



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

“Efecto del consumo de la semilla y de la hoja de frijol
(*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la integridad intestinal y la
actividad proinflamatoria de la microglía en cerebro de
ratones C57BL/6 con obesidad inducida por una dieta alta
en grasa y fructosa”

Tesis

**Que como parte de los requisitos para obtener el Grado
de Doctor en Ciencias**

Presenta

M. en C. Perla Viridiana Ocampo Anguiano

Dirigido por:

Dra. Minerva Ramos Gómez

Co-Director:

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Querétaro, Qro. Septiembre del 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias de los Alimentos

“Efecto del consumo de la semilla y de la hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la integridad intestinal y la actividad proinflamatoria de la microglía en cerebro de ratones C57BL/6 con obesidad inducida por una dieta alta en grasa y fructosa”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos

Presenta

M. en C. Perla Viridiana Ocampo Anguiano

Dirigido por:

Dra. Minerva Ramos Gómez

Co-Director:

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Dra. Minerva Ramos Gómez

Director

Firma

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Co-director

Firma

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Asesor

Firma

Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez

Asesor

Firma

Dra. Erika María Orta Salazar

Asesor:

Firma

Centro Universitario Querétaro, Qro.
México

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y generó reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Handwritten signature in blue ink, reading "Paola Viridiana Ocampo A.".

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Autónoma de Querétaro, a su Facultad de Química y al Posgrado en Ciencias de los Alimentos, por brindarme la oportunidad de realizar mi Doctorado en esta institución.
- Al SECIHTI, por otorgarme una beca durante mi estancia doctoral.
- A la Dra. Minerva Ramos Gómez, por fungir como mi Directora, por su confianza, apoyo, tiempo y dedicación hacia mí y este proyecto, así como por el espacio y la disposición para la realización de los experimentos.
- A la Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano, por proporcionar las hojas y semillas de frijol empleadas en este trabajo, por ser mi co-Directora, por creer en mí desde la maestría, y por su confianza, inspiración, apoyo, capacitación y tiempo para hacer posible este proyecto, así como por el espacio y disposición para realizar los experimentos.
- A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, por sus observaciones, consejos al proyecto y por el espacio en su laboratorio para la realización de diversos experimentos.
- A la Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez, por su tiempo, apoyo y valiosos consejos para la realización de este trabajo.
- A la Dra. Erika María Orta Salazar, por su tiempo, capacitación en torno al mundo de la neurociencia, confianza y motivación para llevar a cabo este proyecto.
- A la Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda, por su apoyo con conocimientos y el uso de sus instalaciones para concretar este proyecto.
- Al Dr. Humberto Martínez Orozco, por su tiempo, capacitación y apoyo en los experimentos relacionados con cambios conductuales y actividad de la microglía.
- A la M. en CF. Azucena R. Aguilar Vázquez, por su apoyo y capacitación en el manejo de roedores, obtención de muestras y cortes cerebrales.
- Al Dr. Juan Ortiz por su apoyo técnico en las resonancias magnéticas a los animales y su capacitación para el análisis de las imágenes.
- A la M. en C. Adriana González Gallardo y a la Unidad de Proteogenómica del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, por su apoyo en el desarrollo de técnicas de biología molecular empleadas en este proyecto.
- Al MVZ José Martín García Servín, a la Dra. Alejandra Castilla León, a la Biol. María Eugenia Ramos Aguilar, y en especial a la Dra. María A. Carbajo Mata, por el apoyo

en el manejo de los ratones, las instalaciones, así como en las determinaciones in vivo.

- A la Dra. Nuria Elizabeth Rocha Guzmán, por su apoyo en la caracterización y cuantificación fitoquímica de las hojas y semillas de frijol.
- Al Dr. Candelario Mondragón Jacobo, por su apoyo en la cosecha de las hojas y semillas de frijol utilizadas en este proyecto.
- A la Dra. Carmen Mejía Vázquez, por su apoyo con reactivos necesarios para los experimentos.
- Al Dr. Alexandro Escobar Ortiz, por su apoyo en las determinaciones realizadas en este proyecto, incluyendo la cuantificación de metabolitos de bajo peso molecular, contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en hojas y semillas de frijol, y la actividad in vitro de la lipasa pancreática con extracto de hoja de frijol.
- Al Dr. Josué Manríquez Núñez, por su apoyo en el desarrollo de técnicas de biología molecular.
- A las M. en C. Laura Victoria Ruiz y Nayeli Arreola Galván, por su apoyo y por formar parte de este proyecto de investigación.
- A las Licenciadas Julia Viera y Carla Navarrete, por su apoyo en la realización de los experimentos.
- A los estudiantes Diego, Carlos y Yetsi, por su valioso apoyo en la ejecución de este proyecto.
- A mi familia, mi mamá, hermanos, papá, Max y Chispa. Son mi motor de cada día, gracias por creer en mí, por apoyarme y motivarme, los amo.
- A mi marido, gracias por ser mi compañero de vida y por estar en las buenas y en las malas. Te amo, eres mi inspiración.

DEDICATORIAS

A mi mamá y a mis hermanos, por estar siempre conmigo, por ser mi motor, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por no dejarme rendir y por escucharme siempre, aun sin entender del todo lo que estaba haciendo. Los amo.

A mi esposo, mi colega, mi amigo y mi compañero de vida: gracias por ser mi apoyo, mi refugio y mi fuerza. Gracias por tanto y por todo. Te amo.

Resumen.

Las dietas ricas en grasas y azúcares se asocian con el desarrollo de obesidad, inflamación sistémica, disfunción de la barrera intestinal y activación proinflamatoria de la microglía en modelos humanos y murinos. Diversos estudios han demostrado que la fibra dietética y los compuestos fenólicos pueden contrarrestar estos efectos adversos. En este contexto, tanto las semillas como las hojas del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), constituyen una fuente relevante de compuestos bioactivos. Su consumo ha sido vinculado con la reducción de adiposidad visceral, la modulación del perfil inflamatorio sistémico y la promoción de eubiosis intestinal. En particular, las hojas (HF) y las semillas de frijol (SC) estimulan la biosíntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), con actividad antiinflamatoria. Asimismo, el papel del consumo de las semillas y las hojas de frijol en la modulación de la plasticidad de la microglía en el cerebro durante obesidad no se ha reportado. Este estudio evaluó el efecto de 12 semanas de consumo de semillas cocidas (SC, 5 % y 15 %) y de hojas secas (HF, 10 %) de frijol en ratones con obesidad inducida por una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) administrada durante 14 semanas. Se analizaron la composición corporal, la integridad intestinal (FITC-dextrán, histología de colon e intestino, grosor de capa de moco), marcadores inflamatorios (IL-6 y LPS sérico), la morfología, la distribución y la activación microglial (inmunohistoquímica) en la región CA1 del hipocampo y el desempeño de los animales con el estudio en pruebas conductuales cognitivas que evalúan memoria. La DAGF promovió obesidad, permeabilidad intestinal, endotoxemia, actividad microglial y deterioro neuroconductual, efectos que fueron atenuados por la suplementación con HF y SC. En particular, el tratamiento más efectivo fue con 10 % HF ya que redujo la inflamación sistémica, restauró las vellosidades y criptas, la barrera intestinal y mejoró la respuesta comportamental, efectos asociados con una menor plasticidad proinflamatoria de la microglía. Estos hallazgos posicionan al frijol como una intervención dietética sostenible para contrarrestar los efectos adversos de DAGF y fomentar la alimentación saludable.

Palabras clave: obesidad, plasticidad de la microglía, integridad intestinal, frijol

Abstract

High-fat and high-sugar diets are associated with the development of obesity, systemic inflammation, intestinal barrier dysfunction, and proinflammatory microglial activation in both human and murine models. Various studies have demonstrated that dietary fiber and phenolic compounds can counteract these adverse effects. In this context, both the seeds and leaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) represent a relevant source of bioactive compounds. Their consumption has been linked to reductions in visceral adiposity, modulation of the systemic inflammatory profile, and promotion of intestinal eubiosis. Bean leaves (BL) and seeds (BS) stimulate the biosynthesis of short-chain fatty acids (SCFAs), which have anti-inflammatory activity. However, the role of bean seed and leaf consumption in modulating microglial plasticity in the brain during obesity has not been previously reported. This study evaluated the effect of 12 weeks of dietary supplementation with cooked bean seeds (BS, 5% and 15%) and dried bean leaves (BL, 10%) in mice with diet-induced obesity, fed a high-fat, high-fructose diet (HFFD) for 14 weeks. Body composition, intestinal integrity (FITC-dextran assay, colon and intestine histology, mucus layer thickness), inflammatory markers (serum IL-6 and LPS), microglial morphology, distribution, and activation (via immunohistochemistry) in the CA1 region of the hippocampus, and cognitive performance in behavioral memory tests were analyzed. The HFFD promoted obesity, increased intestinal permeability, endotoxemia, microglial activity, and neurobehavioral impairment effects attenuated by supplementation with HF and SC. Notably, the most effective treatment was 10% HF, which reduced systemic inflammation, restored villi and crypt architecture, improved intestinal barrier integrity, and enhanced behavioral responses associated with reduced proinflammatory microglial plasticity. These findings are commonly used as a sustainable dietary intervention to counteract the adverse effects of HFFD and promote healthy eating.

Keywords: obesity, microglial plasticity, intestinal integrity, common bean

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	7
Abstract.....	8
ÍNDICE GENERAL.....	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
ÍNDICE DE TABLAS.....	15
LISTA DE ABREVIATURAS.....	17
1. INTRODUCCIÓN.....	19
2. ANTECEDENTES.....	21
2.1. Alteraciones selectivas en el tracto gastrointestinal a partir de la dieta hipercalórica.....	21
2.2. Eje intestino-cerebro y neuroinflamación.....	25
2.3. Neuroinflamación inducida por dietas altas en grasa y azúcares.....	28
2.4. Compuestos bioactivos con efecto anti-obesogénico y anti-inflamatorio.....	31
2.4.1. El consumo de la fibra dietética disminuye las complicaciones metabólicas de la obesidad y atenúa la inflamación.....	31
2.4.2. El consumo de los compuestos fenólicos reduce las complicaciones metabólicas de la obesidad y disminuye la inflamación sistémica.....	33
2.5. Efectos benéficos del consumo de frijol.....	37
2.5.1. Características y consumo de la planta de frijol.....	37
2.5.2. Composición nutricional de la semilla cocida y de la hoja de frijol.....	37
2.5.3. Composición fitoquímica de la semilla cocida y la hoja de frijol.....	38
2.6. Consumo de frijol y sus beneficios a la salud en obesidad, inflamación y microbiota intestinal.....	40
3. JUSTIFICACIÓN.....	42
4. HIPÓTESIS.....	44
5. OBJETIVOS.....	45
5.1. Objetivo general.....	45
5.2. Objetivos específicos.....	45
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
6.1. Materiales biológicos.....	46

6.1.1. Semilla y hoja de frijol	46
6.2. Caracterización bromatológica de las semillas cocidas y las hojas de frijol en polvo.....	47
6.2.1. Humedad por estufa de secado	47
6.2.2. Determinación de cenizas.....	47
6.2.3. Determinación de proteína cruda	48
6.2.4. Determinación del extracto etéreo	48
6.2.5. Determinación de fibra dietética total	49
6.3. Determinación de compuestos fenólicos totales y saponinas en la semilla y la hoja de frijol	50
6.3.1. Extracción de compuestos fenólicos	50
6.3.2. Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	50
6.3.3. Cuantificación de flavonoides totales	50
6.3.4. Cuantificación de taninos condensados.....	51
6.3.5. Extracción y cuantificación de saponinas totales	51
6.4. Determinación de metabolitos de muy bajo peso molecular	51
6.5. Actividad enzimática de la lipasa pancreática <i>in vitro</i>	53
6.6. Animales y grupos experimentales	53
6.7. Diseño y contenido de la DE y la DAGF para los animales experimentales ...	56
6.8. Diseño experimental	57
6.9. Determinación de la composición corporal y tipo de grasa corporal previo a la obtención de muestras	59
6.9.1. Composición corporal	59
6.9.2. Distribución de la grasa corporal.....	59
6.10. Pruebas conductuales previo a la obtención de muestras biológicas	60
6.10.1. Prueba de reconocimiento de objetos.....	60
6.10.2. Construcción de nidos.....	60
6.10.3. Prueba de laberinto en T.....	61
6.11. Permeabilidad intestinal <i>in vivo</i>	63
6.12. Obtención de muestras por muerte con CO ₂ y punción cardíaca.....	64
6.13. Determinación de colesterol total y triglicéridos en suero	64
6.14. Lípidos totales y triglicéridos en heces	65

6.15. Medición del grosor de la capa de moco colónico	65
6.16. Determinación de lipopolisacáridos e IL-6 en suero	65
6.17. Niveles de expresión de RNAm de citocinas en el hipocampo de ratones obesos inducidos con DAGF	66
6.18. Detección de la proteína Iba-1 en CA1 del hipocampo por inmunohistoquímica.....	67
6.19. Análisis morfológico de las células de la microglía en CA1 del hipocampo ..	68
6.20. Estándares bioéticos, manejo de residuos biológicos y químicos.....	68
6.21. Análisis estadístico	69
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
7.1. Composición bromatológica y fitoquímica de la semilla de frijol cocida y la hoja de frijol deshidratada	71
7.2. Contenido de metabolitos de bajo peso molecular de la hoja de frijol deshidratada y la semilla de frijol cocida	74
7.3. Comprobación del modelo de obesidad con alteración de la integridad intestinal y deterioro cognitivo.....	76
7.3.1. Composición de la dieta DAGF para inducir obesidad, daño en la integridad intestinal y deterioro neuroconductual	76
7.3.2. El consumo de la dieta DAGF favoreció una alta ingesta energética y disminuyó el consumo de agua	77
7.3.3. El consumo de la DAGF durante la fase de inducción promovió la ganancia de peso corporal en ratones C57BL/6	79
7.3.4. Aumento en los parámetros de composición corporal y concentración sérica de triglicéridos en un modelo de obesidad inducido con DAGF	80
7.3.5. Incremento en la permeabilidad intestinal en un modelo de obesidad inducido con DAGF	83
7.3.6. El consumo de la dieta DAGF disminuyó el peso relativo de los órganos ...	84
7.3.7. Desarrollo de inflamación intestinal en el modelo de obesidad inducido con DAGF.....	85
7.3.8. El consumo de la dieta DAGF disminuyó la actividad del hipocampo relacionada a la pérdida de la memoria a corto plazo y la cognición.....	86
7.3.9. El consumo de la dieta DAGF incrementó la expresión de la proteína Iba-1 en el hipocampo	88

7.4. Diseño de dietas con la inclusión de las SC y las HF para su empleo como tratamiento en ratones con obesidad por la DAGF.....	90
7.5. El tratamiento con SDP disminuyó el consumo energético.....	91
7.6. Efecto terapéutico del consumo de las HF, SC y la DEP sobre la composición corporal.....	92
7.6.1. La ingesta de las HF al 10% disminuye el peso corporal.....	92
7.6.2. Los tratamientos con 10 % HF y 15 % SC disminuyen la acumulación de TAV y TASC, normalizándolos con el grupo DE.....	94
7.6.3. El consumo de las HF, las SC y la DEP disminuyó las concentraciones séricas de triglicéridos.....	96
7.6.4. El consumo de las hojas y las semillas de frijol incrementa la excreción de lípidos y triglicéridos	98
7.6.5. El extracto metanólico del polvo de hojas de frijol inhibe la actividad de la lipasa pancreática <i>in vitro</i>	99
7.7. Cambios de la integridad intestinal con los diferentes tratamientos.....	100
7.7.1. La DEP promovió un aumento en el peso relativo del intestino delgado ...	100
7.7.2. El consumo de 15 % SC promovió la ganancia del peso relativo del hígado en comparación con el consumo de DEP.....	101
7.7.3. El consumo de 10 % HF mejora la integridad de las vellosidades y criptas en el intestino y colon, previamente dañadas por DAGF	103
7.7.4. El grosor de la capa de moco colónica incrementa con la suplementación con 10 % HF y 15 % SC.....	106
7.7.5. El consumo de 10 % HF, 15 % SC y DEP tienden a disminuir la permeabilidad intestinal no selectiva.....	108
7.7.6. El tratamiento con 10 % HF reduce la endotoxemia metabólica.....	109
7.7.7. Los tratamientos con 10 % HF, 15% SC y DEP promueven el consumo de fibra y compuestos fenólicos totales en la dieta	111
7.8. Pruebas de conducta	113
7.8.1. El consumo de 10 % HF mejora la respuesta en la construcción de nidos	113
7.8.2. El índice de alternancia en el laberinto en T mejora significativamente con la DEP.....	115
7.8.3. Los tratamientos con 10 % HF, 15 % SC y DEP mejoran la respuesta a la fase de reconocimiento de lugar novedoso	117

7.9. Inmunohistoquímica de Iba-1 en CA1 del hipocampo.....	119
7.10. Polarización y morfología de la microglía	122
7.11. Los tratamientos disminuyen la expresión relativa de IL-1 e incrementan la expresión relativa de IL-10 en el hipocampo	126
7.12. Correlaciones entre los componentes dietéticos y las variables fisiológicas, bioquímicas y conductuales.....	130
8. CONCLUSIONES	139
9. PERSPECTIVAS	140
10. BIBLIOGRAFÍA.....	142

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vía de señalización de NF- κ B para la transcripción de genes proinflamatorios.	24
Figura 2. Fotomicrografía representativa de un corte coronal de cerebro de ratón teñido con eosina.....	26
Figura 3. Desarrollo de disbiosis intestinal, endotoxemia y actividad proinflamatoria de la microglía por el consumo de DAGF.	29
Figura 4. Efecto del consumo de la dieta DAGF sobre la inflamación intestinal y la neuroinflamación en hipocampo.	30
Figura 5. Efecto de los metabolitos derivados de la semilla y la hoja de frijol como agentes anti-inflamatorios en el grado de inflamación en el intestino y la polarización de la microglía en el hipocampo.	41
Figura 6. Diseño experimental <i>in vivo</i>	46
Figura 7. Modelo experimental inducción de obesidad con una DAGF	56
Figura 8. Representación gráfica de la puntuación en la construcción de nidos de 1 a 5 (a-e) respectivamente. Tomado de Deacon, 2006.....	61
Figura 9. Representación gráfica del laberinto en T para ratones. Modificado de Deacon, 2006 y realizado con BioRender.com.....	62
Figura 10. Efecto de la DAGF en la ganancia de peso corporal por semana de ratones macho C57BL/6 y DE durante la fase de inducción de la obesidad.	80
Figura 11. Determinación del efecto del consumo de la dieta DAGF en la acumulación de tejido adiposo a) visceral y b) subcutáneo en ratones C57/BL/6 durante el periodo de inducción de la obesidad.....	82

Figura 12. La DAGF induce un aumento en la permeabilidad intestinal en ratones macho C57BL/6 durante el periodo de inducción de la obesidad.....	84
Figura 13. El consumo de la DAGF en la fase de inducción de la obesidad disminuye la respuesta en las pruebas conductuales en ratones macho C57BL/6: a) laberinto en T y b) nidos	87
Figura 14. Evaluación del efecto de la dieta DAGF durante la fase de inducción del modelo de obesidad sobre la expresión de Iba-1 en CA1 del hipocampo de ratones machos C57BL/6..	88
Figura 15. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre el tejido adiposo en ratones con obesidad inducida.	96
Figura 16. Efecto del consumo de las diferentes dietas en el perfil lipídico: a) triglicéridos séricos, b) colesterol sérico	98
Figura 17. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a una dieta saludable sobre a) los lípidos totales en heces, b) los triglicéridos en heces y c) la inhibición de la lipasa pancreática con el extracto de HF.....	100
Figura 18. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la histopatología del yeyuno y del colon	104
Figura 19. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el grosor de la capa de moco colónica.....	107
Figura 20. Efecto del consumo de las HF, SC y la DEP en la permeabilidad intestinal.....	109
Figura 21. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en la concentración sérica de a) LPS y b) IL-6.....	111
Figura 22. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la respuesta conductual en la construcción de nidos.	115
Figura 23. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la respuesta conductual para evaluar la memoria a corto plazo en el laberinto en T.....	117
Figura 24. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el reconocimiento de objetos	119
Figura 25. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la actividad y morfología de la microglía en la región CA1 del hipocampo.	122
Figura 26. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la polarización de la microglía.	125
Figura 27. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en la expresión relativa de interleucinas en el hipocampo..	127

Figura 28. Correlaciones entre el rendimiento en la prueba del laberinto en T y (a) construcción de nidos, (b) colesterol en suero, (c) FITC-dextrán, (d) triglicéridos en suero y (e) consumo de compuestos fenólicos.....	131
Figura 29. Correlaciones entre el consumo de compuestos fenólicos y (a) células de la microglía, (b) colesterol en suero, (c) concentración sérica de IL-6, (d) FITC-dextrán en suero y (e) triglicéridos en suero y (f) triglicéridos en heces.	133
Figura 30. Correlaciones entre el consumo de fibra insoluble y (a) colesterol en suero, (b) triglicéridos en suero y (c) alternancia en el laberinto en T.	134
Figura 31. Correlaciones entre el consumo de fibra soluble y (a) triglicéridos en suero, (b) colesterol en suero, (c) FITC-dextrán en suero y (d) alternancia en el laberinto en T.....	135
Figura 32. Correlaciones entre el consumo de alimento y (A) TAV, (B) TASC, (C) colesterol en suero y (D) consumo de fibra insoluble.	136
Figura 33. Correlaciones entre la concentración sérica de IL-6 y (A) concentración sérica de LPS, (B) triglicéridos en suero y (C) células de la microglía.....	137

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos empleados en mejorar la integridad intestinal y sus alteraciones relacionadas con la obesidad y la neuroinflamación.	33
Tabla 2. Efecto protector de los compuestos fenólicos sobre marcadores proinflamatorios.	36
Tabla 3. Contenido nutrimental y compuestos fenólicos de diferentes variedades de semillas y hojas de frijol.	39
Tabla 4. Grupos experimentales.	55
Tabla 5. Contenido nutrimental de la DE y la DAGF.....	56
Tabla 6. Oligonucleótidos para el análisis de qPCR de citocinas pro y anti-inflamatorias.	66
Tabla 7. Composición bromatológica y fitoquímica de las hojas y las semillas de frijol.	73
Tabla 8. Metabolitos de bajo peso molecular de las HF y SC.....	75
Tabla 9. Composición nutrimental de las dietas DAGF y DE suministradas durante 14 semanas a los ratones macho C57BL/6 para inducir obesidad.	77
Tabla 10. Consumo de alimento, energía y agua en ratones C57BL/6 alimentados con dieta DE y DAGF durante la fase de inducción de obesidad	78

Tabla 11. Efecto de la dieta DAGF sobre la composición corporal y la concentración de triglicéridos en la fase de inducción de la obesidad.....	82
Tabla 12. Relación del peso de órganos/peso corporal total de los ratones C57BL/6 alimentados con dieta DAGF durante 14 semanas.	85
Tabla 13. Composición de las dietas suplementadas con la SC y la HF que se utilizaron como tratamiento de la obesidad inducida en ratones C57BL/6.	90
Tabla 14. Efecto de la adición de las hojas, las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en el consumo de alimento y agua en ratones con obesidad inducida.....	91
Tabla 15. Efecto del consumo de las hojas, las semillas de frijol y el cambio a dieta saludables en la zometría de ratones con obesidad.....	93
Tabla 16. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la longitud de intestino y colon como indicador de inflamación. .	101
Tabla 17. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el peso relativo del intestino delgado, el colon y el hígado.....	103
Tabla 18. Efecto de la incorporación de las hojas y las semillas de frijol en el aporte de fibra y compuestos fenólicos totales de la dieta.....	113
Tabla 19. Correlaciones significativas entre las variables metabólicas, conductuales y el consumo de alimento.	138

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta

ATP: Trifosfato de adenosina

CA: Corno ammonis

CA/CT: Circunferencia abdominal/circunferencia torácica

CCK: Colecistocinina

CD: Clúster de diferenciación

CO₂: Dióxido de carbono

DAMP's: Patrones moleculares asociados a daño

DAGF: Dieta alta en grasa y alta en fructosa

DAGF + 10 % HF: Dieta DAGF + 10 % hoja de frijol

DAGF + 5 % SC: Dieta DAGF + 5 % de semilla cocida

DAGF + 15 % SC: Dieta DAGF + 15 % de semilla cocida

DEP: DE después de la fase de inducción de obesidad

FFAR2: Del inglés fatty acid receptor 2

FFAR3: Del inglés fatty acid receptor 3

GAE: Del inglés gallic acid equivalents

GALT: Tejido linfoide asociado a la mucosa

GD: Giro dentado

GFAP: Del inglés glial fibrillary acidic protein

GLP-1: péptido similar a glucagón

GLUT: Transportador de glucosa

HCl: Ácido clorhídrico

HDAC: Enzima desacetilasa de histonas

HF: Hojas de frijol

Iba1: Molécula adaptadora de unión a calcio ionizado

IκB: proteína inhibidora del factor de transcripción NF-κB

IL: Interleucina

LPS: Lipopolisacárido

NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NO: Óxido nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAMP's: Patrones moleculares asociados a patógenos

PYY: Péptido YY

SC: Semillas cocidas de frijol

SNC: Sistema nervioso central

TAV: Tejido adiposo visceral

TASC: Tejido adiposo subcutáneo

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

1. INTRODUCCIÓN

El consumo crónico y excesivo de grasas y azúcares simples favorece la obesidad, caracterizada por acumulación desproporcionada de tejido adiposo y alteraciones metabólicas como dislipidemias, hiperglucemia y resistencia a la insulina. Este desequilibrio se asocia con una modificación adversa del microbioma y daño en la integridad intestinal, aumentando la permeabilidad y facilitando la translocación de lipopolisacáridos (LPS) a la circulación sistémica, generando endotoxemia metabólica. Estos antígenos inducen inflamación sostenida en órganos como el hígado y el sistema nervioso central (SNC) (Agustí et al., 2018; Horne et al., 2020).

La neuroinflamación constituye una de las consecuencias clave de este proceso y se caracteriza por una activación desregulada de las células inmunocompetentes del sistema nervioso central, particularmente de la microglía, la cual, ante la estimulación por moléculas asociadas a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés), tiende a polarizarse hacia un fenotipo proinflamatorio (Masuda et al., 2020). Una región especialmente vulnerable a esta alteración es el hipocampo, estructura cerebral fundamental para la consolidación de la memoria y el aprendizaje, que se ha visto comprometida en condiciones de inflamación crónica asociada a obesidad (Noble et al., 2017; Martínez-Orozco, 2020). En este sentido, diversos estudios han documentado que el exceso de tejido adiposo junto a la inflamación sistémica de bajo grado contribuye significativamente al deterioro de las funciones cognitivas, afectando la memoria a corto y a largo plazo (Shi et al., 2020; Wang et al., 2020; Yang et al., 2020).

Por otro lado, estudios previos indican que alimentos funcionales ricos en compuestos bioactivos podrían tener efectos protectores frente a alteraciones metabólicas e intestinales. Tal es el caso de las SC de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), cuyo consumo en modelos murinos con dietas hipercalóricas ha mostrado restaurar el microbioma y reducir el tejido adiposo (Monk et al., 2021; Zhao et al., 2021). De forma complementaria, la administración de la HF en ratas con obesidad inducida

por una DAGF previno el desarrollo de alteraciones metabólicas, incluyendo la ganancia excesiva de peso, la expansión del tejido adiposo y la resistencia a la insulina en etapas tempranas. Se evidenció que estos efectos se asociaron a un aumento en la concentración de AGCC en el contenido del colon proximal, lo que sugiere una potencial vía de acción mediada por metabolitos microbianos beneficiosos (Becerril-Campos et al., 2022). La HF presenta un perfil nutricional caracterizado por un alto contenido de fibra insoluble y una mayor concentración de compuestos fenólicos, mientras que las SC contienen más fibra soluble y también compuestos fenólicos (Kadyan et al., 2024; Ocampo-Anguiano et al., 2024). Ambas matrices vegetales se han vinculado con mejoras en la homeostasis metabólica y la integridad intestinal; sin embargo, no se ha estudiado su efecto sobre la función neuronal.

En este contexto, resulta relevante investigar el efecto y los mecanismos subyacentes asociados a la ingesta de las HF y las SC como intervenciones nutricionales para restaurar la integridad de la barrera intestinal, mitigar la inflamación y reducir la endotoxemia mediada por LPS inducida por una DAGF. Aunque se reconoce la comunicación bidireccional del eje intestino-cerebro, no se ha explorado específicamente el potencial terapéutico del frijol (HF y SC) como moduladores de la actividad proinflamatoria de la microglía y el deterioro cognitivo asociado a obesidad. Ambos son fuentes importantes de fibra y compuestos fenólicos, pero difieren en cantidad y tipo, sugiriendo posibles mecanismos e impactos distintos. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto diferencial del consumo de SC y HF sobre la barrera intestinal, la inflamación, la plasticidad microglial en hipocampo y el deterioro de la memoria inducido por DAGF.

2. ANTECEDENTES

2.1. Alteraciones selectivas en el tracto gastrointestinal a partir de la dieta hipercalórica

El intestino delgado es la porción más extensa del tracto gastrointestinal al y es el principal sitio de absorción de los nutrimentos de la dieta (Treuting et al., 2018). A bajas concentraciones lumbinales, la absorción de glucosa ocurre por vía transcelular e involucra al transportador SGLT1 (del inglés sodium glucose cotransporter 1) y al transportador GLUT2; mientras que, los lípidos de la dieta se absorben en más del 94 % en el yeyuno (Farré et al., 2020). En esta misma región del intestino delgado, la fructosa es transportada hacia los enterocitos y su consumo excesivo se ha asociado con la disbiosis intestinal en modelos murinos, caracterizada por un aumento de la permeabilidad intestinal y una reducción en la producción de AGCC. Después de su incorporación a los enterocitos mediada por GLUT5, la fructosa es posteriormente liberada hacia la circulación sistémica a través del transportador GLUT2. Una vez en el torrente sanguíneo, la fructosa es metabolizada principalmente en el hígado, donde su conversión a intermediarios como dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído-3-fosfato favorece la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. Este proceso lipogénico contribuye al desarrollo de dislipidemia y otras disfunciones metabólicas asociadas al consumo excesivo de fructosa (Ribeiro Hudson et al., 2020).

Con el incremento en el contenido de lípidos y azúcares de la dieta aumentan el consumo de energía, el peso y la grasa corporal, así como las concentraciones de glucosa, insulina, colesterol, triglicéridos y ácidos grasos libres en sangre que conducen a la obesidad (Buettner et al., 2007). La obesidad se considera un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas, así como alteraciones neuronales, entre ellas la ansiedad, el estrés, la depresión y la demencia (Agustí et al., 2018). Asimismo, el consumo excesivo de azúcares en la dieta, en combinación con regímenes alimentarios ricos en grasas, ha demostrado

inducir daño en la integridad de la barrera intestinal (Al-Sadi et al., 2011; Tan et al., 2021).

A nivel del colon, la fibra dietética, los compuestos fenólicos y, en menor proporción, las proteínas que escapan a la digestión y absorción en el intestino delgado son metabolizados por la microbiota intestinal a través de procesos fermentativos anaeróbicos. Esta fermentación anaerobia conduce a la producción de AGCC, compuestos fenólicos biotransformados, amoníaco y otros metabolitos con diferentes efectos biológicos (Lecomte et al., 2015).

La diversidad bacteriana, caracterizada por un predominio de especies potencialmente beneficiosas, se asocia positivamente con procesos fisiológicos clave, como la digestión, la absorción y el metabolismo de los macronutrientes (Chenghan et al., 2025). Aunado a lo anterior, los AGCC inciden en la síntesis de proteínas de unión estrecha del epitelio intestinal, actuando como barrera para los antígenos presentes en el lumen. Estas uniones están constituidas por proteínas y rodean el ápice celular, uniéndose con células vecinas (Ribeiro Hudson et al., 2020). La alteración en la expresión de proteínas de unión estrecha incrementa el paso de antígenos, como el LPS (Al-Sadi et al., 2011). Esto puede desencadenar inflamación mediada por la activación de macrófagos y células inmunitarias en diferentes órganos (Tan et al., 2021). Además, se ha demostrado que los AGCC, particularmente el butirato, ejercen efectos antiinflamatorios modulando la expresión de citocinas y promoviendo la homeostasis de la barrera intestinal (Coppola et al., 2021).

En el colon, la ingesta combinada de grasas saturadas con carbohidratos simples y el bajo consumo de proteínas, característico de la dieta occidental, propicia que haya sustratos para las especies bacterianas que sintetizan enzimas digestivas que incrementan la síntesis de metabolitos proinflamatorios como los ácidos indoxilsulfúrico, araquidónico y esteárico, promoviendo la inflamación y la disrupción de la barrera intestinal (Tan et al., 2021). Por el contrario, dietas caracterizadas por

un alto contenido de grasas saturadas y proteínas, con una restricción significativa de carbohidratos, como las dietas cetogénicas y carnívoras, han mostrado efectos beneficiosos en la reducción de la inflamación intestinal en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Norwitz & Soto-Mota, 2024; Calabrese, 2025). Asimismo, se ha demostrado que, aún en el contexto de una dieta occidental, la ingesta de fibra dietaria y compuestos fenólicos puede contribuir al mantenimiento de la salud intestinal (Bian et al., 2022; Shi et al., 2020).

La disbiosis intestinal favorece el aumento de la permeabilidad intestinal y permite el paso de moléculas tóxicas hacia la circulación, como el LPS proveniente de bacterias Gram negativas, y su unión a macrófagos residentes en los distintos órganos, como la microglía en cerebro, lo que incrementa la polarización proinflamatoria (Cai & Liu, 2011).

El LPS contiene lípido A que puede cruzar la mucosa gastrointestinal a través de uniones estrechas intestinales con fugas, debido a las alteraciones por la DAGF (Ismail et al., 2020). Una vez en tejidos periféricos, el LPS puede ser reconocido por los receptores tipo toll 4 (TLR4) promoviendo la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo proinflamatorio M1 (Gomes et al., 2018). La vía NF- κ B dependiente de TLR asociado a la proteína de diferenciación mieloide 88 (MyD88) es crucial para la polarización de los macrófagos al tipo M1 y la expresión inducible de citocinas proinflamatorias. Una vez unido el LPS a TLR4, la señalización implica la activación del complejo IRAK (cinasa asociada al receptor de interleucina 1), la ubiquitinación (Ub) y degradación de TRAF6 (familia de proteínas del factor asociado a TNF) y el reclutamiento de complejo TAK1 (Factor de crecimiento transformador β cinasa activada por cinasa 1) – TAB1/2 (proteínas de unión a TAK1). Una vez activa, TAK1 fosforila y activa las cinasas I κ B, la cual a su vez fosforila a la proteína inhibitoria de NF- κ B, I κ B α . Esta fosforilación en I κ B α induce su marcaje o ubiquitinación, lo que estimula la degradación de I κ B α por el proteosoma (Figura 1). Lo anterior favorece la liberación y translocación de NF- κ B al núcleo y su posterior unión a secuencias específicas de DNA en las regiones promotoras de diversos genes blanco. De esta

forma, NF- κ B regula de manera coordinada la transcripción de genes proinflamatorios (Ismail et al., 2020).

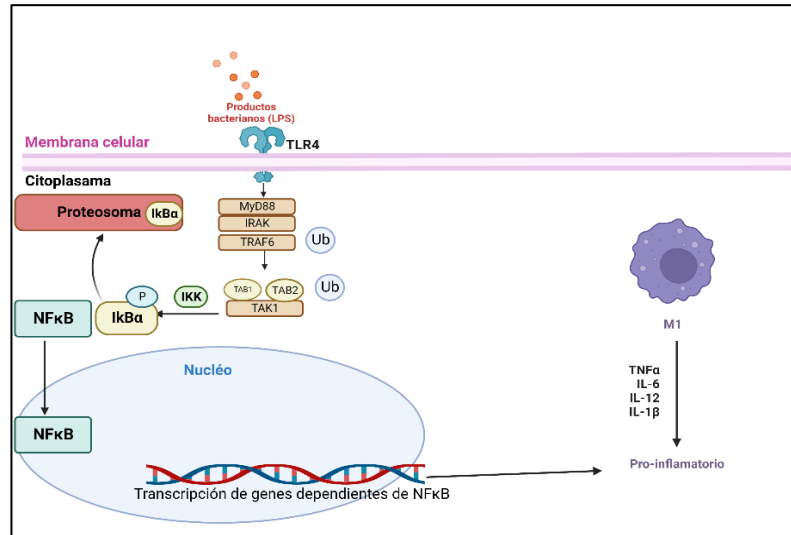


Figura 1. Vía de señalización de NF- κ B para la transcripción de genes proinflamatorios. Abreviaturas: TLR4, receptor tipo toll 4; MyD88, proteína de diferenciación mieloide 88; IRAK, cinasa asociada al receptor de interleucina 1; TRAF6, familia de proteínas del factor asociado a TNF; TAK1, cinasa activada por el factor de crecimiento transformante beta 1; IKK, cinasa que fosforila a I κ B α ; I κ B α , proteína inhibitoria de NF- κ B; NF- κ B, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; IL, interleucina; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa. Modificado de Liu et al. (2017) y elaborado en BioRender.com.

Por otro lado, los AGCC producidos por bacterias beneficiosas actúan como agonistas de los receptores de ácidos grasos libres FFAR2 y FFAR3 (Free Fatty Acid Receptors 2 y 3) expresados en diversos tipos celulares, incluyendo las células caliciformes del epitelio intestinal. La activación de estos receptores en las células caliciformes induce la síntesis de mucinas 1 y 2, componentes esenciales del moco intestinal que protegen y refuerzan la barrera epitelial, contribuyendo al mantenimiento de su integridad (Mishra et al., 2020; Rutsch et al., 2020). Asimismo, la activación de FFAR2/3 por los AGCC ha demostrado promover la expresión de proteínas de las uniones estrechas en la barrera hematoencefálica, como se ha observado en modelos murinos colonizados con bacterias productoras de AGCC, lo que sugiere un vínculo entre la salud intestinal, el microbioma y la integridad de las barreras epiteliales y del sistema nervioso central (Chenghan et al., 2025).

2.2. Eje intestino-cerebro y neuroinflamación

El eje intestino-cerebro consta de la comunicación entre el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso entérico, donde se monitorean e integran las funciones intestinales vinculadas con los centros emocionales, los cognitivos y las funciones periféricas del cerebro. El eje intestino-cerebro se asocia con la producción de metabolitos intestinales que participan en la síntesis de neurotransmisores relacionados con el estado de ánimo como la serotonina y las hormonas péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), colecistocinina (CCK) y péptido YY (PYY) secretadas por las células enteroendócrinas que controlan la ingesta de alimento (Carabotti et al., 2015).

A través del eje intestino-cerebro se puede modular la actividad proinflamatoria de las células inmunitarias, como la microglía, y la pérdida de memoria, donde el hipocampo es una zona crucial para su mantenimiento (Fogwe et al., 2021). El hipocampo en humanos y roedores se asocia con la memoria que incluye las fases de registro, almacenamiento y recuperación de la función cognitiva (Fogwe et al., 2021). El hipocampo es una estructura curva de sustancia gris, ubicada en la superficie medial del lóbulo temporal el cual está constituido por tres regiones principales: el giro dentado (GD), el hipocampo propiamente dicho y el subículo. El GD es una capa densamente empaquetada de células granulare, el CA se subdivide en tres subregiones conocidas como Cornu Ammonis (CA): CA1, CA2 y CA3 (Romani et al., 2022) que contienen neuronas piramidales (Figura 2) de las cuales se ha identificado que la región CA1 juega un papel crucial en procesos de memoria y aprendizaje, lo cual lo hace especialmente vulnerable a lesiones, y su daño se asocia con déficits en dichas funciones (Liu et al., 2018; Fogwe et al., 2021).

CA1 recibe aferencias tanto de CA3, a través de las colaterales de Schaffer, como de la corteza entorrinal, permitiéndole integrar información contextual y espacial de forma precisa. La actividad de las neuronas piramidales de CA1 se organiza en patrones espaciales específicos, fundamentales para la navegación y la codificación del entorno; además, está implicada en procesos de aprendizaje asociativo, lo cual,

se ha demostrado mediante estudios experimentales que revelan que su inactivación interfiere con la capacidad de los animales para actualizar sus expectativas en tareas de recompensa dinámica, aunque no afecta la selección de acciones basada exclusivamente en el estímulo (Ma et al., 2024). Estos hallazgos sugieren que CA1 participa activamente en la flexibilidad cognitiva y en la actualización de la información aprendida, elementos esenciales para la toma de decisiones adaptativa (Fogwe et al., 2021; Ma et al., 2023).

Recientemente, se ha demostrado que la actividad secuencial de las neuronas de CA1 (es decir, la activación organizada y ordenada de grupos neuronales a lo largo del tiempo) funciona como un mapa temporal de la memoria, lo cual permite organizar eventos cronológicamente y facilita la toma de decisiones en contextos de aprendizaje asociativo (Ma et al., 2023). CA1 actúa como un integrador multimodal de señales espaciales, temporales y motivacionales en conjunto con otras regiones cerebrales como CA3. Este tipo de codificación temporal es crucial para enlazar información distribuida a lo largo de diferentes momentos, un proceso esencial en la consolidación de la memoria episódica. Por lo que, este tipo de codificación temporal es crucial para enlazar información distribuida a lo largo de diferentes momentos, un proceso esencial en la consolidación de la memoria episódica.

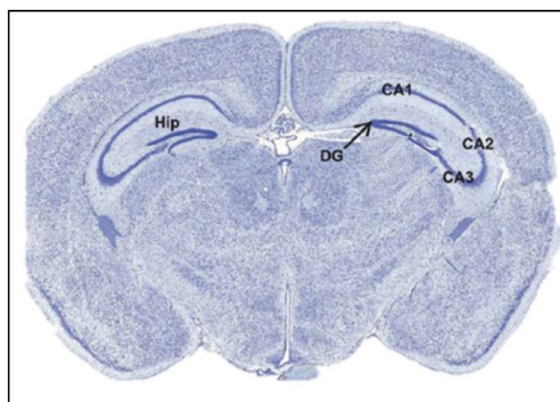


Figura 2. Fotomicrografía representativa de un corte coronal de cerebro de ratón teñido con eosina. El hipocampo (hip) comienza en la circunvolución dentada (GD) del Cornu ammonis (CA). Modificado de Treuting et al. (2018).

Todo organismo depende del mantenimiento de estados internos estables, un fenómeno habitualmente conocido como homeostasis. La existencia de múltiples mecanismos para la plasticidad homeostática concuerda con la posibilidad de que cada tipo celular disponga de un conjunto completo de herramientas para mantener un nivel equilibrado de actividad, y sugiere un grado significativo de flexibilidad en la forma en que una red puede responder a diferentes desafíos (Turrigiano & Nelson, 2004).

En el SNC la homeostasis en parte se regula por las células gliares asociadas con la neuroinflamación que incluyen la microglía y los astrocitos, tras una agresión o lesión en el SNC estos dos tipos de células sufren polarización, como lo indican los cambios en su morfología y fenotipo (Eggen et al., 2013; Jensen et al., 2013). La microglía son las células inmunitarias del cerebro que juegan un papel en la homeostasis tisular eliminando patógenos (Erny et al., 2015). En estado de vigilancia, las células microgliares residentes expresan en su membrana receptores que registran el microambiente e intervienen en la homeostasis del SNC. Cuando se presentan (patrones moleculares asociados a daño) DAMP's o PAMP's como el LPS proveniente de las bacterias Gram negativas del tracto gastrointestinal, las células microgliares polarizan a un estado proinflamatorio M1 (Martínez Tapia & Estrada Rojo, 2018). El fenotipo M1 promueve la producción y expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias en el cerebro, generando a su vez neuroinflamación. En contra parte, la activación alterna o el fenotipo M2 se da por la presencia de interleucinas como IL-4, IL-13 o IL-10 y se asocia a marcadores antiinflamatorios como el clúster de diferenciación 206 (CD206) y la arginasa 1 (ARG1). El fenotipo M2 disminuye controla la inflamación y promueve la supervivencia neuronal y la regeneración, mediante la liberación de factores tróficos; además, estimula la neurogénesis en el hipocampo (Martínez Tapia & Estrada Rojo, 2018; Jurga et al., 2020).

Enfoques más recientes basados en transcriptómica unicelular han revelado que esta dicotomía M1/M2 no representa adecuadamente la diversidad funcional de la

microglía. En su lugar, se han propuesto nuevos fenotipos más específicos y contextuales, como la microglía asociada a enfermedades, caracterizada por la activación de rutas relacionadas con la fagocitosis, la homeostasis lipídica y la respuesta a proteínas mal plegadas, particularmente en el contexto de Alzheimer y otras tauopatías (Keren-Shaul et al., 2017). Asimismo, se ha descrito la microglía neurodegenerativa, cuyo perfil se asocia a fases avanzadas de neurodegeneración y pérdida funcional (Deczkowska et al., 2018). Estos hallazgos han impulsado un cambio de paradigma en la comprensión de la microglía, considerando ahora un espectro continuo de activación, altamente dependiente del contexto microambiental, la etapa de la enfermedad y la región cerebral involucrada (Masuda et al., 2020). Por lo tanto, una clasificación fenotípica más específica y dinámica resulta crucial, incorporando categorías funcionales, lo que permitirá no solo profundizar en los mecanismos neuroinmunológicos subyacentes, sino también guiar el diseño de estrategias terapéuticas dirigidas que favorezcan fenotipos neuroprotectores y homeostáticos, mientras limitan o revierten aquellos asociados a disfunción neuronal y neurodegeneración.

