

2020 Análisis de la composición y efecto del consumo de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en ratas Wistar con obesidad y/o diabetes Perla Viridiana Ocampo Anguiano



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Análisis de la composición y efecto del consumo de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en ratas Wistar con obesidad y/o diabetes mellitus
Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta

Perla Viridiana Ocampo Anguiano

Dirigido por

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

Querétaro, 2020

- Escudo y letras doradas
- Pastas duras color negro, tamaño carta



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Nutrición Humana

Análisis de la composición y efecto del consumo de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en ratas Wistar con obesidad y/o diabetes mellitus

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta:

Perla Viridiana Ocampo Anguiano

Dirigido por:

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano

SINODALES

Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano
Presidente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Secretario

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez
Vocal

Dr. Konisgmar Escobar García
Suplente

Dra. Alma Dalia Luna Moreno
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (Agosto, 2020)
México

Resumen

La obesidad y la diabetes son problemas de salud a nivel mundial, en México alrededor del 75% de los adultos presentan sobrepeso u obesidad, esto se asocia con el desarrollo de otras enfermedades, como la diabetes mellitus tipo 2, que afecta a más de 8 millones de mexicanos. El estilo de vida no saludable, acompañado del consumo excesivo de alimentos de alta densidad energética y disminución de la actividad física, son la causa principal del desarrollo de obesidad. Los alimentos que conforman una dieta hiperenergética, han desplazado el consumo de alimentos saludables típicos de la cocina mexicana. El frijol sigue siendo uno de los alimentos más consumidos en el país, su planta se conforma principalmente de la hoja, vaina y semillas, reconociendo que la semilla de frijol y la vaina ejotera son alimentos, se les atribuyen propiedades nutricias por los componentes que poseen, entre ellos proteínas, fibra y compuestos fitoquímicos. Sin embargo, son limitados los estudios, sobre la composición de la hoja de frijol (HF), se sugiere que es alta en fibra, tiene cantidades considerables de potasio, calcio y hierro, así como compuestos fenólicos. La HF no es considerada parte de la dieta habitual, solo la consumen en algunas regiones del país, principalmente donde permanecen grupos étnicos, como quelites y sobre todo es alimento para animales. En esta investigación, se sugiere que el consumo sostenido de HF en ratas Wistar con dieta hiperenergética previene el incremento de peso y favorece los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero, siendo mayor el efecto cuanto mayor sea el tiempo de exposición a la misma. Por otro lado en la inducción de diabetes a partir de la dieta hiperenergética y administración de una dosis única de estreptozotocina (STZ 40 mg/kg), los animales con inducción de diabetes presentaron síntomas característicos de la diabetes tipo 2 (poliuria, polidipsia, polifagia y menor incremento de peso). La HF contiene alto porcentaje de fibra dietética (24.08 ± 1.37) y proteína (24.22 ± 0.18) así como bajo porcentaje de lípidos (1.33 ± 0.05), en conjunto, los componentes de la HF, favorecen la regulación del peso, glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas con dieta hiperenergética.

(Palabras clave: hoja de frijol, obesidad, diabetes).

Summary

Obesity and diabetes are health problems worldwide, in Mexico about 75% of adults are overweight or obese, this is associated with the development of other diseases, such as type 2 diabetes mellitus, which affects more than 8 millions of Mexicans. An unhealthy lifestyle, accompanied by excessive consumption of energy-dense foods and a decrease in physical activity, are the main cause of the development of obesity. The foods that make up a hyperenergetic diet have displaced the consumption of healthy foods typical of Mexican cuisine. The bean continues to be one of the most consumed foods in the country, its plant consists mainly of the leaf, pod and seeds, recognizing that the bean seed and the green bean pod are foods, they are attributed nutritional properties by the components they possess, including proteins, fiber and phytochemicals. However, studies are limited, on the composition of the bean leaf (HF), it is suggested that it is high in fiber, has considerable amounts of potassium, calcium and iron, as well as phenolic compounds. HF is not considered part of the usual diet, it is only consumed in some regions of the country, mainly where ethnic groups remain, such as quelites and above all it is food for animals. In this research, it is suggested that the sustained consumption of HF in Wistar rats with a hyperenergetic diet prevents weight gain and favors serum glucose, cholesterol and triglyceride levels, the effect being greater the longer the exposure time to it. . On the other hand, in the induction of diabetes from the hyperenergetic diet and administration of a single dose of streptozotocin (STZ 40 mg / kg), the animals with induction of diabetes presented symptoms characteristic of type 2 diabetes (polyuria, polydipsia, polyphagia and less weight gain). HF contains a high percentage of dietary fiber (24.08 ± 1.37) and protein (24.22 ± 0.18) as well as a low percentage of lipids (1.33 ± 0.05), as a whole, the components of HF favor the regulation of weight, glucose, cholesterol and triglycerides in rats on a hyperenergetic diet.

(Key words: bean leaf, obesity, diabetes).

Dedicatoria

A mi familia, que son quienes están a mi lado en todo momento, quienes me apoyan y motivan para lograr lo que me proponga sin importar lo fácil o difícil de cada objetivo. Ustedes son quienes me acompañan en cada logro y lo festejan y quienes limpian mis lágrimas o me dan la mano para levantarme cuando las cosas no salen como esperaba.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Agradecimientos

Al CONACYT, por el apoyo brindado durante el periodo de la maestría. Ya que es de suma importancia para el desarrollo de nuevos proyectos.

A mi asesor y director de tesis, la Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano, por creer en mí desde el primer día, por escuchar mis ideas y motivarme a lograr lo que me propusiera. Gracias por todo el tiempo que me dedico para preparar de la mejor manera los avances y resultados, así como el trabajo final. Por mostrarme que los valores como el respeto, confianza, responsabilidad y amabilidad son fundamentales.

A mis amigas y compañeras de trabajo: Adri Becerril, gracias por tu apoyo y paciencia, por compartir tus conocimientos, por estar pendiente de mí y por permitirme acercarme a ti. Bri Vigouroux gracias por apoyarme con el trabajo de laboratorio, por tu confianza y hacerme reír. Somos un gran equipo.

A mis sinodales:

- Dra. Tere, gracias por su tiempo, apoyo, consejos y retroalimentación durante la maestría y elaboración del proyecto de investigación. Y gracias por permitirnos trabajar en el laboratorio de biología celular.
- Dra. Dalia, por siempre estar con una sonrisa, por tus consejos en cada presentación y tu apoyo en los experimentos desarrollados durante la investigación.
- Dr. Konisgmar, gracias por permitirme trabajar en el laboratorio de Nutrición Animal y por sus asesorías que me ayudaron mucho, gracias porque siempre nos apoyó con la mejor actitud.
- Dr. Roberto, gracias porque siempre me apoyo como sinodal, coordinador y profesor, de igual forma, con la mejor actitud.

A todos los que me apoyaron para lograr que este proyecto se realizará:

- Al Bioterio de la UNAM y al Dr. Martin por proporcionarnos los animales de laboratorio.

- Al Campus Amazcala y al Dr. Candelario Mondragón y su equipo de trabajo por su apoyo para el cultivo y obtención de la muestra de hoja de frijol.
- A Rosario, Karen, Montse y Andy que nos apoyaron con la obtención de la muestra.
- A los técnicos de laboratorio por su paciencia, tiempo y apoyo para la realización de los diferentes experimentos: Gracias a la Q.A. Aurora Jauregui, T.H. Leticia Castillo H. y al M en C F. Josué López.
- Al laboratorio de Nutrición Humana, la Dra. Miriam Aracely Anaya L. y la Dra. Mariela Camacho.

A mis compañeros de generación: Lupita, Vero, Caro, Eli, Zury y Ángel, de todos aprendí, Zurí gracias por tu apoyo como compañera y amiga, gracias por estudiar conmigo y tranquilizarme cuando estaba más estresada. Ángel gracias por tu amistad y por estar conmigo en las buenas y en las malas, también a ti Ramón por tu apoyo y confianza.

A mis amigas por su apoyo y motivación. Gracias Carmelita por estar siempre a pesar del tiempo y la distancia.

A mi familia, a mi mamá que es mi ejemplo a seguir y quien nos impulsa a dar lo mejor de nosotros cada día, a mis hermanos, Gaby sabes que estoy muy orgullosa de ti, gracias por estar siempre, por apoyarme y motivarme, por estar a mi lado cuando más lo necesito. Andrés gracias por tu cariño, por hacerme reír, por tus palabras de apoyo y de reflexión, los amo.

A mi abue por cuidar de su hija y nietos en todo momento, por tenernos siempre en su corazón y orar para que siempre tuviéramos lo mejor.

A mi papá, porque aún sin saberlo me hiciste más fuerte.

Índice

Resumen.....	i
Agradecimientos.....	iv
Índice	vi
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras.....	x
I INTRODUCCIÓN.....	1
II ANTECEDENTES.....	4
2.1 Obesidad.....	4
2.2 Diabetes.....	4
2.3 Propiedades, consumo y calidad nutricia del frijol.....	4
2.3.1 Hoja de frijol	6
2.3.1.1 Componentes de la hoja de frijol.....	7
2.3.1.2 Compuestos antinutricios, fitoquímicos y fibra en el frijol.....	8
2.3.1.3 Minerales en la HF.....	9
2.4 Fibra.....	9
2.4.1 Clasificación de la fibra.....	10
2.4.1.2 Fibra soluble.....	10
2.4.1.3 Fibra insoluble.....	10
2.4.1.4 Fibra detergente neutra.....	11
2.4.1.5 Fibra detergente ácida.....	11
2.5.1 Efectos benéficos de la fibra en obesidad.....	11
2.5.2 Efectos benéficos de la fibra en diabetes mellitus tipo 2.....	12
2.5.3 Efectos negativos del consumo excesivo de fibra dietética.....	12
2.6 Ácidos grasos de cadena corta a partir de la fibra dietética.....	13
2.7 Modificaciones en la dieta.....	14
2.7.1 Fructosa en la dieta.....	15
2.7.2 Ingesta elevada de lípidos en la dieta.....	16
2.8 Uso de STZ como inductor de diabetes tipo 2.....	16
2.9 Fisiología del aparato digestivo.....	17
2.10 Microbiota y obesidad.....	18

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
IV. JUSTIFICACIÓN	20
V. HIPÓTESIS	21
VI. OBJETIVOS	21
6.1 Objetivo general	21
6.2 Objetivos específicos	21
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	22
7.1 Características de la HF	22
7.2 Caracterización bromatológica de la HF	22
7.3 Diseño experimental animal	22
7.4 Diseño de dietas para los animales experimentales	23
7.5 Análisis y determinaciones en animales	24
7.6 Análisis estadístico	26
VIII. RESULTADOS	27
8.1 Composición de la HF	27
8.2 Composición corporal y perfiles lipídico y glicémico en relación al consumo de hoja de frijol	27
Consumo de alimento y energía en los animales	27
8.2.1.1 Consumo de alimento en grupos D y DHF	31
8.2.1 Peso corporal y percentiles	32
8.2.2.1 Peso y percentiles de acuerdo a la edad en los grupos D y DHF	35
8.2.3 Consumo de agua, excreción de orina y heces	37
8.2.3.1 Consumo de agua, excreción de orina y heces con D y DHF	38
8.2.4 IMC e índice de Lee	40
8.2.3.1 IMC e índice de Lee en D y DHF	41
8.2.5 Circunferencias	42
8.2.5.1 Circunferencias en D y DHF	44
8.2.6 Distribución del tejido adiposo visceral y subcutáneo por resonancia magnética, RM	46
8.2.6.1 Distribución del tejido adiposo visceral y subcutáneo por resonancia magnética, RM con D y DHF	48
8.2.7 Relación órganos del TGI/peso del animal	49

8.2.8 Perfil glucémico	52
8.2.8.1 Glucosa basal.....	52
8.2.8.1.1 Glucosa basal previa y post administración de STZ.....	53
8.2.8.2 Curva de tolerancia a la glucosa.	54
8.2.8.2.1 Curva de tolerancia a la glucosa con D y DHF.	56
8.2.8.2.2 Glucosa basal de la semana 7 a la 14.....	58
8.2.9 Parámetros sanguíneos después de eutanasia.	59
8.2.9.1 Perfil de lípidos y de glucosa.	59
8.2.9.1.1 Perfil de lípidos y de glucosa con D y DHF	60
8.2.9.2 Parámetros relacionados con la funcionalidad del riñón.	61
8.2.9.2.1 Parámetros relacionados con la funcionalidad del riñón con D y DHF	62
8.2.10 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos.	64
8.2.10.1 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos, a las 6 semanas.	64
8.2.10.2 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos, en el segundo bloque.	70
IX DISCUSIÓN	75
9.1 Composición bromatológica de la hoja de frijol	75
9.2 Consumo de alimento y energía en los animales.....	75
9.3 Peso corporal y percentiles	76
9.4 Consumo de agua, excreción de orina y heces.....	78
9.5 IMC e índice de Lee	79
9.6 Circunferencias	80
9.7 Tejido adiposo	82
9.8 Relación órganos del TGI/peso del animal.....	82
9.9 Perfil glicémico y de lípidos.	83
9.10 Parámetros sanguíneos después de la eutanasia.....	85
X. CONCLUSIONES	90
XI. LITERATURA CITADA	92

Índice de tablas

Tabla 1 Calidad nutricia de la HF variedad Pinto Villa**¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 2 Calidad nutricia de la HF variedad Eugenia**¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 3 Grupos experimentales y contenido nutrimental de las dietas **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 4 Composición bromatológica de la HF.....38

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Índice de figuras

Figura 1 Hoja de frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> , variedad flor de mayo Eugenia, Campus experimental Amazcala, FCN, UAQ , 2018.	7
Figura 2 Representación de la estructura química de los principales AGCC ⁴⁴	14
Figura 3 Estructura de la fructosa ⁵¹	15
Figura 4 Estructura química de STZ ⁵⁷	17
Figura 5 Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 1.....	29
Figura 6 Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 2.....	29
Figura 7 Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 3.....	30
Figura 8 Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 1.....	31
Figura 9 Gráfica del peso de los animales en el bloque 1.....	32
Figura 10 Percentiles de acuerdo al peso y la edad de los animales a las 6 semanas de edad.....	33
Figura 11 Peso en los animales, bloque 2.....	34
Figura 12 Percentiles de acuerdo al peso y edad de los animales en el bloque...34	
Figura 13 Peso en los animales en el bloque 3	35
Figura 14 Gráfica del peso de los animales en el bloque 1.....	36
Figura 15 Gráfica del peso de los animales en el bloque 2.....	37
Figura 16 Ingesta de agua, excreción de heces y orina en el bloque 1.....	38
Figura 17 Ingesta de agua (a), excreción de heces (b) y orina (c) en el bloque 1..39	
Figura 18 IMC (a) e índice de Lee (b) en el bloque 1 de 6 semanas	40
Figura 19 IMC (a) e índice de Lee (b) en el bloque 2 de 14 semanas.....	40
Figura 20 IMC (a) e índice de Lee (b) en el bloque 3 de 21 semanas.....	41
Figura 21Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 1 (6 semanas).....	42
Figura 22 Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 2 (14 semanas).....	43
Figura 23 Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 3 (21 semanas).....	44
Figura 24. Tejido adiposo visceral (a) y subcutáneo (b) 6 semanas.	44
Figura 25. Tejido adiposo visceral (a) y subcutáneo (b) 12 semanas.	45
Figura 26. Tejido adiposo visceral y subcutáneo 12 semanas.	45

Figura 27. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), tubo digestivo (d) /peso del animal, 6 semanas.	47
Figura 28. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), colon (d), tubo digestivo (e) /peso del animal, 12 semanas	48
Figura 29. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), colon (d) y tubo digestivo (e)/peso del animal, 21 semanas.	49
Figura 30. Glucosa basal a las 6 semanas.....	50
Figura 31. Glucosa basal previa a la administración de STZ	50
Figura 32. Glucosa basal posterior a la administración de STZ.	51
Figura 33. Curva de tolerancia a la glucosa a las 6 semanas.	52
Figura 34. Curva de tolerancia a la glucosa a las 12 semanas	53
Figura 35. Curva de tolerancia a la glucosa a las 21 Semanas.....	53
Figura 36. Curva de tolerancia a la glucosa, bloque 1	54
Figura 37. Glucosa basal semanalmente	55
Figura 38. Glucosa (a), Colesterol (b) y Triglicéridos (c) en suero a las 6 semanas.	56
Figura 39. HDL (a), LDL (b) y VLDL (c) en suero a las 6 semanas	57
Figura 40. Glucosa, colesterol y triglicéridos, 6 semanas.....	58
Figura 41. HDL, LDL y VLDL, bloque 1	58
Figura 42. Urea (a), Creatinina (b) y Ácido úrico (c) en suero 6 semanas.....	59
Figura 43. Urea, creatinina y ácido úrico, bloque 1	60
Figura 44. Glucosa (a), Colesterol (b) y Triglicéridos (c) en suero 12 semanas... ..	61
Figura 45. HDL (a), LDL (b) y VLDL (c) en suero 12 semanas.....	62
Figura 46. Urea (a), Creatinina (b) y Ácido úrico en suero (c) 12semanas.....	64
Figura 47. Correlación de Person entre el consumo de alimento y CTG en el grupo control, 6 semanas.	65
Figura 48. Correlación entre el consumo de alimento y creatinina en suero en el grupo control, 6 semanas.	65
Figura 49. Correlación entre el consumo de alimento y glucosa en suero (CHF), 6 semanas.....	65
Figura 50. Correlación entre el consumo de alimento y la cantidad de orina durante 6 semanas (H).....	66

Figura 51. Correlación entre el consumo de alimento y colesterol LDL, 6 semanas (H).	66
Figura 52. Correlación entre el consumo de alimento e índice LDL/HDL, 6 semanas (HHF).	67
Figura 53. Correlación entre el consumo de alimento registrado durante las 6 semanas, peso y grasa visceral.	67
Figura 54. Correlación entre el consumo de alimento e IMC. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas IMC (g/cm ²).	67
Figura 55. Correlación entre el consumo de alimento e índice de Lee en el grupo CHF.	68
Figura 56. Correlación entre el peso a las 6 semanas y la relación de órganos del tubo digestivo.	70
Figura 57. Correlación entre el consumo de alimento y glucosa en suero, en el grupo C.	70
Figura 58. Correlación entre el consumo de alimento y concentración de colesterol y triglicéridos, grupo C.	70
Figura 59. Correlación entre el consumo de alimento y lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL), grupo C.	70
Figura 60. Correlación entre el consumo de alimento y peso, grupo CHF (naranja), H (morado) y HHF (rosa).	71
Figura 61. Correlación entre el consumo de alimento y creatinina, grupo H	71
Figura 62. Correlación entre el consumo de alimento e índice LDL/HDL, grupo H.	72
Figura 63. Correlación entre el consumo de alimento e índice de Lee, grupo H. ...	72
Figura 64. Correlación entre el peso y la relación de órganos del tubo digestivo, grupo C, segundo bloque.	72

I. INTRODUCCIÓN

La prevalencia de obesidad y diabetes en México se ha incrementado, de 82.7 millones de adultos, 62.2 tienen sobrepeso u obesidad (39.1 y 36.1%, respectivamente) de los cuales 8.2 presentan diabetes¹. La obesidad, como sabemos, es un factor de riesgo para otras enfermedades crónicas como el síndrome metabólico, resistencia a la insulina, diabetes, hipertensión, aterosclerosis, dislipidemias y cáncer².

La causa principal a nivel mundial del sobrepeso y la obesidad es el desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, caracterizado por el consumo de alimentos con alta densidad energética (altos en grasa y carbohidratos simples) y disminución en la actividad física lo que desregula este equilibrio^{3,4}.

Por su parte, la diabetes es una patología ascendente en salud pública con afecciones a nivel mundial, relacionada con mayor riesgo de complicaciones micro y macrovasculares graves como ceguera, infarto al miocardio, insuficiencia renal, amputación de miembros inferiores y accidente cerebrovascular^{5,6}. De acuerdo con la OMS, para el 2030 esta patología va a ser la 7ma. causa de mortalidad a nivel mundial⁵ mientras que actualmente es la 2da. causa de muerte en nuestro país^{2,7}. Las dos principales formas de diabetes son: diabetes tipo 1, caracterizada por la pérdida de las células β pancreáticas y la secreción y acción de la insulina; y diabetes tipo 2 en donde se combinan la disminución en la síntesis/secreción de insulina y resistencia a la misma (reducción en el efecto de la insulina a nivel celular, generando alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas)^{8,9}.

En México uno de los alimentos más consumidos es el frijol, es el 4to. cultivo que se produce en mayor volumen, además del 5to. en producción y consumo a nivel internacional¹⁰. En diversas zonas del país, principalmente del Estado de México, se acostumbra el consumo de "quelites" u hojas tiernas de plantas comestibles, se sabe que se consumen las hojas tiernas del frijol *Phaseolus vulgaris* (HF), conocidas como cogollitos de frijol¹¹. El consumo de quelites se realiza principalmente por personas que pertenecen a grupos étnicos en zonas rurales¹².

Las HF se consumen en ensalada, cocidas, guisadas, en puré o molidas como condimento para otros alimentos ¹³. Sobre la calidad nutricia de la HF, conocemos por un análisis bromatológico, que contiene un alto porcentaje de fibra ($38.3 \pm 0.8\%$), proteína ($24.5 \pm 0.2\%$), bajo contenido de lípidos ($2.9 \pm 0.05\%$) así como la presencia de compuestos antioxidantes como son fenoles totales (5.796 ± 0.31 mgAG/g HFL) y fenoles solubles (4.742 ± 0.26 mgAG/gHFL). Como parte del estudio se determinó la presencia de compuestos antinutricios, taninos (3.0 ± 0.48 mgeq(+) Cat/gHFL), fitatos (39.28 ± 2.98 mg Ac. fítico/ g HFL) e inhibidores de proteasas (2.14 ± 0.32 UI/mg de proteína) además de oligoelementos como el hierro, el cual a partir del consumo de HF generó un incremento en hemoglobina (118%), glóbulos rojos (24%), glóbulos blancos (80%) y granulocitos (24%) en ratas con anemia ferropénica (la restricción se hizo mediante dieta libre de hierro durante 11 días)¹³.

Se sabe que las plantas pertenecientes al grupo de los quelites, poseen características que les permite desarrollarse en condiciones extremas, lo que favorece los mecanismos de protección ante el estrés, favoreciendo la generación de compuestos fenólicos que se reconocen por su capacidad antioxidante ¹². Al respecto, la obesidad se caracteriza por un exceso de tejido adiposo, que genera un estado inflamatorio crónico, alteraciones en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo, asociado a la presencia de aterosclerosis ¹⁴. Por su parte, los compuestos fitoquímicos están relacionados con una importante actividad antioxidante y pueden prevenir y retardar la generación de ateromas disminuyendo la producción de lipoproteínas de baja densidad oxidadas y favoreciendo el aumento del colesterol HDL ¹⁵.

Por otro lado, otro de los compuestos bioactivos presentes en las hojas es la fibra, su consumo se asocia con efectos benéficos sobre la obesidad. Se ha visto que una dieta con alto consumo de fibra, favorece a tener menor porcentaje de grasa corporal comparado con personas que llevan una dieta baja en fibra, este efecto es atribuido a la baja densidad energética, aumento en el volumen del bolo alimenticio y mayor tiempo de tránsito de los alimentos ¹⁶. Además, su consumo se

ha asociado con efectos benéficos o protectores contra patologías como la hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y dislipidemias ². El consumo de fibra se relaciona con la prevención de la diabetes ¹⁷. En algunos estudios epidemiológicos, se ha establecido que hay relación protectora entre el consumo de fibra dietética y la presencia de diabetes ^{16,18}.

En un estudio reciente, de nuestro grupo de trabajo, se evaluó el efecto del consumo de HF en ratas Wistar con dieta obesogénica, observando que la inclusión de HF está relacionada con la disminución de la concentración de colesterol y triglicéridos así como del perfil glucémico en sangre durante la restricción de alimento (9h alimento/15h ayuno) ¹⁹.

Considerando lo anterior, se pretende encontrar la relación que existe entre el consumo de HF y una dieta hiperenergética en ratas Wistar macho alimentadas con una dieta alta en fructosa y manteca de cerdo. De igual forma, estamos interesados en determinar si la HF tiene un papel en la progresión de diabetes mellitus tipo 2 inducida con STZ.

En este sentido, es importante llevar a cabo la presente investigación, para ampliar el conocimiento que se tiene sobre los efectos de la HF e incentivar su consumo en la dieta de más población mexicana para aprovechar los beneficios con los que se relaciona su ingesta, principalmente el de la interacción de la fibra dietética y/o fitoquímicos con enfermedades crónicas no transmisibles.

II ANTECEDENTES.

2.1 Obesidad

La obesidad genera problemas de salud a nivel mundial, de acuerdo con la OMS, desde 1975, la obesidad se ha triplicado en todo el mundo y se ha determinado que cada año mueren, al menos 2.8 millones de personas a causa del sobrepeso y obesidad ³. A su vez, se ha considerado un factor de riesgo para diversas patologías crónicas como síndrome metabólico, resistencia a la insulina, diabetes, hipertensión, aterosclerosis, dislipidemias y diferentes formas de cáncer ². En México, una de las patologías más relacionada con la obesidad es la diabetes mellitus tipo 2.

2.2 Diabetes

La diabetes es un patología ascendente en salud pública, con afecciones a nivel mundial, relacionada con alto riesgo de complicaciones micro-macrovasculares graves como: ceguera, infarto al miocardio, insuficiencia renal, amputación de miembros inferiores y accidente cerebrovascular ^{5,6}. Actualmente, en México es la 2da causa de muerte en adultos y de acuerdo con la OMS, para el 2030 será la 7ma. causa de mortalidad a nivel mundial ^{2,7,20}. Para prevenir y disminuir los riesgos asociados a la obesidad y la diabetes tipo 2, se sugiere tener un estilo de vida saludable con inclusión de hojas verdes en la dieta.

2.3 Propiedades, consumo y calidad nutricia del frijol.

El frijol corresponde al grupo de las leguminosas y es una de las más consumidas a nivel mundial, distribuyéndose en los 5 continentes ²¹.

México se ha reconocido como el más probable centro del origen del frijol. Taxonómicamente, el frijol corresponde a la especie del género *Phaseolus*. Su nombre completo es *Phaseolus Vulgaris L*; asignada por Linneo en 1553, al género *Phaseoleae*, subfamilia *Papilionoidea*, familia *Leguminosae* y al orden *Rosales* ²².

La planta pertenece a la familia fabaceae, la vaina se caracteriza por ser suavemente curvada y dehiscente, de color verde; y las semillas pueden ser ovaladas o redondas y de diferente coloración dependiendo la variedad, además presenta hojas trifoliadas con una longitud de 6-15cm y ancho de 3-11cm ¹⁰.

Nutricionalmente, la semilla que es la que se aprovecha principalmente para el consumo humano, se caracteriza por tener un aporte considerable de proteína (14 - 33%) contiene aminoácidos como lisina, fenilalanina y tirosina, siendo deficiente en metionina y cisteína, además en grasa ^{21,22}. Entre los micronutrientes presentes en la semilla del frijol, se encuentran calcio, hierro, magnesio, fósforo y zinc ²². Además posee diversos compuestos fitoquímicos que tienen efecto benéfico para la salud, en el frijol se encuentran la fibra (conformada por pectinas, pentosanos, hemicelulosa, celulosa y lignina) y compuestos fenólicos, ácido fítico, inhibidores de tripsina, taninos y lectinas ^{22,23}. A los compuestos fenólicos, se les atribuyen propiedades antioxidantes que son capaces de reducir el riesgo de cáncer, enfermedades del corazón, diabetes, enfermedades crónicas degenerativas y así como actividad antibacteriana, antiviral y antiinflamatoria ¹³.

Respecto a la fibra, que es uno de los componentes mayoritarios del frijol, se relaciona con disminución en los niveles de colesterol y de lípidos en sangre, también se asocia con la regulación de mecanismos que regulan el apetito, favoreciendo su disminución, debido posiblemente a los ácidos grasos de cadena corta intestinales, producto de la fermentación de la fibra, los cuales inhiben la síntesis de ghrelina e incrementan la secreción de neuropéptidos, actuando como ligandos y modulando la activación de receptores (GRP41 y GRP43) que participan en la señalización y aumento en la liberación de neuropéptidos anorexigénicos (colecistocinina o CCK, péptido tirosina tirosina o PYY y péptido similar a glucagón-1 o GLP-1) ²³.

Por sus propiedades, el frijol es considerado un alimento funcional. Entre sus beneficios, promueve la regulación de la digestión de hidratos de carbono ya que bloquea la actividad de la alfa-glucosidasa, enzima que se localiza en el epitelio del intestino delgado y que es responsable de la degradación de los carbohidratos

a monosacáridos, al reducir su actividad se reducen los niveles de glucosa postprandial en sangre ^{13,24}. El ejote o vaina del frijol, es una hortaliza importante para países como Estados Unidos, Turquía, México, Brasil y Chile. La vaina fresca o ejote no se consume en cantidades similares en nuestro país como lo hace la semilla. Se sabe que es un alimento que aporta proteínas, hidratos de carbono, fibra, calcio y algunas vitaminas. Se le atribuyen propiedades porque es bajo en energía y podría favorecer la disminución de sobrepeso y obesidad. Un estudio realizado con frijol ejotero, en México, determinó que la vaina como alimento, es de importancia nutracéutica por la fibra dietética que contiene, ya que con un consumo de 25-30g/día, se reduce la predisposición a enfermedades crónicas no transmisibles ²⁵. Un estudio publicado en el 2017 reportó que el uso de extracto de vainas de *Phaseolus vulgaris* en ratas con diabetes inducida por STZ, disminuyó los niveles de glucosa (2 veces menor en relación al grupo control con diabetes), colesterol (2 veces menor en relación al grupo control) y triglicéridos (2 veces menor en relación al grupo control) en sangre. ²⁶.

2.3.1 Hoja de frijol

En diversas zonas del país, principalmente en estados con presencia de grupos étnicos como el Estado de México, Chihuahua, San Luis Potosí, Oaxaca, Puebla, Chiapas y Tabasco, se tiene referencia de que las personas consumen habitualmente “quelites” u hojas tiernas de plantas comestibles, se sabe que se consumen las HF como cogollitos de frijol ^{11,12}. Las HF se consumen en ensalada, cocidas, guisadas, en puré o molidas como condimento para otros alimentos ¹³. Sin embargo la mayor parte de HF se utiliza como forraje, cuando se elabora a partir de leguminosas en comparación con otros granos, se ha asociado con una mejor calidad nutricional como alimento de ganado ²⁷.



Figura 1 Hoja de frijol *Phaseolus vulgaris*, variedad flor de mayo Eugenia, Campus experimental Amazcala, FCN, UAQ , 2018.

2.3.1.1 Componentes de la hoja de frijol.

Existe poca información sobre la calidad nutricia de la HF en nuestro país y el mundo. En 2012 en un estudio en *Phaseolus vulgaris*, variedad Pinto Villa, se realizó el análisis químico proximal de la composición de la HF, mediante análisis enzimático-gravimétrico. Los componentes encontrados fueron materia seca (94 ± 0.003 %), ceniza (15.1 ± 0.02 %), fibra cruda (38.3 ± 0.8 %), extracto etéreo (2.9 ± 0.05 %), proteína (24.5 ± 0.2 %) y hierro (2.747 mg/100g). Estos datos sugieren que la hoja es una fuente importante de proteína y fibra ¹³. Además, considerando el alto contenido de hierro presente en la hoja, se evaluó su biodisponibilidad en ratas Wistar con anemia por deficiencia de hierro, y se determinó que la inclusión de 10% de HF tiene un efecto antianémico generando recuperación de la hemoglobina en un 118%, glóbulos rojos (24%), glóbulos blancos (80%) y granulocitos (24%) ²⁸.

Además, se evaluó la presencia de compuestos fitoquímicos y compuestos antinutricios en la HF y encontraron taninos (3.0 ± 0.4 mg eq (+) Cat/g) fitatos (39.28 ± 2.98 mg Ac. fítico/g) e inhibidores de proteasas (2.14 ± 0.32 UI/mg de proteína) que interfieren con la acción de enzimas para la absorción de proteínas y absorción de aminoácidos ²⁸.

Tabla 1 Calidad nutricia de la HF variedad Pinto Villa ¹³.

Parámetro	Valor encontrado (%)
Materia seca	94.0 ± 0.00
Proteína cruda	24.5 ± 0.20
Extracto etéreo	2.9 ± 0.05
Fibra	38.3 ± 0.80

Carbohidratos	19.2 ± 0.43
Cenizas	15.1 ± 0.02
Minerales (mg/100g)	
Hierro	2.74
Compuestos fenólicos (mg AG/g HFL)	
Fenoles totales	579.60 ± 31
Fenoles solubles	474.20 ± 26
Componentes antinutricios (mg/100g)	
Taninos	300 ± 48
Antocianinas	----
Flavonoides	----
Fitatos	3928 ± 298
Lectinas	ND
Inhibidores de proteasas	214 ± 32

Por otro lado, nosotros realizamos un estudio para evaluar el efecto del consumo de HF *Phaseolus vulgaris*, variedad Eugenia en ratas con dieta obesogénica. Como parte del mismo se determinó la composición de macronutrientes y presencia de minerales, encontrando mayor contenido de fibra y menor de proteína en comparación con la variedad Pinto villa ¹⁹.

