas de duración. A pesar de observar diferencias entre los diferentes grupos experimentales, éstas no resultaron estadísticamente significativas. Al comparar con los valores de consumo de alimento (**Figura 6**), durante las semanas 5 y 6, el grupo DAG + EF presentó un incremento en su consumo de alimento, sin embargo, éste se regularizó para la séptima semana. Este aumento irregular en el consumo, como se mencionó anteriormente, pudo ser mediado por factores ambientales o conductuales que no fueron medidos en el estudio, sin embargo, estas alteraciones en el consumo no repercutieron sobre el cambio o la ganancia de peso. Esta regulación sincronizada entre el consumo y la ganancia de peso impidió a su vez diferencias significativas entre el resto de los grupos.

Cuadro 8. Cambio de peso (g/semana) entre grupos durante la duración del bioensayo.

Semana	DE	DE + EF	DAG	DAG + EF
1	22.16 ± 1.04 [a]	26.5 ± 1.22 [a]	24.33 ± 0.89 [a]	29.33 ± 0.62 [a]
2	26.16 ± 1.06 [a]	23.5 ± 0.92 [a]	22.16 ± 1.16 [a]	25.5 ± 0.93 [a]
3	15.5 ± 1.18 [a]	15.33 ± 1.61 [a]	21 ± 0.31 [a]	19.66 ± 0.96 [a]
4	17.83 ± 1.77 [a]	12.5 ± 1.04 [a]	12.16 ± 0.48 [a]	13.33 ± 1.18 [a]
5	9.83 ± 0.28 [a]	13 ± 1.15 [a]	11.16 ± 0.64 [a]	17.5 ± 1.48 [a]
6	7 ± 0.69 [a]	11 ± 0.68 [a]	10.83 ± 0.48 [a]	12.16 ± 1.46 [a]
7	9.66 ± 0.46 [a]	9.83 ± 1.01 [a]	8.16 ± 0.48 [a]	11.8 ± 0.87 [a]
8	6.33 ± 0.54 [a]	8.16 ± 0.52 [a]	8.33 ± 1.09 [a]	6 ± 0.49 [a]

DE: Dieta estándar; DE + EF: Dieta estándar + extracto fenólico, DAG: Dieta alta en grasa; DAG + EF: Dieta alta en grasa + extracto fenólico. Los resultados se representan como la media ± error estándar (E.E.). Valores cuantificados a la misma hora del día, 3 veces a la semana. Literales diferentes indican diferencias significativas entre renglones ($p<0.05$) por grupos (n=6/grupo).

La ausencia de diferencias significativas en el aumento de peso podría ser explicado por la naturaleza isocalórica de las dietas experimentales. La diferencia en la ingesta energética de los animales de experimentación no fue la suficiente como para diferenciar la ganancia de peso durante la duración del bioensayo. El promedio de peso final para los cuatro grupos fue de 376.25 ± 26.15 g, lo cual resulta adecuado según los patrones de crecimiento para ratas Wistar macho mayores a 13 semanas de edad. Lo anterior indica que las dietas experimentales fueron energéticamente adecuadas para el óptimo desarrollo de los animales de experimentación (Kitada et al., 2018). Sin embargo, el análisis del aumento de peso a través de las semanas demuestra que la distribución de macronutrientes de la dieta no tuvo un impacto sobre la diferenciación del peso. Finalmente, al presentar diferencias entre grupos, se logra determinar que el extracto fenólico no influyó sobre dichas variables. Por lo que la incorporación del extracto fenólico a las dietas experimentales no repercutió de forma negativa sobre el adecuado desarrollo y crecimiento de las ratas Wistar.

Contrario a lo obtenido, autores han demostrado que la suplementación de la dieta con compuestos fenólicos provenientes de fuentes naturales como diversas plantas pueden tener un efecto positivo sobre la regulación del peso corporal. Por ejemplo, Serrano y cols., (2017) administraron diferentes dosis intragástricas (0.5 y 1.0 g/kg) de compuestos fenólicos de semilla de uva (GSPE) a ratas Wistar macho de edad avanzada (40 semanas), con un peso promedio de 500 g y con un aumento paulatino de peso por la edad y falta de actividad física. Se determinó que, al administrar la dosis

baja durante 30 días, disminuyó el consumo de alimento, y a su vez, la ganancia de peso. Los autores determinaron que lo anterior ocurrió debido a que el GSPE tuvo un efecto sobre el gasto energético, además de la promoción de la saciedad en los animales de estudio.

De forma similar, Henning y cols., (2018) administraron extracto fenólico de té verde y té negro a ratones C57BL/6J, incorporado dentro de la dieta. Los ratones fueron alimentados con dietas altas en grasa y dietas altas en fructosa, además de la dieta con el tratamiento, el cual consistió en 0.5 g/100 g de alimento o aproximadamente 320 mg de extracto por kg de peso del animal. Después de 4 semanas de tratamiento, los autores encontraron que los grupos tratados con el extracto tuvieron una menor ganancia de peso, en comparación a los grupos control. El efecto fue atribuido a modificaciones sobre el gasto energético, así como regulación de la microbiota intestinal para promover la eubiosis colónica, y, por consiguiente, fomentar la pérdida de peso. Li y cols., (2020) administraron 960 mg de extracto de fenólico de té verde por kg de peso corporal a caninos, durante 18 semanas. Al finalizar el ensayo, los autores determinaron que el extracto de té verde ejerció efectos terapéuticos, al promover la eubiosis colónica, la regulación de citoquinas inflamatorias (TNF-α, IL-6, and IL-1β) y disminuyendo el peso corporal de los caninos tratados.

Al comparar la evidencia discutida con los resultados obtenidos, lo más evidente es que la dosis utilizada en ambos ensayos es significativamente superior a la utilizada en el presente estudio (lo que equivaldría a una sola dosis diaria de 50 mg/kg de peso del animal). Lo anterior sugiere que, tanto la cantidad de extracto administrado como la vía de administración, podrían determinar los posibles efectos propiciados en el desarrollo de los animales de experimentación, por lo que dosis superiores del extracto pudieran ejercer cambios positivos sobre la ganancia de peso. Sin embargo, esto no ha sido corroborado experimentalmente.

En la **Figura 7** se muestran los datos del porcentaje de tejido adiposo inicial y final para los cuatro grupos experimentales. Se observa que los cuatro grupos iniciaron el bioensayo con porcentajes de tejido adiposo estadísticamente iguales ($p>0.05$). Esto es esperado, debido a que, al homogenizar los pesos y al tratarse de animales de experimentación con un rango de edad y peso similares, el tejido adiposo a su vez debe ser similar entre grupos. No obstante, al analizar los resultados del porcentaje de tejido adiposo al final del bioensayo, tampoco se presentaron diferencias significativas para esta variable ($p>0.05$). A pesar de no esperar cambios significativos en el porcentaje de tejido adiposo, este fenómeno resulta peculiar, debido a las diferencias reportadas para algunos lípidos séricos, principalmente los que fueron influenciados por las dietas altas en

grasa. Lo anterior indica que las dietas altas en grasa, en la proporción y tiempo del estudio, a pesar de ser capaces de alterar la concentración de lípidos séricos en los animales de experimentación, no promovieron modificaciones en la composición corporal de estos mismos, por lo que los cambios en esta variable se deben a un incremento asociado al crecimiento y desarrollo natural de los animales de experimentación.

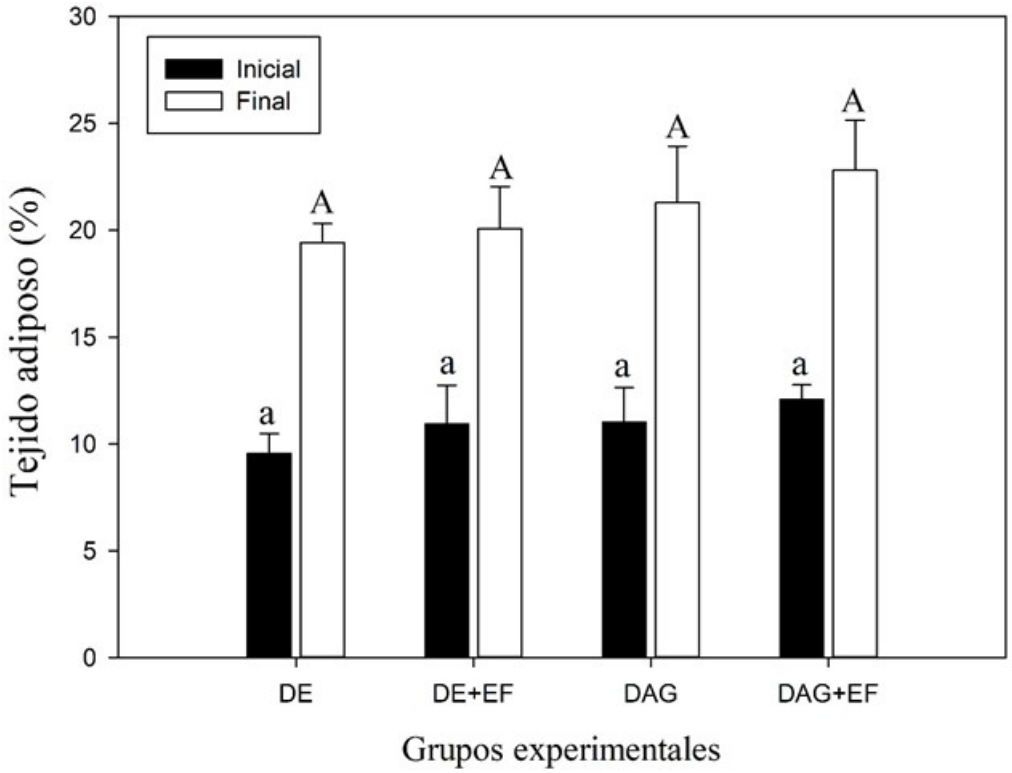


Figura 7. Porcentaje de tejido adiposo al inicio (semana 0) y final (semana 8) del bioensayo, de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF). En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas el porcentaje de tejido adiposo. Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre grupos.

En la **Figura 8** se muestra el cambio en el porcentaje de tejido adiposo. Al igual que con el peso corporal, se comparó el porcentaje de tejido adiposo de un mismo individuo dentro de los grupos, realizando una diferencia entre el porcentaje final menos el inicial. Lo anterior permite comparar de manera más precisa los cambios, y asegurar que las diferencias no ocurran por variabilidad

individual, sino por efecto de la dieta y la adición del extracto. Los resultados sugieren que no se presentaron diferencias significativas entre grupos ($p>0.05$), lo cual es similar a lo ocurrido con la ganancia de peso, y se atribuye al efecto de la dieta y la adición del extracto. Conjuntamente, se proyecta una ligera tendencia no significativa entre los grupos tratados con el extracto, en comparación con sus respectivos controles.