2.3. Neuroinflamación inducida por dietas altas en grasa y azúcares

La neuroinflamación es característica en la pérdida de memoria asociada con la ingesta de dietas hipercalóricas, donde el eje intestino-cerebro juega un papel importante en la función neuronal (Shi et al., 2020). Al desarrollarse la disbiosis intestinal se disminuye la diversidad de especies bacterianas benéficas y aumentan las bacterias con efecto patogénico, lo que incrementa la permeabilidad intestinal y favorece el paso de LPS hacia la circulación, aumentando la inflamación periférica y del SNC (Figura 3) (Agustí et al., 2018). Además, la microglía y los astrocitos activados promueven la neuroinflamación y los trastornos neurodegenerativos; como consecuencia del reconocimiento de PAMP's se la actividad del fenotipo M1 de la microglía, la inducción de astrogliosis reactiva, el desarrollo de neuroinflamación y el incremento de fagocitosis en hipocampo (Liu et al., 2018). Este proceso inflamatorio sostenido compromete la plasticidad sináptica y la

neurogénesis, deteriorando la función cognitiva y facilitando la progresión de patologías como la enfermedad de Alzheimer. Adicionalmente, se ha observado que el daño a nivel del eje intestino-cerebro reduce la producción de metabolitos con efecto biológico benéfico como los AGCC, lo que agrava la desregulación neuroinmunitaria y acentúa el deterioro cognitivo (Rutsch et al., 2020; Ma et al., 2023).

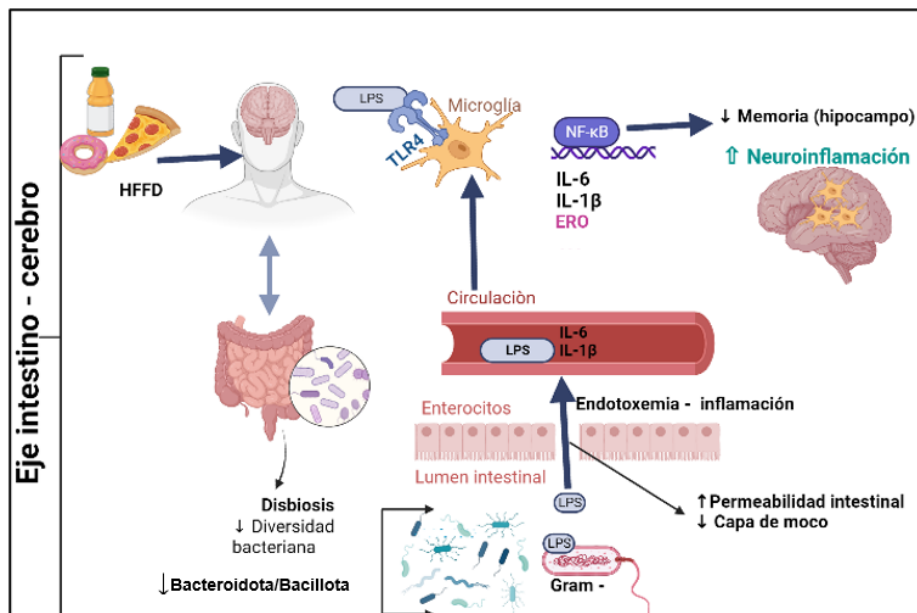


Figura 3. Desarrollo de disbiosis intestinal, endotoxemia y actividad proinflamatoria de la microglía por el consumo de DAGF. Abreviaturas: DAGF, dieta alta en grasa y fructosa; LPS, lipopolisacárido; IL, interleucina; ERO, especie reactiva de oxígeno; NO, óxido nítrico; TLR4, receptor tipo toll 4. Modificado de Agustí et al. (2018) y elaborado con BioRender.com.

Aunado a lo anterior, se ha demostrado que ratas alimentadas con dietas altas en grasa, dietas altas en fructosa o DAGF presentan alteraciones en pruebas de conducta relacionadas con el aprendizaje y la memoria, menor expresión de proteínas de unión estrecha en intestino e incremento de LPS en circulación (Noble et al., 2017; Martínez-Orozco, 2020). Así mismo, en ratones adultos macho con dieta alta en grasa (55 % del total de energía) y baja en fibra (5 %), con 30 % de la energía proveniente de carbohidratos, se encontró un incremento de LPS en circulación, relacionado con el aumento en la expresión de Iba-1 (proteína de unión a calcio presente en macrófagos y microglía) y GFAP (proteína ácida fibrilar glial

que se expresa en astrocitos e incrementa en respuesta a lesiones o daño cerebral denominado gliosis reactiva) en hipocampo (Messing & Brenner, 2020; Shi et al., 2020). Chiazza et al (2021) demostraron que ratones alimentados durante una semana con una dieta hiperlipídica (60 % de la ingesta calórica total), complementada con 21 % de calorías provenientes de carbohidratos y 19 % de calorías derivadas de proteínas, mostraron una disminución en la cantidad de células neuronales del hipocampo, región cerebral estrechamente relacionada con la función cognitiva (Figura 3). Lo anterior sugiere que el consumo excesivo de grasa, junto a un moderado consumo de carbohidratos y proteínas, favorecen el daño a nivel del hipocampo y en funciones como la memoria. En la Figura 4 se representa el efecto de una dieta DAGF en el desarrollo de inflamación intestinal por alteración de las barreras y el proceso de la disbiosis intestinal que desencadena endotoxemia metabólica y plasticidad proinflamatoria de la microglía promoviendo la actividad del factor transcripcional NF- κ B.

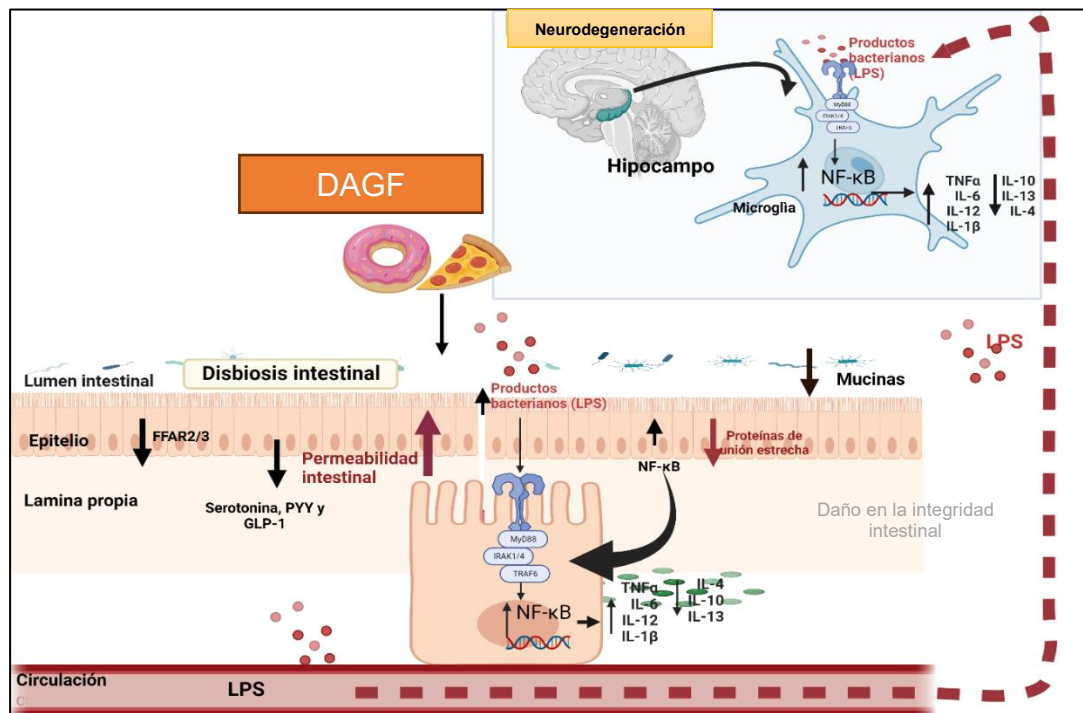


Figura 4. Efecto del consumo de la dieta DAGF sobre la inflamación intestinal y la neuroinflamación en hipocampo. Abreviaturas: DAGF, dieta alta en grasa y fructosa; FFAR2/3: receptores de ácidos grasos libres 2/3; GLP-1, péptido similar a glucagón- 1; PYY, polipéptido Y;

LPS, lipopolisacárido; TLR, receptor tipo toll; MYD88, proteína de diferenciación mieloide 88; IRAK, cinasa asociada al receptor de interleucina; TRAF6, familia de proteínas del factor asociado a TNF; NF- κ B, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; IL, interleucina.

Según lo previamente descrito, se hizo énfasis sobre el estudio de las interacciones que se asocian con el desarrollo de obesidad, daño de la integridad intestinal y la actividad proinflamatoria de la microglía, inducidas por el consumo de DAGF. Como estrategia para contrarrestar las alteraciones del eje intestino-cerebro, se propone la adopción de un estilo de vida saludable, que incluya específicamente la incorporación de alimentos ricos en compuestos bioactivos, como fibra dietética y compuestos fenólicos. Estos componentes son capaces de mitigar los efectos adversos asociados al consumo de dietas ricas en grasas y azúcares, promoviendo así la salud intestinal al favorecer la integridad de la barrera epitelial y la homeostasis microbiana. De manera particular, estos tratamientos podrían modular la polarización anti-inflamatoria de la microglía en el hipocampo, lo cual es esencial para preservar las funciones cognitivas y prevenir alteraciones neurodegenerativas vinculadas a la ingesta de dietas hipercalóricas.

2.4. Compuestos bioactivos con efecto anti-obesogénico y anti-inflamatorio

2.4.1. El consumo de la fibra dietética disminuye las complicaciones metabólicas de la obesidad y atenúa la inflamación

Fisiológicamente, la ingesta de fibra dietética promueve el mantenimiento de la microbiota intestinal y el funcionamiento adecuado del tracto gastrointestinal desde la boca hasta el ano (Matarese & Gottschlich, 2004). Respecto a estudios realizados en ratones se ha reportado que la combinación de una dieta alta en grasa (60 % lípidos, 21 % de carbohidrato y 19 % de proteínas) y baja en fibra fermentable (5 %) promueve la disbiosis intestinal caracterizada por la disminución en la diversidad de bacterias fermentadoras y productoras de moco, menor producción de AGCC con disminución en la expresión de proteínas de unión estrecha y aumento de LPS en circulación; mientras que, la suplementación de fibra fermentable (10 %) junto a la misma dieta alta en grasa durante 15 semanas promovió una mayor diversidad de

bacterias con efecto benéfico que se asoció al incremento de bacterias fermentadoras y productoras de moco, la producción de AGCC y la expresión de proteínas de unión estrecha en intestino y la disminución de la permeabilidad intestinal y la concentración sérica de LPS (Shi et al., 2020). También se ha informado que la inclusión de alimentos fuente de fibra como cereales, vegetales y leguminosas se ha relacionado con la mejora de la diversidad microbiana intestinal y la disminución de la inflamación con menor concentración de LPS e IL-6 en circulación y el decremento de la acumulación de tejido adiposo en modelos murinos (McGinley et al., 2020; Wei et al., 2020; Lutsiv et al., 2021).

En respuesta a tratamientos para combatir la disbiosis y los efectos asociados a ella se ha empleado la suplementación de la dieta con carbohidratos accesibles a la microbiota y fermentables o butirato de sodio en modelos de roedores con dieta alta en grasa y con moderado aporte de carbohidratos y proteínas (Fang et al., 2019; Shi et al., 2020). En conjunto, la fibra dietética soluble e insoluble disminuyen la alteración de la integridad intestinal a nivel del colon, observándose una menor permeabilidad y concentración de LPS y moléculas pro-inflamatorias en circulación; así como, una disminución en la neuroinflamación, como se muestra en la Tabla 1.

Por otro lado, junto con la fibra dietética y los AGCC, se ha estudiado el papel de los compuestos fenólicos en el incremento en la diversidad de microorganismos benéficos en comparación con la disminución de los patógenos asociados a menor inflamación. Los compuestos fenólicos ejercen efectos beneficiosos al modular la composición y actividad metabólica de la microbiota, fortalecer la barrera epitelial, regular la producción de mucinas y actuar como antioxidantes y anti-inflamatorios, promoviendo un ambiente intestinal saludable (Han et al., 2023).

Tabla 1. Tratamientos empleados en mejorar la integridad intestinal y sus alteraciones relacionadas con la obesidad y la neuroinflamación.

Estudio	Efecto
Carbohidratos accesibles a la microbiota en ratones con dieta alta en grasa y baja en fibra	↑ diversidad bacteriana, ↑ síntesis de mucinas y proteínas de unión estrecha, ↓ concentración de LPS, TNF- α , IL-6 e IL-1 β en suero; ↑ AGCC en suero, ↓ expresión de Iba1 y GFAP en cerebro (Shi et al., 2020).
Butirato de sodio en ratones macho con dieta alta en grasa	↓ peso corporal; ↑ expresión de occludina en íleon; ↓ LPS, IL-6 y TNF- α en suero; ↑ de la cantidad de bacterias butirogénicas en el colon (Fang et al., 2019).
Los AGCC contribuyen al dolor neuropático mediante el aumento de la activación y polarización M1 de la microglía (ratones con ligadura en nervio ciático)	↑ contenido de acetato, propionato, butirato y ácido valérico en suero de ratones con ligadura del nervio ciático; ↑ expresión proteica de CD11b y CD68 (proinflamatorio) y ↓ CD206 (anti-inflamatorio) en hipocampo (Zhou et al., 2021).

Abreviaturas: LPS, lipopolisacárido; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; IL-6, interleucina 6; IL-1 β , interleucina 1 beta; AGCC, ácidos grasos de cadena corta; Iba1, molécula adaptadora de unión a calcio ionizado; GFAP, proteína ácida fibrilar gliar; CD11b, clúster de diferenciación 11b; CD68, clúster de diferenciación 68; CD206, clúster de diferenciación 206. ↑, incremento; ↓, decremento de la cantidad, actividad o expresión.

2.4.2. El consumo de los compuestos fenólicos reduce las complicaciones metabólicas de la obesidad y disminuye la inflamación sistémica

Los compuestos fenólicos son productos secundarios del metabolismo de las plantas y están relacionados con el sabor, el color y el aroma de los alimentos que

los contienen. Estos metabolitos son un grupo heterogéneo de moléculas simples como el ácido fenólico, pero también compuestos polimerizados como los taninos (Hernández & Ruiz López, 2010). La evidencia científica señala que algunos compuestos fenólicos inhiben la polarización proinflamatoria de la microglía promoviendo su polarización a M2. Los resultados de un modelo *in vitro* con actividad proinflamatoria inducida por la estimulación con LPS y trifosfato de adenosina (ATP) indican que un extracto rico en polifenoles de frambuesa roja, incluido el ácido elágico y su metabolito biotransformado la urolitina A producida en el intestino, reduce la plasticidad de las células microgliares hacia un fenotipo proinflamatorio, favoreciendo la polarización anti-inflamatoria (Toney et al., 2021), a través de la inhibición de la activación de NF- κ B y, en consecuencia, una menor expresión de citocinas proinflamatorias (Lail et al., 2021). Mientras que, la urolitina B inhibe la producción de óxido nítrico (NO) y la expresión de citocinas proinflamatorias en células BV2 (línea celular microglial murina) y aumenta la expresión de la IL-10 en microglía (Lee et al., 2019). Así mismo, los polifenoles de la frambuesa inhiben la expresión de Iba1 y TNF- α y la producción de NO en líneas neurales humanas dañadas por estrés oxidativo inducido con peróxido de hidrógeno y en líneas celulares murinas con daño inducido con LPS (Garcia et al., 2017).

Por otro lado, se ha reportado que los flavonoides de *Cudrania tricuspidata* suprimen la actividad neuroinflamatoria inducida por LPS en células BV2, relacionado con la disminución en la fosforilación de I κ B- α (Kim et al., 2016). Mientras que, el extracto etanólico de *Phyllanthus amarus* inhibe la polarización proinflamatoria inducida por la estimulación con LPS en células microgliales, reduciendo la expresión de citocinas proinflamatorias y favoreciendo un perfil anti-inflamatorio (Tabla 2) (Ismail et al., 2020). Si bien, estos estudios presentan relación entre los compuestos fenólicos y la disminución de marcadores proinflamatorios en células de la microglía a través de la inhibición de la actividad transcripcional de NF- κ B, los mecanismos moleculares por los que se genera este efecto no están del todo dilucidados. Algunos estudios sugieren que la modulación de la vía de NF- κ B está posiblemente asociada

a la inhibición de las enzimas desacetilasas de histonas (HDAC), repercutiendo en el decremento de la expresión génica de marcadores proinflamatorios regulada por NF- κ B.

Tras haber expuesto los efectos benéficos de los compuestos bioactivos de la fibra dietética y los polifenoles en la modulación del eje intestino-cerebro, resulta pertinente destacar el valor terapéutico del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), un recurso alimentario de bajo costo y amplia disponibilidad cuyas hojas y semillas constituyen matrices ricas en fibra, polifenoles y saponinas. Estos componentes podrían ejercer efectos moduladores integrales, mitigando las disfunciones neuroinmunológicas y metabólicas inducidas por dietas hipercalóricas y favoreciendo la recuperación funcional del eje intestino-cerebro.

Tabla 2. Efecto protector de los compuestos fenólicos sobre marcadores proinflamatorios.

Estudio <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	Efecto
Compuestos bioactivos extraídos de frutos rojos sobre la inflamación sistémica inducida por obesidad (modelos murinos con dieta alta en grasa)	↑ AGCC en colon, ↓ activación de la vía de NF-κB en intestino (Lail et al., 2021)
Urolitinas A y B sobre la activación de microglía <i>in vitro</i> (Línea neural humana SK-N-MC suplementada con peróxido de hidrógeno y línea microglial murina N9 con peróxido de hidrógeno o LPS)	Urolitinas A y B ↓ la producción de NO y la expresión de Iba1 y TNF-α en células microgliales mediada por la inhibición de NF-κB (Garcia et al., 2017)
Polifenoles de frambuesa roja y su metabolito bacteriano urolitina A sobre inflamación <i>in vitro</i> (células BV-2 suplementadas con LPS/ATP)	La urolitina A y el extracto de polifenoles de frambuesa ↓ la inflamación en células BV-2 inducida por LPS, a través de la inactivación de NF-κB (Toney et al., 2021)
Mecanismos anti-nflamatorios de la urolitina B en microglía activada (aislada a partir de cerebro de ratón tratados con LPS)	Urolitina B: ↓ la producción de NO; ↓ la expresión de IL-6, a través de ↓ NF-κB; ↑ IL-10 (Lee et al., 2019)
Urolitinas A y B sobre la inflamación <i>in vitro</i> (células BV2 suplementadas estimuladas activadas con LPS)	↓ expresión de ARNm de los genes de TNF-α, IL-6, IL-1β, iNOS y COX-2 <i>in vitro</i> por inhibición de las vías NF-κB, MAPK y PI3K/Akt (Xu et al., 2018)

Abreviaturas: LPS, lipopolisacárido; IL-6, interleucina 6; IL-10, interleucina 10; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa; AGCC, ácidos grasos de cadena corta; NF-κB, factor nuclear de transcripción kappa B; Iba1, molécula adaptadora de unión a calcio ionizado; NO, óxido nítrico; iNOS, óxido nítrico sintasa inducible; COX-2, ciclooxigenasa 2; MAPK, proteínas cinasas activadas por mitógenos; PI3K/Akt, fosfatidilinositol-3-cinasa. ↑, incremento; ↓, decremento de la actividad, producción, expresión o inflamación.

2.5. Efectos benéficos del consumo de frijol

2.5.1. Características y consumo de la planta de frijol

El frijol se encuentra entre los 5 cultivos más producido en México con 967,403 toneladas; respecto al maíz que es el principal cultivo con 21,926,226 toneladas (INEGI, 2023), teniendo un consumo promedio anual en la población mexicana de 11 kg al año, lo que representa 27.5 g/día (CEDRSSA, 2020). Respecto a las recomendaciones del consumo de frijol, la guía de alimentos para la población mexicana recomienda la ingesta diaria de 100 g de frijol cocido como parte de una alimentación saludable, lo que señala que el consumo actual es menor al recomendado (Secretaría de Salud, 2023). Entre las variedades de frijol que se cultivan en México, flor de mayo es de alto consumo principalmente en el centro del país (Acosta Gallegos et al., 2010).

Las hojas de frijol forman parte del grupo de los quelites o plantas silvestres comestibles, las cuales se consumen principalmente en zonas rurales y ayudan a cubrir los requerimientos nutrimentales diarios de un individuo. Así mismo, los quelites son de bajo costo y fácil acceso, siendo una opción para formar parte de la dieta (Mateos-Maces et al., 2020). Por lo que, la hoja de frijol puede ser una opción para cubrir las características del aporte nutrimental de las verduras en la población mexicana. En este sentido, la OMS recomienda la ingesta diaria de al menos 400 g de frutas y verduras para mantener un estado de salud óptimo (OMS, 2025).

2.5.2. Composición nutricional de la semilla cocida y de la hoja de frijol

La composición nutricional de la semilla de frijol es reconocida por su contenido de proteínas (14-30 %) y carbohidratos (52-76 %) y su aporte de lípidos es mínimo, los cuales en su mayoría son insaturados. La semilla de frijol es una fuente importante de fibra (48-55 %), donde el porcentaje de almidón resistente oscila entre 28 y 37 % en diferentes variedades mexicanas (Campos-Vega et al., 2009). Específicamente, el frijol flor de mayo variedad Eugenia aporta en promedio 19 %

de proteína y minerales como hierro (6.1 mg/100 g) y zinc (5 mg/100 g) (Acosta Gallegos et al., 2010).

Si bien, la composición de la hoja de frijol ha sido poco estudiada, nuestro grupo de trabajo reportó que la hoja de frijol de la variedad Eugenia es una fuente de proteína (24.22 %), fibra detergente ácida (16.23 %) y fibra detergente neutra (29.33 %), que representan principalmente a la fibra insoluble y fibra dietética total (25.85 %), como se muestra en la Tabla 3 (Ocampo-Anguiano, 2019; Becerril-Campos et al., 2022).

2.5.3. Composición fitoquímica de la semilla cocida y la hoja de frijol

La composición nutrimental y fitoquímica de diversas variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido estudiada. Dentro de los compuestos fenólicos identificados en sus semillas destacan flavonoides como catequina, kaempferol, quercetina, miricetina y procianidina, cuyo contenido varía según el tipo de frijol. En particular, se ha observado que los frijoles negros presentan una concentración superior de flavonoides, atribuible a su tonalidad oscura, rica en antocianinas (Ganesan & Xu, 2017). Estos compuestos fenólicos no solo confieren propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias, sino que también contribuyen a la protección de la salud intestinal y cardiovascular (Thompson et al., 2017).

A la fecha solo dos estudios han reportado el contenido de la hoja de frijol; en un estudio se reportan compuestos fenólicos totales de 5.79 mg GAE/g en la hoja de la variedad pinto villa (Martínez-Zavala et al., 2016). Mientras que, en un estudio realizado por nuestro grupo de trabajo, el contenido de compuestos fenólicos totales fue de 2.92 mg GAE/ g, flavonoides de 9.49 mg de equivalentes de rutina/ g y taninos 4.58 mg/g en la hoja de frijol de la variedad Eugenia (Becerril-Campos et al., 2022). En la Tabla 3 se muestra la composición nutricional y fitoquímica de diferentes variedades de semilla y de hojas de frijol.

Tabla 3. Contenido nutrimental y compuestos fenólicos de diferentes variedades de semillas y hojas de frijol.

SEMILLA				HOJA	
Variedad	Flor de mayo (Lomas-Soria et al., 2015)	Negro pinto (Ganesan & Xu, 2017)		Pinto villa (Martínez-Zavala et al., 2016)	Eugenia (Becerril-Campos et al., 2021)
Contenido nutrimental (g/100 g)					
Energía (Kcal/100 g)	ND	464	500	200.9	312.86
Proteínas	19	14.29	10.71	24.5	25.69
Lípidos	ND	21.43	21.43	2.9	1.42
Carbohidratos	ND	57.14	60.71	19.2	49.33
Fibra dietética total	ND	14.3	10.7	ND	25.85
Fibra cruda	ND	ND	ND	38.3	9.94
Azúcares totales	ND	3.57	3.57	ND	ND
Almidón resistente	ND	1.7	1.9	ND	ND
Compuestos fenólicos					
Compuestos fenólicos totales (mg equivalentes de ácido gálico/g)	0.45	12.60	12.52	5.80	24.59
Flavonoides (mg equivalentes de rutina/g)	1.99	1.28	0.98	ND	9.49
Taninos (mg equivalentes de catequina/g)	3.29	ND	ND	3.00	4.58

ND, no determinado.

2.6. Consumo de frijol y sus beneficios a la salud en obesidad, inflamación y microbiota intestinal

En un estudio previo, Thompson et al. (2017) evaluaron los efectos del consumo de semillas de frijol cocido en polvo sobre la adiposidad en ratas propensas y resistentes a la obesidad, alimentadas con una dieta hipercalórica (32 % de grasa). La adición del polvo de frijol a la dieta resultó en una reducción significativa de la adiposidad visceral y del tamaño de los adipocitos en ambos grupos de animales. Así mismo, la suplementación con 15 % de frijol adzuki cocido en ratones con una dieta hipercalórica (con 60 % de lípidos) disminuyó significativamente la acumulación de tejido adiposo y las concentraciones de lípidos y LPS en suero. Aunado a lo anterior, el consumo de frijol adzuki cocido al 15 % redujo significativamente la proporción de *Bacillota/Bacteroidota* (mejorando la diversidad bacteriana), lo que se asoció a menor riesgo de dislipidemias e inflamación sistémica, características de la obesidad (Zhao et al., 2021).

La adición del 15.7 % de frijoles blancos molidos a la dieta, lo que equivale al consumo de 1 taza de leguminosas en adultos, disminuyó la inflamación inducida por una dieta alta en grasa (60 % Kcal) en ratones y restableció la diversidad bacteriana hacia bacterias benéficas, con aumento en la producción de AGCC y la expresión de proteínas de unión estrecha, con menor concentración de citocinas proinflamatorias en suero (Monk et al., 2021). En otro estudio con ratones macho, la inclusión del 40 % de frijol blanco cocido en una dieta alta en grasa (60 % Kcal) disminuyó la acumulación de tejido adiposo (Neil et al., 2019).

Respecto a la hoja de frijol, el consumo del 10 % en ratas alimentadas con dieta DAGF durante 7 semanas favoreció el incremento de los AGCC en el contenido de colon proximal con respecto a la producción en el grupo control, lo anterior se relacionó con la disminución en las alteraciones metabólicas inducidas por DAGF (Becerril-Campos et al., 2022). Los estudios anteriores muestran que el consumo tanto de semilla como de hoja de frijol puede disminuir alteraciones generadas por

la obesidad inducida por las dietas hipercalóricas caracterizadas por un alto contenido de grasa y moderado contenido de carbohidratos (principalmente monosacáridos como glucosa y fructosa) y moderado aporte de proteínas.

Hasta el momento, no se ha establecido si el consumo de SC y HF puede ejercer un efecto anti-inflamatorio en el intestino y el hipocampo a través de sus compuestos bioactivos que actúen como agentes anti-inflamatorios. Dichos compuestos pueden ser biotransformados por la microbiota intestinal en metabolitos activos que favorezcan la integridad de la barrera intestinal y disminuyan la inflamación entérica, reduciendo así el riesgo de endotoxemia metabólica. Asimismo, algunos de estos metabolitos, como los AGCC, podrían actuar como moduladores epigenéticos o señalizadores celulares que inhiban la expresión de genes proinflamatorios y promuevan la expresión de genes con actividad anti-inflamatoria (Figura 5).

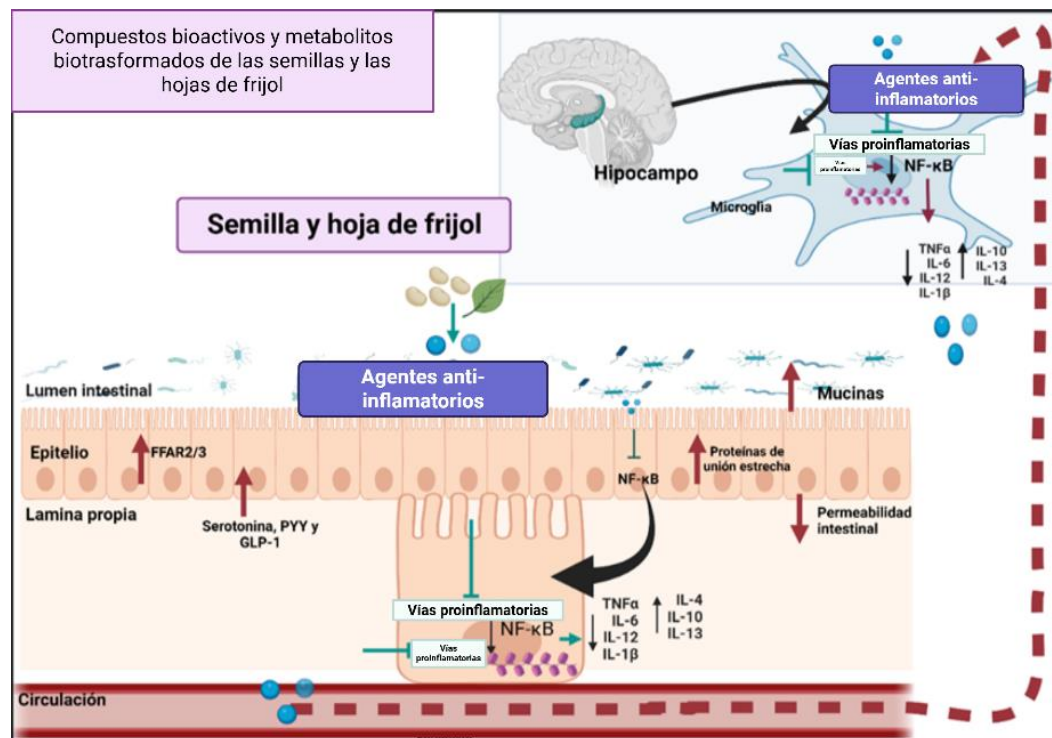


Figura 5. Efecto de los metabolitos derivados de la semilla y la hoja de frijol como agentes anti-inflamatorios en el grado de inflamación en el intestino y la polarización de la microglía en el hipocampo. Abreviaturas: FFAR2/3: receptores de ácidos grasos libres 2/3; GLP-1, péptido similar a glucagon- 1; PYY, polipéptido Y; LPS, lipopolisacárido; NF-κB, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; TNFα, factor de necrosis tumoral alfa; IL, interleucina. Creada en BioRender.com.

JUSTIFICACIÓN

El consumo de la semilla de frijol es relevante debido a su importancia como uno de los principales alimentos en México. Desde el punto de vista nutricional, el frijol cocido es una fuente de aminoácidos e hidratos de carbono, con aproximadamente un 30 % de fibra dietética. Además, esta leguminosa aporta compuestos fenólicos con efectos beneficiosos a la salud. La fibra dietaria y los compuestos fenólicos sirven como sustrato para la microbiota intestinal, promoviendo la producción de AGCC, los cuales se asocian con reducción de inflamación intestinal y sistémica en modelos de obesidad e intestino irritable mediante la inhibición de la vía de señalización del factor de transcripción NF- κ B. Además, se ha observado una mejora de la diversidad microbiana y disminución de colesterol, glucosa y adiposidad en modelos murinos con dietas obesogénicas y en individuos con obesidad, evidenciando los efectos benéficos del consumo de la semilla cocida.

Por otro lado, las hojas de frijol, consumidas tradicionalmente en zonas rurales de México, representan una fuente accesible y económica de nutrientes con potencial para su reincorporación en la dieta. Su alto contenido en fibra insoluble favorece la excreción fecal de lípidos y, tras su fermentación por la microbiota intestinal, promueve la producción de AGCC. Su consumo se ha relacionado con la reducción de la adipogénesis, la resistencia a la insulina y la acumulación de tejido adiposo visceral en modelos *in vivo* de obesidad inducida por la dieta. Además, el consumo de hoja de frijol ha mostrado efectos preventivos contra la lipotoxicidad durante el desarrollo de la enfermedad de hígado graso no alcohólica; mientras que, en modelos terapéuticos el consumo de las hojas de frijol ha evidenciado propiedades hepatoprotectoras y antioxidantes.

Hasta el momento no se cuenta con una caracterización completa de los perfiles nutrimental y fitoquímico de las semillas y hojas de frijol variedad Eugenia. Por lo anterior, se propuso evaluar el efecto del consumo de estos alimentos (por su contenido integral) en la modulación del eje intestino-cerebro en un modelo de obesidad inducida mediante una DAGF, utilizando dosis equivalentes al consumo

actual (5 %) y recomendado (15 %) de semillas de frijol, extrapoladas al modelo *in vivo*. Además, esta propuesta busca fomentar la reincorporación de la semilla de frijol en la dieta, dada la disminución en su consumo; así como, promover el uso de la hoja de frijol como parte de una alimentación saludable.

Con base en las diferencias de composición y dosis entre la semilla y la hoja de frijol, se plantea que ambos alimentos podrían contribuir a la mejora de la integridad intestinal y a la reducción de la actividad proinflamatoria de la microglía en CA1 del hipocampo, a través de mecanismos similares, pero con impactos diferenciados. En este contexto, se propone evaluar el efecto del consumo de semilla y hoja de frijol en la preservación de la integridad intestinal y en la mitigación del deterioro de la memoria, mediante la reducción de la disfunción intestinal y de la inflamación en el cerebro (hipocampo).

HIPÓTESIS

La ingesta de la semilla cocida y la hoja de frijol seca como tratamientos independientes contribuyen a la mejora de las alteraciones metabólicas en ratones con obesidad inducida y reduce las alteraciones a través del eje intestino-cerebro al promover la restauración de la integridad intestinal, la reducción de la concentración sérica de LPS, la disminución de la actividad proinflamatoria de la microglía en CA1 del hipocampo y la preservación de la memoria. Estos efectos se atribuyen al contenido de fibra dietética y compuestos fenólicos presentes en las semillas y las hojas de frijol los cuales restauran el grosor de la mucosa intestinal y la expresión de proteínas de unión estrecha en colon e hipocampo reduciendo así la infiltración de linfocitos en el colon y favoreciendo la actividad anti-inflamatoria de la microglía con menor expresión relativa de citocinas proinflamatorias e incremento en la expresión relativa de citocinas anti-inflamatorias.

Pregunta de investigación

¿Cómo contribuye el consumo de las semillas cocidas y las hojas secas de frijol a la mejora de las alteraciones metabólicas y la modulación del eje intestino-cerebro en ratones con obesidad inducida por una DAGF?

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar el efecto del consumo de la semilla y de la hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la restauración de la integridad intestinal, la actividad proinflamatoria en el cerebro al evaluar las células de la microglía y la mejora de la memoria en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por una dieta alta en grasa y fructosa.

5.2. Objetivos específicos

- Analizar el potencial terapéutico en la obesidad del consumo de la semilla de frijol (5% y 15%) y de hoja de frijol (10%) en el control de la obesidad a través de cambios en la composición corporal y en la acumulación de tejido adiposo en ratones alimentados con una DAGF.
- Evaluar la recuperación de la integridad intestinal, la reducción de endotoxemia y los cambios histológicos en intestino y colon por el consumo de la semilla y de la hoja de frijol en ratones obesos alimentados con una DAGF.
- Determinar el impacto del consumo de la semilla y de la hoja de frijol en la preservación de la memoria y en la disminución de la actividad proinflamatoria en el cerebro al evaluar las células de la microglía en la región CA1 del hipocampo de ratones alimentados con una DAGF.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

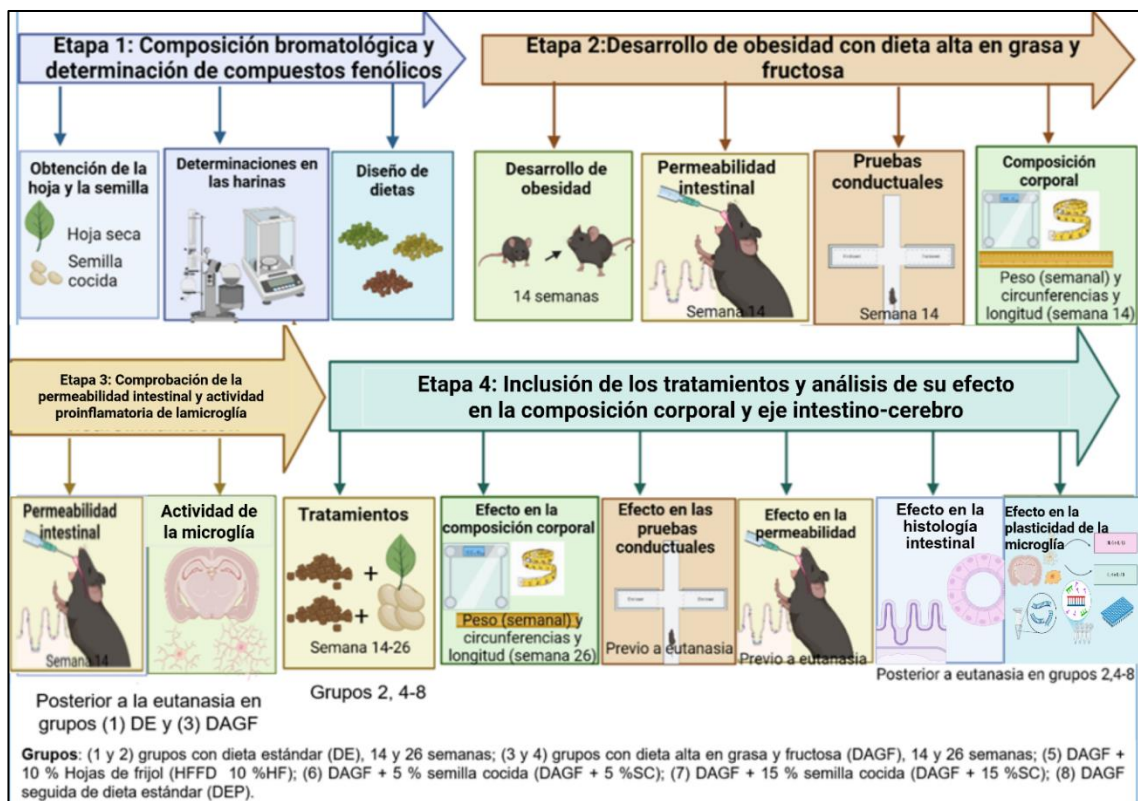


Figura 6. Diseño experimental *in vivo*

6.1. Materiales biológicos

6.1.1. Semilla y hoja de frijol

Las hojas y las semillas se obtuvieron de la planta de frijol *Phaseolus vulgaris* L. variedad Eugenia cultivada por sembradío en campo abierto en el campus experimental Amazcala (FCN, UAQ). La cosecha correspondiente a junio del 2019 se obtuvo en colaboración con el Dr. Candelario Mondragón Jacobo. Posterior a su cosecha, se seleccionaron las hojas verdes (6–15 cm longitud y 3–11 cm de ancho), se lavaron con agua corriente, se ventilaron por 24 h y se secaron en horno de convección a 40-42 °C hasta peso constante. La hoja de frijol seca se molió y cribó a 0.2 mm (molino Thomas-Wiley modelo 4, Thomas Scientific, Swedesboro, USA) (Becerril et al., 2022).

Las semillas secas de frijol que se obtuvieron de la misma cosecha y donación se lavaron y se cocieron en un recipiente de acero inoxidable, en agua destilada con

relación 1:3 (semilla: agua, p/v) por 120 min a 95 °C (Aravindakshan et al., 2021). El caldo y la semilla de los frijoles cocidos se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se congelaron a -80 °C y liofilizaron (liofilizadora Scientz-10N, Freeze Dryer, Shanghai, CHN) al vacío (temperatura del condensador de -80 °C, temperatura del estante de -20 °C y una presión de cámara de 1 N/m²) durante 96 h (Aravindakshan et al., 2021). La semilla cocida y liofilizada se molió a 20,000 rpm (molino, IKA M 20 Universal, 120 V; IKA, Wilmington, USA) y cribó a 2 mm.

La hoja y la semilla de frijol molidas se almacenaron en bolsas oscuras y herméticas a -80 °C para el análisis químico proximal, la caracterización fitoquímica y su incorporación a las dietas de los diferentes grupos experimentales.

6.2. Caracterización bromatológica de las semillas cocidas y las hojas de frijol en polvo

6.2.1. Humedad por estufa de secado

Para la determinación de humedad se utilizó el método por estufa de secado donde se pesaron 2 g de muestra en polvo en crisoles de porcelana, previamente puestos a peso constante en estufa de secado a 65 °C. Las muestras se secaron hasta peso constante, posteriormente se retiraron de la estufa y se colocaron en un desecador durante 15 min. El porcentaje de humedad se determinó a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = 100 - (\text{peso de la muestra seca} \times 100 / \text{peso de la muestra inicial})$$

6.2.2. Determinación de cenizas

La determinación de cenizas se realizó mediante calcinación, siguiendo el método AOAC 942.05. El procedimiento consistió en pesar 2 g de muestra en polvo molida en un crisol de porcelana previamente llevado a peso constante. Luego, la muestra se calcinó en una mufla a una temperatura de 550–600 °C durante 4 h. Tras completar la calcinación, se apagó la mufla y se esperó a que descendiera la temperatura. Los crisoles fueron retirados y colocados en una estufa de secado a

100 – 115 °C durante 30 min para su enfriamiento. Posteriormente, los crisoles se trasladaron a un desecador por 15 min antes de registrar el peso del residuo. La cantidad de cenizas se determinó a partir de la diferencia entre el peso de la muestra calcinada y el peso inicial de la muestra.

$$\% \text{ Cenizas} = (\text{peso de la muestra calcinada} / \text{peso de la muestra inicial}) \times 100$$

6.2.3. Determinación de proteína cruda

La determinación de proteína cruda se realizó siguiendo el método de nitrógeno total macro-Kjeldahl (AOAC 2001). Inicialmente se pesaron de 0.5 a 1 g de muestra en papel filtro y se colocaron en un matraz Kjeldahl. Posteriormente, se añadieron 2 perlas catalizadoras a los matraces, se conectaron en un extractor de humos y se calentaron durante 30 min a 95 °C. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se destilaron. La proteína se tituló con ácido sulfúrico concentrado (95 %) y se determinó la cantidad de nitrógeno presente en las muestras con la cantidad de ácido sulfúrico adicionado, empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = (A-B) \times C \times N \times 100/M$$

Donde:

A = mL de H₂SO₄ 1 N adicionados a la muestra problema

B = mL de H₂SO₄ adicionados al blanco

C = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

6.2.4. Determinación del extracto etéreo

La determinación de los lípidos se realizó por el método de extracto etéreo (AOAC 920.39). Los vasos del equipo se pusieron a peso constante en una estufa de secado. Posteriormente, en un cartucho se pesaron 2.5 g de muestra en polvo y se colocó en el extractor. A cada vaso en el equipo se adicionaron de 60 a 80 mL de éter etílico. La extracción se realizó durante 4 a 6 h a 60 °C. Una vez transcurrido ese tiempo, se evaporó el éter colocando los vasos en una campana de extracción y enseguida se pesaron. El contenido de lípidos se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = (A - B) \times 100/M$$

Donde:

A = peso del vaso con residuo lipídico

B = peso constante del vaso

M = peso de la muestra

6.2.5. Determinación de fibra dietética total

La fibra dietética total se determinó por un método enzimático utilizando un kit (Total Dietary Fiber Assay Kit, Sigma-Aldrich, Darmstadt, DEU) con las modificaciones reportadas por Heredia-Ortega et al. (2014). En bolsas ANKOM F57 (ANKOM, Macedon, USA) previamente pesadas y marcadas se pesó 1 g de muestra en polvo (cuadruplicado). Una vez que las bolsas se sellaron se colocaron en una solución de fosfatos 0.08 M, se añadió α -amilasa y se incubaron a baño maría durante 15 min a 95 °C. Transcurrido ese tiempo, se agregó una solución de *Bacillus licheniformis* en solución de fosfato, se incubó durante 30 min a 60 °C y se repitió la incubación utilizando la amiloglucosidasa de *Aspergillus niger*. Pasados los 30 min, se adicionaron 800 mL de alcohol (96 %) y se dejó sedimentar durante 12 h. Posteriormente, las muestras se filtraron en papel Whatman con una bomba de vacío y matraz Kitasato. El papel Whatman con el sedimento se dejó secar a peso constante. La diferencia del peso del papel filtro con el residuo menos el papel filtro sin el residuo correspondió a la fibra soluble. Por otro lado, las bolsas con las muestras se lavaron con alcohol en un digestor 3 veces por 15 min y un lavado con acetona. Finalmente, las muestras se secaron en estufa, donde la diferencia de peso correspondió a la fibra insoluble (Heredia-Ortega et al., 2014).

6.3. Determinación de compuestos fenólicos totales y saponinas en la semilla y la hoja de frijol

6.3.1. Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de compuestos fenólicos se realizó a partir de 5 g por 10 mL de solución de acetona-agua en relación 70:30. Posteriormente, la solución se sonicó durante 30 s por 3 ocasiones con intervalos de 15 s. Las muestras se centrifugaron a 10,000 g durante 10 min a 4 °C. Se procedió a la rota-evaporación para la remoción del solvente y continuar con las determinaciones (Herrera-Rocha et al., 2022). La solución se disolvió en 1 mL de agua destilada estéril. El extracto se suspendió en agua, se liofilizó a -60 °C y se almacenó a -80 °C hasta su análisis (Baek et al., 2018).

6.3.2. Cuantificación de compuestos fenólicos totales

La cuantificación de compuestos fenólicos totales se realizó por el ensayo de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rosi, 1965). En una placa de 96 pozos se colocaron 12.5 µL del extracto acetónico y 50 µL de agua; se adicionaron 32 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N y la reacción de oxidación se neutralizó con 156 µL de carbonato de sodio al 7 %. La muestra se incubó en la oscuridad por 2 h a temperatura ambiente y posteriormente la absorbancia se midió a 760 nm en un lector de placas (Varioskan Flash Multimode Reader, Thermo-Scientific, Massachusetts, USA). El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó a partir de una curva de calibración empleando ácido gálico como estándar, expresando los resultados como µg equivalentes de ácido gálico/g de muestra seca (µg EAG/g muestra seca).

6.3.3. Cuantificación de flavonoides totales

Este procedimiento se llevó a cabo a partir de lo descrito por Oomah et al. (2005). En una placa de 96 pozos se colocaron 50 µL del extracto acetónico, 180 µL de metanol y 20 µL de una solución de 2-aminoetildifenilborato al 1 % en metanol. La absorbancia se midió a 404 nm en un lector de placas. Para realizar los cálculos correspondientes se utilizó una curva de calibración con rutina y se expresaron los

resultados como μg de equivalentes de rutina/g de muestra en polvo (μg ER/g muestra seca).