Tabla 2 Calidad nutricia de la HF variedad Eugenia ¹⁹.

Parámetro	(%)
Humedad	6.36 ± 0.15
Proteína	14.20 ± 0.65
Cenizas	14.45 ± 2.75
Fibra Cruda	48.56 ± 0.5
Minerales (mg/100g)	
Calcio	1918.06
Magnesio	458.36
Potasio	2990.74
Sodio	279.73
Hierro	1.16

2.3.1.2 Compuestos antinutricios, fitoquímicos y fibra en el frijol.

Los compuestos antinutricios son los que generan afectación en el valor nutricional de un alimento, los que han sido encontrados en el frijol (taninos, fitatos e inhibidores de proteasas), se asocian con retardo del crecimiento, hipertrofia

pancreática, disminución en la digestión de proteínas y absorción de minerales así como daño intestinal ^{22,29}. Los compuestos fitoquímicos de mayor importancia que se encuentran en el frijol son los compuestos fenólicos, que están relacionados con actividad antioxidante ²³. Por otro lado se ha identificado a la fibra como uno de los componentes bioactivos mayoritarios del frijol, teniendo efecto hipocolesterolémico (10% del colesterol en sangre) y disminuyendo la síntesis hepática de colesterol ²².

Respecto a la HF, se ha reportado que al igual que la semilla, es una fuente importante de proteína y fibra, con presencia de compuestos fenólicos, taninos, fitatos e inhibidores de proteasas ¹³.

2.3.1.3 Minerales en la HF.

Entre los minerales encontrados en la caracterización nutricional de la HF se encuentran el calcio, magnesio, potasio, hierro y sodio; los cuales participan en diversas funciones del organismo ¹⁹. El calcio participa en la formación y estructura de huesos y dientes, activación de enzimas y contracción muscular. Al magnesio se le relaciona en la replicación de ADN y síntesis de ARN; el potasio favorece la conducción nerviosa y contracción del músculo esquelético y liso. Por su parte el sodio mantiene el control del volumen extracelular y presión osmótica; mientras que el hierro forma parte de la hemoglobina, mioglobina y citocromos, participando en el transporte de oxígeno y formación de colágeno ³⁰.

2.4 Fibra

El término de fibra dietética, se utilizó por primera vez en 1953, sin embargo antes de esto, ya se había observado el efecto anti-estreñimiento por el consumo de alimentos altos en fibra ³¹. Por otro lado, Burkitt D, en 1973 realizó algunos estudios epidemiológicos, donde encontró relación entre la alimentación baja en fibra y la presencia de enfermedades como la obesidad ^{16,32}.

La fibra dietética, está presente en alimentos de origen vegetal y se conforma por polisacáridos y lignina, que no se pueden digerir por las enzimas presentes en el

tracto gastrointestinal humano, pero puede fermentarse de manera parcial o total en el colon ^{17,32}. Diversos estudios han señalado que existe relación entre el consumo de fibra dietética y la disminución en enfermedades crónicas no transmisibles como dislipidemias, diabetes y obesidad ³³. Fisiológicamente, la ingesta de fibra dietética, tiene efectos en el tracto digestivo desde la boca hasta el ano ³¹. Estos efectos pueden variar por el tipo de fibra que se consume, el estado general de salud de cada persona, los hábitos alimenticios y la interacción entre alimentos ³¹.

2.4.1 Clasificación de la fibra.

De acuerdo a su origen, se clasifica a la fibra dietética, en tres grupos: a) polisacáridos estructurales como la celulosa, hemicelulosa y algunas pectinas; b) no polisacáridos estructurales, principalmente la lignina; y c) las gomas y mucilagos ^{18,31}.

2.4.1.2 Fibra soluble.

La fibra dietética soluble, puede ser fermentada en su totalidad y es aquella que tiene la capacidad de formar geles en contacto con el agua, comprendiendo las gomas, mucilagos, pectinas, almidón resistente, hemicelulosas, galacto-oligosacáridos, inulina y fructo-oligosacáridos ^{18,34}. Entre los alimentos que contienen fibra soluble se encuentran los frijoles secos, avena, cebada, algunas frutas y vegetales ³⁵.

Este tipo de fibra forma un complejo con los ácidos biliares, generando menor absorción de colesterol en la dieta debido a la disminución en la absorción de grasa, además al ser soluble en agua forma geles que retardan el vaciamiento gástrico, lo que permite regular la absorción de nutrimentos ²³.

2.4.1.3 Fibra insoluble.

La principal fuente de fibra insoluble proviene de verduras y cereales como el trigo y el maíz ³⁵. Es aquella que es fermentada de manera parcial por la microbiota del colon, son la celulosa, hemicelulosa y lignina principalmente ³⁴. Este tipo de fibra se caracteriza por incrementar el volumen del contenido fecal, disminuir el tiempo

del tránsito intestinal y tener efecto laxante, características que reducen la absorción de lípidos a partir de la dieta ^{16,23}.

2.4.1.4 Fibra detergente neutra.

La fibra detergente neutra, proporciona una estimación más precisa de la cantidad de fibra de la pared celular de los vegetales y puede medir la cantidad combinada de la celulosa, hemicelulosa, lignina, cutina y sílice. Este método da una estimación de la cantidad de fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina) ³⁶. A la fibra insoluble se la ha relacionado con la capacidad de los alimentos a ocupar un determinado volumen en el tracto gastrointestinal, es decir, se asocia con el llenado físico o con la capacidad de consumo de materia seca ³⁷.

2.4.1.5 Fibra detergente ácida.

Puede definirse como una cuantificación de la celulosa, lignina, cutina y sílice, esta parte se relaciona de forma negativa con la digestibilidad de los alimentos y su aporte de energía. El contenido de este tipo de fibra en los alimentos se utiliza para estimar la cantidad de energía de los mismos. Tomando en cuenta la cantidad de este tipo de fibra, se pueden determinar los contenidos de lignina y sílice ³⁷. Esta determinación estima la cantidad de celulosa y lignina y por diferencia la hemicelulosa siendo clasificada como fibra insoluble ³⁶.

2.5.1 Efectos benéficos de la fibra en obesidad.

Las personas que tienen mayor consumo de fibra en su dieta, tienen menor peso en comparación con las personas que llevan una dieta baja en fibra, esto relacionado a la baja densidad energética de los alimentos y aumento en el volumen y tránsito intestinal. Se ha determinado que el consumo alto de fibra en la dieta, puede ayudar a disminuir el riesgo de presentar obesidad hasta en un 30% ¹⁶. Al incrementar las veces en que se mastica cada bocado, se encienden señales a nivel cefálico y gástrico, generando saciedad ³⁸. Por otro lado, el aumento de viscosidad que produce la fibra soluble dentro del tubo digestivo es responsable de generar saciedad por el aumento en el volumen y tiempo de tránsito ^{2,16}. Se ha encontrado que el consumo de fibra soluble, disminuye los niveles séricos de colesterol y triglicéridos ¹⁷.

2.5.2 Efectos benéficos de la fibra en diabetes mellitus tipo 2.

Se ha asociado el consumo de fibra con la prevención de la diabetes ¹⁷. En algunos estudios epidemiológicos, se ha establecido que hay relación protectora entre el consumo de fibra dietética y la presencia de diabetes, así como la disminución de los niveles de glucemia en sangre, esto es independiente a otros factores de la dieta. ^{16,18}.

La forma en que participa la fibra dietética para disminuir los niveles de glucosa en la sangre y prevenir alteraciones en la secreción de insulina, puede ser asociado al aumento en el tiempo de vaciado gástrico, por la viscosidad de la fibra soluble y la absorción de agua, a su vez por retardar la absorción de hidratos de carbono en el intestino delgado, lo que facilita la secreción adecuada de insulina y la sensibilidad a la misma ¹⁶.

2.5.3 Efectos negativos del consumo excesivo de fibra dietética.

Si bien es importante consumir diariamente fibra para mantener el estado de salud óptimo, sin embargo no significa que el consumo abundante o indiscriminado siga teniendo beneficios en la salud ¹⁸. La ingesta diaria de fibra es de 25- 28 g, donde el 80% debe ser fibra insoluble y el 20% soluble (USDA, 2016) o bien, los adultos deben consumir 25-35 g por día, tanto soluble como insoluble, para mejorar el control de glucosa e insulina (ADA). Además, la proporción insoluble/soluble debe ser 3/1 ^{39,40}. Es importante recordar que aproximadamente 25% de la fibra que se encuentra en los alimentos es soluble y el resto insoluble ¹⁷.

Se sabe que una alimentación alta en fibra contiene menor cantidad de energía lo que no es recomendable para niños en crecimiento y adultos mayores con dificultades para alimentarse ¹⁸. Además, dietas altas en fibra han mostrado que incrementan la excreción de nitrógeno fecal y disminuyen la digestibilidad de nitrógeno dietario en humanos y en animales de laboratorio ³⁵ por lo que la fuente y cantidad de fibra en la dieta puede afectar de manera negativa la utilización de proteínas, ya que puede reducir la actividad intestinal de las enzimas digestivas y la absorción de nitrógeno proveniente de este tipo de biomoléculas ³⁵. Por otro lado, se ha encontrado que la fibra parcialmente fermentable (fitatos, oxalatos y

otros) forma complejos con algunos minerales como hierro, calcio, magnesio y zinc, disminuyendo así la absorción de los mismos en el intestino delgado ¹⁸. Sin embargo, algunos minerales pueden absorberse en el colón, una vez que son liberados de la matriz indigerible ³⁴. Una dieta rica en fibra puede ser un factor de riesgo de deficiencia de hierro en sangre por la presencia de fitatos y oxalatos que impiden la absorción, lo que ocasiona que del hierro presente en los vegetales tan solo el 5% aproximadamente sea biodisponible ^{13,18}. El contenido total de hierro en hojas de frijol es en promedio diez veces mayor que el del grano de frijol ¹³ por lo que es posible que el consumo de HF permita mantener el balance de hierro a nivel corporal que es controlado por los enterocitos en el duodeno .

2.6 Ácidos grasos de cadena corta a partir de la fibra dietética.

Los efectos positivos del consumo adecuado de fibra dietética, son asociados a la actividad directa que tiene la fibra o a los productos de su fermentación. Al llegar la fibra soluble al colon, sufre un proceso de fermentación por las bacterias allí presentes, produciéndose ácidos grasos de cadena corta (AGCC) acetato, propionato, butirato ⁴¹.

El acetato es el AGCC que se produce en mayor proporción, se utiliza como sustrato para la síntesis de colesterol hepático y lipogénesis. El propionato puede disminuir la síntesis de colesterol al bloquear la enzima HMG-CoA reductasa iniciadora para su síntesis. Tanto acetato como propionato son utilizados como sustratos, metabolizándose en el hígado, produciendo energía ⁴². Por su parte, el butirato es utilizado por las células del epitelio intestinal colónico como principal fuente de energía ⁴¹. Se ha demostrado que el butirato tiene efectos anticancerígenos, disminuye la inflamación y ayuda a la regulación del estrés oxidativo ⁴³.

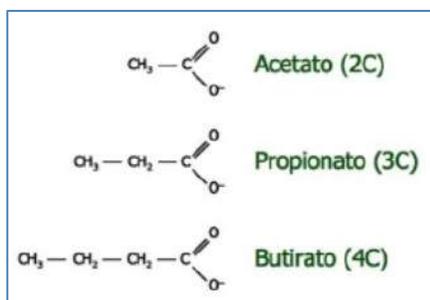


Figura 2 Representación de la estructura química de los principales AGCC⁴⁴.

Se ha reportado que los AGCC, producto de la fermentación tienen efecto en la disminución del apetito y por consecuencia en la ingesta de alimentos; además modulan receptores que intervienen en la regulación del apetito. Se sabe que los AGCC activan receptores de ácidos grasos libres conocidos como GPR43 y GPR41, donde GPR43 se une a acetato y propionato, mientras que GPR41 se une a propionato y butirato principalmente. Esta activación promueve las cascadas de señalización para aumentar la expresión de PPY y GLP-1^{23,45}.

2.7 Modificaciones en la dieta.

Estudios previos han demostrado que la alimentación de ratas con una dieta con un alto contenido de hidratos de carbono y particularmente de fructosa (DRF) induce un estado compatible con el síndrome metabólico (SM), mostrando hipertensión, dislipidemia, hiperinsulinemia y tolerancia a la glucosa alterada⁴⁶. Actualmente se acepta que el estrés oxidativo podría jugar un papel importante en la fisiopatología del SM. La hiperglucemia promueve el estrés oxidativo y la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS). La acumulación excesiva de triglicéridos induce la generación de radicales libres y favorece daños oxidativos en el tejido adiposo. Este estado de mayor producción de especies oxidantes, se halla acompañado por una disminución de los niveles de sustancias antioxidantes endógenas de igual forma de los provenientes de la dieta como son ésteres de retinilo, vitamina C, vitamina E y varios carotenoides⁴⁶.

Otra característica de las dietas hiperenergéticas o altas en grasa e hidratos de carbono es que tienen una densidad energética mayor. La densidad energética representa el contenido calórico de los alimentos, y se expresa en unidades de peso o volumen. Siendo los lípidos el grupo de macronutrientes que más energía aportan, los alimentos con grasa son los de mayor densidad energética, dependiendo de la proporción de lípidos en comparación con los demás componentes nutricios del alimento, se ha observado que los lípidos presentan menor capacidad de saciedad y mejor sabor, favoreciendo la ingesta de mayor energía ⁴⁷.

2.7.1 Fructosa en la dieta.

La fructosa es un edulcorante natural, su uso comenzó a ser más popular al observar que presenta un bajo índice glicémico en comparación con la glucosa y además no requiere de la insulina para ser captada por las células, motivo por el cual se pensó que era una opción adecuada para sustituir el azúcar de mesa ⁴⁸. Su uso incrementó de manera considerable y al estudiar sus efectos en metabolismo, se determinó como un factor de riesgo para el desarrollo de patologías como obesidad y diabetes ^{48,49}. La fructosa, puede formar moléculas como el gliceraldehído y la dihidroxicetona fosfato, que entran a la vía de la gluconeogénesis, aumentando la cantidad de glucosa disponible y favoreciendo su aumento extracelular; así como incremento de dihidroxicetona fosfato y glicerol que participan en la lipogénesis, favoreciendo el incremento de lípidos ⁵⁰.

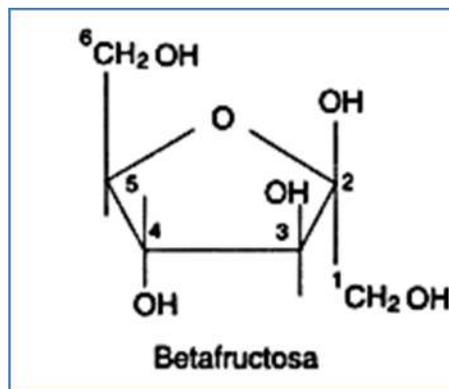


Figura 3 Estructura de la fructosa ⁵¹.

2.7.2 Ingesta elevada de lípidos en la dieta.

Los ácidos grasos pertenecen al grupo de lípidos que nutricionalmente se considera un macronutriente y el que aporta mayor cantidad de energía, 9 Kcal/g⁵². Además de aportar energía, desempeñan múltiples funciones, entre ellas: forman parte de las células dando estructura a la bicapa lipídica de la membrana celular y son precursores de hormonas⁵³.

Consumir lípidos en cantidades elevadas está relacionado con el aumento de peso, cantidad de grasa corporal y niveles de lípidos en sangre, el aumento de lípidos sanguíneos se asocia con mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Específicamente hablando de los ácidos grasos saturados, su consumo excesivo genera aumento en colesterol y aumenta el riesgo de presentar sobrepeso u obesidad, hígado graso y resistencia a la insulina⁵².

2.8 Uso de STZ como inductor de diabetes tipo 2.

La STZ es un antibiótico que deriva del hongo *Streptomyces achromogenes* y es usado como antineoplásico⁵⁴. Además ha sido administrado en diversos experimentos para la inducción de diabetes tipo I y tipo II en animales de laboratorio, principalmente ratones y ratas⁵⁵. El mecanismo por el cual actúa es por acción citotóxica sobre las células uniéndose a los receptores de glucosa (por su similitud química con este monosacárido) GLUT 2, los cuales se expresan en mayor medida en los islotes pancreáticos, en menor cantidad en hígado y riñones. Al provocar la muerte de las células beta del páncreas, en función de la dosis de STZ administrada, disminuye la secreción de insulina y por consecuencia se observa hiperglucemia sostenida^{54,56}. Estudios previos reportan que se puede inducir diabetes tipo II con este fármaco de tres maneras: 1) con una dosis única de una concentración elevada de STZ al nacimiento del animal, lo cual produce diabetes tipo II en la etapa adulta; 2) combinando la administración de nicotinamida con STZ; y 3) con dosis leves de STZ y una dieta alta en grasa y azúcares⁵⁷⁻⁵⁹.

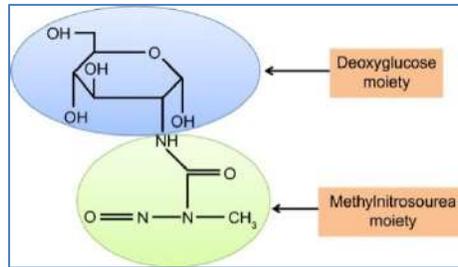


Figura 4 Estructura química de STZ⁵⁷.

2.9 Fisiología del aparato digestivo.

El tracto gastrointestinal (TGI) está conformado principalmente por cavidad oral, faringe, esófago, estómago, intestino delgado, colon, recto y ano^{60,61}. La principal función del TGI es la digestión y absorción de nutrientes, además tiene una función de barrera y producción de moléculas al estar en contacto directo con los microorganismos de la microbiota⁵¹.

El estómago y colon almacenan la comida ingerida conocida como quimo, el intestino delgado se encarga de la digestión y absorción de nutrientes, mientras que en el colon se reabsorbe agua y minerales⁶¹. Las diferentes regiones del TGI se separan por esfínteres (estructuras musculares) aislando una región de otra y previniendo el reflujo⁶¹. Lo que permite el avance del bolo alimenticio por el TGI es un movimiento controlado conocido como peristaltismo⁶⁰. El TGI se conforma de diversas capas (mucosa, submucosa, muscular y serosa), en la capa más interna de la mucosa (epitelio) se lleva a cabo la digestión y absorción de nutrientes donde tienen lugar los procesos secretorios, digestivos y de absorción⁶⁰. El epitelio tiene una gran superficie de absorción por los pliegues en la mucosa, en conjunto con las microvellosidades intestinales y la membrana de los enterocitos⁶². La digestión comienza en la boca, las glándulas salivales expulsan amilasa salival y lipasa salival, que degradan almidón y lípidos en moléculas más sencillas. En el estómago comienza la degradación de proteínas con la pepsina, en el duodeno se liberan ácidos biliares y diversos tipos de enzimas que permiten que continúe la digestión de nutrientes, mientras que en yeyuno e íleon se producen lactasa, maltasa y diferentes peptidasas, que permiten continuar con la digestión de los nutrientes⁵¹. El almidón no absorbido junto con la fibra

fermentable, así como una porción de proteínas son fermentadas en el colon, produciendo AGCC, hidrógeno, dióxido de carbono y metano ⁶².

2.10 Microbiota y obesidad.

Diversos estudios sobre microbiota intestinal, están enfocados en su posible acción sobre el metabolismo energético, considerando que cambios en la microbiota pueden tener efectos relacionados con patologías tales como la obesidad ⁶³. La microbiota intestinal humana se conforma de alrededor de 3000-10 000 especies de bacterias, existen dos filos predominantes que conforman cerca del 90% del total, estos son bacterias firmicutes y bacteroidetes, estos mismos filos son predominantes en ratas de acuerdo estudios previos ^{42,63}, lo que permite estudiar los cambios en la microbiota y sus posibles efectos sobre el metabolismo energético y las patologías relacionadas con este, como la obesidad ⁶³. Los firmicutes son bacterias Gram positivas de más de 200 géneros y los bacteroidetes son Gram negativas conformadas por alrededor de 20 géneros ⁶³. La microbiota intestinal se ve modificada por el ambiente del huésped, donde se ubica la dieta, diversos estudios reportan que, animales con dieta alta en grasa u obesos genéticamente, tienen la cantidad de firmicutes y bacteroidetes alterados, lo que se relaciona con incremento de enzimas y degradación de polisacáridos que producen AGCC, el butirato se produce principalmente a partir de firmicutes, mientras que acetato y propionato lo producen bacterias que pertenecen a los bacteroidetes ^{42,63}.

Para tratar los cambios en la microbiota se sugiere la estimulación selectiva de especies bacterianas, por medio de administración de prebióticos (polisacáridos insolubles) o la administración de probióticos (bacterias vivas) ⁴².

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se sabe que actualmente la cantidad de personas a nivel mundial que presentan sobrepeso y obesidad va en aumento, siendo un problema de dimensión mundial. La presencia de esta patología, se asocia con un estilo de vida no saludable, en donde se incluyen factores como disminución de la actividad física, dietas altas en energía que se caracterizan por tener cantidades elevadas de azúcar y grasa, consumo de tabaco y alteración en las horas de sueño. Se ha determinado que la obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como dislipidemias, hipertensión y diabetes tipo 2, siendo esta una de las principales causas de muerte a nivel mundial.

Entre las recomendaciones para tener un estilo de vida saludable, se aconseja llevar una dieta correcta que promueva el mantenimiento del peso normal, considerando la distribución de grasa corporal. Considerando como dieta correcta a la dieta que es completa, variada, equilibrada, suficiente e inocua. En este sentido se incluye el consumo adecuado de compuestos bioactivos vegetales, entre ellos la fibra dietética a partir de frutas, verduras y cereales integrales.

En México uno de los alimentos más producidos y consumidos es el frijol, se sabe que la semilla de frijol y la vaina ejotera son alimentos altos en fibra y existe un estudio sobre la composición de la HF, mostrando un contenido cercano al 40% de fibra. El consumo de HF en México, como cogollitos de frijol o quelites, está localizado en ciertas zonas del país. Este trabajo puede dar pauta a una mayor distribución de este alimento en la dieta habitual del mexicano. Ya que además de posiblemente proveer beneficios a la salud, es de fácil acceso y bajo costo.

Al determinar el contenido nutricional de la HF y relacionarlo con su efecto benéfico sobre los perfiles lipídico y glicémico en sangre, así como con otros parámetros relacionados al estado general de salud en animales como son obesidad y/o diabetes, se puede plantear una mayor incorporación de la HF en la alimentación de la población Mexicana.

IV. JUSTIFICACIÓN

Para ampliar el conocimiento del papel que tiene el consumo de alimentos como la HF, en el desarrollo de la obesidad o la progresión hacia diabetes, nosotros determinaremos la relación que existe entre el consumo de HF de *Phaseolus vulgaris* y dieta obesogénica (dieta alta en fructosa y manteca de cerdo) o en diabetes mellitus tipo 2 inducida, sobre los perfiles lipídico y glicémico, en ratas Wistar con alimentación *ad libitum*.

En México se consume principalmente la semilla y en menor medida la vaina fresca o frijol ejotero, sin embargo, no se acostumbra el consumo de la HF en la dieta habitual del mexicano, consumiéndose por parte de grupos étnicos en forma de quelites, ya sea cruda o cocida. En un estudio previo que se realizó para conocer la composición de la HF, se determinó la cantidad de macro y micronutrientes, encontrando la presencia de compuestos fitoquímicos, entre ellos un alto contenido de fibra dietética.

En este sentido, es importante llevar a cabo la presente investigación, ya que se puede sugerir la introducción en la dieta la HF para aprovechar los beneficios con los que se relaciona su ingesta, con enfermedades crónicas no transmisibles actuando sobre los perfiles lipídico y glicémico.

V. HIPÓTESIS

El consumo de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en ratas Wistar macho, con dieta alta en hidratos de carbono y grasa o con inducción de diabetes mellitus, modifica la composición corporal disminuyendo la grasa visceral así como a los perfiles lipídico y glicémico en sangre.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto en la composición corporal y perfiles lipídico y glicémico con el consumo sostenido de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris L*) en ratas Wistar macho con dieta alta en hidratos de carbono y grasa o inducción de diabetes mellitus.

6.2 Objetivos específicos

- Caracterización bromatológica de la HF *Phaseolus vulgaris L*.
- Comparar la composición corporal y los perfiles lipídico y glicémico en relación al consumo de HF al alimentar a los animales con una dieta hiperenergética o al inducir diabetes tipo 2.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Características de la HF.

La planta de frijol *Phaseolus vulgaris* L. variedad Eugenia se obtuvo por sembradío en campo abierto en el campus experimental Amazcala (FCN, UAQ) en junio del 2019 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 45°C hasta peso constante. La HF seca se molió y cribó a 0.2 mm (molino Thomas-Wiley modelo 4). El polvo de HF se incorporó en la dieta de los grupos experimentales y se realizó con ella el análisis químico proximal (apoyo QA Aurora Jáuregui, laboratorio Nutrición Animal a cargo del Dr. Konisgmar Escobar García, FCN, UAQ).

7.2 Caracterización bromatológica de la HF.

La HF se analizó siguiendo las técnicas descritas en el manual de Hernández Martínez et al., 2000 con las adaptaciones pertinentes. La humedad se determinó por estufa de secado; las cenizas por calcinación (AOAC 942.05); la proteína por el método de nitrógeno total macro-Kjeldahl (AOAC 2001); los lípidos por el método de extracto etéreo (AOAC 920.39). La fibra dietética total se determinó por un método enzimático utilizando un kit (Total Dietary Fiber Assay Kit, Sigma-Aldrich) con las modificaciones reportadas por Heredia Ortega et al., 2014; la fibra detergente ácida, la fibra detergente neutra y la fibra cruda, así como las demás determinaciones se realizaron con las técnicas establecidas en el laboratorio de nutrición animal ⁶⁴, en apoyo de la QA Aurora Jáuregui y en colaboración del Dr. Konisgmar Escobar García.

7.3 Diseño experimental animal.

Los grupos experimentales se formaron con 11 ratas Wistar macho de 6 semanas de edad, peso aproximado de 150-180 g (Bioterio INB-UNAM Campus Juriquilla, Qro). Los animales se alojaron en jaulas estándar (27 X 37 X 15 cm) con cama sanitaria de viruta estéril y bajo condiciones controladas de temperatura (22 ± 2°C), humedad relativa (60 ± 5 %) y un ciclo de 12 h de luz/oscuridad con alimento

y agua *ad libitum* (acorde a las indicaciones señaladas por la NOM-062-ZOO-1999), con limpieza de las jaulas cada tercer día.

Los animales se distribuyeron en seis grupos de manera aleatoria. Los grupos experimentales fueron: control (C), control + HF (CHF), dieta hiperenergética (H), dieta hiperenergética + HF (HHF), con diabetes (D) y con diabetes + HF (DHF).

Este trabajo se realizó en dos secciones, 6 y 14 semanas (bloque 1 y 2, respectivamente) y se planteó escalar a 21 semanas (n=3), sin embargo para fines prácticos, los datos que aquí se reflejan son los del bloque 1 y 2 (n=11). En el bloque 1, se colocaron los animales en cajas metabólicas para cuantificar el alimento consumido, la cantidad de agua ingerida, la producción de heces y orina de 24 h.

La diabetes se indujo con la combinación de dieta hiperenergética (H) y la administración, a la 3er semana de consumir H, de una dosis única de STZ (40 mg/kg) vía intraperitoneal. El grupo con diabetes (D) se conformó por los animales que presentaron glucosa en sangre mayor a 200 mg/dl a la semana después de la administración del fármaco.

7.4 Diseño de dietas para los animales experimentales.

El alimento base en las dietas fue Rodent Lab Chow 5001 (alimento recomendado para roedores, formulado para su nutrición durante el ciclo de vida, su fórmula de nutrición constante ayuda a reducir las variaciones nutricionales, teniendo un aporte energético de 3.36 Kcal/g (proteína 28.5%, grasa 13.5% e hidratos de carbono 58%). Las dietas con HF (CHF, HHF y DHF) se prepararon adicionando 10% de polvo de HF al alimento molido. El caseinato de calcio se adicionó para cubrir los requerimientos de proteína de acuerdo con lo indicado en el etiquetado del alimento base comercial (Rodent Lab Chow 5001). Previo a comenzar con la dieta correspondiente los animales estuvieron 1 semana en adaptación al alimento base en polvo.

La composición energética y nutrimental de las dietas para cada grupo se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 3 Grupos experimentales y contenido nutrimental de las dietas.

Grupo	Energía (kcal/g)	Proteínas (g/100g de alimento)	Hidratos de carbono (g/100g de alimento)	Lípidos (g/100g de alimento)	Fibra (g/100g de alimento)
Control (C)	3.36	23.87	48.5	5	5.3
Control + HF (CHF)	3.57	25.97	50.64	5.2	5.56
Dieta hiperenergética (H)	4.58	21.75	43.51	21.88	3.59
Dieta hiperenergética + HF (HHF)	4.75	22.56	46.31	22.16	3.55
Diabetes inducida (D)	4.58	21.75	43.51	21.88	3.59
Diabetes inducida + HF (DHF)	4.75	22.56	46.31	22.16	3.55

7.5 Análisis y determinaciones en animales.

a. Composición corporal

En el primer bloque (6 semanas) se registró de manera semanal el peso de los animales. La ingesta de alimento, consumo de agua, así como excreción de heces y orina, se cuantificaron colocando a los animales en una caja metabólica por 24h. En el siguiente bloque (14 y 21 semanas) se continuó con el registro del peso y consumo de alimento sin utilizar la caja metabólica.

Además para conocer la distribución de la grasa corporal, en la última semana, previo a la eutanasia, los animales fueron analizados por resonancia magnética (Laboratorio nacional de imagenología por resonancia magnética, LANIREN INB-UNAM, Campus Juriquilla, Qro), utilizando isoflurano como anestésico. Las imágenes se analizaron con el programa ITK-SNAP versión 3.8.0.

b. Glucosa

Durante el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre, ésta se midió previo a la administración de STZ y 3 días después para corroborar el incremento en los animales del grupo con diabetes inducida (D). Previo a la eutanasia, realizamos una curva de tolerancia a la glucosa con administración intraperitoneal (2g glucosa/kg de peso), registrando al tiempo 0, 30, 60, 90 y 120 min. En el primer bloque, no se realizó esta medición al grupo DHF por las concentraciones elevadas de glucosa en ayuno. Además se analizó el nivel de glucosa después de eutanasia en suero. Durante el bloque 2 y 3 (14 y 21 semanas) se registró la glucosa cada semana (muestra de vena caudal, glucómetro ACCU-CHEK Active), de igual forma la curva de tolerancia y en suero post-mortem (NOM-062-ZOO-1999).

c. Eutanasia

Para poder realizar la eutanasia, primero se sujetó por “pinzamiento” al animal, esto permite la exposición y acceso a otras áreas del cuerpo. De forma breve, se sujetó con la mano hábil un pliegue de piel del dorso de la rata, iniciando el pinzamiento en la nuca con los dedos índice y pulgar, continuando con el resto de la mano dirección dorso-caudal cuidando mantener inmovilizadas las patas y enroscada o colgando la cola (Mourelle A y col, 2013). Esta sujeción se realizó para colocar la cabeza (cuidando pasar las orejas) en la guillotina, después otro colaborador descendió la navaja en un solo movimiento rápido y certero realizando la eutanasia por decapitación. Esta técnica es aprobada para roedores y conejos pequeños y permitió tener las muestras libres de sustancias químicas para no alterar los resultados de las pruebas bioquímicas post-mortem de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

Posterior a la eutanasia, se colectó sangre en tubos vacutainer morado (determinaciones hematológicas con sangre total) y amarillo (suero y química sanguínea). El suero fue obtenido por centrifugación a 3000 rpm 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, se colocaron en tubos libres de nucleasas y se congelaron en nitrógeno líquido para después almacenarse a -80°C . Los intestinos se colocaron en una solución de formaldehído al 10% para fijación e inclusión en parafina que fueron cortados (3-4 μm) y colocados en laminillas hasta su análisis.

d. Perfil lipídico.

El perfil de lípidos (colesterol, triglicéridos y lipoproteínas) se determinaron en suero posterior a la eutanasia, utilizando técnicas colorimétricas. El análisis de las muestras de sangre se realizó con apoyo de la M en C. Mariela Camacho Barrón y en colaboración con la Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola, en el laboratorio de Nutrición Humana (FCN, UAQ).

7.6 Análisis estadístico

Los resultados se presentaron como la media \pm desviación estándar (SD). El análisis de varianza o ANOVA se usó para determinar diferencias significativas entre los grupos y se aplicó la prueba *post hoc* Tukey ($p \leq 0.05$). El programa estadístico para los gráficos fue GraphPad Prism 5 y SPSS Statistical Software versión 18.0.