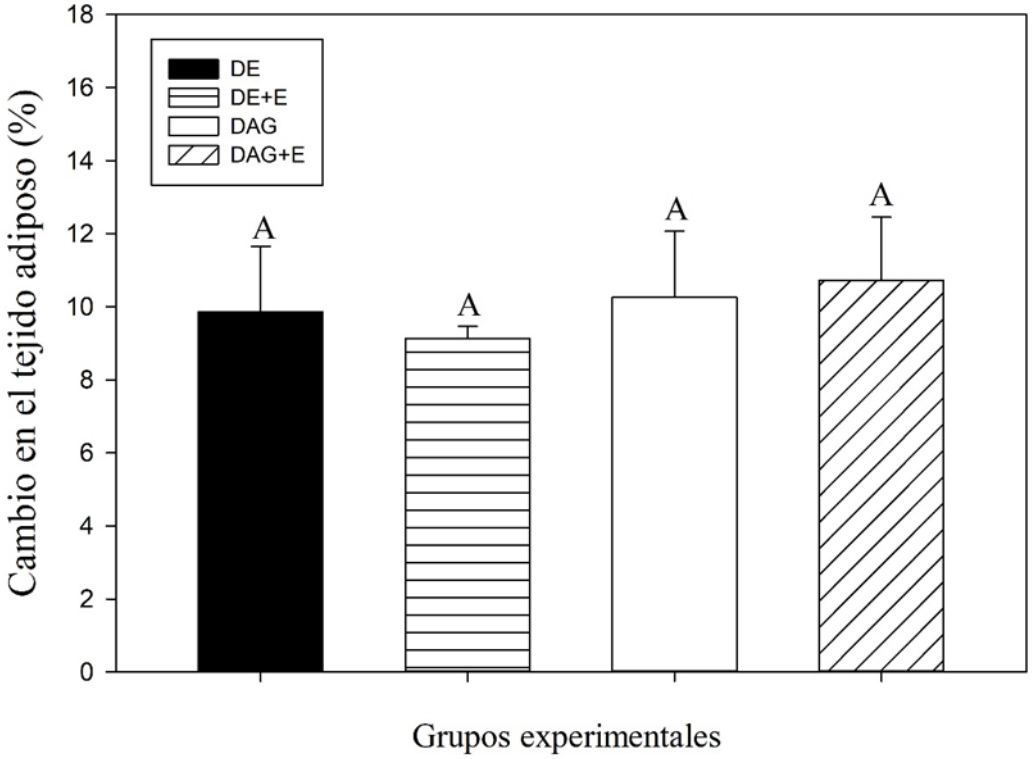


Figura 8. Cambio en el porcentaje de tejido adiposo de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF). En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas el cambio en el porcentaje de tejido adiposo. Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) entre grupos.

Zou y cols., (2020) llevaron a cabo un estudio *in vivo* donde se incorporó extracto fenólico de manzana *Malus pumila* cv. Fuji (EAP) a dietas altas en grasa, las cuales se proporcionaron a ratones macho C57BL/6 (8 semanas de edad) durante 10 semanas. Al igual que en el presente estudio, los autores no encontraron diferencias significativas en el porcentaje y aumento del tejido adiposo, sin embargo, se determinó que la suplementación con EAP mejoró la sensibilidad a la insulina inducida

por la dieta alta en grasa. Asimismo, los EAP aumentaron el consumo de oxígeno y la termogénesis, disminuyendo la relación de intercambio respiratorio. Lo anterior se acompañó de la regulación positiva de la expresión de genes termogénicos y la activación de AMPKα en la grasa marrón (parda) y la grasa blanca inguinal. Además, el tratamiento aumentó directamente la expresión de marcadores adipogénicos marrones y la fosforilación inducida de AMPKα en adipocitos diferenciados 3T3-L1. Por lo tanto, y a pesar de no haber presentado diferencias, es posible que los compuestos fenólicos presentes en la pasta de aguacate podrían haber propiciado una regulación similar a la mencionada anteriormente, por lo que, para lograr diferenciar estas variables, como lo mencionado en el estudio anterior, sería necesario proyectar la duración del estudio a uno más prolongado y con una mayor dosis de extracto fenólico.

En otro estudio se administró 5% de té verde en el agua para beber de ratas Sprague-Dawley hembras alimentadas con dietas altas en grasa. Contrario a lo aquí encontrado, se presentó una diferenciación entre la masa libre de grasa, además de la reducción del tejido adiposo y disminución en los niveles de leptina, en comparación a los grupos tratados con placebo. Los autores atribuyeron estos efectos a la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de los compuestos fenólicos disponibles en el té verde (C. Lu et al., 2012). De forma similar, tras administrar 400 mg/kg de peso de extractos fenólicos de té negro a ratas Sprague-Dawley macho alimentados con dieta alta en grasa, se reportó una disminución significativa porcentaje de tejido adiposo y grasa visceral (Wu et al., 2016). A pesar de no esclarecer el mecanismo de acción por el cual se podría haber llevado a cabo este proceso, los autores atribuyen a los compuestos fenólicos del té negro la capacidad de evitar la acumulación de tejido adiposo. Nuevamente, al comparar la dosis de extracto utilizado en el estudio previamente mencionado, se destaca que éste fue hasta 8 veces superior a la utilizada en el presente estudio. Por lo que es posible que se requiera incrementar la dosis del extracto para promover una diferenciación entre porcentaje de tejido adiposo.

6.4. Bioensayo: Concentración Plasmática de Hormonas Inductoras de Saciedad

En las **Figura 9** se presenta la concentración plasmática de GLP-1, en cada uno de los grupos experimentales. El objetivo de cuantificar la concentración de esta hormona fue el evaluar su

concentración basal en plasma y determinar si ésta se relacionaba con la disminución de la ingesta de alimento y la suplementación con extracto fenólico de pasta de aguacate. Se ha demostrado que una mayor concentración circulante de esta hormona se relaciona con una mayor saciedad y menor consumo de alimento. La concentración de GLP-1 tanto en humanos como animales de experimentación puede fluctuar de acuerdo con varios factores como el tiempo de ayuno (siendo éste el estado basal de la hormona), sexo, edad y otros.

Se identificó que el grupo DAG presentó una menor concentración de la hormona, en comparación con el grupo DE ($p<0.05$). Estudios *in vivo* han demostrado que dietas similares pueden ocasionar el deterioro de la función celular enteroendocrina, teniendo como resultado una disminución en la capacidad de las células L de producir GLP-1 y demás hormonas sintetizadas por este tejido (Richards et al., 2016). No obstante, la adición del extracto fenólico contrarrestó dicho efecto supresor, al aumentar de forma significativa ($p<0.05$) la concentración plasmática de GLP-1 en los grupos tratados con éste. Dicho efecto restaurativo llevó a igualar la concentración de la hormona en los grupos tratados con el extracto, siendo ésta incluso mayor que la encontrada en el grupo control con dieta estándar ($p<0.05$). Esto resulta relevante, ya que, como se ha discutido anteriormente, la concentración circulante de esta hormona ha sido asociada directamente con el estado de saciedad de los individuos. Así, este aumento pudiera haber ejercido un efecto sobre la disminución en la ingesta de alimentos en los grupos tratados con el extracto fenólico (en conjunto con los cambios documentados en el resto de las hormonas evaluadas).

Estudios sugieren que la concentración circulante de GLP-1 puede fluctuar de forma dosis-dependiente conforme a la dosis de compuestos fenólicos administrados, así como el origen de éstos. Por ejemplo, en un estudio realizado en 20 hombres adultos sanos, se proporcionaron dosis de curry y especias ricas en compuestos fenólicos como la curcumina, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, entre otros (algunos de estos presentes en la pasta de aguacate). Los resultados mostraron un aumento en la concentración postprandial de GLP-1, dependiendo a la dosis de curry consumida (6 - 9 g) (Haldar, et al., 2018). A pesar de no haber realizado mediciones de saciedad relativa, esta evidencia sugiere que la concentración plasmática de GLP-1 puede variar significativamente al consumir alimentos ricos en compuestos fenólicos, sin embargo, la cantidad y procedencia de dichos compuestos juegan un papel relevante para que estas modificaciones ocurran en beneficio del sujeto.

Este aumento en la concentración de GLP-1 por efecto de los compuestos fenólicos de distintas

matrices ha sido ampliamente reportado. Por ejemplo, Fujii y colaboradores (2015) administraron un extracto fenólico de café (EFC) de forma oral a ratones C57BL/6J, con el objetivo de evaluar la función de estos compuestos como posibles agonistas o secretagogos de GLP-1. Los autores determinaron que el EFC aumentó los niveles de cAMP intracelular de una manera dosis-dependiente. La administración oral del extracto aumentó la secreción y concentración de GLP-1 y disminuyó la liberación del polipéptido insulinotrópico dependiente de glucosa. Aunque la administración de EFC no tuvo un efecto sobre la secreción de insulina, sí disminuyó la hiperglicemia posprandial, lo que indica que una mayor concentración de GLP-1 después de la ingesta de EFC puede mejorar la sensibilidad a la insulina. Una mayor concentración circulante de GLP-1 tiene un efecto directo sobre la regulación positiva de la saciedad, por la estimulación que ejerce sobre receptores cerebrales, sin embargo, una adecuada glicemia posprandial (mediada por el aumento de GLP-1 circulante) se relaciona a su vez con una mayor y más prolongada sensación de saciedad.

Debido a que el GLP-1 juega un papel muy importante sobre los mecanismos involucrados a la regulación de la glucosa, la industria farmacológica ha desarrollado fármacos antidiabéticos agonistas del receptor de dicha hormona. El objetivo de estos fármacos es aumentar la secreción y duración de la señalización de GLP-1, promoviendo así su acción insulinotrópica y glucagonostática dependientes de la glucosa, estimulación de la proliferación de células β, secreción mejorada de insulina y finalmente la reducción del aumento de peso en pacientes con diabetes tipo 2 en relación con el control de la glucosa en sangre. Estos fármacos han estado bajo revisión constante para determinar los posibles efectos secundarios que pudieran provocar en los individuos que los consuman de forma terapéutica. Entre los principales efectos secundarios reportados, destacan trastornos gastrointestinales como náuseas, falta de apetito y diarrea, además de cefaleas, nasofaringitis, sin olvidar las reacciones asociadas a la administración de los fármacos (vía intramuscular). Considerando lo anterior, el extracto fenólico de pasta de aguacate cv ‘Hass’ logró ejercer un efecto similar al buscado por los fármacos agonistas de GLP-1 al aumentar su concentración plasmática, sin efectos secundarios evidentes en los animales de experimentación. Por lo que el uso del extracto resulta viable como una alternativa prometedora para la regulación de mecanismos asociados a la saciedad y metabolismo de la glucosa.