6.3.4. Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de taninos condensados se determinó por la prueba de vainillina de Deshpande y Cheryan (1987), modificado a microplaca. En una placa de 96 pozos se colocaron 50 μL del extracto acetónico y 200 μL de una mezcla de vainillina al 0.5% recién preparada (vainillina 1 % en metanol y HCl 8 % en metanol en una relación 1:1). Enseguida, se preparó un blanco al cual se le adicionaron 50 μL del extracto y 200 μL de HCl 4 %. La absorbancia de las muestras se midió en un lector de placa a 492 nm. Para calcular las concentraciones de taninos condensados se utilizó una curva de calibración con (+)-catequina (0 – 0.2 mg/mL). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de (+)-catequina/g de muestra seca (mg ECAT/g muestra seca) (Feregrino-Pérez et al., 2008).

6.3.5. Extracción y cuantificación de saponinas totales

Para determinar las saponinas totales, a 1 g de muestra en polvo de las hojas de frijol se añadieron 10 mL de metanol (80 %). Posteriormente, el metanol se eliminó por evaporación rotatoria en condiciones de vacío. Al extracto resultante se añadió 200 μL agua y 200 μL de acetona; la muestra se centrifugó a 2,500 g durante 15 min para obtener el extracto metanólico. Después, 0.1 mL del extracto metanólico se incubó con 1 mL de ácido sulfúrico al 72 % y vainillina al 0.8 % en etanol en un baño de agua a 60 °C durante 20 min y posteriormente se enfrió con un baño de hielo. La absorbancia se midió a 544 nm en un lector de placas empleando un estándar de saponina (0.012 – 0.36 mg/mL) para determinar la cantidad de saponinas en el extracto (Dini et al., 2009).

6.4. Determinación de metabolitos de muy bajo peso molecular

Los metabolitos de muy bajo peso molecular se identificaron en función de su naturaleza química, empleando un extracto metanólico para la detección de compuestos orgánicos polares y aminoácidos, y un extracto con hexano para la

caracterización de ácidos grasos, dada su afinidad con solventes no polares (100 µg/1 mL).

Las muestras se agitaron durante 60 min y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se secó al vacío y se adicionaron 50 µL de agente derivatizante N-O-bis (trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA) + 1 % trimetilclorosilano (TMCS). Para la determinación de los metabolitos presentes en los extractos metanólico y hexánico del polvo de semilla y el polvo de hoja de frijol se inyectó 1 µL en un cromatógrafo de gases (Agilent GC serie 7890A, Delaware, USA) acoplado a espectrometría de masas de cuatro polos simple (GC/MSD Systems Agilent, Delaware, USA). La energía de ionización por impacto de electrones se estableció en 70 eV, con un rango de masas de 50-3700 m/z. Se utilizó una columna capilar HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm) y un inyector split/splitless (2 mm), configurado en modo splitless y con una temperatura de 250 °C. El programa de temperatura del horno fue el siguiente: temperatura inicial (100 °C durante 1 min), incremento (6 °C/min hasta alcanzar 220 °C, manteniéndose durante 1.23 min), segundo incremento (10 °C/min hasta 290 °C), tercer incremento (40 °C/min hasta 310 °C, manteniéndose durante 7.5 min). El flujo del gas portador (helio) se estableció en 1 mL/min.

Para la identificación de metabolitos en los extractos, los espectros de masas obtenidos se compararon con la base de datos de referencia estándar del NIST (NIST 11). El contenido relativo de cada compuesto se calculó como el porcentaje del área bajo la curva. Para el control del cromatógrafo y el procesamiento de datos se utilizó el software Chem-Station (Agilent Technologies, Delaware, USA) (Figuerola-Pérez et al., 2014). Los metabolitos de muy bajo peso molecular se caracterizan por ser ácidos grasos, compuestos orgánicos y aminoácidos de peso menor a 900 Da con diferentes propiedades benéficas para la salud.

6.5. Actividad enzimática de la lipasa pancreática *in vitro*

La inhibición de la actividad de la lipasa pancreática se determinó siguiendo el método propuesto por Pérez Ramírez et al. (2015). Brevemente, 1 g de polvo de la hoja de frijol se disolvió en 1 mL de metanol. Posteriormente, se mezclaron 10 mg de lipasa pancreática porcina en 1 mL de agua destilada y se centrifugaron a 1,600 g durante 5 min. El sobrenadante se mezcló a diferentes concentraciones (0.1 - 1 mg/mL) con el extracto metanólico de la hoja de frijol. La tetrahidrolipstatina disuelta en dimetilsulfóxido se usó como control positivo y el dimetilsulfóxido como control negativo, lo que permite comparar el comportamiento basal de la enzima sin inhibidores activos presentes. A cada muestra se agregaron 400 µL de laureato de p-nitrofenilo y, después de 2 h de incubación, se midió el producto de glicerol oxidado a 570 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de lipasa pancreática *in vitro* en relación con la actividad de la tetrahidrolipstatina.

6.6. Animales y grupos experimentales

El número de unidades experimentales del estudio *in vivo* se calculó usando los datos de la prevalencia de obesidad en individuos mayores de 18 años en México (74.2 %) y a nivel mundial (59 %), considerando una prevalencia promedio del 70 %, con un nivel de confianza del 95 % y una potencia estadística del 90 % (Campos-Nonato, 2023; WHO, 2025). Se utilizó la siguiente fórmula del tamaño de muestra necesario (TM) para determinar la prevalencia poblacional con valores absolutos de precisión (Milian Suazo, 1989).

$$TM = 3.84 (\text{prevalencia verdadera}) / (1 - \text{prevalencia verdadera}) / (\text{margen de error})^2$$

Donde:

- Prevalencia verdadera = 0.70
- 1 - prevalencia verdadera = 0.30
- Margen de error = 0.09

Sustitución:

- $TM = 3.84 (0.70) / (0.30) / 0.09^2 = 100$
- $TM/\text{número de grupos} = 100/8$
- $100/8 = 12.5$ (12 por grupo)

El proyecto se llevó a cabo en las instalaciones del INB de la UNAM y de las facultades de Ciencias Naturales y Química de la UAQ. Los procesos contemplados para el proyecto se realizaron de acuerdo con lo aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Química con número de oficio CBQ22/114, tomando como base la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. En total se incluyeron 96 ratones (cepa C57BL/6 macho de 8 semanas de edad, 25 a 30 g de peso corporal) obtenidos del Bioterio del Instituto de Neurobiología UNAM Campus Juriquilla.

El experimento *in vivo* se realizó en 2 fases con 48 ratones cada una debido a restricciones espaciales y a la disponibilidad de los roedores. Se garantizó la homogeneidad en las condiciones experimentales para ambas fases, asegurando la uniformidad similitud de las variables ambientales, nutricionales y de manejo durante las dos fases experimentales. Se utilizó esta cepa por ser susceptible a desarrollar obesidad y alteraciones metabólicas a corto plazo con dietas hiperenergéticas. Así mismo, se cuenta con protocolos estandarizados para evaluar los cambios en conducta inducidos con estas dietas en esta cepa (Buettner et al., 2007; Martínez-Orozco et al., 2022). Los animales se alojaron colocando 4 ratones por caja (19 x 29 x 12 cm), con piso y paredes continuas sólidas con tapa removible, así como con cama sanitaria de viruta estéril (1.5 cm de alto). Los animales se mantuvieron con temperatura controlada (22 ± 2 °C) y humedad relativa (60 ± 5 %) bajo un fotoperiodo de 12 h de luz/oscuridad. A todos los animales se les administró alimento y agua *ad libitum*. La limpieza de las jaulas, los bebederos y los comederos se realizó cada tercer día. Los ratones se mantuvieron por una semana en adaptación a la dieta estándar molida. En cada fase, los animales se dividieron en 8 grupos diferentes de forma aleatoria para administrar las diferentes dietas. Para la aleatorización e identificación de los animales se utilizaron tarjetas de

identificación en cada caja y los animales se marcaron con tintura no tóxica como lo indica la NOM-062-ZOO-1999.

El empleo de animales fue necesario para evaluar el efecto de los componentes de la dieta en el funcionamiento general del organismo, enfocado al eje intestino-cerebro. El análisis de la conducta fue una parte importante del proyecto y que sólo se pudo observar en un modelo *in vivo*.

El total de animales se dividió en 8 grupos con 12 animales/grupo: dos grupos recibieron dieta estándar (DE), uno durante 14 semanas y otro durante 26 semanas; de manera similar, dos grupos recibieron la dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) por 14 y 26 semanas, respectivamente. Seis grupos fueron alimentados con una DAGF, de los cuales uno fue expuesto durante 26 semanas; mientras que, los cinco restantes recibieron exclusivamente la dieta durante 14 semanas con el objetivo de inducir obesidad y 12 semanas la DAGF + el tratamiento correspondiente como se muestra en la tabla 4 y la Figura 7.

Tabla 4. Grupos experimentales.

Grupo	Periodo	Objetivo
1. DE	14 semanas	Comprobación del modelo
2. DAGF	14 semanas	Comprobación del modelo
3. DE	26 semanas	Control sano
4. DAGF	26 semanas	Control de alteración del eje intestino-cerebro
5. DAGF+ 10 % HF	14 semanas DAGF y 12 semanas DAGF + 10 % HF	Tratamiento con HF en cantidad similar al consumo recomendado de vegetales
6. DAGF + 5 % SC	14 semanas DAGF y 12 semanas DAGF + 5 % SC	Tratamiento con SC en cantidad similar al consumo habitual del mexicano
7. DAGF + 15 % SC	14 semanas DAGF y 12 semanas DAGF + 15 % SC	Tratamiento con SC en cantidad similar al consumo recomendado para la población mexicana
8. DEP	14 semanas DAGF y 12 semanas DE	Tratamiento con DE para asemejar el cambio a una dieta saludable

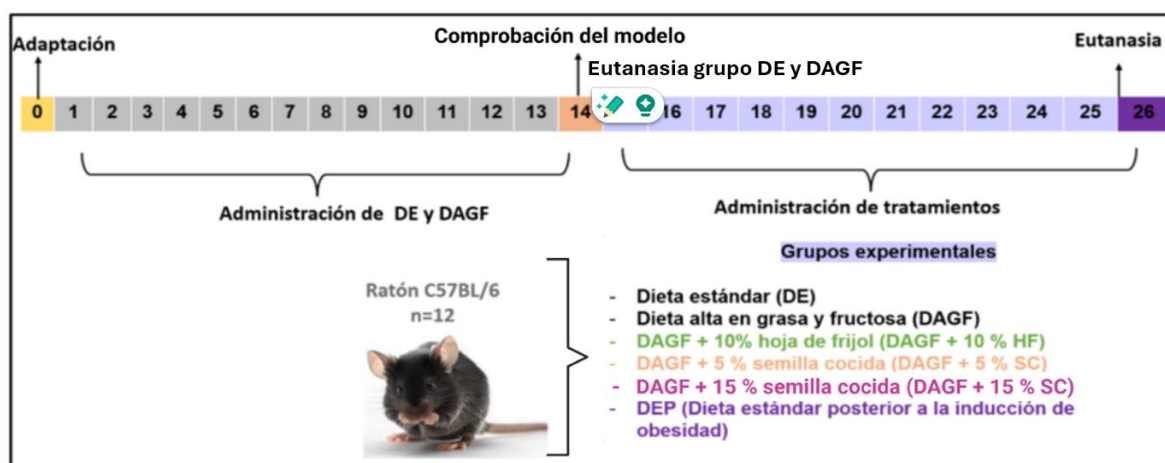


Figura 7. Modelo experimental inducción de obesidad con una DAGF

6.7. Diseño y contenido de la DE y la DAGF para los animales experimentales

El alimento base en las dietas fue Rodent Lab Chow 5001 (LabDiet, Orlando, USA), un alimento recomendado para roedores durante el ciclo de vida; su contenido cubre los requerimientos nutricionales teniendo un aporte energético adecuado de 3.36 Kcal/g (proteína 28.5 %, grasa 13.5 % e hidratos de carbono 58 %). Previo al inicio del experimento, los animales tuvieron una semana en adaptación al alimento base molido. La composición energética y nutrimental de las dietas para los grupos DE y DAGF se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Contenido nutrimental de la DE y la DAGF

Elemento	DE (%)	DAGF (%)
Carbohidratos	58.2	40.0
De los cuales fructosa	-	20.0
Fibra	5.1	3.4
Proteínas	28.5	19.6
Lípidos	13.5	40.3
Saturados	1.6	34.5
Kcal/g	3.4	4.4

La composición nutrimental se declara de acuerdo con el etiquetado del alimento para la DE y el etiquetado de los ingredientes considerados para la preparación de la DAGF.

6.8. Diseño experimental

Una vez concluida la semana de adaptación, los ratones de los grupos 1 y 2 (Tabla 4) se alimentaron con DE y los grupos 3 al 8 se alimentaron con la dieta DAGF. Se realizó un monitoreo semanal del peso corporal, ingesta alimentaria y circunferencia visceral. Tras 14 semanas, todos los ratones alimentados con DAGF correspondientes a los grupos 3 a 8 mostraron un incremento $\geq 10\%$ en el peso corporal. En comparación con los animales alimentados con DE (grupos 1 y 2), lo cual confirmó la inducción de obesidad conforme a los criterios establecidos (Buettner et al., 2007). Además de la obesidad, se evaluó la permeabilidad intestinal mediante el ensayo con FITC-dextrán y se analizaron alteraciones conductuales a través de una menor respuesta comportamental caracterizado por una puntuación baja en la construcción de nidos y una alternancia baja en el laberinto en T, confirmando así el modelo experimental. Una vez confirmado el modelo de inducción de obesidad, caracterizado por el aumento de la permeabilidad intestinal y una disminución en la respuesta a pruebas conductuales, los grupos 1 (DAGF) y 3 (DE) se les confirmó el daño en la integridad intestinal, el aumento en la activación microglial y la disminución en la respuesta a las pruebas conductuales. Después de lo anterior, se continuó con la administración de los tratamientos asignados al resto de los grupos experimentales: DAGF + 10 % HF, DAGF + 5 % SC, DAGF + 15 % SC, y DEP. Estos grupos fueron comparados con un grupo control sano (alimentado con dieta estándar durante 26 semanas) y un grupo control obeso (alimentado con DAGF durante el mismo periodo). Los tratamientos con hoja y semilla de frijol se administraron posterior al desarrollo de obesidad, a partir de las concentraciones mencionadas en los grupos experimentales. Para mantener el aporte proteico similar entre las diferentes dietas se añadió a las dietas hipercalóricas caseinato de calcio; para cubrir el contenido de fibra se utilizó salvado de trigo; mientras que, para favorecer la absorción de lípidos de la dieta se adicionó 0.15 % de colato de sodio.

Aunque inicialmente se estableció un tamaño de muestra de 12 ratones por grupo para inducir obesidad mediante una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF; 40 %

lípidos, 20 % fructosa), no todos los animales alcanzaron el incremento ponderal ≥ 10 %, criterio considerado para confirmar el fenotipo obeso. Sin embargo, estos sujetos mostraron alteraciones metabólicas y conductuales relevantes. En consecuencia, el presente estudio incluyó exclusivamente a los ratones que cumplieron con el criterio de obesidad basado en el peso corporal, conforme a lo descrito por Martínez-Orozco (2022), para confirmar el modelo experimental teniendo una n final de 8-10. En paralelo, algunos ratones del grupo con dieta estándar (DE) también presentaron una ganancia de peso superior al 10 %, atribuida a comportamientos de dominancia en la dinámica grupal, por lo que fueron excluidos del análisis con una n final de 6. Para la fase de confirmación del modelo (14 semanas) se utilizaron los 7 ratones asignados al grupo DE, mientras que en la fase completa de 26 semanas se incluyeron únicamente 6.

Debido a esta variabilidad se consideró necesario incrementar el número de animales 12 por grupo (agregando de 2 a 4 animales por grupo) para alcanzar el tamaño de muestra requerido. Nuestros hallazgos refuerzan la evidencia de que el consumo crónico de dietas hipercalóricas ricas en grasas y azúcares puede inducir alteraciones metabólicas, inflamatorias y conductuales, incluso antes de que se manifieste una obesidad evidente. Por tanto, el exceso de tejido adiposo y en su caso el incremento de peso no debe considerarse el único marcador clínico de daño inducido por la dieta, dado que se ha documentado la presencia de enfermedades crónicas no transmisibles (como diabetes tipo 2, hipertensión) y trastornos emocionales (depresión, ansiedad) en individuos con normopeso (Kivimäki et al., 2015; Sánchez-Villegas et al., 2015). Asimismo, el consumo excesivo de energía, aún en el contexto de una dieta equilibrada, puede favorecer el incremento de peso (Ello-Martin et al., 2005). Ambos procesos deben considerarse en investigaciones futuras.

La duración del tratamiento (12 semanas) se evaluó a partir de los cambios reflejados en el peso corporal, la circunferencia torácica y la circunferencia visceral, así como las pruebas de conducta, considerando al menos un periodo de evaluación

de 12 semanas. Una vez determinados cambios significativos en la composición corporal y/o la conducta se procedió a la obtención y al procesamiento de las muestras biológicas para los análisis posteriores.

En todo momento se mantuvo atención en los índices de bienestar de los animales. Para la obtención de las muestras biológicas se consideró lo establecido por la NOM-033-ZOO-2014 que especifica los métodos para dar muerte a animales domésticos y silvestres. Los estándares bioéticos nacionales e internacionales del cuidado y bienestar de los animales fueron considerados durante toda la investigación. Se empleó la norma nacional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio NOM-062-ZOO-1999 y la norma internacional ARRIVE.

6.9. Determinación de la composición corporal y tipo de grasa corporal previo a la obtención de muestras

6.9.1. Composición corporal

La composición corporal de los animales se analizó para la comprobación del modelo con obesidad y durante la administración de los tratamientos. Para conocer la distribución de la grasa corporal se midió las circunferencias torácica y abdominal en la última semana previo a la muerte de los ratones de esta investigación y se determinó la relación circunferencia abdominal/circunferencia torácica. El índice de masa corporal (IMC) e índice de Lee, ambos indicadores relacionados con el desarrollo de obesidad se midieron a partir del peso y la longitud de los animales (de nariz a base de la cola).

6.9.2. Distribución de la grasa corporal

Para conocer la distribución de grasa corporal visceral y subcutánea, los animales se analizaron por resonancia magnética (servicio del laboratorio nacional de imagenología, LANIREN INB- UNAM, Campus Juriquilla), utilizando isoflurano al 2 % como anestésico inhalatorio (Kundumani-Sridharan et al., 2019), en la última semana previa a la obtención de muestras. Las imágenes se analizaron con el programa ITK-SNAP versión 3.8.0 (Universidad de Pensilvania, Pensilvania, USA).

6.10. Pruebas conductuales previo a la obtención de muestras biológicas

6.10.1. Prueba de reconocimiento de objetos

La información reciente sobre objetos y ubicaciones familiarizadas por los roedores permite evaluar la memoria de reconocimiento (Stefanko et al., 2009). La prueba de reconocimiento de objetos se llevó a cabo en la semana 12 de la administración de los tratamientos. Esta prueba se utilizó para evaluar el deterioro en la memoria a partir del consumo de la DAGF y el efecto de la suplementación con la semilla y la hoja de frijol. El reconocimiento de objetos se llevó a cabo en 3 fases con un intervalo entre fases de 24 h. En la fase de habituación se dejó explorar a los ratones en un campo abierto sin objetos durante 10 min. En la fase de familiarización se colocó al roedor frente a dos objetos iguales durante 10 min; finalmente, en la tercera fase los roedores se colocaron frente a un objeto familiar y un objeto novedoso o un objeto familiar y el otro cambiado de lugar, siguiendo las características del tamaño, color y forma de acuerdo con lo reportado previamente (Martínez-Orozco, 2020; Shi et al., 2020). El índice de discriminación se calculó utilizando la siguiente fórmula:

Índice de discriminación: $(\text{Tiempo de objeto familiar antiguo} - \text{tiempo de objeto familiar reciente}) / \text{tiempo total de exploración}$.

Un índice de discriminación cercano a cero o con valores negativos indica deterioro en la memoria a largo plazo, mientras que un valor positivo y próximo a 1 sugiere una adecuada integridad de la memoria a largo plazo (Vogel-Ciernia & Wood, 2014).

6.10.2. Construcción de nidos

El estado cognitivo general de los animales se evaluó por medio de la construcción innata del nido (Deacon, 2012). La prueba de construcción de nidos se midió en todos los grupos durante la última semana previo a la obtención de muestras. Los ratones se alojaron individualmente en una jaula limpia con aserrín de 0.5 cm de grosor y se les proporcionó un cuadrado de algodón prensado de 2 g. Se tomaron fotos de la jaula durante las 12 h, en su ciclo activo. Se utilizó la puntuación de nido

de Deacon (Deacon, 2012) para evaluar las actividades de la vida diaria relacionadas con alteraciones en individuos con deterioro cognitivo (Johnson et al., 2016; Shi et al., 2020). La prueba se puntuó de 1 a 5 y se tomaron las siguientes consideraciones (Figura 8):

1. Nido mayoritariamente intacto (> 90 % intacto).
2. Nido parcialmente desgarrado (50-90 % intacto).
3. Nido triturado en su mayoría y no hay un sitio de nido identificable (se extiende alrededor de la jaula).
4. Nido identificable, pero plano: > 90 % está destrozado, el algodón se ubica dentro de un cuarto del área del piso de la jaula.
5. Un nido casi perfecto: > 90 % del algodón está destrozado, el nido es un cráter, con paredes más altas que la altura del cuerpo del ratón en más del 50 % de su circunferencia

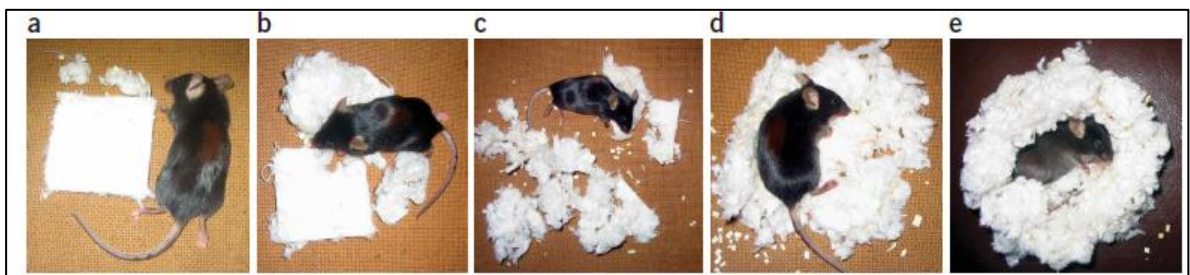


Figura 8. Representación gráfica de la puntuación en la construcción de nidos de 1 a 5 (a-e) respectivamente. Tomado de Deacon, 2006.

Un incremento de la puntuación en la construcción de nidos con los diferentes tratamientos se refiere a una mejor respuesta asociada con la cognición general; por lo que una disminución de la puntuación con los diferentes tratamientos hablaría de una mayor pérdida en la cognición general (Deacon, 2012).

6.10.3. Prueba de laberinto en T

La integridad funcional del hipocampo relacionado con la memoria y el aprendizaje se evaluó con la prueba de laberinto en T, ya que se considera una de las mejores pruebas establecidas para la memoria de trabajo espacial. Se basa en la predisposición del ratón a optar por el brazo novedoso del laberinto en comparación

con el familiar; esta elección depende de la integridad de las vías límbicas y no límbicas, que incluyen el cerebro basal anterior, el hipocampo y la corteza cerebral (Lalonde, 2002). Esta prueba se llevó a cabo en el modelo con obesidad y al término de los tratamientos para evaluar cambios en el comportamiento por efecto de los diferentes tratamientos. El espacio de trabajo fue un lugar tranquilo, con poca luz y utilizado exclusivamente para las pruebas. Cada ratón se colocó de manera individual en una plataforma en forma de T rodeada de paredes con material de acrílico (40 cm de largo, 10 cm de ancho y 15 cm de alto). El laberinto en T consta de tres zonas básicas: un brazo de inicio o largo y dos brazos cortos (derecho e izquierdo). El brazo largo está separado de la zona inicial por una puerta de guillotina (Figura 9).

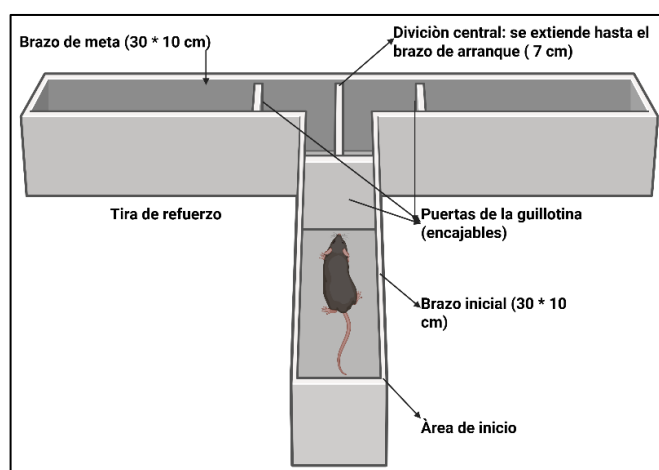


Figura 9. Representación gráfica del laberinto en T para ratones. Modificado de Deacon, 2006 y realizado con BioRender.com.

La prueba constó de tres fases repetidas 3 veces al día durante 3 días. En la primera fase, el ratón se colocó en el brazo de inicio y pudo elegir entrar en uno de los dos brazos cortos, después de lo cual se cerró el brazo elegido. El animal se dejó en el brazo elegido durante 20 s para explorar el entorno. La segunda fase consistió en colocar al ratón en el brazo de inicio una vez más, lo que le permitió elegir uno de los brazos cortos. El objetivo fue analizar si el ratón eligiera el mismo brazo dos veces. Al final del estudio, se evaluó el número total de veces que cada animal alternó durante la tarea. Toda la prueba se grabó en video con una cámara digital y

luego se evaluó utilizando Smart Video Tracking Software (Deacon & Rawlins, 2006; d'Isa et al., 2021).

Se calculó el porcentaje de alternancia como índice de memoria de trabajo, a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de memoria de trabajo} = (\text{Número total de alternancias correctas}/9) * 100$$

Un índice de memoria de trabajo elevado (cercano al 100 %) indica una adecuada integridad de la memoria de trabajo y a corto plazo; mientras que, valores bajos (por debajo del 65 %) se asocian con un deterioro en estos dominios cognitivos (Dudchenko, 2004).

6.11. Permeabilidad intestinal *in vivo*

La permeabilidad intestinal se evaluó mediante el ensayo de permeabilidad *in vivo* FITC-dextrán (Sigma, FD4, Darmstadt, DEU) previo a la obtención de muestras en la mitad de los animales de los grupos DE y DAGF (14 semanas) y en la mitad de los animales con los diferentes tratamientos (26 semanas). Para lo anterior, los ratones se ayunaron durante 12 h y recibieron por canulación oral una dosis de FITC-dextrán (600 mg/kg peso corporal) disuelto en tampón de fosfato salino estéril. Después de 2.5 h de la administración del FITC-dextrán se extrajeron aproximadamente 200 µL de sangre por la vena femoral que se centrifugó durante 15 min a 3,500 g a 4 °C. El plasma se colocó en tubos nuevos y se almacenó a -80 °C para su posterior análisis. Las concentraciones plasmáticas de FITC-dextrán se evaluaron en un lector de placas a una longitud de onda de excitación de 490 nm y de emisión de 520 nm (van de Wouw et al., 2018). Según estudios previos, en condiciones fisiológicas normales la concentración sérica de FITC-dextrán es prácticamente indetectable; sin embargo, en modelos experimentales con obesidad o inflamación intestinal se han reportado concentraciones superiores al doble en comparación con grupos control sanos (Chen et al., 2014; Ribeiro Hudson et al., 2020).

6.12. Obtención de muestras por muerte con CO₂ y punción cardiaca

Para la muerte de los animales de ambas fases de esta investigación, a la mitad de los animales de cada grupo se les administró CO₂ con un flujo del 20 % del volumen de la cámara por min durante 60 s y, posteriormente, se obtuvo alrededor de 1 mL de sangre por punción cardiaca. Los animales se disectaron y se extrajo el tracto gastrointestinal, el contenido de colon proximal, el hígado, los riñones, el cerebro y el tejido adiposo. Es importante señalar que se extrajeron otros tejidos para investigaciones posteriores. En la otra mitad de animales de cada grupo, se utilizó pentobarbital (120 mg/kg) disuelto en solución fisiológica vía intraperitoneal y punción cardiaca para la colección de sangre; la circulación de parte inferior del cuerpo se bloqueó y la cabeza se perfundió con solución salina y posteriormente con paraformaldehído al 4 %, lo que aseguró la obtención adecuada del cerebro para las pruebas posteriores. Una vez que los tejidos correspondientes a la cabeza estaban rígidos, el cerebro se colectó, disectó y almacenó en paraformaldehído al 4 % durante 48 h y luego en solución glucosada al 30 % para su crioprotección y para su análisis. El resto de los órganos se extrajeron de la misma manera que en los animales no perfundidos y algunos de ellos se utilizarán para trabajos futuros.

La sangre de todos los animales se colectó en tubos Vacutainer amarillos. El suero se obtuvo por centrifugación a 3,000 g a 4 ° C por 20 min y se almacenó en alícuotas a -20 °C hasta su análisis. Las muestras de contenido de colon proximal se extrajeron procurando no dañar las vellosidades intestinales; los contenidos se colocaron en tubos libres de nucleasas y se congelaron en nitrógeno líquido para después almacenarse a -80 °C. Los intestinos delgado y grueso se colocaron en una solución de Carnoy para fijación e inclusión en parafina; posteriormente, se cortaron (3 – 4 µm) y se montaron en laminillas para el posterior análisis histológico de su morfometría.

6.13. Determinación de colesterol total y triglicéridos en suero

Las concentraciones de colesterol y triglicéridos en el suero de los animales de los diferentes grupos obtenidos tras la obtención de muestras se analizaron utilizando

kits enzimático-colorimétricos correspondientes (Spinreact, Barcelona, ESP). Los resultados se expresaron en mg/dL.

6.14. Lípidos totales y triglicéridos en heces

Las heces se recolectaron durante 24 h en la última semana de tratamiento en la fase 2 (tratamiento) y se almacenaron a -80°C . Se homogenizaron 200 mg de heces con 2 mL de solución salina al 0.9 % y se agitaron durante 1 min, seguido de la adición de 2 mL de cloroformo-metanol (2:1 v/v) y una nueva agitación por 1 min. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 10,000 g durante 10 min; se recuperó la fase inferior y se evaporó al vacío durante 24 h. Se determinó la diferencia entre el peso inicial y final y los resultados se expresaron como mg de lípidos totales por g de heces (Kraus et al., 2015). Además, el contenido de triglicéridos en el extracto lipídico de las heces se determinó utilizando un kit enzimático-colorimétrico (Spinreact, Barcelona, ESP). Los resultados se expresaron como mg de triglicéridos por g de lípidos totales en heces.

6.15. Medición del grosor de la capa de moco colónico

Para evaluar el impacto de la dieta DAGF en la permeabilidad intestinal y el posible efecto benéfico de los tratamientos se analizó el grosor de la capa de moco por histología. Las muestras de colon se fijaron en solución de Carnoy (etanol: cloroformo: ácido acético, 6:3:1), se incluyeron en parafina, se seccionaron a 5 μm y se montaron en portaobjetos. Las secciones se tiñeron con hematoxilina y eosina (Copyright © 2024 Leica Biosystems division of Leica Microsystems, Inc., Illinois, USA) y se capturaron micrografías utilizando un microscopio (Velab, VE-BC3PLUS, Ciudad de México, MEX). El grosor de la capa de moco se cuantificó con Image J (<https://imagej.nih.gov/ij/>, NIH, USA), realizando 10 mediciones por sección, en 2 secciones por animal y 4 animales por grupo.

6.16. Determinación de lipopolisacáridos e IL-6 en suero

Para evaluar el impacto del consumo de semillas y hojas de frijol en la endotoxemia metabólica se midieron los niveles séricos de lipopolisacárido (LPS) (Abbexa LDT,

Cambridge, GBR) y de la citocina proinflamatoria interleucina-6 (IL-6) (Express Biotech International, Frederick, Maryland, USA) mediante ELISA. Se utilizaron kits específicos siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados se expresaron en ng/mL para LPS y pg/mL para IL-6.

6.17. Niveles de expresión de RNAm de citocinas en el hipocampo de ratones obesos inducidos con DAGF

La expresión de los niveles de RNAm de las citocinas proinflamatorias IL-1 e IL-6 y la citocina anti-inflamatoria IL-10 se determinaron por qPCR. La extracción de RNA total del hipocampo se realizó con el método Trizol-cloroformo. El cDNA se sintetizó con SuperScript II Reverse Transcriptasa (Invitrogen, Massachusetts, USA) usando el procedimiento de acuerdo con el fabricante. Posteriormente, el cDNA se amplificó por qPCR y se utilizó el termociclador (Step One System, Thermo-Scientific, Massachusetts, USA) con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial por 10 min a 95 °C, seguido de 40 ciclos de desnaturalización (30 s, 95 °C), alineación (30 s, 60 °C) y extensión (30 s, 72 °C). La expresión relativa de los genes en el hipocampo se determinó normalizando con GAPDH mediante el método de Delta Ct (threshold cycle) que se obtiene restando el Ct del gen constitutivo al Ct del gen de interés (Baek et al., 2018). Los pares de oligonucleótidos se emplearon de acuerdo con lo reportado en la literatura (Tabla 6).

Tabla 6. Oligonucleótidos para el análisis de qPCR de citocinas pro y anti-inflamatorias.

Gen	Secuencia
<i>IL-6</i>	F: TGATGCACTTGCAGAAAACAATCTGA
	R: AGCTATGGTACTCCAGAAGACCAGAGG
<i>IL-1β</i>	F: GCAACTGTTCCTGAACTCAACT
	R: ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT

<i>IL-10</i>	F: TTACCTGGTAGAAGTGATGCCC R: GACACCTTGGTCTTGGAGCTTA
<i>RPLO</i>	F: ATCGTCTTAAACCCCGCGT R: CTGCCGTTGTCAAACACCTG
<i>18s</i>	F: CGGAAAATAGCCTTCGCCATCAC R: ATCACTCGCTCCACCTCATCCT

Modificado de Zhang et al. (2019); Cui et al. (2021), Arreola-Galván (2025).

6.18. Detección de la proteína Iba-1 en CA1 del hipocampo por inmunohistoquímica

La presencia de la proteína Iba-1 se evaluó por inmunodetección. Para el análisis en el hipocampo, el tejido cerebral se cortó en secciones de 40 µm con ayuda de un criostato y se localizaron las regiones CA1, CA2, CA3 y giro dentado del hipocampo de acuerdo con un atlas de cerebro de ratón estándar según el Atlas de cerebro de ratón (Paxino y Franklin, 2003).

Las muestras se mantuvieron en tampón de fosfato salino con azida de sodio hasta su procesamiento. Los cortes de cerebro se incubaron con amortiguador de citratos durante 20 min a 80 °C, seguido de una incubación con el anticuerpo primario anti-Iba-1 a una concentración 1:300 (Invitrogen, Massachusetts, USA) a 4 °C durante la noche. Al día siguiente, los cortes se lavaron y se incubaron con anticuerpo secundario Anti-Goat IgG a una concentración 1:500 (Sigma-Aldrich, Darmstadt, DEU) y las secciones se contrastaron con diaminobencidina y glucosa oxidasa para revelar la inmunorreactividad a Iba-1 en hipocampo. Finalmente, se tomaron las imágenes con microscopio (Velab, VE-BC3PLUS, Ciudad de México, MEX) con el objetivo 10X para el conteo de células y 40X para el análisis morfológico de las células.

Para el análisis de la microglía se analizaron 6 cortes por animal de ambos hemisferios. Con la finalidad de determinar el número de las células gliares como

indicador de respuesta proinflamatoria en hipocampo se superpuso una cuadrícula con imágenes de las regiones CA1 de hipocampo, se contó el número de puntos de cruce de cuadrícula por celda individual y se calculó el número medio de puntos de cruce de cuadrícula por celda (Shi et al., 2020).

6.19. Análisis morfológico de las células de la microglía en CA1 del hipocampo

Para el análisis morfológico de las células de la microglía se optó por el método de análisis del esqueleto individual y del área/perímetro del cuerpo celular. Aunque este enfoque requiere una considerable inversión de tiempo y esfuerzo técnico, este análisis permite detectar con precisión los cambios morfológicos y evaluar las características distintivas de la reactividad morfológica de la microglía; así mismo, los resultados son más fácil de interpretar en comparación con otras técnicas de análisis (Green et al., 2024). Adicionalmente, se midieron el número y la longitud de ramificaciones y la circularidad de las células de la microglía en los tejidos de los diferentes grupos experimentales para evaluar la morfología celular. Como parte del análisis se consideró el índice de ramificaciones que se midió con la siguiente fórmula: número de ramificaciones/número de puntos terminales y el índice de circularidad que se midió con la fórmula: $4 \pi (\text{área}/\text{perímetro}^2)$.

Las células de la microglía se clasificaron morfológicamente de acuerdo con los diferentes tipos propuestos por Martínez et al. (2023) y el predominio morfológico se correlacionó con la abundancia relativa de citocinas en el hipocampo.

6.20. Estándares bioéticos, manejo de residuos biológicos y químicos

Los residuos biológicos y sustancias químicas generadas durante el proyecto y todos los procedimientos realizados se trataron a partir de lo establecido en las siguientes Normas: NOM-087-ECOL-SSA1-2002, donde se instruye sobre la manipulación de residuos peligrosos; para la identificación de residuos peligrosos se aplicó lo estipulado en la NOM-052-SEMARNAT-2005 que establece las características, el procedimiento de identificación, la clasificación y los listados de los residuos peligrosos biológico-infecciosos y la NMX-R-019-SCFI-2011 para una

adecuada clasificación de los productos químicos, uso adecuado de etiquetados y símbolos para la correcta manipulación y almacenamientos de las sustancias. Los desechos patológicos se almacenaron en un congelador por un periodo máximo de 15 días hasta su debido transporte e incineración, de acuerdo con el procedimiento establecido en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

En todo momento se mantuvo atención en los índices de bienestar de los animales y, cuando fue necesario, se aplicó muerte de acuerdo con lo indicado por la NOM-033-2014. Los estándares bioéticos nacionales de la NOM-062-Z00-1999 e internacionales de la norma internacional ARRIVE sirvieron de guía para el cuidado y bienestar de los animales.

6.21. Análisis estadístico

Para la validación del modelo de inducción de obesidad durante 14 semanas, se compararon únicamente los grupos DE y DAGF. Los resultados de todos los parámetros analizados se expresan como media \pm error estándar (EE) y se evaluaron mediante prueba t de Student. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con $*p \leq 0.05$ y $**p \leq 0.01$. Los resultados de la composición de la semilla y la hoja de frijol, la actividad de la lipasa pancreática, los cambios en la composición corporal, el consumo de agua y alimento, el colesterol y los triglicéridos séricos, el contenido de lípidos en heces, la acumulación de tejido adiposo, el grosor de capa de moco, la permeabilidad intestinal, los niveles de LPS e IL-6 en suero y la expresión relativa de citocinas se presentaron como la media \pm error estándar (EE). Para los datos que cumplieron con la normalidad y homocedasticidad se empleó el análisis de varianza o ANOVA para determinar diferencias significativas y se aplicó la prueba post hoc Tukey ($p \leq 0.05$). Mientras que, para los datos que no cumplieron con la normalidad y homocedasticidad se empleó el análisis por Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas y se aplicó la prueba post hoc Dunn ($p \leq 0.05$). Las pruebas conductuales se cuantificaron de acuerdo con el tiempo, se calcularon los resultados y se aplicaron los mismos análisis considerados para las demás determinaciones. El número de

células, las ramificaciones, la circularidad, el índice de ramificaciones e índice de circularidad de las células de la microglía se cuantificó mediante el análisis de imágenes con Image J (<http://imagej.nih.gov/ij/download.html>); posteriormente, se aplicaron los mismos análisis empleados en las demás determinaciones. Se empleó el programa estadístico GraphPad Prism 8 (1995-2022 GraphPad Software, Massachussets, USA) para los gráficos y SPSS Statistical Software versión 18.0 (IBM, New York, USA) para los análisis. Se utilizó la correlación de Pearson cuando los datos fueron paramétricos y la correlación de Spearman cuando los datos fueron no paramétricos para asociar el consumo de semilla y hoja de frijol con los cambios observados obtenidos en relación con la función intestinal y actividad de la microglía.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Composición bromatológica y fitoquímica de la semilla de frijol cocida y la hoja de frijol deshidratada

Los perfiles nutricionales y fitoquímicos de las semillas y las hojas de frijol *Phaseolus vulgaris* (variedad Eugenia) son fundamentales para comprender sus efectos fisiológicos cuando se incorporan en la dieta. En la Tabla 7 se muestra que las hojas y las semillas de frijol contienen fibra dietética total (27.2 % y 33.8 %, respectivamente), predominando la fibra soluble en las semillas (15.4 %) y la fibra insoluble en las hojas (25.1 %). La fibra dietética con distintas proporciones de sus fracciones soluble e insoluble y administrada durante diversos periodos, ha mostrado efectos beneficiosos en el contexto de dietas altas en grasa y con un aporte moderado de carbohidratos y proteínas. Esto ha sido consistentemente observado en estudios previos, tanto en modelos murinos como en humanos. Entre estos beneficios se reporta la reducción del peso corporal, la mejora del perfil lipídico, la disminución de la inflamación intestinal y la menor acumulación de tejido adiposo (Chen et al., 2016; Hadrévi et al., 2017; Li et al., 2016; Liu et al., 2022; Nie & Luo, 2021) . En modelos murinos y en humanos, la fibra soluble es fermentada por la microbiota intestinal, lo que estimula la producción de AGCC. Estos metabolitos contribuyen a mantener la integridad de la barrera intestinal, reducen la inflamación sistémica y aumentan la sensación de saciedad, en parte mediante su acción como agonistas de los receptores de ácidos grasos libres FFAR2 y FFAR3. Por otro lado, la fibra insoluble favorece la motilidad intestinal, promueve la saciedad y participa en la regulación de los niveles séricos de glucosa y lípidos. (Guan et al., 2021; Nie & Luo, 2021). Adicionalmente, las hojas y las semillas contienen concentraciones importantes de proteína cruda (26.9 % y 21.9 %, respectivamente). El contenido de proteínas presente en HF y SC las convierte en una fuente vegetal viable para el aporte de este macronutriente esencial (John et al., 2023). Por otro lado, se observó un bajo contenido de lípidos tanto las hojas (0.9 %) como en las semillas (1.6 %). Por ende, la reducida concentración de lípidos y el menor

contenido de carbohidratos en la hoja de frijol la convierte en una alternativa hipocalórica comparable a otros vegetales, lo que permite su incorporación en regímenes alimenticios balanceados (Mateos-Maces et al., 2020). Estudios previos respaldan estos hallazgos: el polvo de las hojas de frijol es similar con el perfil nutricional reportado por Martínez-Zavala et al. (2016) y Becerril-Campos et al. (2022); mientras que, las semillas cocidas presentaron similitudes con lo descrito por Chávez-Mendoza & Sánchez (2017).

Respecto al perfil fitoquímico, las hojas de frijol contienen 3.8 veces más compuestos fenólicos totales y flavonoides; así como, 5.5 veces más taninos condensados que las semillas de frijol. Estos resultados coincidieron con estudios previos como los de Becerril-Campos et al., (2022). Es relevante señalar que, en comparación con otras hojas comúnmente consumidas como quelites en México, tales como las hojas de amaranto (3.2 – 5.5 mg EAG/g de compuestos fenólicos totales y 0.98 – 4.1 mg EC/g de flavonoides) y las hojas de verdolaga (0.96 – 9.12 mg EAG/g de compuestos fenólicos totales y 0.13 – 1.44 mg ER/g de flavonoides totales), el contenido fenólico total y de flavonoides de las hojas de frijol se encontró dentro de un rango similar (4.75 – 5.01 mg/g de compuestos fenólicos y 6.73 – 9.01 mg/g de flavonoides). No obstante, en relación con las hojas de *Chenopodium album* (14.56 – 42 mg EAG/g de compuestos fenólicos totales y 1498 – 6373 mg ER/g de flavonoides), el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en la hoja de frijol fue considerablemente menor (Santiago-Sáenz et al., 2019).

En cuanto a las semillas, variedades como el frijol pinto destacan por su contenido de compuestos fenólicos totales (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017; Ganesan & Xu, 2017). Respecto al contenido de taninos, éstos son compuestos fenólicos ampliamente reportados en las semillas de *Phaseolus vulgaris*, particularmente en aquellas de variedades de color oscuro, las cuales presentan concentraciones significativamente más elevadas en comparación con las semillas de color claro (Bedoya et al., 2022). Cuando se ingieren en la dieta, los taninos son hidrolizados en compuestos como el ácido gálico, pirogálico y floroglucinol, los cuales actúan

como precursores de AGCC, principalmente acetato y butirato. Asimismo, las urolitinas representan metabolitos microbianos clave derivados del catabolismo de los taninos (Sallam et al., 2021). Tanto la urolitina A como la urolitina B han demostrado estar relacionadas con la prevención de la obesidad en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas, al reducir la acumulación de lípidos en el hígado y aumentar la excreción de lípidos y heces (Lee et al., 2019; Toney et al., 2021).

Tabla 7. Composición bromatológica y fitoquímica de las hojas y las semillas de frijol.

Determinación (%)	Hoja de frijol seca	Semilla de frijol cocida
Cenizas	12.58 ± 0.07	4.23 ± 0.15
Proteínas	26.91 ± 1.01	21.93 ± 0.41
Hidratos de carbono	41.03 ± 0.37	62.34 ± 0.26
Fibra cruda	10.83 ± 0.61	4.45 ± 0.26
Fibra soluble	2.10 ± 1.93	15.40 ± 0.06
Fibra insoluble	25.10 ± 1.60	18.40 ± 0.53
Fibra dietética	27.20 ± 1.60	33.80 ± 0.50
Lípidos	0.97 ± 0.60	1.61 ± 0.10
Compuestos fenólicos y saponinas (mg/ 100 g)		
Compuestos fenólicos totales	475.04 ± 25.47	125.00 ± 6.16
Flavonoides	243.53 ± 98.40	67.33 ± 22.83
Taninos condensados	1.28 ± 0.17	0.23 ± 0.03
Saponinas*	2.17 ± 0.35	ND

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar (n = 3). El contenido se determinó en base seca; ND = no determinado. * Tomado de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

Asimismo, en este estudio se reportó por primera vez la presencia de saponinas en las hojas de frijol (2.17 mg/100 g) (Ocampo-Anguiano et al., 2024). Esto es

relevante, ya que previamente se informó que el consumo de saponinas presentes en el frijol Adzuki se relacionó con la disminución en la acumulación del tejido adiposo y la mejora en el perfil lipídico vinculado con la menor actividad de la enzima lipasa pancreática *in vitro*, lo que se asoció con una menor absorción de los lípidos de la dieta en un estudio previo en ratones (Liu et al., 2017). En general, las hojas y las semillas de frijol representan alimentos de alto valor nutrimental y fitoquímico, contribuyendo positivamente al estado de salud de los consumidores.