VIII. RESULTADOS

8.1 Composición de la HF

Se determinó la cantidad de materia seca, cenizas proteína cruda, hidratos de carbono, fibra y extracto etéreo en la HF *Phaseolus vulgaris* L. variedad Eugenia, donde se encontró que la HF contiene proteína cruda ($24.22 \pm 0.18\%$), hidratos de carbono ($45.48 \pm 0.67\%$), fibra dietética total ($24.08 \pm 1.37\%$) y lípidos ($1.33 \pm 0.05\%$).

Tabla 4 Composición bromatológica de la HF
Hoja de frijol Variedad Eugenia

Determinación	Cantidad (%)
Materia seca	94.31 ± 0.24
Cenizas	12.97 ± 0.22
Proteína cruda	24.22 ± 0.18
Hidratos de Carbono	45.48 ± 0.67
Fibra cruda	9.50 ± 0.21
FDN	28.14 ± 0.71
FDA	16.23 ± 0.59
Fibra dietética total	24.08 ± 1.37
Extracto etéreo	1.33 ± 0.05

Se presentan los datos como las medias \pm SE.

8.2 Composición corporal y perfiles lipídico y glicémico en relación al consumo de hoja de frijol.

Consumo de alimento y energía en los animales.

En cuanto al consumo de alimento, los animales no mostraron diferencia significativa entre grupos en el primer bloque de 6 semanas (S) ni en el segundo de 14 (Figura 5a y 6a). Lo cual es similar al analizar la energía de las dietas en función del consumo de los grupos experimentales, donde no hubo diferencia entre grupos en el bloque 1 y 2 (Figura 5b y 6b). En el tercer bloque (21 semanas, Figura 7a) no se encontraron diferencias significativas en las semanas 1-12, 14,

16, 19 y 20, respectivamente, mientras que si hubo diferencias estadísticas en la semana 13 entre C (45.66 ± 3.54 g) y CHF (42.83 ± 2.02 g) vs HHF (63 ± 5.29 g) donde el grupo HHF consumió 1.37 veces más que C y 1.46 veces más que CHF. En la semana 15 la diferencia estadística fue entre H (23.75 ± 5.30 g) vs C (39.5 ± 5.76 g) y CHF (38.5 ± 3.5 g), donde H consumió 1.6 veces menos que C y CHF, respectivamente. En la semana 17, H (53.75 ± 1.76 g) significativamente consumió 1.96 veces más que C (29.33 ± 8.22 g) y 2.98 veces que CHF (18.33 ± 0.76 g), mientras que en la semana 18 H (51.25 ± 1.76 g) consumió 1.87 veces más que CHF (27.66 ± 3.25 g). En cuanto a energía (Figura 7b) en el bloque 3 no hubo diferencia estadística en las semanas 14, 16, 18, 19 y 20, sin embargo, si hubo diferencia en las semana 13 donde H (261.06 ± 41.78 g) consumió 1.69 veces más energía que C (153.44 ± 11.91 g); mientras que HHF (299.25 ± 25.13 g) mostró 1.94 veces mayor consumo de energía que C y que su control experimental CHF (152.91 ± 7.21 g). En la semana 15, relacionado posiblemente a un cambio de horario en la alimentación el grupo H (79.8 ± 17.81 g) consumió 1.6 veces menos que C (132.72 ± 19.37 g) y 1.4 menos que CHF (129.36 ± 11.76 g). En la semana 17, los datos fueron más congruentes y significativos a lo esperado con la dieta H (180.6 ± 5.93 g), donde este grupo consumió 1.97 veces más que C (98.56 ± 27.62 g) y 2.93 veces que CHF (61.6 ± 2.56 g).

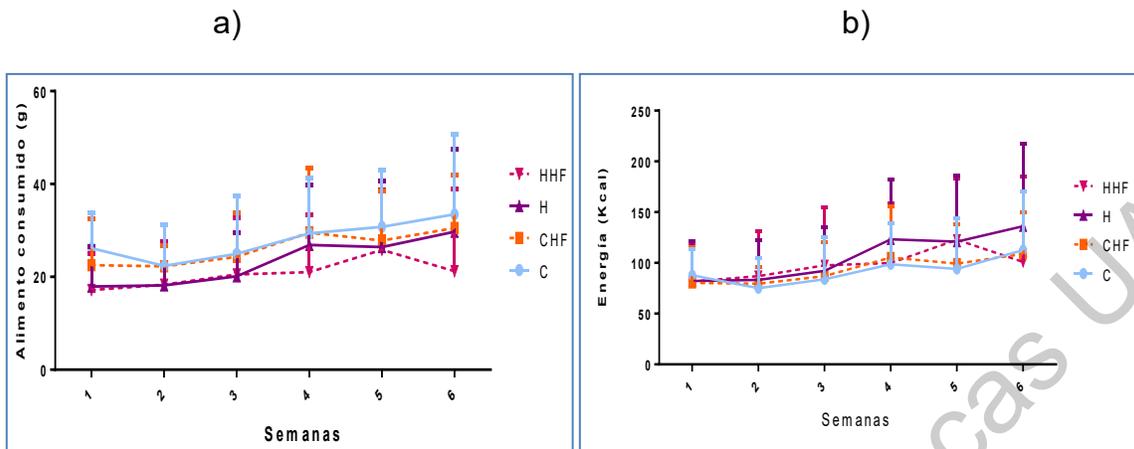
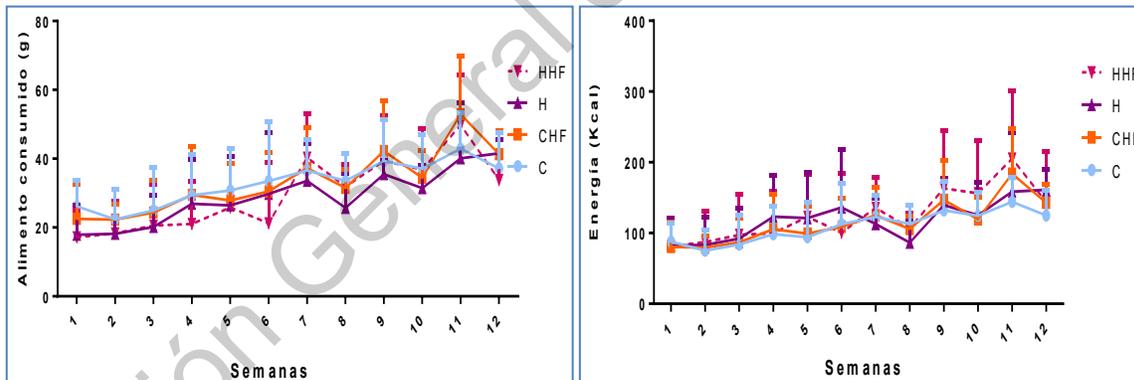


Figura 5. Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 1. Los datos graficados fueron media \pm SD. C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + hoja de frijol. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 11$. Sin diferencia estadística entre grupos.



Dirección General de Biotecnología UAQ

a)

b)

Figura 6. Consumo de alimento (a) y energía (b) en el bloque 2. Los datos graficados fueron media \pm SD. C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + hoja de frijol. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S 1-6 n=11, S 7-12, n=7. Sin diferencia estadística entre grupos.

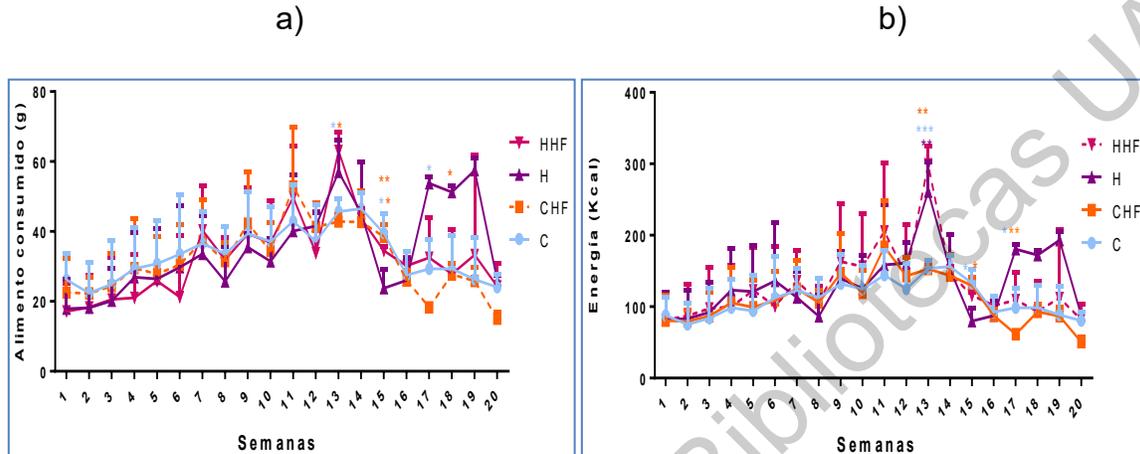


Figura 7. a) Consumo de alimento en el bloque 3. Datos media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, de la semana 13 a la 20 n= 3. S13 ** HHF vs C y CHF. S15 ** H vs C y CHF. S17 H vs C*. S18 *H vs CHF. **b) Energía en el bloque 3.** Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$. Semana 13 ** H vs C; HHF vs ***C y vs** CHF. Semana 15 ** C y CHF vs H. Semana 17 H vs *C y vs** CHF.

8.2.1.1 Consumo de alimento en grupos D y DHF.

Se consideró el consumo de alimento en los grupos D y DHF (Figura 8), donde no hubo cambios significativos entre grupos a las 6 semanas, a la semana 7 D ($60.10 \pm 7.33g$) tuvo mayor consumo que C y CHF (36.57 ± 3.44 ; $37.28 \pm 44.45g$, respectivamente), así como en la semana 9 se observó mayor consumo de D ($59.80 \pm 8.09g$) en relación con H ($35.5 \pm 1.47g$). Respecto a la energía tampoco se encontró diferencia significativa en las primeras 6 semanas, mientras que en la semana 7 y 9 D (238.78 ± 46.43 y 211.82 ± 32.72 Kcal) fue mayor que C, CHF, H y HHF (122.88 ± 11.57 ; 125.28 ± 14.95 ; 112.8 ± 13.91 ; 135.76 ± 16.12 Kcal en la semana 7) y (132.24 ± 15.19 ; 146.89 ± 21.11 ; 139.58 ± 14.07 ; 163.21 ± 30.60 Kcal

en la semana 9). En la semana 11 D ($296.44 \pm 45.62\text{Kcal}$) fue mayor que C y H (144.14 ± 13.26 ; $158.57 \pm 31.64\text{Kcal}$).

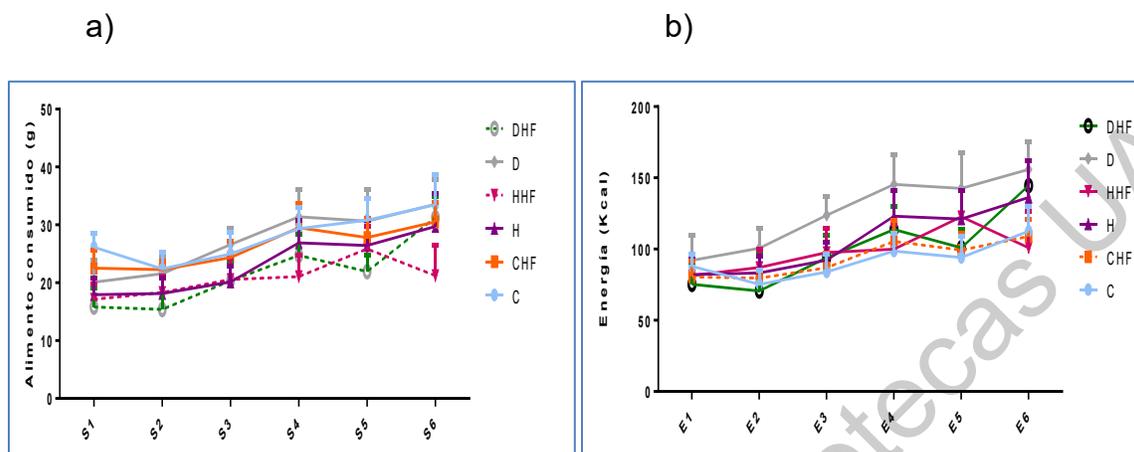


Figura 8. Gráfica del consumo de alimento (a) gramos de alimento, (b) energía en el bloque 1. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHH= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$ (DHF $n=5$). No hubo diferencia significativa.

8.2.1 Peso corporal y percentiles.

En la figura 9 se encuentra el peso que tuvieron los animales en el primer bloque de 6 semanas, el cual no mostró cambios entre grupos en la semana 1, 4 y 5, mientras que las diferencias significativas estuvieron en la semana 2 entre C ($262.82 \pm 16.8\text{g}$) vs H ($284.15 \pm 13.20\text{g}$), donde H aumentó 1.13 veces su peso comparado con el control, además que HHH ($263.55 \pm 13.96\text{g}$) fue 1.07 veces menos pesado que su control experimental de dieta hiperenergética (H). En la semana 3 la diferencia significativa fue entre C ($308.97 \pm 21.26\text{g}$) vs H ($329.93 \pm 20.52\text{g}$), donde el grupo H fue 0.93 veces mayor que el grupo control. Por último, al final del bloque en la semana 6 hubo diferencia entre los grupos CHF ($306.4 \pm 21.26\text{g}$) vs H ($329.93 \pm 20.52\text{g}$), donde éste que fue más pesado por 0.92 veces.

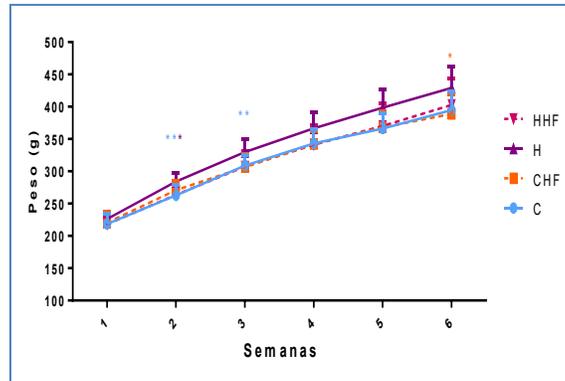


Figura 9. Gráfica del peso de los animales en el bloque 1. Media \pm SD, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$. Semana 2 **C vs H y *H vs HHF. Semana 3 **C vs H. Semana 6: *CHF vs H.

En la figura 10 podemos observar que los percentiles del bloque 1 mostraron que H ($88.66 \pm 12.21g$) fue mayor 1.37 veces que C ($65.2 \pm 13.69g$) y CHF ($65.2 \pm 13.69g$) mientras que HHF ($65 \pm 17.32g$) no tuvo diferencia significativa con estos grupos control, lo que sugiere que el consumo de hoja de frijol tuvo efecto al disminuir el peso de los animales en presencia de una dieta hiperenergética.

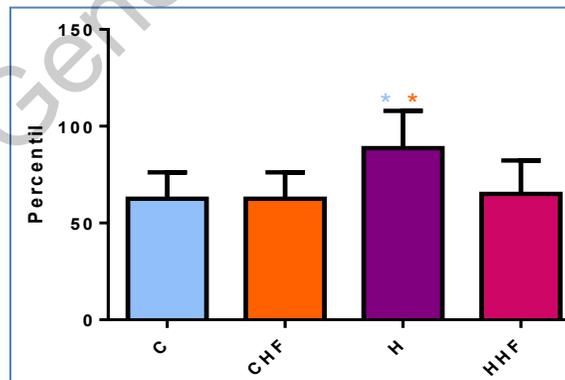


Figura 10. Percentiles de acuerdo al peso y edad de los animales a las 6 semanas de edad. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$. ** H vs C y CHF.

En la figura 11 se muestra la gráfica de los pesos del bloque 2, donde las diferencias significativas fueron las mismas en las primeras 6 semanas correspondientes al bloque 1, mientras que de la semana 7 a la 14 no hubo diferencia significativa entre grupos, lo cual fue similar en los percentiles del peso con respecto a la edad en el bloque 2 (Figura 12), donde no hubo diferencia entre grupos.

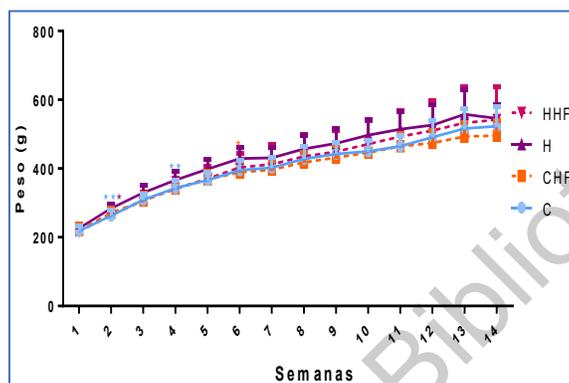


Figura 11. Peso de los animales bloque 2. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S 1-6 $n=11$; S 7-14 $n= 7$. Semana 2 **C vs H y *H vs HHF. S 3 **C vs H. S 6 *CHF vs H.

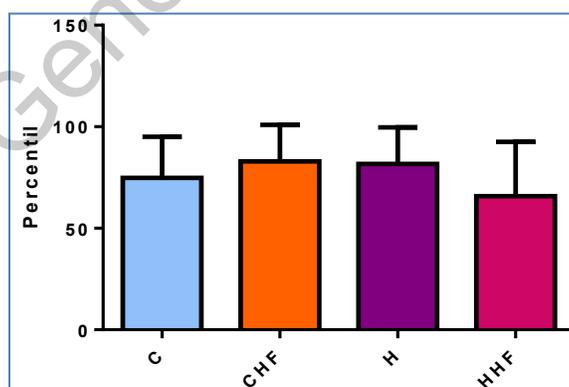


Figura 12. Percentiles de acuerdo al peso y edad de los animales en el bloque 2. Media \pm SD, C= control, CHF= control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S7-S14 $n= 7$, no hubo diferencia significativa.

En la figura 13 se muestra el peso de los animales obtenidos en el bloque 3, donde las primeras 14 semanas correspondieron a lo observado en el bloque 1 y 2. Mientras que en la semana 15 y 16 encontramos que HHF ($647.66 \pm 64.6g$) fue 1.3 y 1.2 veces mayor que CHF y H. En la semana 20 CHF ($515.72 \pm 72.67g$) fue 1.34 veces que H ($739 \pm 59.34g$). En la semana 21 H ($757.5 \pm 54.44g$) fue 1.2 veces mayor que C ($556.66 \pm 31.34g$) y 1.45 veces que CHF ($524.66 \pm 76.22g$). Los resultados en la semana 15 y 16 pueden estar asociados a cambios en horarios de alimentación. Mientras que en las semanas finales (20 y 21) el grupo H y sin HF aumentó de peso, sugiriendo que al regresar a los horarios normales y conforme pasaron las semanas incrementaron su consumo de alimento, favoreciendo cambios en composición corporal asociados con obesidad.

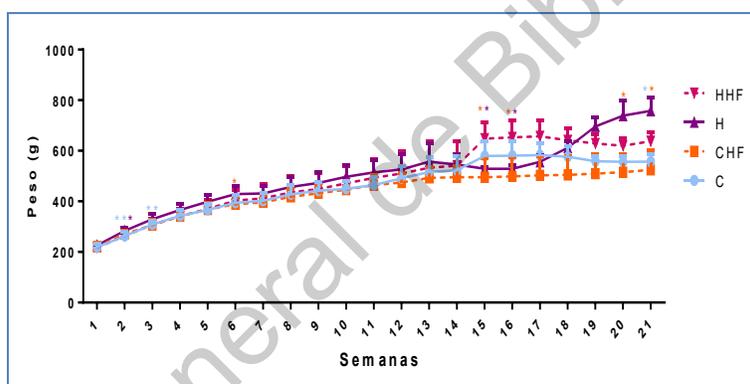


Figura 13. Peso de los animales en el bloque 3. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S 15-21 $n = 3$. S 15 **CHF y H vs HHF. S 16 **CHF y H vs HHF. S 20 * CHF vs H. S 21 **C y CHF vs H.

8.2.2.1 Peso y percentiles de acuerdo a la edad en los grupos D y DHF

En las semanas 5 y 6 hubo mayor peso en el grupo H (398.5 ± 8.63 y $429.05 \pm 9.98g$, respectivamente), siendo menor en el grupo DHF (348.48 ± 16.32 y $368.91 \pm 21.53g$). No se encontró diferencia significativa entre grupos de la semana 7 a la 14. Con lo observado en el bloque 1, se puede notar que el incremento de peso en el grupo DHF es menor que en los demás grupos. Gráficamente se observa que la

ganancia de peso en DHF disminuyó en la semana 4, después de la administración de STZ e inducción de diabetes.

Además en el peso encontramos DHF ($232.52 \pm 14.42g$) fue significativamente menor que C ($284.15 \pm 15.83g$), CHF ($270.84 \pm 14.67g$) y HHF ($263.55 \pm 13.96g$) mientras que en las últimas 2 semanas, el peso de DHF (348.4 ± 16.32 y 368.9 ± 21.33 respectivamente) fue significativamente menor en relación con H (398.5 ± 28.65 y 429.65 ± 33.10 respectivamente), donde D tuvo un promedio de 77 en percentiles, encontrándose en el rango de eutrófico, mientras que DHF tuvo promedio de 56.6, que también se encuentra en el rango normal, pero con mayor decremento. En las semanas 7 a 14 no se encontró diferencia significativa.

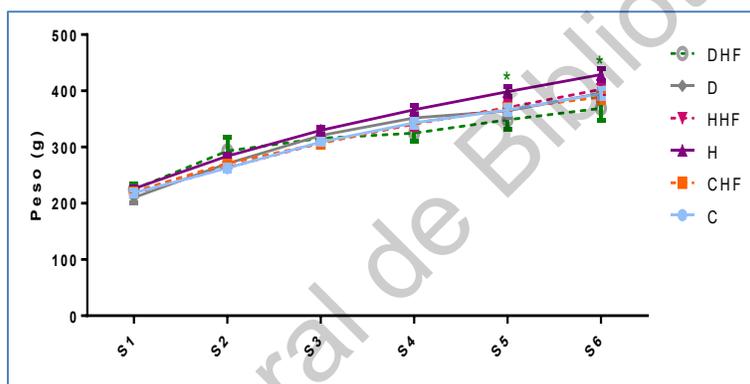


Figura14. Gráfica del peso de los animales en el bloque 1. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$ (D $n= 9$; DHF $n=5$). Semana 5 y 6: * H vs DHF.

	C	P	CHF	P	H	P	HHF	P	D	P	DHF	P
Semana 1	226.00 \pm 16.80	50	220.63 \pm 17.03	50	226.00 \pm 10.40	50	218.32 \pm 12.09	50	210.38 \pm 19.85	50	224.6 \pm 9.64	50
Semana 2	284.15 \pm 15.83	50	270.84 \pm 14.67	75	284.15 \pm 13.20	90	263.55 \pm 13.96	50	270.48 \pm 21.11	90	293.2 \pm 24.12	75
Semana 3	329.93 \pm 22.73	75	306.40 \pm 21.26	75	329.93 \pm 20.52	>97	307.54 \pm 23.65	75	320.66 \pm 17.66	97	315.4 \pm 16.55	90
Semana 4	366.47 \pm 24.38	75	342.29 \pm 19.28	75	366.47 \pm 25.10	>97	341.23 \pm 29.77	75	351.84 \pm 21.21	75	324.7 \pm 14.11	25
Semana 5	398.50 \pm 29.00	50	368.13 \pm 24.69	50	398.50 \pm 28.65*	>97	370.10 \pm 35.27	50	364.58 \pm 31.05	75	348.4 \pm 16.32	50
Semana 6	429.05 \pm 16.80	75	388.94 \pm 30.94	50	429.05 \pm 33.10*	>97	402.85 \pm 40.82	90	396.02 \pm 38.11	75	368.9 \pm 21.53	50

Cambio de peso 6 semanas. Media \pm SD C= control ($n=11$), CHF= control + HF ($n=11$), HD= dieta hiperenergética ($n=11$), HDHF: dieta hiperenergética + HF ($n=11$), ID= diabetes inducida ($n=7$) y IDHF= diabetes inducida + HF ($n=4$). Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, semanas 1-4: no hay diferencias significativas. Semana 5 y 6: * H vs DHF.

P= percentil en que se encuentra de acuerdo con las curvas de referencia para el peso de acuerdo a la edad.

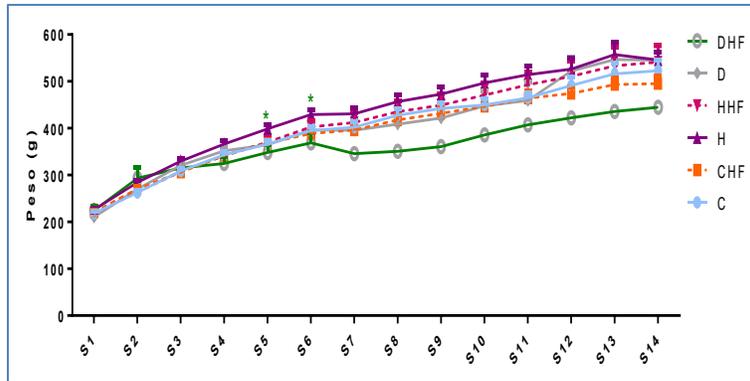


Figura 15. Gráfica del peso de los animales en el bloque 2. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S1-6 $n=11$ (DHF $n=5$); S7-14 $n=7$. Semana 5 y 6: * H vs DHF.

8.2.3 Consumo de agua, excreción de orina y heces

El consumo de agua y la excreción de orina en el primer bloque de experimentación no mostró diferencia estadística entre grupos (Figura 16). En cuanto a la excreción de heces no hubo cambios significativos entre grupos en la semana 1 y 5. Y si hubo diferencia significativa en el resto de las semanas. En la semana 2 H excretó 1.61 g menos que C y 1.97 g menos que CHF, mientras que HHF excretó 1.8 g menos que CHF. En la semana 3 el grupo C excretó 1.48 g más que H y 1.76 g más que HHF; y CHF lo hizo 2.24 g más que H y 2 g más que HHF. En la semana 4 los cambios encontrados fueron que H excretó 1.89 g menos que C y 1.92 g menos que CHF; además de que C y CHF excretaron 1.89 g más que HHF. En la semana 6 el grupo C defecó 2.16 g más que H y 2.27 g más que HHF; por último CHF 2.6 g más que H y 2.8 g más que HHF.

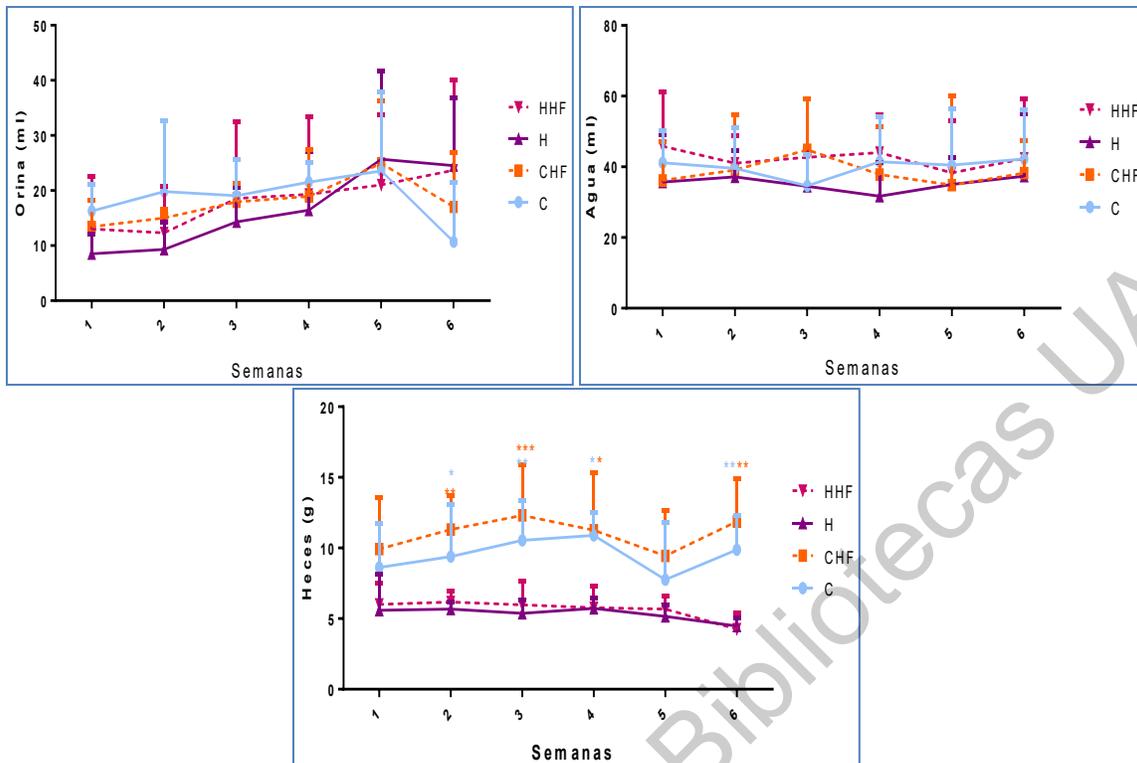


Figura 16. Ingesta de agua, excreción de heces y orina en el bloque 1. La ingesta de agua y la de orina no mostró diferencias significativas a las 6S. Mientras que la excreción de heces no tuvo cambios significativos en la S1 ni en la S5. Cambios significativos: S2 * C vs H; ** CHF vs H y HHF. S3 ** C vs H y HHF; *** CHF vs H y HHF. S4 ** C y CHF vs H y HHF. S6 ** ** C y CHF vs H y HHF. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$ $n=8$.

8.2.3.1 Consumo de agua, excreción de orina y heces con D y DHF.

En la figura 17 a, en la semana 2 D ($5.07 \pm 0.49g$) tuvo menor producción de heces que C (9.4 ± 1.49) y DHF ($5.8 \pm 0.93g$) menor que CHF ($11.30 \pm 0.97g$), en la semana 5 D ($6.35 \pm 0.63g$) y DHF ($7.08 \pm 0.73g$) tuvieron menor producción que C ($10.90 \pm 0.66g$) y CHF ($11.25 \pm 1.65g$), mientras que en la semana 6 D ($6.7 \pm 1g$) y DHF () fueron menores que CHF ($7.26 \pm 0.92g$). Por otro lado en la figura 17 b, se observó menor consumo de agua con D ($21.4 \pm 4.43ml$) y DHF ($15.5 \pm 6.02ml$) en relación con C ($42.71 \pm 3.02ml$) y CHF ($40.57 \pm 3.97ml$) en la semana 1, mientras que en la semana 2 DHF ($31.75 \pm 2.32ml$) consumió menor cantidad de agua que C ($46 \pm 2.72ml$) y CHF ($50.5 \pm 2.78ml$). Mientras que en las semanas 4 y 5, posterior a la administración de STZ se observó un incremento en la cantidad de

agua consumida por parte de D y DHF, en la semana 4 D ($60.75 \pm 5.20 \text{ ml}$) y DHF ($60.4 \pm 9.24 \text{ ml}$) tuvieron mayor consumo en relación con H ($38.81 \pm 3.97 \text{ ml}$) y en la semana 5 además de ser mayor el consumo de D ($60.33 \pm 6.25 \text{ ml}$) y DHF ($59.75 \pm 7.24 \text{ ml}$) con H ($38 \pm 2.79 \text{ ml}$), el consumo fue similar al de CHF ($59.18 \pm 3.63 \text{ ml}$). El incremento en el consumo de agua o polidipsia es uno de los síntomas característicos de la diabetes. Aunque en la figura 17c se observa que a partir de la semana 4, donde previamente se realizó la inducción de diabetes, el grupo D, tuvo una mayor eliminación de orina, no hubo diferencia significativa, probablemente porque el número de animales fue menor.

