



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS
DEL CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)**

**EL CONSUMO DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.) Y SUS
EFECTOS SOBRE EL ALMACENAMIENTO DE GRASA Y
RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO DE OBESIDAD**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta:

I.B.Q Ericka Alejandra de los Ríos Arellano

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Santiago de Querétaro, Querétaro a 25 de Noviembre de 2011



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República
(PROPAC)

EL CONSUMO DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.) Y SUS EFECTOS SOBRE EL ALMACENAMIENTO DE GRASA Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO DE OBESIDAD

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta

I.B.Q Ericka Alejandra de los Ríos Arellano

Dirigido por

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Secretario

Dr. Horacio Guzmán Maldonado
Vocal

Dr. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel
Suplente

Q.B. Magali E. Aguilar Ortiz
Director de la Facultad de Química

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro
Octubre, 2011
México

RESUMEN

La obesidad produce desordenes metabólicos entre los cuales se encuentra la resistencia a la insulina. Para controlar estas complicaciones se debe promover el consumo de alimentos que mejoren estas alteraciones. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocido, sobre el almacenamiento de grasa y desarrollo de resistencia a la insulina en un modelo de obesidad inducido por dieta. Para los experimentos *in vivo* se usaron ratas macho Sprague-Dawley, alimentadas con una dieta obesigénica (dieta OB) y suplementada con frijoles de las variedades Flor de Mayo (FMB) y Flor de Junio (FJB) al 9%; se evaluaron tanto con fines preventivos (dieta OB suplementada con frijol, tres meses) como de control (dieta OB por tres meses y posteriormente se suplementó la dieta OB con frijol durante tres meses más). Se determinó el peso corporal, glucosa sanguínea y curva de tolerancia a la glucosa (CTG). Al finalizar se cuantificaron los niveles séricos de insulina; y en tejido adiposo abdominal se determinó el tamaño de adipocitos y el contenido de triglicéridos (TAG). Respecto al peso corporal en la etapa preventiva, no se observaron cambios, sin embargo, en la etapa control hubo una reducción de hasta del 10% comparado con el control obeso ($p < 0.05$). Los grupos alimentados con frijol mostraron menor diámetro de adipocitos y contenido de TAG en tejido adiposo, en las dos etapas en estudio. Los animales del grupo FMB mostraron menores niveles de glucosa en etapa preventiva y control (13 y 15% respectivamente), y menor área bajo la curva en la CTG; así mismo, mostró protección contra el desarrollo de resistencia a la insulina. En la etapa control, los animales del grupo obeso presentaron menor concentración de insulina, debido a un incremento en el estrés oxidativo del páncreas; mientras que en los grupos alimentados con frijol los niveles de insulina se mantuvieron similares al control sano. Los resultados indican que el consumo de frijol cocido disminuye el desarrollo de obesidad y sus complicaciones tanto con fines preventivos y de control, siendo la variedad Flor de Mayo la que mostró mayor protección.

(Palabras clave: Obesidad, *Phaseolus vulgaris* L., almacenamiento de grasa, resistencia a la insulina).

SUMMARY

Obesity promotes the development of metabolic alteration like insulin resistance. To control this metabolic condition is advisable to increase of food consumption that improves these alterations. The aim of this study was to evaluate the effect of cooked common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on fat storage and development of insulin resistance in a model of diet-induced obesity. For *in vivo* experiments were used male Sprague-Dawley rats fed with an obesigenic diet (OB diet) supplemented with beans varieties Flor de Mayo (FMB) and Flor de Junio (FJB) at 9%. Both beans were tested for prevention obesity (OB diet supplemented with beans, three months) and control obesity (OB diet, three months and after OB diet supplemented with beans, three months). Body weight, blood glucose and an oral glucose tolerance test (OGTT) were determined. At the end there were measured serum levels of insulin, whereas in abdominal adipose tissue there was determined the adipocytes size and the triglycerides content (TAG). Not changes were observed in the body weight in the preventive stage, however, in the control stage there was a reduction up to 10% compared with obese controls ($p < 0.05$). The groups fed with bean had lower adipocytes sizes and TAG content in adipose tissue in both studies. FMB group showed lower levels of glucose in preventive and control stage (13 and 15% respectively), which was associated with a lower area under the curve in the OGTT; likewise, it showed protection against developing insulin resistance. In the control phase, animals in the obese group had lower insulin levels, due to an increase of oxidative stress in the pancreas, whereas in the groups fed with beans insulin levels remained similar to healthy control. Results indicate that consumption of cooked beans decreases the development of obesity and its complications, both for preventive and control purposes, and Flor de Mayo variety was the one that showed most protection.