7.2. Contenido de metabolitos de bajo peso molecular de la hoja de frijol deshidratada y la semilla de frijol cocida

En la Tabla 8 se presentan los principales metabolitos de bajo peso molecular que se identificaron en los extractos metanólicos y hexánicos de las hojas y las semillas de frijol. En las hojas destacaron los ácidos orgánicos como el málico (8.60 % del área) y tartárico (9.90 % del área). Un estudio previo en cerdos adultos demostró que la suplementación dietética con ácido málico en concentraciones del 0.5 al 2 % incrementó la capacidad antioxidante en el tejido muscular, así como la intensidad del color de la carne, contribuyendo a la mejora de parámetros asociados a su calidad (Yan et al., 2022). Por otro lado, en un estudio realizado en cerdas gestantes, la suplementación dietética con ácido málico en concentraciones del 0.5 al 2 % redujo los niveles de inflamación y estrés oxidativo, además de mejorar la sensibilidad a la insulina en la descendencia (Zhang et al., 2023). Por su parte, la ingesta de vino (una de las principales fuentes dietéticas de ácido tartárico) en mujeres de entre 60 y 80 años se asoció con un aumento en la excreción urinaria de ácido tartárico; así como, con una reducción en las concentraciones séricas de colesterol total y lipoproteínas de baja densidad, lo que sugiere un efecto cardiovascular beneficioso (Domínguez-López et al., 2021). También se detectaron en las hojas del frijol ácidos grasos como el esteárico (17 % del área), tetradecanoico (34.1 % del área) y octadecanoico (9.7 % del área). El ácido esteárico se sabe que promueve la ingesta alimenticia al reducir los niveles séricos de leptina (Zhu et al., 2023). El ácido tetradecanoico disminuye la hiperglucemia en

ratones con diabetes tipo 2 y reduce la inflamación cutánea en modelos animales de dermatitis inducida (Alonso-Takato et al., 2017; Alonso-Castro et al., 2022). Hasta la fecha no se habían documentado estudios similares que caracterizaran los metabolitos de bajo peso molecular en hojas de frijol, marcando este análisis como pionero.

Tabla 8. Metabolitos de bajo peso molecular de las HF y SC

Hoja de frijol		
Naturaleza	Compuesto	% Área
Ácido orgánico	Ácido málico	8.60
Ácido orgánico	Ácido tartárico	9.90
Ácido graso	Ácido esteárico	17.02
Ácido graso	Ácido tetradecanoico	34.06
Ácido graso	Ácido octadecanoico	9.70
Semilla de frijol		
Naturaleza	Compuesto	% Área
Aminoácido	Ácido L-aspártico	13.29
Ácido orgánico	Ácido pipecólico	16.37

Los datos expresan el porcentaje del total del área (n = 3). El contenido se determinó en base seca.

En las semillas de frijol se identificaron el ácido L-aspártico (13.19 % del área) y el ácido pipecólico (26.37 % del área). El ácido aspártico, aminoácido no esencial, es fundamental en plantas para la biosíntesis de aminoácidos, intermediarios de la glucólisis y hormonas relacionadas con el crecimiento y la defensa contra el estrés (Han et al., 2021). En humanos, el ácido L-aspártico desempeña un papel clave en la biosíntesis de proteínas y nucleótidos, la gluconeogénesis, el ciclo de la urea y el metabolismo de purinas (Han et al., 2021). Asimismo, el ácido L-aspártico participa en la neurotransmisión y, al ser liberado por las neuronas, se integra al ciclo glutamato-glutamina, favoreciendo la glucólisis y la detoxificación del amoníaco en los astrocitos (Holeček, 2023). En roedores, el ácido pipecólico ha demostrado efectos laxantes en el tratamiento del estreñimiento, evidenciados por un aumento

en el contenido fecal, una mayor tasa de tránsito intestinal y un incremento en los niveles séricos de serotonina en modelos de estreñimiento en ratones. Lo anterior se relacionó con mejoras en la diversidad intestinal (Li et al., 2023). El consumo habitual de metabolitos presentes en las HF y SC puede ejercer efectos benéficos sobre la salud humana.

7.3. Comprobación del modelo de obesidad con alteración de la integridad intestinal y deterioro cognitivo

7.3.1. Composición de la dieta DAGF para inducir obesidad, daño en la integridad intestinal y deterioro neuroconductual

La dieta DAGF fue diseñada para proporcionar un mayor contenido energético (4.7 Kcal/g) en comparación con la dieta DE (3.4 Kcal/g), como se muestra en la Tabla 9. Esta dieta presentó un perfil hipoproteico (14.28 % en comparación con. 28.54 % en la dieta DE) e hiperlipídico (44.8 % con respecto a 13.4 % en la dieta DE) con un 40 % de grasas saturadas de origen animal, con relación a la DE. Además, la dieta DAGF contenía una menor proporción de hidratos de carbono (40.9 % en comparación con 58.2 % en la dieta DE), de los cuales el 20 % de su aporte energético provino de la fructosa; mientras que, los carbohidratos en la DE por cada 100 g de alimento estuvieron compuestos por 31.9 % de almidón, 0.22 % de glucosa, 0.30 % de fructosa, 3.70 % de sacarosa y 2.01 % de lactosa (LabDiet, Orlando, USA).

El contenido de fibra también fue menor en la DAGF (3.1 %) en DAGF en comparación con la DE (5.1 %), como suele observarse en las dietas hipercalóricas, pero se mantuvo dentro del rango recomendado para ratones (3 – 6 %), según la NOM-062. El mayor contenido de lípidos incrementó la densidad energética de la dieta debido a que aportan 9 Kcal/g en comparación con las 4 Kcal/g de las proteínas y de los carbohidratos (Food and agriculture organization of the United Nations, 2004). Modelos de dietas hipercalóricas similares se han utilizado para inducir obesidad y síndrome metabólico en ratones. Por ejemplo, dietas que

contienen 45 % de lípidos y 10 % de fructosa produjeron obesidad en 14 semanas (Mulati et al., 2021); mientras que; aquellas dietas con un 60 % de Kcal provenientes de lípidos indujeron obesidad entre 8 –12 semanas (Neil et al., 2019; Monk et al., 2021).

Tabla 9. Composición nutrimental de las dietas DAGF y DE suministradas durante 14 semanas a los ratones macho C57BL/6 para inducir obesidad.

Dieta	Energía (kcal/ g)	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)	Fibra cruda (%)
DE	3.4	28.54	13.4	58.2	5.1
DAGF	4.7	14.28	44.8	40.9	3.1

7.3.2. El consumo de la dieta DAGF favoreció una alta ingesta energética y disminuyó el consumo de agua

En la Tabla 10 se presenta la información del consumo de alimento y agua que presentaron los animales en la fase de inducción de obesidad. En relación con el consumo de alimento en gramos, no se observaron diferencias significativas entre grupos. Nuestros datos no coinciden con lo reportado previamente, ya que los roedores en particular las ratas sometidas a dietas hipercalóricas reducen su consumo en gramos para regular la ingesta energética (Moreno-Fernández et al., 2018; Becerril-Campos et al., 2022). En condiciones fisiológicas, la regulación de la saciedad tras la ingesta de alimentos se inicia con la distensión gástrica, la cual activa señales aferentes hacia el sistema nervioso central. Paralelamente, la ghrelina modula la actividad del nervio vago y del hipotálamo, desempeñando un papel clave en la promoción de la saciedad (Woods & D'Alessio, 2008). Dado que los ratones consumieron cantidades similares de alimento, no se observaron alteraciones en estos mecanismos de saciedad. Sin embargo, la mayor densidad energética de la dieta DAGF resultó en un mayor aporte calórico en comparación con la dieta DE (Tabla 10). Esta diferencia se atribuye exclusivamente a la composición dietética, ya que las condiciones de mantenimiento, así como la

disponibilidad de alimento y agua, fueron experimentalmente similares entre los grupos. Además, los animales alimentados con la DAGF mostraron una menor ingesta de agua, en concordancia con estudios que reportan que dietas hiperlipídicas (60 % de grasa) reducen el consumo hídrico y aumentan el energético. Este efecto se ha asociado con una menor ingesta durante la fase oscura y con alteraciones en las señales de sed orofaríngeas (Volcko et al., 2020). En relación con la ingesta energética, se ha reportado que dietas con composiciones similares a la de este estudio como una dieta alta en grasa (48 %) y fructosa (33 %) administrada durante 10 semanas en ratones macho C57BL/6 promovieron el desarrollo de obesidad, caracterizado por un exceso de tejido adiposo, atribuible al aumento en el consumo energético (Martínez-Orozco et al., 2022). Por su parte, Becerril-Campos et al. (2022) informaron que en ratas macho Wistar alimentadas por 6 semanas con una DAGF [40 % lípidos, 40 % carbohidratos (provenientes en un 20 % de fructosa) y 20 % proteínas] también se indujo obesidad, observándose además una disminución en la ingesta hídrica. Aunque no se evidencia en esta investigación, estudios previos del grupo de trabajo han reportado que el consumo de una dieta DAGF durante 6 semanas en ratas Wistar redujo significativamente la frecuencia de defecación en comparación con el grupo alimentado con dieta estándar (Becerril-Campos et al., 2022).

Tabla 10. Consumo de alimento, energía y agua en ratones C57BL/6 alimentados con dieta DE y DAGF durante la fase de inducción de obesidad

	DE			DAGF		
Consumo de alimento (g/día)	5.13	±	0.82	4.95	±	0.75
Consumo energético (kcal/día)	16.91	±	1.35	23.95	±	1.50*
Ingesta de agua (mL/día)	6.36	±	1.60	3.94	±	0.83**

Los valores se expresan como la media ± EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. *p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y fructosa. Tamaño de grupo en DE (n = 7) y DAGF (n = 8).

7.3.3. El consumo de la DAGF durante la fase de inducción promovió la ganancia de peso corporal en ratones C57BL/6

Uno de los parámetros que se utilizaron para evaluar el desarrollo de obesidad fue la diferencia de peso corporal entre los grupos. Los animales del grupo DAGF mostraron un peso significativamente mayor que los del grupo DE desde la semana 2 hasta la 14 (Figura 10), con un incremento final del 26.6 % debido al incremento en la ingesta energética derivado de la DAGF. Aunque ambos grupos iniciaron con un peso corporal similar, el grupo alimentado con la dieta alta DAGF desarrolló obesidad con base en el aumento de peso (Figura 8). Lo anterior ya ha sido reportado en la literatura con dietas hipercalóricas similares (Martínez-Orozco et al., 2022; Shi et al., 2020). Estos estudios sobre dietas altas en grasa (42 – 60 %) han mostrado que dependiendo de la fuente lipídica y la duración de la exposición a la grasa (3 a 43 semanas) se generan diferencias de peso superiores al 10 % en promedio (Buettner et al., 2007) en los animales. Martínez Orozco et al. (2022) reportaron un incremento de peso mayor al 50 % en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa (48 %) y fructosa (33 %) durante 10 semanas; mientras que, dietas exclusivamente altas en fructosa (33 %) no indujeron diferencias significativas en peso final (Kim et al., 2019; Horne et., 2020). Estos resultados sugieren que la ganancia de peso y las alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad dependen del tipo y cantidad de lípidos y su combinación con azúcares simples, así como de la duración del experimento y la fisiología propia de los animales. La combinación de una dieta alta en grasa y fructosa en animales, semejante a la dieta occidental en humanos, demostró ser un modelo efectivo para inducir obesidad.

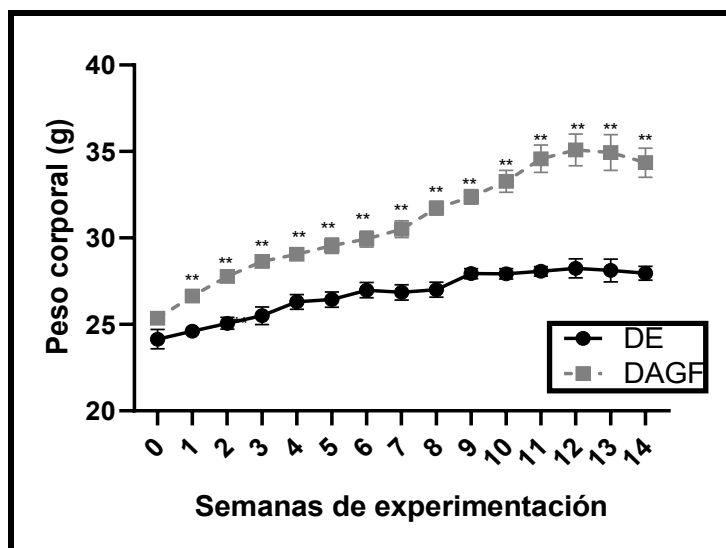


Figura 10. Efecto de la DAGF en la ganancia de peso corporal por semana de ratones macho C57BL/6 y DE durante la fase de inducción de la obesidad. Los valores se expresan como la media \pm EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. Tamaño de grupo en DE (n = 7) y DAGF (n = 8). * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa.

7.3.4. Aumento en los parámetros de composición corporal y concentración sérica de triglicéridos en un modelo de obesidad inducido con DAGF

Los parámetros de composición corporal y concentración sérica de triglicéridos se evaluaron como marcadores de obesidad. La circunferencia abdominal (CA) y la circunferencia torácica (TC) aumentaron un 36.2 % y 31.6 %, respectivamente, en los animales del grupo DAGF en comparación con los del grupo DE. Además, el índice CA/TC fue 12.9 % mayor en el grupo DAGF (Tabla 11) en comparación con el del grupo con DE. Este incremento indica acumulación de tejido adiposo, siendo la circunferencia abdominal un predictor de morbilidad en humanos (Shamah-Levy et al., 2020); mientras que, la acumulación de tejido adiposo en roedores se utiliza como marcador de acumulación de tejido adiposo visceral (Moreno-Fernández et al., 2018; Horne et al., 2020; Becerril-Campos et al., 2022).

El consumo de la DAGF incrementó el IMC (0.38 g/cm^2 en comparación con 0.33 g/cm^2 en DE); así como, el índice de Lee aumentó significativamente (704 en comparación con 645 g/cm^2 en DE) en comparación con la dieta DE (Tabla 11). El

índice de Lee se reconoce como indicador de obesidad y riesgo cardiovascular en humanos y roedores (Lei et al., 2007). Aunque el IMC en roedores carece de tablas de clasificación como en humanos, el incremento significativo es relevante (Rahman et al., 2016; Moreno-Fernández et al., 2018).

Es importante señalar que el análisis por resonancia magnética evidenció un aumento significativo del volumen de la grasa visceral ($3,677 \pm 862 \text{ mm}^3$; 6.7 veces mayor) y subcutánea ($1,376 \pm 329 \text{ mm}^3$; 4.4 veces mayor) en el grupo DAGF comparado con el grupo DE (Figura 11). Este incremento en tejido adiposo, típico de la obesidad, es consecuencia del desbalance energético que favorece el almacenamiento de los triglicéridos en los adipocitos afectando su número y tamaño (León-Pedroza et al., 2015). Estos resultados concuerdan con estudios que reportan un aumento predominante de grasa visceral en modelos murinos alimentados con dietas altas en grasa y fructosa en proporciones similares a las de este estudio (Moreno-Fernández et al., 2018; Horne et al., 2020; Becerril-Campos et al., 2022). En humanos, el exceso de la grasa visceral se asocia con diversas enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes y la hipertensión (Horne et al., 2020a).

El grupo DAGF también presentó una concentración sérica de triglicéridos 1.75 veces mayor que el grupo DE, con una media de 140 mg/dL, indicativa de trigliceridemia (Tabla 11). Esta diferencia podría atribuirse al efecto sinérgico de la grasa y la fructosa que promueven la síntesis lipídica (Horne et al., 2020; Escobar-Ortiz et al., 2022). El consumo excesivo de fructosa promueve el incremento del tejido adiposo al estimular tanto la ingesta calórica como la lipogénesis de *novo*. Asimismo, la combinación de grasa y fructosa potencia alteraciones metabólicas en mayor medida que dietas exclusivamente altas en grasa (Lozano et al., 2016). Estudios previos en ratones C57BL/6 macho y en ratas Wistar macho mostraron que el consumo de dietas altas en grasa (23 y 45 %) y carbohidratos (43 y 17 %) respectivamente, incrementan el peso corporal, la circunferencia abdominal y los triglicéridos séricos (Rahman et al., 2016; Moreno-Fernández et al., 2018), lo cual coincidió con los resultados observados en este estudio. Estos resultados validan

que la dieta DAGF, similar a la dieta occidental en humanos, genera complicaciones metabólicas características de la obesidad, incluyendo alteraciones en composición corporal y triglicéridos séricos.

Tabla 11. Efecto de la dieta DAGF sobre la composición corporal y la concentración de triglicéridos en la fase de inducción de la obesidad.

	DE			DAGF		
Peso inicial (g)	24.14	±	1.11	25.36	±	0.70
Peso corporal final (g)	27.95	±	1.06	34.35	±	2.38**
Circunferencia abdominal (cm)	7.50	±	0.45	10.40	±	0.43**
Circunferencia torácica (cm)	7.12	±	0.42	9.20	±	0.73*
Índice CA/CT	1.05	±	0.03	1.15	±	0.07*
IMC (g/cm ²)	0.28	±	0.02	0.33	±	0.01
Índice de Lee	645	±	12.48	704	±	2.45**
Concentración sérica de triglicéridos (mg/dL)	83.93	±	1.96	140.98	±	9.70**

Los valores se expresan como la media ± EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. Tamaño de grupo en DE (n = 7) y DAGF (n = 8). * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y fructosa; IMC, índice de masa corporal; CA/CT, circunferencia abdominal/circunferencia torácica.

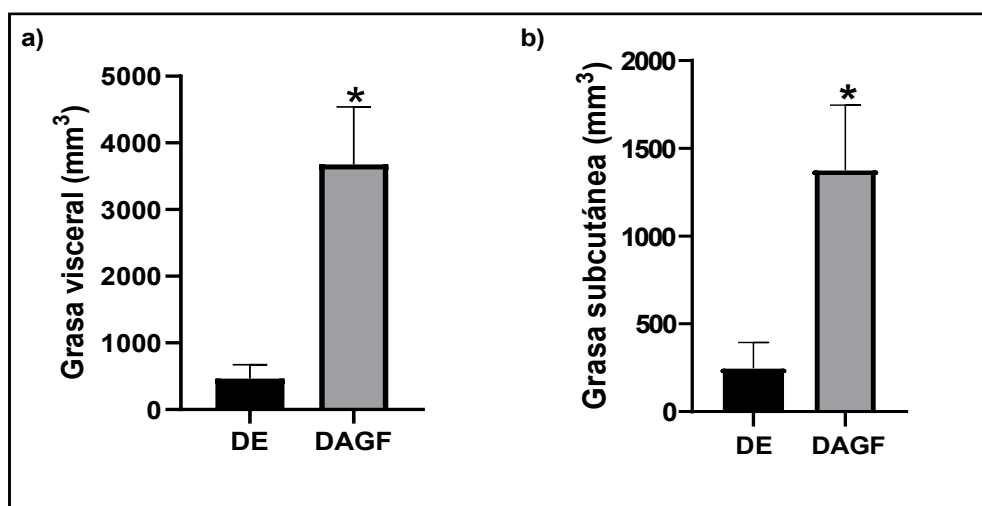


Figura 11. Determinación del efecto del consumo de la dieta DAGF en la acumulación de tejido adiposo a) visceral y b) subcutáneo en ratones C57/BL/6 durante el periodo de inducción de la obesidad. Los valores se expresan como la media ± EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. * p ≤ 0.05. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en DE (n = 3) y DAGF (n = 5).

7.3.5. Incremento en la permeabilidad intestinal en un modelo de obesidad inducido con DAGF

La permeabilidad epitelial intestinal inducida por la dieta DAGF se evaluó mediante el ensayo de permeabilidad FITC-dextrán *in vivo*. Las concentraciones séricas de FITC-dextrán fueron 2 veces mayores en los animales con dieta DAGF (1.87 ± 0.13 $\mu\text{g/mL}$) en comparación con los del grupo DE (0.90 ± 0.01 $\mu\text{g/mL}$) (Figura 12), lo que indica disrupción de la barrera intestinal, permitiendo el paso del marcador desde el intestino hacia la circulación. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Rahman et al. (2016), quienes observaron un incremento de cinco veces en la concentración sérica de FITC-dextrán en ratones alimentados durante ocho semanas con una dieta alta en grasa y colesterol compuesta por 23 % de lípidos, 43 % de carbohidratos, 20 % de proteínas y 0.2 % de colesterol, en comparación con el grupo control. De manera similar, la administración de una dieta elevada en fructosa [compuesta por 16.9 % de calorías provenientes de grasa, 18.1 % de proteínas y 65 % de carbohidratos (de los cuales 85 % correspondía a fructosa y 15 % a sacarosa)] durante un periodo de 12 semanas, indujo disbiosis y un aumento en la permeabilidad intestinal, aún en ausencia de cambios en el peso corporal, tal como se observó en ratones C57BL/6 (Do et al., 2018).

El aumento de la permeabilidad intestinal inducido por dietas hipercalóricas ricas en grasas (16–60 %) y azúcares refinados (hasta 65 %) se ha atribuido principalmente a un estado de disbiosis intestinal (Farré et al., 2020; Bian et al., 2022). Por ejemplo, el consumo de una dieta en la que el 35 % del contenido calórico provenía de fructosa, complementada con una dieta estándar para roedores (XT002, Jiangsu Synergy Pharmaceutical Biological Engineering Co., Ltd., Nanjing, CHN), administrada durante 8 semanas, se asoció con disbiosis intestinal, alteraciones en el hipocampo evidenciados por una mayor expresión relativa de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF- α e IL-6) en ratones macho C57BL/6N (Li et al., 2019). De igual forma, la DAGF empleada en este estudio provocó alteraciones en la integridad de la barrera intestinal, lo que se tradujo en un aumento significativo de

la permeabilidad intestinal. Como se detallará en secciones posteriores, este efecto se correlacionó positivamente con elevadas concentraciones séricas de LPS e IL-6.

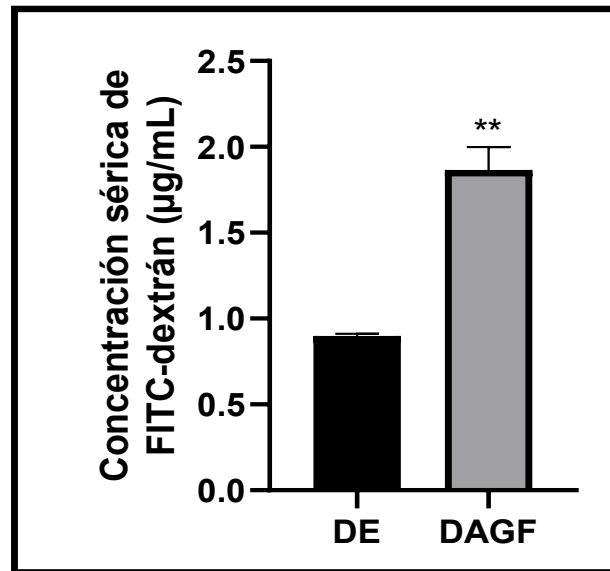


Figura 12. La DAGF induce un aumento en la permeabilidad intestinal en ratones macho C57BL/6 durante el periodo de inducción de la obesidad. Los valores se expresan como la media \pm EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. Tamaño de muestra en ambos grupos = 6. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y fructosa.

7.3.6. El consumo de la dieta DAGF disminuyó el peso relativo de los órganos

El peso relativo de los órganos se evaluó para determinar el impacto de la DAGF. Se observó que los pesos del hígado (5.12 ± 0.30 %), intestino delgado (5.16 ± 0.16 %) y colon (1.32 ± 0.32 %) fueron menores en los animales del grupo DAGF en comparación con los del grupo DE (6.16 ± 0.18 , 7.68 ± 0.58 y 1.83 ± 0.22 %, respectivamente) (Tabla 12). Estos resultados se atribuyeron al aumento en el tejido adiposo visceral y subcutáneo (Figura 9) en los animales con dieta DAGF, lo que contribuye a una mayor proporción del peso corporal total que reduce el peso relativo de los órganos evaluados. Rahman et al. (2016) observaron que una dieta en ratones alimentados durante ocho semanas con una dieta alta en grasa y colesterol (23 % de lípidos, 43 % de carbohidratos, 20 % de proteínas y 0.2 % de colesterol), no generó cambios significativos en el peso relativo del hígado en

comparación con el grupo control, aunque sí provocó esteatohepatitis no alcohólica. Aunque el peso relativo del hígado en los animales alimentados con DAGF fue menor que en aquellos con DE, estudios previos del grupo de trabajo confirmaron el desarrollo de enfermedad del hígado graso asociado a la disfunción metabólica como consecuencia del consumo de DAGF (Victoria-Ruiz, 2024; Galván-Arreola, 2025). En el presente estudio, el incremento del tejido adiposo visceral y subcutáneo (Figura 9), característico del fenotipo obeso inducido por la dieta DAGF, probablemente contribuyó a una redistribución del peso corporal, afectando el peso relativo de los órganos internos y evidenciando el impacto metabólico de este modelo dietético.

Tabla 12. Relación del peso de órganos/peso corporal total de los ratones C57BL/6 alimentados con dieta DAGF durante 14 semanas.

	DE			DAGF		
Peso del hígado/peso corporal (%)	6.16	±	0.18	5.12	±	0.23**
Peso del intestino delgado/peso corporal (%)	7.68	±	0.58	5.16	±	0.16**
Longitud del intestino delgado (cm)	44.00	±	2.92	36.62	±	1.58*
Peso del colon/peso corporal (%)	1.83	±	0.22	1.32	±	0.32
Longitud del colon (cm)	8.86	±	0.77	6.97	±	0.63

Los valores se expresan como la media ± EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en DE ($n = 7$) y DAGF ($n = 8$).

7.3.7. Desarrollo de inflamación intestinal en el modelo de obesidad inducido con DAGF

La longitud intestinal, indicador de la integridad intestinal, fue significativamente menor en los animales del grupo DAGF (intestino delgado: 36.62 ± 1.58 cm, colon: 6.97 ± 0.63 cm) en comparación con el grupo DE (intestino delgado: 44.00 ± 2.92 cm, colon: 8.86 ± 0.77 cm) (Tabla 12). Esta reducción se ha asociado con un aumento en la inflamación mediada por citocinas como IL-6 e IL-1 β (Mayangsari & Suzuki, 2018; Shi et al., 2020). Si bien el acortamiento del colon no causa

inflamación por sí mismo, sí refleja un fenotipo inflamatorio evidente caracterizado por edema, fibrosis, pérdida de arquitectura y daño epitelial, común en colitis y enfermedad de intestino irritable. En modelos animales, este parámetro cuantificable se utiliza rutinariamente para evaluar la gravedad del proceso inflamatorio (Xue et al., 2023). A partir del modelo de inducción de obesidad, se constató una alteración en la integridad de la barrera intestinal, evidenciada por un aumento en la concentración sérica de FITC-dextrán y una reducción en la longitud del intestino, hallazgos que se asocian con procesos inflamatorios. En secciones posteriores se abordarán los efectos de la intervención dietética mediante la inclusión de HF y SCF; así como, la transición hacia una dieta saludable como estrategia terapéutica para mitigar las complicaciones inducidas por una DAGF. Estos hallazgos se complementan con análisis adicionales orientados a comprender los efectos del consumo prolongado de la DAGF durante un periodo de 26 semanas.

7.3.8. El consumo de la dieta DAGF disminuyó la actividad del hipocampo relacionada a la pérdida de la memoria a corto plazo y la cognición

Las pruebas conductuales empleadas en este estudio estuvieron orientadas a evaluar el deterioro de la memoria a corto plazo, el aprendizaje espacial, la memoria de trabajo, la toma de decisiones y el compromiso cognitivo global, con un enfoque específico en el daño funcional asociado al hipocampo (Deacon, 2012; Shoji et al., 2012). En la prueba del laberinto en T, el grupo DAGF mostró un menor porcentaje de alternancia ($59.7 \pm 5.1 \%$) en comparación con el grupo DE ($87.3 \pm 4.4 \%$) (Figura 13 a), lo que indica daño en el hipocampo, ya que una alternancia menor al 60 % está asociada con alteraciones en la memoria espacial dependiente del hipocampo (Deacon & Rawlins, 2006). Se ha demostrado que ratones con lesiones en el hipocampo muestran alteraciones en la función espacial (Deacon & Rawlins, 2005). Además, un estudio previo reportó una disminución en el porcentaje de alternancia espontánea en ratas Wistar macho con obesidad inducida mediante una dieta alta en grasa (45 % del contenido calórico) durante un periodo de 9 semanas. Este deterioro cognitivo se asoció con un aumento en la expresión de citocinas

proinflamatorias, como IL-6 y TNF- α , en los núcleos del hipotálamo y la amígdala (Noronha et al., 2019). En conjunto, los resultados del presente estudio sugieren un compromiso funcional del hipocampo inducido por el consumo sostenido de la dieta DAGF, reflejado en déficits en funciones cognitivas clave como la memoria, el aprendizaje espacial y la toma de decisiones (Deacon, 2012; Shoji et al., 2012). Estos hallazgos refuerzan la relevancia de evaluar el impacto de patrones dietéticos obesogénicos sobre la función cerebral y respaldan el uso de pruebas conductuales como herramientas sensibles para detectar disfunción neurocognitiva en modelos preclínicos.

En la prueba de nidos, el grupo DAGF tuvo una respuesta 3 veces menor en comparación con la respuesta del grupo DE (Figura 13 b). Estudios previos sobre la construcción de nidos sugieren que el daño quirúrgico en el hipocampo o el consumo prolongado de una dieta alta en grasas (60 %) y baja en fibra (< 5 %) reducen significativamente la puntuación en esta conducta (Deacon, 2012; Shi et al., 2020), lo que coincidió con nuestros datos. Para complementar estos hallazgos, se analizó la expresión relativa de citocinas proinflamatorias en la región CA1 del hipocampo, cuyos resultados se presentan en la fase de tratamiento propuesta en esta investigación.

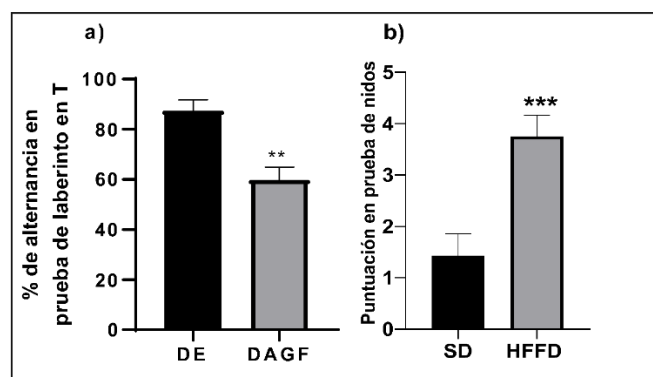


Figura 13. El consumo de la DAGF en la fase de inducción de la obesidad disminuye la respuesta en las pruebas conductuales en ratones macho C57BL/6: a) laberinto en T y b) nidos Los valores se expresan como la media \pm EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos DAGF y DE. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$. Abreviaturas: DE, grupo con dieta estándar; DAGF, grupo con dieta alta en grasa y fructosa. Tamaño de grupo en DE ($n = 7$) y DAGF ($n = 8$).

7.3.9. El consumo de la dieta DAGF incrementó la expresión de la proteína Iba-1 en el hipocampo

Las pruebas conductuales, junto con el análisis inmunohistoquímico de Iba-1 permitieron evaluar los efectos de la DAGF sobre la funcionalidad del hipocampo. Durante el periodo de inducción de obesidad, el consumo de la DAGF evidenció un incremento aparente en la expresión de Iba-1 en CA1 del hipocampo, en comparación con los animales alimentados con la dieta estándar (DE) (Figura 14).

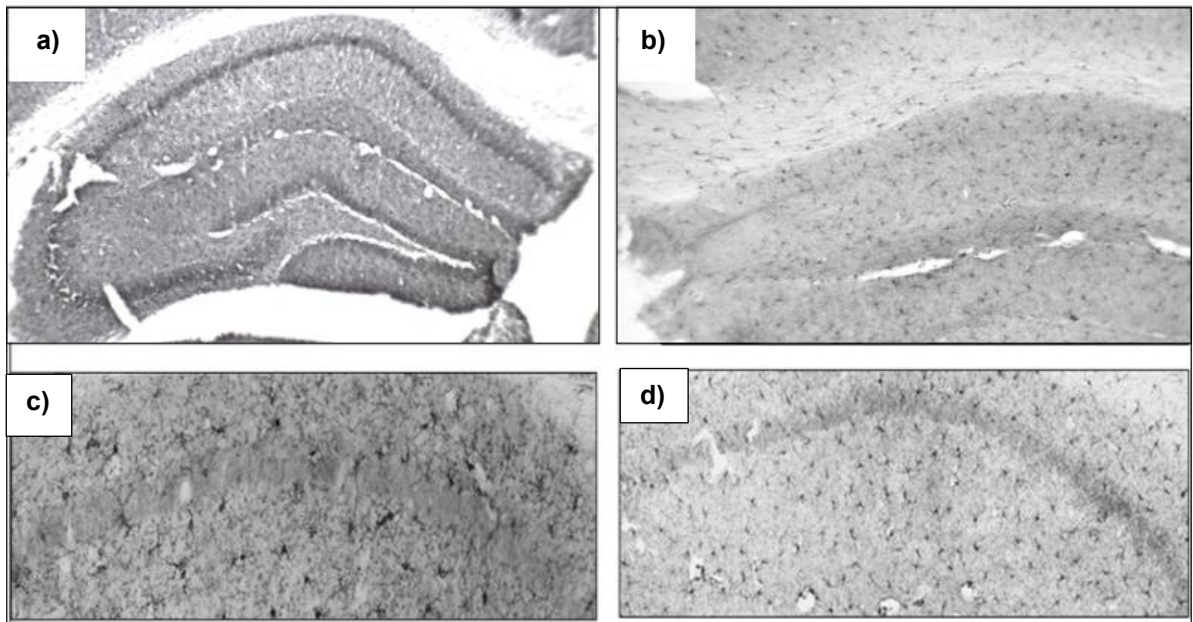


Figura 14. Evaluación del efecto de la dieta DAGF durante la fase de inducción del modelo de obesidad sobre la expresión de Iba-1 en CA1 del hipocampo de ratones machos C57BL/6. a) Micrografía del hemisferio izquierdo del hipocampo de un ratón del grupo DAGF; b) Micrografía del hemisferio derecho del hipocampo de un ratón del grupo DE; c) Micrografía de células microgliales en la región CA1 del hipocampo de un ratón del grupo DAGF; d) Micrografía de células microgliales en la región CA1 del hipocampo de un ratón del grupo DE. Las imágenes a y b fueron obtenidas con un objetivo de 4X, mientras que las imágenes c y d se capturaron con un objetivo de 40X.

Este aumento en la expresión de Iba-1 podría estar relacionado con el incremento de estímulos proinflamatorios como el LPS, que son reconocidos por las células de la microglía y promueven la neuroinflamación (Agustí et al., 2018). Los resultados coincidieron con estudios previos en ratones macho que reportaron una mayor activación de la microglía proinflamatoria en el hipocampo de modelos murinos expuestos a dietas ricas en grasa (60 % del total de calorías) (Shi et al., 2020) o

fructosa (35 % del total de calorías) (Li et al., 2019). En dichos estudios, la morfología microglial se caracterizó por una estructura celular redondeada con reducción en el número de ramificaciones, acompañada de un aumento en la expresión relativa de citocinas proinflamatorias.

La administración de la DAGF durante 14 semanas en ratones macho C57BL/6 indujo un fenotipo obesogénico, evidenciado por el aumento significativo del peso corporal, el índice de Lee, la circunferencia abdominal, el volumen del tejido adiposo y la concentración sérica de triglicéridos. Asimismo, se observó un incremento en la permeabilidad intestinal, reflejado por niveles elevados de FITC-dextrán en suero, junto con una reducción en la longitud intestinal, hallazgos que se asocian con un estado inflamatorio intestinal.

Finalmente, el aumento en la expresión de Iba-1 en el hipocampo, en conjunto con el deterioro en la memoria espacial y la cognición general evaluadas mediante pruebas conductuales (laberinto en T y de construcción de nidos), sugiere una activación microglial y un entorno neuroinflamatorio inducido por el consumo de la dieta DAGF.

Con el objetivo de evaluar de forma terapéutica el efecto del consumo de SC y HF, así como el impacto del cambio hacia una dieta saludable sobre las alteraciones metabólicas, el deterioro de la integridad intestinal y la actividad proinflamatoria en el hipocampo inducidos por una DAGF, se diseñaron regímenes alimenticios basados en los patrones actuales y las recomendaciones de ingesta de SC en la población mexicana. Asimismo, se consideró el consumo de HF en función de la ingesta sugerida de vegetales dentro de una dieta saludable y se simuló el retorno a un patrón dietético saludable como tratamiento. Esta estrategia permitió evaluar la eficacia de dichas modificaciones dietéticas y fomentar su reincorporación como parte de la alimentación habitual. A continuación, se presentan la composición nutrimental de las dietas utilizadas en este estudio.

7.4. Diseño de dietas con la inclusión de las SC y las HF para su empleo como tratamiento en ratones con obesidad por la DAGF

El diseño de los tratamientos dietéticos incluyó la SC y la HF en concentraciones específicas, como se detalla en la Tabla 13. El 10 % de HF fue elegido basándose en un estudio de Becerril-Campos y colaboradores (2022), que observó una reducción en la ganancia de peso y en la acumulación de tejido adiposo en ratas alimentadas con dieta DAGF más 10 % de HF durante 6 semanas. Para este diseño se consideró que la ingesta promedio diaria de alimento para ratón es de 4.5 g, lo que equivale a la ingesta diaria recomendada de 400 g al día de vegetales según la OMS al extrapolar el 10 % de HF.

Tabla 13. Composición de las dietas suplementadas con la SC y la HF que se utilizaron como tratamiento de la obesidad inducida en ratones C57BL/6.

Grupo	Energía (kcal/g)	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Fibra cruda (g/100 g)	Fibra soluble (g/100 g)	Fibra insoluble (g/100 g)	Lípidos (%)
DE	3.4	28.54	58.15	5.10	8.60	28.32	13.43
DAGF	4.7	14.28	40.90	3.07	4.03	13.28	44.81
DAGF + 10 %HF	4.6	13.79	41.20	3.16	4.47	16.53	45.02
DAGF + 5 %SC	4.8	14.60	41.07	3.57	3.78	11.93	44.32
DAGF + 15 %SC	4.8	14.94	41.21	3.27	4.05	11.76	43.85

Los valores son a partir del etiquetado nutrimental de cada ingrediente, así como los resultados obtenidos del análisis bromatológico de la semilla y la hoja de frijol. DE = dieta estándar, DAGF = dieta alta en grasa y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

En cuanto a la SC, los porcentajes utilizados se basaron en el consumo promedio de frijol en México, que es de 11 kg anuales, lo que equivale a 27 g/día o aproximadamente el 5 % de la dieta de ratón. Además, la ingesta diaria de 1 taza de frijol cocido representa el 15 % de semilla en la dieta y se ha reportado que la

ingesta de frijoles cocidos reduce las concentraciones séricas de glucosa y favorece la pérdida de peso, especialmente en personas con obesidad o diabetes (Jenkins et al., 2012; Thompson et al., 2012). Las dietas experimentales, con y sin suplementación, fueron formuladas de manera que las diferencias en su contenido energético y nutrimental no superó el 10 %, con el fin de asegurar una consistencia en el aporte nutricional entre tratamientos. La excepción fue la comparación entre la DAGF y la DE, donde se observó una diferencia sustancial: la DE aportó 71.2 % menos calorías, el doble de proteína y 3.3 veces menos lípidos que la DAGF.

7.5. El tratamiento con SDP disminuyó el consumo energético

Los grupos DAGF, DAGF + 10 % HF, DAGF + 5 % SC y DAGF + 15 % SC presentaron un aumento en la ingesta energética de 89.6 %, 65.5 %, 61.8 % y 63.3 %, respectivamente, frente al grupo DE. Como era previsible, el cambio a una dieta saludable, con menor densidad energética, redujo el consumo de energía en 32 % respecto al grupo DAGF (Tabla 14).

Tabla 14. Efecto de la adición de las hojas, las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en el consumo de alimento y agua en ratones con obesidad inducida.

Grupo	Consumo de alimento (g/día)	Consumo energético (Kcal/día)	Consumo de agua (mL/día)
DE	3.79 ± 0.40 ^{a*}	12.89 ± 1.50 ^{a*}	12.89 ± 1.50 ^{a*}
DAGF	5.13 ± 0.80 ^{a*}	23.48 ± 3.80 ^{b*}	5.61 ± 0.50 ^{a*}
DAGF + 10 % HF	4.33 ± 0.46 ^{a*}	21.49 ± 2.33 ^{b*}	4.54 ± 0.59 ^{a*}
DAGF + 5 % SC	4.50 ± 0.63 ^a	20.62 ± 2.67 ^b	5.07 ± 1.13 ^a
DAGF + 15 % SC	5.07 ± 1.13 ^a	20.80 ± 2.70 ^b	4.90 ± 0.70 ^a
DEP	5.09 ± 0.50 ^{a*}	17.11 ± 1.50 ^{a*}	6.10 ± 0.80 ^{a*}

Los datos se presentan como valores promedio ± EE (n = 6 - 12), analizados por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0.05). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasa y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad, * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de (Ocampo-Anguiano et al., 2024).

Respecto a la ingesta de agua, no hubo diferencia significativa entre grupos. El mayor aporte energético se atribuye a la distribución de macronutrientes en las dietas, en particular al elevado contenido de lípidos (40 %) en la DAGF, cuyo valor energético (9 kcal/g) supera al de carbohidratos y proteínas (4 kcal/g), lo que incrementó la densidad calórica total (Luis Román et al., 2012). Este efecto sobre el aumento en la ingesta energética concuerda con lo reportado en estudios previos (Martínez Orozco et al., 2020; Messing & Brenner, 2020; Shi et al., 2020). Los efectos del consumo de frijol no se relacionan con una disminución en la ingesta energética sino con los compuestos bioactivos presentes en las HF y SC. En contraste, los beneficios del cambio a una dieta saludable pueden atribuirse a una restricción energética.

7.6. Efecto terapéutico del consumo de las HF, SC y la DEP sobre la composición corporal.

7.6.1. La ingesta de las HF al 10% disminuye el peso corporal

Entre los parámetros de composición corporal destacan el peso corporal y las circunferencias abdominal y torácica, que se asocian con el volumen del tejido adiposo (Tabla 15). El grupo alimentado con DAGF mostró un incremento del 8.42 % en el peso corporal en comparación con el grupo DE en las últimas 12 semanas del experimento; no obstante, no se observaron diferencias significativas en las circunferencias abdominal y torácica entre ambos grupos. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas en estas variables entre los grupos DAGF, DAGF + 5 % SC, DAGF + 15 % SC y DEP (Tabla 14). Cabe destacar que el grupo DAGF + 10 % HF fue el único que presentó una menor ganancia de peso corporal respecto al grupo DAGF, alcanzando valores comparables a los del grupo DE.

La composición corporal, específicamente en lo que respecta al volumen del tejido adiposo, no depende exclusivamente del peso corporal. Si bien este último se utiliza comúnmente como indicador debido a su asociación con un mayor volumen de tejido adiposo, también existen componentes corporales libres de grasa que pueden

contribuir al incremento del peso sin implicar un aumento en la masa adiposa (Siedler et al., 2023). Estudios previos que evaluaron el efecto terapéutico del consumo de semillas de frijol de distintas variedades, durante periodos comparables al del presente estudio, no reportaron un menor peso corporal en comparación con los grupos alimentados con dieta hipercalórica. No obstante, sí se observaron efectos benéficos en otras complicaciones asociadas con la obesidad, tales como la disminución de la inflamación sistémica y una mayor diversidad en la microbiota intestinal (Monk et al., 2021; Zhao et al., 2021). Cabe destacar que, en modelos murinos, estudios que administraron semillas cocidas u hojas de frijol como intervención preventiva frente a la obesidad han reportado un menor peso corporal, incluso bajo condiciones de alimentación con dietas hipercalóricas (Ramírez Venegas., 2021; Becerril-Campos et al., 2022; Liu et al., 2022). La suplementación con 10 % HF disminuyó la ganancia del peso corporal, postulándolo como un posible coadyuvante en el tratamiento para combatir la ganancia de peso por el consumo energético excesivo.

Tabla 15. Efecto del consumo de las hojas, las semillas de frijol y el cambio a dieta saludables en la zoometría de ratones con obesidad.

Grupo	Peso corporal (g)	Circunferencia abdominal(cm)	Circunferencia torácica (cm)
DE	27.46 ± 0.65 ^{a*}	7.79 ± 0.29 ^{a*}	7.36 ± 0.26 ^{a*}
DAGF	30.50 ± 0.52 ^{b*}	8.33 ± 0.28 ^{a*}	8.17 ± 0.25 ^{a*}
DAGF + 10 %HF	28.09 ± 0.84 ^{a*}	8.50 ± 0.39 ^{a*}	8.50 ± 0.55 ^{a*}
DAGF + 5 %SC	30.88 ± 0.83 ^b	8.33 ± 0.27 ^a	8.16 ± 0.24 ^a
DAGF + 15 %SC	29.94 ± 0.49 ^{ab}	8.50 ± 0.38 ^a	8.50 ± 0.55 ^a
DEP	29.21 ± 0.55 ^{ab*}	7.83 ± 0.17 ^{a*}	7.33 ± 0.33 ^{a*}

Los datos se presentan como valores promedio ± EE (n= 6 - 12), analizados por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0.05). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. *Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.6.2. Los tratamientos con 10 % HF y 15 % SC disminuyen la acumulación de TAV y TASC, normalizándolos con el grupo DE.