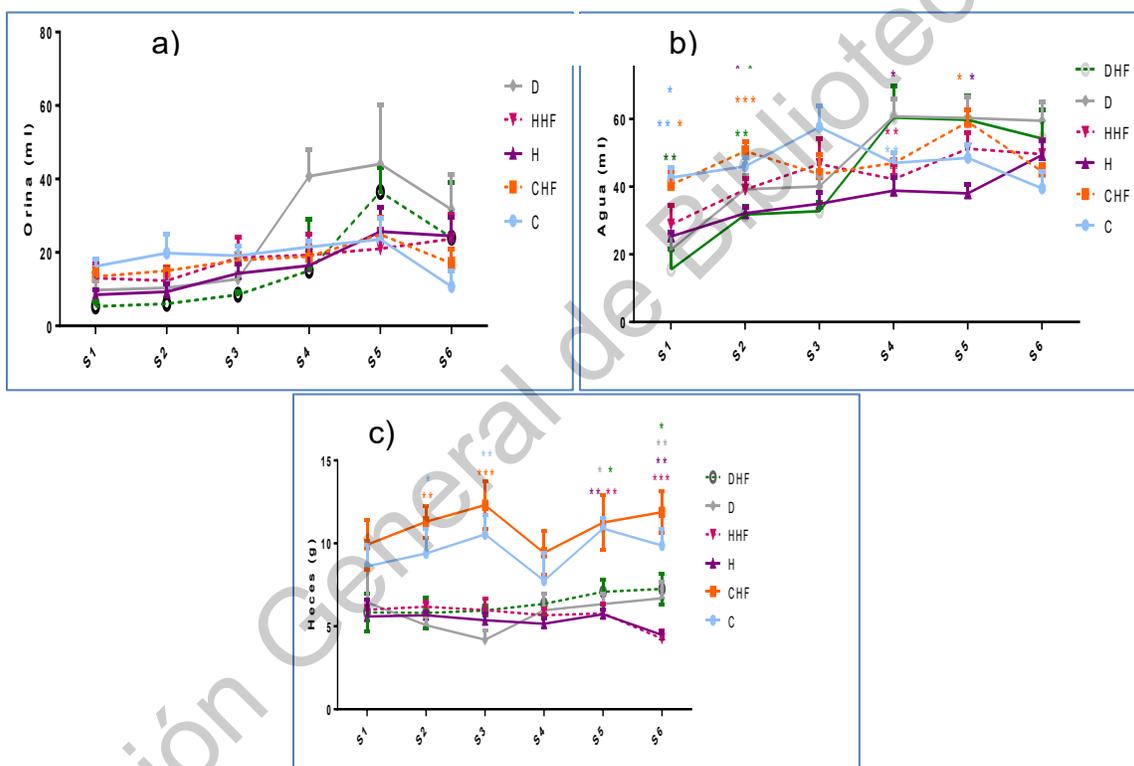


Figura 17. Ingesta de agua (a), excreción de heces (b) y orina (c) en el bloque 1. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=6$ (D= 4, DHF=5). Agua: Semana 1: * C vs H y D; ** C vs DHF; * CHF vs D; ** CHF vs DHF. Semana 2: * C vs H y DHF; *** CHF vs H; ** CHF vs DHF. Semana 4: * H vs D y DHF. Semana 5: * CHF vs H; * H vs D y DHF. Heces: Semana 2: * C vs H y D; ** CHF vs H, HHF, D y DHF. Semana 3: ** C vs H y D, HHF y DHF; *** CHF vs H, HHF, D y DHF. Semana 5: ** ** C y CHF vs H y HHF; * C y CHF vs D; * CHF vs DHF. Semana 6:

** C vs H; *** C vs HHF; **CHF vs D; * CHF vs DHF. Orina: No hay diferencia significativa.

8.2.4 IMC e índice de Lee.

A partir del último peso y la toma de la longitud naso-anal de los animales previo a la eutanasia, se determinaron los índice de masa corporal (IMC) e índice de Lee, como indicadores de obesidad, donde en particular el índice de Lee es un indicador de riesgo cardiovascular. No encontramos diferencias significativas en los tres bloques realizados (Figura 18, 19 y 20).

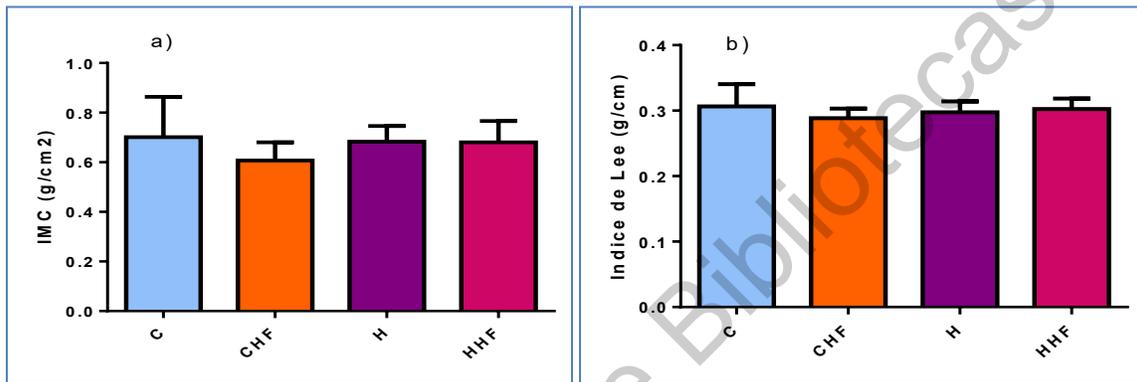


Figura 18. IMC (a) e Índice de Lee (b) en el bloque 1 de 6 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 4$. No hubo diferencia significativa.

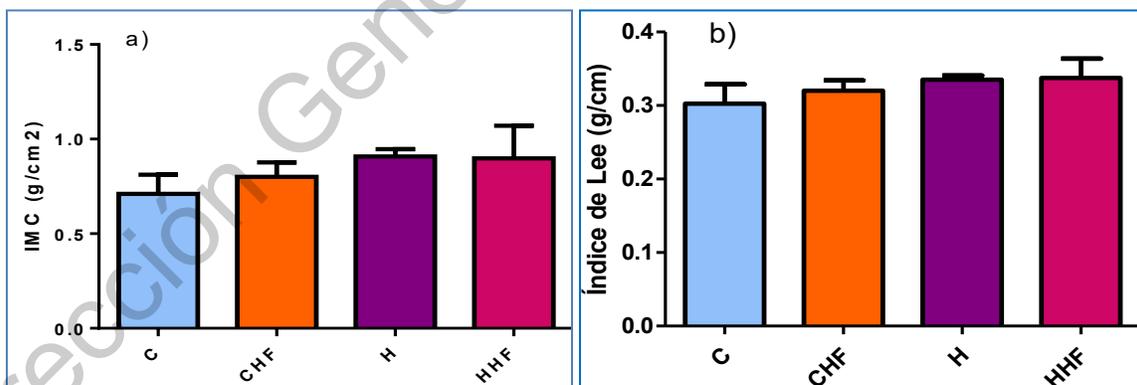


Figura 19. IMC (a) e Índice de Lee (b) en el bloque 2 de 14 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 4$. No hubo diferencia significativa.

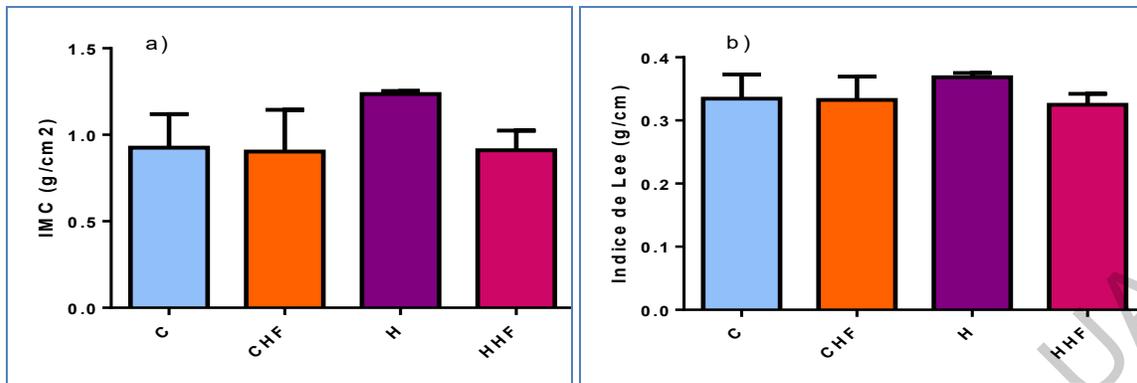


Figura 20. IMC (a) e Índice de Lee (b) en el tercer bloque, 21 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$, no hubo diferencia significativa.

8.2.3.1 IMC e índice de Lee en D y DHF

No se encontró diferencia significativa en IMC e índice de Lee en ninguno de los bloques, entre los grupos con inducción de diabetes y el resto de los grupos.

8.2.5 Circunferencias

Como parte de la composición corporal, se registraron las circunferencias visceral y torácica en los animales; así como su relación (visceral/ torácica), donde se encontró que ninguno de los bloques presentó diferencias estadísticamente significativas (Figura 21, 22 y 23). Lo anterior puede estar relacionado a que el número de animales para estos datos solo fue de 4 en los bloques analizados, ocasionando que la SD sea alta y no alcancen a observarse cambios estadísticos.

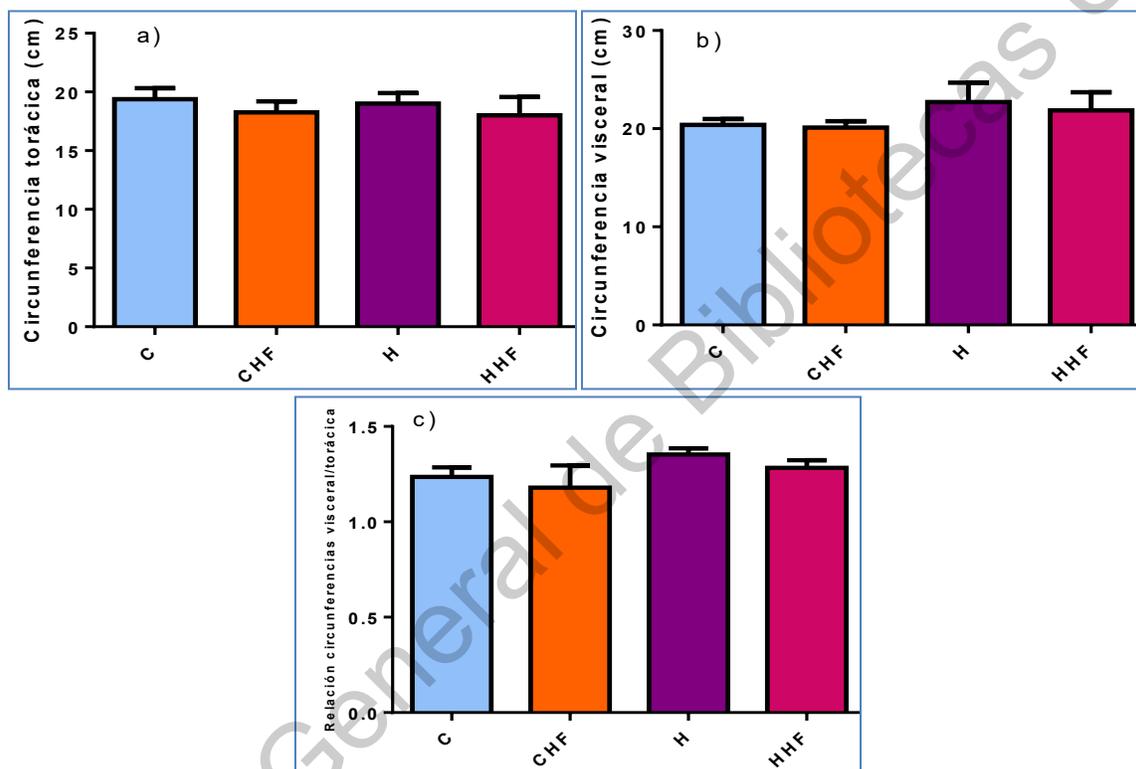


Figura 21. Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 1 (6 semanas). Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 4$. No hubo diferencia significativa.

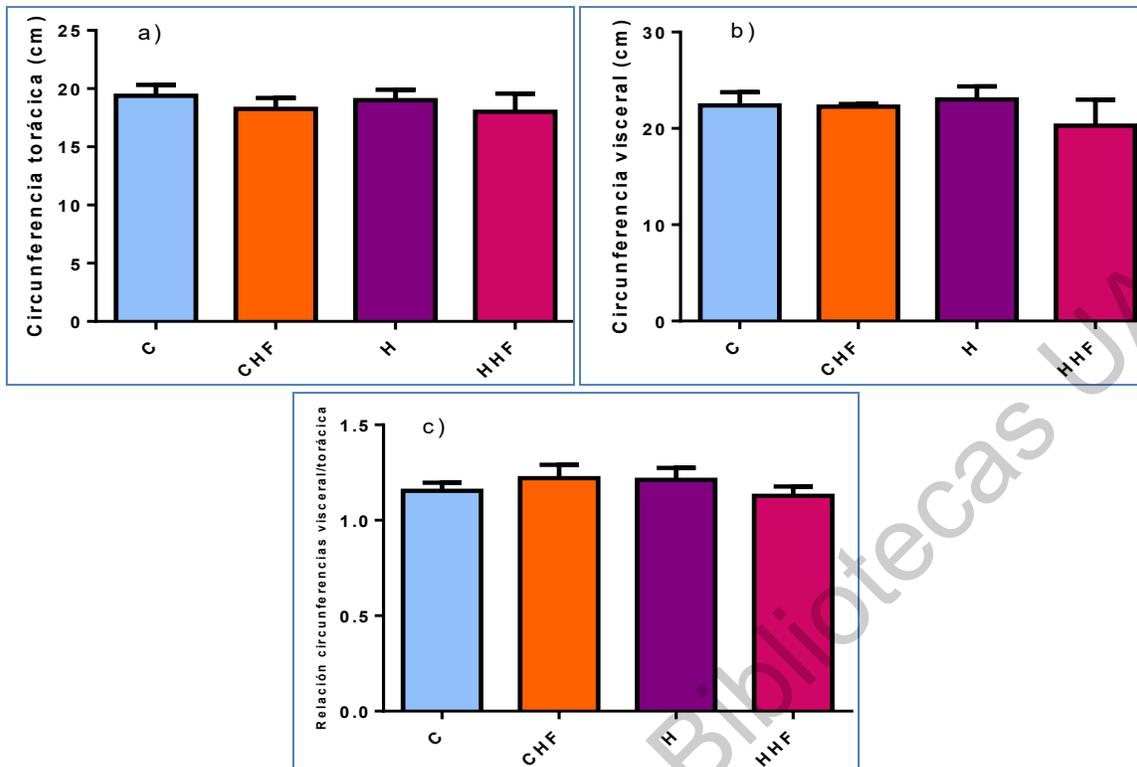


Figura 22. Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 2 (14 semanas). Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta Hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 4$. No hubo diferencia significativa.

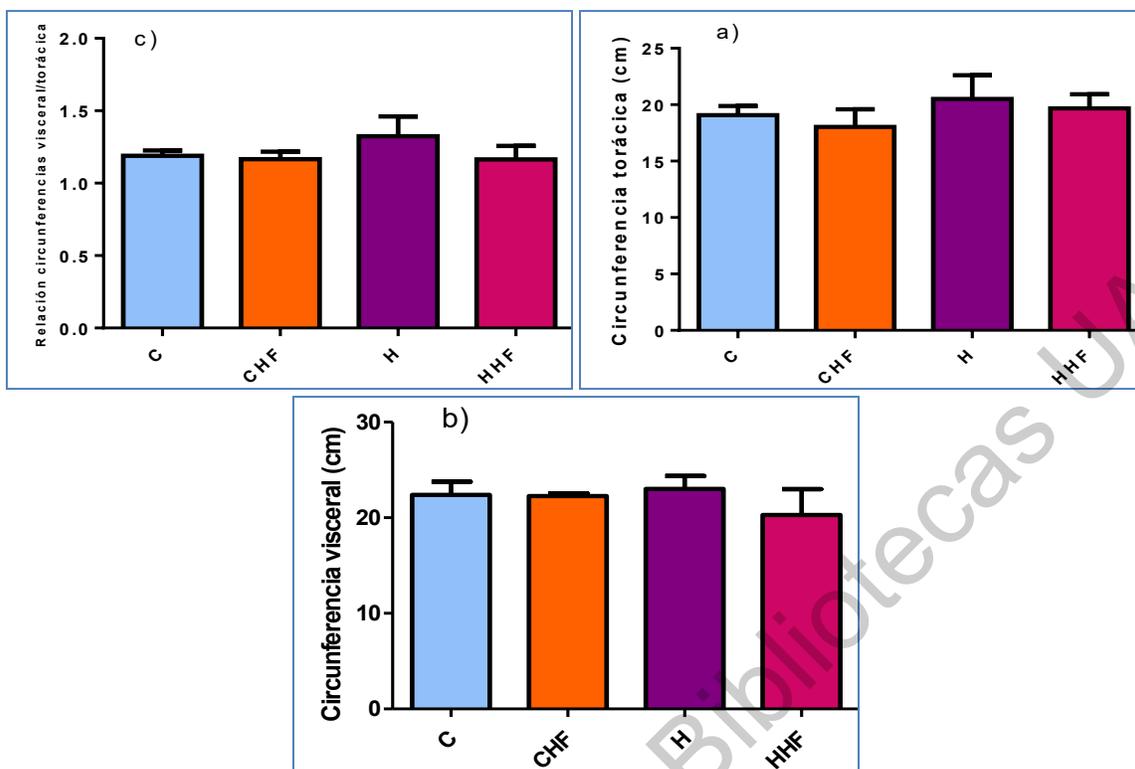


Figura 23. Circunferencia torácica (a), visceral (b) y su relación (c), bloque 3 (21 semanas). Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta Hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 3$. No hubo diferencia significativa.

8.2.5.1 Circunferencias en D y DHF

No se reportó diferencia significativa entre los diferentes grupos al analizar las circunferencias torácicas y viscerales de los animales, previas a la eutanasia en el bloque 1 y 2.

8.2.6 Distribución del tejido adiposo visceral y subcutáneo por resonancia magnética, RM.

Como parte de la evaluación de la composición corporal, se incluyó el uso de RM, para la estimación de tejido adiposo visceral y subcutáneo. A las 6 semanas (Figura 24), el grupo H ($19544.35 \pm 458.66 \text{ mm}^3$) tuvo 10.1 veces más grasa visceral que CHF ($2626.83 \pm 1376.2 \text{ mm}^3$) y HHF 8.8 veces más ($17483.6 \pm 1096.4 \text{ mm}^3$), sin haber diferencia entre H y HHF. Con respecto al tejido adiposo subcutáneo encontramos que H ($2717.75 \pm 113.4 \text{ mm}^3$) tuvo 3.4 veces más grasa que CHF ($1334.37 \pm 862.77 \text{ mm}^3$) al mismo tiempo que en HHF ($1183.25 \pm$

180mm³) significativamente disminuyó este tipo de grasa 2.25 veces comparándolo con su grupo experimental H.

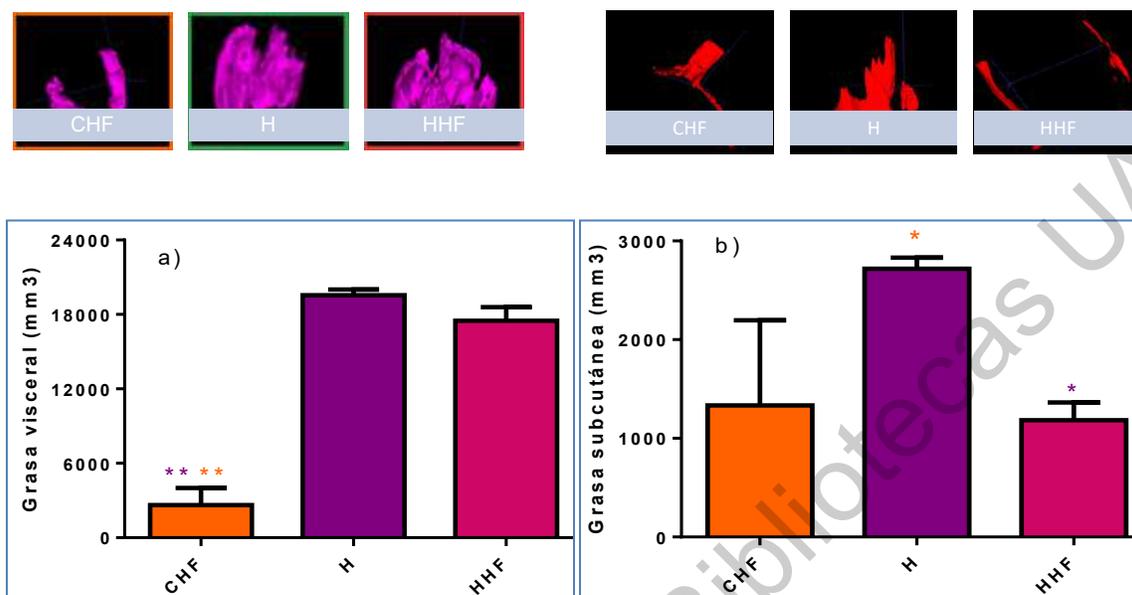


Figura 24. Tejido adiposo visceral (a) y subcutáneo (b) 6 semanas. Media \pm SD, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 3$. Diferencias significativas en grasa visceral **CHF vs H; **CHF vs HHF. Diferencias en tejido adiposo subcutáneo *CHF vs H; *H vs HHF.

En el segundo bloque (Figura 25) se encontró que el tejido adiposo visceral en H ($15283.92 \pm 562.8\text{mm}^3$) fue 2.2 veces mayor grasa visceral que el grupo C ($7427.38 \pm 2115.12\text{mm}^3$) y 3.6 más que en CHF ($4708.20 \pm 1641.04\text{mm}^3$). En este bloque no hubo diferencia significativa entre H y HHF, sin embargo, nos sugiere que aún no tener diferencia estadística en otros parámetros la composición de la dieta hiperenergética si modificó el aumento de grasa en estos animales en comparación con los controles con y sin HF. Mientras que el tejido adiposo subcutáneo en H ($2989.72 \pm 735.07\text{mm}^3$) fue 2.19 veces mayor que en CHF ($1372.06 \pm 376.57\text{mm}^3$) y éste fue 3.02 menor que en HHF ($4384.31 \pm 1978.6\text{mm}^3$). En la grasa subcutánea si encontramos un efecto significativo en su reducción al consumir la dieta con grasa y fructosa en conjunto con la HF.

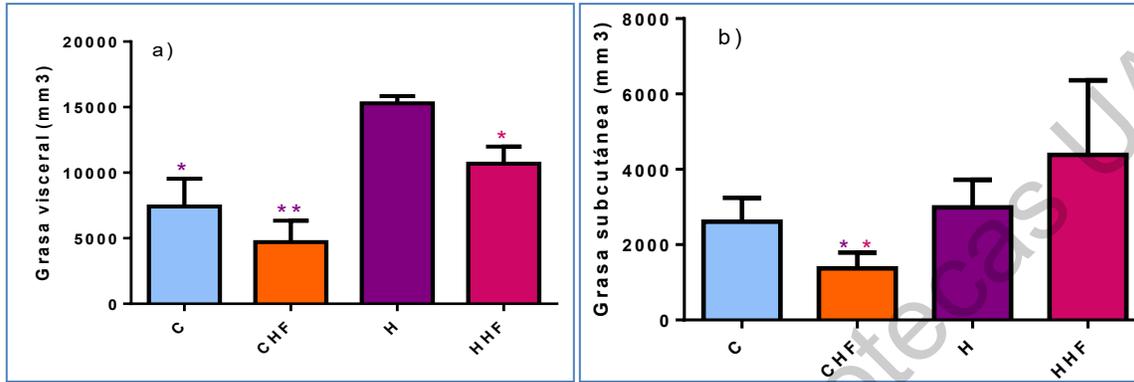


Figura 25. Tejido adiposo visceral (a) y subcutáneo (b) 12 semanas. Media \pm SD, C= Control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=5$. Tejido adiposo visceral: *C vs H, **CHF vs H, * HHF vs H. Tejido adiposo subcutáneo: *CHF vs H y * CHF vs HHF.

8.2.6.1 Distribución del tejido adiposo visceral y subcutáneo por resonancia magnética, RM con D y DHF

En el bloque 2 (figura 26), la cantidad de tejido adiposo visceral en D ($20380.07 \pm 2114.22 \text{ mm}^3$) fue mayor que C ($7427.38 \pm 2115 \text{ mm}^3$) y CHF ($4708.20 \pm 1641 \text{ mm}^3$), sin encontrar diferencias significativas en tejido adiposo subcutáneo.

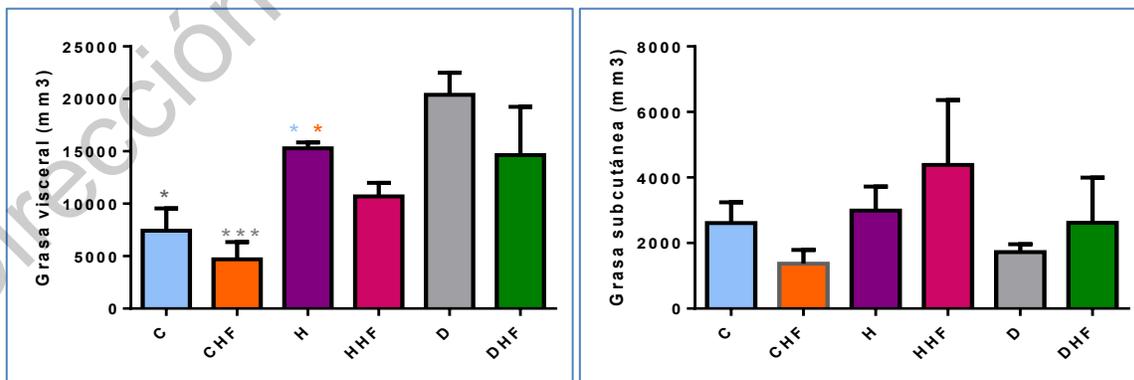


Figura 26. Tejido adiposo visceral y subcutáneo 12 semanas. Media \pm SE, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética

+ HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 5$ (D=4, DHF=2). Tejido adiposo visceral: * C vs D y *** CHF vs D. Tejido adiposo subcutáneo: no hay diferencia significativa.

8.2.7 Relación órganos del TGI/peso del animal

Al relacionar el peso final de los animales y el peso de los órganos principales del TGI (tracto gastrointestinal), se encontró que a las 6 semanas no hay diferencia significativa para estómago, intestino delgado, ciego y TGI (Figura 27). De forma similar fueron los datos en el bloque 2 (Figura 28) para la relación estómago, intestino delgado y colón con respecto al peso de los animales, ya que no encontramos diferencia estadística entre ellos. Donde si hubo diferencia estadística fue con respecto al ciego donde esta estructura fue significativamente menor en peso (1.68 veces) en el grupo HHF ($0.4325 \pm 0.07\%$) en comparación con C ($0.73 \pm 0.14\%$), mientras que el TGI tuvo mayor peso (1.38 veces) en los grupo C ($7.80 \pm 0.3\%$) que en los grupos H ($5.64 \pm 0.47\%$). A las 21 semanas (bloque 3, Figura 29) encontramos que el peso de los órganos en relación al peso total de cada animal fue mayor que en el bloque 1 y 2. Las diferencias notables estuvieron en que la relación órganos del grupo H con respecto a su peso corporal total fue menor particularmente con respecto al grupo control con y sin inclusión de hoja de frijol, ya que la relación de estómago/peso H ($3.05 \pm 0.30g$) fue menor por (1.5 veces) que la de C ($4.56 \pm 0.18g$) y 1.65 veces que la de CHF ($5.09 \pm 0.79g$); en la proporción de intestino delgado H fue 1.67 veces menos pesado que el de CHF y la proporción del ciego fue 1.43 veces menos que la de este mismo grupo ($4.91 \pm 0.8g$). Lo mismo sucedió con la proporción encontrada en colon en donde la de H ($3.18 \pm 0.48g$) fue menor por 1.5 veces que la de C ($4.78 \pm 0.26g$) y 1.62 veces que CHF ($5.15 \pm 0.73g$), para el TGI la relación encontrada en el grupo H ($12.99 \pm 2.91g$) mostró menor valor (3.38 veces) que la de CHF ($22.41 \pm 3.61g$) así como con este mismo grupo la proporción de HHF ($18.8 \pm 0.88g$) fue 1.8 veces menor.

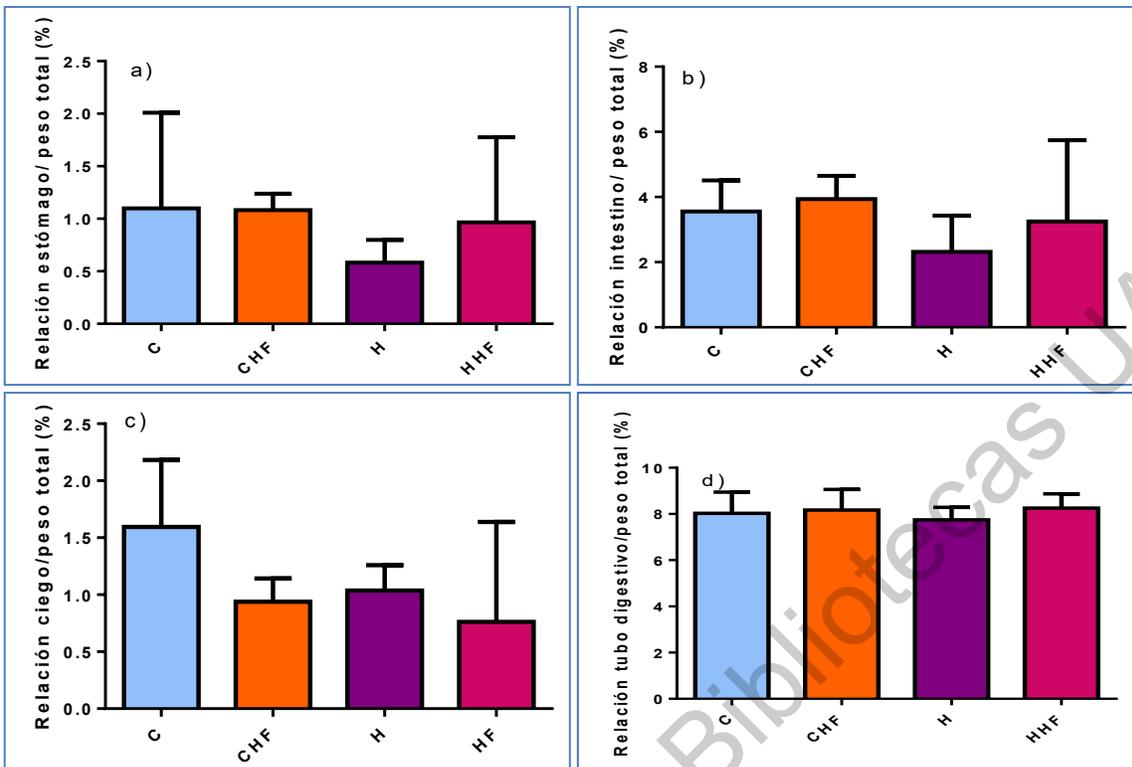


Figura 27. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), tubo digestivo (d) /peso del animal, 6 semanas. Media \pm SD, C= Control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$, no hubo diferencia significativa.

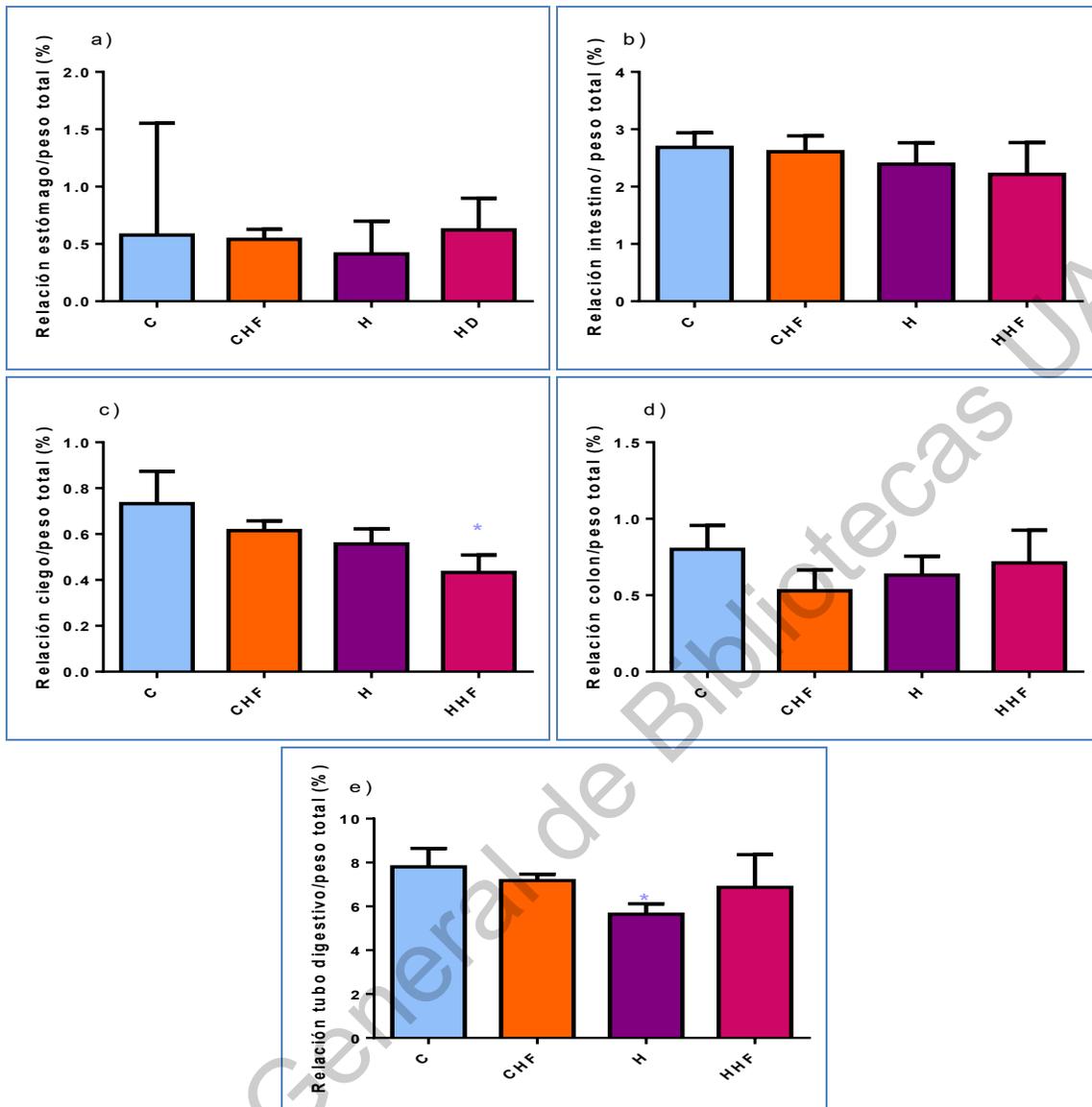


Figura 28. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), colon (d), tubo digestivo (e) /peso del animal, 12 semanas. Media \pm SD, C= Control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$. Relación ciego/peso: * C vs HHF. Relación TGI/ peso: * C vs H.