(Keywords: Obesity, *Phaseolus vulgaris* L., fat storage, insulin resistance).

DEDICATORIAS

A mis razones para existir, a mi fuerza para luchar día con día, a mis más grandes motivos para despertarme cada mañana para seguir adelante; mis hermosos y adorados hijos, Diego Alejandro y Dafne Alejandra; gracias por estar conmigo y hacer que cada uno de mis proyectos profesionales y personales tengan una fuente de inspiración, son mi más grande orgullo y los amo con todo mi alma.

Al pilar más grande de mi vida, a esa mujer que ha estado siempre conmigo, en la buenas y en las malas, que siempre me ha dado su apoyo incondicional, su confianza, sus consejos y amistad, pero sobre todo su amor; gracias mami por ser como eres, y por amarme y enseñarme lo bella que es la vida, sin ti nada de lo que me he planteado lo hubiera podido lograr, te adoro.

A mis amigos adorados, que siempre han estado cuando más los he necesitado, gracias por brindarme su cariño y amistad, saben que son como mis hermanos y permanecerán por siempre en mi existencia.

A Tere y Faty, gracias por estar siempre conmigo, apoyarme y brindarme sabias palabras de consejo para tomar las decisiones más importantes en mi vida, y por enseñarme lo valiosa que es la amistad, además por hacerme siempre reír con sus ocurrencias, por regañarme cuando lo he necesitado pero sobre todo por darme su amistad incondicional, las quiero mucho.

A Yered, Luis y Anita por formar parte de las personas que más me han apoyado y ser piezas fundamentales en los momentos más importantes, y gracias por enseñarme a divertirme de las cosas más pesadas de la vida.

A Doña Catalina y Don Aquiles por brindarme su apoyo en los momentos más difíciles y de mi vida, y por formar parte de la familia de mis dos grandes amores, y sobre todo por amarlos tanto.

AGRADECIMIENTOS

Al H. Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de este proyecto que me permitió llevar a cabo mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, por permitirme formar parte de su alumnado y poder generar este proyecto de investigación.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, por dejarme formar parte de su equipo de trabajo y brindarme su apoyo personal y profesional que me permitió crecer como profesionista y como persona.

A mis sinodales, Dr. Ma. Guadalupe Loarca, Dr. Horacio Guzmán, Dra. Minerva Ramos y el Dr. Hebert Hernández, por sus valiosas aportaciones y observaciones para la mejora de este proyecto de investigación.

A Sara por brindarme su apoyo profesional pero sobre todo personal, así como, su amistad incondicional en la maestría, sin ti esas cuantificaciones de insulina, CRP o leptina no habrían sido las mismas, extrañaré el dedo indicador. A Quique y Alma por compartir conmigo la experiencia de la maestría y brindarme su amistad, sin ustedes los días sin mi familia hubieran sido insoportables.

A todo el personal del posgrado, por brindarnos su valioso tiempo para la realización de todos los trámites que implica la maestría y por su esfuerzo y dedicación para ser uno de los mejores posgrados en alimentos del país.

A todos mis compañeros del posgrado que compartieron conmigo un sinfín de experiencias que nos permitieron desarrollarnos como personas y futuros investigadores.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Enfermedades crónico-degenerativas	3
2.2 Obesidad como factor de riesgo	4
2.3 Obesidad en México	4
2.4 Características de la obesidad	5
2.4.1 Metabolismo de la obesidad	6
2.5 Obesidad y resistencia a la insulina	8
2.6 Obesidad e inflamación	9
2.6.1 Leptina	9
2.6.2 Adiponectina	10
2.6.3 Factor de necrosis tumoral α (TNF- α)	10
2.6.4 Proteína C reactiva (CRP)	11
2.7 Complicaciones de la obesidad	11
2.7.1 Diabetes	12
2.7.2 Enfermedades cardiovasculares	12
2.8 Prevención y control de la obesidad	13
2.9 Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	14
2.9.1 Consumo en México	14
2.9.2 Composición química	16