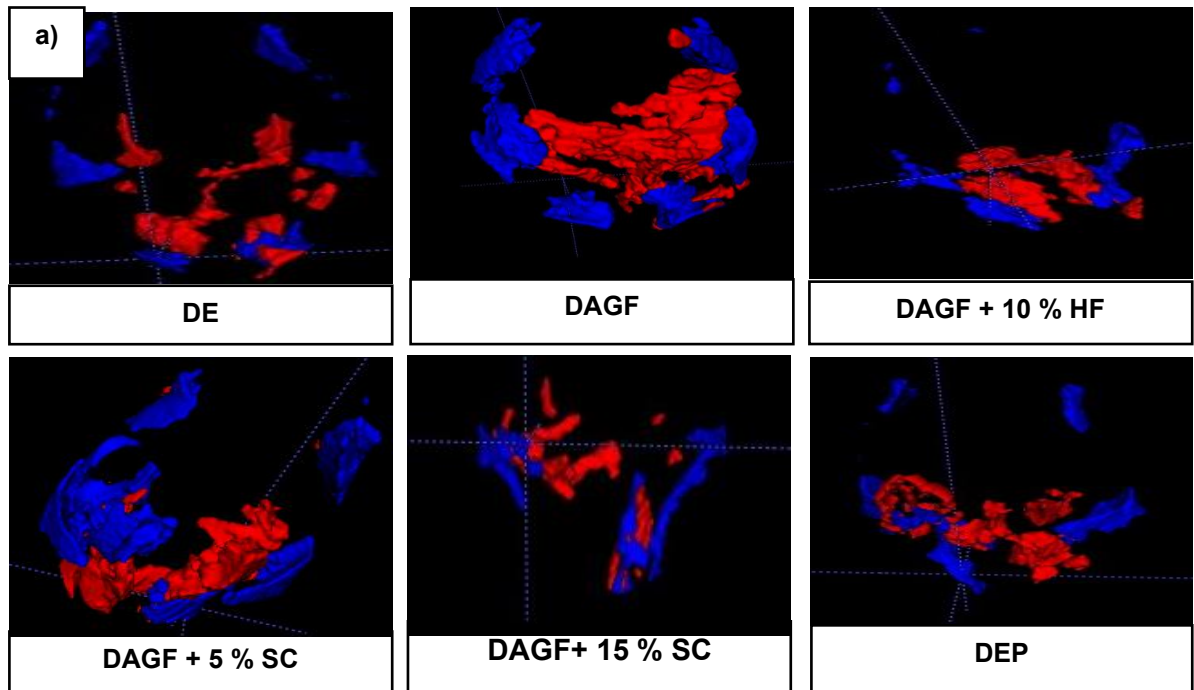
El volumen del TAV y TASC incrementó en el grupo alimentado con DAGF en un 47.1 % y 46.7 %, respectivamente, en comparación con los volúmenes de ambos tejidos adiposos en el grupo alimentado con DE. En tanto que, el volumen del TAV disminuyó en los grupos DAGF + 10 % HF (36.1 %) y DAGF + 15 %SC (55.3 %); mientras que, el TASC también disminuyó en ambos grupos (56.4 % y 36.5 %, respectivamente) en comparación con los volúmenes correspondientes del TAV y TASC del grupo DAGF.

Desafortunadamente, no se observaron diferencias significativas en el volumen del tejido adiposo entre los grupos DAGF, DAGF + 5 % SC y DEP (Figura 15). Este resultado sugiere que la inclusión del 5 % de SC en la dieta (equivalente al consumo promedio actual en la población mexicana) no es suficiente para inducir una reducción del tejido adiposo. En el caso del grupo DEP, la ausencia de un efecto significativo podría atribuirse al corto tiempo de exposición a la dieta saludable, lo cual es comprensible, dado que los beneficios de este tipo de intervención suelen manifestarse únicamente con un enfoque sostenido a largo plazo, como parte de un cambio integral en el estilo de vida. La menor acumulación de TAV y TASC observada por el consumo de las HF y SC podría atribuirse, en parte, a una menor absorción de lípidos de la dieta. Estudios previos han reportado que compuestos presentes tanto en las hojas como en las semillas de frijol incrementan la excreción de los lípidos en las heces (Ngoh et al., 2017; Becerril-Campos et al., 2022), siendo uno de los mecanismos propuestos se tribuye a la inhibición de la actividad de la lipasa pancreática (Ngoh et al., 2017).

En el presente estudio, y como se detalla en secciones posteriores, se demostró que el extracto metanólico de hojas de frijol inhibió significativamente la actividad de la lipasa pancreática en condiciones *in vitro* (Ocampo-Anguiano et al., 2024). De manera complementaria, investigaciones previas realizadas por nuestro grupo revelaron que la ingesta de semillas y hojas de frijol reduce la expresión relativa de

genes asociados con la lipogénesis hepática. Además, el consumo de hojas de frijol indujo un aumento en la expresión de genes relacionados con la lipofagia, en el hígado lo que sugiere un efecto antilipogénico a nivel transcripcional (Arreola-Galván et al., 2025).

Por otro lado, la reducción en el volumen del TAV observado con el consumo de las hojas de frijol como estrategia de tratamiento coincidió con resultados previos obtenidos en un modelo preventivo de obesidad que incluyó DAGF complementada con las hojas de frijol (Becerril-Campos et al., 2022). Asimismo, la menor acumulación de tejido adiposo por el consumo del 15 % de semillas cocidas en una dieta hipercalórica coincidió con lo reportado en la literatura donde se evaluó el consumo del 15.7 % de semillas cocidas de frijol blanco en ratones con una dieta alta en grasa (Monk et al., 2021). En conjunto, la ingesta de 10 % HF y 15 % SC en ratones con obesidad redujo el exceso del volumen del tejido adiposo, una de las principales características de la obesidad.



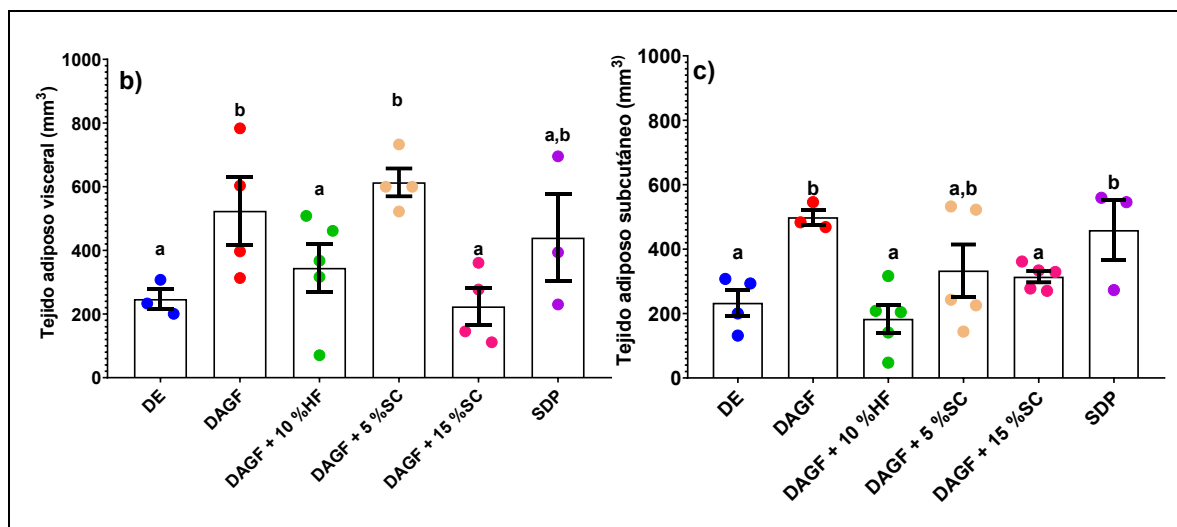


Figura 15. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre el tejido adiposo en ratones con obesidad inducida. (a) Tejido adiposo total (imágenes del análisis de resonancia magnética); tejido adiposo visceral (TAV, rojo) y tejido adiposo subcutáneo (TASC, azul); (b) volumen del TAV; (c) volumen del TASC. Los datos se presentan como valores promedio \pm EE ($n = 3 - 5$), analizados lípidos totales por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasa y fructosa DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.6.3. El consumo de las HF, las SC y la DEP disminuyó las concentraciones séricas de triglicéridos.

La Figura 16 muestra que el consumo de la dieta DAGF favoreció un aumento en las concentraciones séricas de colesterol (24.1 %) y triglicéridos (41.2 %) en comparación con los animales alimentados con la DE. El tratamiento durante 12 semanas con DAGF + 10 % HF (110.7 ± 7.3 mg/dL), DAGF + 5 % SC (127.0 ± 3.3 mg/dL), DAGF + 15 % SC (112.3 ± 9.1 mg/dL) y DEP (106.8 ± 7.7 mg/dL) mostraron valores significativamente menores en las concentraciones séricas de triglicéridos en comparación con las concentraciones séricas de triglicéridos en el grupo DAGF (141.1 ± 4.2 mg/dL). El efecto más pronunciado se observó en el grupo DEP, seguido por el grupo DAGF + 10 % HF, lo que sugiere que tanto el cambio hacia una dieta saludable como la inclusión de hojas de frijol pueden ejercer efectos hipolipemiantes relevantes en modelos obesogénicos.

Sin embargo, no se observaron reducciones en las concentraciones séricas de colesterol con ninguno de los tratamientos. La disminución de triglicéridos inducida por el consumo de las hojas y de las semillas de frijol podría asociarse a una menor absorción de los lípidos de la dieta mediada por la inhibición de la actividad de la lipasa pancreática (Ngho et al., 2017). En contraste, la reducción de triglicéridos séricos observada en el grupo DEP se atribuyó a la menor ingesta de lípidos en la dieta (de 44 a 13 % del contenido energético) después de la inducción de obesidad.

Estudios previos donde se evaluó el consumo de las HF al 10 % como estrategia preventiva de la obesidad demostraron un efecto protector en el desarrollo de hipertrigliceridemia (Ramírez-Venegas et al., 2021; Becerril-Campos et al., 2022), lo que coincidió con los resultados de esta investigación. Se ha reportado que la administración de 300 mg/kg de extracto de flavonoides de frijol adzuki durante 8 semanas en ratones ICR con obesidad inducida por una dieta hipercalórica (22 % lípidos, 48 % carbohidratos y 20 % proteínas del total calórico) redujo significativamente los niveles séricos de triglicéridos, de 2.43 a 1.17 mmol/L (Liu et al., 2017). De manera similar, la inclusión del 15 % de SC de frijol adzuki en la dieta de ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa (60 % de contenido lipídico) durante 12 semanas disminuyó la concentración sérica de triglicéridos de 1.7 a 1.2 mmol/L (Zhao et al., 2021). En general, el consumo combinado de DAGF con las hojas secas o con las semillas cocidas de frijol como tratamiento de la obesidad en ratones disminuyó los niveles de triglicéridos en circulación, sin ejercer efecto significativo sobre el colesterol sérico. Es relevante que futuras investigaciones evalúen los cambios en otros compartimentos corporales, como la masa muscular, el contenido de agua y el tejido óseo, a fin de comprender la falta de efecto en el peso corporal.

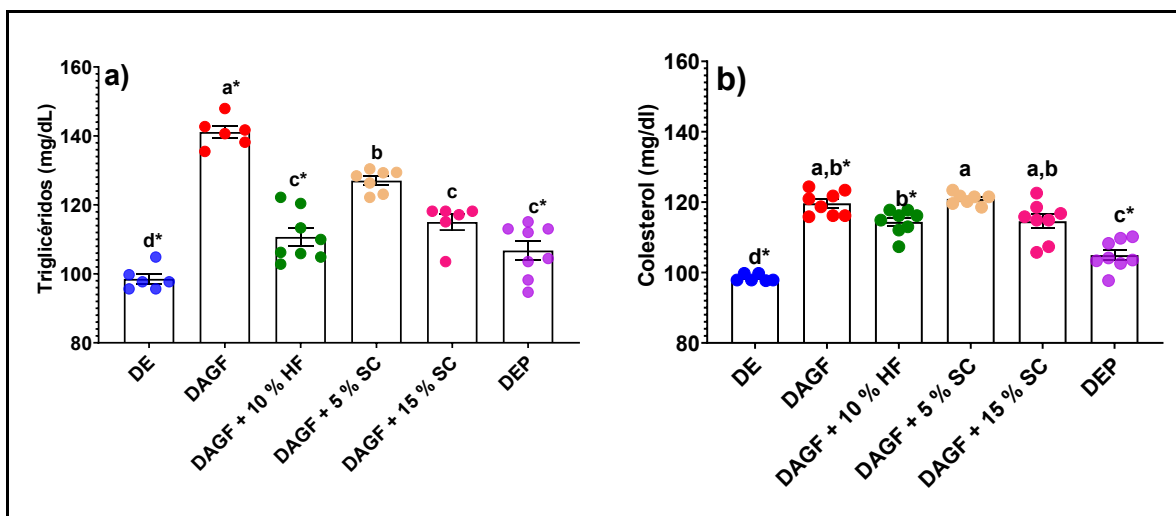


Figura 16. Efecto del consumo de las diferentes dietas en el perfil lipídico: a) triglicéridos séricos, b) colesterol sérico. Los datos se presentan como valores promedio \pm EE ($n = 6 - 12$), analizados lípidos totales por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasa y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.6.4. El consumo de las hojas y las semillas de frijol incrementa la excreción de lípidos y triglicéridos

La Figura 17a muestra el contenido total de lípidos en las heces de los diferentes grupos experimentales. No se observaron diferencias significativas en el contenido lipídico fecal entre los grupos DE y DAGF a pesar de que la DAGF contiene más grasa, indicando su mayor absorción; además, ambos grupos alimentados con dieta estándar presentaron valores similares (DE = 14.9 mg/g; DEP = 13.9 mg/g). En contraste, los grupos suplementados con DAGF + 10 % HF (27.4 mg/g), DAGF + 5 % SC (75.9 mg/g) y DAGF + 15 % SC (61.6 mg/g) mostraron un aumento significativo en el contenido total de lípidos fecales en comparación con el grupo DAGF (11.04 mg/g) ($p < 0.05$). La Figura 17b muestra la excreción fecal de triglicéridos, en la cual tampoco se observaron diferencias entre los grupos DE y DAGF. Por el contrario, la suplementación con 10 % de HF y 15 % de SC resultó en

un aumento significativo en la excreción de triglicéridos en heces, lo que sugiere una menor absorción de lípidos a nivel intestinal.

Estos hallazgos concuerdan con lo descrito por Becerril-Campos et al. (2022), quienes administraron a ratas macho Wistar una DAGF *ad libitum* suplementada con 10% HF como estrategia profiláctica frente a la obesidad; tras seis semanas de intervención, la suplementación no produjo cambios significativos en la excreción de triglicéridos. Mientras que, en ratas macho Wistar, la incorporación dietética de brotes de frijol tratados con ácido salicílico (1–2 mM) al 20 % durante cuatro semanas incrementó la excreción fecal de triglicéridos, efecto que se correlacionó con la inhibición de la lipasa pancreática (Mendoza-Sánchez et al., 2019). De manera similar, en ratas Sprague-Dawley obesas, la administración de harina de frijol durante seis semanas también potenció la eliminación fecal de triglicéridos (Pande & Srinivasan, 2012). El consumo de las hojas y las semillas incrementó la excreción de triglicéridos en heces disminuyendo su absorción.

7.6.5. El extracto metanólico del polvo de hojas de frijol inhibe la actividad de la lipasa pancreática *in vitro*

Para determinar si la disminución en la acumulación de tejido adiposo y en la concentración sérica de triglicéridos se atribuía a una menor absorción de grasa dietética, se evaluó *in vitro* la actividad de la lipasa pancreática utilizando un extracto metanólico de hojas de frijol, cabe resaltar que no se extrajeron todos los compuestos bioactivos de HF. Se demostró que dicho extracto inhibió la actividad de la lipasa pancreática en un 29 % (Figura 17c) (Ocampo-Anguiano et al., 2024). Esta inhibición se relacionó, al menos en parte con el incremento de la excreción fecal de lípidos y triglicéridos. Esto es de gran relevancia, ya que la lipasa pancreática es liberada en el intestino delgado para descomponer las grasas junto con las sales biliares, facilitando así su absorción (Li et al., 2022). Estudios previos en modelos murinos demostraron que la inhibición *in vitro* de la lipasa pancreática en proporciones similares a las observadas en este estudio está estrechamente relacionada con la reducción de las alteraciones metabólicas asociadas a la

obesidad (Escobar-Ortiz et al., 2022; Li et al., 2022). Si bien, en este estudio no se evaluó la inhibición de la lipasa pancreática con un extracto de semillas de frijol, previamente ya se ha informado en la literatura de la capacidad de los péptidos bioactivos presentes en el frijol pinto para inhibir la actividad de la lipasa y su unión con los ácidos biliares (Ngoh et al., 2017).

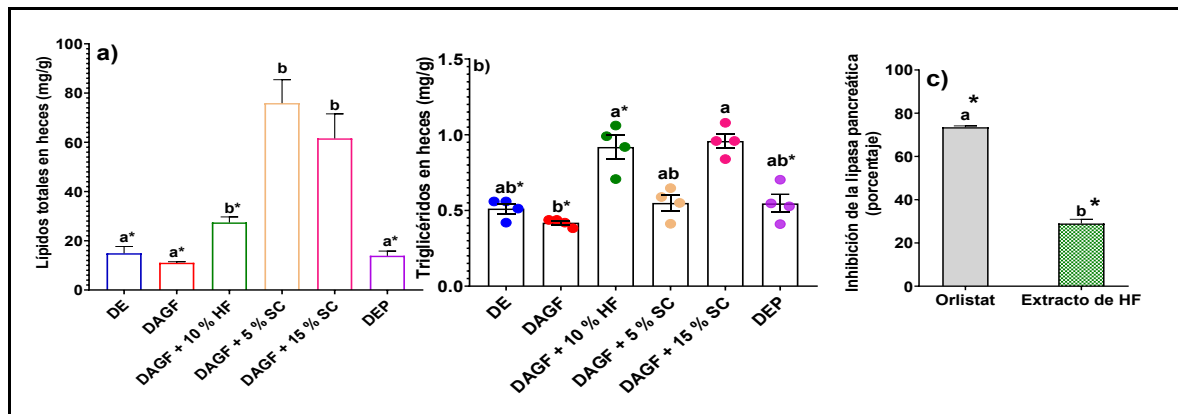


Figura 17. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a una dieta saludable sobre a) los lípidos totales en heces, b) los triglicéridos en heces y c) la inhibición de la lipasa pancreática con el extracto de HF. Los datos se presentan como valores promedio \pm EE ($n = 3 - 4$), los lípidos totales en heces analizados por ANOVA y post hoc Tukey; triglicéridos en heces por Kruskal-Wallis y post hoc Dunn e inhibición de la lipasa pancreática por t-test. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. Orlistat se empleó como control positivo para la evaluación de la inhibición enzimática; mientras que, el extracto de HF corresponde al extracto metanólico obtenido a partir de las hojas de frijol. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.7. Cambios de la integridad intestinal con los diferentes tratamientos

7.7.1. La DEP promovió un aumento en el peso relativo del intestino delgado

Un aspecto para considerar en la salud intestinal es la longitud y el peso del intestino delgado y el colon. Respecto a la longitud del intestino delgado, el grupo alimentado con DE (7.06 cm) mostró una mayor longitud en comparación con la longitud del intestino delgado en el grupo DAGF (5.67 cm). Mientras que, los intestinos delgados de los grupos DE (7.06) y DEP (6.09 cm) mostraron longitudes similares entre sí.

Tras el consumo de los diferentes tratamientos no se observaron diferencias en las longitudes de colon e intestino en comparación con los grupos DAGF o DE (Tabla 16). El análisis estadístico no reveló diferencias significativas en el peso del colon entre los grupos experimentales (Tabla 16). Cabe señalar que la reducción de la longitud y el peso intestinal, incluido el colon, se ha vinculado a un incremento del estado inflamatorio debido a una mayor producción de citocinas proinflamatorias (Mayangsari & Suzuki, 2018; Shi et al., 2020).

Tabla 16. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la longitud de intestino y colon como indicador de inflamación.

Grupo	Longitud del intestino (cm)	Longitud del colon (cm)
DE	39.85 ± 1.72 ^{a*}	7.28 ± 0.45 ^{a*}
DAGF	34.31 ± 0.97 ^{a*}	6.58 ± 0.52 ^{a*}
DAGF + 10 %HF	37.95 ± 1.04 ^{a*}	7.22 ± 0.65 ^{a*}
DAGF + 5 %SC	36.70 ± 0.91 ^a	8.27 ± 1.14 ^a
DAGF + 15 %SC	39.53 ± 2.04 ^a	8.71 ± 1.14 ^a
DEP	37.24 ± 1.67 ^{a*}	9.18 ± 0.71 ^{a*}

Los datos se presentan como valores promedio ± EE (n= 5 - 7), analizados por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p < 0.05). DE = grupo con dieta estándar DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.7.2. El consumo de 15 % SC promovió la ganancia del peso relativo del hígado en comparación con el consumo de DEP

Otro de los órganos considerados en este modelo de obesidad a partir de DAGF fue el hígado, ya que el consumo de dietas altas en grasas y azúcares promueven el desarrollo de esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica (Liu et al., 2018). De manera inesperada, solamente el peso relativo del hígado en el grupo DAGF +

15 % SC (7.18 %) mostró mayor peso relativo del hígado en comparación con el peso relativo del hígado en el grupo DEP (4.68 %), sin ser diferente con el resto de los grupos (Tabla 17). El consumo preventivo de 10 % HF junto con una DAGF (40 % lípidos, 40 % carbohidratos con 20 % en fructosa y 20 % proteínas) durante 13 semanas inhibió el desarrollo de hígado graso no alcohólico y la lipotoxicidad asociada (Becerril-Campos et al., 2023).

Como parte de la presente investigación, Victoria-Ruiz (2024) y Arreola-Galván (2025) evaluaron las alteraciones hepáticas inducidas por la DAGF durante 14 semanas y el efecto posterior del tratamiento de 12 semanas con DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC y DEP. Victoria-Ruiz et al. (2024) reportó que la dieta DAGF favoreció el desarrollo de esteatosis hepática de grado I y II; mientras que, el consumo de hojas de frijol HF al 10 % redujo el contenido de triglicéridos y la infiltración de grasa en tejido hepático, observándose un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes GST y GPx. Además, la suplementación con 10 % de HF durante 12 semanas revirtió la esteatosis a grado 0 en el 66 % de los hígados analizados en ese grupo. Asimismo, la inclusión de 15 % de SC mejoró esta condición, reduciendo la esteatosis a grado I en el 75 % de los hígados evaluados (Victoria-Ruiz, 2024).

Aunado a lo anterior, se observó que los tratamientos con 10 % HF, 15 % SC y DEP disminuyeron la expresión relativa de genes lipogénicos (*Srebf1*, *Acaca* y *Fasn*) y el tratamiento con 10 % HF aumentó la expresión de los genes *atg5* y *Lc3* relacionados con la lipofagia (Arreola-Galván, 2025). Estos resultados sugieren que, aunque no se observaron diferencias en el peso relativo del hígado entre tratamientos, sí se evidenció una mejora en la esteatosis asociada a la enfermedad metabólica a partir de lo informado por Victoria-Ruiz et al. (2024) y Arreola-Galván et al. (2025).

Tabla 27. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el peso relativo del intestino delgado, el colon y el hígado.

Grupo	Colon (%)	Intestino delgado (%)	Hígado (%)
DE	1.82 ± 0.06 ^{a*}	7.06 ± 0.28 ^{a*}	4.81 ± 0.14 ^{ab*}
DAGF	1.23 ± 0.03 ^{a*}	5.77 ± 0.27 ^{b*}	5.93 ± 0.28 ^{ab*}
DAGF + 10 % HF	1.24 ± 0.02 ^{a*}	6.25 ± 0.14 ^{ab*}	5.58 ± 0.59 ^{ab*}
DAGF + 5 % SC	1.02 ± 0.21 ^a	4.79 ± 0.18 ^b	5.73 ± 0.41 ^{ab}
DAGF + 15 % SC	1.20 ± 0.07 ^a	6.36 ± 0.53 ^{ab}	7.18 ± 0.82 ^a
DEP	1.31 ± 0.09 ^{a*}	6.09 ± 0.14 ^{a*}	4.68 ± 0.21 ^{b*}

Los datos se presentan como valores promedio ± EE (n= 5-7), analizados por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.7.3. El consumo de 10 % HF mejora la integridad de las vellosidades y criptas en el intestino y colon, previamente dañadas por DAGF

La Figura 18 muestra las micrografías representativas y las características histológicas de las porciones del yeyuno y colon de los animales de los diferentes grupos experimentales. Los tejidos del intestino delgado y del colon de los animales alimentados con la DE presentaron estructuras normales. En contraste, en el grupo DAGF el 50 % de las muestras de colon en el grupo DAGF presentaron hiperplasia linfoide y el 25 % desarrollaron atrofia de vellosidades. En el yeyuno del grupo DAGF el 50 % de las estructuras analizadas mostraron infiltración de tejido linfoide y el 25 % presentaron hiperplasia linfoide ($p < 0.05$).

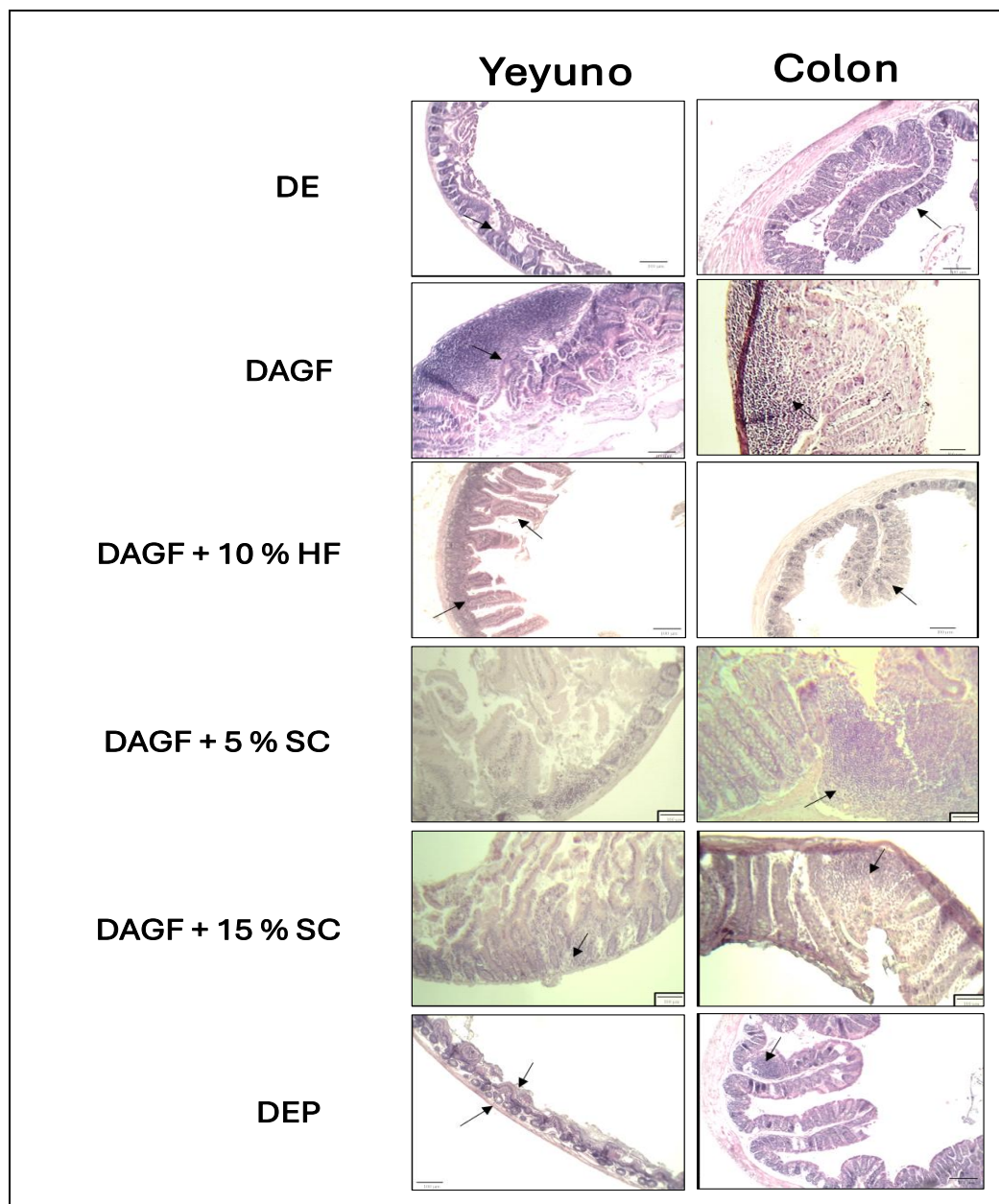


Figura 18. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la histopatología del yeyuno y del colon. Los fragmentos de tejido de colon y yeyuno fueron teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) y analizados utilizando un objetivo de 10X (n = 3 - 5). Las flechas negras en las micrografías indican las estructuras alteradas identificadas mediante el análisis histopatológico. DE = grupo con dieta estándar DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

Por otro lado, el consumo de HF mejoró las estructuras histológicas alteradas del yeyuno en un 75 % y del colon en un 80 % y no se observó infiltración linfóide. Mientras que, el yeyuno del grupo DAGF + 15 % SC mostró el 60 % de estructuras normales y el 40 % de infiltración de tejido linfóide; en el colon se encontró un 25 % de estructuras normales, un 25 % de infiltración linfóide y un 50 % de hiperplasia linfóide. De manera inesperada, el 80 % de las estructuras del yeyuno y el 60 % de las estructuras del colon mostraron atrofia de vellosidades en los animales del grupo DEP y se observó infiltración de tejido linfóide en el 20 % de las muestras analizadas del yeyuno y el colon ($p < 0.05$). Lo anterior sugiere que la suplementación con 10 % HF resultó ser el tratamiento más efectivo para restaurar las estructuras intestinales.

La infiltración de tejido y la hiperplasia linfoides se relacionan con mayor inflamación (Costes et al., 2019). La hiperplasia linfóide intestinal representa una respuesta proliferativa del tejido linfóide asociado a la mucosa (GALT), caracterizada por el crecimiento excesivo de folículos linfoides en el epitelio intestinal, particularmente en el colon. La hiperplasia linfóide se ha relacionado con síntomas como dolor y distensión abdominal, diarrea crónica y, en algunos casos, sangrado gastrointestinal (Albuquerque, 2014). Aunado a lo anterior, la infiltración de tejido y la hiperplasia linfoides se relacionan con mayor inflamación (Costes et al., 2019). Este hallazgo adquiere relevancia al detectarse hiperplasia linfóide en todos los grupos experimentales, excepto en el grupo DE, lo que sugiere que la dieta DAGF podría estar implicada en la aparición de dichas complicaciones.

La infiltración tisular y la hiperplasia linfóide (respuesta proliferativa del GALT caracterizada por el crecimiento excesivo de folículos, especialmente en el colon) constituyen indicadores de inflamación exacerbada (Costes et al., 2019) y se asocian clínicamente con dolor, distensión abdominal, diarrea crónica y, ocasionalmente, sangrado gastrointestinal (Albuquerque, 2014). Su relevancia en este estudio radica en que la hiperplasia linfóide apareció en todos los grupos experimentales salvo en el grupo DE, lo que sugiere que DAGF podría favorecer

estas complicaciones inmunopatológicas. En el contexto de enfermedades inflamatorias intestinales, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, la acumulación de células linfoides se ha relacionado con la perpetuación del daño epitelial (Gronke et al., 2016), por lo que la hiperplasia e infiltración linfocitaria intestinal emergen como potenciales biomarcadores de disfunción inmunológica subyacente. No obstante, las alteraciones histológicas del colon y yeyuno inducidas por la DAGF se revirtieron con la DAGF + 10 % HF, lo que apunta a un efecto benéfico dependiente de la composición dietética.

7.7.4. El grosor de la capa de moco colónica incrementa con la suplementación con 10 % HF y 15 % SC

La capa mucosa, que protege el epitelio intestinal y regula la permeabilidad, fue significativamente más delgada en el grupo DAGF (47 %) en comparación con el grupo DE. Respecto a los tratamientos, el grosor de la capa de moco fue mayor en los grupos DAGF + 10 % HF (21 %), DAGF + 15 % SC (13 %) y DEP (30 %) en comparación con el grupo DAGF, demostrando un mayor efecto con el consumo de la DEP, seguido de la dieta suplementada con 10 % HF y 15 % SC, respectivamente (Figura 19).

Estos resultados sugieren una mejor integridad de la barrera colónica en los grupos tratados en comparación con la DAGF, dado que la capa de moco intestinal funciona como una barrera física que impide el contacto directo entre las bacterias y el epitelio, limitando así la translocación de microorganismos y endotoxinas (Buckley & Turner, 2018).

Nuestros hallazgos son similares con estudios previos, donde se informó que la suplementación con fibra dietética (15 %) en ratones obesos alimentados con una dieta compuesta por 60 % de grasa, 20 % de carbohidratos simples y 20 % de proteínas restauró el grosor de la capa de moco en comparación con el grupo de ratones obesos no suplementados (Shi et al., 2020).

Además, estudios en modelos murinos colonizados con microbiota humana han demostrado que la sustitución de la fibra dietética por 15 % de glucosa provocó un adelgazamiento de la capa de moco colónico, lo cual se asoció con un aumento en la susceptibilidad a colitis, caracterizada por inflamación del colon. No obstante, la suplementación con 15 % de fibra prebiótica no logró restaurar dicha capa mucosa (Desai et al., 2016). Por lo tanto, la composición de la dieta en relación con el tipo de carbohidratos y la ingesta de alimentos ricos en fibra y compuestos fenólicos, como las semillas de frijol y, de manera interesante, también las hojas de frijol, podría promover la restauración de la capa de moco y proteger al huésped contra la invasión bacteriana y sus toxinas.

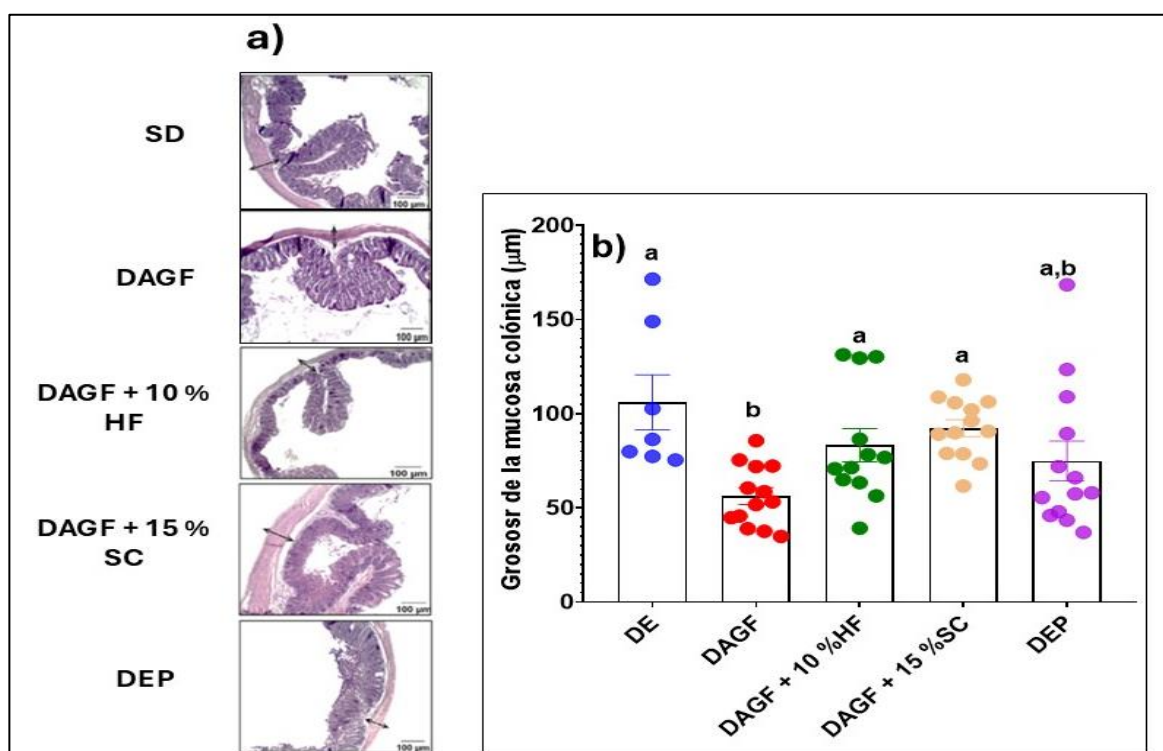


Figura 19. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el grosor de la capa de moco colónica: a) micrografías del colon y b) gráfico de barras del grosor de la mucosa colónica. Los datos se presentan como medias ± EE (n = 7 - 13), analizados mediante ANOVA con prueba post hoc de Tukey. Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05). DE = grupo con dieta estándar DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. Secciones colónicas teñidas con H & E mostrando la capa de moco (flechas). Las flechas negras con ejes delinean la capa de moco que se midió en el análisis. Imágenes analizadas con un objetivo de 10X. Barra de escala de 100 μm.

7.7.5. El consumo de 10 % HF, 15 % SC y DEP tienden a disminuir la permeabilidad intestinal no selectiva

Una de las principales características de la integridad intestinal alterada es el aumento de la permeabilidad del intestino delgado, debido a la no selectividad. En este sentido, la concentración sérica de FITC-dextrán en el grupo DAGF se incrementó 4 veces en comparación con la concentración sérica del grupo DE ($p < 0.05$). Por el contrario, la permeabilidad intestinal de los animales que consumieron DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC o DEP disminuyó en un 1.8, 1.7 y 2 veces, respectivamente, aunque sin diferencia significativa (Figura 20). Según estudios previos, la disminución de la permeabilidad intestinal se ha asociado con el aumento en la expresión de proteínas de las uniones estrechas, particularmente ocludina y zonula-1, las cuales desempeñan un papel esencial en el fortalecimiento de la función de la barrera intestinal (Buckley & Turner, 2018).

En el presente estudio se evidenció una mejora en la barrera física intestinal reflejada en un mayor grosor de la capa de moco (Figura 19), así como una reducción significativa en las concentraciones séricas de FITC-dextrán en los grupos suplementados con HF y SC en comparación con el grupo alimentado con DAGF sin suplementación (Figura 20). Este hallazgo es relevante, considerando que el epitelio intestinal constituye una barrera selectivamente permeable, que facilita la absorción de nutrientes y la excreción de desechos, mientras restringe la translocación de materiales lumbinales (Meng et al., 2019).

Por lo tanto, el consumo de una dieta rica en grasas saturadas y fructosa ha sido asociado con una disrupción de la barrera intestinal y promueve la permeabilidad intestinal. En contraste, la suplementación con alimentos prebióticos, como las hojas y semillas de frijol, contribuye a mitigar este efecto mejorando la integridad de la barrera intestinal.

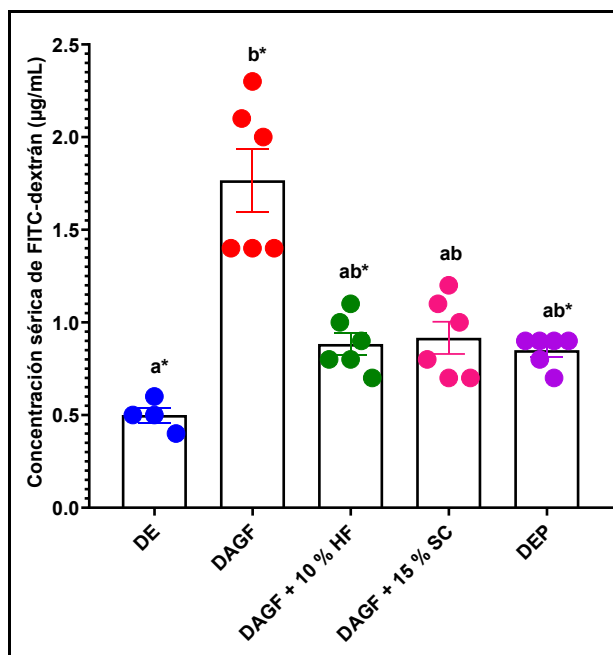


Figura 20. Efecto del consumo de las HF, SC y la DEP en la permeabilidad intestinal. Los datos se presentan como valores medios \pm EE ($n = 5 - 7$) analizados por Kruskal Wallis test y hoc Dunn. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % de semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % de semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.7.6. El tratamiento con 10 % HF reduce la endotoxemia metabólica

Una vez confirmada la disminución de la permeabilidad intestinal con los diferentes tratamientos, se evaluó su efecto sobre la concentración sérica de LPS, principal endotoxina derivada del lumen intestinal. El grupo DAGF presentó mayor permeabilidad respecto al grupo DE ($p < 0.05$). Además; se observó que los grupos DAGF + 10 % HF, DAGF + 5 % SC, DAGF + 15 % SC y DEP presentaron una disminución del 37.5, 30.2, 37.0 y 34.3 %, respectivamente, en las concentraciones séricas de LPS en comparación con el grupo DAGF ($p < 0.05$) (Figura 21 a).

Respecto a las concentraciones séricas de IL-6 el grupo con DAGF presentó una concentración 5 veces mayor que la concentración sérica de IL6 del grupo DE. Los grupos DAGF + 10 % HF, DAGF + 5 % SC, DAGF + 15 % SC y DEP presentaron

concentraciones séricas de IL-6 menores en 4.5, 2.6, 2.0 y 3.2 veces, respectivamente, en comparación con el grupo DAGF, normalizando estos valores a niveles similares a los observados en el grupo DE (Figura 21 b). En relación con lo anterior, la endotoxemia metabólica se incrementa debido a alteraciones en la integridad intestinal que facilitan la translocación bacteriana, fenómeno vinculado con un aumento en la inflamación sistémica de bajo grado (Ye et al., 2021).

Se ha reportado que la suplementación con 15 % de carbohidratos fermentables durante 15 semanas mejoró la eubiosis intestinal, reduciendo la endotoxemia metabólica causada por una dieta alta en grasas (60 % lípidos) y baja en fibra (5 %) en ratones C57BL/6 macho (Shi et al., 2020). La incorporación en la dieta de alimentos ricos en fibra, como cereales, verduras y diversas leguminosas, se ha relacionado con un aumento en la diversidad microbiana intestinal, caracterizado por un incremento de bacterias con efectos potencialmente beneficiosos y una reducción de bacterias con posibles efectos patógenos. Además, se ha observado una disminución de la inflamación sistémica, evidenciado por menores concentraciones circulantes de LPS e IL-6 (Desai et al., 2016; Guan et al., 2021). Esta reducción sugiere una menor translocación de endotoxinas desde el lumen intestinal hacia la circulación sistémica. Dado que el LPS es reconocido por los receptores TLR4 en diversos tejidos, su disminución se asocia con una menor inflamación sistémica (Agustí et al., 2018).

Es importante resaltar que el tratamiento con 10 % HF promovió la normalización de los niveles séricos de LPS, alcanzando concentraciones similares a las observadas en el grupo DE. De manera comparable, tanto el tratamiento con 10 % HF como el tratamiento con DEP lograron restaurar los niveles de IL-6 en suero, igualándolos a los del grupo DE. Esto sugiere un efecto anti-inflamatorio por el consumo del 10 % HF y evidencia que los componentes de la DEP no inducen inflamación. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el consumo tanto de las hojas como las semillas de los frijoles mitigan la endotoxemia metabólica, ofreciendo protección frente a la inflamación inducida por endotoxinas liberadas por la DAGF.

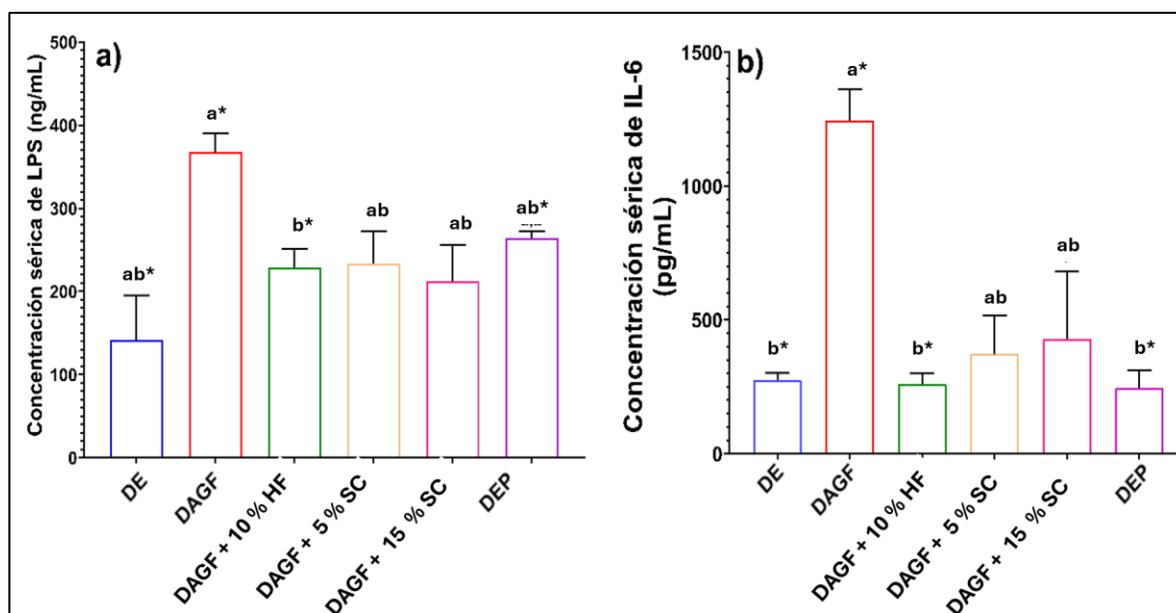


Figura 21. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en la concentración sérica de a) LPS y b) IL-6. Los datos se presentan como media \pm EE ($n = 3 - 5$), analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc de Dunn. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % de semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % de semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Anguiano et al. (2024).