A pesar de que el mecanismo putativo de cómo es que se lleva a cabo esta regulación no ha sido elucidado por completo, se han sugerido diferentes vías por las cual esto pudiera ocurrir. Por

ejemplo, en un estudio donde se administraron 50 mg/kg de peso de un extracto fenólico de frijol de soya a ratas Wistar, se encontró que la concentración de GLP-1 aumentó de forma proporcional al nivel de cAMP. Al mismo tiempo, se encontró que tras administrar un antagonista de cAMP, los niveles de GLP-1 se vieron igualmente perjudicados (Domae et al., 2019). Lo anterior indica que la influencia que ejercen los compuestos fenólicos sobre GLP-1 pudiera ser de forma indirecta, y no directamente sobre la hormona en cuestión. Por otro lado, diversos autores reportan que la influencia que ejercen los compuestos fenólicos sobre la hormona reside en la capacidad de algunos de dichos compuestos para inhibir a la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPPA), previniendo la hidrólisis de GLP-1 (Gao et al., 2015). De acuerdo a lo mencionado anteriormente, algunos de los fármacos agonistas de GLP-1 tienen como mecanismo de acción la inhibición de dicha enzima, prolongando así la vida media de la hormona extendiendo su campo y tiempo de acción. A pesar de que estas variables no fueron medidas en el presente estudio, se proponen como alternativas al posible mecanismo de acción por el cual se llevó la diferenciación en los niveles de GLP-1 dentro de los cuatro grupos experimentales, viéndose favorecidos los grupos tratados con el extracto fenólico de pasta de aguacate cv ‘Hass’. Lo anterior resulta relevante ya que, de ser así, el uso de compuestos fenólicos extraídos de fuentes naturales pudieran ser una alternativa sustentable y sin efectos secundarios a los agonistas de GLP-1.

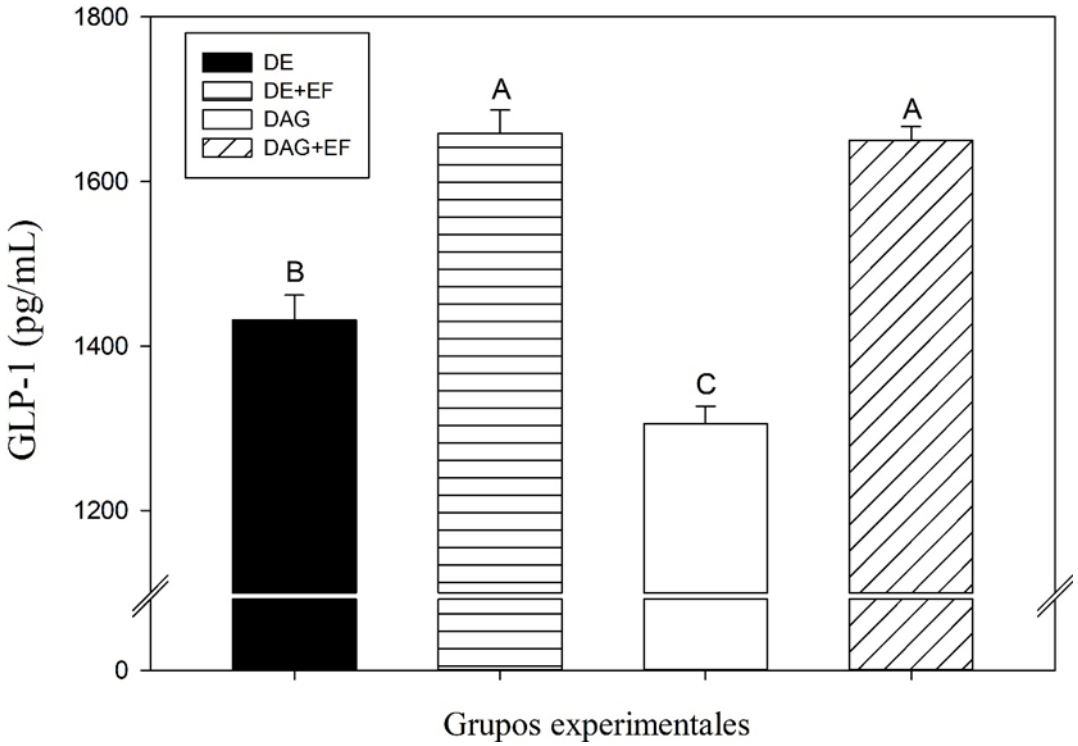


Figura 9. Concentración plasmática de la hormona anorexigénica GLP-1 de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF), después de 8 semanas de bioensayo. En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas la concentración de la hormona representada en pg/mL. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

La adiponectina es una de las hormonas que se encuentra en mayor concentración en el torrente sanguíneo, la cual incrementa después de períodos de ayuno (promoviendo la oxidación lipídica y la regulación a la baja de la glucosa). De acuerdo con los resultados presentados en la **Figura 10**, se determinó que no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) en la concentración plasmática de esta hormona por efecto del extracto fenólico. No obstante, en los grupos alimentados con dietas altas en grasa (DAG y DAG + EF), se observó un efecto negativo, al disminuir de forma significativa los niveles de adiponectina ($p<0.05$), en comparación con los grupos DE y DE + EF. A pesar de no presentarse diferencias significativas por efecto del extracto, se aprecia una tendencia al aumento en los grupos tratados con éste. Recordando que no existieron diferencias significativas entre la ganancia de peso y el aumento del tejido adiposo, se sugiere que la concentración de adiponectina se vio influida por la composición dietética, sin ser del todo afectada por la inclusión del extracto. Sin embargo, la tendencia al aumento por efecto del extracto en ambos grupos pudiese

haberse visto proyectada con el incremento en la cantidad administrada de extracto fenólico a los animales de experimentación.

Respecto a la fluctuación de esta hormona por efecto de las dietas altas en grasa, se han reportado estudios con resultados similares a los aquí obtenidos. Por ejemplo, Almabrouk y cols., (2018) proporcionaron una dieta alta en grasa a ratones Sv129-WT durante 12 semanas; los autores reportan que la concentración circulante de adiponectina se vio significativamente reducida en los grupos tratados con esta dieta, en comparación a la dieta control estándar. Este efecto sobre la concentración de adiponectina fue atribuido a que las dietas altas en grasa pueden promover la inflamación, y reducir la fosforilación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), siendo esto relacionado a una disminución en la concentración de dicha hormona. La AMPK ha sido estudiada durante varios años debido a su rol como regulador del balance energético y una gran variedad de procesos intracelulares, como la captación celular de glucosa y ácidos grasos libres, el ciclo celular, la estabilidad del mRNA y la apoptosis. A pesar de que el mecanismo de acción por el cual las dietas altas en grasa ejercen un efecto negativo sobre la actividad de AMPK no ha sido detallado, se ha demostrado que dichas dietas disminuyen ambas isoformas de AMPK en el tejido adiposo blanco y pardo. Autores sugieren que esta reducción generalizada de la actividad de AMPK, indica que la disminución en su señalización es probablemente un aspecto importante de los efectos patofisiológicos de las dietas altas en grasa (Lindholm et al., 2013).

No obstante, autores han demostrado que este detrimento sobre los niveles de adiponectina a causa de las dietas altas en grasa u otras variables, puede ser atenuado por efecto de los compuestos fenólicos de diferentes fuentes de origen vegetal, de manera similar a la tendencia no significativa proyectada en los grupos DE + EF y DAG + EF de incrementar los niveles de dicha hormona. Por ejemplo, tras administrar 500 mg/kg de peso de un extracto fenólico de té verde a ratones knockout de adiponectina (Adipo$^{-/-}$), se reportó que los niveles de dicha hormona aumentaron de forma significativa en los grupos tratados con el extracto, en comparación con los del grupo placebo (Ferreira et al., 2020). Sin embargo, cabe destacar nuevamente que las dosis empleadas en ese estudio son sumamente altas y superiores a las utilizadas en el presente.

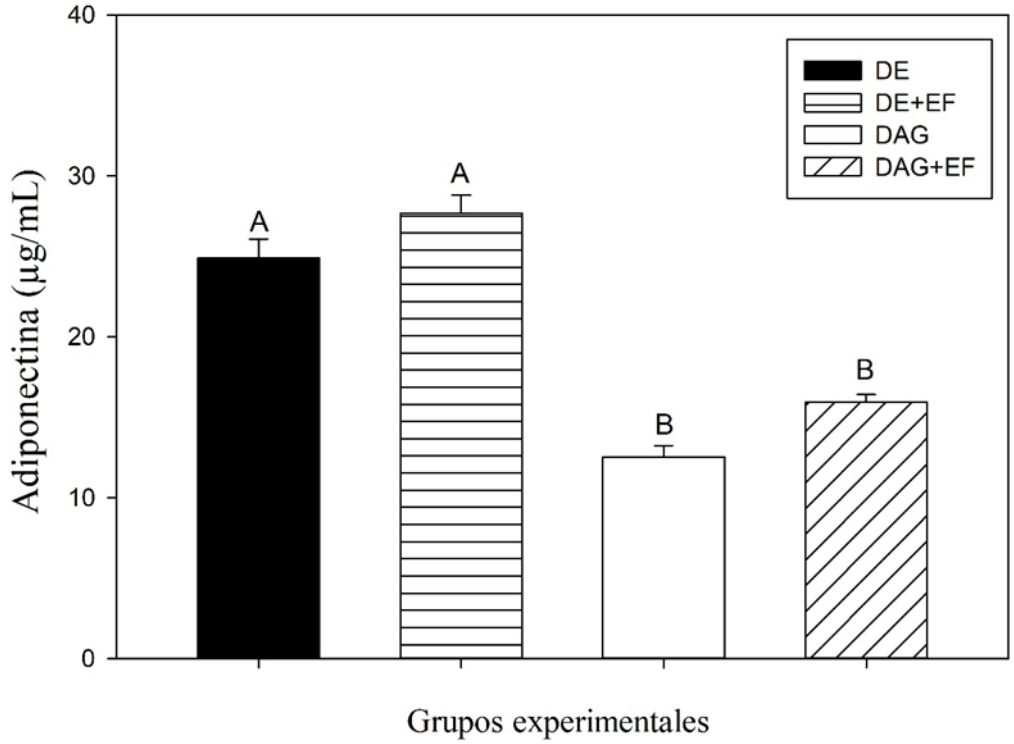


Figura 10. Concentración plasmática de la hormona adiponectina de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF), después de 8 semanas de bioensayo. En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas la concentración de la hormona representada en µg/mL. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Este mismo comportamiento fue también reportado por Tian y cols., (2013), quienes, tras administrar un extracto fenólico de té verde a ratas Wistar macho alimentadas con dieta alta en grasa, determinaron que los niveles de adiponectina incrementaron debido a la intervención de los compuestos fenólicos sobre la vía del receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPARγ). Lo anterior resulta relevante, ya que la expresión de adiponectina es dependiente de este factor de transcripción. PPARγ se une directamente al elemento de respuesta a PPAR (PPRE) en el promotor de adiponectina, lo cual estimula la transcripción de este gen. La actividad de PPARγ es, a su vez, dependiente de la vía de señalización de ERK MAPK, por medio de la regulación de la actividad de PGC-1α, mediante varios eventos de señalización. La fosforilación de los receptores PPAR puede aumentar o disminuir su actividad (Moreno et al., 2010).