2.9.3 Propiedades antioxidantes y antiobesigénicas del frijol	16
III. JUSTIFICACIÓN	21
IV. HIPÓTESIS	22
V. OBJETIVOS	23
5.1 Objetivo general	23
5.2 Objetivos específicos	23
VI. METODOLOGÍA	24
6.1 Material biológico	24
6.1.1 Animales	24
6.1.2 Variedades de frijol	24
6.2 Material químico	24
6.3 Grupos experimentales	25
6.4 Dieta alta en grasa y fructosa	26
6.5 Harinas de frijol	26
6.6 Estudios <i>in vivo</i>	26
6.7 Determinaciones de parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad y sus complicaciones	27
6.8 Parámetros relacionados con el almacenamiento de grasa	27
6.8.1 Determinación del número y tamaño de adipocitos	27
6.8.2 Cuantificación de triglicéridos en tejido adiposo	28
6.9 Parámetros relacionados con alteraciones en el metabolismo de la glucosa generados por la obesidad	28
6.9.1 Cuantificación de glucosa	28
6.9.2 Curva de tolerancia a la glucosa	29
6.9.3 Determinación de insulina	29
6.9.4 Oxidación de proteínas en páncreas	29
6.10 Parámetros relacionados con alteraciones en el metabolismo de lípidos	30
6.10.1 Perfil lipídico	30
6.11 Parámetros relacionados con el desarrollo de procesos inflamatorios y oxidativos durante la obesidad	30

6.11.1 Citocinas proinflamatorias	30
6.11.2 Peroxidación lipídica en tejido adiposo	31
6.12 Caracterización de las harinas de frijol	31
6.12.1 Composición química	31
6.12.2 Cuantificación de fibra dietética total e insoluble	31
6.12.3 Cuantificación del almidón resistente	33
6.13 Cuantificación de compuestos fenólicos	33
6.13.1 Extracto metanólico	33
6.13.2 Extracto de antocianinas	34
6.13.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	34
6.13.4 Cuantificación de taninos condensados	34
6.13.5 Cuantificación de flavonoides totales	35
6.13.5 Cuantificación de antocianinas	35
6.14 Análisis estadístico	36
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
7.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido en un modelo de obesidad inducido por dieta	37
7.1.1 Efectos de las harinas de frijol común cocido sobre el peso corporal de ratas obesas	37
7.1.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el Índice de masa corporal de ratas obesas	41
7.1.3 Parámetros metabólicos relacionados con el desarrollo de obesidad	43
7.1.3.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el almacenamiento de grasa en tejido adiposo	43
7.1.4 Parámetros relacionados con la concentración de glucosa y resistencia a la insulina	48
7.1.4.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de glucosa en ayuno de ratas obesas	49
7.1.4.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre la utilización de glucosa exógena de ratas obesas	52

7.1.4.3 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de insulina y desarrollo de resistencia a la insulina de ratas obesas	56
7.1.5 Parámetros relacionados con alteraciones en el metabolismo de la lípidos	61
7.1.5.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el perfil lipídico de ratas obesas	61
7.1.6 Parámetros relacionados con el desarrollo de procesos inflamatorios y oxidativos durante la obesidad	63
7.1.6.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre la concentración del factor de necrosis tumoral α de ratas obesas	63
7.1.6.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de peroxidación lipídica en tejido adiposo de ratas obesas	66
7.2 Caracterización parcial de los compuestos antiobesigénicos e hipoglucemiantes de las harinas de frijol cocido	69
7.2.1 Composición química de la harinas de frijol cocido	69
7.2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las harinas de frijol cocido	73
VIII. CONCLUSIONES	76
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Tasa estandarizada de mortalidad por enfermedades crónico-degenerativas seleccionadas según sexo	3
2. Cambios porcentual en el patrón de compra de alimentos en México	5
3. Metabolismo de la obesidad	7
4. Consumo de frijol en México	15
5. Grupos experimentales de la etapa preventiva y control	25
6. Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	38
7. Peso corporal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	39
8. Índice de masa corporal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	41
9. Índice de masa corporal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	42
10. Tamaño de adipocitos de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	45
11. Tamaño de adipocitos de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	48
12. Niveles de glucosa en ayuno de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo	50