7.7.7. Los tratamientos con 10 % HF, 15% SC y DEP promueven el consumo de fibra y compuestos fenólicos totales en la dieta

En base al diseño de la dieta, el grupo DAGF tuvo una menor ingesta de fibra dietética total e insoluble (4.5 y 3.6 veces, respectivamente), en comparación con la ingesta del grupo DE ($p < 0.05$). En contraste, el tratamiento con DAGF + 10 % HF incrementó la ingesta de fibra dietética total e insoluble en 3.3 y 3.2 veces, respectivamente, frente al grupo DAGF. Además, la suplementación con 10 % HF aumentó el contenido total de compuestos fenólicos totales (1.9 veces), en comparación con el grupo DAGF (Tabla 18). Por su parte, el tratamiento con DAGF + 15 % SC incrementó el consumo de la fibra dietética total (3.6 veces) y de las fracciones soluble e insoluble (3.0 y 3.1 veces, respectivamente), frente al grupo DAGF. Asimismo, el consumo de compuestos fenólicos con la suplementación con 15 % SC se incrementó en 1.8 veces en comparación con la dieta DAGF (Tabla 18).

Es fundamental continuar esta línea de investigación para explorar posibles alteraciones en la microbiota intestinal y determinar si existe una tendencia hacia un aumento en la diversidad microbiana, así como la presencia de bacterias beneficiosas que podrían estar asociadas con los efectos observados, como la reducción de la inflamación sistémica y la mejora de la salud intestinal. Adicionalmente, la elucidación de los metabolitos originados tanto de la fracción fibrosa como de los compuestos fenólicos presentes en las HF y las SC resulta indispensable para comprender los mecanismos moleculares mediante los cuales modulan la respuesta inflamatoria y promueven la salud intestinal.

Dada la compleja comunicación bidireccional entre el intestino y el sistema nervioso central, las alteraciones observadas en la integridad intestinal impulsaron la investigación sobre el posible impacto de las intervenciones con las HF, las SC y la DEP en el deterioro cognitivo y la función de la memoria previamente inducidos por una dieta DAGF.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos, excluyendo el tratamiento con 5 % SC, ya que dicho tratamiento mostró la menor eficacia tanto en la reducción de las alteraciones metabólicas como en la mejora de la integridad intestinal. Por esta razón, tampoco se incluyeron los resultados relacionados con el tratamiento con 5 % SC en cuanto al grosor de la capa de moco y la permeabilidad intestinal.

Tabla 18. Efecto de la incorporación de las hojas y las semillas de frijol en el aporte de fibra y compuestos fenólicos totales de la dieta

Grupo	Fibra soluble (g/día)	Fibra insoluble (g/día)	Fibra dietética total (g/día)	Compuestos fenólicos totales (mg/día)
DE	0.21 ± 0.02 ^{a*}	0.81 ± 0.08 ^{a*}	1.20 ± 0.10 ^{a*}	9.59 ± 1.02 ^{a*}
DAGF	0.08 ± 0.01 ^{b*}	0.23 ± 0.02 ^{b*}	0.27 ± 0.02 ^{b*}	7.95 ± 1.24 ^{a*}
DAGF + 10 % HF	0.24 ± 0.03 ^{a*}	0.70 ± 0.09 ^{a*}	0.94 ± 0.02 ^{c*}	14.8 ± 2.72 ^{b*}
DAGF + 5 % SC	0.07 ± 0.01 ^b	0.23 ± 0.02 ^b	0.30 ± 0.02 ^c	6.28 ± 0.67 ^b
DAGF + 15 % SC	0.24 ± 0.03 ^a	0.70 ± 0.08 ^a	0.94 ± 0.11 ^b	14.22 ± 1.99 ^{a*}
DEP	0.33 ± 0.04 ^{a*}	1.08 ± 0.13 ^{a*}	1.40 ± 0.16 ^{d*}	12.87 ± 1.27 ^{b*}

Los datos se presentan como valores promedio ± EE (n= 6 - 12), analizados lípidos totales por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p < 0.05). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 5 % SC = DAGF + 5 % de semillas cocidas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % de semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad. * Los datos referentes al consumo de DAGF + 10 % HF se tomaron de Ocampo-Angiano et al. (2024).

7.8. Pruebas de conducta

7.8.1. El consumo de 10 % HF mejora la respuesta en la construcción de nidos

La prueba de construcción de nidos se utiliza como una evaluación innata para correlacionar las respuestas de la prueba con el comportamiento habitual (Deacon, 2012). En la Figura 22 a se representan las diferentes respuestas en la construcción de nidos, que van desde la ausencia de interacción con el algodón hasta la construcción completa de su nido. En este estudio, los animales del grupo DAGF mostraron una respuesta significativamente menor en la prueba de comportamiento, obteniendo una puntuación de 1; mientras que, los animales del grupo DE presentaron la mayor respuesta con una puntuación de 3.66. Estos resultados

sugieren que el consumo sostenido de una DAGF impacta negativamente en el comportamiento relacionado con la memoria a corto plazo (Shi et al., 2020). Por el contrario, los tratamientos incrementaron significativamente las respuestas de construcción de nidos, obteniendo puntuaciones de 2.4 para el grupo DAGF + 10 % HF, 2.3 para el grupo DAGF + 15 % SC y 1.6 para el grupo DEP. Solo la puntuación del grupo DAGF + 10 % HF se equiparó con la del grupo DE (Figura 22 b). La prueba de construcción de nidos está diseñada para evaluar el comportamiento espontáneo de los ratones, principalmente relacionado con la termorregulación; puntuaciones más bajas se asocian con daño generalizado en el hipocampo (Deacon, 2012).

Las mejoras observadas en las puntuaciones de construcción de nidos, similares a nuestros hallazgos, fueron reportadas en un estudio con ratones obesos inducidos por una dieta alta en grasas (60 %) y baja en fibra (5 %), que fueron tratados con carbohidratos accesibles para la microbiota (15 %) (Shi et al., 2020). Asimismo, un estudio previo con ratones alimentados con una dieta alta en grasas (60 %) evidenció una reducción en las puntuaciones de nido en comparación con aquellos que fueron cambiados a una dieta baja en grasas (10 %), donde también se observó una disminución en la ingesta energética y una mejora en la composición corporal (Johnson et al., 2016). Las puntuaciones de construcción de nidos, como indicador de la cognición espontánea en ratones, mejoraron con la inclusión de las HF en aquellos alimentados con una dieta DAGF.

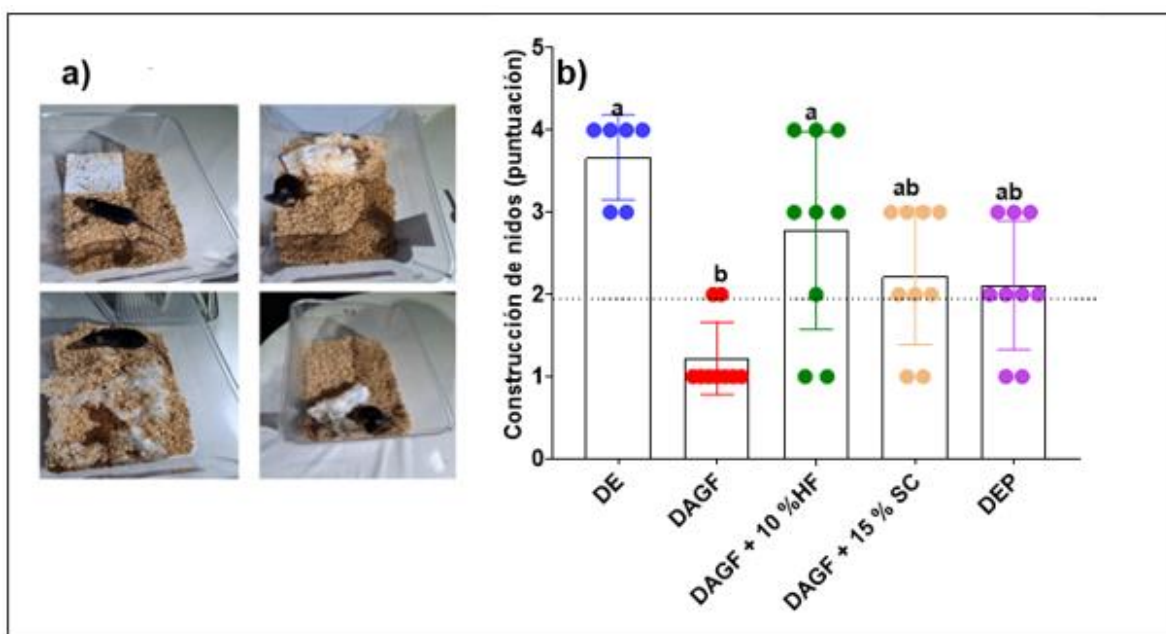


Figura 22. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la respuesta conductual en la construcción de nidos. a) fotografías representativas que ilustran las puntuaciones obtenidas en la prueba de construcción de nidos; b) respuesta en la construcción de nidos bajo diferentes condiciones dietéticas. Los datos se presentan como media \pm EE (n = 6 - 9) y fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc Dunn. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = grupo con dieta estándar, DAGF = grupo con dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = grupo con DE después de la fase de inducción de obesidad.

7.8.2. El índice de alternancia en el laberinto en T mejora significativamente con la DEP

El aprendizaje espacial, la memoria de trabajo y la capacidad de toma de decisiones puede evaluarse en ratones mediante la prueba de alternancia espontánea en el laberinto en T (d'Isa et al., 2021). En la figura 23 a se representa la prueba del laberinto en T, mostrando al ratón inicialmente ubicado en el brazo largo del laberinto mientras alterna su elección entre los brazos izquierdo y derecho. La tasa de alternancia para el grupo DAGF (57.4 %) fue menor en comparación con la de los grupos DE (87.3 %), DAGF + 10 % HF (78.3 %), DAGF + 15 % SC (79.2 %) y DEP (81.5 %). Aunque se observó una tendencia al incremento en la alternancia con todos los tratamientos, solamente los grupos DE y DEP fueron

significativamente mayores en comparación con la respuesta en el laberinto en T del grupo DAGF (Figura 23 b).

Leyh et al. (2021) señaló de manera destacada que una dieta alta en grasas (59 % grasa, 26 % carbohidratos y 15 % proteínas) consumida durante 24 semanas no afectó la memoria a corto plazo (evaluada mediante la prueba en laberinto en Y, un instrumento similar al laberinto en T, con la diferencia de que se realiza un análisis continuo del cambio de brazo, dado que los tres brazos son iguales). No obstante, esta dieta sí promovió un incremento en la actividad proinflamatoria de la microglía en el hipotálamo, evidenciado por una mayor intensidad de Iba1, un mayor porcentaje de área inmunorreactiva (medido mediante inmunohistoquímica fluorescente) y una mayor expresión del gen Iba1 en esta región. Por el contrario, no se observaron tales efectos en la corteza ni en el hipocampo. Estos resultados sugieren que tanto la composición dietética como el tiempo de exposición podrían interferir con la integridad del hipocampo (Leyh et al., 2021).

Por otro lado, otro estudio en ratas macho Sprague-Dawley alimentadas con una dieta de cafetería (20 % proteínas, 35 % carbohidratos, 45 % grasas) que incluía productos como papas fritas, chocolates con mantequilla de maní y jarabe de maíz alto en fructosa (11 % peso/volumen) durante 26 semanas resultó en un deterioro de la memoria, evidenciado por alteraciones en la señalización de acetilcolina en el hipocampo (Hayes et al., 2023). Hasta donde sabemos, no existen reportes anteriores sobre si el consumo de semillas y hojas de frijol mejora la memoria a corto plazo.

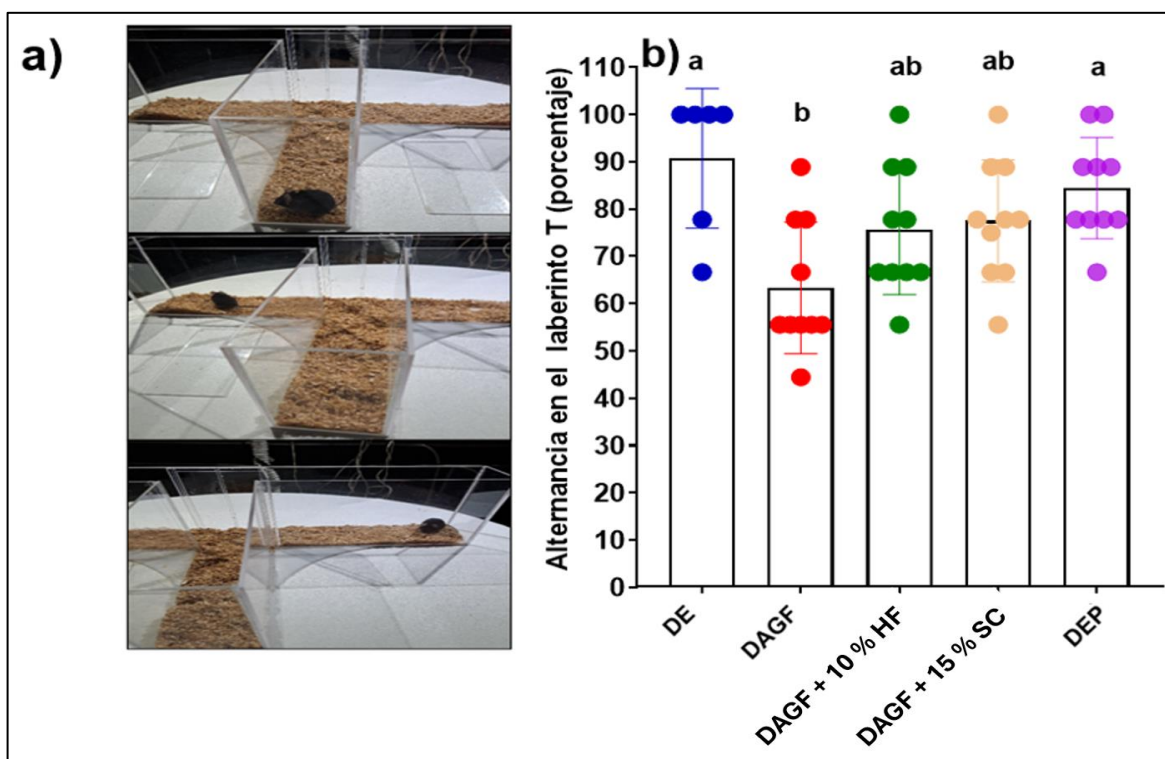


Figura 23. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP sobre la respuesta conductual para evaluar la memoria a corto plazo en el laberinto en T. a) Fotografías representativas de la prueba conductual en el laberinto en T; b) alternancia en el laberinto en T bajo diferentes condiciones dietéticas. Los datos se presentan como media \pm EE (n= 6 - 12) y fueron analizados mediante ANOVA con prueba post hoc de Tukey. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = dieta estándar. DAGF = dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

7.8.3. Los tratamientos con 10 % HF, 15 % SC y DEP mejoran la respuesta a la fase de reconocimiento de lugar novedoso

Las tareas de reconocimiento de ubicación espacial y de objetos se basan en la preferencia innata de los roedores por la novedad y pueden aplicarse de forma secuencial dentro del mismo grupo de animales. Aquellos animales que retienen la memoria de la experiencia de entrenamiento original tienden a explorar preferentemente el objeto desplazado en comparación con el objeto no desplazado, o el objeto novedoso en comparación con el familiar (Stefanko et al., 2009).

En este estudio, durante la fase de reconocimiento de lugares novedosos, los grupos DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC y DEP incrementaron el índice de

discriminación (que indica la preferencia por el lugar novedoso frente al lugar familiar) en 2.58, 3.16 y 3.83 veces, respectivamente, en comparación con el grupo DAGF. De manera notable, estos valores fueron similares a los observados en el grupo DE (Figura 24). Este hallazgo se asocia con una mejor consolidación de la memoria a largo plazo. En un estudio previo con ratones macho C57BL/6J alimentados con una dieta alta en grasas (31.5 % grasa, 18.3 % proteína y 38.5 % carbohidratos en peso), la administración de 25 mg/kg de dimethyl itaconate, un compuesto con efectos anti-inflamatorios, dos veces por semana durante 17 semanas, atenuó el deterioro cognitivo, específicamente incrementando el índice de discriminación en la prueba de reconocimiento de objetos. Esto se asoció con una reducción en la activación microglial, una mejor integridad intestinal, una mayor diversidad microbiana y un aumento en la producción de AGGC en el colon, lo que sugiere una interacción a nivel del eje intestino-cerebro (Pan et al., 2023).

Por otro lado, un estudio anterior evaluó los efectos de una dieta cetogénica (90 % grasa, 4.7 % proteína, 2 % carbohidratos y 3.3 % de ésteres de cetonas) en ratones macho adultos C57BL/6 y encontró que la alimentación con dieta cetogénica durante 8 semanas resultó en un mayor índice de discriminación en la prueba de reconocimiento de objetos en comparación con los ratones alimentados con una dieta estándar, indicando una mejora en la memoria de reconocimiento. Esto se asoció con una mayor eficiencia mitocondrial en el hipocampo, evidenciada por una reducción en el consumo de oxígeno mitocondrial sin cambios en la producción de ATP, lo que resultó en un aumento en la relación ATP:O₂ (Saito et al., 2022). Los resultados de nuestro estudio, junto con la evidencia de investigaciones previas, sugieren que las intervenciones dietéticas que incorporan compuestos anti-inflamatorios y promueven la eficiencia mitocondrial pueden emplearse para tratar y prevenir el deterioro cognitivo.

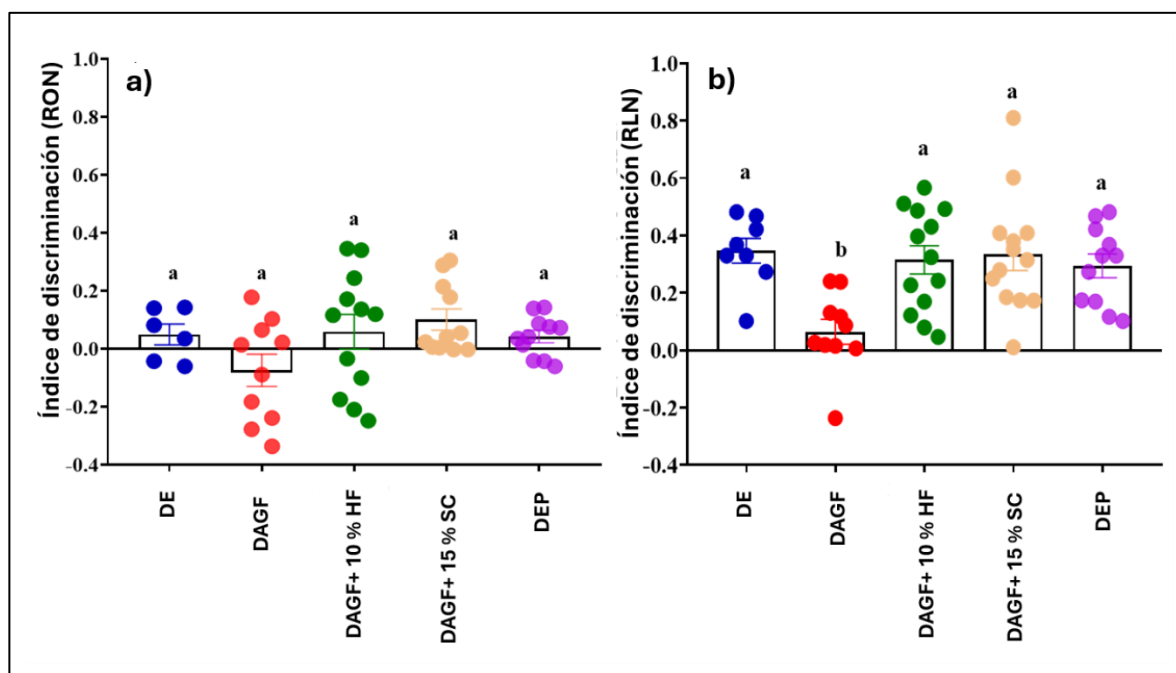


Figura 24. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en el reconocimiento de objetos: a) el reconocimiento de objetos novedosos (RON) y b) el reconocimiento de lugar novedoso (RLN). Los datos se presentan como media \pm EE ($n = 6 - 12$) y fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc Dunn. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = dieta estándar. DAGF = dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

7.9. Inmunohistoquímica de Iba-1 en CA1 del hipocampo

La activación neuroglial desempeña un papel central en la patogénesis del deterioro cognitivo asociado a enfermedades neuroinflamatorias y neurodegenerativas, particularmente en regiones clave como el hipocampo (Walker et al., 2019). En este contexto, se evaluaron la densidad y morfología de la microglía mediante inmunohistoquímica utilizando el anticuerpo Iba1 como marcador específico (Figura 25 a-g). Los resultados mostraron que el grupo alimentado con DAGF presentó un incremento del 14 % en el número total de células microgliales en comparación con el grupo con DE, lo que indica una mayor activación microglial inducida por la carga dietética proinflamatoria. Por otro lado, los grupos tratados con DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC y el grupo con DEP mostraron una reducción significativa del número de células microgliales de 21 %, 4.3 % y 10.3 %, respectivamente, en

comparación con el grupo DAGF (Figura 25 b). Estos hallazgos sugieren que las intervenciones dietéticas con las HF y las SC atenuaron la activación microglial inducida por la DAGF, posiblemente a través de la modulación del entorno inflamatorio. En el caso del tratamiento con la DEP, se eliminó el estímulo proinflamatorio proporcionado por la combinación de manteca de cerdo y fructosa de la DAGF. El aumento en la inmunorreactividad para Iba1 observado en el hipocampo tras la exposición a una dieta hipercalórica rica en grasas y azúcares puede atribuirse a un incremento en los estímulos proinflamatorios, como el LPS, reconocido por los receptores TLR4 en la microglía, lo que promueve la activación de cascadas neuroinflamatorias (Agustí et al., 2018).

En relación con el área celular (Figura 25 c), el grupo DAGF mostró la microglía de mayor tamaño en comparación con la microglía del grupo DE. Por otro lado, los grupos DAGF + 10 % HF y DEP presentaron un menor tamaño en sus células microglias en comparación con el tamaño de las células microglias de los grupos DAGF y DAGF + 15 % SC ($p < 0.05$). Esta hipertrofia celular podría estar relacionada con una mayor actividad metabólica e inflamatoria, ya que las microglías activadas, especialmente aquellas con un fenotipo proinflamatorio, tienden a presentar un aumento en el volumen del soma (Hanamsagar & Bilbo, 2017).

Respecto a la complejidad morfológica, se observó que la microglía del grupo DE mostró una mayor longitud de ramificaciones en comparación con los demás grupos (Figura 25 d). La retracción o pérdida de procesos celulares es un rasgo morfológico distintivo de la activación microglial, que refleja un cambio funcional significativo en estas células. Este proceso ocurre en respuesta a diversas señales como daño tisular, endotoxinas, estrés oxidativo o alteraciones metabólicas, entre ellas las inducidas por dietas obesogénicas (Valdearcos et al., 2017). Bajo condiciones fisiológicas, la microglía presenta una morfología ramificada con funciones de vigilancia del microambiente neuronal; sin embargo, al activarse adopta una forma más ameboide, disminuyendo su arborización y adquiriendo funciones efectoras como la fagocitosis, la presentación antigénica y la secreción de mediadores

proinflamatorios (Colonna & Butovsky, 2017). En conjunto, la reducción en la arborización microglial no representa únicamente un cambio morfológico, sino una transición funcional clave en el contexto de enfermedades neurodegenerativas y alteraciones metabólicas, lo que pone de manifiesto la relevancia de la dieta y el entorno en la modulación del sistema inmunitario cerebral.

Respecto al índice de ramificación (Figura 25 e), las células del grupo DE mostraron un mayor índice en comparación con el resto de los grupos. Si bien los tratamientos no resultaron similares al grupo DE, las células del grupo DAGF + 10 % HF presentaron un mayor incremento respecto a las células de los otros grupos, lo que podría sugerir un mejor efecto relacionado con su plasticidad celular. El índice de ramificaciones es un parámetro que se complementa con otros para entender la morfología y función de la microglía. Un índice alto refleja una morfología altamente ramificada, típica del estado de vigilancia y homeostasis cerebral, mientras que un valor bajo se asocia con un fenotipo activado o proinflamatorio (Karperien et al., 2013; Fernández-Arjona et al., 2017).

Dado que el índice de ramificación no mostró diferencias relevantes, se procedió a analizar el índice de circularidad (Figura 25 f), que relaciona la forma del soma con la arborización celular. Se encontró que los grupos tratados (DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC y DEP) y el grupo DE presentaron un índice de circularidad significativamente menor en comparación con el grupo DAGF ($p < 0.05$). Un índice de circularidad bajo indica células con morfología alargada o irregular, asociada a estados de reposo funcional o vigilancia inmunológica (Hinwood et al., 2011). En cambio, valores elevados reflejan una morfología redondeada o ameboide, característica de microglía activada, como la inducida por dietas inflamatorias ricas en grasa y fructosa (Hinwood et al., 2011). En conjunto, los resultados sugieren que la suplementación dietética con 10 % HF o 15 % SC y la DEP modularon favorablemente la morfología de la microglía, promoviendo un fenotipo menos proinflamatorio y más compatible con un estado funcional de vigilancia y mantenimiento de la homeostasis cerebral.

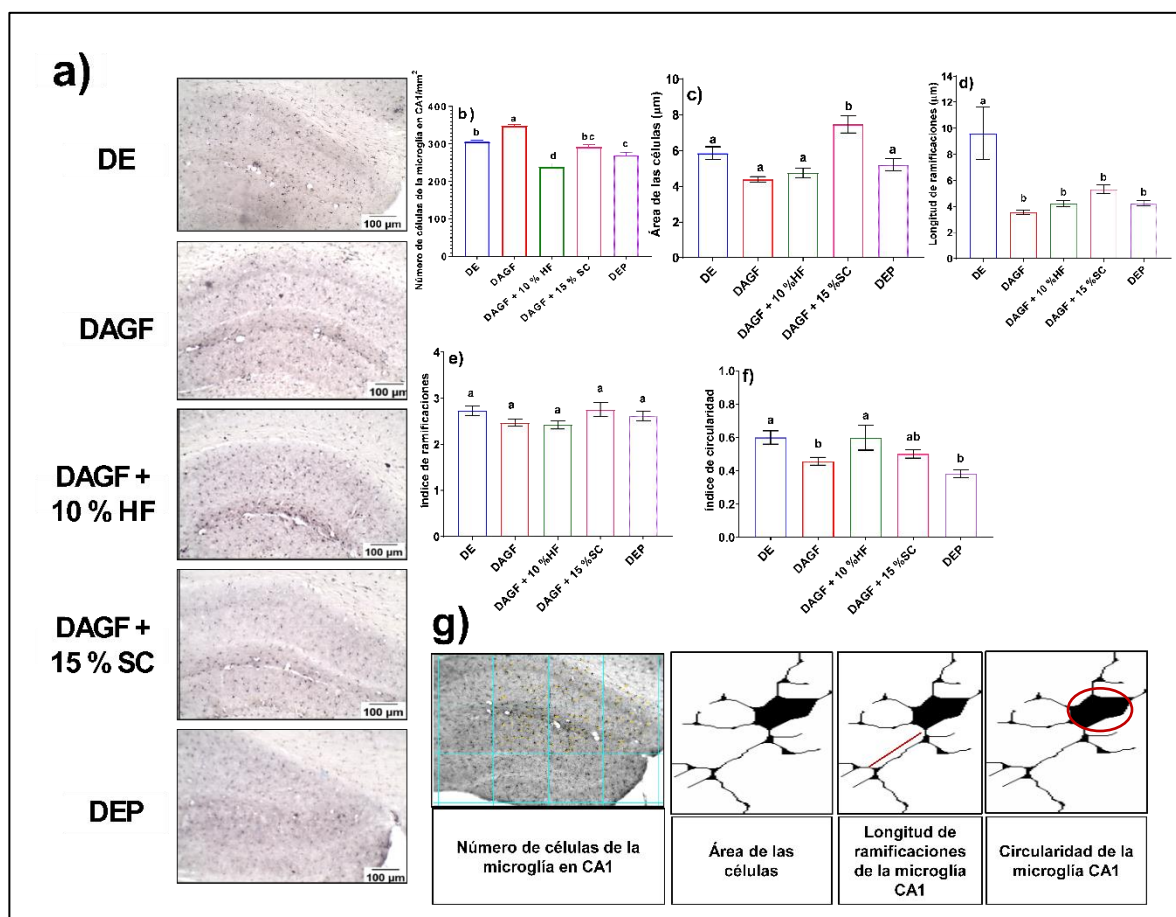


Figura 25. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la actividad y morfología de la microglía en la región CA1 del hipocampo. a) micrografías de hipocampo (CA1) procesados por inmunohistoquímica de Iba1; b) área de las células; c) longitud de las ramificaciones; c) índice de ramificaciones y d) índice de circularidad. Los datos se presentan como valores promedio \pm EE (n = 3 - 5), analizados por ANOVA y post hoc Tukey. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). DE = dieta estándar, DAGF = dieta alta en grasas y fructosa, DAGF+ 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

7.10. Polarización y morfología de la microglía

La microglía es una célula altamente plástica cuya morfología y polarización funcional se modifican en respuesta a estímulos fisiológicos o patológicos, adoptando perfiles que van desde estados homeostáticos y de vigilancia hasta fenotipos proinflamatorios, distróficos o asociados a reparación tisular (Angelova & Brown, 2019). La especificación del fenotipo homeostático maduro de la microglía ocurre en un proceso de múltiples pasos durante el desarrollo del SNC y, además

requiere instrucción continua en el cerebro adulto (Pasillas et al., 2017; Bennett et al 2018; Baxter et al., 2021). Estas transiciones morfofuncionales impactan directamente en la homeostasis del sistema nervioso central, favoreciendo procesos clave como la sinaptogénesis, la neuroinflamación y la neurodegeneración (Walker et al., 2014).

En el presente estudio se clasificaron diez fenotipos morfológicos de microglía en la subregión CA1 del hipocampo (Figura 26 a). El fenotipo bipolar, caracterizado por un núcleo central y dos procesos largos y delgados no ramificados, cuya función aún no ha sido claramente definida. El hipertrófico, que comprende células heterogéneas con citoplasma típicamente rectangular, varios procesos y escasa ramificación. El hipertrófico inflamado, que presenta citoplasma aumentado y procesos más numerosos o alargados. El tipo "huevo frito", morfología que denota un gran citoplasma sin procesos, escasa movilidad y restos celulares reducidos. El fenotipo "huevo frito inflamado", observado frecuentemente en contextos neuroinflamatorios. El fenotipo el ameboide inflamado, típicamente vinculado a estados proinflamatorios. El fenotipo redondeado, correspondiente a células pequeñas sin procesos, considerado como una forma inmadura. El distrófico, que muestra procesos fragmentados, en forma de cuentas o retorcidos, reflejando disfunción celular. El fenotipo activado, donde las células retraen sus procesos y aumentan su volumen por acumulación de orgánulos y aumento de la actividad metabólica. El fenotipo ramificado, en el cual la microglía presenta extensos procesos altamente ramificados con los que explora el microambiente (Figura 26 b) (Streit et al., 2014; Leyh et al., 2021; Martínez et al., 2023).

Con base en esta clasificación, se observó que el grupo DE presentó predominantemente microglía en estado ramificado (87 %), seguido por células hipertróficas (9 %), huevo frito (3 %), distrófico y ameboide inflamado (1 %), lo que indica un perfil mayoritario de vigilancia inmunológica, con mínima activación metabólica. Esta distribución morfológica es compatible con un estado fisiológico basal, dada la naturaleza heterogénea y dinámica de la microglía en condiciones

normales (Masuda et al., 2020). En contraste, el grupo DAGF mostró una distribución morfológica heterogénea, con un predominio del fenotipo proinflamatorio (56 %), acompañado por células activadas (24 %), distróficas (11 %), bipolar (6 %) y solo un 3 % en estado de vigilancia. Este perfil sugiere una activación microglial exacerbada y potencialmente disfuncional inducida por el consumo prolongado de una dieta alta en grasas y fructosa (Martinez et al., 2023).

En cuanto a los tratamientos (Figura 26 a), la microglía del grupo suplementado con 10 % HF presentó una proporción equivalente de células activadas (54 %), seguidas por células proinflamatorias (20 %), hipertróficas (15 %), bipolar (9 %) y solo un 2 % en estado de vigilancia. Esta morfología indica una activación microglial orientada hacia funciones de limpieza celular y reparación tisular, con menor participación de perfiles proinflamatorios (Masuda et al., 2020). Por su parte, el grupo tratado con 15 % de SC mostró una microglía predominantemente ramificada (37 %), seguida por células hipertróficas (34 %) y proinflamatorias (25 %), con escasa representación de fenotipos activado (2 %) y bipolar (2 %). Estos resultados sugieren un efecto regulador sobre la actividad microglial, caracterizado por un predominio de estados funcionales compatibles con vigilancia e hipertrofia, y una menor activación proinflamatoria en comparación con DAGF.

Finalmente, la microglía del grupo DEP presentó una elevada proporción de células en morfología ramificada (50 %), seguida por hipertróficas (21 %), distróficas (17 %), activadas (5 %), proinflamatorias (5 %) y bipolares (2 %) (Figura 26 a). Esta distribución sugiere que la modificación dietética favoreció un retorno a un estado de menor activación microglial, con un incremento en los perfiles de vigilancia y una reducción en la proporción de células inflamatorias. Un estudio previo reportó que una dieta rica en grasas (60 % del aporte calórico total), azúcares simples y deficiencia de fibra (menor al 5 %) incrementa significativamente la activación proinflamatoria microglial en ratones C57BL/6, caracterizado por cambios morfológicos de la microglía asociados a un fenotipo activado, como mayor circularidad celular y reducción de ramificaciones en regiones hipocampales (Shi et

al., 2020). En contraste, la suplementación con carbohidratos fermentables indujo una menor activación microglial, evidenciada por una reducción en el número de células microgliares, menor circularidad y mayor índice de ramificación.

Adicionalmente, se ha demostrado que los AGCC derivados del metabolismo microbiano, contribuyen a la integridad de la barrera hematoencefálica mediante la regulación de proteínas de unión estrecha (Kerchner et al., 2012). En conjunto, estos hallazgos demuestran que cambios en la dieta como la incorporación de vegetales, leguminosas y el consumo adecuado de nutrimentos impactan de manera positiva en la morfología y la función microglial.

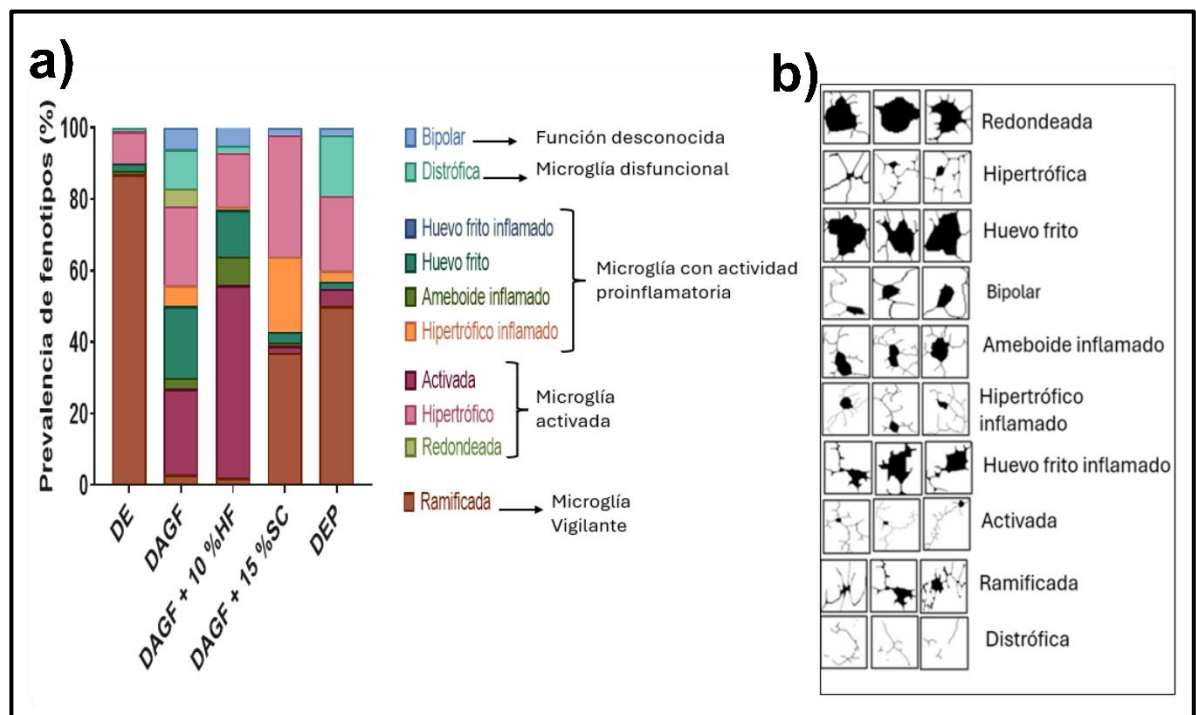


Figura 26. Efecto del consumo de las hojas y las semillas de frijol y el cambio a dieta saludable en la polarización de la microglía. a) prevalencia de fenotipos; b) representación gráfica de los fenotipos con imágenes reales tomadas por microscopía. Los datos se presentan como valores totales analizados en relación con el porcentaje de prevalencia. DE = dieta estándar DAGF = dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 % HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15 % SC = DAGF + 15 % semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

7.11. Los tratamientos disminuyen la expresión relativa de IL-1 e incrementan la expresión relativa de IL-10 en el hipocampo

La Figura 27 muestra las expresiones relativas de las interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10 en el hipocampo. En cuanto a la expresión relativa de IL-1, el grupo alimentado exclusivamente con DAGF presentó una expresión significativamente mayor (2.5) en comparación con el grupo DE (1.0). En cambio, se observó una menor expresión relativa de IL-1 en CA1 del hipocampo de 0.26, 0.14 y 0.90 para los grupos tratados DAGF + 10 % HF, DAGF + 15 % SC y DEP, respectivamente, en comparación con el grupo DAGF. El hipocampo del grupo suplementado con 15 % SC fue el que presentó la menor expresión relativa de IL-1, lo cual se asoció con una menor actividad proinflamatoria.

En cuanto a la expresión relativa de IL-6, de forma inesperada, el hipocampo del grupo DE presentó el valor más alto (1.0), sin mostrar diferencias significativas con la expresión relativa de IL-6 en el grupo DAGF. Sin embargo, se observó una expresión estadísticamente menor en los hipocampos de los grupos DAGF + 10 % HF (0.11) y DAGF + 15 % SC (0.05). No se encontraron diferencias significativas con el grupo DEP, al cual se le administró una dieta similar.

Por otro lado, la expresión relativa de IL-10 en el hipocampo del grupo DE (1.0) fue significativamente superior a la observada en el grupo DAGF (0.11). De manera interesante, los niveles de IL-10 en el hipocampo fueron menores en los grupos DAGF + 10 % HF (0.26), DAGF + 15 % SC (0.23) y DEP (0.28), sugiriendo un posible efecto regulador de las suplementaciones sobre la respuesta anti-inflamatoria.

Las interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10 desempeñan un papel clave en la respuesta inmunitaria en el sistema nervioso central, participando tanto en procesos proinflamatorios como anti-inflamatorios. Estas citocinas son secretadas predominantemente por células gliales (la microglía y los astrocitos), que actúan como sensores inmunometabólicos al detectar señales inflamatorias y ambientales, contribuyendo a la regulación de la homeostasis cerebral. Su expresión en el

hipocampo es especialmente relevante en el contexto de la consolidación de la memoria, el aprendizaje y la orientación espacial (Navabi et al., 2024).

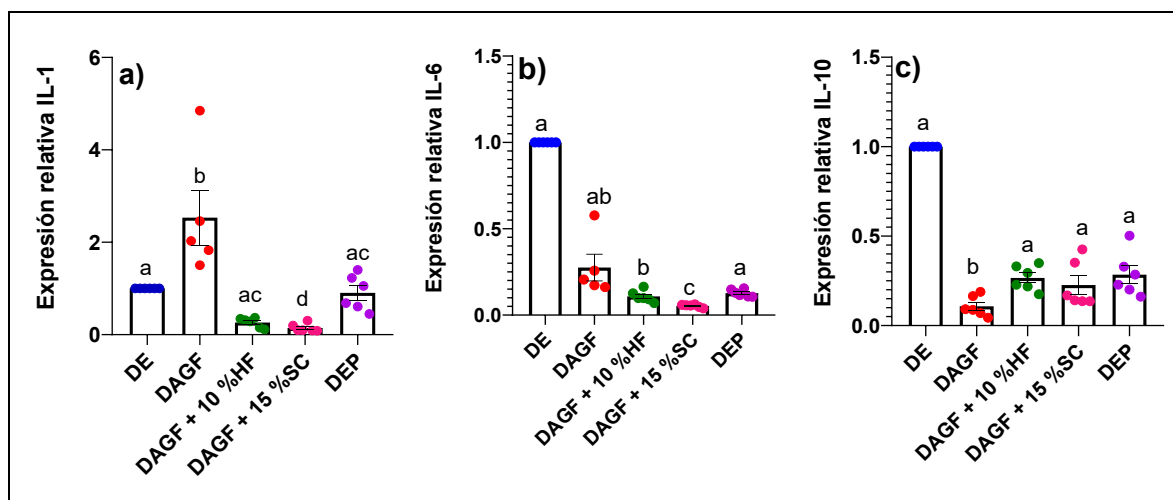


Figura 27. Efecto del consumo de las HF, las SC y la DEP en la expresión relativa de interleucinas en el hipocampo. (a) IL-1, (b) IL-6 y (c) IL-10. Los datos se presentan como valores promedio \pm EE (n = 3), analizados por Kruskal-Wallis y post hoc Dunn. DE = dieta estándar DAGF = dieta alta en grasas y fructosa, DAGF + 10 %HF = DAGF + 10 % de hojas de frijol, DAGF + 15% SC = DAGF + 15% semillas cocidas de frijol, DEP = DE después de la fase de inducción de obesidad.

La IL-1 es una citocina proinflamatoria que se eleva rápidamente ante daño neuronal o estrés oxidativo. Su sobreexpresión en el hipocampo se ha asociado con alteraciones en la plasticidad sináptica, reducción de la neurogénesis y deterioro en tareas cognitivas, lo que sugiere una implicación directa en procesos de disfunción cognitiva inducida por inflamación (Mantovani et al., 2019). La microglía es la principal fuente de IL-1 en el cerebro. Su activación crónica puede inducir un entorno neurotóxico al liberar citocinas proinflamatorias (como IL-1 β , IL-6 y TNF- α) y especies reactivas de oxígeno. Esta activación sostenida contribuye a la neurodegeneración y puede inhibir la neurogénesis al inducir apoptosis en células progenitoras neuronales (Muzio et al., 2021).

Por su parte, la IL-6 posee una función dual: en condiciones fisiológicas participa en la reparación neuronal y en la modulación sináptica, pero cuando se encuentra elevada de forma sostenida, promueve procesos neurodegenerativos, exacerbando la inflamación y afectando negativamente el comportamiento emocional y cognitivo

(Kerkis et al., 2024). Finalmente, la IL-10 es una citocina anti-inflamatoria clave que actúa inhibiendo la producción de mediadores proinflamatorios como TNF- α , IL-1 β e IL-6. Su expresión en el hipocampo, atribuida principalmente a la microglía y a los astrocitos, permite amortiguar los efectos de la neuroinflamación y favorecer un microambiente protector de la función neuronal (Lobo-Silva et al., 2016).

Diversos estudios han demostrado que la dieta influye directamente en la expresión de estas citocinas en el cerebro. El consumo de dietas hipercalóricas, ricas en grasas saturadas y azúcares, se asoció con un aumento en la expresión de IL-1 β e IL-6 en el hipocampo, lo que contribuye a la disfunción cognitiva a través de mecanismos neuroinflamatorios. En un estudio previo, Shi et al. (2020) observaron que una dieta alta en grasa (60 %) y baja en fibra (5 %) durante doce semanas incrementó significativamente los niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF α en el hipocampo de ratones C57BL/6J. Sin embargo, la suplementación con carbohidratos accesibles al microbioma (15 %), redujo los niveles de estas interleucinas, normalizando los valores con el hipocampo del grupo control. Estos datos se asociaron con mejoras en pruebas conductuales asociadas a la memoria y respuesta conductual.

En otro estudio, Yang et al. (2020) evaluaron durante 15 semanas el efecto de una dieta con 60 % de grasa en ratones C57BL/6J y observaron un incremento significativo de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α tanto en la mucosa colónica como en la corteza prefrontal, este perfil estuvo acompañado de una activación microglial marcada, evidenciada por un mayor número de células Iba1 en la corteza prefrontal y en las subregiones CA1, CA3 y giro dentado del hipocampo. Además, los animales sometidos a la dieta alta en grasa mostraron deterioro cognitivo en el laberinto en Y y en la prueba de reconocimiento de objetos novedosos. Posteriormente, se evaluó el efecto de la suplementación con curdlan, un polisacárido accesible a la microbioma. La administración de curdlan durante el mismo periodo redujo los niveles de las citocinas IL-1 β , IL-6 y TNF- α en el hipocampo, disminuyó la activación microglial y mejoró el rendimiento en las pruebas cognitivas (Yang et al., 2020). Estos hallazgos sugieren que los

carbohidratos accesibles a la microbioma pueden mitigar la neuroinflamación y el deterioro cognitivo inducidos por dietas altas en grasa, posiblemente a través de la modulación del eje intestino-cerebro.