En un estudiado realizado por Tian y cols. (2013), la expresión de mRNA y proteína de PPARγ disminuyó en el grupo con dieta alta en grasa, mientras que la fosforilación de PPARγ aumentó.

Estos cambios fueron atenuados por el tratamiento con el extracto fenólico de té verde. Finalmente, los autores concluyeron que el extracto fenólico de té verde mejoró la hipoadiponectinemia (reducción en los niveles de adiponectina) en ratas alimentadas con dieta alta en grasa, tras interrumpir el ciclo de fosforilación de erk1/2 mediado por dichas dietas **(Figura 11)**. El análisis de la ruta de señalización indicó que estaba involucrada la regulación de PPARγ mediada por la ruta erk1/2. En el presente estudio, a pesar de no contar con diferencias significativas por efecto del extracto fenólico de pasta de aguacate, se percibe una tendencia no significativa de regulación positiva en los grupos suplementados, tendencia que posiblemente podría aumentar tras un mayor tiempo de exposición a los compuestos en el extracto. Al incrementar este tiempo, es posible que los compuestos fenólicos podrían resultar en el incremento de la adiponectina.

Como se ha mencionado anteriormente, un aumento en los niveles de adiponectina plasmática podría resultar en una mejor sensibilización a la insulina, metabolismo de la glucosa y un menor riesgo de padecer diabetes tipo 2. Los principales mecanismos de acción por los cuales la adiponectina podría mejorar la sensibilidad a la insulina pudieran deberse a su efecto sobre la oxidación de ácidos grasos y a la inhibición de la glucosa hepática (Lihn et al., 2005).

Kubota y cols., (2002) reportaron una leve resistencia a la insulina en ratones heterocigotos con deficiencia de adiponectina, y una moderada resistencia a la insulina en ratones homocigotos con deficiencia de adiponectina. Las diferencias en los fenotipos de los ratones con deficiencia de adiponectina podrían deberse a diferentes métodos de eliminación y al trasfondo genético de los animales. Sin embargo, los estudios de deficiencia de adiponectina indican que la adiponectina juega un papel protector contra el desarrollo de resistencia a la insulina. Adicionalmente, la adiponectina tiene varias funciones biológicas diferentes a la sensibilización a la insulina, como funciones antiaterogénicas, antiinflamatorias, antiangiogénicas y antitumorales (Achari & Jain, 2017; Von Frankenberg et al., 2017). El reciente descubrimiento de los receptores de adiponectina ha ayudado a dilucidar las vías intracelulares más específicas implicadas en la acción de la adiponectina, por lo que desarrollar coadyuvantes de origen natural que promuevan su actividad o concentración plasmática pudiera ser una herramienta útil para el tratamiento de diferentes enfermedades crónicas no transmisibles.

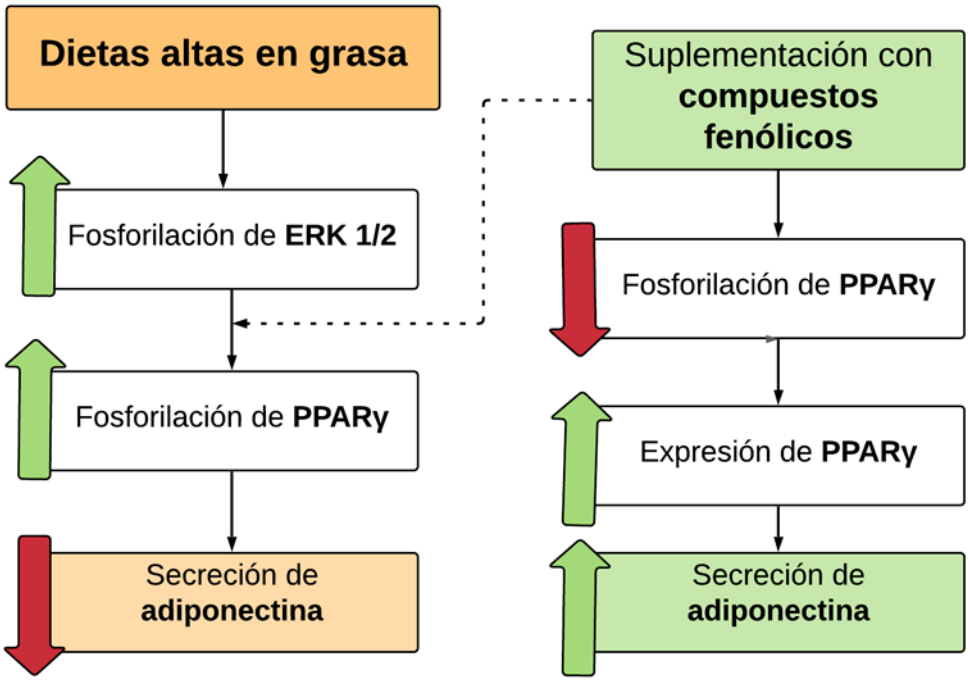


Figura 11. Efecto de las dietas altas en grasa sobre la secreción de adiponectina y cómo los compuestos fenólicos pueden interferir en dicho proceso. Adaptado de Tian y cols., (2013).

La leptina es una hormona cuya concentración depende principalmente del metabolismo energético y de la composición corporal (porcentaje de masa grasa y magra), sin embargo, estudios han demostrado que algunos compuestos fenólicos pueden modificar su concentración basal a largo plazo. De acuerdo con los resultados de concentración de esta hormona presentados en la **Figura 12**, se encontró que los grupos tratados con el extracto fenólico de pasta de aguacate, presentaron una concentración significativamente mayor ($p<0.05$), con respecto a sus controles sin extracto. De igual forma, al comparar entre grupos, los grupos DAG y DAG + EF promovieron una mayor secreción de leptina ($p<0.05$), en comparación con los grupos tratados con la DE y DE + EF. Recordando que la leptina depende de la composición corporal, y tras no haber presentado diferencias significativas en dicha variable, se sugiere que la concentración de esta hormona pudo ser influida por los cambios en las dietas, tanto la distribución de macronutrientes como la adición del extracto fenólico.

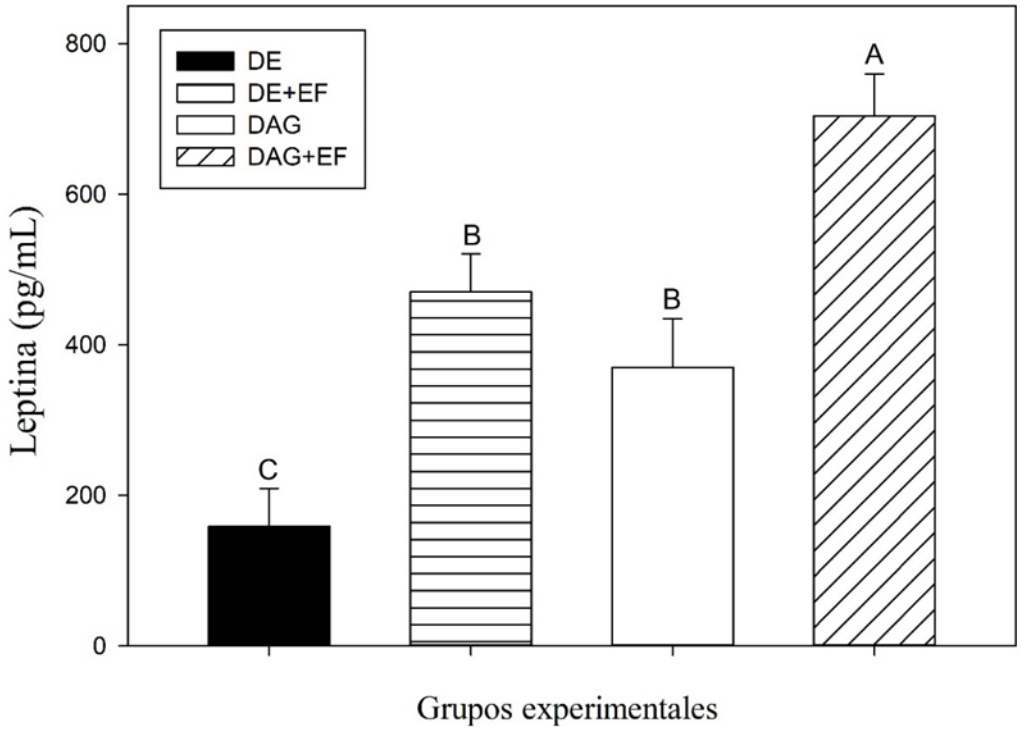


Figura 12. Concentración plasmática de la hormona leptina de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF), después de 8 semanas de bioensayo. En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas la concentración de la hormona representada en pg/mL. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p<0.05$).

Estos resultados son comparables con los de Ibars et al., (2018), donde la concentración sérica de leptina incrementó en un modelo murino, tras la suplementación subcrónica con compuestos fenólicos de uva. Los autores atribuyen este incremento a que los compuestos fenólicos de la uva incrementaron la susceptibilidad y sensibilidad a la hormona, promoviendo así un estado de saciedad más prolongado, no asociado a hiperleptinemia, debido a que los animales de experimentación no eran obesos y fueron expuestos a agonistas de dicha hormona. Sin embargo, algunos estudios muestran resultados contrastantes, dónde esta hormona se ve significativamente reducida tras la suplementación con compuestos fenólicos (Boix-Castejón et al., 2018). No obstante, estas modificaciones son asociadas a desórdenes metabólicos como obesidad o resistencia a la leptina, donde la regulación negativa de ésta podría beneficiar al organismo para disminuir la inflamación asociada al exceso de peso y masa grasa.

Si bien, los estudios disponibles sobre lo que representan los cambios en los niveles de leptina en

el organismo son contrastantes, resulta indispensable recordar que la resistencia a la leptina o hiperleptinemia se asocian a sujetos con obesidad o una mayor cantidad de masa magra. Por lo tanto, no es posible relacionarlo con los animales de experimentación del presente estudio, debido a que no se presentaron diferencias significativas entre los niveles de tejido adiposo inicial, final ni en el cambio de este parámetro a lo largo de las 8 semanas de duración del bioensayo (**Figura 8** y **Figura 9**). Por lo que, al excluir dichos factores, las únicas variables que pudieran haber propiciado los cambios en los niveles de la hormona son la distribución dietética (balanceada o alta en grasa), así como la incorporación del extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass'.