y Flor de Junio (etapa preventiva)	
13. Niveles de glucosa en ayuno de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	52
14. Curva de tolerancia a la glucosa de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	53
15. Curva de tolerancia a la glucosa de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	56
16. Niveles de insulina de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	57
17. Concentración del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	64
18. Concentración del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	66
19. Peroxidación lipídica del tejido adiposo abdominal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	68
20. Peroxidación lipídica del tejido adiposo abdominal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Parámetros de obesidad de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	44
2. Parámetros de obesidad de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	46
3. Niveles de insulina y oxidación de proteínas del páncreas de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	60
4. Perfil lipídico de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)	62
5. Perfil lipídico de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)	63
6. Composición química de las harinas de frijol	72
7. Concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las harinas de frijol cocido	75

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas las principales causas de mortalidad a nivel mundial son las enfermedades crónico-degenerativas. La población ha modificado sus patrones alimentarios, aumentando la tendencia hacia el consumo de las denominadas comidas rápidas por la facilidad que implica su elaboración, y las cuales se componen principalmente de grasas y carbohidratos, dentro de los cuales juegan un papel muy importante los azúcares refinados. En lo que respecta a México, en los últimos años se ha reportado un aumento en la prevalencia de obesidad en todos los sectores de la población. Siendo esta la situación que el país enfrenta, se deben buscar soluciones que estén dirigidas hacia la promoción del consumo de alimentos que forman parte de la dieta tradicional mexicana, y que han mostrados efectos benéficos a la salud desde épocas ancestrales.

La obesidad está caracterizada por una acumulación anormal o excesiva de grasa, mostrando un desequilibrio en el metabolismo del organismo a nivel bioquímico y molecular, lo cual genera una serie de complicaciones en diversos tejidos, por lo que puede llevar al desarrollo de enfermedades como la diabetes, alteraciones cardiovasculares, entre otras. La ingesta de una dieta alta en grasas y carbohidratos, como azúcares refinados, lleva al organismo a disminuir la capacidad de utilización de glucosa como fuente de energía, produce hiperinsulinemia y alteración en células β pancreáticas. Así mismo, la insulina es una hormona anabólica, por lo que favorece la acción de la enzima lipoproteína lipasa en los adipocitos, produciendo un aumento en el almacén de triglicéridos en dichas células. A su vez, el tejido adiposo es un órgano endócrino activo, que es capaz de sintetizar proteínas denominadas adipocinas y citocinas proinflamatorias; por lo que durante la obesidad, al incrementar la cantidad de tejido adiposo, la síntesis de dichas proteínas es mayor, generándose un estado de inflamación crónico de bajo grado, característico de la obesidad. Además dichas proteínas a la larga participan de manera importante en la regulación de la ingesta de alimentos así como en el desarrollo de enfermedades.

Es por esto que la estrategia contra la obesidad debe estar dirigida hacia la prevención y el control de dicha problemática, siendo el propósito principal la disminución de los problemas de salud que enfrenta en la actualidad la población mexicana.

Uno de los legados más importantes heredados de la cultura prehispánica es la dieta tradicional mexicana, la cual se componía de una serie de alimentos con notables propiedades nutraceuticas. Dentro de éstos podemos mencionar al frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), que se ha relacionado con la disminución en la ingesta alimentaria y con la capacidad para reducir la absorción de los carbohidratos de la dieta, promoviendo de esta manera la movilización de los depósitos de grasa, por lo tanto, disminuyendo el riesgo de complicaciones de la obesidad. Además, diversos estudios han comprobado el poder hipoglucemiante y antioxidante del frijol, ayudando en patologías como la diabetes y sus complicaciones.

Por lo anterior, este proyecto estuvo enfocado hacia el estudio del efecto del consumo de frijol común cocido sobre la resistencia a insulina y otras complicaciones en un modelo de obesidad inducido por dieta.

II. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades crónico-degenerativas

Las principales causas de mortalidad en México son las denominadas enfermedades crónico-degenerativas, entre las cuales se encuentran enfermedades del corazón, diabetes, y otras enfermedades crónicas del hígado. A partir del año 2007, la diabetes mellitus ha representado la principal causa de muerte en el país mientras que las enfermedades isquémicas del corazón son la segunda causa de muerte (Figura 1) (Secretaría de Salud, 2007). La obesidad es un riesgo común que comparten estas enfermedades (Córdoba-Villalobos y col., 2008).