En contraste, ciertos alimentos ricos en compuestos fenólicos, como algunas hojas comestibles han demostrado tener efectos neuroprotectores. Por un lado, Noorafshan et al. (2021) reportaron que la administración de extracto de hojas de *Mentha piperita* redujo la expresión de IL-1 β y elevó los niveles de IL-10 en el hipocampo de ratas diabéticas, acompañándose de mejoras significativas en la memoria espacial. Además, un estudio reciente evaluó los efectos anti-inflamatorios de extractos de hojas de ocho plantas medicinales del sur de África, tradicionalmente utilizadas para tratar el dolor y la inflamación. Los extractos acuosos y etanólicos se suplementaron a macrófagos murinos RAW 264.7 estimulados con LPS, observándose una inhibición significativa en la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α . En particular, los extractos etanólicos de *Melianthus comosus*, *Tetradenia riparia* y *Warburgia salutaris* demostraron una inhibición superior a 50 veces en los niveles de estas citocinas. Estos hallazgos respaldan el uso tradicional de estas plantas como remedios anti-inflamatorios (Khumalo et al., 2024). Hasta donde sabemos, actualmente existe un estudio que evaluó el efecto del consumo de almidones resistentes de leguminosas (frijoles, lentejas, chícharos y garbanzos al 5%) en ratones de 60 semanas de edad alimentados con una dieta occidental (sin especificar la composición) durante 20 semanas. Los resultados mostraron una disminución en la expresión relativa de IL-1 e IL-6, junto con un incremento en la expresión de IL-10 en el hipotálamo, lo cual se asoció con mejoras en las pruebas conductuales de laberinto en T y reconocimiento de objetos. De manera interesante, la expresión de la IL-6 fue mayor en la corteza frontal y menor en el hipotálamo (Kadyan et al., 2024).

Hasta donde se tiene conocimiento no hay evidencia científica del consumo de semillas u hojas de frijol como alimento y su papel en la disminución de citocinas con respuesta proinflamatoria en el hipocampo, lo que nos hace pioneros en estos

hallazgos. Estos resultados subrayan el papel crucial de la dieta como modulador de la neuroinflamación. El patrón de expresión observado en este estudio, donde el consumo de una dieta basada en DAGF elevó la expresión relativa de IL-1, mientras que las suplementaciones con las HF y las SC normalizaron los niveles de IL-10 en el hipocampo, es consistente con la literatura actual. De este modo, intervenciones nutricionales que incorporen ingredientes funcionales con propiedades anti-inflamatorias podrían representar una estrategia eficaz para preservar la integridad cognitiva en contextos de inflamación crónica o dietas obesogénicas.

7.12. Correlaciones entre los componentes dietéticos y las variables fisiológicas, bioquímicas y conductuales

Con el objetivo de identificar correlaciones entre los componentes dietéticos y las variables fisiológicas, bioquímicas y conductuales evaluadas en este estudio, se aplicaron análisis de correlación utilizando el coeficiente de Pearson para variables con distribución paramétrica y el coeficiente de Spearman para variables no paramétricas. Se obtuvieron correlaciones estadísticamente significativas entre diversas variables de interés.

La ejecución en la prueba del laberinto en T, herramienta conductual utilizada para evaluar la memoria espacial y de trabajo, mostró una correlación positiva con la conducta de construcción de nidos ($r = 0.29$), lo cual sugiere una posible relación funcional entre ambas tareas cognitivas. Sin embargo, el desempeño en dicha prueba se correlacionó negativamente con los niveles séricos de colesterol ($r = -0.39$), FITC-dextrán ($r = -0.41$) y triglicéridos ($r = -0.36$), lo que indica que un perfil metabólico alterado podría estar vinculado con un deterioro en el rendimiento cognitivo. Adicionalmente, se observó una correlación positiva entre la respuesta en el laberinto en T con el consumo de compuestos fenólicos ($r = 0.31$) (Figura 28 a-e), sugiriendo que una mayor ingesta de estos compuestos bioactivos podría favorecer la alternancia espontánea en el laberinto en T, una respuesta asociada a procesos de memoria. Estas pruebas conductuales están estrechamente ligadas a

la integridad funcional del hipocampo, una estructura clave para la consolidación de la memoria, el aprendizaje y la navegación espacial (Fogwe et al., 2021).

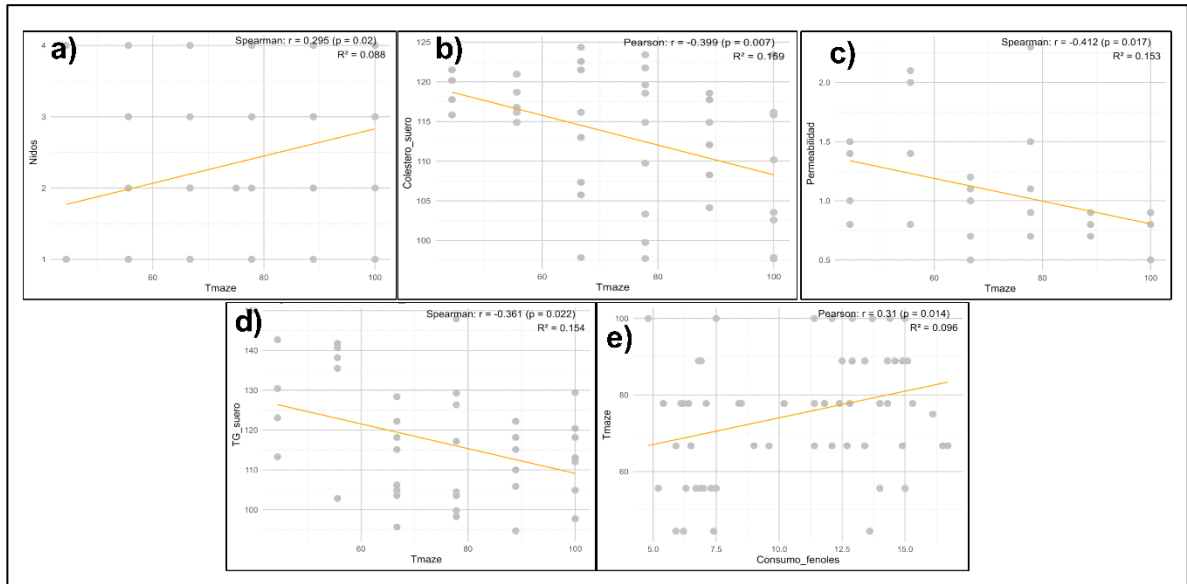


Figura 28. Correlaciones entre el rendimiento en la prueba del laberinto en T y (a) construcción de nidos, (b) colesterol en suero, (c) FITC-dextrán, (d) triglicéridos en suero y (e) consumo de compuestos fenólicos. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas.

El incremento en las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, como consecuencia del consumo de dietas hipercalóricas ricas en grasa y fructosa, así como el aumento de FITC-dextrán, se han vinculado con la activación de respuestas inflamatorias sistémicas. Estas alteraciones promueven la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias, como la IL-6, las cuales pueden ser reconocidas por células inmunocompetentes como los macrófagos, contribuyendo al establecimiento de un estado neuroinflamatorio crónico. En el sistema nervioso central, dicha inflamación puede inducir cambios en la morfología y activación de la microglía, afectando la plasticidad sináptica y deteriorando el procesamiento cognitivo dependiente del hipocampo, lo que podría explicar la disminución en el desempeño observado en las pruebas conductuales (Kaplan et al., 2015; Manole et al., 2021; Solanki et al., 2023).

El consumo dietético de compuestos fenólicos se ha asociado con múltiples efectos beneficiosos. Se observó una fuerte correlación negativa entre la ingesta de compuestos fenólicos y el número de células microglias en la región CA1 del hipocampo ($r = -0.74$) (Figura 29 a). Las células de la microglía forman parte del sistema inmunológico del cerebro y pueden polarizarse en respuesta a diversos estímulos. En condiciones de homeostasis la tasa de la microglía es limitada; sin embargo, ante daño agudo, como una lesión se produce el reclutamiento de las células inmunitarias en el sitio de lesión. (Streit et al., 2014). Este hallazgo sugiere un posible efecto neuroprotector de los compuestos fenólicos al disminuir la densidad microglial en presencia de daño cerebral.

Entre los mecanismos propuestos, ciertos compuestos fenólicos han demostrado fortalecer las uniones estrechas del epitelio intestinal, reducir el estrés oxidativo y modular la actividad del factor de transcripción NF- κ B, lo que contribuye a la disminución de la inflamación sistémica (García et al., 2017; Yang et al., 2017; Lee et al., 2019). Además, el consumo de compuestos fenólicos se correlacionó negativamente con las concentraciones séricas de colesterol ($r = -0.32$), IL-6 ($r = -0.44$), FITC-dextrán ($r = -0.46$) y triglicéridos ($r = -0.47$) (Figura 29 b-e); mientras que, este consumo de compuestos fenólicos mostró una correlación positiva con la excreción fecal de triglicéridos ($r = 0.57$) (Figura 29 f). Estos hallazgos sugieren un posible mecanismo mediante el cual los compuestos fenólicos interfieren en la absorción lipídica a nivel intestinal y modulan la respuesta neuroinmunitaria.

Estudios previos han informado que ciertos compuestos presentes en el frijol inhiben la absorción de lípidos al reducir la actividad de la lipasa pancreática, lo que explica la mayor excreción de triglicéridos en heces y la menor concentración en el suero (Ngoh et al., 2017). Las menores concentraciones séricas de FITC-dextrán e IL-6 podrían deberse al efecto de los compuestos fenólicos en la mejora de la barrera intestinal, disminuyendo así la permeabilidad intestinal y la translocación bacteriana, lo que conlleva una reducción de FITC-dextrán e IL-6 en circulación (Martínez et al., 2017; Farré et al., 2020).

Recientemente, se ha demostrado que los compuestos fenólicos pueden reforzar la barrera mucosa intestinal al aumentar la expresión de proteínas de unión estrecha, eliminar especies reactivas de oxígeno y activar vías de señalización antioxidantes, lo que contribuye a la reducción del daño oxidativo y la inflamación intestinal (Li et al., 2023).

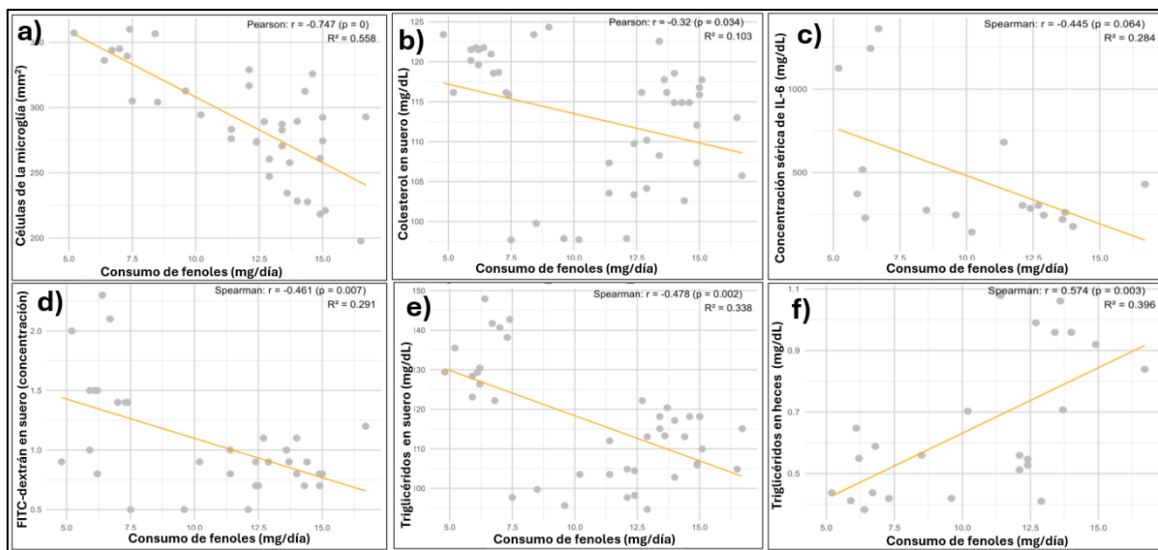


Figura 29. Correlaciones entre el consumo de compuestos fenólicos y (a) células de la microglía, (b) colesterol en suero, (c) concentración sérica de IL-6, (d) FITC-dextrán en suero y (e) triglicéridos en suero y (f) triglicéridos en heces. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas.

El consumo de fibra dietaria, tanto insoluble como soluble, se ha vinculado con efectos beneficiosos sobre parámetros metabólicos y cognitivos. En este estudio, la ingesta de fibra insoluble mostró una correlación negativa con los niveles séricos de colesterol ($r = -0.61$) y triglicéridos ($r = -0.59$); así como, una correlación positiva con el desempeño en la prueba del laberinto en T ($r = 0.43$) (Figura 30 a-c).

Por su parte, la fibra soluble se asoció negativamente con las concentraciones séricas de colesterol ($r = -0.62$), triglicéridos ($r = -0.55$) y FITC-dextrán ($r = -0.40$) y, de forma positiva, con la alternancia espontánea en el laberinto en T ($r = 0.37$) (Figura 31 a-d). La fibra soluble puede retardar el vaciado gástrico e incrementar la viscosidad del contenido intestinal, lo cual reduce la absorción de lípidos y otros

nutrientes (Nie & Luo, 2021). Este efecto se traduce en concentraciones más bajas de lípidos séricos, como el colesterol y los triglicéridos. Adicionalmente, tanto la fibra soluble como la insoluble promueven la eubiosis intestinal, favorecen la integridad de la barrera epitelial intestinal y estimulan la producción de AGCC, metabolitos que contribuyen a la regulación inmunológica y a la reducción de la inflamación sistémica (Silva et al., 2020). Estos mecanismos están directamente implicados en la disminución de la permeabilidad intestinal y, por tanto, en la menor translocación de endotoxinas como LPS, lo que atenúa la respuesta neuroinmunitaria y reduce el riesgo de neuroinflamación asociada a deterioro cognitivo.

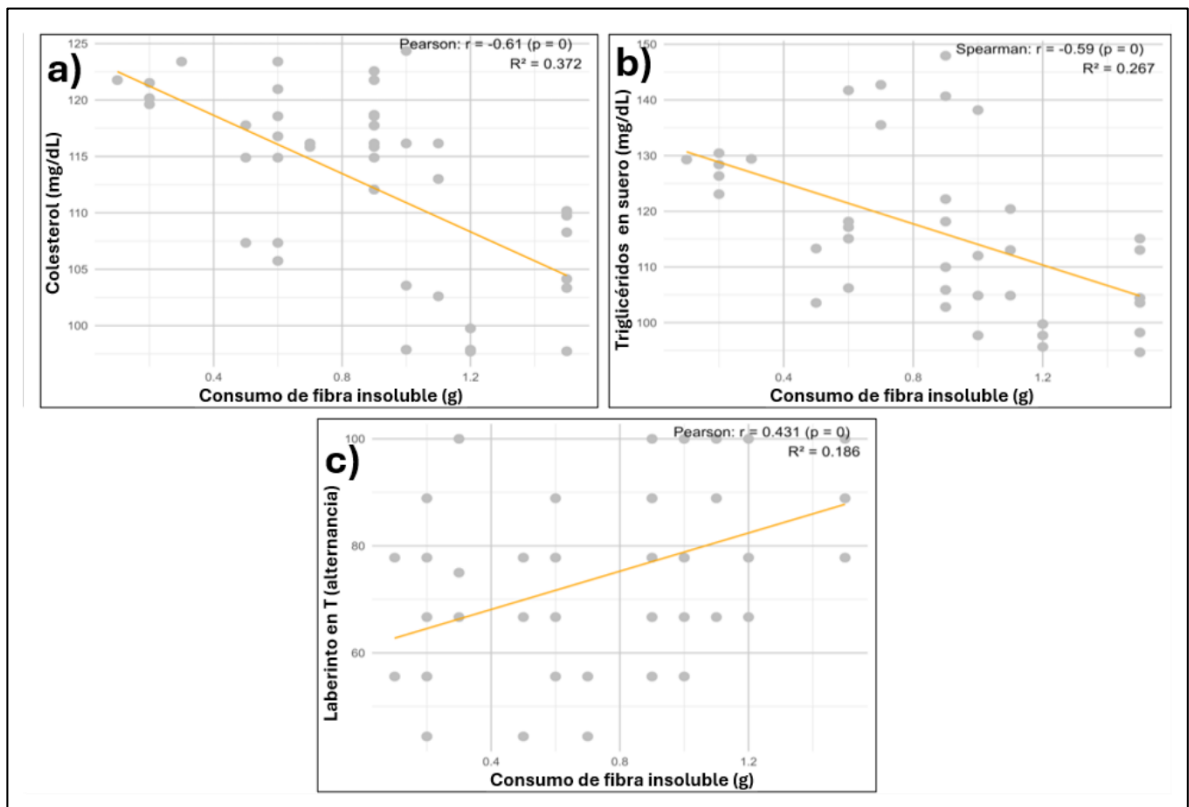


Figura 30. Correlaciones entre el consumo de fibra insoluble y (a) colesterol en suero, (b) triglicéridos en suero y (c) alternancia en el laberinto en T. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas.

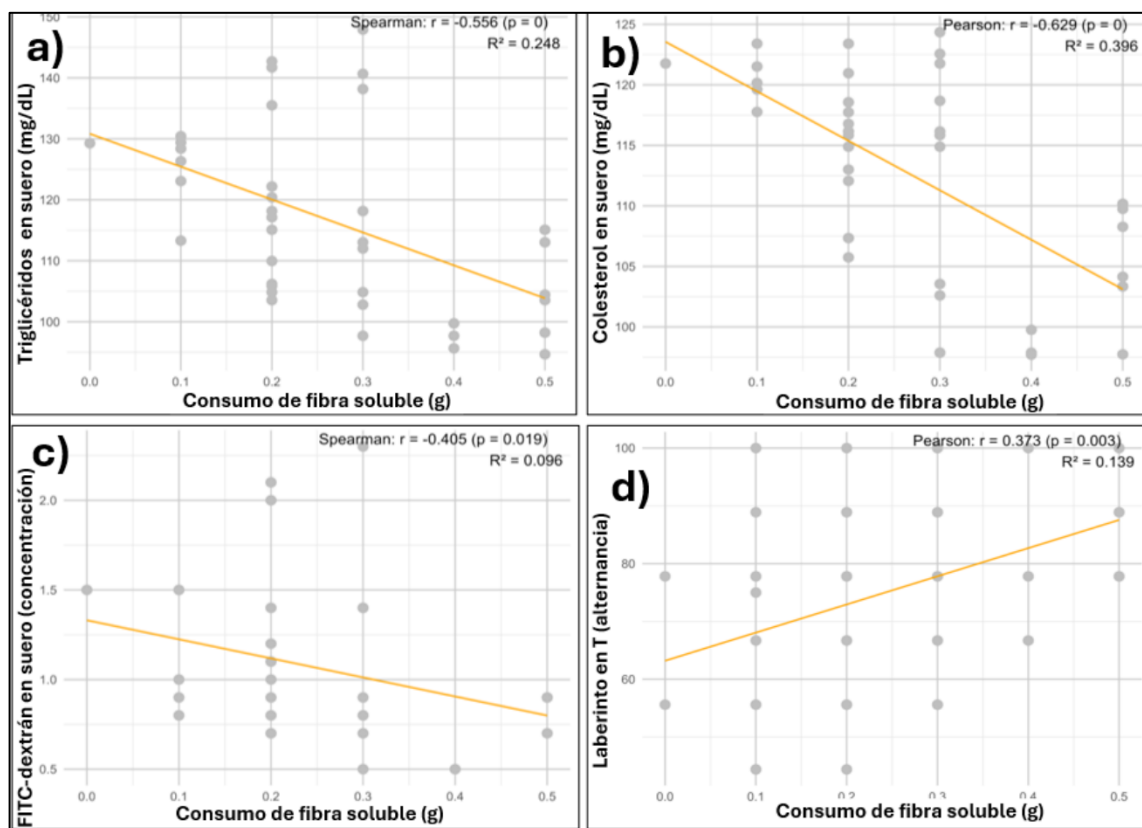


Figura 31. Correlaciones entre el consumo de fibra soluble y (a) triglicéridos en suero, (b) colesterol en suero, (c) FITC-dextrán en suero y (d) alternancia en el laberinto en T. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas.

La ingesta de alimentos, medida en gramos, mostró una correlación positiva con la acumulación de TAV ($r = 0.35$) y TASC ($r = 0.41$) (Figura 32 a-b). Asimismo, la ingesta calórica total se correlacionó positivamente con los niveles séricos de colesterol ($r = 0.41$) y negativamente con el consumo de fibra insoluble ($r = -0.31$) (Figura 32 c-d). El consumo excesivo de energía promueve el aumento de peso y la acumulación de tejido adiposo, tanto visceral como subcutáneo, lo cual se asocia con una mayor incidencia de dislipidemias y otras alteraciones metabólicas (Mayoral et al., 2020). Específicamente, el exceso de grasa visceral se ha vinculado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas debido a su papel en la inflamación sistémica y la resistencia a la insulina (Villarroya et al., 2018).

Por otro lado, el consumo de fibra insoluble se asocia con una menor ingesta de alimentos al promover la saciedad ($r = -0.31$). Este tipo de fibra aumenta el volumen del contenido gástrico sin aportar calorías adicionales, lo que contribuye a una sensación de plenitud y, por ende, a una reducción en la ingesta calórica total (McRorie & McKeown, 2017).

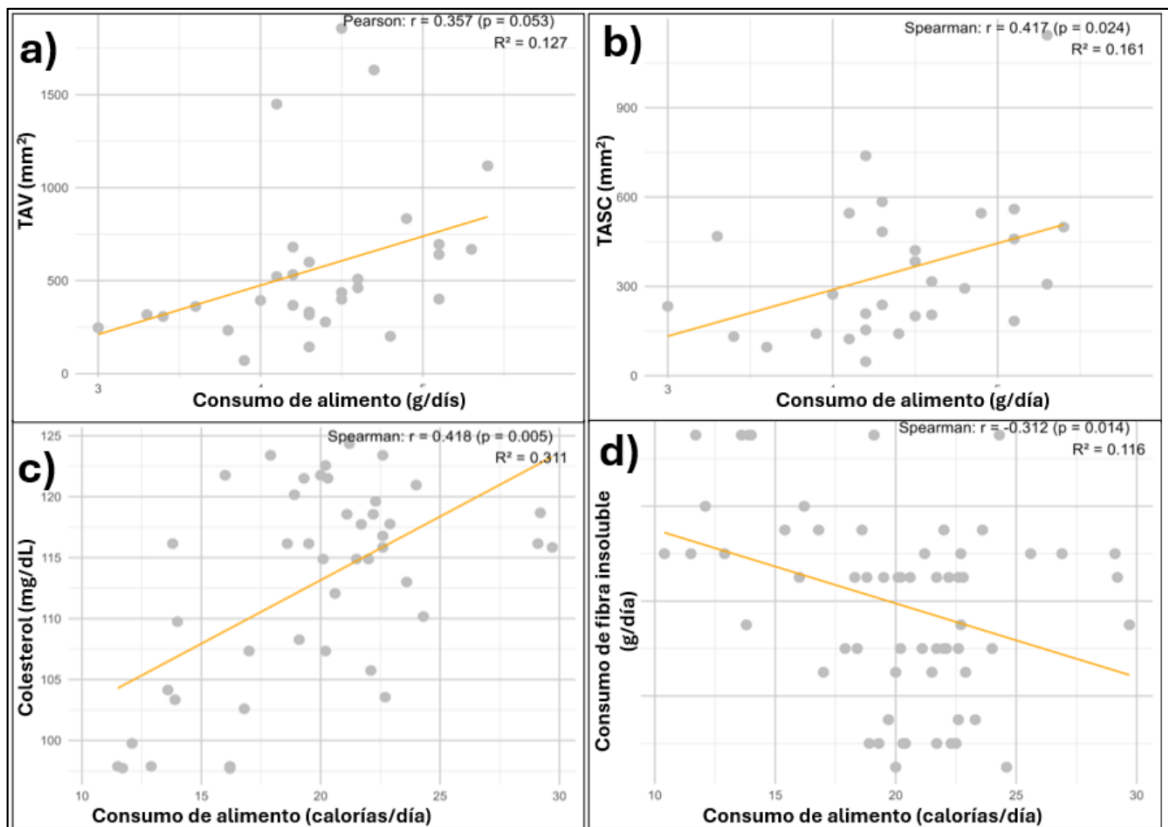


Figura 32. Correlaciones entre el consumo de alimento y (A) TAV, (B) TASC, (C) colesterol en suero y (D) consumo de fibra insoluble. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas. Abreviaturas: TAV = tejido adiposo visceral; TASC = tejido adiposo subcutáneo.

Las concentraciones séricas de IL-6 mostraron correlaciones positivas significativas con los niveles de LPS ($r = 0.45$), triglicéridos en suero ($r = 0.53$) y el número de células microglias en la subregión CA1 del hipocampo ($r = 0.55$) (Figura 33 a-c).

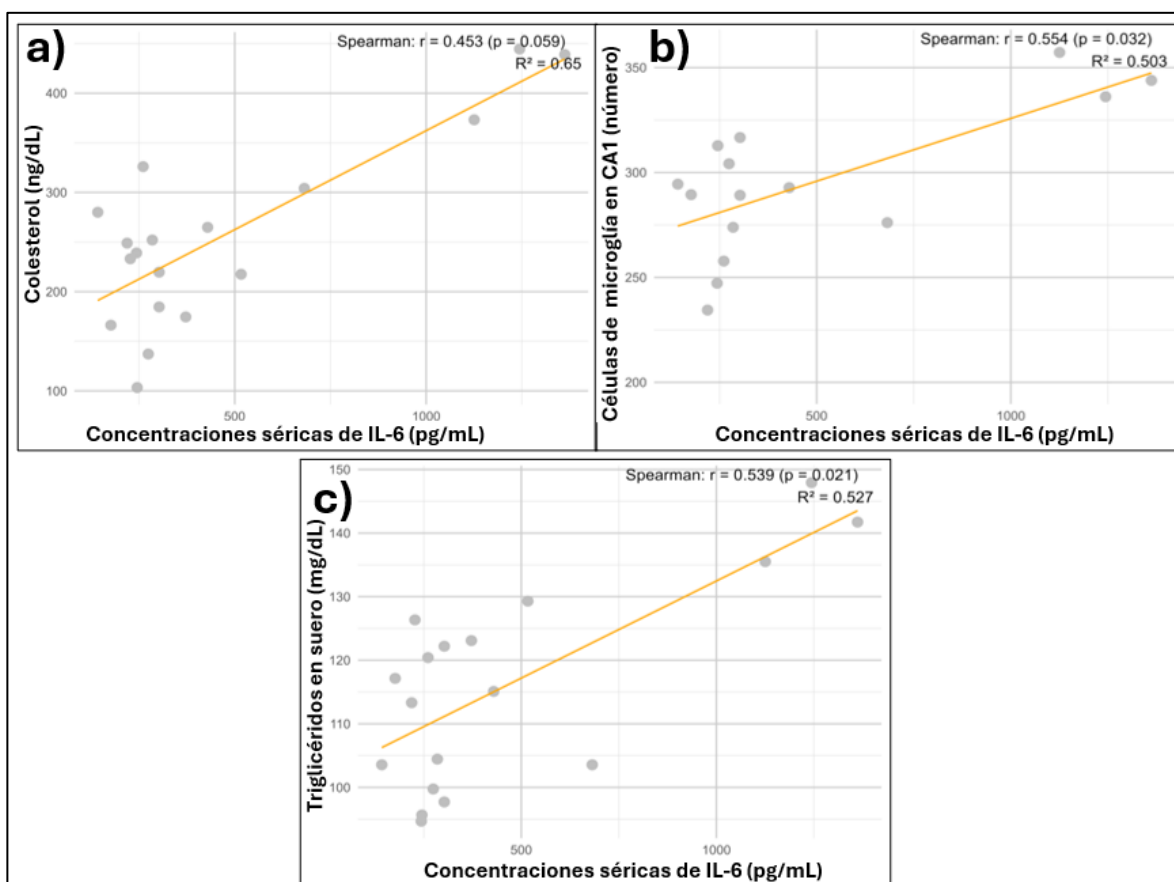


Figura 33. Correlaciones entre la concentración sérica de IL-6 y (A) concentración sérica de LPS, (B) triglicéridos en suero y (C) células de la microglía. Se presentan los datos brutos analizados mediante correlación de Pearson para variables paramétricas y correlación de Spearman para variables no paramétricas.

Estos hallazgos sugieren que el aumento de IL-6 en circulación podría ser consecuencia de una endotoxemia metabólica asociada a la disbiosis intestinal, a su vez, esta respuesta inflamatoria sistémica impactaría en la activación neuroinmunitaria de la microglía en regiones clave para la cognición. La IL-6 es una citocina proinflamatoria cuya expresión en el hipocampo puede ser inducida por la presencia de LPS, un componente de la membrana externa de bacterias gramnegativas. El LPS es reconocido por los receptores TLR4 ubicados en diversas células, incluidas las células de la microglía. En el contexto intestinal, el LPS, como parte de los componentes bacterianos, puede atravesar la barrera intestinal y llegar al sistema nervioso central, donde interactúa con la microglía del hipocampo. Esta

interacción activa una cascada de señalización intracelular, que implica la activación del factor de transcripción NF- κ B. Como resultado, se desencadena la transcripción de genes proinflamatorios, entre ellos la IL-6, promoviendo una respuesta inflamatoria en el hipocampo. Este mecanismo está estrechamente relacionado con la activación proinflamatoria del hipocampo mediada por la inflamación intestinal crónica, lo que puede contribuir a la disfunción neuronal y alteraciones cognitivas (Tan et al., 2021). Además, los niveles de IL-6 también pueden derivarse de la acumulación de tejido adiposo. En este sentido, la obesidad se caracteriza por una inflamación crónica de bajo grado en el tejido adiposo, donde los adipocitos y las células inmunitarias infiltradas, como los macrófagos, producen citocinas proinflamatorias, incluida la IL-6 (Ellulu et al., 2017). En la Tabla 19 se abrevian las correlaciones significativas (positivas y negativas) entre las diferentes variables.

Tabla 19. Correlaciones significativas entre las variables metabólicas, conductuales y el consumo de alimento.

	Laberinto en T (alternancia)	Consumo de compuestos fenólicos (mg)	Fibra insoluble (g)	Fibra soluble (g)	Consumo de alimento (g)	Consumo de alimento (energía)
Construcción de nidos (puntuación)	+					
Colesterol sérico (mg/dL)	-	-	-	-		+
FITC-dextrán sérico (μ g/mL)	-	-		-		
Triglicéridos en suero (mg/dL)	-	-	-	-		
Consumo de compuestos fenólicos (mg/g)	+					
Células de la microglía (no./mm ²)	-	-				
IL-6 en suero (pg/mL)		-				
Triglicéridos en heces (mg/dL)		+				
Laberinto en T (alternancia)			+	+		
TAV (mm ³)					+	
TASC (mm ³)					+	
Fibra insoluble (g)						-

Abreviaturas: IL= interleucina, TAV= tejido adiposo visceral, TASC= tejido adiposo subcutáneo.

8. CONCLUSIONES

Las hojas y semillas de *Phaseolus vulgaris* L. variedad Eugenia representan una fuente de compuestos fitoquímicos y nutrientes, con potencial para mejorar parámetros metabólicos, restaurar la integridad intestinal y favorecer funciones neurocognitivas. Este trabajo aporta evidencia novedosa al caracterizar metabolitos de bajo peso molecular en estas fracciones vegetales, siendo pionero en su tipo; así como, la identificación y la cuantificación del perfilado de compuestos fenólicos y flavonoides en las HF y las SF.

En el modelo murino, la DAGF indujo obesidad, acompañada de parámetros de inflamación intestinal, alteraciones en la composición corporal, disfunción de la barrera epitelial y deterioro cognitivo. No obstante, la inclusión dietaria de 10 % HF o 15 % SC atenuó estas alteraciones, reduciendo el peso corporal y los volúmenes de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo e incrementando la excreción fecal de lípidos, lo cual sugiere un efecto hipolipemiante relacionado con la inhibición de la lipasa pancreática. Además, se observó una disminución en los triglicéridos séricos y recuperación de las vellosidades intestinales, con un notable aumento en el grosor de la capa mucosa; dichos efectos fueron acentuados con 10 % HF.

Ambos alimentos también normalizaron los niveles de LPS e IL-6 en suero y aumentaron la expresión relativa de IL-10 en el hipocampo, evidenciando un efecto inmunomodulador sistémico asociado al consumo de fibra y compuestos fenólicos. Así mismo, se documentaron mejoras conductuales (construcción de nidos, alternancia en laberinto en T y reconocimiento de lugar novedoso), junto con una modulación favorable de la morfología microglial en la región CA1 del hipocampo, consistente con un estado homeostático.

Los hallazgos refuerzan la conexión entre salud intestinal y función cerebral en el eje intestino-cerebro, mostrando que los ingredientes funcionales del frijol (en mayor medida las hojas, pero también las semillas) pueden revertir las alteraciones

inducidas por dietas obesogénicas y ofrecer una estrategia preventiva frente a la inflamación crónica y el deterioro cognitivo.

Por su parte, el tratamiento con DEP también fue efectivo para contrarrestar los efectos de la DAGF, reduciendo la ingesta energética, los triglicéridos y el colesterol sérico. Además, la DEP promovió una mejor integridad epitelial, mejoró la barrera intestinal y la endotoxemia y aumentó el grosor de la capa mucosa. Aunque se observó atrofia de vellosidades e infiltración linfoide, los efectos conductuales posterior al tratamiento con DEP fueron positivos, mejorando el desempeño en pruebas de memoria. A nivel microglial, se registró una reducción en células con morfología proinflamatoria, lo que sugiere un efecto neuroprotector asociado al cambio de dieta. En conjunto, los resultados respaldan el uso de dietas normocalóricas, ricas en fibra y compuestos bioactivos, como intervención integral frente a trastornos metabólicos, intestinales y neurológicos inducidos por la obesidad.

9. PERSPECTIVAS

A partir de los hallazgos obtenidos en esta investigación se pueden plantear diversas líneas de investigación orientadas a profundizar en los mecanismos de acción a través de los cuales el consumo de las HF y las SC de *Phaseolus vulgaris* ejercen sus efectos benéficos. Uno de los principales enfoques debe centrarse en caracterizar la influencia de estas fracciones vegetales sobre la diversidad y composición del microbioma, dado que los compuestos fenólicos y la fibra dietética presentes en ellas podrían ejercer efectos prebióticos relevantes. Se plantea que su fermentación en el colon promueve la producción de ácidos grasos de cadena corta AGCC, metabolitos clave en la regulación de la homeostasis metabólica e inmunológica.

En este sentido, resulta prioritario evaluar la activación de receptores acoplados a proteína G, FFAR2 y FFAR3, cuya estimulación por AGCC se ha asociado con mejoras en la sensibilidad a la insulina, regulación del apetito, incremento de la

secreción de péptidos intestinales (GLP-1, PYY) y reducción de la inflamación sistémica. El efecto de las HF y las SC sobre estos ejes moleculares podría consolidar su papel como agonistas metabólicos indirectos, con implicaciones terapéuticas en el manejo de la obesidad y sus comorbilidades.

Por otro lado, se plantea la necesidad de profundizar en los mecanismos celulares y moleculares asociados a la reducción de la inflamación, particularmente evaluando la posible inhibición de la vía de señalización de NF- κ B, factor clave en la transcripción de genes proinflamatorios, y la modulación de la actividad de las desacetilasas de histonas (HDAC). La inhibición de estas enzimas por metabolitos derivados de la dieta se ha relacionado con un entorno anti-inflamatorio.

De esta forma, se fortalecerá la evidencia sobre el potencial funcional y nutracéutico del frijol como alimento estratégico en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, así como en el diseño de dietas personalizadas basadas en alimentos tradicionales que promuevan el adecuado estado de salud.

10. BIBLIOGRAFÍA

Acosta Gallegos, J.A., Jiménez Hernández, Y., Sánchez García, B.M., Mendoza Hernández, F.M., Herrera Hernández, M.G., Salinas Pérez, R. A. & González Chavira, M. (2010). Flor de Mayo Eugenia, nueva variedad de frijol para riego y temporal en el centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 751–757. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342010000500017&lang=pt

Agustí, A., García-Pardo, M.P., López-Almela, I., Campillo, I., Maes, M., Romaní-Pérez, M., & Sanz, Y. (2018). Interplay between the gut-brain axis, obesity and cognitive function. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00155>

Albuquerque, A. (2014). Nodular lymphoid hyperplasia in the gastrointestinal tract in adult patients: A review. *World journal of gastrointestinal endoscopy*, 6(11), 534–541. <https://doi.org/10.4253/wjge.v6.i11.53>

Alonso-Castro, A.J., Serrano-Vega, R., Pérez Gutiérrez, S., Isiordia-Espinoza, M.A., & Solorio-Alvarado, C.R. (2022). Myristic acid reduces skin inflammation and nociception. *Journal of Food Biochemistry*, 46(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/JFBC.14013>

Al-Sadi, R., Khatib, K., Guo, S., Ye, D., Youssef, M. & Ma, T. (2011). Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 300(6), 1054–1064. <https://doi.org/10.1152%2Fajpgi.00055.2011>

Angelova, D. M., & Brown, D. R. (2019). Microglia and the aging brain: are senescent microglia the key to neurodegeneration? *Journal of Neurochemistry*, 151(6), 676–688. <https://doi.org/10.1111/JNC.14860>

Aravindakshan, S., Nguyen, T.H.A., Kyomugasho, C., Buvé, C., Dewettinck, K., Van Loey, A., & Hendrickx, M.E. (2021). The impact of drying and rehydration on the structural properties and quality attributes of pre-cooked dried beans. *Foods*, 10(7), 1–19. <https://doi.org/10.3390/foods10071665>

Arreola Galván, N. (2025). *Efecto del consumo de frijol (hoja y semilla) en la modulación de genes regulados por el factor Nrf2 implicados en el metabolismo de lípidos en un modelo in vivo de esteatosis hepática/MAFLD* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional UAQ. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/4209>

Animal Research: Reporting In Vivo Experiments (ARRIVE). (2010): *Guidelines*. <https://arriveguidelines.org/>.

Baek, S., Choi, N.H., Lee, K.P., Jhun, H., & Kim, J. (2018). *Smallanthus sonchifolius* leaf attenuates neuroinflammation. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 22(2), 31–35. <https://doi.org/10.20463/JENB.2018.0014>

Baxter, P.S., Dando, O., Emelianova, K., He, X., McKay, S., Hardingham, G.E. & Qiu, J. (2021). Microglial identity and inflammatory responses are controlled by the combined effects of neurons and astrocytes. *Cell Reports*, 34(12), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108882>

Becerril-Campos, A.A., Ocampo-Anguiano, P.V., Mondragón-Jacobo, C., Escobar-García, K., Camacho Barrón, M., Anaya-Loyola, M.A., Feregrino-Pérez, A.A., García-Gasca, T., & Ahumada-Solórzano, S.M. (2022). *Phaseolus vulgaris* L. leaves increase short-chain fatty acid (SCFA) production, ameliorating early metabolic alterations. *Plant Foods for Human Nutrition*. 77, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-00992-1>

Becerril-Campos, A.A., Ramos-Gómez, M., De Los Ríos-Arellano, E.A., Ocampo-Anguiano, P.V., González-Gallardo, A., Macotela, Y., García-Gasca, T., & Ahumada-Solórzano, S. M. (2023). Bean leaves ameliorate lipotoxicity in fatty liver disease. *Nutrients*, 15 (13), 1–22. <https://doi.org/10.3390/NU15132928>

Bedoya, R.A. & Maldonado, M.E. (2022). Características nutricionales y antioxidantes de la especie de frijol petaco (*Phaseolus coccineus*). *Revista Chilena de Nutrición*, 49 (1), 34–42. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182022000100034>

Bennett, F.C., Bennett, M.L., Yaqoob, F., Mulinyawe, S.B., Grant, G.A., Hayden Gephart, M., Plowey, E.D. & Barres, B.A. A Combination of ontogeny and CNS environment establishes microglial identity. *Neuron*, 98(6): 1170–1183. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.014>

Bian, Y., Lei, J., Zhong, J., Wang, B., Wan, Y., Li, J., Liao, C., He, Y., Liu, Z., Ito, K., & Zhang, B. (2022). Kaempferol reduces obesity, prevents intestinal inflammation, and modulates gut microbioma in high-fat diet mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 99, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108840>

Buckley, A., & Turner, J. R. (2018). Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10 (1), 1–16. a029314. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A029314>

Buettner, R., Schölmerich, J., & Bollheimer, L.C. (2007). High-fat diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*, 15(4), 798–808. <https://doi.org/10.1038/OBY.2007.608>

Cai, D., & Liu, T. (2011). Hypothalamic inflammation: a double-edged sword to nutritional diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1243(1), 1–39. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2011.06388.X>

Calabrese, L. (2025). Remission of OCD and ulcerative colitis with a ketogenic diet: Case Report. *Frontiers in Psychiatry*, 16, 1–8. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2025.1541414>

Campos-Nonato, I., Galván-Valencia, Ó., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., & Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: resultados de la ENSANUT 2022. *Salud Pública de México*, 65, 238–247. <https://doi.org/10.21149/14809>

Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Pedraza-Aboytes, G., Acosta-Gallegos, J. A., Guzmán-Maldonado, S. H., Paredes-López, O., Oomah, B. D., & Loarca-Piña, G. (2009). Chemical composition and *in vitro* polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science*, 74(7), 59–65. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2009.01292.X>

Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M.A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, 28(2), 203–209. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4367209/>

Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (CEDRSSA). (2020). *Mercado del frijol, situación y prospectiva. Cámara de diputados*. [http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/53Mercado del frijol.pdf](http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/53Mercado%20del%20frijol.pdf)

Chae, Y. R., Lee, Y. R., Kim, Y. S., & Park, H. Y. (2024). Diet-induced gut dysbiosis and leaky gut syndrome. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34 (4), 747–756. <https://doi.org/10.4014/JMB.2312.12031>

Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from Mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22(8), 1–32. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES22081360>

Chen, C., Zeng, Y., Xu, J., Zheng, H., Liu, J., Fan, R., Zhu, W., Yuan, L., Qin, Y., Chen, S., Zhou, Y., Wu, Y., Wan, J., Mi, M., & Wang, J. (2016). Therapeutic effects of soluble dietary fiber consumption on type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(2), 1232–1242. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3377>

Chenghan, M., Wanxin, L., Bangcheng, Z., Yao, H., Qinxin, L., Ting, Z., Xiaojie, L., Kun, Z., Yingqian, Z., & Zhihui, Z. (2025). Short-chain fatty acids mediate gut microbiota–brain communication and protect the blood–brain barrier integrity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1545(1), 116–131. <https://doi.org/10.1111/NYAS.15299>

Chen, H., Wu, S., Lu, R., Zhang, Y.G., Zheng, Y., & Sun, J. (2014). Pulmonary permeability assessed by fluorescent-labeled dextran instilled intranasally into mice

with LPS-induced acute lung injury. *PLoS One*, 9(7), 1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101925>

Chiazza, F., Bondi, H., Masante, I., Ugazio, F., Bortolotto, V., Canonico, P. L. & Grilli, M. (2021). Short high fat diet triggers reversible and region specific effects in DCX+ hippocampal immature neurons of adolescent male mice. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01059-y>

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration. *Annual Review of Immunology*, 35, 441–468. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-051116-052358>

Coppola, S., Avagliano, C., Calignano, A., & Berni Canani, R. (2021). The protective role of butyrate against obesity and obesity-related diseases. *Molecules*, 26 (3), 1–19. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26030682>

Costes, L.M.M., Lindenbergh-Kortleve, D.J., van Berkel, L.A., Veenbergen, S., Raatgeep, H.R.C., Simons-Oosterhuis, Y., van Haaften, D.H., Karrich, J.J., Escher, J.C., Groeneweg, M., Clausen, B.E., Cupedo, T., & Samsom, J.N. (2019). IL-10 signaling prevents gluten-dependent intraepithelial CD4+ cytotoxic T lymphocyte infiltration and epithelial damage in the small intestine. *Mucosal Immunology*, 12(2), 479–490. <https://doi.org/10.1038/S41385-018-0118-0>

Cui, Y., Zhang, Z., Zhou, X., Zhao, Z., Zhao, R., Xu, X., Kong, X., Ren, J., Yao, X., Wen, Q., Guo, F., Gao, S., Sun, J. and Wan, Q. (2021) Microglia and macrophage exhibit attenuated inflammatory response and ferroptosis resistance after RSL3 stimulation via increasing Nrf2 expression. *Journal of Neuroinflammation*, 18, 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12974-021-02231-X>

d’Isa, R., Comi, G., & Leocani, L. (2021). Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-00402-7>

De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Zitoun, C., Duchampt, A., Bäckhed, F., & Mithieux, G. (2016). Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis. *Cell Metabolism*, 24(1), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.013>

Deacon RM, Rawlins JN. Hippocampal lesions, species-typical behaviours and anxiety in mice. *Behavioural brain research*. 2005 Jan 30;156(2):241-9. doi: [10.1016/j.bbr.2004.05.027](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.05.027)

Deacon, R.M., Rawlins, J.N. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*, 1, 7–12. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2006.2>

Deacon, R.M. (2012). Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *JoVE Journal*, 59, 1–11. <https://doi.org/10.3791/2607>

Deczkowska, A., Keren-Shaul, H., Weiner, A., Colonna, M., Schwartz, M., & Amit, I. (2018). Disease-associated microglia: A universal immune sensor of neurodegeneration. *Cell*, 173(5), 1073–1081. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.003>

Desai, M.S., Seekatz, A.M., Koropatkin, N.M., Kamada, N., Hickey, C.A., Wolter, M., Pudlo, N.A., Kitamoto, S., Terrapon, N., Muller, A., Young, V.B., Henrissat, B., Wilmes, P., Stappenbeck, T.S., Núñez, G., & Martens, E.C. (2016). A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*, 167(5), 1–37. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.10.043>

Deshpande, S. & Cheryan, M. (1987). Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. *Journal of Food Science*, 52, 332–334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb06606.x>

Díaz Urbina, D., Escartín Pérez, R.E., López Alonso, V.E., & Mancilla Díaz, J.M. (2018). Efectos de una dieta con alto contenido de grasas sobre patrones conductuales alimentarios. *Acta Colombiana de Psicología*, 21(1), 95–105. <https://doi.org/10.14718/ACP.2018.21.1.5>

Dini, I., Tenore, G.C., & Dini, A. (2009). Saponins in *Ipomoea batatas* tubers: isolation, characterization, quantification and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 113(2), 411–419. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.07.053>

Do, M.H., Lee, E., Oh, M.J., Kim, Y., & Park, H.Y. (2018). High-glucose or-fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change. *Nutrients*, 10(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu10060761>