A pesar de que los mecanismos de acción por los cuales pudiera ocurrir dicha modificación en los niveles de leptina por efecto de los compuestos fenólicos no han sido esclarecidos, existen diferentes propuestas que buscan definir este sinergismo. En un estudio donde se utilizó extracto fenólico de semilla de uva (GSPE), se determinó que los compuestos fenólicos ahí presentes mejoraban la sensibilidad central a dicha hormona (Ibars et al., 2018). Esto se evaluó determinando la expresión de genes que regulan la vía de señalización de leptina, y los efectores posteriores en el hipotálamo de ratas macho. En primer lugar, se determinaron los niveles de proteína STAT3 hipotalámica, como uno de los estándares de oro para evaluar la activación de la cascada de leptina *in vivo*. Los animales suplementados con GSPE aumentaron los niveles de STAT3, al igual que los niveles de POMC, por lo que se sugiere que este aumento en la señalización podría haber tenido un efecto positivo sobre la sensibilidad a esta hormona. Es importante destacar que la expresión de POMC está vinculada a la inducción de señales anorexigénicas y los animales suplementados con GSPE mostraron una reducción significativa en la ingesta de alimento, al igual que en el presente estudio. De acuerdo a lo establecido anteriormente, la leptina es la principal hormona que transmite información sobre las reservas de energía de la periferia al hipotálamo. La interacción de la leptina con la isoforma más larga de su receptor (Obrb) en las neuronas que expresan POMC y AgRP, promueve la fosforilación del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3). Luego, STAT3 se dimeriza y se transloca al núcleo, donde se une a los promotores de POMC y AgRP. Esto estimula la expresión de POMC e inhibe la de AgRP, estimulado así una reducción en la ingesta de alimento y aumentando el gasto energético.

En la **Figura 13** se presenta la concentración plasmática de la hormona anorexigénica CCK, después de 8 semanas de tratamiento para los cuatro grupos experimentales. En este caso, se determinó que ni la dieta ni el extracto fenólico de pasta de aguacate tuvieron un efecto significativo

(p>0.05) sobre su concentración plasmática, a pesar de que se percibe una ligera tendencia no significativa al aumento en el grupo DAG + EF. Por lo que los cambios ejercidos en el consumo de alimento de los animales de experimentación no fueron mediados por esta hormona, a pesar de ser una de las principales en promover la saciedad en modelos *in vivo*.

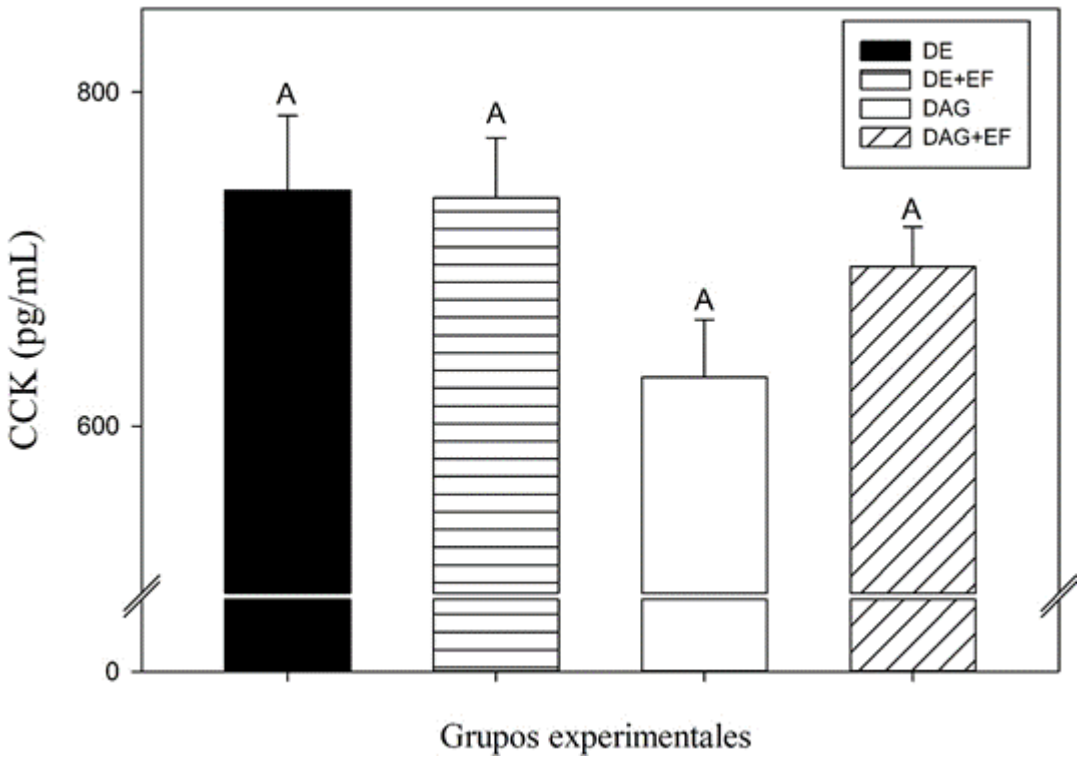


Figura 13. Concentración plasmática de la hormona anorexigénica CCK de ratas Wistar macho alimentadas con dieta estándar (DE), dieta alta en grasa (DAG), y las mismas dietas suplementadas con 1g/kg de extracto fenólico de pasta de aguacate (DE + EF y DAG + EF), después de 8 semanas de bioensayo. En el eje de las ordenadas se muestran los grupos experimentales y en las abscisas la concentración de la hormona representada en pg/mL. Literales diferentes indican diferencias significativas (p<0.05).

En un estudio se evaluaron los efectos supresores de apetito (promotores de saciedad), de los principales compuestos fenólicos del extracto fenólico de espinaca (*Spinacia oleracea*) en un modelo murino. Se reportó que el extracto fenólico logró incrementar la concentración de CCK tras administrado, sin embargo, este incremento fue asociado a un efecto inductor acelerado de la liberación de esta hormona en el lumen intestinal, lo cual se llevó a cabo los primeros 30 y 60 min después de su consumo (Panda & Shinde, 2017b). Los autores argumentan que, a pesar de haber

incrementado los niveles de la hormona, la mayor concentración de ésta se observó a los 60 min de consumido el extracto. Ya que la vida media de esta hormona es breve, esto podría ser una posible justificación para la falta de diferencias significativas reportadas en el presente estudio.

Kim et al., (2017) obtuvieron resultados similares al presente estudio, tras administrar un extracto de *Aster pseudoglehni* a un modelo murino. Los autores reportan que, a pesar de no obtener diferencias en la concentración de CCK tras administrar el extracto, existe un efecto positivo sobre la regulación y reducción de la motilidad gástrica, lo que podría promover una mayor sensación de saciedad al mantener los nutrientes en el lumen intestinal durante un tiempo más prolongado. Dado lo reportado anteriormente, es necesario evaluar el efecto de dichos compuestos sobre esta hormona durante períodos de tiempo más cortos, así como de correlacionarlo con eventos fisiológicos asociados a la regulación de saciedad en el organismo.

A pesar de existir suficiente información disponible respecto a esta hormona y su estimulación por nutrientes que entran en contacto con las células I en el intestino delgado, el mecanismo por el cual otros compuestos, particularmente los compuestos fenólicos, pueden ejercer un efecto similar al reportado tras la exposición a macronutrientes, no ha sido reportado (Paniagua et al., 2019). Al Shukor y cols., (2016) evaluaron el efecto de ciertos flavonoides como la quercetina, kaempferol, apigenina y rutina sobre las células I del intestino delgado (secretoras de CCK), utilizando cultivos de células STC-1. Los autores reportaron una estimulación de las células I por parte de los flavonoides, teniendo como resultado un aumento en la secreción de CCK. A pesar de ser prometedores, estos resultados distan de la realidad, debido a que los compuestos fenólicos no llegan intactos al intestino delgado y mucho menos en las cantidades utilizadas (20 µM). No obstante, estos resultados permiten proponer posibles mecanismos de acción a través de los cuales se ejerzan cambios sobre la secreción de esta hormona.

Resulta necesario recalcar la relevancia del presente estudio, ya que la forma de administración del extracto se asemeja al consumo dentro de la dieta habitual de un organismo, ya sea como alimento funcional o en el mercado de los nutracéuticos. Es también relevante hacer énfasis en que sí se presentaron cambios significativos sobre la concentración de hormonas relevantes para el proceso de saciedad, y que posiblemente promovieron modificaciones en el consumo de alimento. Asimismo, la inclusión del extracto dentro de las dietas no propició daños fisiológicos, conductuales o de consumo aparentes sobre los animales experimentales. Esto sugiere que el consumo de este extracto es seguro, sin embargo, se requieren estudios adicionales para asegurarlo

de manera concluyente. La evidencia presentada en este trabajo indica que el estudio del efecto de los compuestos fenólicos provenientes de subproductos agroalimentarios cuenta con un futuro prometedor, en el cual, el objetivo principal sería implementarlo de forma segura y efectiva para mejorar la salud de seres humanos.

7. CONCLUSIÓN

La pasta de aguacate cv. 'Hass' es un subproducto industrial, que conserva una concentración importante de compuestos fenólicos, así como capacidad antioxidante reportada en el fruto en fresco. Bajo las condiciones del estudio el extracto fenólico no ejerció modificaciones significativas sobre el peso corporal, el porcentaje de tejido adiposo o concentración de glucosa sanguínea al ser administrado de manera subcrónica a ratas Wistar macho. Las dietas altas en grasa alteraron el perfil de lípidos plasmáticos, aumentando la concentración de colesterol total y LDL y disminuyendo la de HDL. Sin embargo, el extracto restauró la concentración de HDL a valores normales, después de haber disminuido por la dieta alta en grasa.

El extracto fenólico de pasta de aguacate cv. 'Hass' ejerció un efecto de saciedad, al disminuir el consumo de alimento en los grupos experimentales tratados con dicho extracto. Su mecanismo de acción se debió, al menos en parte, al aumento en la concentración plasmática de las hormonas inductoras de saciedad GLP-1 y leptina. Estos efectos no se asociaron a cambios significativos en la concentración de adiponectina o CCK, al no haber cambios en sus concentraciones. Sin embargo, se encontraron tendencias no significativas al aumento en los grupos tratados con el extracto.

De forma general, el extracto fenólico de la pasta de aguacate cv. 'Hass', ejerció un efecto de saciedad al ser incorporado a dietas estándar y dietas altas en grasa, además de modificar el perfil lipídico sérico. Es por ello que se requieren de futuras investigaciones sobre otros subproductos de frutos tropicales ricos en compuestos fenólicos y sus efectos sobre la saciedad y los procesos biológicos asociados, al igual que estudios sobre la extrapolación de la dosis y el efecto en seres humanos para ser considerado como un posible nutraceútico. Esto permitiría proponer múltiples usos para este subproducto, tales como la extracción de sus compuestos bioactivos y aplicación como ingredientes funcionales.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda ampliamente estandarizar un protocolo de manejo de los subproductos del aguacate por parte de la industria, tales como la refrigeración inmediata después de generarlos y proceder con medidas de higiene y cuidado para preservar la integridad de los compuestos de interés dentro de ésta. Esto promovería la conservación de los compuestos de interés y haría más factible su aplicación.

Se sugiere considerar las medidas de conservación para los subproductos de aguacate mencionadas a lo largo del escrito para preservar la integridad de los compuestos bioactivos presentes en la pasta de aguacate, particularmente, se recomienda el secado por convección a temperaturas seguras que eviten la degradación de los compuestos fenólicos, así como la mayor eliminación posible del agua disponible en el subproducto.