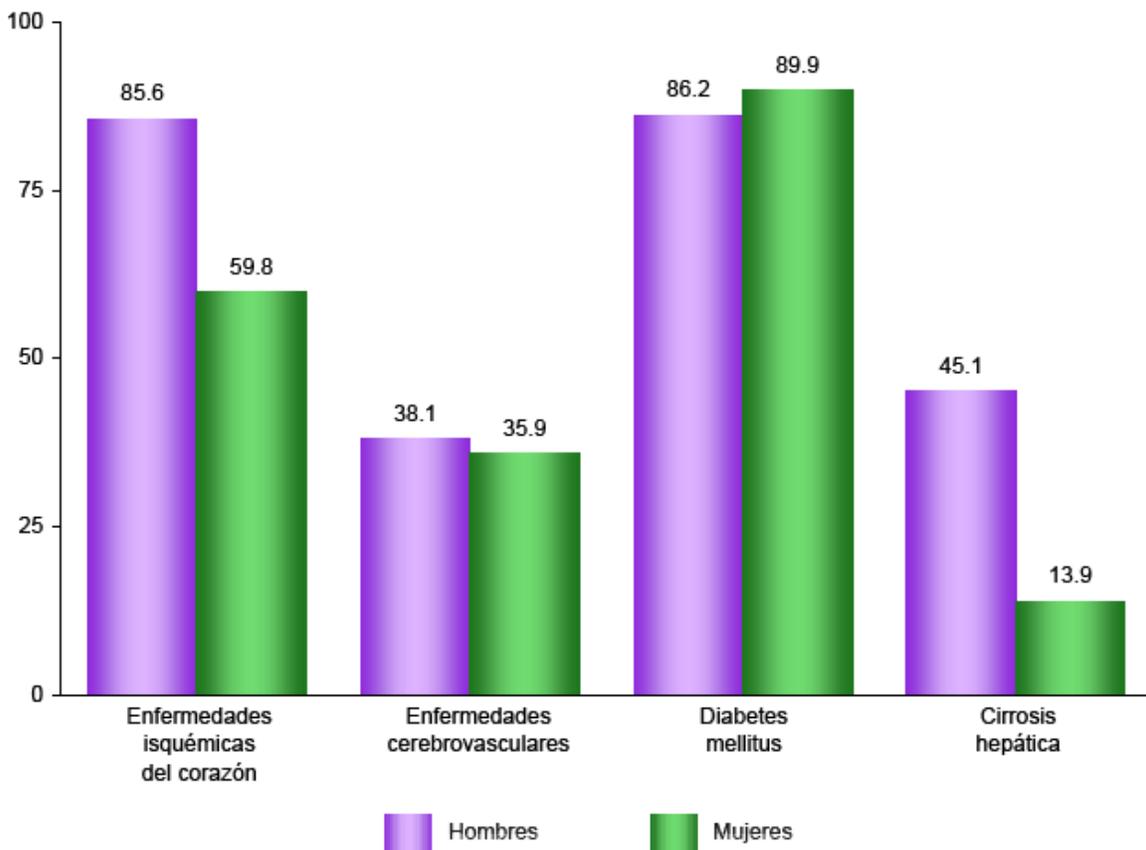


Figura 1. Tasa estandarizada de mortalidad por enfermedades crónico-degenerativas seleccionadas según el sexo (Secretaría de Salud, 2007).

2.2 Obesidad como factor de riesgo

La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa y la causa fundamental es un desequilibrio entre el ingreso y el gasto de calorías. Se han establecido algunos índices para su determinación, entre los que destacan el índice de masa corporal (IMC). Este es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el estado nutricional. El sobrepeso está definido como un IMC igual o superior a 25, y la obesidad como un IMC igual o superior a 30, aunque se ha visto que el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas en la población aumenta progresivamente a partir de un IMC de 21 (Goran and Gower, 1999; Organización Mundial de la Salud, 2006; Cañete-Estrada y Gil-Campos, 2007).