Domínguez-López, I., Parilli-Moser, I., Arancibia-Riveros, C., Tresserra-Rimbau, A., Martínez-González, M.A., Ortega-Azorín, C., Salas-Salvadó, J., Castañer, O., Lapetra, J., Arós, F., Fiol, M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Gómez-Gracia, E., Ros, E., Lamuela-Raventós, R.M., & Estruch, R. (2021). Urinary tartaric acid, a biomarker of wine intake, correlates with lower total and LDL cholesterol. *Nutrients*, 13(8), 1–12. <https://doi.org/10.3390/NU13082883>

Dudchenko, P.A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(7), 699–709. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002>

Eggen, B. J. L., Raj, D., Hanisch, U. K., & Boddeke, H. W. G. M. (2013). Microglial phenotype and adaptation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(4), 807–823. <https://doi.org/10.1007/S11481-013-9490-4>,

Ello-Martin, J.A., Ledikwe, J.H., & Rolls, B.J. (2005). The influence of food portion size and energy density on energy intake: implications for weight management. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(1), 236–241. <https://doi.org/10.1093/ajcn/82.1.236s>

Ellulu, M.S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., & Abed, Y. (2017). Obesity & inflammation: The linking mechanism & the complications. *Archives of Medical Science*, 13(4), 851–863. <https://doi.org/10.5114/AOMS.2016.58928>

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-2019 (ENSANUT). (2020). *Resultados Nacionales*. https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_informe_final.pdf

Erny, D., De Angelis, A.L.H., Jaitin, D., Wieghofer, P. Staszewski, O., David, E., Keren-Shaul, H., Mhlakoi, T., Jakobshagen, K., Buch, T., Schwierzeck, V., Utermöhlen, O., Chun, E., Garrett, W., McCoy, K., Diefenbach, A., Staeheli, P., Stecher, B., Amit, I., & Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control the maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*, 18(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>

Escobar-Ortiz, A., Hernández-Saavedra, D., Lizardi-Mendoza, J., Pérez-Ramírez, I. F., Mora-Izaguirre, O., Ramos-Gómez, M., & Reynoso-Camacho, R. (2022). Consumption of cricket (*Acheta domesticus*) flour decreases insulin resistance and fat accumulation in rats fed with high-fat and -fructose diet. *Journal of Food Biochemistry*, 46(9), 1–15. <https://doi.org/10.1111/JFBC.14269>

Fang, W., Xue, H., Chen, X., Chen, K., & Ling, W. (2019). Supplementation with sodium butyrate modulates the composition of the gut microbiota and ameliorates high-fat diet-induced obesity in mice. *Journal of Nutrition*, 149(5), 747–754. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy324>

Farré, R., Fiorani, M., Rahiman, S.A., & Matteoli, G. (2020). Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. *Nutrients*, 12(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/NU12041185>

Feregrino-Pérez, A.A., Berumen, L.C., García-Alcocer, G., Guevara-González, R.G., Ramos-Gómez, M., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J.A., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18, 8737–8744. <https://doi.org/10.1021/jf8007162>

Fernández-Arjona, M. del M., Grondona, J.M., Granados-Durán, P., Fernández-Lliebrez, P., & López-Avalos, M.D. (2017). Microglia morphological categorization in a rat model of neuroinflammation by hierarchical cluster and principal components

analysis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 1–22. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2017.00235/BIBTEX>

Figuerola-Pérez, M.G., Rocha-Guzmán, N.E., Pérez-Ramírez, I.F., Mercado-Silva, E., & Reynoso-Camacho, R. (2014). Metabolite profile, antioxidant capacity, and inhibition of digestive enzymes in infusions of peppermint (*Mentha piperita*) grown under drought stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(49), 12027–12033. <https://doi.org/10.1021/JF503628C>

Fogwe, L.A., Reddy, V., & Mesfin, F.B. (2021). In Library of medical education StatPearls. *Neuroanatomy, Hippocampus*. (pp.1 -6) StatPearls. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482171/>

Food and agriculture organization of the United Nations (FAO). (2004). *Older adults and the elderly. Human Energy Requirements*. <https://www.fao.org/3/y5686e/y5686e09.htm#bm9>

Ganesan, K. & Xu, B. (2017). Polyphenol-rich dry common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1–26. <https://doi.org/10.3390/IJMS18112331>

Garcia, G., Nanni, S., Figueira, I., Ivanov, I., McDougall, G.J., Stewart, D., Ferreira, R.B., Pinto, P., Silva, R.F.M., Brites, D., & Santos, C.N. (2017). Bioaccessible polyphenol metabolites from raspberry protect neural cells from oxidative stress and attenuate microglia activation. *Food Chemistry*, 215, 274–283. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.128>

Gomes, A.C., Hoffmann, C., & Mota, J.F. (2018). The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*, 9(4), 308–325. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1465157>

Gosselin, D., Skola, D., Coufal, N.G., Holtman, I.R., Schlachetzki, J.C.M., Sajti, E., Jaeger, B.N., O'Connor, C., Fitzpatrick, C., Pasillas, M.P., Pena, M., Adair, A., Gonda, D.D., Levy, M.L., Ransohoff, R.M., Gage, F.H. & Glass, C.K. (2017). An environment-dependent transcriptional network specifies human microglia identity. *Science*, 356(6344), 1–28. doi:10.1126/science.aal3222

Gronke, K., Kofoed-Nielsen, M., & Diefenbach, A. (2016). Innate lymphoid cells, precursors and plasticity. *Immunology Letters*, 179, 9–18. <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2016.07.004>

Guan, Z. W., Yu, E. Z., & Feng, Q. (2021). Soluble Dietary Fiber, One of the Most Important Nutrients for the Gut Microbiota. *Molecules*, 26(22), 1–15. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26226802>

Hadrévi, J., Søgaaard, K., & Christensen, J. R. (2017). Dietary fiber intake among normal-weight and overweight female health care workers: An exploratory nested case-control study within FINALE-Health. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2017/1096015>

Han, D., Wu, Y., Lu, D., Pang, J., Hu, J., Zhang, X., Wang, Z., Zhang, G., & Wang, J. (2023). Polyphenol-rich diet mediates interplay between macrophage-neutrophil and gut microbiota to alleviate intestinal inflammation. *Cell Death & Disease*, 14(10), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06190-4>

Han, M., Zhang, C., Suglo, P., Sun, S., Wang, M., & Su, T. (2021). L-aspartate: An essential metabolite for plant growth and stress acclimation. *Molecules*, 26(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26071887>

Hanamsagar, R., & Bilbo, S.D. (2017). Environment matters: microglia function and dysfunction in a changing world. *Current Opinion in Neurobiology*, 47, 146–155. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2017.10.007>

Hayes, A.M.R., Lauer, L.T., Kao, A.E., Sun, S., Klug, M.E., Tsan, L., Rea, J.J., Subramanian, K.S., Gu, C., Tanios, N., Ahuja, A., Donohue, K.N., Décarie-Spain, L., Fodor, A.A., & Kanoski, S.E. (2023). Western diet consumption impairs memory function via dysregulated hippocampus acetylcholine signaling. *BioRxiv*, 118, 1–40. <https://doi.org/10.1101/2023.07.21.550120>

Heredia-Ortega, J., Aguilera, T., Resis, M., & Bernal, K. (2014). Fibra dietética total: métodos de determinación en pastas de oleaginosas. *MEMORIAS*, 91–102. <https://promep.sep.gob.mx/archivospdf/MEMORIAS/Producto2013142.PDF>

Hernández, A.G., & Ruiz López, M.D. (2010). Capítulo 15: Compuestos bioactivos de los alimentos de origen vegetal. En Editorial Médica Panamericana, *Tratado de Nutrición, Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos* (pp: 397–428). Editorial Médica Panamericana.

Herrera-Rocha, K.M., Rocha-Guzmán, N.E., Gallegos-Infante, J.A., González-Laredo, R.F., Larrosa-Pérez, M. & Moreno-Jiménez, M.R. 2022. Phenolic acids and flavonoids in acetonc extract from Quince (*Cydonia oblonga mill*): Nutraceuticals with antioxidant and antiinflammatory potential. *Molecules*, 27(8), 1–14. <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules27082462>

Hinwood, M., Tynan, R.J., Day, T.A., & Walker, F.R. (2011). Repeated social defeat selectively increases δ fosB expression and histone h3 acetylation in the infralimbic medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 21(2), 262–271. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHQ080>

Holeček, M. (2023). Aspartic acid in health and disease. *Nutrients*, 15(18), 1–25. <https://doi.org/10.3390/NU15184023>

Hopkins, M., Gibbons, C., Caudwell, P., Blundell, J.E. & Finlayson, G. (2016). Differing effects of high-fat or high-carbohydrate meals on food hedonics in overweight and obese individuals. *The British Journal of Nutrition*, 115(10), 1875–1884. <https://doi.org/10.1017/S0007114516000775>

Horne, R.G., Yu, Y., Zhang, R., Abdalqadir, N., Rossi, L., Surette, M., Sherman, P.M., & Adeli, K. (2020). High fat-high fructose diet-induced changes in the gut microbiota associated with dyslipidemia in Syrian hamsters. *Nutrients*, 12(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/nu12113557>

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). (2023). *Superficie sembrada o plantada por Cultivo*. <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/>

Ismail, E.N., Jantan, I., Vidyadaran, S., Jamal, J.A., & Azmi, N. (2020). Phyllanthus amarus prevents LPS-mediated BV2 microglial activation via MyD88 and NF-κB signaling pathways. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12906-020-02961-0>

Jenkins, D.J., Kendall, C.W., Augustin, L.S., Mitchell, S., Sahye-Pudaruth, S., Blanco Mejia, S., Chiavaroli, L., Mirrahimi, A., Ireland, C., Bashyam, B., Vidgen, E., De Souza, R.J., Sievenpiper, J.L., Coveney, J., Leiter, L.A., & Josse, R.G. (2012). Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*, 172(21), 1653–1660. <https://doi.org/10.1001/2013.JAMAINTERNMED.70>

Jensen, C.J., Massie, A. & de Keyser, J. (2013). Immune players in the CNS: The astrocyte. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(4), 824–839. <https://doi.org/10.1007/S11481-013-9480-6>,

Jiang, Q.L., Lu, Y., Zhang, M.J., Cui, Z.Y., Pei, Z.M., Li, W.H., Lu, L.G., Wang, J.J., & Lu, Y.Y. (2022). Mucosal bacterial dysbiosis in patients with nodular lymphoid hyperplasia in the terminal ileum. *World Journal of Gastroenterology*, 28(8), 811–824. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i8.811>

John, H.S., Doucet, É., & Power, K.A. (2023). Dietary pulses as a means to improve the gut microbiome, inflammation, and appetite control in obesity. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24(9), 1–15. <https://doi.org/10.1111/OBR.13598>

Johnson, L.A., Zuloaga, K.L., Kugelman, T.L., Mader, K.S., Morré, J.T., Zuloaga, D.G., Weber, S., Marzulla, T., Mulford, A., Button, D., Lindner, J.R., Alkayed, N.J., Stevens, J.F., & Raber, J. (2016). Amelioration of metabolic syndrome-associated cognitive impairments in mice via a reduction in dietary fat content or infusion of non-

diabetic plasma. *EBioMedicine*, 3, 26–42.
<https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2015.12.008>

Jose, S., Mukherjee, A., Horrigan, O., Setchell, K.D.R., Zhang, W., Moreno-Fernandez, M.E., Andersen, H., Sharma, D., Haslam, D.B., Divanovic, S., & Madan, R. (2020). Obeticholic acid ameliorates severity of *Clostridioides difficile* infection in high fat diet-induced obese mice. *Mucosal Immunology*, 14(2), 500–510. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-00338-7>

Jurga, A.M., Paleczna, M., & Kuter, K.Z. (2020). Overview of general and discriminating markers of differential microglia phenotypes. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14(198), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00198>

Kadyan, S., Park, G., Hochuli, N., Miller, K., Wang, B., & Nagpal, R. (2024). Resistant starches from dietary pulses improve neurocognitive health via gut-microbiome-brain axis in aged mice. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1–15. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2024.1322201/FULL>

Kaosombatwattana, U., Limsrivilai, J., Pongpaibul, A., Maneerattanaporn, M., & Charatcharoenwitthaya, P. (2017). Severe enteropathy with villous atrophy in prolonged mefenamic acid users - a currently under-recognized in previously well-recognized complication: Case report and review of literature. *Medicine*, 96(44), 1–8. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008445>

Kaplan, J. L., Marshall, M. A., McSkimming, C. C., Harmon, D. B., Garmey, J. C., Oldham, S. N., Hallowell, P., & McNamara, C. A. (2015). Adipocyte progenitor cells initiate monocyte chemoattractant protein-1-mediated macrophage accumulation in visceral adipose tissue. *Molecular Metabolism*, 4(11), 781–794. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMET.2015.07.010>

Karperien, A., Ahammer, H., & Jelinek, H.F. (2013). Quantitating the subtleties of microglial morphology with fractal analysis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7, 1–34. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2013.00003/XML/NLM>

Kerchner, G.A., Deutsch, G.K., Zeineh, M., Dougherty, R.F., Saranathan, M., & Rutt, B.K. (2012). Hippocampal CA1 apical neuropil atrophy and memory performance in Alzheimer's disease. *NeuroImage*, 63(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2012.06.048>

Keren-Shaul, H., Spinrad, A., Weiner, A., Matcovitch-Natan, O., Dvir-Szternfeld, R., Ulland, T.K. & Amit, I. (2017). A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease. *Cell*, 169(7), 1276–1290. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.018>

- Kerkis, I., Silva, Á.P. da, & Araldi, R.P. (2024). The impact of interleukin-6 (IL-6) and mesenchymal stem cell-derived IL-6 on neurological conditions. *Frontiers in Immunology*, 15, 1–11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2024.1400533>
- Khumalo, G.P., Loa-Kum-Cheung, W., Van Wyk, B.E., Feng, Y., & Cock, I. E. (2024). Leaf extracts of eight selected southern African medicinal plants modulate pro-inflammatory cytokine secretion in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Inflammopharmacology*, 32(2), 1607–1620. <https://doi.org/10.1007/S10787-023-01420-9>
- Kim, D.C., Yoon, C.S., Quang, T.H., Ko, W., Kim, J.S., Oh, H., & Kim, Y.C. (2016). Prenylated flavonoids from *Cudrania tricuspidata* suppress lipopolysaccharide-induced neuroinflammatory activities in BV2 microglial cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/IJMS17020255>
- Kim, S.J., Kim, S.E., Kim, A.R., Kang, S., Park, M.Y. & Sung, M.K. (2019). Dietary fat intake and age modulate the composition of the gut microbiota and colonic inflammation in C57BL/6J mice. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12866-019-1557-9>
- Kivimäki, M., Singh-Manoux, A., Nyberg, S., Jokela, M., & Virtanen, M. (2015). Job strain and risk of obesity: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *International Journal of Obesity*, 39(11), 1597–1600. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.103>
- Kraus, D., Yang, Q., & Kahn, B. B. (2015). Lipid extraction from mouse feces. *Bio Protocol Journal*, 5(1), 1–5. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.1375>
- Kundumani-Sridharan, V., Subramani, J., Raghavan, S., Maiti, G.P., Owens, C., Walker, T., Wasnick, J., Idell, S. & Kumuda, C. (2019). Short-duration hyperoxia causes genotoxicity in mouse lungs: protection by volatile anesthetic isoflurane. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 316, 903–917. <https://doi.org/10.1152/AJPLUNG.00142.2018>
- Lail, H.L., Feresin, R.G., Hicks, D., Stone, B., Price, E., & Wanders, D. (2021). Berries as a treatment for obesity-induced inflammation: Evidence from preclinical models. *Nutrients*, 13(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/nu13020334>
- Lalonde, R. (2002). The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(1), 91–104. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00041-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00041-0)
- Lecomte, V., Kaakoush, N.O., Maloney, C.A., Raipuria, M., Huinao, K.D., Mitchell, H.M., & Morris, M.J. (2015). Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PLoS ONE*, 10(5), 1–22. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0126931>

Lee, G., Park, J.S., Lee, E.J., Ahn, J.H., & Kim, H.S. (2019). Anti-inflammatory and antioxidant mechanisms of urolithin B in activated microglia. *Phytomedicine*, 55, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.06.032>

Lei, F., Zhang, X.N., Wang, W., Xing, D.M., Xie, W.D., Su, H. & Du, L.J. (2007). Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *International Journal of Obesity*, 31(6), 1023–1029. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803502>

León-Pedroza, J.I., González-Tapia, L.A., Del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y Cirujanos*, 83(6), 543–551. <https://doi.org/10.1016/J.CIRCIR.2015.05.041>

Leyh, J., Winter, K., Reinicke, M., Ceglarek, U., Bechmann, I., & Landmann, J. (2021). Long-term diet-induced obesity does not lead to learning and memory impairment in adult mice. *PLoS ONE*, 16(9), 1–33. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0257921>

Li, H., Xiao, H. yun, Yuan, L. ping, Yan, B., Pan, Y., Tian, P. ping, & Zhang, W. Jie. (2023). Protective effect of L-pipecolic acid on constipation in C57BL/6 mice based on gut microbiome and serum metabolomic. *BMC Microbiology*, 23(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12866-023-02880-3>

Li, J.M., Yu, R., Zhang, L.P., Wen, S. Y., Wang, S.J., Zhang, X. Y., Xu, Q. & Kong, L.D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, 7, 1–14. <https://doi.org/10.1186/S40168-019-0713-7>

Li, N., Liu, X., Zhang, J., Lang, Y. Z., Lu, L., Mi, J., Cao, Y.L., Yan, Y.M., & Ran, L.W. (2022). Preventive effects of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray in high-fat diet-induced obese mice are related to the regulation of Intestinal microbiota and inhibition of pancreatic lipase activity. *Molecules*, 27(7), 1–18. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27072141/S1>

Li, X., Guo, J., Ji, K., & Zhang, P. (2016). Bamboo shoot fiber prevents obesity in mice by modulating the gut microbiota. *Scientific Reports*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.1038/SREP32953>

Liu, J., Hefni, M. E., Witthöft, C. M., Bergström, M., Burleigh, S., Nyman, M., & Hållénus, F. (2022). Effects of whole brown bean and its isolated fiber fraction on plasma lipid profile, atherosclerosis, gut microbiota, and microbiota-dependent metabolites in Apoe^{-/-} mice. *Nutrients*, 14(5), 1–17. <https://doi.org/10.3390/NU14050937/S1>

Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S.C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2, 1–9. <https://doi.org/10.1038/SIGTRANS.2017.23>

Liu, X.J., Duan, N.N., Liu, C., Niu, C., Liu, X. P. & Wu, J. (2018a). Characterization of a murine nonalcoholic steatohepatitis model induced by high fat high calorie diet plus fructose and glucose in drinking water. *Laboratory Investigation*, 98(9), 1184–1199. <https://doi.org/10.1038/s41374-018-0074-z>

Liu, Y., Zhang, Y., Zheng, X., Fang, T., Yang, X., Luo, X., Guo, A., Newell, K.A., Huang, X.F., & Yu, Y. (2018b). Galantamine improves cognition, hippocampal inflammation, and synaptic plasticity impairments induced by lipopolysaccharide in mice. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12974-018-1141-5>

Lobo-Silva, D., Carriche, G.M., Castro, A.G., Roque, S. & Saraiva, M. (2016). Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *Journal of Neuroinflammation*, 13(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12974-016-0763-8>

Lomas-Soria, C., Pérez-Ramírez, I.F., Caballero-Pérez, J., Guevara-González, R. G., Guevara-Olvera, L., Loarca-Piña, G., Guzmán-Maldonado, H.S. & Reynoso-Camacho, R. (2015). Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) modulate renal genes in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26, 761–768. <https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2015.02.006>

Lozano, I., Van der Werf, R., Bietiger, W., Seyfritz, E., Peronet, C., Pinget, M., Jeandidier, N., Maillard, E., Marchioni, E., Sigrist, S. & Dal, S. (2016). High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition & Metabolism*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12986-016-0074-1>

Lutsiv, T., Weir, T.L., McGinley, J.N., Neil, E.S., Wei, Y., & Thompson, H.J. (2021). Compositional changes of the high-fat diet-induced gut microbiota upon consumption of common pulses. *Nutrients*, 13(11), 1–20. <https://doi.org/10.3390/NU13113992/S1>

Ma, M., Simoes de Souza, F., Futia, G.L., Anderson, S.R., Rigüero, J., Tollin, D., Gentile-Polese, A., Platt, J.P., Steinke, K., Hiratani, N., Gibson, E.A., & Restrepo, D. (2024). Sequential activity of CA1 hippocampal cells constitutes a temporal memory map for associative learning in mice. *Current Biology*, 34 (4), 841-854. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2024.01.021>

Manole, E., Niculite, C., Lambrescu, I. M., Gaina, G., Ioghen, O., Ceafalan, L. C., & Hinescu, M. E. (2021). Macrophages and Stem cells—two to tango for tissue repair? *Biomolecules*, 11(5), 1–26. <https://doi.org/10.3390/BIOM11050697>

Mantovani, A., Dinarello, C.A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). IL-1 and related cytokines in innate and adaptive immunity in health and disease. *Immunity*, 50(4), 1–38. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2019.03.012>

Martínez Orozco, H. (2020). *Efecto de la dieta alta en grasa y fructosa sobre la memoria de reconocimiento y su relación con el ciclo de GABA-Glutamina_Glutamato en la corteza prefrontal e hipocampo de ratones C57BL/6* [Tesis Doctoral, Universidad de Guanajuato]. Repositorio Institucional de la Universidad de Guanajuato. <http://www.repositorio.ugto.mx/>

Martínez Tapia, R.J., & Estrada Rojo, F. (2018). Neuroinflamación: el ying-yang de la neuroinmunología. *Revista de La Facultad de Medicina de la UNAM*, 61(5), 44–53. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422018000500044

Martínez, A., Hériché, J.K., Calvo, M., Tischer, C., Otxoa-De-Amezaga, A., Pedragosa, J., Bosch, A., Planas, A.M., & Petegnief, V. (2023). Characterization of microglia behaviour in healthy and pathological conditions with image analysis tools. *Open Biology*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1098/RSOB.220200>

Martinez, K. B., Mackert, J. D., & McIntosh, M. K. (2017). Polyphenols and intestinal health. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging*, 18, 191–210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805376-8.00018-6>

Martínez-Orozco, H., Reyes-Castro, L.A., Lomas-Soria, C., Sandoval-Salazar, C., Ramírez-Emiliano, J., Díaz-Cintra, S. & Solís-Ortiz, S. (2022). High-fat and combined high-fat–high-fructose diets impair episodic-like memory and decrease glutamate and glutamine in the hippocampus of adult mice. *Nutritional Neuroscience*, 25(12), 2479–2489. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2021.1977452>

Martínez-Zavala, M., Mora-Avilés, M.A., Anaya-Loyola, M.A., Guzmán-Maldonado, H., Aguilera-Barreyro, A., Blanco-Labra, A., & García-Gasca, T. (2016). Common bean leaves as a source of dietary iron: Functional test in an iron-deficient rat model. *Plant Foods for Human Nutrition*, 3, 259–264. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0554-5>

Marzollo, A., Bresolin, S., Colavito, D., Cani, A., Gaio, P., Bosa, L., Mescoli, C., Rossini, L., Barzaghi, F., Perilongo, G., Leon, A., Biffi, A., & Cananzi, M. (2021). Case report: intestinal nodular lymphoid hyperplasia as first manifestation of activated PI3K δ syndrome due to a novel PIK3CD variant. *Frontiers in Pediatrics*, 9, 1–7. <https://doi.org/10.3389/FPED.2021.703056/BIBTEX>

Masuda, T., Sankowski, R., Staszewski, O., & Prinz, M. (2020). Microglia heterogeneity in the single-cell era. *Cell Reports*, 30(5), 1271–1281. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.01.010>

Matarese, L.E., & Gottschlich, M.M. (2004). Cap. 13 Fibra vegetal alimenticia. En Editorial Elsevier, *Nutrición clínica práctica* (pp: 187–195). Editorial Elsevier.

Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J.L., Vera-Guzmán, A.M., Aquino-Bolaños, E.N., Alba-Jiménez, J.E., & Villagómez-González, B.B. (2020). Edible leafy plants from Mexico as sources of antioxidant compounds, and their nutritional, nutraceutical and antimicrobial potential: A review. *Antioxidants*, 9(6), 1–24. <https://doi.org/10.3390/antiox9060541>

Mayangsari, Y., & Suzuki, T. (2018). Resveratrol ameliorates intestinal barrier defects and inflammation in colitic mice and intestinal cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(48), 12666–12674. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.8B04138/SUPPL_FILE/JF8B04138_SI_001.DOCX

Mayoral L.P., Andrade G.M., Mayoral E.P., Huerta T.H., Canseco S.P., Rodal Canales F.J., Cabrera-Fuentes H.A., Cruz M.M., Pérez Santiago A.D., Alpuche J.J., Zenteno E., Ruíz H.M., Cruz R.M., Jeronimo J.H., Perez-Campos E. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. *Indian Journal of Medical Research*, 151(1):11–21. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1768_17

McGinley, J.N., Fitzgerald, V.K., Neil, E.S., Omerigic, H.M., Heuberger, A.L., Weir, T.L., McGee, R., Vandemark, G. & Thompson, H.J. (2020). Pulse crop effects on gut microbial populations, intestinal function, and adiposity in a mouse model of diet-induced obesity. *Nutrients*, 12(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/NU12030593>

McRorie, J.W., & McKeown, N.M. (2017). Understanding the physics of Functional fibers in the gastrointestinal tract: An evidence-based approach to resolving enduring misconceptions about insoluble and soluble fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 117(2), 251–264. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2016.09.021>

Mendoza-Sánchez, M., Pérez-Ramírez, I.F., Wall-Medrano, A., Martínez-González, A.I., Gallegos-Corona, M.A., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Chemically induced common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sprouts ameliorate dyslipidemia by lipid intestinal absorption inhibition. *Journal of Functional Foods*, 52, 54–62. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2018.10.032>

Meng, Y., Li, X., Zhang, J., Wang, C., & Lu, F. (2019). Effects of different diets on microbiota in the small intestine mucus and weight regulation in rats. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44994-7>

Messing, A., & Brenner, M. (2020). GFAP at 50. *ASN NEURO*, 12, 1–23. <https://doi.org/10.1177/1759091420949680>

Milian Suazo, F. (1989). Algunos procedimientos para determinar tamaño de muestra en estudios epidemiológicos. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 27, 169–178. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V27I3.3533>

Mishra, S.P., Karunakar, P., Taraphder, S. & Yadav, H. (2020). Free fatty acid receptors 2 and 3 as microbial metabolite sensors to shape host health: Pharmacophysiological view. *Biomedicines*, 8(6), 1–45. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8060154>

Monk, J.M., Wu, W., Lepp, D., Peter Pauls, K., Robinson, L.E., & Power, K.A. (2021). Navy bean supplementation in established high-fat diet-induced obesity attenuates the severity of the obese inflammatory phenotype. *Nutrients*, 13(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/NU13030757>

Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J.F., & Miguel, M. (2018). High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*, 10(10), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu10101502>

Morrison, D.J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), 189–200. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082>

Mulati, A., Zhang, X., Zhao, T., Ren, B., Wang, L., Liu, X., Lan, Y., & Liu, X. (2021). Isorhamnetin attenuates high-fat and high-fructose diet induced cognitive impairments and neuroinflammation by mediating MAPK and NFκB signaling pathways. *Food & Function*, 12(19), 9261–9272. <https://doi.org/10.1039/D0FO03165H>

Muzio, L., Viotti, A., & Martino, G. (2021). Microglia in neuroinflammation and neurodegeneration: from understanding to therapy. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 1–25. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.742065>

Navabi, S.P., Badreh, F., Khombi Shooshtari, M., Hajipour, S., Moradi Vastegani, S., & Khoshnam, S.E. (2024). Microglia-induced neuroinflammation in hippocampal neurogenesis following traumatic brain injury. *Heliyon*, 10(16), 1–20. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E35869>

Neil, E.S., McGinley, J.N., Fitzgerald, V.K., Lauck, C.A., Tabke, J.A., Streeter-McDonald, M.R., Yao, L., Broeckling, C.D., Weir, T.L., Foster, M.T., & Thompson, H.J. (2019). White kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) consumption reduces fat accumulation in a polygenic mouse model of obesity. *Nutrients*, 11(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/NU11112780>

Ngoh, Y.Y., Choi, S.B., & Gan, C.Y. (2017). The potential roles of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto) bioactive peptides in regulating physiological

functions: Protease activating, lipase inhibiting and bile acid binding activities. *Journal of Functional Foods*, 33, 67–75. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.03.029>

Nie, Y., & Luo, F. (2021). Dietary fiber: an opportunity for a global control of hyperlipidemia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2021/5542342>

Diario Oficial de la Federación (DOF). (2011). *NMX-R-019-SCFI-2011 Sistema armonizado de clasificación y comunicación de peligros de los productos químicos*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5193142&fecha=03/06/2011#gs_c.tab=0

Noble, E.E., Hsu, T.M., & Kanoski, S.E. (2017). Gut to brain dysbiosis: mechanisms linking western diet consumption, the microbiome, and cognitive impairment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(9), 1–10. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2017.00009>

Noorafshan, A., Abdollahifar, M.A., Asadi-Golshan, R., Rashidian-Rashidabadi, A. & Karbalay-Doust, S. Curcumin and sertraline prevent the reduction of the number of neurons and glial cells and the volume of rats' medial prefrontal cortex induced by stress. *Acta Neurobiología Experimentalis*. 2014;74(1):44–53. <https://doi.org/10.55782/ane-2014-1971>

Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014. (2014). *Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres*. <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-033-sag-zoo-2014-metodos-para-dar-muerte-a-los-animales-domesticos-y-silvestres>.

Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005. (2005). *Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos*. <https://www.normasoficiales.mx/nom/nom-052-semarnat-2005>

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. (1999). *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-062-zoo-1999/>

Norma Oficial Mexicana NOM-087- ECOL-SSA1-2002. (2002). *Protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico – infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/680173/NOM-087-ECOL-SSA1-2002.pdf>

Noronha, S. S. R., Lima, P. M., Campos, G. S. V., Chírigo, M. T. T., Abreu, A. R., Figueiredo, A. B., Silva, F. C. S., Chianca, D. A., Lowry, C. A., & de Menezes, R. C. A. (2019). Association of high-fat diet with neuroinflammation, anxiety-like defensive

behavioral responses, and altered thermoregulatory responses in male rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 80, 500–511. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2019.04.030>

Norwitz, N. G., & Soto-Mota, A. (2024). Case report: Carnivore–ketogenic diet for the treatment of inflammatory bowel disease: a case series of 10 patients. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1–9. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2024.1467475>.

Ocampo Anguiano, P. V. (2019). *Efecto del consumo de hoja de frijol en ratas Wistar con dieta obesogénica*, [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/2618>

Ocampo-Anguiano, P. V., Victoria-Ruiz, L. L., Reynoso-Camacho, R., Olvera-Ramírez, A. M., Rocha-Guzmán, N. E., Ramos-Gómez, M., & Ahumada-Solórzano, S. M. (2024). Ingestion of bean leaves reduces metabolic complications and restores intestinal integrity in C57BL/6 mice with obesity induced by a high-fat and high-fructose diet. *Nutrients*, 16 (3), 367,1–19. <https://doi.org/10.3390/nu16030367Oomah>

Oomah, B.D., Corbé, A., Balasubramanian, P. (2005). Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8225–8230. <https://doi.org/10.1021/jf1011193>

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2025). *Dieta saludable*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>

Pan, W., Zhao, J., Wu, J., Xu, D., Meng, X., Jiang, P., Shi, H., Ge, X., Yang, X., Hu, M., Zhang, P., Tang, R., Nagaratnam, N., Zheng, K., Huang, X. F., & Yu, Y. (2023). Dimethyl itaconate ameliorates cognitive impairment induced by a high-fat diet via the gut-brain axis in mice. *Microbiome*, 11(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/S40168-023-01471-8>

Pande, S., & Srinivasan, K. (2012). Potentiation of the hypolipidemic influence of dietary tender cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba*) by garlic in cholesterol fed rats. *Food Chemistry*, 133(3), 798–805. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.01.094>

Paxinos, G. & Franklin, K.B. (2003) The mouse brain in stereotaxic coordinates: compact second edition. In Academics, The mouse brain in stereotaxic coordinates. (pp.1-120). Academics.

Rahman, K., Desai, C., Iyer, S.S., Thorn, N.E., Kumar, P., Liu, Y., Smith, T., Neish, A.S., Li, H., Tan, S., Wu, P., Liu, X., Yu, Y., Farris, A. B., Nusrat, A., Parkos, C. A., & Anania, F. A. (2016). Loss of junctional adhesion molecule A promotes severe steatohepatitis in mice on a diet high in saturated fat, fructose, and cholesterol. *Gastroenterology*, 151(4), 733–746. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2016.06.022>

Ramírez-Venegas, G., De Ita-Pérez, D., Díaz-Muñoz, M., Méndez, I., García-Gasca, T., Ahumada-Solórzano, M., Zambrano-Estrada, X., Vázquez-Martínez, O., Guzmán-Maldonado, H., & Luna-Moreno, D. (2021). Supplementation with *Phaseolus vulgaris* leaves improves metabolic alterations induced by high-fat/fructose diet in rats under time-restricted feeding. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(3), 297–303. <https://doi.org/10.1007/S11130-021-00904-9>

Ribeiro Hudson, A.S., Nascimento Soares, A.D., Coelho Horta, N.A., Fuscaldi, L.L., Machado-Moreira, C.A., Soares, D.D., Coimbra, C.C., de Oliveira Poletini, M., Cardoso, V.N., & Wanner, S. P. (2020). The magnitude of physical exercise-induced hyperthermia is associated with changes in the intestinal permeability and expression of tight junction genes in rats. *Journal of Thermal Biology*, 91, 1–48. <https://doi.org/10.1016/J.JTHERBIO.2020.102610>

Romani, A., Schürmann, F., Markram, H. & Migliore, M. (2022). Reconstruction of the Hippocampus. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1359:261–283. https://doi.org/10.1007/978-3-030-89439-9_11

Rutsch, A., Kantsjö, J.B., & Ronchi, F. (2020). The gut-brain axis: How microbiota and host inflammasome influence brain physiology and pathology. *Frontiers in Immunology*, 11, 1–24. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.604179>

Saito, E.R., Warren, C.E., Hanegan, C.M., Larsen, J.G., du Randt, J.D., Cannon, M., Saito, J.Y., Campbell, R.J., Kemberling, C.M., Miller, G.S., Edwards, J.G., & Bikman, B.T. (2022). A novel ketone-supplemented diet improves recognition memory and hippocampal mitochondrial efficiency in healthy adult mice. *Metabolites*, 12(11), 1–18. <https://doi.org/10.3390/METABO12111019>

Sallam, I.E., Abdelwareth, A., Attia, H., Aziz, R.K., Homsy, M.N., von Bergen, M., & Farag, M.A. (2021). Effect of gut microbiota biotransformation on dietary tannins and human health implications. *Microorganisms*, 9(5), 1–34. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9050965/S1>

Sánchez-Villegas, A., Ruíz-Canela, M., de la Fuente-Arrillaga, C., Gea, A., Shivappa, N., Hebert, J. R., & Martínez-González, M.A. (2015). Dietary inflammatory index, cardiometabolic conditions and depression in the Seguimiento Universidad de Navarra cohort study. *British Journal of Nutrition*, 114(9), 1471–1479. <https://doi.org/10.1017/s0007114515003074>

Santiago-Saenz, Y.O., Hernández-Fuentes, A.D., López-Palestina, C.U., Garrido-Cauich, J.H., Alatorre-Cruz, J.M., & Monroy-Torres, R. (2019). Nutritional importance and biological activity of bioactive compounds from quelites consumed in Mexico. *Revista Chilena de nutrición*, 46, 593–605. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182019000500593>

Secretaría de Salud (SSA), Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) & Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). (2023). *Guías Alimentarias saludables y sostenibles para la población mexicana 2023*. <https://www.insp.mx/avisos/guias-alimentarias-para-poblacion-mexicana-2023-menos-costosas-y-mas-amigables-con-el-ambiente>

Shi, H., Wang, Q., Zheng, M., Hao, S., Lum, J.S., Chen, X., Huang, X.F., Yu, Y., & Zheng, K. (2020). Supplement of microbiota-accessible carbohydrates prevents neuroinflammation and cognitive decline by improving the gut microbiota-brain axis in diet-induced obese mice. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01760-1>

Shoji, H., Hagihara, H., Takao, K., Hattori, S., & Miyakawa, T. (2012). T-maze forced alternation and left-right discrimination tasks for assessing working and reference memory in mice. *Journal of Visualized Experiments*, 60, 1–7. <https://doi.org/10.3791/3300>

Silva, Y.P., Bernardi, A., & Frozza, R.L. (2020). The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 1–14. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2020.00025/BIBTEX>

Singleton, V., & Rosi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 58–144.

Solanki, R., Karande, A., & Ranganathan, P. (2023). Emerging role of gut microbiota dysbiosis in neuroinflammation and neurodegeneration. *Frontiers in Neurology*, 14 1–14. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2023.1149618/XML/NLM>

Stefanko, D.P., Barrett, R.M., Ly, A.R., Reolon, G.K., & Wood, M.A. (2009). Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 9447–9452. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0903964106>

Streit, W.J., Xue, Q.S., Tischer, J. & Bechmann, I. (2014). Microglial pathology. *Acta Neuropathologica Communications*, 2(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/S40478-014-0142-6>

Takato, T., Iwata, K., Murakami, C., Wada, Y., & Sakane, F. (2017). Chronic administration of myristic acid improves hyperglycaemia in the Nagoya-Shibata-Yasuda mouse model of congenital type 2 diabetes. *Diabetology*, 60(10), 2076–2083. <https://doi.org/10.1007/S00125-017-4366-4>

Tan, R., Dong, H., Chen, Z., Jin, M., Yin, J., Li, H., Shi, D., Shao, Y., Wang, H., Chen, T., Yang, D., & Li, J. (2021). Intestinal microbiota mediates high-fructose and high-

fat diets to induce chronic intestinal inflammation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 1–14. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.654074/FULL>

Thompson, H. J., McGinley, J. N., Neil, E. S., & Brick, M. A. (2017). Beneficial effects of common bean on adiposity and lipid metabolism. *Nutrients*, 9(9), 1–12. <https://doi.org/10.3390/NU9090998>

Thompson, S. V., Winham, D. M., & Hutchins, A. M. (2012). Bean and rice meals reduce postprandial glycemic response in adults with type 2 diabetes: a cross-over study. *Nutrition Journal*, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-23>

Toney, A. M., Albusharif, M., Works, D., Polenz, L., Schlange, S., Chaidez, V., Ramer-Tait, A. E., & Chung, S. (2021). Differential effects of whole red raspberry polyphenols and their gut metabolite urolithin a on neuroinflammation in BV-2 microglia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijerph18010068>

Treuting, P.M., Dintzis, S. M., & Montine, K.S. (2018). Upper gastrointestinal trac. In Elsevier, *Comparative anatomy and histology, a mouse, rat and human atlas* (pp. 191–211). Elsevier.

Turrigiano, G.G., & Nelson, S. B. (2004). Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(2), 97–107. <https://doi.org/10.1038/NRN1327>,

Valdearcos, M., Douglass, J.D., Robblee, M.M., Dorfman, M.D., Stifler, D.R., Bennett, M.L., Gerritse, I., Fasnacht, R., Barres, B.A., Thaler, J.P. & Koliwad, S.K. (2017). Microglial inflammatory signaling orchestrates the hypothalamic immune response to dietary excess and mediates obesity susceptibility. *Cell Metabolism*, 26(1), 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.05.015>

van de Wouw, M., Boehme, M., Lyte, J.M., Wiley, N., Strain, C., O'Sullivan, O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2018). Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain–gut axis alterations. *The Journal of Physiology*, 596(20), 4923–4944. <https://doi.org/10.1113/JP276431>

Victoria Ruiz, L.L. (2023). *Efecto del consumo de la hoja y la semilla cocida de frijol (Phaseolus vulgaris L.) sobre el hígado graso asociado a la disfunción metabólica y su relación con el estrés oxidativo en un modelo in vivo* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9901>

Villarroya, F., Cereijo, R., Gavalda-Navarro, A., Villarroya, J., & Giralt, M. (2018). Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *Journal of Internal Medicine*, 284(5), 492–504. <https://doi.org/10.1111/JOIM.12803>

Volcko, K.L., Carroll, Q.E., Brakey, D.J., & Daniels, D. (2020). High-fat diet alters fluid intake without reducing sensitivity to glucagon-like peptide-like peptide-1 receptor agonist effects. *Physiology & Behavior*, 221, 1–27. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2020.112910>

Vogel-Ciernia, A., & Wood, M.A. (2014). Examining object location and object recognition memory in mice. *Current protocols in neuroscience*, 69(1), 8–31. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0831s69>

Walker, D.G., Lue, L.F., Beach, T.G. & Tooyama, I. (2019). Microglial phenotyping in neurodegenerative disease brains: identification of reactive microglia with an antibody to variant of CD105/endoglin. *Cells*, 8(7), 1–22. <https://doi.org/10.3390/CELLS8070766>

Walker, F.R., Beynon, S.B., Jones, K.A., Zhao, Z., Kongsui, R., Cairns, M. & Nilsson, M. (2014). Dynamic structural remodelling of microglia in health and disease: A review of the models, the signals and the mechanisms. *Brain, Behavior, and Immunity*, 37, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.010>

Wang, T., Wu, Q. & Zhao, T. (2020). Preventive effects of kaempferol on high-fat diet-induced obesity complications in C57BL/6 mice. *BioMed Research International*, 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/4532482>

Wei, P., Keller, C. & Li, L. (2020). Neuropeptides in gut-brain axis and their influence on host immunity and stress. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 843–851. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.02.018>

World Health Organization (WHO). (2025) *Obesity and overweight*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Woods, S.C., & D'Alessio, D.A. (2008). Central control of body weight and appetite. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(11), 37–50. <https://doi.org/10.1210/JC.2008-1630>

Xu, J., Yuan, C., Wang, G., Luo, J., Ma, H., Xu, L., Mu, Y., Li, Y., Seeram, N.P., Huang, X., & Li, L. (2018). Urolithins attenuate LPS-induced neuroinflammation in BV2 microglia via MAPK, Akt, and NF- κ B signaling pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(3), 571–580. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03285>

Xue, H. H., Li, J. J., Li, S. F., Guo, J., Yan, R. P., Chen, T. G., Shi, X. H., Wang, J. D. & Zhang, L. W. (2023). Phillygenin attenuated colon inflammation and improved intestinal mucosal barrier in DSS-induced colitis mice via TLR4/Src mediated MAPK and NF- κ B signaling pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/IJMS24032238/S1>

Yan, E., Wang, Y., He, L., Guo, J., Zhang, X., & Yin, J. (2022). Effects of dietary L-malic acid supplementation on meat quality, antioxidant capacity and muscle fiber characteristics of finishing pigs. *Foods*, 11, 1–11. <https://doi.org/10.3390/FOODS11213335>

Yang, J., Kim, C.S., Tu, T.H., Kim, M.S., Goto, T., Kawada, T., Choi, M.S., Park, T., Sung, M.K., Yun, J.W., Choe, S.Y., Lee, J.H., Joe, Y., Choi, H.S., Back, S.H., Chung, H.T., & Yu, R. (2017). Quercetin protects obesity-induced hypothalamic inflammation by reducing microglia-mediated inflammatory responses via HO-1 Induction. *Nutrients*, 9(7) 1–14. <https://doi.org/10.3390/NU9070650>

Yang, X., Zheng, M., Hao, S., Shi, H., Lin, D., Chen, X., Becvarovski, A., Pan, W., Zhang, P., Hu, M., Huang, X.F., Zheng, K., & Yu, Y. (2020). Curdlan prevents the cognitive deficits induced by a high-fat diet in mice via the gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 1–14. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2020.00384/BIBTEX>

Ye, X., Liu, Y., Hu, J., Gao, Y., Ma, Y., & Wen, D. (2021). Chlorogenic acid-induced gut microbiota improves metabolic endotoxemia. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 1–12. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.762691/FULL>

Zhang, D., Jian, Y.P., Zhang, Y.N., Li, Y., Gu, L.T., Sun, H.H., Liu, M. Di, Zhou, H. L., Wang, Y.S. & Xu, Z.X. (2023). Short-chain fatty acids in diseases. *Cell Communication and Signaling*, 21(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01219-9>

Zhang, J., Zheng, Y., Luo, Y., Zhang, J. Du, Y., Zhang, X., & Fu, J. (2019). Curcumin inhibits LPS-induced neuroinflammation by promoting microglial M2 polarization via TREM2/ TLR4/ NF- κ B pathways in BV2 cells. *Molecular Immunology*, 116, 29–37. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2019.09.020>

Zhang, P., Jiang, G., Wang, Y., Yan, E., He, L., Guo, J., Yin, J., & Zhang, X. (2023). Maternal consumption of l-malic acid enriched diets improves antioxidant capacity and glucose metabolism in offspring by regulating the gut microbiota. *Redox Biology*, 67, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102889>

Zhao, Q., Hou, D., Fu, Y., Xue, Y., Guan, X., & Shen, Q. (2021). Adzuki bean alleviates obesity and insulin resistance induced by a high-fat diet and modulates gut microbiota in mice. *Nutrients*, 13(9), 1–21. <https://doi.org/10.3390/NU13093240/S1>

Zhou, F., Wang, X., Han, B., Tang, X., Liu, R., Ji, Q., Zhou, Z., & Zhang, L. (2021). Short-chain fatty acids contribute to neuropathic pain via regulating microglia activation and polarization. *Molecular Pain*, 17, 1–11. <https://doi.org/10.1177/1744806921996520>

Zhu, S., Feng, X., Feng, X., Xie, K., Li, Y., Chen, L., Mo, Y., Liang, J., Wu, X., Sun, Z., Shu, G., Wang, S., Gao, P., Zhu, X., Zhu, C., Jiang, Q., & Wang, L. (2023). Diet containing stearic acid increased food intake in mice by reducing serum leptin compared with oleic acid. *Food & Function*, 14(2), 990–1002. <https://doi.org/10.1039/D2FO03051A>

Zinöcker, M.K. & Lindseth, I.A. (2018). The Western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients*, 10(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/NU10030365>