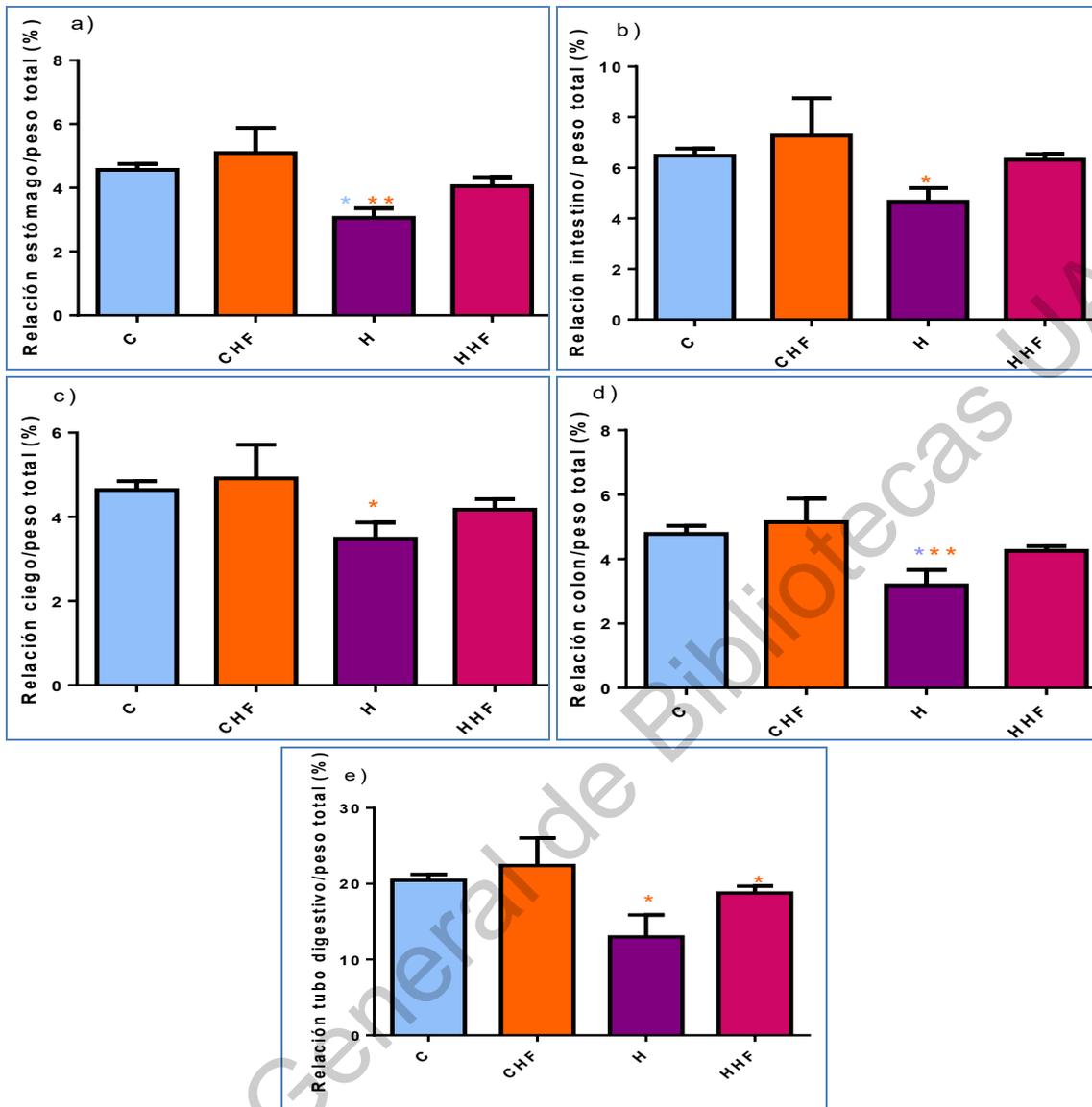


Figura 29. Relación órganos estómago (a), intestino delgado (b), ciego (c), colon (d) y tubo digestivo (e)/peso del animal, 21 semanas. Media \pm SD, C= Control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=3$. Relación estómago/peso: Estómago/ peso *C vs H; **CHF vs H. Intestino delgado/peso, *CHF vs H; ciego/peso * CHF vs H; colon/ peso: * C vs H y ***CHF vs H. TGI/peso: * CHF vs H, * vs HHF.

8.2.8 Perfil glucémico

8.2.8.1 Glucosa basal.

En cada bloque se determinó la glucosa basal en la 3er semana de que los animales comenzaron el tratamiento de dieta hiperenergética y la inclusión de hoja

de frijol. En la figura 30 podemos observar que en el bloque de 6 semanas no hubo diferencia significativa entre los grupos.

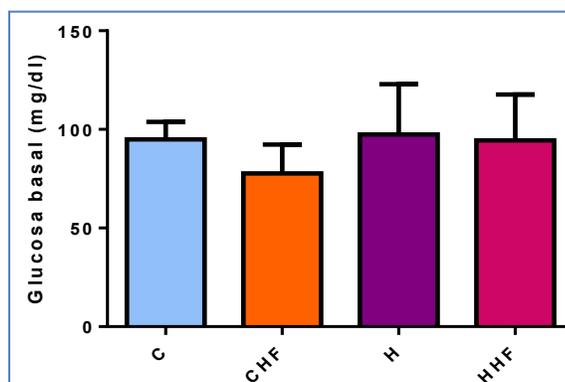


Figura 30. Glucosa basal a las 6 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$. No hubo diferencia significativa.

8.2.8.1.1 Glucosa basal previa y post administración de STZ.

Previo a la administración de STZ en la semana 3 (figura 31), no se encontró diferencia significativa en las concentraciones de glucosa con los grupos D y DHF.

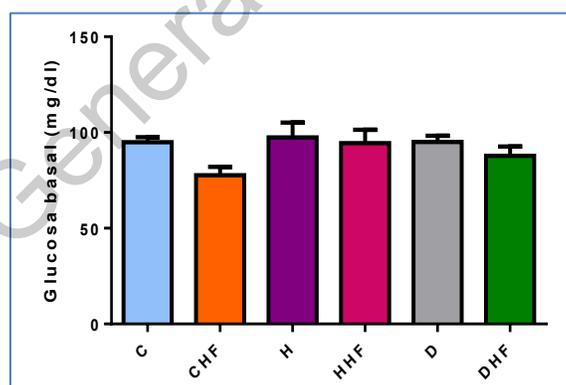


Figura 31. Glucosa basal previa a la administración de STZ. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$ (D= 9, DHF=5). No hay diferencia significativa.

Al medir los niveles de glucosa posterior a la administración de STZ (figura 33), D y DHF (353.66 ± 39.86 y 306.2 ± 60.9 mg/dl) mostraron mayor concentración de

glucosa en relación con C ($109.54 \pm 5.91\text{mg/dl}$), CHF ($109.81 \pm 10.38\text{mg/dl}$), H ($109.18 \pm 2.92\text{mg/dl}$) y HHF ($108.90 \pm 4.76\text{mg/dl}$).

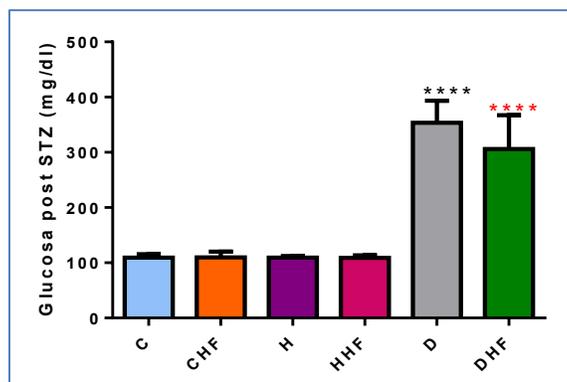


Figura 32. Glucosa basal posterior a la administración de STZ. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$ (D= 9, DHF=5). **** C, CH, H y HHF vs D; *** C, CHF, H y HHF vs DHF.

8.2.8.2 Curva de tolerancia a la glucosa.

Durante las semanas de experimentación realizamos curva de tolerancia a la glucosa (CTG) para determinar cómo estaba la sensibilidad a ésta en sangre. En el bloque 1 fue donde se encontraron diferencias significativas. En la figura 33 se observa que a los 30 min se presentó el pico de glucosa en todos los grupos, además el grupo H fue el que mostró el mayor nivel de glucosa durante la curva. A los 30 min H ($302.09 \pm 67.24\text{mg/dl}$) fue diferente estadísticamente con C ($231.9 \pm 38.66\text{mg/dl}$) por 1.28 veces y por 1.31 veces con CHF ($229.72 \pm 49.36\text{mg/dl}$). A los 60 min H ($246.18 \pm 54.5\text{mg/dl}$) tuvo diferencia significativa 1.48 veces con C ($167.57 \pm 42.30\text{mg/dl}$) y 1.35 con CHF ($179.09 \pm 18.76\text{mg/dl}$). A los 90 min seguían altos los niveles de forma significativa en H ($246.18 \pm 54.5\text{mg/dl}$) y HHF ($203.2 \pm 42.95\text{mg/dl}$), siendo 1.78 veces y 1.47 veces más que en el grupo C ($139.55 \pm 37.23\text{mg/dl}$). A los 120 min descendieron los niveles de glucosa y aunque fueron más altos en H y HHF sin embargo, ya no hubo diferencia significativa entre grupos.

En la figura 34 está la gráfica para la CTG a las 12 semanas, los niveles basales fueron similares a los encontrados a las 6 semanas, a los 30 min fue el pico y aunque los cambios y separación entre los grupos H y HHF con respecto a C y CHF son marcados, probablemente debido al número de animales, no hubo diferencia significativa, a los 90 min el grupo HHF ($253.25 \pm 32.16\text{mg/dl}$) fue más bajo que H ($288.50 \pm 92\text{mg/dl}$) y esto se mantuvo a los 120 min HHF ($233.25 \pm 36.49\text{mg/dl}$) es más bajo que el de H ($239.25 \pm 61.02\text{mg/dl}$). En el bloque 3 la separación entre los grupos H y HHF con respecto a C y CHF ya no se observó notoria, de igual forma no hubo diferencias significativas (Figura 35).

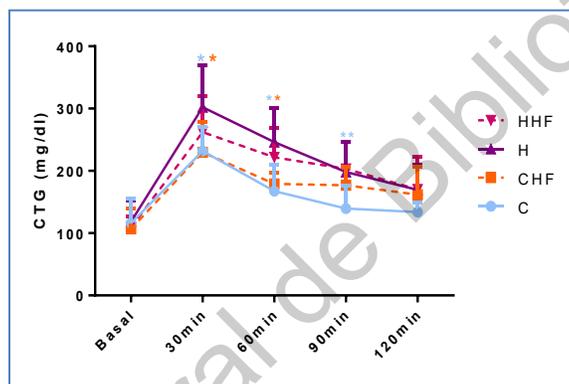


Figura 33. Curva de tolerancia a la glucosa a las 6 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$. 30 Min **C y CHF vs H. 60 Min **C y CHF vs H. 90 Min **C vs H y HHF.

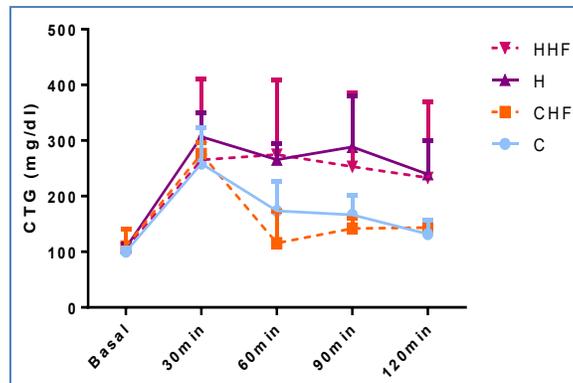


Figura 34. Curva de tolerancia a la glucosa a las 12 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 4$. No hubo diferencia significativa entre grupos.

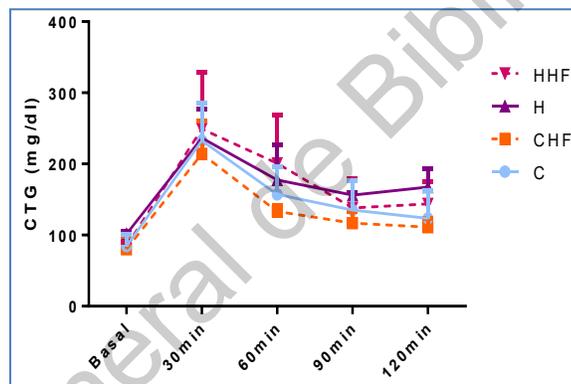


Figura 35. Curva de tolerancia a la glucosa a las 21 Semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 3$. No hubo diferencia significativa.

8.2.8.2.1 Curva de tolerancia a la glucosa con D y DHF.

En el tiempo basal D (257.62 ± 58.02 mg/dl) y DHF (324.8 ± 74.5 mg/dl) fueron mayores que C (116.10 ± 12.56 mg/dl), CHF (106.72 ± 9.66 mg/dl), H (118.63 ± 9.98 mg/dl) y HHF (109.18 ± 5.37 mg/dl). A los 30 minutos D (362.6 ± 56.48 mg/dl) mayor que C (231.9 ± 12.22 mg/dl), CHF (229.72 ± 14.88 mg/dl) y HHF (262 ± 17.57 mg/dl). A los 60 minutos H (246.18 ± 16.93 mg/dl) fue mayor que C (167.57 ± 15.98 mg/dl) y CHF (179.09 ± 5.65 mg/dl), mientras que HHF (221.77 ± 15.92 mg/dl) fue mayor que CHF (179.09 ± 5.65 mg/dl) y D (267.4 ± 36.04 mg/dl)

mayor que C ($167.57 \pm 15.98\text{mg/dl}$). A los 90 minutos C ($139.55 \pm 12.41\text{mg/dl}$) fue menor que HHF ($203.2 \pm 13.58\text{mg/dl}$) y D ($233 \pm 60.57\text{mg/dl}$). En la última toma de la curva (120 minutos), D ($259.8 \pm 44.35\text{mg/dl}$) fue mayor que C ($133.66 \pm 5.07\text{mg/dl}$) y CHF ($161.81 \pm 13.49\text{mg/dl}$), con concentraciones de glucosa mayor a 200mg/dl . El grupo DHF, no se consideró en la curva después de la toma basal, debido a que el nivel registrado fue mayor a 300mg/dl pudiendo presentar riesgo con la administración de glucosa intraperitoneal (figura 36).

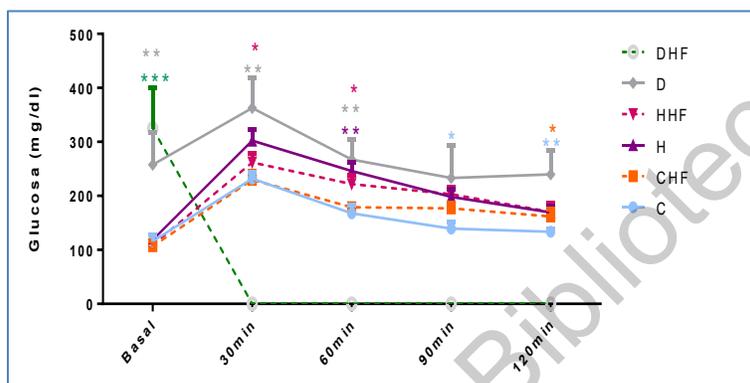


Figura 36. Curva de tolerancia a la glucosa, bloque 1. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=11$ (D=5, DHF=5). Basal: ** C, CHF, H y HHF vs D; *** C, CHF, H y HHF vs DHF. 30 Min: ** C y CHF vs D; * HHF vs D. 60 Min: ** C y CHF vs H; * CHF vs HHF; ** C vs D. 90 Min: * C vs HHF y D. 120 Min: **C vs D: * CHF vs D.

8.2.8.2.2 Glucosa basal de la semana 7 a la 14.

A partir de la semana 7, en el bloque 2 se midió la glucosa basal en los animales una vez cada 7 días, en donde de la semana 7 a la 12 y la semana 14 D fue mayor que C, CHF, H y HHF (figura 37), encontrando que en la semana 7: C ($130.71 \pm 16.18\text{mg/dl}$), CHF ($115.42 \pm 12.46\text{mg/dl}$), H ($107 \pm 3.95\text{mg/dl}$), HHF ($111.42 \pm 6.23\text{mg/dl}$) vs D ($422.2 \pm 77.28\text{mg/dl}$); en la semana 8: C ($109 \pm 1.41\text{mg/dl}$), CHF ($111.85 \pm 2.64\text{mg/dl}$), H ($109 \pm 3.94\text{mg/dl}$), HHF ($110.71 \pm 7.28\text{mg/dl}$) vs D ($313.2 \pm 77.28\text{mg/dl}$); para la semana 9: C ($115.14 \pm 11.26\text{mg/dl}$), CHF ($103.71 \pm 5.37\text{mg/dl}$), H ($95 \pm 6.11\text{mg/dl}$), HHF ($98.14 \pm 5.15\text{mg/dl}$) vs D ($324.2 \pm 112.64\text{mg/dl}$); en la semana 10: C ($101.85 \pm 8.58\text{mg/dl}$), CHF ($97.71 \pm 3.24\text{mg/dl}$), H ($107.14 \pm 4.05\text{mg/dl}$), HHF ($100.57 \pm 3.25\text{mg/dl}$) vs D ($343.2 \pm$

105.83mg/dl); mientras que en la semana 11: C (101.57±4.15mg/dl), CHF (101.57±4.99mg/dl), H (99.28±7.91mg/dl), HHF (126.57±6.22mg/dl) vs D (314.40±94.48mg/dl), en la semana 12: C (92±5.47mg/dl), CHF (104.28±9.27mg/dl), H (101.57±4.37mg/dl), HHF (102.85±3.34mg/dl) vs D (248.25±85.98mg/dl) y en la semana 14: C (71.33±11.66mg/dl), CHF (83.33±4.4mg/dl), H (98±1.73mg/dl), HHF (102.85±0.88mg/dl) vs D (386.66±109.26mg/dl).

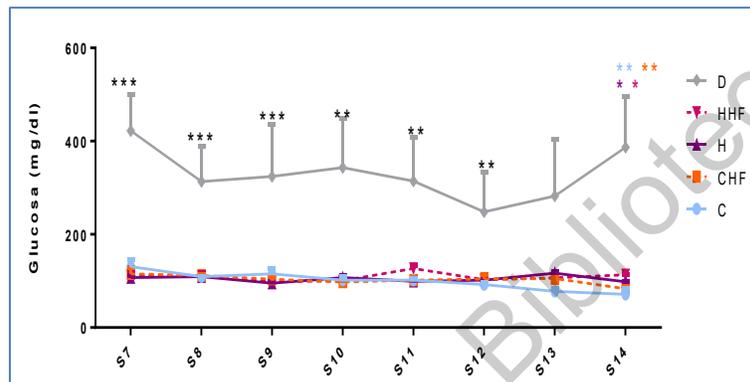


Figura 37. Glucosa basal semanalmente. Media \pm SD, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, S1-S6 $n=7$ (D=5); S7-S14 $n=3$. Semana 7: *** C, CHF, H y HHF vs D. Semana 8:*** C, CHF, H y HHF vs D. Semana 9:** C, CHF, H y HHF vs D. Semana 10: *** C, CHF y HHF vs D. Semana 11: ** C, CHF, H y HHF vs D. Semana 12: ** C, CHF, H y HHF vs D. Semana 14: ** ** C y CHF vs D; * * H y HHF vs D.

8.2.9 Parámetros sanguíneos después de eutanasia.

8.2.9.1 Perfil de lípidos y de glucosa.

En la figura 38 se muestran los datos correspondientes a glucosa, colesterol y triglicéridos a las 6 semanas. La glucosa sérica de H (111.75 \pm 3.75mg/dl) fue mayor por 1.39 veces que en CHF (80.50 \pm 5.13mg/dl) y 1.45 veces que en HHF (76.75 \pm 5.37mg/dl) (Figura 39a). Estos resultados sugieren que a las 6S la glucosa es mayor en los animales que consumen la dieta hiperenergética, que si bien no es diferente estadísticamente con el control sin tratamiento si lo es con los grupos de inclusión de frijol (CHF y HHF, que a su vez no tienen diferencia entre ellos), por lo que podemos pensar que la HF permite a los animales regular de

mejor manera los niveles de glucosa en sangre. En cuanto a lípidos en la figura 38 b y c están los datos obtenidos de colesterol y triglicéridos donde no encontramos diferencia significativa entre grupos, solo se observa la tendencia a que los grupos H y HHF presentan el mayor nivel en estos parámetros.

Con respecto a las fracciones de colesterol de las lipoproteínas (Figura 39) los valores de HDL, LDL y VLDL no tuvieron diferencia significativa entre experimentales y controles.

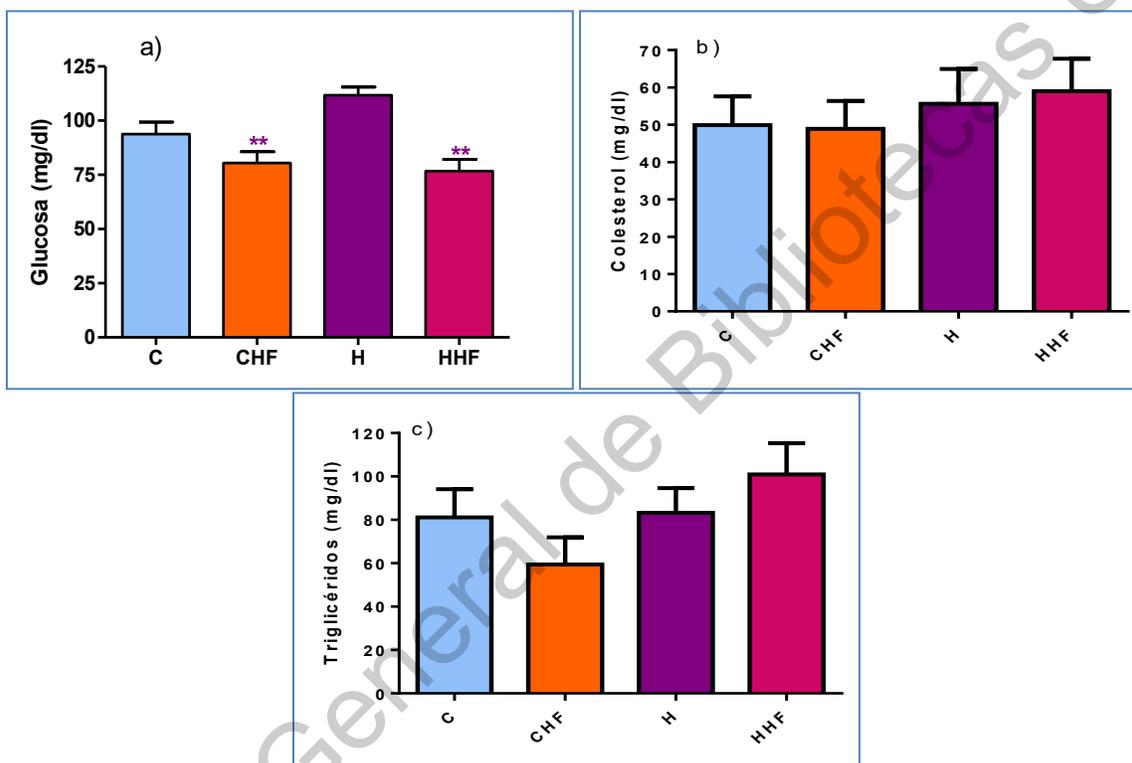


Figura 38. Glucosa (a), Colesterol (b) y Triglicéridos (c) en suero a las 6 semanas. Media \pm SE, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta Hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n = 8$. a) Diferencias significativas en glucosa **CHF vs H y ** HHF vs H.

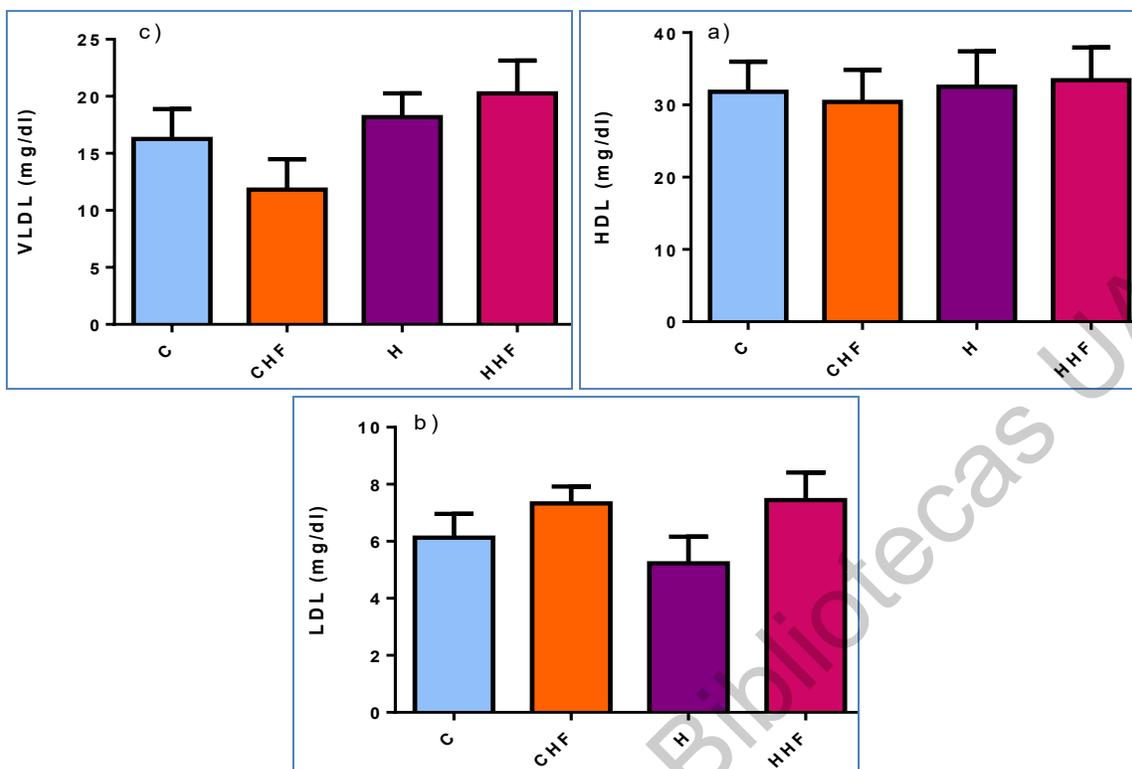


Figura 39. HDL (a), LDL (b) y VLDL (c) en suero a las 6 semanas. Media \pm SE, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=8$. No hubo diferencia significativa.

8.2.9.1.1 Perfil de lípidos y de glucosa con D y DHF

Posterior a la eutanasia se analizaron las muestras de suero, encontrando que respecto a glucosa, D (211.37 ± 118.25 mg/dl) y DHF (301.34 ± 82.39 mg/dl) fueron mayores que C (84.66 ± 9.76 mg/dl), CHF (80.33 ± 10.2 mg/dl), H (101.5 ± 2.5 mg/dl) y HHF (84.33 ± 3.52 mg/dl). Al analizar las concentraciones de colesterol en suero, no se encontró diferencia significativa con los grupos con inducción de diabetes. Mientras que la concentración de triglicéridos en suero, fue mayor para D (361.93 ± 203.2 mg/dl) en relación con C (81.2 ± 12.93 mg/dl), CHF (59.41 ± 12.57 mg/dl), H (83.24 ± 11.37 mg/dl) y HHF (100.9 ± 14.41 mg/dl). Con lo anterior se sugiere que la inclusión de hoja de frijol en la dieta durante un periodo de seis semanas, puede ayudar a disminuir el incremento de triglicéridos en sangre en un modelo de diabetes inducida a partir de una dieta hiperenergética y

una dosis única de STZ (figura 40), sin embargo no parece tener un efecto directo sobre los niveles de glucosa al menos en este experimento. Incrementar el número de animales puede permitir saber si esto es relevante de forma biológica o no.

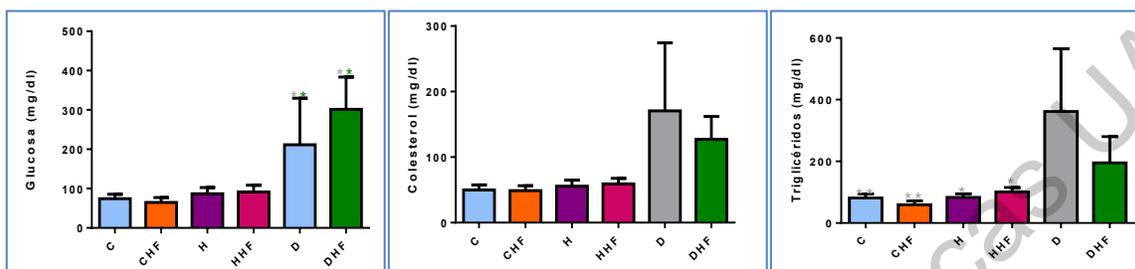


Figura 40. Glucosa, colesterol y triglicéridos, 6 semanas. Media \pm SE, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=8$ (D=7, DHF=5). Glucosa: ** C, CHF, H y HHF vs D y DHF. Colesterol: no hay diferencia significativa. Triglicéridos: **C y CHF vs D; * H y HHF vs D.

En cuanto a las lipoproteínas, HDL y LDL incrementaron en el grupo DHF sin presentar diferencias significativas con los demás grupos, mientras que VLDL incrementó tanto en D como en DHF, sin cambios significativos (Figura 41).

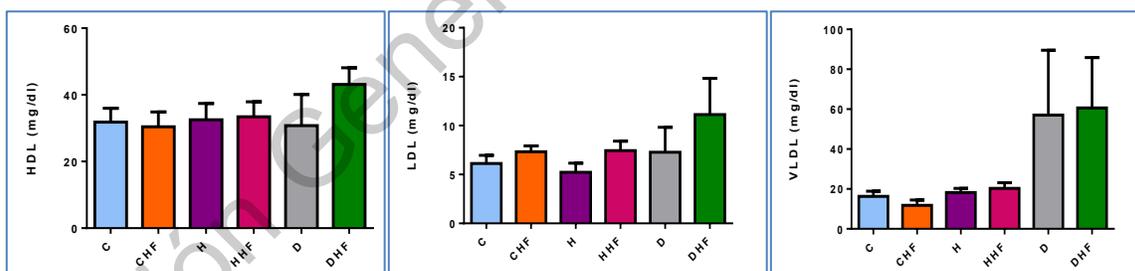


Figura 41. HDL, LDL y VLDL, bloque 1. Media \pm SD, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=8$ (D=7, DHF=5). No hay diferencia significativa.

8.2.9.2 Parámetros relacionados con la funcionalidad del riñón.

Podemos observar en la figura 42 que los niveles de urea, creatinina y ácido úrico no fueron diferentes estadísticamente del control sin tratamiento (C) y que sugiere

que la inclusión de hoja de frijol a una dieta hiperenergética no modifica los parámetros relacionados con la actividad y funcionamiento del riñón.