Se propone también prolongar la duración del bioensayo para lograr una exposición crónica al extracto fenólico, para así corroborar algunos efectos que pudieran no haberse desarrollado en el presente estudio por una insuficiente interacción entre el extracto y los animales de experimentación.

Finalmente, se propone analizar el efecto de estos compuestos fenólicos y la saciedad, a nivel cerebral, visualizando cambios o fluctuaciones en los receptores asociados a NPY, POMC y otros posibles mediadores involucrados.

9. REFERENCIAS

Abella, V., Scotece, M., Conde, J., Pino, J., Gonzalez-Gay, M. A., Gómez-Reino, J. J., Gualillo, O. (2017). Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. *Nature Reviews Rheumatology*, *13*(2), 100–109. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.209

Achari, A. E., & Jain, S. K. (2017, June 21). Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms18061321

Al Shukor, N., Ravallec, R., Van Camp, J., Raes, K., & Smagghe, G. (2016). Flavonoids stimulate cholecystokinin peptide secretion from the enteroendocrine STC-1 cells. *Fitoterapia*, *113*, 128–131. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.07.016

Almabrouk, T. A. M., White, A. D., Ugusman, A. B., Skiba, D. S., Katwan, O. J., Alganga, H., … Kennedy, S. (2018). High fat diet attenuates the anticontractile activity of aortic PVAT via a mechanism involving AMPK and reduced adiponectin secretion. *Frontiers in Physiology*, *9*(FEB), 51. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00051

Annamalai, S., Mohanam, L., Raja, V., Dev, A., & Prabhu, V. (2017). Antiobesity, antioxidant and hepatoprotective effects of Diallyl trisulphide (DATS) alone or in combination with Orlistat on HFD induced obese rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *93*, 81–87. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.035

Annuzzi, G., Bozzetto, L., Costabile, G., Giacco, R., Mangione, A., Anniballi, G., … Rivellese, A. A. (2014). Diets naturally rich in polyphenols improve fasting and postprandial dyslipidemia and reduce oxidative stress: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *99*(3), 463–471. https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073445

Avenell, A., Robertson, C., Skea, Z., Jacobsen, E., Boyers, D., Cooper, D., … Bruin, M. de. (2018). Bariatric surgery, lifestyle interventions and orlistat for severe obesity: the REBALANCE mixed-methods systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment*, *22*(68), 1–246. https://doi.org/10.3310/hta22680

Ayala-Zavala, J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J. A., Siddiqui, M. W., … González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International*, *44*(7), 1866–1874. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.021

Bag, A., & Bag, N. (2018, January 1). Tea polyphenols and prevention of epigenetic aberrations in cancer. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*. Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/jnsbm.JNSBM_46_17

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70–76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292

Bhadoriya, S. S., Ganeshpurkar, A., Bhadoriya, R. P. S., Sahu, S. K., & Patel, J. R. (2018). Antidiabetic potential of polyphenolic-rich fraction of Tamarindus indica seed coat in

alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, *29*(1), 37–45. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2016-0193

Bohórquez, D. V., & Liddle, R. A. (2011). Axon-like basal processes in enteroendocrine cells: characteristics and potential targets. *Clinical and Translational Science*, *4*(5), 387–391. https://doi.org/10.1111/j.1752-8062.2011.00299.x

Bohula, E. A., Wiviott, S. D., McGuire, D. K., Inzucchi, S. E., Kuder, J., Im, K., … Scirica, B. M. (2018). Cardiovascular Safety of Lorcaserin in Overweight or Obese Patients. *New England Journal of Medicine*, *379*(12), 1107–1117. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1808721

Boix-Castejón, M., Herranz-López, M., Pérez Gago, A., Olivares-Vicente, M., Caturla, N., Roche, E., & Micol, V. (2018a). Hibiscus and lemon verbena polyphenols modulate appetite-related biomarkers in overweight subjects: A randomized controlled trial. *Food and Function*, *9*(6), 3173–3184. https://doi.org/10.1039/c8fo00367j

Boix-Castejón, M., Herranz-López, M., Pérez Gago, A., Olivares-Vicente, M., Caturla, N., Roche, E., & Micol, V. (2018b). Hibiscus and lemon verbena polyphenols modulate appetite-related biomarkers in overweight subjects: A randomized controlled trial. *Food and Function*, *9*(6), 3173–3184. https://doi.org/10.1039/c8fo00367j

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Buchholz, T., & Melzig, M. F. (2015, July 1). Polyphenolic Compounds as Pancreatic Lipase Inhibitors. *Planta Medica*. Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/s-0035-1546173

Burcelin, R. (2017, January 1). When gut fermentation controls satiety: A PYY story. *Molecular Metabolism*. Elsevier GmbH. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.11.005

Camilleri, M. (2015). Peripheral mechanisms in appetite regulation. *Gastroenterology*, *148*(6), 1219–1233. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.09.016

Casanova-Martí, À., Serrano, J., Portune, K. J., Sanz, Y., Blay, M. T., Terra, X., … Pinent, M. (2018). Grape seed proanthocyanidins influence gut microbiota and enteroendocrine secretions in female rats. *Food and Function*, *9*(3), 1672–1682. https://doi.org/10.1039/c7fo02028g

Castro-Barquero, S., Tresserra-Rimbau, A., Vitelli-Storelli, F., Doménech, M., Salas-Salvadó, J., Martín-Sánchez, V., … Estruch, R. (2020). Dietary polyphenol intake is associated with HDL-cholesterol and a better profile of other components of the metabolic syndrome: A PREDIMED-plus sub-study. *Nutrients*, *12*(3), 689. https://doi.org/10.3390/nu12030689

Cázares-Camacho, R., Domínguez-Avila, J. A., Astiazarán-García, H., Montiel-Herrera, M., & González-Aguilar, G. A. (2020). Neuroprotective effects of mango cv. 'Ataulfo' peel and pulp against oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, jsfa.10658. https://doi.org/10.1002/jsfa.10658

Chew, B., Mathison, B., Kimble, L., McKay, D., Kaspar, K., Khoo, C., … Blumberg, J. (2019). Chronic consumption of a low calorie, high polyphenol cranberry beverage attenuates inflammation and improves glucoregulation and HDL cholesterol in healthy overweight humans: a randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*, *58*(3), 1223–1235.

https://doi.org/10.1007/s00394-018-1643-z

Coen, P. M., & Goodpaster, B. H. (2016). A role for exercise after bariatric surgery? *Diabetes, Obesity & Metabolism*, *18*(1), 16–23. https://doi.org/10.1111/dom.12545

Delghandi, M. P., Johannessen, M., & Moens, U. (2005). The cAMP signalling pathway activates CREB through PKA, p38 and MSK1 in NIH 3T3 cells. *Cellular Signalling*, *17*(11), 1343–1351. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2005.02.003

Della-Zuana, O., Presse, F., Ortola, C., Nahon, J. L., & Levens, N. (2002). Acute and chronic administration of melanin-concentrating hormone enhances food intake and body weight in Wistar and Sprague-Dawley rats. *International Journal of Obesity*, *26*(10), 1289–1295. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802079

Della Pepa, G., Vetrani, C., Vitale, M., Bozzetto, L., Costabile, G., Cipriano, P., … Annuzzi, G. (2020). Effects of a diet naturally rich in polyphenols on lipid composition of postprandial lipoproteins in high cardiometabolic risk individuals: an ancillary analysis of a randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, *74*(1), 183–192. https://doi.org/10.1038/s41430-019-0459-0

Dolara, P., Luceri, C., De Filippo, C., Femia, A. Pietro, Giovannelli, L., Caderni, G., … Cresci, A. (2005). Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *591*(1–2), 237–246. https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.022

Domae, C., Nanba, F., Maruo, T., Suzuki, T., Ashida, H., & Yamashita, Y. (2019). Black soybean seed coat polyphenols promote nitric oxide production in the aorta through glucagon-like peptide-1 secretion from the intestinal cells. *Food and Function*, *10*(12), 7875–7882. https://doi.org/10.1039/c9fo02050k

Domínguez-Avila, J Abraham, Astiazaran-Garcia, H., Wall-Medrano, A., de la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. (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. https://doi.org/10.1002/jsfa.9340

Domínguez-Avila, Jesús A., Alvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J. A., Maldonado-Mendoza, I. E., Gómez-García, M. D. C., & De La Rosa, L. A. (2015). The pecan nut (Carya illinoinensis) and its oil and polyphenolic fractions differentially modulate lipid metabolism and the antioxidant enzyme activities in rats fed high-fat diets. *Food Chemistry*, *168*, 529–537. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.092

Domínguez Avila, J. A., Rodrigo García, J., González Aguilar, G. A., & de la Rosa, L. A. (2017, May 30). The Antidiabetic Mechanisms of Polyphenols Related to Increased Glucagon-Like Peptide-1 (GLP1) and Insulin Signaling. *Molecules (Basel, Switzerland)*. https://doi.org/10.3390/molecules22060903

Dostal, A. M., Arikawa, A., Espejo, L., Bedell, S., Kurzer, M. S., & Stendell-Hollis, N. R. (2017). Green tea extract and catechol-O-methyltransferase genotype modify the post-prandial serum insulin response in a randomised trial of overweight and obese post-menopausal women. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, *30*(2), 166–176. https://doi.org/10.1111/jhn.12408

Duca, F. A., & Lam, T. K. T. (2014, September 1). Gut microbiota, nutrient sensing and energy balance. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111). https://doi.org/10.1111/dom.12340

Fenske, W., Parker, J., & Bloom, S. R. (2011, July 10). Pharmacotherapy for obesity: A field in crisis? *Expert Review of Endocrinology and Metabolism*. Taylor & Francis. https://doi.org/10.1586/eem.11.50

Fernandes, R. C., Araújo, V. A., Giglio, B. M., Mota, J. F., Teixeira, K. I. S. S., Monteiro, P. A., … Pimentel, G. D. (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. https://doi.org/10.3390/nu10081122

Fernández-Castillejo, S., Valls, R. M., Castañer, O., Rubió, L., Catalán, Ú., Pedret, A., … Solà, R. (2016). Polyphenol rich olive oils improve lipoprotein particle atherogenic ratios and subclasses profile: A randomized, crossover, controlled trial. *Molecular Nutrition and Food Research*, *60*(7), 1544–1554. https://doi.org/10.1002/mnfr.201501068

Ferreira, L. T., de Sousa Filho, C. P. B., Marinovic, M. P., Rodrigues, A. C., & Otton, R. (2020). Green tea polyphenols positively impact hepatic metabolism of adiponectin-knockout lean mice. *Journal of Functional Foods*, *64*, 103679. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103679

Fujii, Y., Osaki, N., Hase, T., & Shimotoyodome, A. (2015). Ingestion of coffee polyphenols increases postprandial release of the active glucagon-like peptide-1 (GLP-1(7-36)) amide in C57BL/6J mice. *Journal of Nutritional Science*, *4*. https://doi.org/10.1017/jns.2014.71