2.3 Obesidad en México

Actualmente México es el segundo país con obesidad, sólo superado por Estados Unidos. Siete de cada 10 mexicanos presentan sobrepeso u obesidad, 7.6% de la población infantil tiene sobrepeso, el 24.2% de hombres mayores de 15 años tienen obesidad y el 34.5% corresponde a mujeres obesas mayores de 15 años (Secretaría de Salud, 2006; Barquera-Cervera y col., 2010).

El factor de riesgo que más se asocia a la obesidad en niños y adultos en México es el patrón de alimentación, ya que se consumen dietas compuestas de un alto valor calórico acompañadas de una disminución de la actividad física. Principalmente ha aumentado la disponibilidad de alimentos procesados adicionados con altas cantidades de grasas, azúcar y sal, así como el consumo de comida rápida y comida preparada fuera de casa. Por otra parte, cada vez es más la exposición a publicidad sobre alimentos industrializados y productos que facilitan las tareas cotidianas, por lo que el trabajo de las personas ha disminuido y de este modo su gasto energético. Todo esto ha impactado sobre los niveles de sobrepeso y obesidad de la población (Barquera-Cervera y col., 2010). De

acuerdo con las Encuestas Nacionales de Ingreso y Gasto de los Hogares (ENIGH) durante los últimos 14 años se mostró una disminución en la compra de frutas y verduras de 29.3%, y a su vez se incrementó la compra de alimentos ricos en carbohidratos refinados y bebidas con alto aporte energético (Figura 2) (Rivera-Dommarco y col., 2002).

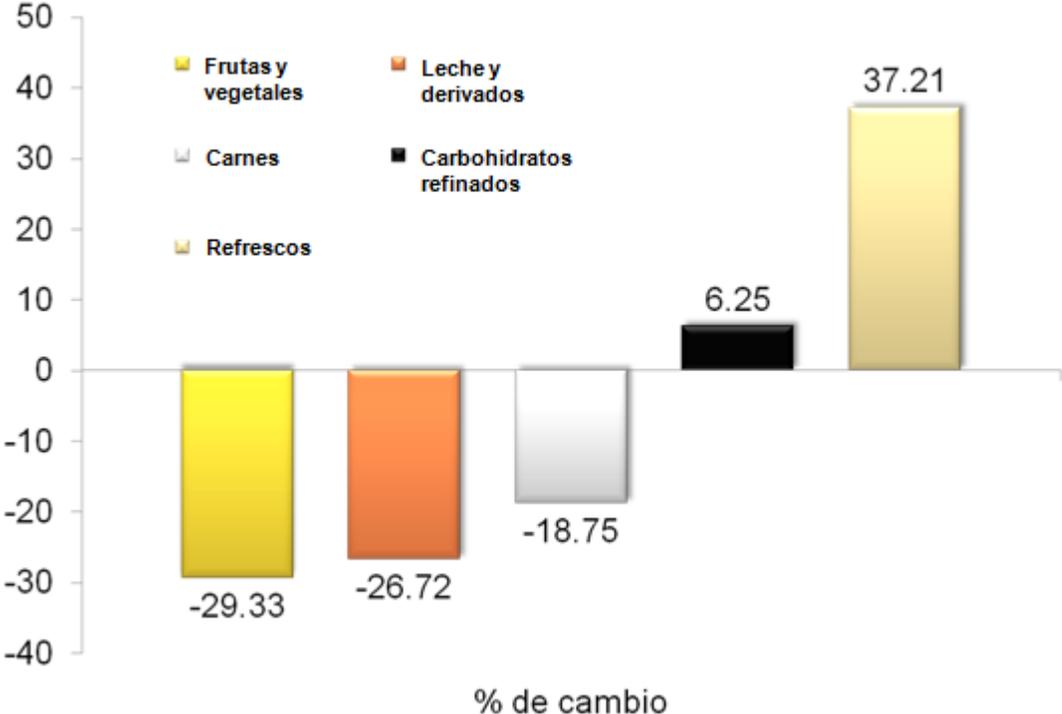


Figura 2. Cambio porcentual en el patrón de compra de alimentos en México, 2002 (Rivera-Dommarco y col., 2002).