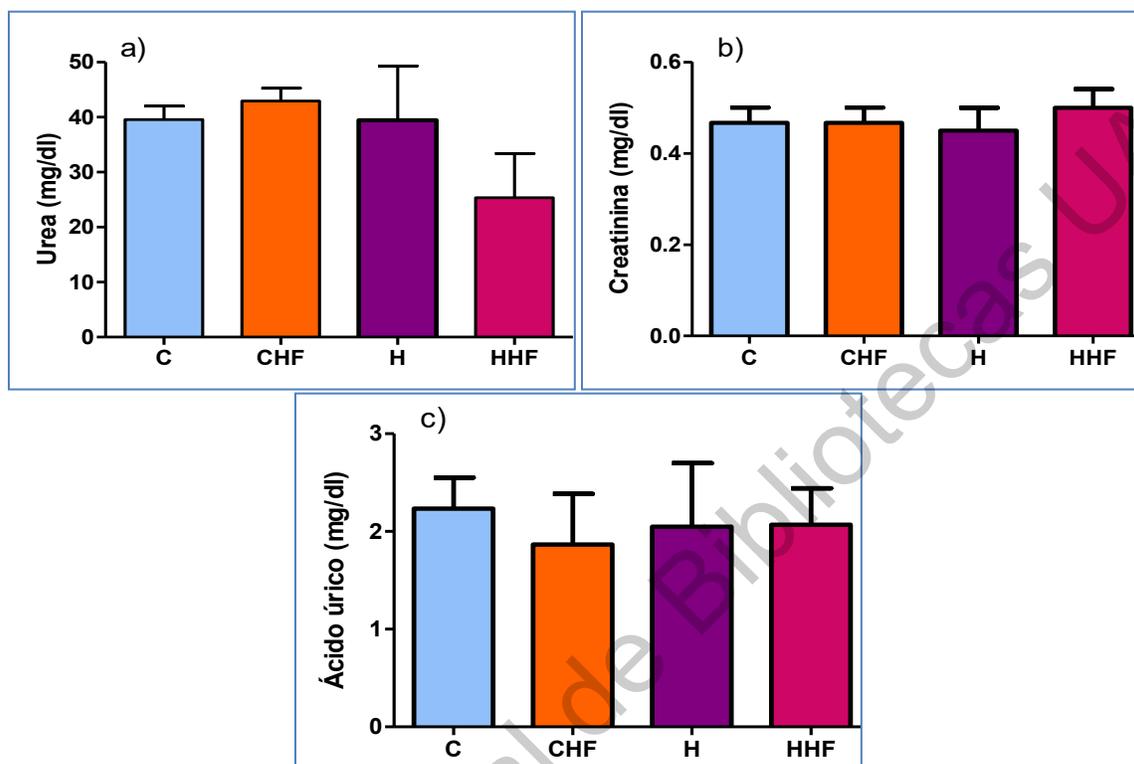


Figura 42. Urea (a), Creatinina (b) y Ácido úrico (c) en suero 6 semanas. Media \pm SE, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$. No hubo diferencia significativa.

8.2.9.2.1 Parámetros relacionados con la funcionalidad del riñón con D y DHF

No se encontró diferencia significativa entre grupos en los parámetros de urea, creatinina y ácido úrico, lo que puede asociarse con que no hay daño renal (Figura 43). Aunque si hubo tendencia de incremento en urea en los grupos D y DHF. Sin embargo hace falta repetir estos análisis principalmente para el ácido úrico.

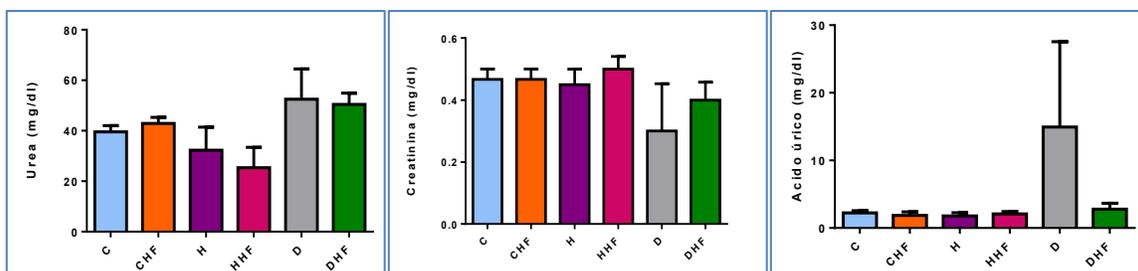


Figura 43. Urea, creatinina y ácido úrico, bloque 1. Media \pm SD, C= control CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF, D= diabetes inducida y DHF= diabetes inducida + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=8$ (D=7, DHF=5). No hay diferencia significativa.

A las 12 semanas (Figura 44a) encontramos que la glucosa de CHF (78.25 ± 8.03 mg/dl) fue 1.40 veces menor que la de HHF (110.25 ± 14.56 mg/dl), el cual presentó mayor glucosa en el momento de la eutanasia, sin mostrar cambios significativos con los demás grupos, lo que no sucedió a las 6 semanas, donde fue junto con CHF el de menor valor. En cuanto a colesterol (Figura 44b) la diferencia significativa la presentó CHF (63.3 ± 5.2 mg/dl) con respecto a H (94.22 ± 14.25 mg/dl), donde la dieta hiperenergética incrementó 1.47 veces el colesterol, mientras que sin diferencia significativa, en el grupo HHF disminuyó 1.22 veces en comparación con H y siendo similar a los valores en C (77.3 ± 10.21 mg/dl) y CHF (63.3 ± 2.6 mg/dl), sugiriendo que a las 12 semanas la inclusión de frijol puede disminuir el colesterol en sangre. Los niveles de triglicéridos (Figura 44c) disminuyeron significativamente en CHF (71.65 ± 5.63 mg/dl) en comparación a todos los demás grupos, C (112.2 ± 10.99 mg/dl), H (120.85 ± 13.44 mg/dl) fue con HHF (109.7 ± 20.51 mg/dl) fue 1.51 veces.

Las fracciones de colesterol HDL fue significativamente 1.38 veces mayor en H (56.85 ± 7.93 mg/dl) que en CHF (40.9 ± 3.93 mg/dl), mientras que en VLDL CHF (14.25 ± 1.8 mg/dl) presentó el nivel más bajo contra H (24.25 ± 5.5 mg/dl). En LDL no hubo diferencia entre grupos, sin embargo en este último se observó que el HHF tuvo mayor nivel con respecto a los otros grupos (Figura 45). No se observaron cambios significativos entre grupos a las 12 semanas para urea, creatinina y ácido úrico, sugiriendo que a este tiempo de consumo la hoja de frijol

no causa efectos negativos sobre parámetros relacionados a la funcionalidad del riñón (Figura 46).

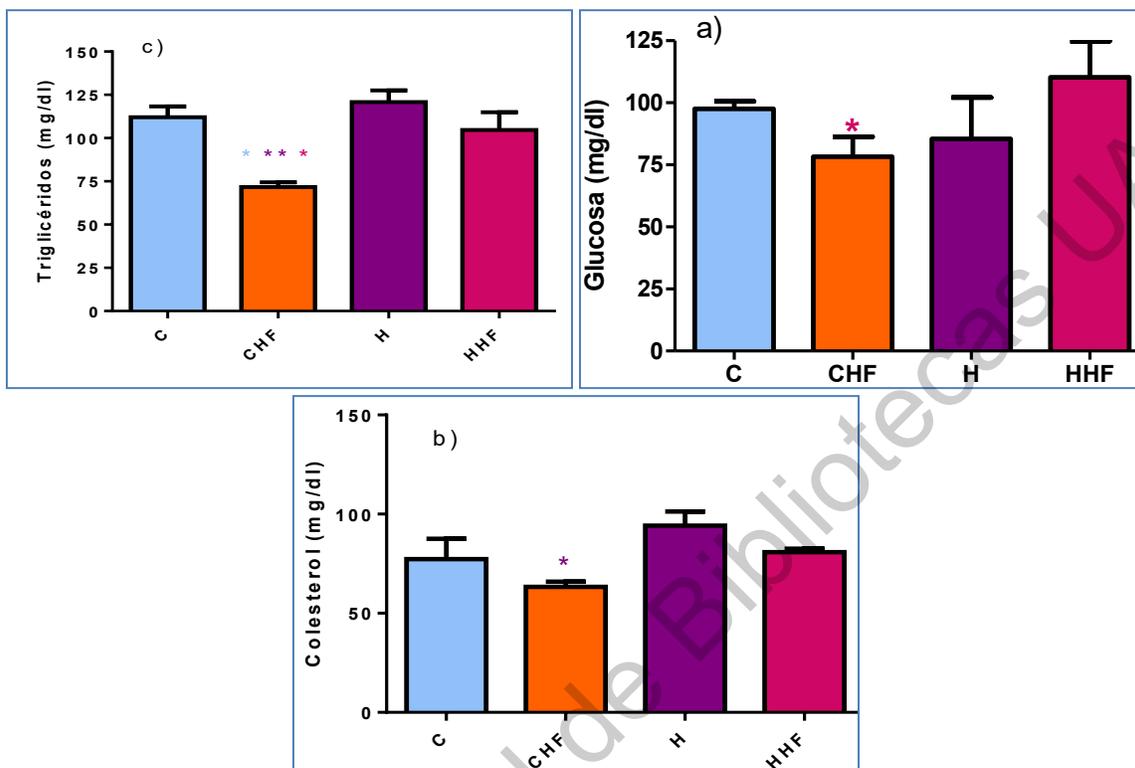


Figura 44. Glucosa (a), Colesterol (b) y Triglicéridos (c) en suero 12 semanas. Media \pm SE, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$. Glucosa *CHF vs HHF. Colesterol *CHF vs H y Triglicéridos *C vs CHF; **CHF vs H; *CHF vs HHF.

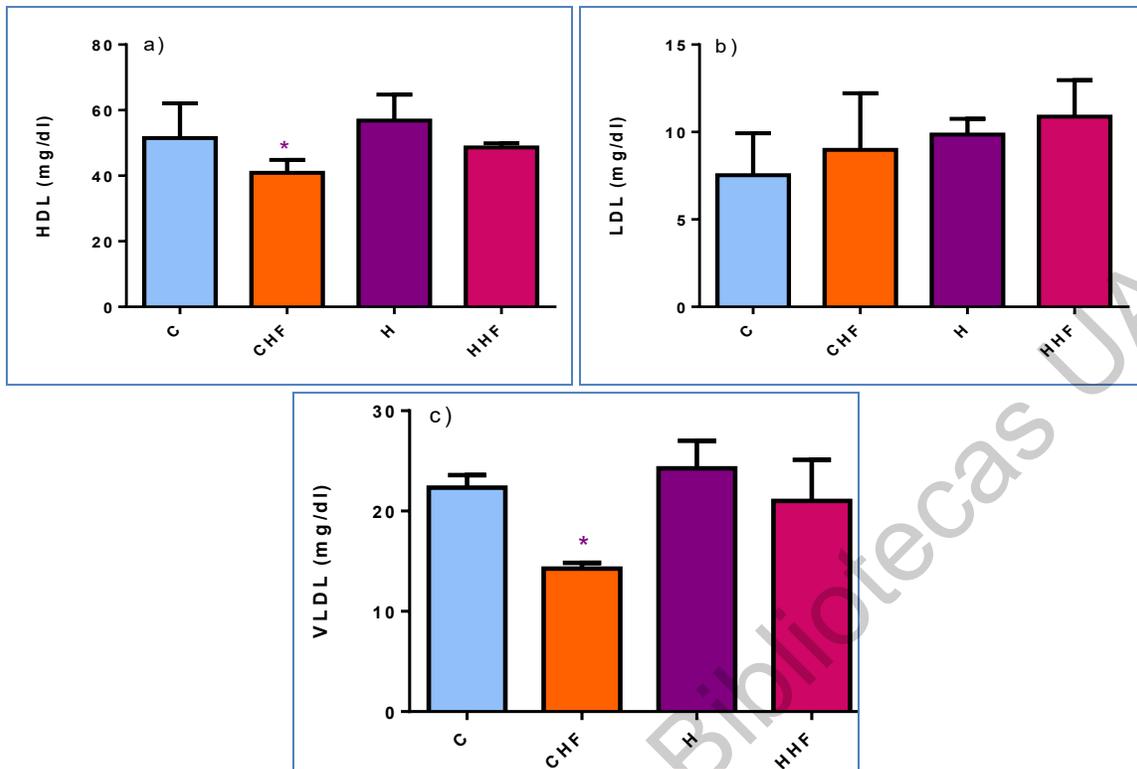


Figura 45. HDL (a), LDL (b) y VLDL (c) en suero 12 semanas. Media \pm SD, C= control, CHF= Control hoja de Frijol (n= 4), H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, n=4. HDL * CHF (40.9 ± 3.93) vs H (56.85 ± 7.93). LDL no hubo diferencia significativa. En VLDL la diferencia significativa fue *CHF vs H.

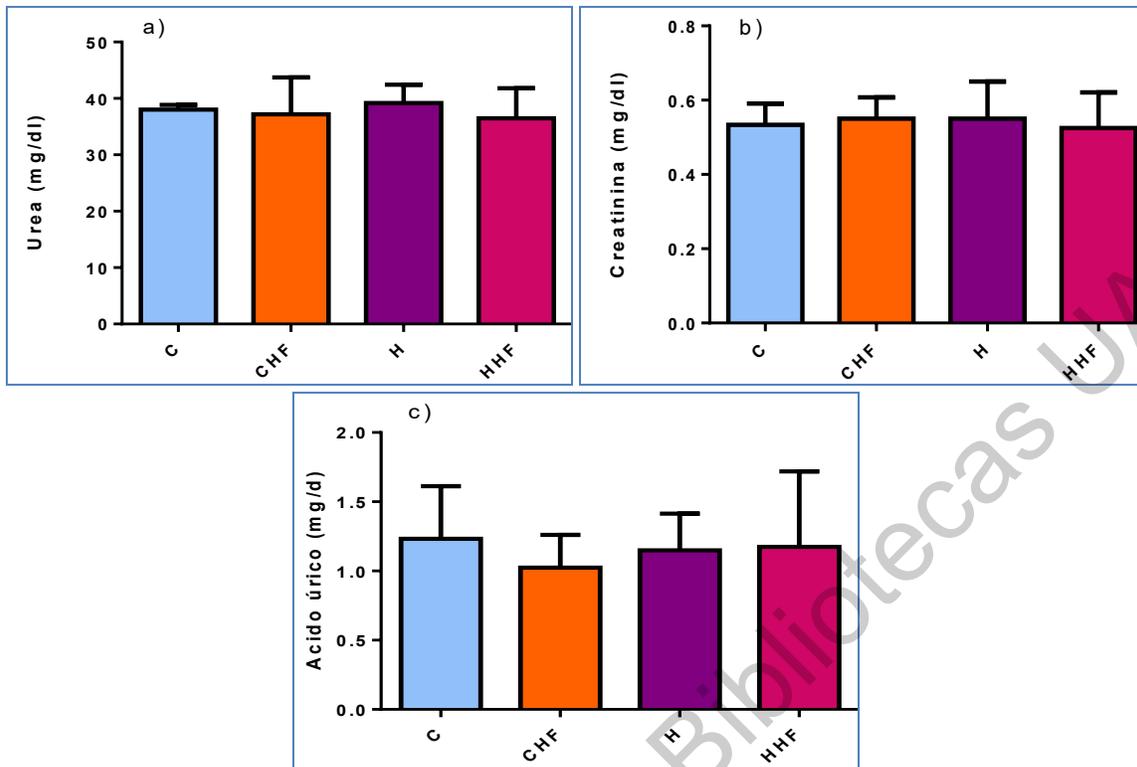


Figura 46. Urea (a), Creatinina (b) y Ácido úrico en suero (c) 12semanas. Media \pm SE, C= control, CHF= Control hoja de frijol, H= dieta hiperenergética, HHF= dieta hiperenergética + HF. Anova de una vía post hoc Tukey, $p < 0.05$, $n=4$. No hubo diferencia significativa.

8.2.10 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos.

8.2.10.1 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos, a las 6 semanas.

En las graficas subsecuentes solo se describen las correlaciones que mostraron una relación entre las variables analizadas. El grupo control mostró correlación positiva alta al relacionar el consumo de alimento y las concentraciones de glucosa basal previo a realizar la CTG (Figura 47), señalando que a mayor ingesta de alimento en una dieta isocalórica, mayor es la concentración de glucosa en ayuno ($p=0.0202$, $r = 0.7134$). Por otro lado, el mismo grupo control en el bloque 1 sugiere una correlación negativa muy alta al relacionar el consumo de alimento y las concentraciones de creatinina en suero (Figura 48), sin embargo aunque la r fue de -0.99 , la p de significancia fue mayor a 0.05 , por lo que sugiere que no existe significancia en esta relación o bien como para este análisis solo fueron 3

animales, es necesario incrementar la n para descartar o corroborar esta correlación.

El grupo CHF mostró correlación negativa moderada al asociar el consumo de alimento y las concentraciones de glucosa en la CTG en este bloque, a los 30 minutos de la prueba, sugiriendo que a mayor ingesta de dieta control + HF, menor fue la concentración de glucosa en en sangre (Figura 49).

El grupo H mostró correlación positiva moderada entre el consumo de alimento y las producción de orina (Figura 50), esto señala que la producción de orina se incrementa, conforme aumenta la ingesta de dieta hiperenergética. Además mostró correlación negativa alta entre el consumo de alimento y la concentración de LDL en suero (Figura 51), con lo que el colesterol LDL se encuentra disminuido cuando la ingesta de alimento incrementa.

El grupo HHF mostró correlación negativa alta entre el consumo de alimento y el índice LDL/HDL a las 6 semanas, lo que sugiere mientras mayor es el consumo de dieta hiperenergética + hoja de frijol, el índice LDL/HDL disminuye (Figura 52).

El grupo C reportó correlación positiva baja entre el consumo de alimento y el incremento de peso, sugiriendo que aumentar la ingesta energética favorece el incremento de peso conforme pasan las semanas (Figura 53). En el grupo H se observó esto por la correlación positiva baja entre el consumo de alimento y peso de los animales, a las 6 semanas de igual forma que el grupo HHF. Asociando la ingesta de alimento con el incremento de peso. De igual forma observamos la correlación positiva alta entre el peso de los animales y la cantidad de grasa visceral, lo que significa que habrá mayor cantidad de tejido adiposo visceral al ingerir este tipo de dieta que también puede reflejarse en un incremento de peso.

El grupo H presentó correlación positiva alta entre el consumo de alimento e IMC, afirmando lo esperado. Lo anterior sucedió con el grupo CHF que también presentó correlación positiva, no así el grupo HHF, que puede sugerir que la inclusión de este alimento logra reducir el aumento de peso y por consuecencia el IMC (Figura 54).

El grupo CHF (Figura 55) reportó correlación positiva moderada entre el consumo de alimento e índice de Lee. Sin embargo la mayoría de los animales tienen ingesta energética menor a 150kcal por día e índice de Lee menor a 0.35g/cm. Esta correlación nos dice que a mayor consumo de alimento CHF aumenta el índice de Lee de los animales, lo cual puede estar relacionado a que a mayor ingesta de alimento, hay mayor consumo de energía lo que puede favorecer el aumento de peso.

Además se observó correlación negativa alta entre el peso del grupo CHF y los órganos del tubo digestivo (intestino delgado, ciego, colon y estómago, Figura 56). A mayor peso, menor es la relación órganos/peso lo cual puede sugerir que la HF previene el crecimiento de los órganos en los animales CHF. Mientras que se observó correlación negativa alta entre el peso del grupo HHF y la relación de tubo digestivo/peso total. A mayor peso, menor es la relación lo cual puede indicar que la dieta hiperenergética con HF previene el crecimiento de los órganos que conforman el tubo digestivo, lo cual se puede asociar también con que la dieta hiperenergética favorece mayor peso en los animales, en parte por incremento de tejido adiposo (Figura 56).

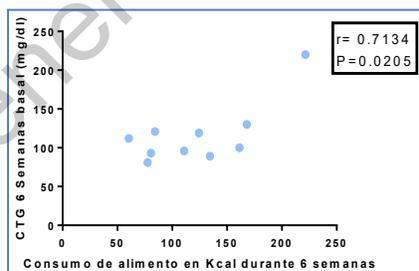


Figura 47. Correlación de Person entre el consumo de alimento y CTG en el grupo control, 6 semanas. Eje de las X consumo de alimento (Kc

al), eje de las Y glucosa basal previo a CTG (mg/dl). P de Person, $p < 0.05$ fue significativa, $p = 0.0202$, $r = 0.7134$, $n = 10$.

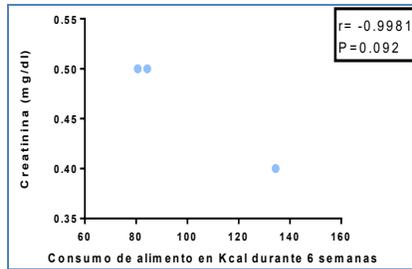


Figura 48. Correlación entre el consumo de alimento y creatinina en suero en el grupo control, 6 semanas. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas creatinina (mg/dl). P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.09$, $r = -0.9981$, $n = 3$

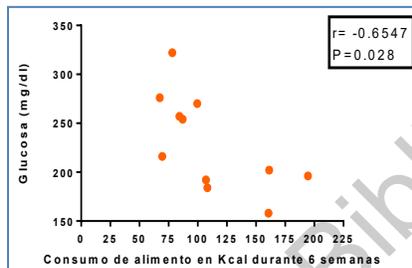


Figura 49. Correlación entre el consumo de alimento y glucosa en suero (CHF), 6 semanas. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas glucosa (mg/dl). P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.028$, $r = -0.6547$, $n = 11$.

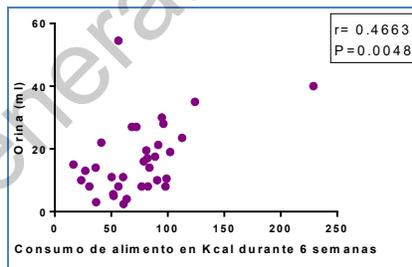


Figura 50. Correlación entre el consumo de alimento y la cantidad de orina durante 6 semanas (H). Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas orina (ml). P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0048$, $r = .4663$, $n = 11$.

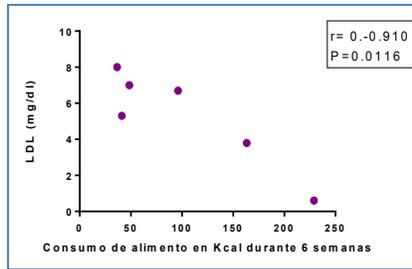


Figura 51. Correlación entre el consumo de alimento y colesterol LDL, 6 semanas (H). Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas LDL (mg/dl). P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0116$, $r = -0.910$, $n = 6$.

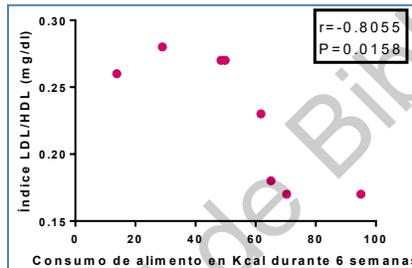


Figura 52. Correlación entre el consumo de alimento e índice LDL/HDL, 6 semanas (HHF). Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas índice LDL/HDL (mg/dl). P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0158$, $r = 0.8055$, $n = 8$.

Dirección General de Bibliotecas UAAQ

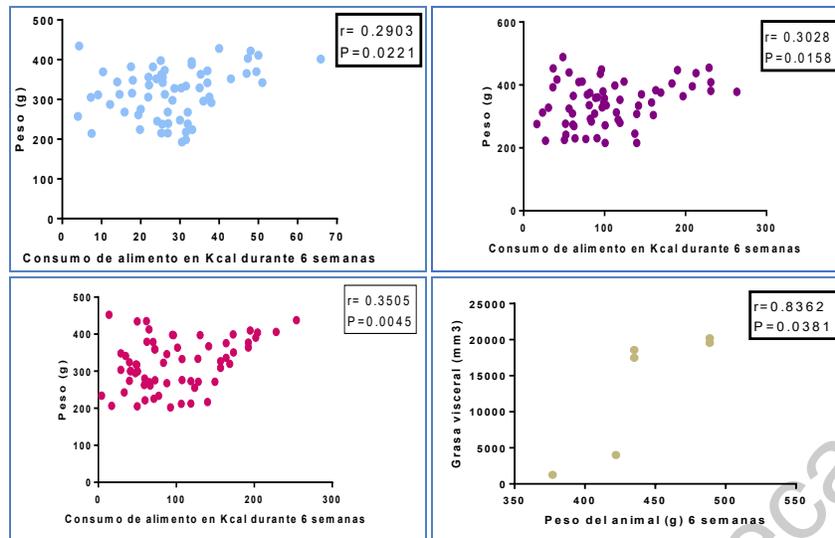


Figura 53. Correlación entre el consumo de alimento registrado durante las 6 semanas, peso y grasa visceral. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas peso (g). P de Person, $p < 0.05$ significativa, En azul el grupo C, $p = 0.0221$, $r = 0.2903$, $n = 66$. En morado el grupo H, $p = 0.3028$, $r = 0.0158$, $n = 66$. En rosa, grupo HHF, $p = 0.0045$, $r = 0.3505$. En verde olivo grupo H, $p = 0.0381$, $r = 0.8362$.

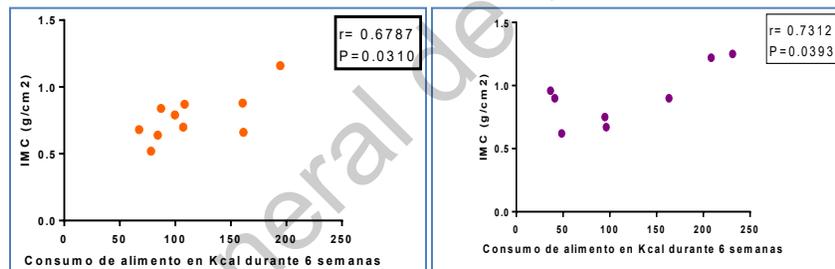


Figura 54. Correlación entre el consumo de alimento e IMC. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas IMC (g/cm²). P de Person, $p < 0.05$ significativa, Grupo CHF en naranja $p = 0.0310$, $r = 0.6787$, $n = 10$. Grupo H en morado $p = 0.0393$, $r = 0.7312$, $n = 8$.

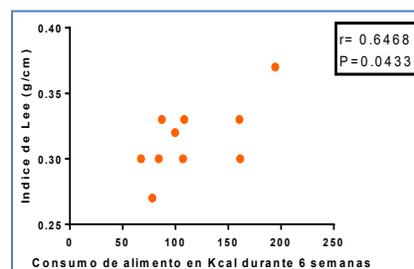


Figura 55. Correlación entre el consumo de alimento e índice de Lee en el grupo CHF. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas índice de Lee (g/cm²) P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0433$, $r = 0.6468$, $n = 10$.

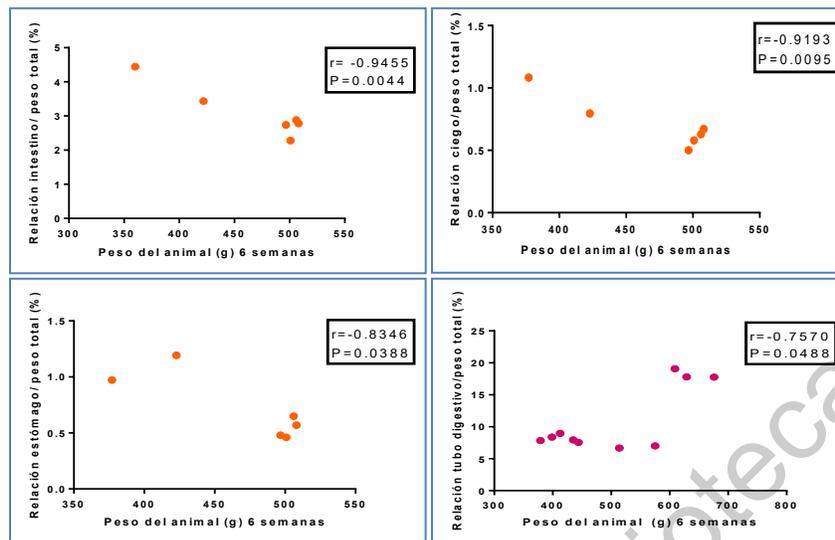


Figura 56. Correlación entre el peso a las 6 semanas y la relación de órganos del tubo digestivo. Eje de las X peso (g), eje abscisas relación órgano/peso corporal (%). P de Person, $p < 0.05$ significativa, Naranja grupo CHF. Intestino delgado $p = 0.0044$, $r = -0.9455$. Ciego $p = 0.0095$, $r = 0.9193$. Colon $p = 0.0104$, $r = 0.9896$. Estómago $p = 0.388$, $r = 0.8346$, $n = 6$. En rosa grupo HHF correlación tubo digestivo, $p = 0.0488$, $r = 0.7570$, $n = 10$.

8.2.10.2 Correlación entre la cantidad y tipo de dieta vs parámetros bioquímicos, en el segundo bloque.

A continuación describimos las correlaciones significativas encontradas en el segundo bloque. El grupo C mostró correlación positiva alta entre el consumo de alimento y las concentraciones de glucosa en suero (Figura 57). A mayor ingesta de dieta C, mayor será la concentración de glucosa en suero. Lo mismo sucedió con respecto a colesterol, triglicéridos (Figura 58) y lipoproteínas (Figura 59) donde hubo correlación positiva en el grupo C, pero no en los demás grupos, por lo que no se logró encontrar correlación entre los perfiles glicémico y de lípidos con la dieta H y tampoco encontramos correlación negativa entre HHF e ingesta, que era lo esperado. Sin embargo, en la figura 60 se observa la correlación positiva baja del peso con el consumo de alimento CHF (naranja), H (morado) y HHF (rosa). Asociando la mayor ingesta de alimento con mayor peso. La dieta

hiperenergética favoreció el incremento de peso debido a que esta dieta aporta mayor cantidad de energía por gramo de alimento, en ese caso mayor consumo de las dietas de los grupos CHF y HHF se asociaron con mayor peso, lo que indica que a mayor cantidad de alimento, mayor es la ingesta energética y el peso, independientemente del tipo de dieta. Además se observó correlación positiva alta entre el peso de los animales y la cantidad de grasa visceral en el grupo H, lo que significa que hubo mayor cantidad de tejido adiposo visceral conforme incrementó el peso y esto está relacionado con la dieta hiperenergética.

El grupo H mostró correlación positiva baja entre el consumo de alimento y las concentraciones de creatinina en suero (Figura 61). A mayor ingesta de dieta hiperenergética, mayor será la concentración de creatinina en suero. El grupo H mostró correlación negativa alta entre el consumo de alimento y el índice LDL/HDL en suero (Figura 62). A mayor ingesta de dieta hiperenergética, menor el índice LDL/HDL. Mientras que hubo correlación positiva alta entre el consumo de alimento con dieta hiperenergética y el índice de Lee (Figura 63). A mayor ingesta de alimento, mayor será el Índice de Lee lo que nos sugiere que incrementa el riesgo de presentar obesidad y/o riesgo cardiovascular (parámetros a los que se asocia el índice de Lee).

En la figura 64 se observó correlación positiva alta entre el peso del grupo C y la relación ciego/peso (a mayor peso, mayor será la relación del ciego con el peso del animal). Por otro lado, se observó correlación negativa alta entre el peso y la relación del intestino delgado y colon/ peso del animal (a mayor peso corporal, menor será la relación de intestino y colon entre/peso del animal). La correlación positiva entre los órganos y el peso puede asociarse con un incremento proporcional respecto al peso órgano/peso del animal y peso de los animales, cabe mencionar que en las gráficas de correlación negativa observada para intestino y colon/ peso del animal y peso la el tamaño de muestra es pequeño y hay valores muy dispersos, por lo que convendría incrementar el tamaño de muestra y comparar los resultados.

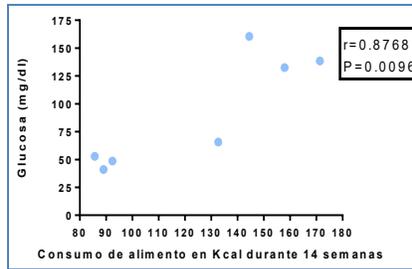


Figura 57. Correlación entre el consumo de alimento y glucosa en suero, en el grupo C. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas glucosa (mg/dl) P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0096$, $r = 0.8768$, $n = 7$

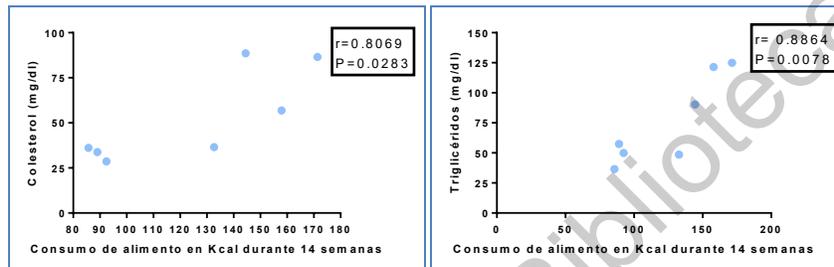


Figura 58. Correlación entre el consumo de alimento y concentración de colesterol y triglicéridos, grupo C. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas colesterol y triglicéridos (mg/dl), P de Person, $p < 0.05$ significativa. Colesterol $p = 0.0283$, $r = 0.8069$; triglicéridos $p = 0.0078$, $r = 0.8864$, $n = 7$.