Gao, Y., Zhang, Y., Zhu, J., Li, B., Li, Z., Zhu, W., … Li, Y. (2015, June 1). Recent progress in natural products as DPP-4 inhibitors. *Future Medicinal Chemistry*. Future Science. https://doi.org/10.4155/fmc.15.49

García-Lomillo, J., Viegas, O., Gonzalez-SanJose, M. L., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2017). Influence of red wine pomace seasoning and high-oxygen atmosphere storage on carcinogens formation in barbecued beef patties. *Meat Science*, *125*, 10–15. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.009

Gibbons, C., Finlayson, G., Caudwell, P., Webb, D. L., Hellström, P. M., Näslund, E., & Blundell, J. E. (2016). Postprandial profiles of CCK after high fat and high carbohydrate meals and the relationship to satiety in humans. *Peptides*, *77*, 3–8. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.09.010

González-Aguilar, G. A., Robles-Sánchez, R. M., Islas-Osuna, M. A., Astiazarán-García, H., Vázquez-Ortiz, F. A., Martín-Belloso, O., & Gorinstein, S. (2009). Quality index, consumer acceptability, bioactive compounds, and antioxidant activity of fresh-cut "ataulfo" mangoes (Mangifera Indica L.) as affected by low-temperature storage. *Journal of Food Science*, *74*(3), S126–S134. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01104.x

González-Muniesa, P., Mártinez-González, M.-A., Hu, F. B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., … Martinez, J. A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*, 17034. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34

Haddad, E., Wien, M., Oda, K., & Sabaté, J. (2018). Postprandial gut hormone responses to Hass avocado meals and their association with visual analog scores in overweight adults: A randomized 3 × 3 crossover trial. *Eating Behaviors*, *31*, 35–40.

https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2018.08.001

Haldar, S., Chia, S. C., & Henry, C. J. (2018). Polyphenol-rich curry made with mixed spices and vegetables increases postprandial plasma GLP-1 concentration in a dosedependent manner. *European Journal of Clinical Nutrition*, *72*(2), 297–300. https://doi.org/10.1038/s41430-017-0069-7

Haldar, S., Lim, J., Chia, S., Ponnalagu, S., & Henry, C. (2018). 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. https://doi.org/10.3390/foods7040047

Hales, C. M., Carroll, M. D., Fryar, C. D., & Ogden, C. L. (2017). Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2015–2016. NCHS data brief, no 288. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. *NCHS Data Brief*, (288), 1–8. Recuperado de https://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db288_table.pdf#1.

Hansen, T. v. . (2001a). Cholecystokinin gene transcription: promoter elements, transcription factors and signaling pathways. *Peptides*, *22*(8), 1201–1211. https://doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00443-0

Hansen, T. v. . (2001b, August 1). Cholecystokinin gene transcription: Promoter elements, transcription factors and signaling pathways. *Peptides*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00443-0

Harris, R. B. S. (2014, March). Direct and indirect effects of leptin on adipocyte metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. NIH Public Access. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.009

Haslam, D. (2016). Weight management in obesity - Past and present. *International Journal of Clinical Practice*, *70*(3), 206–217. https://doi.org/10.1111/ijcp.12771

Henning, S. M., Yang, J., Hsu, M., Lee, R. P., Grojean, E. M., Ly, A., … Li, Z. (2018). Decaffeinated green and black tea polyphenols decrease weight gain and alter microbiome populations and function in diet-induced obese mice. *European Journal of Nutrition*, *57*(8), 2759–2769. https://doi.org/10.1007/s00394-017-1542-8

Hernáez, Á., Remaley, A. T., Farràs, M., Fernández-Castillejo, S., Subirana, I., Schröder, H., … Fitó, M. (2015). Olive oil polyphenols decrease LDL concentrations and LDL atherogenicity in men in a randomized controlled trial. *Journal of Nutrition*, *145*(8), 1692–1697. https://doi.org/10.3945/jn.115.211557

Ibars, M., Aragonès, G., Ardid-Ruiz, A., Gibert-Ramos, A., Arola-Arnal, A., Suárez, M., & Bladé, C. (2018). Seasonal consumption of polyphenol-rich fruits affects the hypothalamic leptin signaling system in a photoperiod-dependent mode. *Scientific Reports*, *8*(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-018-31855-y

Igel, L. I., Kumar, R. B., Saunders, K. H., & Aronne, L. J. (2017). Practical Use of Pharmacotherapy for Obesity. *Gastroenterology*, *152*(7), 1765–1779. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.049

Katsiki, N., Mantzoros, C., & Mikhailidis, D. P. (2017). Adiponectin, lipids and atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, *28*(4), 347–354.

https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000431

Kim, H. Y., Kim, K., Lee, Y. M., & Cho, H. (2017). Aster pseudoglehni extract stimulates cholecystokinin and serotonin secretion in vitro and reduces gastric emptying in vivo. *Journal of Functional Foods*, *35*, 436–446. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.014

Kim, S. (2016, July 1). Drugs to treat obesity: Do they work. *Postgraduate Medical Journal*. BMJ Publishing Group. https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133388

Kitada, M., Ogura, Y., Suzuki, T., Monno, I., Kanasaki, K., Watanabe, A., & Koya, D. (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 and Metabolism*, *15*(1), 20. https://doi.org/10.1186/s12986-018-0255-1

Kleinert, M., Kotzbeck, P., Altendorfer-Kroath, T., Birngruber, T., Tschöp, M. H., & Clemmensen, C. (2018). Time-resolved hypothalamic open flow micro-perfusion reveals normal leptin transport across the blood–brain barrier in leptin resistant mice. *Molecular Metabolism*, *13*, 77–82. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.04.008

Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (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. https://doi.org/10.1021/jf300090p

Kubota, N., Terauchi, Y., Yamauchi, T., Kubota, T., Moroi, M., Matsui, J., … Noda, T. (2002). Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(29), 25863–25866. https://doi.org/10.1074/jbc.C200251200

le Roux, C. W., & Heneghan, H. M. (2018). Bariatric Surgery for Obesity. *Medical Clinics of North America*, *102*(1), 165–182. https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.08.011

Leão, D. P., Franca, A. S., Oliveira, L. S., Bastos, R., & Coimbra, M. A. (2017). Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (Caryocar brasilense Camb.) fruit by-products. *Food Chemistry*, *225*, 146–153. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.027

Li, Y., Rahman, S. U., Huang, Y., Zhang, Y., Ming, P., Zhu, L., … Wu, J. (2020). Green tea polyphenols decrease weight gain, ameliorate alteration of gut microbiota, and mitigate intestinal inflammation in canines with high-fat-diet-induced obesity. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *78*, 108324. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108324

Lihn, A. S., Pedersen, S. B., & Richelsen, B. (2005, February). Adiponectin: Action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obesity Reviews*. Obes Rev. https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2005.00159.x

Lindholm, C. R., Ertel, R. L., Bauwens, J. D., Schmuck, E. G., Mulligan, J. D., & Saupe, K. W. (2013). A high-fat diet decreases AMPK activity in multiple tissues in the absence of hyperglycemia or systemic inflammation in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *69*(2), 165–175. https://doi.org/10.1007/s13105-012-0199-2

López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Pasini, F., Caboni, M. F., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (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. *LWT - Food Science and Technology*, *73*, 505–513. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.049

Lu, C., Zhu, W., Shen, C. L., & Gao, W. (2012). Green tea polyphenols reduce body weight in rats by modulating obesity-related genes. *PLoS ONE*, *7*(6), e38332. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038332

Lu, Q. Y., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R. P., Gao, K., Heber, D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(21), 10408–10413. https://doi.org/10.1021/jf901839h

Maeda, N., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., & Shimomura, I. (2020, January 1). Adiponectin, a unique adipocyte-derived factor beyond hormones. *Atherosclerosis*. Elsevier Ireland Ltd. https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.021

Manning, S., Pucci, A., & Finer, N. (2014, May). Pharmacotherapy for obesity: Novel agents and paradigms. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. SAGE Publications. https://doi.org/10.1177/2040622314522848

Meneguetti, B. T., Cardoso, M. H., Ribeiro, C. F. A., Felício, M. R., Pinto, I. B., Santos, N. C., … Franco, O. L. (2019, April). Neuropeptide receptors as potential pharmacological targets for obesity. *Pharmacology and Therapeutics*. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.002

Mills, J. G., Larkin, T. A., Deng, C., & Thomas, S. J. (2019). Weight gain in Major Depressive Disorder: Linking appetite and disordered eating to leptin and ghrelin. *Psychiatry Research*, *279*, 244–251. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.03.017

Monstein, H. J., Folkesson, R., & Geijer, T. (1990). Procholecystokinin and proenkephalin A mRNA expression is modulated by cyclic AMP and noradrenaline. *Journal of Molecular Endocrinology*, *4*(1), 37–41. https://doi.org/10.1677/jme.0.0040037

Moon, H. S., Chung, C. S., Lee, H. G., Kim, T. G., Choi, Y. J., & Cho, C. S. (2007). Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on lipid accumulation of 3T3-L1 cells. *Obesity*, *15*(11), 2571–2582. https://doi.org/10.1038/oby.2007.309

Moreno, M., Lombardi, A., Silvestri, E., Senese, R., Cioffi, F., Goglia, F., … De Lange, P. (2010). PPARs: Nuclear receptors controlled by, and controlling, nutrient handling through nuclear and cytosolic signaling. *PPAR Research*. https://doi.org/10.1155/2010/435689

Murphy, K. G., Dhillo, W. S., & Bloom, S. R. (2006). Gut Peptides in the Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis. *Endocrine Reviews*, *27*(7), 719–727. https://doi.org/10.1210/er.2006-0028

Myers, M. G., Cowley, M. A., & Münzberg, H. (2008, March 13). Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annual Review of Physiology*. Annual Reviews. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), L., Abdeen, Z. A., Hamid, Z. A., Abu-Rmeileh, N. M., Acosta-Cazares, B., Acuin, C., … Ezzati, M. (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet (London, England)*, *390*(10113), 2627–2642. https://doi.org/10.1016/S0140-

6736(17)32129-3

Nicholson, S. K., Tucker, G. A., & Brameld, J. M. (2008). Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proceedings of the Nutrition Society*, *67*(1), 42–47. https://doi.org/10.1017/S0029665108006009

Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, *5*(35), 27986–28006. https://doi.org/10.1039/c4ra13315c

Nuñez-Sánchez, M. A., González-Sarrías, A., García-Villalba, R., Monedero-Saiz, T., García-Talavera, N. V., Gómez-Sánchez, M. B., … García-Conesa, M. T. (2017). Gene expression changes in colon tissues from colorectal cancer patients following the intake of an ellagitannin-containing pomegranate extract: a randomized clinical trial. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *42*, 126–133. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.01.014

Observatorio Mexicano de Enfermedades No Transmisibles. (2016). Actualización de Obesidad y Sobrepeso - ENSANUT 2016. Recuperado el 19 de marzo de 2019, de http://oment.uanl.mx/overweight-and-obesity-update-in-mexico-ensanut-2016/?lang=en