2.4 Características de la obesidad

La obesidad se produce cuando la ingesta de energía almacenada principalmente como triglicéridos, supera el gasto energético y se caracteriza por un exceso de tejido adiposo. El almacenamiento y movilización de los depósitos de grasa, están regulados por una serie de factores, dentro de los cuales el sistema nervioso central, en específico el hipotálamo, juegan un importante papel en el mantenimiento de la homeostasis energética, controlando los centros de hambre y saciedad.

El tejido adiposo es fundamental en el desarrollo de obesidad ya que además de ser un sitio de almacenamiento, es un órgano endocrino, capaz de sintetizar varias hormonas que regulan el metabolismo. Un incremento en la masa celular grasa, característico de la obesidad, llevará a un desbalance en la liberación de dichas hormonas, así como de otras proteínas denominadas adipocitocinas. Estas son capaces de incrementar o reducir la sensibilidad a la insulina, dentro de las que podemos mencionar a leptina, adiponectina, factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), entre otras. De esta manera, el tejido adiposo es un complejo y activo órgano secretor que manda y recibe señales que modulan el gasto energético, apetito, sensibilidad a la insulina, funciones endocrinas y reproductivas, metabolismo óseo, inflamación e inmunidad (Shoelson y col., 2007; Singla y col., 2010).

2.4.1 Metabolismo de la obesidad

Al ingerir un exceso de grasas y carbohidratos, en especial carbohidratos simples y grasas saturadas, como ocurre en las dietas occidentalizadas; el organismo toma la energía que requiere para cubrir sus necesidades, y el excedente es transportado hacia el hígado, en donde es convertido en triglicéridos (TAG) y luego es empaquetado en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Posteriormente las VLDL se transportan hacia el tejido adiposo, en donde la lipoproteína lipasa (LPL) hidroliza a los triglicéridos para permitir su entrada al interior de los adipocitos. En dichas células, los ácidos grasos libres son reesterificados junto con glicerol para formar TAG, los cuales se quedarán almacenados en el tejido adiposo (Luzuriaga, 2000).

Tanto los ácidos grasos libres y carbohidratos como la fructosa, que llegan al hígado, favorecen la síntesis de TAG, así como la gluconeogénesis. La fructosa puede entrar libremente a las células, mediante el transportador GLUT-5, el cual no es dependiente de insulina. Además al ser absorbida se transporta por el epitelio intestinal hacia el hígado, donde es fosforilada mediante la

Conforme avanza el proceso de obesidad, comienza a haber resistencia a la insulina. Esta condición genera que LPL disminuya su actividad, mientras que la actividad de la lipasa sensible a la hormona (LSH) aumenta, por lo que comienzan a ser liberados TAG de los adipocitos. Además la síntesis de TAG en el hígado se ve incrementada, lo que genera que los niveles de dichas moléculas se vean aumentados en sangre. Considerando que además la expresión de los transportadores de glucosa dependientes de insulina GLUT-4, se ve disminuida en adipocitos durante la obesidad, finalmente el proceso lleva a alteraciones en la utilización de glucosa por los tejidos, lo que dará lugar posteriormente al desarrollo de hiperglicemia, hiperlipemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (Eckardt y col., 2008; Singla y col., 2010).

2.5 Obesidad y resistencia a la insulina

En condiciones normales, las células β pancreáticas son las encargadas de sintetizar insulina, hormona principal en la regulación de los niveles de glucosa. Las funciones de la insulina son estimular la ingesta de glucosa y triglicéridos en músculo y tejido adiposo, inhibir la producción de glucosa en hígado (gluconeogénesis) y la lipólisis, y promueve la síntesis de glucógeno y lípidos. Además la insulina activa la LPL e inhibe LSH, enzimas importantes para el almacenamiento y movilización de triglicéridos en los adipocitos y estimula la expresión de enzimas lipogénicas, como acetil-CoA-carboxilasa (ACC) y ácido graso sintasa (FAS) (Singla y col., 2010).

Los efectos metabólicos de la insulina están mediados por una serie de reacciones que componen una compleja cascada de señalización. En personas sanas, la insulina se une a su receptor (IR) en la membrana celular, este receptor se autofosforila en residuos de tirosina (Tyr), para desencadenar una serie de señales relacionadas con la traslocación de los transportadores de glucosa (GLUT-4) a la membrana. Esto da como resultado el permitir la entrada de glucosa a la célula (Eckel y Grundy, 2006).