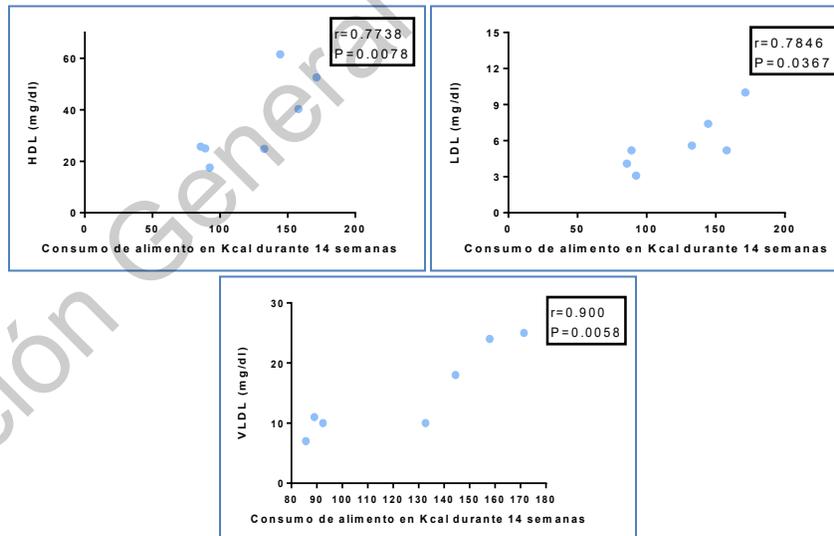


Figura 59. Correlación entre el consumo de alimento y lipoproteínas (HDL, LDL y VLDL), grupo C. Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas HDL, LDL, VLDL (mg/dl), P de Person, $p < 0.05$ significativa. HDL $p = 0.0078$, $r = 0.7738$. LDL $p = 0.0367$, $r = 0.7846$. VLDL $p = 0.0058$ y $r = 0.9$, $n = 7$.

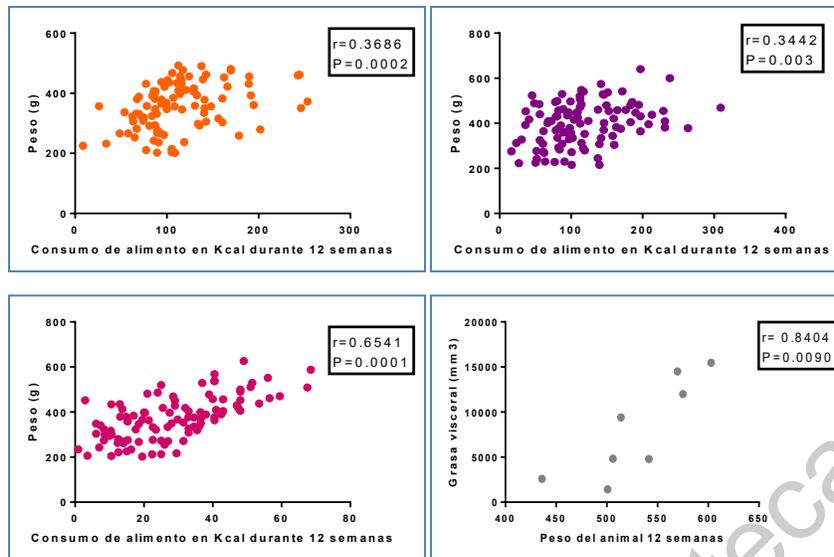


Figura 60. Correlación entre el consumo de alimento y peso, grupo CHF (naranja), H (morado) y HHF (rosa). Eje de las X consumo de alimento (Kcal), eje abscisas peso (g), P de Person, $p < 0.05$ significativa. C, $p=0.0002$, $r = 0.3686$; H $p=0.003$, $r = 0.3442$, y HHF $p=0.001$, $r=0.6541$, $n = 66$. En verde olivo grupo H, $p=0.0090$ y $r = 0.8404$, $n=8$.

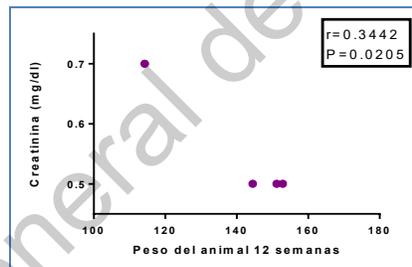


Figura 61. Correlación entre el consumo de alimento y creatinina, grupo H. Eje de las X peso (g), eje abscisas creatinina (mg/dl), P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p=0.0205$, $r = 0.3442$.

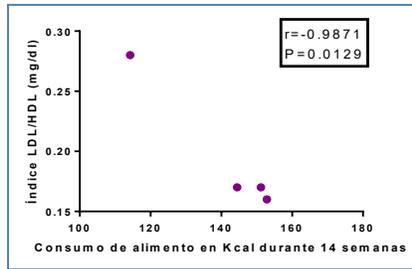


Figura 62. Correlación entre el consumo de alimento e índice LDL/HDL, grupo H. Eje de las X consumo (Kcal), eje abscisas índice LDL/HDL (mg/dl), P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0129$, $r = 0.9871$.

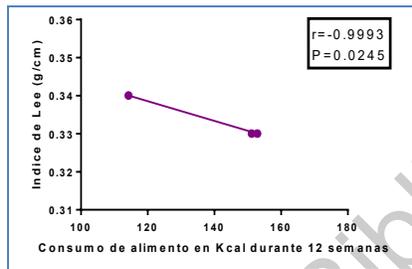


Figura 63. Correlación entre el consumo de alimento e índice de Lee, grupo H. Eje de las X consumo (Kcal), eje abscisas índice de Lee (g/cm), P de Person, $p < 0.05$ significativa, $p = 0.0245$, $r = 0.9993$.

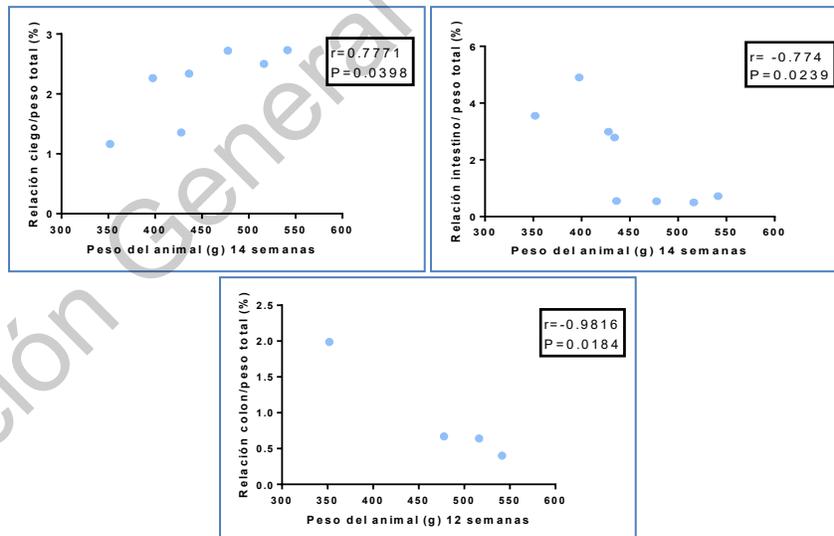


Figura 64. Correlación entre el peso y la relación de órganos del tubo digestivo, grupo C, segundo bloque. Eje de las X peso (g), eje abscisas relación órgano/peso corporal (%), P de Person, $p < 0.05$ significativa, Ciego $p = 0.0398$, $r = 0.7771$. Intestino delgado $p = 0.0239$, $r = 0.774$. Colon $p = 0.0184$, $r = 0.9816$.

IX DISCUSIÓN

9.1 Composición bromatológica de la hoja de frijol

El análisis bromatológico en la hoja de frijol demostró que constituye una fuente de proteína (24.22g/ 100g), de fibra dietética total (24.08g/100g), fibra detergente neutra (28.14g/100g) y contenido mínimo de lípidos (1.33g/100g). Anteriormente se ha reportado que el frijol, dependiendo de su variedad contiene del 14 al 33% de proteína y de 14 a 19% de fibra, principalmente pectinas, pentosanos, celulosa, hemicelulosa y lignina ²². Dos estudios previos coinciden con nuestros resultados respecto a que es una fuente importante de fibra y proteína, siendo menor el porcentaje de fibra en nuestro estudio alrededor del 10%, sin diferencia significativa ^{13,19}. La hoja de frijol pertenece al grupo de plantas que pueden consumirse, denominadas quelites, se sabe que nutricionalmente tienen un aporte significativo de macronutrientes, fibra, vitaminas, minerales y compuestos antioxidantes, lo que sugiere que es una opción adecuada y de fácil acceso para el aporte de nutrientes ^{12,65}.

9.2 Consumo de alimento y energía en los animales

Los datos presentados, indican que el consumo de alimento entre grupos no se ve afectado por el tipo de dieta durante las primeras 12 semanas de experimentación, conforme aumentan el tiempo, el consumo e ingesta energética se ve incrementado en los grupos con dieta H y HHF. Un estudio en donde se evaluaron cambios en el comportamiento en relación a la ingesta de dieta alta en grasa comparado con dieta control, por 10 días, reportó que las ratas con dieta alta en grasa tenían un consumo menor de alimento, posiblemente para regular el incremento de peso, lo que resultó en que no hubo diferencia significativa en peso entre el grupo control y con dieta alta en grasa, sin embargo si hipertrofia del tejido adiposo con la dieta alta en grasa ⁶⁶. Se ha reportado que la combinación de una dieta alta en grasa y fructosa genera alteraciones metabólicas, relacionada con alteraciones en el perfil lipídico y glicémico, no obstante, contrario a lo que se esperaría, al observar que las dietas altas en grasa y fructosa incrementan el

consumo energético, que se puede asociar con incremento de peso, se ha encontrado que los animales tienden a disminuir su ingesta de alimento a partir de dietas alta en grasa y fructosa en comparación con dieta control, sin embargo el aporte energético si es mayor, un estudio que se hizo en ratas Wistar macho durante 20 semanas con dieta alta en grasa y fructosa, mostró que las ratas que consumían esta dieta, ingerían menos alimento (g), en comparación con el grupo control, resultando en que no hubiera diferencia significativa en peso durante las primeras semanas, sin embargo a la semana 20 se mostró diferencia significativa en peso, en relación con el grupo control ⁶⁷. Lo observado en nuestra investigación, relacionado con los estudios mencionados, sugiere que a mayor sea el tiempo de experimentación con dietas hiperenergéticas, se incrementará la ingesta de alimento y energía lo cual también se asocia con cambios metabólicos. En relación al consumo de alimento, D consumió más en relación con C y CHF a partir de la semana 7 de experimentación, cabe destacar que aunque fue el grupo con mayor consumo de alimento en varias semanas de experimentación, esto no se vio reflejado en el incremento de peso, donde no presentó diferencia significativa con los demás grupos, lo que está relacionado con la patología en sí. A pesar de que DHF no tuvo diferencia significativa entre el resto de los grupos en el consumo de alimento, fue el grupo que subió menos de peso incluso que los grupos C y CHF donde la dieta tenía menor aporte energético, por lo que la inducción de diabetes en ambos grupos tuvo efecto sobre el incremento de peso, siendo menor el peso al incluir la HF. Entre los síntomas característicos de la diabetes se encuentran la pérdida de peso acompañada de poliuria, polidipsia y polifagia, a lo que podemos asociar con los resultados obtenidos⁶⁸.

9.3 Peso corporal y percentiles

Nuestros resultados reportan que al utilizar diferentes tipos de dietas con y sin HF y con diferente aporte energético, en las primeras semanas de experimentación (2, 3 y 6) y en las últimas (20 y 21) el grupo H (dieta hiperenergética) tuvo mayor incremento de peso en relación a los demás grupos, lo que se asocia con el aporte energético de la dieta, cabe mencionar que a pesar de que HHF también aporta mayor cantidad de energía por gramo de alimento, en relación con los grupo C y

CHF, no mostró diferencia significativa en peso, por lo que estos datos apuntan a que la inclusión de HF podría tener efecto en el mantenimiento de peso a lo largo del tiempo. Nuestros resultados contrastan con lo reportado en un estudio anterior, donde se evaluó el efecto de la inclusión de HF en un modelo con dieta obesogénica a partir de manteca de cerdo saturada y fructosa, el mismo tuvo una duración de 6 semanas y no se encontró diferencia significativa, pudiendo deberse al tamaño de muestra (n=8) y a que la ingesta de alimento se restringía a un periodo de 9 horas/día, mientras en nuestro estudio el acceso al alimento fue a libre demanda ¹⁹. Por otro lado estudios similares con dietas hiperenergéticas en periodos más cortos (10 días) no encontraron diferencia significativa en peso ⁶⁶ y en un periodo prolongado, la diferencia significativa en el grupo con dieta alta en grasa y fructosa se presentó hasta la semana 20 ⁶⁷. Estos estudios coinciden en que aunque no se reportó diferencia significativa en peso durante todo el tiempo del experimento, si se observaron otros cambios asociados con alteraciones en el metabolismo energético como incremento de tejido adiposo y en los perfiles lipídicos y glicémicos, mostrando que el peso no es el único indicador de cambios en composición corporal, relacionado con alteraciones metabólicas ⁶⁹.

Como parte del estudio, se examinó el cambio de peso de los animales, a partir de las diferentes dietas, se consideró analizar los percentiles en los que se encontraron los animales en relación a su peso y edad a partir de lo publicado por Bolaños M. y cols. 2013, donde se puede categorizar a los animales en desnutrición, delgadez, eutrófico, sobrepeso y obesidad ⁷⁰. Encontramos que en las primeras 6 semanas hay diferencia significativa en el promedio de percentiles, siendo mayor en el grupo H con relación a los grupos C y CHF, aunque no es significativamente mayor con HHF, se observó que el promedio también fue menor en este grupo, posterior a las 6 semanas, no se encontró diferencia significativa en el promedio de percentiles en el resto de la semanas, lo que puede deberse a que el crecimiento acelerado en las ratas, se reporta en los primeros 60 días de vida, periodo en el que se encuentran las primeras 6 semanas de experimentación ⁷⁰. Por otro lado el grupo H se encontró en percentiles >97 en las últimas semanas de

este trabajo, indicador de obesidad, esto comprueba que de acuerdo a la edad y peso de los animales el grupo H que tenía dieta con mayor aporte energético por gramo de alimento desarrollo obesidad en un periodo de 21 semanas. Estudios previos reportan el uso de dietas altas en hidratos de carbono, donde se utiliza sacarosa o fructosa, en periodos de 2 a 21 semanas, produciendo, obesidad y cambios en triglicéridos, glucosa e insulina principalmente ⁶⁹.

La inducción de diabetes en un modelo con dieta hiperenergética a partir de manteca de cerdo y fructosa; junto con una dosis única de STZ y 10% de HF, se asoció con menor ganancia de peso en un periodo de 6 semanas al compararse con animales que tenían dieta hiperenergética sin la administración de STZ y sin HF. A las 21 semanas de experimentación D no tuvo diferencia significativa en peso con los demás grupos, en este periodo no se incluyó el grupo DHF. Un estudio donde se indujo diabetes en un modelo de ratas Wistar a partir de dieta alta en grasa y la misma dosis de STZ que utilizamos nosotros, reportó que a las 7 semanas de experimentación las ratas con diabetes inducida tuvieron más peso que el grupo control ⁷¹, en nuestro caso a las 6 semanas no se encontró diferencia en peso entre C y D, con lo que contrastan nuestros resultados con lo reportado, además la HF en DHF sugiere interacción con la absorción de nutrimentos al favorecer la disminución del incremento de peso. Respecto a la interacción de la HF en el modelo de diabetes inducida, un estudio donde se administró extracto acuoso de semillas de *Phaseolus vulgaris* por 30 días, mostró que hubo menor incremento de peso en el grupo con diabetes inducida y sin administración del extracto en relación con el grupo control, por otro lado se observó que al administrar 300mg/kg de peso del extracto de semilla de frijol en animales con inducción de diabetes, el incremento de peso se vió mejorado en este grupo ⁷², dichos resultados contrastan con lo encontrado en nuestra investigación. Al no encontrar cambios significativos entre D y DHF en un periodo de 6 semanas, consideramos importante incluir el grupo DHF en un periodo mayor para poder evaluar si a mayor tiempo de exposición a la dieta y HF el peso se modifica por interacción con los componentes de la dieta.

Los datos obtenidos, informan que respecto al consumo de alimento y la composición corporal, a mayor consumo de alimento en las dietas C, H y HHF, incrementa el peso de los animales en el bloque 1, En cuanto a la composición corporal, el alza en el consumo de alimento en el bloque 2, se asocia con aumento en el peso con todas las dietas (C, CHF, H y HHF).

9.4 Consumo de agua, excreción de orina y heces

Los datos indican que respecto al consumo de agua y excreción de orina, no hubo cambios entre grupos en el primer bloque. Un estudio donde se evaluó el uso de dieta alta en grasa, dieta alta en grasa y fructosa (como es nuestro caso) y una dieta alta en grasa y glucosa, durante 20 semanas reportó que la ingesta de líquido disminuyó, por parte de los grupos con dieta alta en grasa y dieta alta en grasa y fructosa en relación al control, no se reportó la excreción de orina ⁶⁷. Por otro lado, la excreción de heces en los grupos C y CHF aumentó al comparar con los grupos H y HHF, considerando las características de la composición de las dietas hiperenergéticas y que parte de los elementos que contienen, entre ellos fructosa y manteca de cerdo que no aportan fibra a la dieta ⁶⁹, y que además el consumo de agua no es distinto entre grupos, esto podría favorecer que los animales con dieta hiperenergética disminuyan su excreción de heces. Respecto al contenido de fibra en dietas diseñadas altas en grasa y/o fructosa, estudios reportan que a partir de la adición de fibra externa como celulosa se homologa la cantidad de fibra en las diferentes dietas ⁴⁸, en otros casos se utilizan dietas comerciales donde se procura cubrir el requerimiento nutrimental de los animales independientemente del aporte energético ⁶⁶. El contenido de fibra en nuestras dietas se basó en lo establecido por la NOM-062, donde señala que el aporte fibra para ratas debe ser de 3 a 6% ⁷³, siendo similar entre los grupos controles y su experimental (C y CHF; H y HHF).

La excreción de heces en 24hrs es mayor con las dietas C y CHF, mientras que los grupos con dieta obesogénica (H, HHF, D y DHF) no son diferentes entre sí. Lo anterior puede deberse a que el contenido nutrimental a partir de la constitución de las dietas es diferente, ya que los componentes de la dieta obesogénica (fructosa y manteca de cerdo) no aportan fibra a la dieta, en nuestro caso procuramos

utilizar salvado de trigo para homologar la cantidad de fibra entre los grupos controles y experimentales (C y CHF, H y HHF, D y DHF), estudios reportan que a partir de la adición de fibra externa como celulosa se homologa la cantidad de fibra en las diferentes dietas ⁴⁸, o se incorporan dietas comerciales donde se cubre el requerimiento nutrimental de los animales independientemente del aporte energético ⁶⁶. En cuanto a la cuantificación de heces en dieta, en estudios donde se evalúa el efecto de la dieta en parámetros metabólicos, colectan heces para analizar cambios en microbiota o contenido nutrimental en heces, mas no cuantifican estas ^{74,75}. Es importante la cuantificación de heces a partir de diferentes dietas, ya que un exceso o disminución en las mismas puede asociarse con alteraciones metabólicas como malabsorción de nutrimentos ^{18,35}.

Los grupos D y DHF, posterior a la administración de STZ para la inducción de diabetes, reportan mayor consumo de agua y eliminación de orina. Aunque respecto a orina la diferencia no es significativa, pudiendo deberse al tamaño de la muestra, se percibe la tendencia al incremento en el consumo de agua por parte de estos 2 grupos. Un estudio donde se administró sacarosa al 40% en solución durante de manera crónica a ratas (durante 180 días), mostró un mayor consumo de agua en relación con el grupo control ⁷⁶ por otro lado, un estudio donde se evaluó el efecto de la dieta alta en grasa; alta en grasa y fructosa; y alta en grasa y glucosa, reportó que los grupos con las 3 dietas hiperenergéticas consumían más agua que el grupo control ⁶⁷, ambos estudios coinciden con nuestros resultados. La polidipsia y poliuria son síntomas característicos de la diabetes ⁶⁸, con lo que observamos un comportamiento esperado en los grupos D y DHF.

9.5 IMC e índice de Lee

Los datos obtenidos, no mostraron diferencias en el IMC e índice de Lee en los 3 bloques experimentales, en estudios en ratas donde se evalúa la composición corporal con obesidad, se relacionan valores más altos de peso, IMC e índice de Lee en los grupos patológicos de igual manera que el tiempo de tratamiento es mayor (12-18 semanas), ^{77,78} en este estudio no encontramos cambios aún a las 21 semanas.

No hay diferencia en el IMC e índice de Lee entre los grupos con inducción de diabetes (D y DHF) y los demás grupos (C, CHF, H y HHF) en ninguno de los 3 periodos. El estudio en ratas Wistar macho con dieta alta en grasa; alta en grasa y fructosa o glucosa, durante 20 semanas, reportó que la dieta alta en grasa y dieta alta en grasa y fructosa disminuye el IMC en relación con el grupo control^{76, 67}, el otro estudio con dieta alta de solución de sacarosa en ratas Wistar, mostró que aunque se encuentran cambios y alteraciones en parámetros bioquímicos, el IMC e índice de Lee, no se ven diferenciados con el grupo control⁷⁶, ambos estudios coinciden con nuestros resultados. Al evaluar el efecto de la inclusión de arroz integral en ratas con obesidad inducida durante 8 semanas, a partir de una dieta alta en grasa, tanto IMC como índice de Lee, fueron más altos que el grupo control⁷⁵ lo que contrasta con nuestros resultados en donde no hubo diferencia significativa entre grupos. Aunque no se presentan diferencias en IMC e índice de Lee si se pueden presentar otras alteraciones en parámetros bioquímicos, principalmente perfil lipídico y glicémico cuando se administran dietas hiperenergéticas a partir de grasa e hidratos de carbono, como el caso de nuestros datos.

Para la dieta CHF y H, hay una correlación positiva con el índice de Lee, se observó correlación positiva entre el incremento de dieta CHF y aumento de IMC en el bloque 1. Los resultados observados indican que a mayor consumo de alimento, mayores serán los valores de los parámetros relacionados con composición corporal, lo cual es de esperarse, ya que el incremento en la ingesta energética favorece el aumento de estos indicadores.

9.6 Circunferencias

Con respecto a los datos obtenidos sobre las medias de circunferencia visceral, torácica y su relación, no encontramos diferencias entre grupos en ninguno de los 3 bloques. Un estudio donde se evaluó la circunferencia abdominal después de 20 semanas de administración de diferentes dietas hiperenergéticas (dieta alta en grasa, dieta alta en grasa y fructosa y dieta alta en grasa y glucosa) solo se observaron diferencias significativa en la dieta alta en grasa y glucosa, con lo que

al comparar con la dieta alta en grasa y fructosa nuestros resultados coinciden ⁶⁷. Un estudio en ratas por 10 semanas, donde se evaluaron cambios en composición corporal al desarrollar síndrome metabólico a partir de dieta alta en grasa y la administración de una dosis única de STZ, reportó que al evaluar las circunferencias, visceral y torácica, el grupo con dieta alta en grasa e inducción de diabetes mostró valores más altos en relación al control ⁷⁹. La cantidad y distribución de grasa corporal, sugiere la relación del riesgo de complicaciones metabólicas, cuando la circunferencia abdominal es mayor a la torácica se sugiere mayor concentración de grasa en esta zona y menor en las otras partes del cuerpo, incrementando el riesgo para enfermedades cardiovasculares, por estar la grasa más cerca de órganos como corazón, hígado y riñones ⁸⁰. En los bloques 1 y 2 no hay diferencia en las circunferencias entre los grupos con diabetes inducida el resto de los grupos, mientras que en el bloque 3, la circunferencia visceral que se relaciona con mayor cantidad de tejido adiposo visceral, es menor en D al compararla con H. En el estudio donde se evaluó el efecto de diferentes tipos de dietas hiperenergéticas, reportó que una dieta alta en grasa y fructosa, genera mayor circunferencia visceral en relación con dietas control; dieta alta en grasa; y dieta alta en grasa y fructosa ⁶⁷. Por otro lado un estudio donde se indujo diabetes con una dosis única de 40mg/kg de peso de STZ y dieta alta en grasa, durante 10 semanas, informó que tanto la circunferencia torácica y visceral son mayores en el grupo con diabetes inducida en relación con el grupo control, sin tener diferencia en la relación circunferencia visceral/circunferencia torácica ⁷⁹, contrastando con nuestros resultados ya que nosotros encontramos que no hay diferencia significativa entre grupos respecto a circunferencia torácica y visceral y en la relación entre estas. El periodo en que se administra la dieta hiperenergética y su composición tiene efecto sobre las circunferencias visceral y abdominal.

9.7 Tejido adiposo

Los datos obtenidos respecto a la cantidad de tejido adiposo analizado por RM, indican que los grupos H y HHF, tienen mayor cantidad, tanto para tejido adiposo visceral como subcutáneo, en comparación con el grupo CHF, esto a las 6 y 12

semanas. El uso de técnicas no invasivas como la RM y tomografía computarizada, son una opción para el análisis de cambios en composición corporal en los animales. En un estudio donde se evaluó el desarrollo de un modelo con esteatohepatitis no alcohólica a partir de dietas hiperenergética con diferente composición por 8 y 16 semanas, se analizó la cantidad de tejido adiposo por tomografía computarizada, encontrando que los ratones con dieta alta en grasa, dieta alta en grasa y fructosa o glucosa fue incrementada en comparación con dieta adicionadas solo con fructosa o glucosa ⁸¹, lo que coincide con nuestros resultados, indicando que la combinación de grasa y fructosa en un modelo con dieta hiperenergética favorece el incremento de tejido adiposo, que como obtuvimos H y HHF con respecto al grupo CHF y por la composición de la dieta con menor densidad energética, la cantidad de tejido adiposo fue menor. Estudios previos reportan el uso de RM como una técnica no invasiva en animales vivos para analizar la cantidad de tejido adiposo y el estado de órganos como hígado y páncreas, en donde se presentan alteraciones, principalmente con la presencia de diabetes inducida ^{82,83}.

9.8 Relación órganos del TGI/peso del animal

Nuestros datos indican que a las 12 semanas de administración de las diferentes dietas (C, CHF, H y HHF) se observan cambios en relación al peso de los órganos que constituyen el TGI, siendo el ciego en relación al peso en HHF más pequeño que el grupo control y el peso general del TGI en el grupo C se ve incrementado en relación con H. A las 21 semanas la relación de órganos y peso de los animales es mayor que a las 6 o 12 semanas, donde estómago y colon tienen menor peso para H en relación con el grupo CHF, mientras que para el TGI tanto H como HHF fueron menores en relación con CHF. Lo anterior se puede asociar con la cantidad de tejido adiposo en los grupos H y HHF donde al haber mayor cantidad de grasa, esta ocupa gran proporción del peso total del animal, por lo que al relacionarlo con órganos tales como los que conforman el TGI la relación se ve disminuida, mientras que los grupos con menor cantidad de tejido adiposo, la proporción de peso/órganos resulta mayor.

Hasta el momento no hemos encontrado artículos dónde se enfoquen a pesar los órganos del TGI en ratas y asociarlo con la administración de dietas hiperenergéticas, sin embargo si evalúan cambios morfológicos o de composición de microbiota en intestino y colon y lo asocian a la inclusión de compuestos bioactivos como antocianinas, butirato y fibra ⁸⁴⁻⁸⁶.

Considerando que el peso es uno de los indicadores de composición corporal más significativo, pero no el único, se correlacionó con otros parámetros, para evaluar su asociación, donde observamos que a las 6 semanas, mientras mayor fue el peso, menor era la relación entre el peso y los órganos del TGI, mientras que para HHF un mayor peso también se asocia con menor relación del peso/TGI, pudiendo interactuar la HF en estos 2 grupos con el peso de los órganos. En el segundo bloque se observó que a mayor peso del animal en el grupo C, menor la relación intestino delgado/ peso y colon/peso, por otro lado, notamos que a mayor peso de los animales, la cantidad de tejido adiposo visceral, en todos los grupos incrementa.

9.9 Perfil glicémico y de lípidos.

Los datos obtenidos de los diferentes grupos, sobre el perfil glicémico muestran que la glucosa basal a la tercera semana, tras la administración de las diferentes dietas (C, CHF, H y HHF), no presentó cambios entre grupos. Respecto a la curva de tolerancia a la glucosa, encontramos que en el primer bloque, H presentó los valores más altos en la curva siendo significativamente diferentes con C y CHF a los 30 y 60 min. En el segundo bloque, la glucosa basal fue mayor en H y HHF que en C y CHF, cabe destacar que a los 90 y 120 minutos HHF resulta con valores menores que H, considerando que a los 120 minutos se espera regresar al valor basal, por lo que se sugiere que la disminución en los niveles de glucosa en HHF pueden asociarse con la inclusión de hoja de frijol en la dieta en un periodo mayor a 6 semanas. Mientras que en el tercer bloque, no se observó diferencia significativa entre grupos, manteniéndose los grupos C y CHF, en este caso cabe mencionar que el número de animales por grupo fue de 3, por lo que se propone aumentar la n en este bloque para determinar la significancia o no de estos datos. Un estudio donde se generó un modelo de esteatohepatitis no alcohólica a partir

de diferentes dietas, llevo a cabo una curva de tolerancia a la glucosa a las 8 y 16 semanas, encontrando que a las 8 semanas la dieta alta en grasa, presentó valores más altos en comparación con las demás dietas (control, alta en grasa y fructosa/glucosa, alta en fructosa y alta en glucosa), mientras que a las 16 semanas las dietas tanto alta en grasa y alta en grasa y fructosa mantuvieron valores elevados en la curva, al compararse con las demás dietas ⁸¹, esto coincide con nuestros resultados, donde al combinar una dieta alta en grasa y fructosa, los niveles de glucosa en la curva son mayores que el resto de los grupos. Diversos estudios donde se evalúa el efecto de una dieta alta en grasa con la combinación de glucosa o fructosa, no lleva a cabo la curva de tolerancia a la glucosa como un indicador de alteraciones en el metabolismo de glucosa, considerando solo la glucosa en suero ^{67,71,74}.

Los animales con administración de STZ presentaron glicemias sostenidas mayor a 200mg/dl, en la CTG en la semana 6 de experimentación los grupos D y DHF tuvieron concentraciones de glucosa más altas que los demás con respecto a la glucosa basal. Además D tuvo valores más altos en los demás tiempos de la curva en relación con C y CHF, mientras que en la CTG a las 21 semanas D fue mayor que C, CHF, H y HHF lo que puede indicar que en un periodo de exposición menos a la dieta hiperenergética los grupos H y HHF tienen niveles de glucosa más elevados, sin presentar diferencia significativa con D y DHF; sin embargo al exponerse por más tiempo a la dieta hiperenergética los animales con dieta H y HHF mantienen sus niveles de glucosa más estables. En el trabajo donde se evaluó el efecto del consumo crónico de sacarosa en solución, se realizó una CTG, encontrando diferencia significativa con el grupo control a los 90 minutos y 120 minutos ⁷⁶, en otro estudio donde se evaluó la caracterización de un modelo con esteatohepatitis no alcohólica a partir de una dieta alta en grasa y fructosa y glucosa en ratones, en la CTG a las 8 y 16 semanas, se reportó que la dieta alta en grasa y fructosa a las 8 semanas incrementó el nivel de glucosa durante toda la curva, mientras que a las 16 semanas tanto la dieta alta en grasa como la dieta alta en grasa y fructosa; y glucosa, elevaron la glucosa en la curva, al compararlo con dieta control y dieta adicionada solo con fructosa o glucosa ⁸¹ esto señala que

no solo la administración de STZ o su combinación con una dieta hiperenergética genera incremento en las concentraciones de glucosa en sangre, ya que la modificación en la dieta a partir de grasa o hidratos de carbono simple pueden generar ese efecto. Los resultados de estos estudios coinciden con lo obtenido en nuestra investigación.

La glucosa basal analizada durante 14 semanas en los grupos D y DHF estuvo en nivel mayor que los grupos C, CHF, H y HHF en las semanas 7 a 12 y en la 14, con lo que se observa que las concentraciones de glucosa en los grupos con inducción de diabetes son mayores después de varias semanas de exposición a la dieta y administración de STZ. En un estudio donde se desarrolló un modelo de diabetes experimental con síndrome metabólico en ratas por un periodo de 10 semanas, se analizó la glucosa basal de manera semanal, encontrando que en las semanas 4, 7 y 10, los niveles son más altos en comparación con las ratas control⁷¹. Estos resultados coinciden con lo obtenido en nuestra investigación, donde se coincide que en la semana 7 de experimentación y en la última semana se presentan valores más altos de glucosa para los animales con inducción de diabetes, por lo que pueden estar presentando picos en las concentraciones de glucosa en estos tiempos de medición. El mantenimiento de glucosa elevada en el grupo D corrobora la presencia de diabetes en estos animales, sin embargo al momento con estos datos no podemos concluir con respecto al efecto de HF en diabetes.