Ogawa, K., Hirose, S., Nagaoka, S., & Yanase, E. (2016). Interaction between Tea Polyphenols and Bile Acid Inhibits Micellar Cholesterol Solubility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(1), 204–209. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05088

Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Goñi, M. G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, *66*(1), 25–31. https://doi.org/10.1111/lam.12814

Panda, V., & Shinde, P. (2017a). Appetite suppressing effect of Spinacia oleracea in rats: Involvement of the short term satiety signal cholecystokinin. *Appetite*, *113*, 224–230. https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.030

Panda, V., & Shinde, P. (2017b). Appetite suppressing effect of Spinacia oleracea in rats: Involvement of the short term satiety signal cholecystokinin. *Appetite*, *113*, 224–230. https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.030

Paniagua, M., Crespo, J., Arís, A., & Devant, M. (2019). Citrus aurantium flavonoid extract improves concentrate efficiency, animal behavior, and reduces rumen inflammation of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *Animal Feed Science and Technology*, *258*, 114304. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114304

Panickar, K. S. (2013, January). Effects of dietary polyphenols on neuroregulatory factors and pathways that mediate food intake and energy regulation in obesity. *Molecular Nutrition and Food Research*. https://doi.org/10.1002/mnfr.201200431

Planes-Muñoz, D., López-Nicolás, R., González-Bermúdez, C. A., Ros-Berruezo, G., & Frontela-Saseta, C. (2018). In vitro effect of green tea and turmeric extracts on GLP-1 and CCK secretion: the effect of gastrointestinal digestion. *Food and Function*, *9*(10), 5245–5250. https://doi.org/10.1039/c8fo01334a

Qin, Y., Xia, M., Ma, J., Hao, Y., Liu, J., Mou, H., … Ling, W. (2009). Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *The American*

Journal of Clinical Nutrition, *90*(3), 485–492. https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27814

Rawdon, B. B., & Andrew, A. (1993, July). Origin and differentiation of gut endocrine cells. *Histology and Histopathology*. Recuperado de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8358166

Rehfeld, J. F. (2017, April 13). Cholecystokinin-From local gut hormone to ubiquitous messenger. *Frontiers in Endocrinology*. https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00047

Rehfeld, J. F., & Nielsen, F. C. (1995). Molecular Forms and Regional Distribution of Cholecystokinin in the Central Nervous System (pp. 33–56). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-21705-4_2

Richards, P., Pais, R., Habib, A. M., Brighton, C. A., Yeo, G. S. H., Reimann, F., & Gribble, F. M. (2016). High fat diet impairs the function of glucagon-like peptide-1 producing L-cells. *Peptides*, *77*, 21–27. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.06.006

Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., & Estévez, M. (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. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.013

Rohatgi, A., Khera, A., Berry, J. D., Givens, E. G., Ayers, C. R., Wedin, K. E., … Shaul, P. W. (2014). HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *New England Journal of Medicine*, *371*(25), 2383–2393. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409065

Rosa-Gonçalves, P., & Majerowicz, D. (2019, August 1). Pharmacotherapy of Obesity: Limits and Perspectives. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/s40256-019-00328-6

Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of Phenolic Composition of Byproducts (Seeds and Peels) of Avocado (Persea americana Mill.) Cultivated in Colombia. *Molecules*, *24*(17), 3209. https://doi.org/10.3390/molecules24173209

Rtveladze, K., Marsh, T., Barquera, S., Sanchez Romero, L. M., Levy, D., Melendez, G., … Brown, M. (2014). Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutrition*, *17*(1), 233–239. https://doi.org/10.1017/S1368980013000086

Russell-Jones, D. (2009). Molecular, pharmacological and clinical aspects of liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *297*(1–2), 137–140. https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.11.018

Saavedra, J., Córdova, A., Navarro, R., Díaz-Calderón, P., Fuentealba, C., Astudillo-Castro, C., … Galvez, L. (2017). Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process. *Journal of Food Engineering*, *198*, 81–90. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.018

Sabaté, J., Wien, M., & Haddad, E. (2015). Post-ingestive effects of avocados in meals on satiety and gastric hormone blood levels. *Human Health Nut*, 459–461.

SAGARPA. (2017). *AGUACATE Mexicano planeación agrícola nacional*. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf

Saunders, K. H., Umashanker, D., Igel, L. I., Kumar, R. B., & Aronne, L. J. (2018, January). Obesity Pharmacotherapy. *Medical Clinics of North America*.

https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.08.010

Segovia, F. J., Hidalgo, G. I., Villasante, J., Ramis, X., & Almajano, M. P. (2018). Avocado seed: A comparative study of antioxidant content and capacity in protecting oil models from oxidation. *Molecules*, *23*(10), 2421. https://doi.org/10.3390/molecules23102421

Serrano, J., Casanova-Martí, À., Gual, A., Pérez-Vendrell, A. M., Blay, M. T., Terra, X., … Pinent, M. (2017). 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*(4), 1629–1636. https://doi.org/10.1007/s00394-016-1209-x

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015, October 1). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018

Silva, L. B. A. R., Pinheiro-Castro, N., Novaes, G. M., Pascoal, G. de F. L., & Ong, T. P. (2019). Bioactive food compounds, epigenetics and chronic disease prevention: Focus on early-life interventions with polyphenols. *Food Research International*, *125*, 108646. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108646

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry Of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158.

Song, W. Y., Aihara, Y., Hashimoto, T., Kanazawa, K., & Mizuno, M. (2015). (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces secretion of anorexigenic gut hormones. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, *57*(2), 164–169. https://doi.org/10.3164/JCBN.15-50

Srivastava, G., & Apovian, C. (2018a, June 5). Future Pharmacotherapy for Obesity: New Anti-obesity Drugs on the Horizon. *Current Obesity Reports*. https://doi.org/10.1007/s13679-018-0300-4

Srivastava, G., & Apovian, C. M. (2018b, October 13). Current pharmacotherapy for obesity. *Nature Reviews Endocrinology*. https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.122

Stefoska-Needham, A., Beck, E. J., Johnson, S. K., Chu, J., & Tapsell, L. C. (2016). Flaked sorghum biscuits increase postprandial GLP-1 and GIP levels and extend subjective satiety in healthy subjects. *Molecular Nutrition and Food Research*, *60*(5), 1118–1128. https://doi.org/10.1002/mnfr.201500672

Steinert, R. E., Feinle-Bisset, C., Asarian, L., Horowitz, M., Beglinger, C., & Geary, N. (2017a). Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): Secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB. *Physiological Reviews*, *97*(1), 411–463. https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2014

Steinert, R. E., Feinle-Bisset, C., Asarian, L., Horowitz, M., Beglinger, C., & Geary, N. (2017b). Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): Secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB. *Physiological Reviews*, *97*(1), 411–463. https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2014

Stice, E., Figlewicz, D. P., Gosnell, B. A., Levine, A. S., & Pratt, W. E. (2013, November 1). The contribution of brain reward circuits to the obesity epidemic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Pergamon. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.12.001

Sun-Waterhouse, D., Wen, I., Wibisono, R., Melton, L. D., & Wadhwa, S. (2009). Evaluation of the extraction efficiency for polyphenol extracts from by-products of green kiwifruit juicing. *International Journal of Food Science and Technology*, *44*(12), 2644–2652. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02097.x

Tenore, G. C., Carotenuto, A., Caruso, D., Buonomo, G., D'Avino, M., Brancaccio, D., … Novellino, E. (2018). A nutraceutical formulation based on Annurca apple polyphenolic extract is effective on intestinal cholesterol absorption: A randomised, placebo-controlled, crossover study. *PharmaNutrition*, *6*(3), 85–94. https://doi.org/10.1016/j.phanu.2018.05.001

Tian, C., Ye, X., Zhang, R., Long, J., Ren, W., Ding, S., … Ying, C. (2013). Green Tea Polyphenols Reduced Fat Deposits in High Fat-Fed Rats via erk1/2-PPARγ-Adiponectin Pathway. *PLoS ONE*, *8*(1), e53796. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053796

Ueno, H., & Nakazato, M. (2016, November 1). Mechanistic relationship between the vagal afferent pathway, central nervous system and peripheral organs in appetite regulation. *Journal of Diabetes Investigation*. Blackwell Publishing. https://doi.org/10.1111/jdi.12492

Villa-Rodríguez, J. A., Molina-Corral, F. J., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of "Hass" avocado. *Food Research International*, *44*(5), 1231–1237. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.012

Villa-Rodriguez, J. A., Yahia, E. M., González-León, A., Ifie, I., Robles-Zepeda, R. E., Domínguez-Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (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. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.020

Voigt, J. P., & Fink, H. (2015, January 15). Serotonin controlling feeding and satiety. *Behavioural Brain Research*. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.065

Von Frankenberg, A. D., Reis, A. F., & Gerchman, F. (2017, December 1). Relationships between adiponectin levels, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes: A literature review. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. https://doi.org/10.1590/2359-3997000000316

Wang, H. L., Li, C. Y., Zhang, B., Liu, Y. De, Lu, B. M., Shi, Z., … Wang, Y. (2014). Mangiferin Facilitates Islet Regeneration and β-Cell Proliferation through Upregulation of Cell Cycle and β-Cell Regeneration Regulators. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(5), 9016–9035. https://doi.org/10.3390/ijms15059016

Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, the past two decades. *Journal of Molecular Cell Biology*, *8*(2), 93–100. https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw011

Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*, *122*(4), 1193–1198. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114

WHO. (2014). World Health Organization. Recuperado el 7 de Marzo de 2019, de https://www.who.int/topics/obesity/en/

Wilson, J. L., & Enriori, P. J. (2015). A talk between fat tissue, gut, pancreas and brain to control

body weight. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *418*, 108–119. https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.08.022

Wu, T., Guo, Y., Liu, R., Wang, K., & Zhang, M. (2016). Black tea polyphenols and polysaccharides improve body composition, increase fecal fatty acid, and regulate fat metabolism in high-fat diet-induced obese rats. *Food and Function*, *7*(5), 2469–2478. https://doi.org/10.1039/c6fo00401f

Xie, L., Vance, T., Kim, B., Lee, S. G., Caceres, C., Wang, Y., … Bolling, B. W. (2017). Aronia berry polyphenol consumption reduces plasma total and low-density lipoprotein cholesterol in former smokers without lowering biomarkers of inflammation and oxidative stress: a randomized controlled trial. *Nutrition Research*, *37*, 67–77. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.12.007

Zhu, M.-J. (2018). Dietary Polyphenols, Gut Microbiota, and Intestinal Epithelial Health. In *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome* (pp. 295–314). Academic Press. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812019-4.00024-6

Zhu, Y., Ling, W., Guo, H., Song, F., Ye, Q., Zou, T., … Yang, Y. (2013). Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: A randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *23*(9), 843–849. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.06.005

Zou, T., Wang, B., Li, S., Liu, Y., & You, J. (2020). Dietary apple polyphenols promote fat browning in high-fat diet-induced obese mice through activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase α. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(6), 2389–2398. https://doi.org/10.1002/jsfa.10248