Al hacer correlaciones entre la dieta y parámetros metabólicos encontramos que en el primer bloque, el aumento en el consumo de la dieta C incrementa la glucosa basal en la curva de tolerancia a la glucosa, contrario a la dieta CHF donde a mayor consumo, menor concentración de glucosa en sangre a los 30 minutos de la prueba, lo que confirma que la HF en la dieta favorece a disminuir los niveles de glucosa en sangre.

9.10 Parámetros sanguíneos después de la eutanasia.

Al analizar las muestras de suero, encontramos que en el primer bloque de tratamiento, los valores de glucosa sérica fue mayor en H en comparación con los grupos de inclusión de hoja de frijol (CHF y HHF), sin embargo a las 12 semanas

HHF mostró valores mayores de glucosa en relación a CHF, pero no así con C y H, pareciera que los componentes de HF adicionada a las dietas, tiene interacción con los nutrimentos, impidiendo el incremento de glucosa de mejor manera en tiempos cortos como las 6 semanas.

Respecto al colesterol y triglicéridos, los valores no fueron diferentes entre grupos a las 6 semanas, siendo H y HHF los que presentaron valores más elevados, lo que se atribuye a la composición de la dieta, a las 12 semanas si encontramos que H tuvo valores más altos que HHF en colesterol mientras que para triglicéridos CHF tuvo los valores más bajos y C y HHF fueron similares, lo que indica que la HF favorece la disminución de colesterol y triglicéridos en un periodo mayor a 6 semanas.

Además con respecto a las fracciones de colesterol, los valores de lipoproteínas fueron semejantes a las 6 semanas mientras que a las 12 semanas CHF presentó los valores menores en lipoproteínas, siendo más altos en H para HDL y VLDL, esto puede asociarse a la cantidad de lípidos que se obtienen y metabolizan a partir de las dietas, siendo menor el aporte para CHF y mayor para H. En un estudio previo, donde se evaluó el efecto de la inclusión de HF en un modelo con dieta obesogénica en condiciones de alimentación restringida (consumo de alimento por 8hrs/día) durante 6 semanas, se observó que los grupos con inclusión de HF (dieta control con HF y dieta obesogénica con HF) presentaron valores menores de glucosa al compararse con sus controles, lo que coincide con nuestros resultados y respecto a perfil de lípidos, en este estudio se mostró que la dieta obesogénica con HF presentaba valores de triglicéridos considerablemente más bajos que su grupo control (dieta obesogénica) ¹⁹, contrastando con nuestros resultados. En relación al efecto de la hoja de frijol, al momento no hay estudios publicados donde se evalúe interacción de la administración de HF en un modelo con dieta hiperenergética, lo que podemos comparar es la administración de un extracto acuoso de vainas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), en un modelo de ratas Wistar con inducción de diabetes por STZ, encontrando que la administración del extracto disminuyó los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en comparación con el grupo control en un periodo de 40 días ⁸⁷, en nuestro estudio es necesario

incrementar la n para estos grupos D y DHF para poder discutir con mayor certidumbre al respecto.

Respecto a la correlación entre la dieta y lipoproteínas, encontramos que a mayor consumo de dieta H, LDL disminuye, sin embargo los valores en LDL no son diferentes significativamente entre grupos en este periodo. En relación a la dieta HHF, se observó que a mayor consumo de alimento el índice LDL/HDL disminuye conforme aumenta el consumo de alimento, lo que puede asociarse con la hoja de frijol en la dieta, que favorece la disminución de lípidos en sangre. En el segundo bloque, se observó que la glucosa sérica, colesterol, triglicéridos y lipoproteínas se incrementan conforme aumenta la ingesta de dieta C, respecto a H, a mayor consumo de alimento, menor es la creatinina y relación LDL/VLDL.

A las 6 semanas, la glucosa basal es más alta en D y DHF que en el resto de los grupos. Respecto al colesterol no hay diferencia entre grupos, mientras que los triglicéridos en suero son más altos en D que C, CHF, H y HHF. Los resultados obtenidos en nuestra investigación no mostraron diferencias entre grupos en lipoproteínas. Un estudio donde se evaluó el efecto de un extracto de vainas de frijol en ratas con inducción de diabetes por STZ con 45mg/kg de peso, indicó que el extracto favorece la disminución de glucosa, colesterol y triglicéridos en un periodo de 40 días²⁶ mientras que un estudio en ratas Wistar con inducción de diabetes, tratado con extracto de semillas de frijol, encontró que una dosis de 300mg/kg/día del extracto, disminuye glucosa, colesterol, triglicéridos LDL y VLDL en un periodo de 30 días⁷². Nuestros resultados coinciden respecto a las concentraciones de glucosa en suero con los estudios reportados, no así con colesterol y lipoproteínas ya que nosotros encontramos que la inclusión de HF en DHF no genera disminución significativa en estos parámetros al compararlo con su grupo control. En efecto, nuestros datos sugieren que la inclusión de HF en la dieta durante un periodo de 6 semanas, puede disminuir el incremento de triglicéridos en sangre en un modelo de diabetes inducida a partir de una dieta hiperenergética y una dosis única de STZ (40 mg/kg).

Durante nuestro trabajo de investigación los grupos C, CHF, H y HHF, estuvieron mejor representados por un mayor número de animales. Los grupos D y DHF, en los que se realizó la inducción diabetes a partir de la administración de una dosis única de STZ en combinación con la dieta H, solo estuvieron en el primer bloque ya que en los siguientes no fue posible tener ambos grupos. Los resultados encontrados para D y DHF, reportan que la administración de STZ, generó concentraciones de glucosa mayores de 200 mg/dl con diferencia significativa que en el resto de los animales, lo que confirma inducción de diabetes, coincidiendo con estudios similares ^{69,72,87}. Además, posterior a la eutanasia, encontramos que los valores de glucosa sérica en DHF fueron más altos en relación a los demás grupos. Los valores reportados fueron mayores a lo esperado donde no se encontró efecto en los niveles de glucosa basal o sérica con la inclusión de HF, sin embargo es necesario incrementar la n en esos grupos. Observando que la hoja de frijol tiene efecto sobre la glucosa en sangre para los animales que la consumen pero no fueron administrados con STZ. En el estudio donde se evaluó el efecto de la administración del extracto acuoso de vaina de frijol por 40 días (en ratas con diabetes inducida por STZ), se encontró disminución en los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en comparación con el grupo control ⁸⁷.

La HF sugiere una interacción con los nutrimentos de la dieta, disminuyendo los niveles de glucosa y lípidos en sangre, considerando que la fibra es uno de los componentes mayoritarios de HF hay evidencia de que esta interactúa disminuyendo el tiempo de absorción de nutrimentos, los AGCC disminuyen la producción hepática de glucosa y aumenta la sensibilidad a la insulina ^{16,49}. Nuestro antecedente directo es la incorporación del 10% de HF para evaluar su efecto ^{88,89}, sin embargo se puede considerar usar diferentes porcentajes y evaluar la cantidad de HF añadida a la dieta que genera mejor efecto sobre los perfiles glicémico y lipídico de las ratas con dieta hiperenergética a partir de manteca de cerdo y fructosa, así como diabetes inducida. Las dietas combinadas donde se adicionan tanto hidratos de carbono como lípidos, son más similares a la dieta humana pero tienden a ser más variadas con duración de 4 a 48 semanas,

aunque no siempre se presenta obesidad considerando el peso, pero si se generan alteraciones en parámetros bioquímicos como glucosa y triglicéridos ⁶⁹.

En relación a la técnica empleada para la inducción de diabetes, un estudio anterior, usó una combinación de una dieta alta en grasa y una dosis única de STZ similar a la de este estudio, lo que produjo hiperglucemia sostenida, así como alteraciones en colesterol, triglicéridos, lipoproteínas, glucosa, insulina y péptido C. A diferencia de nuestro estudio, se emplearon ratas Wistar adultas de 10 a 12 semanas y la dieta obesogénica fue a base de grasa solamente. Se midieron las ratas 7 días después de la administración de STZ, y se confirmó la presencia de síndrome metabólico con glucosa mayor a 200, colesterol mayor a 110, triglicéridos mayor a 150 y cambio en peso corporal del 8% o más del peso inicial ⁵⁹. En este sentido, nosotros trabajamos con ratas de 6 semanas de edad, el número de animales utilizado por grupo en este periodo fue de 4, por lo que necesitamos incrementar el tamaño de muestra para evaluar las diferencias entre el grupo D y DHF en composición corporal y parámetros metabólicos.

X. CONCLUSIONES

La HF es una fuente de nutrimentos (proteína 24.22 ± 0.18 ; extracto etéreo 1.33 ± 0.05) y fibra (fibra dietética total 24.08 ± 1.37 ; FDN 28.14 ± 0.71 y FDA 16.23 ± 0.59) de bajo costo y fácil acceso, por lo que este alimento puede ser mejor aprovechado y distribuido como parte de la dieta en nuestra población.

La dieta hiperenergética produjo en los animales alteraciones en composición corporal (incremento en el peso, mayor cantidad de tejido adiposo y menor peso de los órganos del tracto gastrointestinal en relación al peso total de cada animal), perfil lipídico (niveles más altos de colesterol y triglicéridos) y glicémico (concentraciones de glucosa en la CTG y en suero más elevadas), asociado a la presencia de obesidad. Esta dieta hiperenergética, junto con la administración de una dosis única de STZ (40 mg/kg) incrementó el nivel de glucosa basal superior a 200mg/dl, característico de la inducción de diabetes.

La dieta hiperenergética favoreció el aumento en la ingesta de alimento en un periodo de exposición mayor a las 12 semanas y generó obesidad en relación al peso al categorizar a los animales en percentiles de acuerdo a su edad (percentil < 97). La inclusión de HF en dieta H previnó la obesidad (percentil >97) y produjo menor excreción de heces, ya que este tipo de dietas por su composición contienen menos fibra (C: 3.59g/100g de alimento, CHF: 5.56g/100g de alimento, H: 3.59g/100g de alimento y HHF: 3.55g/100g de alimento).

No se encontró cambio significativo en IMC, índice de Lee y circunferencias visceral y torácica entre los grupos experimentales, sin embargo los grupos con dieta hiperenergética e inducción de diabetes presentaron otras alteraciones metabólicas, principalmente asociadas con el aumento en tejido adiposo visceral y subcutáneo (mayor en H en relación con el grupo CHF y HHF), incremento de glucosa sérica (mayor en H, D y DHF en relación con C, CHF y HHF), colesterol (más elevado en H y HHF en relación con C y CHF) y triglicéridos (más elevado en H y HHF en relación con C y CHF).

La inclusión de HF previnó el incremento de peso al incluirse junto con una dieta hiperenergética y favoreció el control en los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero, siendo mayor el efecto cuanto mayor sea el tiempo a la exposición de HF, lo que indica que el consumo sostenido de HF protege de alteraciones en peso y en los perfiles lipídico y glicémico.

Al correlacionar la inclusión de HF con los parámetros bioquímicos y metabólicos de los animales se concluye que a mayor consumo de dieta CHF las concentraciones de glucosa en la CTG disminuyen, a mayor ingesta de dieta HHF disminuye el índice LDL/HDL. Por otro lado, mayor peso de los animales se asocia con incremento en la cantidad de tejido adiposo visceral y a mayor ingesta de alimento independientemente del tipo de dieta, mayor es el índice de Lee, lo que incrementa el riesgo de presentar obesidad y complicaciones cardiovasculares.

No se encontraron alteraciones en los parámetros relacionados con la funcionalidad del riñón con respecto a proteínas los valores encontrados en urea, creatinina y ácido úrico fueron similares entre los diferentes grupos.

En conjunto los resultados de este proyecto nos sugieren que la hoja de frijol puede ser un alimento seguro para animales con efectos sobre la desregulación en glucosa, triglicéridos y colesterol relacionados con obesidad y posiblemente para el humano, quien ya lo consume.

XI. LITERATURA CITADA

1. Dommarco Rivera J. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 Presentación de Resultados.*; 2019.
2. Narro Robles J, Meljem Moctezuma J, Kuri Morales PA, et al. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016)*. México; 2016. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>. Accessed October 15, 2018.
3. Ghebreyesus Adhanom T. OMS 10 datos sobre la obesidad. WHO. <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>. Published 2017. Accessed October 15, 2018.
4. Lyznicki JM, Young DC, Riggs JA, Davis RM. *Obesity: Assessment and Management in Primary Care*. Vol 63.; 2001. www.aafp.org/afpAMERICANFAMILYPHYSICIAN2185. Accessed August 25, 2019.
5. Adhanom Ghebreyesus T. Diabetes. *PLoS Medicine*. doi:10.1371/journal.pmed.0030442
6. Navarro Solano Jonatan, Chen- Ku Chin Hao. Actualización del efecto de los antihiperlipemiantes en la función renal en diabetes mellitus tipo 2. 2018. <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v60n2/0001-6002-amc-60-02-6.pdf>. Accessed October 2, 2018.
7. Santaella Castell JA. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo de fallecidos. INEGI. <https://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>. Published 2020. Accessed July 9, 2020.
8. Antonio J, Ocio U, Bastús Díez S, et al. Neuropatía entérica asociada a diabetes mellitus. *Rev Española Endermedades Dig*. 2015;107:366-373. http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n6/es_revision.pdf. Accessed June 16, 2019.
9. Pollak C. F. RESISTENCIA A LA INSULINA: VERDADES Y CONTROVERSIAS. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2016;27(2):171-178. doi:10.1016/J.RMCLC.2016.04.006
10. calzada Roviroso JE. Frijol Mexicano. *SAGARPA*. 2017:191. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B_sico-Frijol.pdf. Accessed April 8, 2019.
11. Linares E, Bye R, Ortega N, Arce AE. *Quelites: Sabores y Saberes, Del Sureste Del Estado de México*. Primera. Ciudad de México: Universida

Autónoma de México; 2017.

12. Santiago-Saenz YO, Hernández-Fuentes AD, López-Palestina CU, Garrido-Cauch JH, Alatorre-Cruz JM, Monroy-Torres R. Nutritional importance and biological activity of bioactive compounds from quelites consumed in Mexico. *Rev Chil Nutr.* 2019;46(5):593-605. doi:10.4067/S0717-75182019000500593
13. Martínez Zavala M, García Gasca T, Mora Avilés M. A. Estudio de la hoja de frijol *Phaseolus vulgaris* como alternativa de hierro biodisponible. 2012. <https://www.dropbox.com/home/Viri> 2018-2 MCNH?preview=TesisMauricioMartínez+MNH+oct12.pdf. Accessed August 22, 2018.
14. Lomelí de la Rosa SE, Reinoso Camacho R, Loarca Piña MGF, Ibarra Alvarado C, Hernández Montiel Hebert. Efecto de infusiones herbales comerciales y naturales sobre alteraciones en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo en un modelo de obesidad. October 2011. <http://ring.uaq.mx/bitstream/123456789/621/1/RI000827.pdf>. Accessed July 10, 2020.
15. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2012;27(1). http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009. Accessed July 10, 2020.
16. Sánchez Almaraz R, Fuentes MM, Milla SP, Plaza BL, Bermejo López LM, Candela CG. Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutr Hosp.* 2015;31(6):2372-2383. doi:10.3305/nh.2015.31.6.9023
17. Ríos Espinosa E. *El Papel de La Fibra En Las Enfermedades Crónico-Degenerativas*. Querétaro; 2012. <http://www.insk.com/>. Accessed October 16, 2018.
18. Escudero Álvarez E, González Sánchez P. La fibra dietética. *Nutr Hosp.* 2006;21(2):61-72. <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v21s2/original6.pdf>. Accessed October 16, 2018.
19. Becerril Campos, Adriana Araceli; Luna Moreno, Alma Dalia; García Gasca, Margarita Teresa de Jesús; Ahumada Solórzano SM. *Prevención Del Riesgo Metabólico En Un Modelo in Vivo Con El Consumo de Quínoa Roja (Chenopodium Berlandieri Spp. Nuttalliae) y Hoja de Frijol (Phaseolus Vulgaris).*; 2018.
20. Adhanom Ghebreyesus T. Obesidad y sobrepeso. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Published 2018. Accessed October 16, 2018.
21. Reynoso Camacho R, del Carmen Ríos Ugalde M, Torres Pacheco I, et al.

El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en rats Sprage-Dawley. *Agríc Técnica en México*. 2007;33:43-52. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agritm/v33n1/v33n1a5.pdf>. Accessed October 22, 2018.

22. Ulloa JA, Rosas Ulloa P, Ramírez Ramírez JC, Ulloa Rangel Blanca Estela. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *ISSN*. 2011;5-9. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/1.pdf>. Accessed October 22, 2018.
23. Ramírez-Jiménez AK, Reynoso-Camacho R, Tejero ME, León-Galván F, Loarca-Piña G. Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipid-lowering mechanisms. *Food Res Int*. 2015;76:92-104. doi:10.1016/J.FOODRES.2015.01.002
24. Yero AH, Omaid I, Herrera T, et al. *Tratamiento Farmacológico de La Prediabetes Pharmacological Treatment of Prediabetes*. Vol 22.; 2011. <http://scielo.sld.cu>. Accessed July 10, 2020.
25. Salinas Ramírez N, Alberto Escalante Estrada J, Teresa Rodríguez González M, Sosa Montes E. Rendimiento y calidad nutrimental del frijol ejotero en 2 ambientes. *Rev Fitotec Mex*. 2012;35(4):317-323. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/35-4/6r.pdf>. Accessed September 17, 2018.
26. Almuaiyel MF, Seif MA, Albuali HW, Alharbi O, Alhawash A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of aqueous extract of *Phaseolus vulgaris* pods in streptozotocin-diabetic rats. *Biomed Pharmacother*. 2017;94:742-746. doi:10.1016/j.biopha.2017.07.135
27. INATEC-JICA. *Manual de Pastos y Forrajes*. Nicaragua; 2016. https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Manual_de_Pastos_y_Forrajes.pdf. Accessed April 8, 2019.
28. Martínez Zavala M. Estudio de la hoja de frijol *Phaseolus vulgaris* como alternativa de hierro biodisponible. 2012.
29. Elizalde A de D, Porrilla YP, Chaparro DCC. Factores antinutricionales en semillas. *Articul Orig*. 2009;7(1):45-54. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n1/v7n1a07.pdf>. Accessed April 16, 2019.
30. Ladino Meléndez L, Velázquez Gaviria ÓJ. *NUTRIDATOS 2 ED MANUAL DE NUTRICION CLINICA*,.; 2016. https://www.busc calibre.com.mx/libro-nutridatos-2-ed-manual-de-nutricion-clinica/9789584680556/p/50147461?gclid=EAlaIqObChMlx6_o6rXD4QIVGeDlCh0-vgunEakYASABEgKeLPD_BwE. Accessed April 9, 2019.
31. Matarese LE, Gottschlich MM. *Nutrición Clínica Práctica*. Elsevier; 2004.

https://books.google.com.mx/books/about/Nutrici3n_cl3nica_pr3ctica.html?id=VOQHw0sz38AC. Accessed October 16, 2018.

32. Ayala Garza P. *Fibra Diet3tica: Conceptos Actuales y Aplicaciones Terap3uticas.*; 2015. http://www.cmzh.com.mx/media/107001/rev_04_fibra_diet_tica_-_conceptos_actuales_y_aplicaciones_terap_uticas.pdf. Accessed August 28, 2018.
33. Huerta GP. Beneficio de la fibra diet3tica en enfermedades cr3nico-degenerativas. *Rev Medica Univ Veracruzana* . 2009;1:31-35. www.uv.mx/rm. Accessed October 29, 2018.
34. Olagnero G, Abad A, Bendersky S, Genevois C, Granzella L, Montonati M. Alimentos funcionales: fibra, prebi3ticos, probi3ticos y simbi3ticos. *DIAETA (BAires)*. 2007;20(121):20-33. http://www.fmed.uba.ar/depto/nutrinormal/funcionales_fibra.pdf. Accessed September 11, 2018.
35. Falc3n V M del R, Barr3n H JM, Romero B AL, Dom3nguez S MF. Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de dietas con alto contenido de fibra dietaria. *Rev Chil Nutr*. 2011;38(3):356-367. doi:10.4067/S0717-75182011000300012
36. J.A. Heredia Ortega, A. Aguilera Barreyro, T. Reis de Souza, M.G. Bernal Santos KEG. Fibra diet3tica total: m3todos de determinaci3n en pastas de oleaginosas. *Desarro LA Investig EN LA Fac CIENCIAS Nat UAQ*. 2014:91-102.
37. Cruz M, S3nchez JM. *La Fibra En La Alimentaci3n Del Ganado Lechero*. Vol 6.; 2000. http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/Revista/la_fibra_en_la_alimentacion_del_ganado_lechero.pdf. Accessed October 16, 2018.
38. Keithley J, Swanson B. GLUCOMANNAN AND OBESITY: A CRITICAL REVIEW. *Altern Ther*. 2005;11(6):30-34. https://www.lipozene.com/documents/Glucomannan_and_Obesity.pdf. Accessed November 8, 2018.
39. Ortiz BL, Anzola C. Estudio del efecto fisiol3gico del consumo de arepas enriquecidas con pectina extraida de la c3scara de curuba (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*). *Rev Colomb Qu3mica*. 2018;47(2):5-11. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v47n2/0120-2804-rcq-47-02-00005.pdf>. Accessed October 29, 2018.
40. 3lvarez P3rez J, Pe3a-Rosas JP. Fibra diet3tica: efecto sobre el control gluc3mico y el metabolismo de los carbohidratos y l3pidos. *Rev Espa3ola Nutr comunitaria*. 2007;13(1):30-39. http://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/NUT_0162006_Fibra.pdf.

Accessed October 29, 2018.

41. Corte Osorio LY, Martínez Flores HE, Ortiz Alvarado R. Efecto del consumo de la fibra dietética en la expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutr Hosp.* 2011;26(5):1052-1058. doi:10.3305/nh.2011.26.5.5054
42. Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PLoS One.* 2015;10(5). doi:10.1371/journal.pone.0126931
43. Osorio Corte LY, Martínez Flores H.E., Ortiz Alvarado R. Efecto del consumo de fibra dietética cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutr Hosp.* 2011;26:1052-1058. http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v26n5/20_original_19.pdf. Accessed September 11, 2018.
44. Van Lier E, Regueiro MR. *Digestión En Reticulo-Rumen*. Montevideo; 2008. <http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/AFA/TEORICOS/Repartido-Digestion-en-Reticulo-Rumen.pdf>. Accessed February 16, 2019.
45. McNabney SM, Henagan TM. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: A focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance. *Nutrients.* 2017;9(12):1-28. doi:10.3390/nu9121348
46. Felice JI, Cortizo AM, Sedlindky C, Schurman L, McCarthy A.D. Efectos "in vivo" de Metformina sobre las alteraciones de microarquitectura ósea asociada al Síndrome Metabólico inducido por fructosa en ratas. *Rev Argent Endocrinol Metab.* 2011;48:193-199. <http://www>. Accessed October 22, 2018.
47. Meléndez Guillermo. *Factores Asociados Con Sobrepeso y Obesidad En El Ambiente Escolar*. Primera. (Ed. Médica Panamericana, ed.). México; 2008. <https://books.google.com.mx/books?id=ZPM27clSnusC&hl=es&sitesec=reviews>. Accessed October 23, 2018.
48. Olguin B, Posadas R, Revelant Z, et al. Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Rev Chil Nutr.* 2015;42(1). <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art06.pdf>. Accessed October 14, 2018.
49. Esquivel-Solís V, Gómez-Salas G, Esquivel Solís V, Gómez Salas G. Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa. *Acta Med Costarric.* 2007;49(4):198-202. <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v49n4/3543.pdf>. Accessed October 23, 2018.
50. Murray RK, Gómez Saborio JE, Murillo Zaragoza JR, Arsof Saab IN, Harper HA (Harold A, Gómez Saborio JE. *Bioquímica de Harper*. El Manual

Moderno; 2001.
<https://books.google.com.mx/books?id=glU2AQAACAAJ&dq=bioquímica+de+harper+14+edicion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwidgf7395zeAhVj2oMKHSjiAMsQ6AEIJzAA>. Accessed October 23, 2018.

51. Velázquez de Castro Ó de H. Efecto de la Fibra en un modelo de colitis experimental en rata. Papel de los Ácidos Grasos de Cadena Corta. 2007. <https://hera.ugr.es/tesisugr/16787869.pdf>. Accessed February 7, 2019.
52. Cabezas Zábala CC, Hernández Torres BC, Vargas Zárate M. Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial Fat and oils: Effects on health and global regulation. *Rev Fac Med*. 2016;64(4):761-769. doi:10.15446/revfacmed.v64n4.53684
53. Melo Ruiz V, Cuamatzi Tapia O. *Bioquímica de Los Procesos Metabólicos*. Reverté; 2007.
54. Scacchi Bernasconi PA. *Síndrome Metabólico y Melatonina: Estudio de Dos Modelos Experimentales En Ratas - Scacchi Bernasconi, Pablo Antonio - Google Libros*. primera. (Pontificia Universidad Católica Argentina, ed.). Buenos Aires; 2012. <https://books.google.com.mx/books?id=3c8LCAAQBAJ&pg=PA25&dq=estreptozotocina&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjXhsnWs7LgAhVDs6wKHS7BA9oQ6AEIQzAG#v=onepage&q=estreptozotocina&f=false>. Accessed February 10, 2019.
55. Gabriel H, Rodríguez R, Domingo Méndez J. *Diabetes Mellitus Experimental*. México, D.F.; 1994. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol6/CVv6c12.pdf>. Accessed February 10, 2019.
56. He Y, Martinez-Fleites C, Bubb A, Gloster TM, Davies GJ. Structural insight into the mechanism of streptozotocin inhibition of O-GlcNAcase. *Carbohydr Res*. 2009;344(5):627-631. doi:10.1016/j.carres.2008.12.007
57. Wu J, Yan L-J. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2015;8:181-188. doi:10.2147/DMSO.S82272
58. Bequer L, Gómez T, Molina JL, Artiles D, Bermúdez R, Clapés S. Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomedica*. 2016;36(2):230-238. doi:10.7705/biomedica.v36i2.2686
59. Suman RK, Ray Mohanty I, Borde MK, Maheshwari U, Deshmukh YA. Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with Metabolic Syndrome in Rats. *Adv Pharmacol Sci*. 2016;2016:9463476. doi:10.1155/2016/9463476
60. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow,

and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85(2):162-169.
doi:10.1067/mpr.2001.113778

61. M. Koeppen B, A. Stanton B. *Berne y Levy. Fisiología* . 7th ed. (Elsevier, ed.). España; 2018. <https://tienda.elsevier.es/berne-y-levy-fisiologia-9788491132585.html>. Accessed April 24, 2020.
62. García Luna PP, López Gallardo G. Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutr Hosp.* 2007;22:5-13.
63. An Y, Li Y, Wang X, et al. Cordycepin reduces weight through regulating gut microbiota in high-fat diet-induced obese rats. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1). doi:10.1186/s12944-018-0910-6
64. Martínez M de los AH, Barreiro Aguilera A. *Manual Para El Análisis Bromatológico y Biológico En*. Primera. (Querétaro UA de, ed.). Querétaro, Mexico; 2000.
65. Mateos-Maces L, Chávez-Servia JL, Vera-Guzmán AM, Aquino-Bolaños EN, Alba-Jiménez JE, Villagómez-González BB. Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants.* 2020;9(6):541. doi:10.3390/antiox9060541
66. Díaz Urbina D, Escartín Pérez RE, López Alonso VE, Mancilla Díaz JM. Efectos de una dieta con alto contenido de grasas sobre patrones conductuales alimentarios. *Acta Colomb Psicol.* 2018;21(1):95-105. doi:10.14718/ACP.2018.21.1.5
67. Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, Astier J, Landrier JF, Miguel M. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients.* 2018;10(10). doi:10.3390/nu10101502
68. Humphreys A, Bravis V, Kaur A, et al. Individual and diabetes presentation characteristics associated with partial remission status in children and adults evaluated up to 12 months following diagnosis of type 1 diabetes: An ADDRESS-2 (After Diagnosis Diabetes Research Support System-2) study analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;155:107789. doi:10.1016/j.diabres.2019.107789
69. Machado S, Rocha NBR, Veras AB, Budde H, Rodriguez EM. *Temas Selectos En Neurobiología Molecular e Integrativa*. México; 2017.
70. Cossio-Bolaños M, Gómez Campos R, Vargas Vitoria R, Hochmuller Fogaça RT, Arruda M de. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutr Hosp.* 2013;28(6):2151-2156. doi:10.3305/nh.2013.28.6.6659
71. Suman RK, Mohanty IR, Borde MK, Maheshwari U, Deshmukh YA. Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with

Metabolic Syndrome in Rats. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/9463476

72. Obonyo HR, Senthemalai Selvi V. Evaluation of hydrated extract of phaseolus vulgaris L. (Bean plant) on hypoglycemia and hypolipidemic in streptozotocin-induced diabetic albino wistar rats. *Int J Res Pharm Sci.* 2019;10(4):3704-3710. doi:10.26452/ijrps.v10i4.1757
73. Ochoa Muñoz LI. *NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas Para La Producción, Cuidado y Uso de Los Animales de Laboratorio.*; 1999.
74. Do MH, Lee E, Oh MJ, Kim Y, Park HY. High-glucose or-fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change. *Nutrients.* 2018;10(6). doi:10.3390/nu10060761
75. Lim SM, Goh YM, Mohtarrudin N, Loh SP. Germinated brown rice ameliorates obesity in high-fat diet induced obese rats. *BMC Complement Altern Med.* 2016;16(1). doi:10.1186/s12906-016-1116-y
76. Cruz EMS, Morais JMB De, Rosa CVD Da, et al. Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biol Open.* 2020;9(3). doi:10.1242/bio.047282
77. Dias CCQ, Madruga MS, Pintado MME, et al. Cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.) decrease visceral fat, yet augment glucose in dyslipidemic rats. *PLoS One.* 2019;14(12). doi:10.1371/journal.pone.0225736
78. Contini M del CA, Millen N, Benmelej A, Fabro AP, Mahieu ST. Evaluación de estado nutricional y metabolismo hepático en ratas macho expuestas crónicamente a la ingesta de glutamato monosódico. *FABICIB.* 2018;21:38-54. doi:10.14409/fabicib.v21i0.6337
79. Suman RK, Mohanty IR, Borde MK, Maheshwari U, Deshmukh YA. Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with Metabolic Syndrome in Rats. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016. doi:10.1155/2016/9463476
80. Rosales Ricardo Y. Antropometría en el diagnóstico de pacientes obesos; una revisión. *Nutr Hosp.* 2012;27(6):1803-1809. doi:10.3305/nh.2012.27.6.6044
81. Liu XJ, Duan NN, Liu C, Niu C, Liu XP, Wu J. Characterization of a murine nonalcoholic steatohepatitis model induced by high fat high calorie diet plus fructose and glucose in drinking water. *Lab Invest.* 2018;98(9):1184-1199. doi:10.1038/s41374-018-0074-z
82. Hwang JH, Choi CS. Use of in vivo Magnetic resonance spectroscopy for studying metabolic diseases. *Exp Mol Med.* 2015;47(2):e139-e139. doi:10.1038/emm.2014.101

83. Cho HR, Lee Y, Doble P, et al. Magnetic resonance imaging of the pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats: Gadofluorine P and Gd-DOTA. *World J Gastroenterol.* 2015;21(19):5831-5842. doi:10.3748/wjg.v21.i19.5831
84. Cremonini E, Daveri E, Mastaloudis A, et al. Anthocyanins protect the gastrointestinal tract from high fat diet-induced alterations in redox signaling, barrier integrity and dysbiosis. *Redox Biol.* 2019;26:101269. doi:10.1016/j.redox.2019.101269
85. Zhou D, Pan Q, Xin F-Z, et al. Sodium butyrate attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice by improving gut microbiota and gastrointestinal barrier. *World J Gastroenterol.* 2017;23(1):60. doi:10.3748/wjg.v23.i1.60
86. Holscher HD. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes.* 2017;8(2):172-184. doi:10.1080/19490976.2017.1290756
87. Almuaigel MF, Seif MA, Albuali HW, Alharbi O, Alhawash A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of aqueous extract of phaseolus vulgaris pods in streptozotocin-diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2017;94:742-746. doi:10.1016/J.BIOPHA.2017.07.135
88. Martinez Zavala M, Mora Avilés MA, Anaya Loyola MA, et al. Common Bean Leaves as a Source of Dietary Iron. *Plant Foods Hum Nutr.* 2016:1-6.
89. Becerril Campos AA, Ahumada Solórzano SM. Dieta obesogénica y estreptozotocina: un modelo in vivo de diabetes tipo 2. *NTHE.* 2018;20:33-38.