2.6 Obesidad e inflamación

Las proteínas sintetizadas por el tejido adiposo, han sido definidas como adipocinas y se les ha implicado en la patogénesis del estado de inflamación de bajo grado crónico en la obesidad. Durante el proceso de inflamación en los adipocitos, se presentan diversos mecanismos con el propósito de actuar en respuesta al proceso necrótico que ocurre en dicho tejido como lo es la infiltración de macrófagos. Al ser activado este proceso se favorece la secreción de citocinas proinflamatorias como (TNF- α , IL-6 e IL-1). Así mismo, la obesidad está asociada con niveles circulantes elevados de moléculas de naturaleza inflamatoria como el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), proteína C reactiva (CRP), y proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1). A su vez durante la obesidad hay reducción en la sensibilidad a la leptina y una disminución en producción de adiponectina, siendo éstas dos adipocinas importantes en la regulación de la ingesta y mejora de la sensibilidad a la insulina (Bastarrachea y col., 2007; Gómez y col., 2009; Engstrom y col., 2010).

2.6.1 Leptina

Es una proteína sintetizada por el tejido adiposo blanco. En varios tejidos se expresan los receptores de dicha proteína; los adipocitos han sido identificados como sitio primario para su expresión. Su función principal la realiza proporcionando una señal de saciedad sobre sus receptores en el sistema nervioso central dentro del hipotálamo; y la activación de sus receptores suprime la ingesta de alimentos y promueven el gasto energético (Blanco-Quirós, 2007).

La síntesis de leptina es proporcional a la cantidad de masa grasa; es por esto que durante la obesidad sus niveles se ven incrementados, pero el problema radica en que se genera resistencia a la leptina, por lo tanto, no hay un control de la ingesta y el gasto energético (Almanza-Pérez y col., 2008; Bonet y col., 2009).

Adicionalmente la leptina tiene un papel importante dentro del mantenimiento del estado de inflamación de bajo grado crónico, característico de la obesidad, ya que al ser de naturaleza proinflamatoria, incrementa la liberación de citocinas como TNF- α e IL-6, favorece la infiltración de macrófagos, e incrementa el estrés oxidativo (Blanco-Quirós, 2007).

2.6.2 Adiponectina

Es una adipocitocina presente dentro de las células y en la circulación. Sus funciones metabólicas son mejorar la sensibilidad a la insulina y suprimir la entrada de ácidos grasos al hígado, además de mejorar la utilización de glucosa por el hígado y músculo e incrementar la oxidación de ácidos grasos (Blanco-Quirós, 2007).

Teniendo en cuenta que la adiponectina es antiinflamatoria, esta tiene un papel muy importante en el establecimiento del estado de inflamación durante la obesidad, ya que se ha observado que sus niveles disminuyen, lo cual se ha relacionado con desarrollo de resistencia a la insulina; además de que se incrementa la síntesis de citocinas proinflamatorias y disminuye la producción de citocinas antiinflamatorias como IL-10. Se le ha relacionado con efectos vasculoprotectores, por lo que durante la obesidad, al estar reducida su producción, el riesgo cardiovascular incrementa (Blanco-Quirós, 2007; Bonet y col., 2009).

2.6.3 Factor de necrosis tumoral (TNF- α)

Es una citocina producida en varias células, pero es sintetizada principalmente por macrófagos. El tejido adiposo es una importante fuente de TNF- α endógena y su expresión y producción está elevada en la obesidad. Sus funciones son reducir la expresión de genes involucrados en la acción de la insulina, incluyendo el transportador de glucosa GLUT4, el receptor de insulina

(IR) y el sustrato del receptor de insulina (IRS-1), inhibir la autofosforilación y actividad del receptor de insulina así como la actividad del IRS-1, inhibir factores de transcripción necesarios para la diferenciación adipocitaria, lipogénesis y la sensibilidad a la insulina en los adipocitos y estimular la lipólisis basal en adipocitos, al suprimir la expresión de la perilipina, por lo que se le ha relacionado con la obesidad, diabetes y el gasto energético (Bonet y col., 2009). Además estimula a las células endoteliales y a los macrófagos para secretar citocinas (IL-1, IL-6 y TNF- α) y quimiocinas (Blanco-Quirós, 2007; Jiménez-Martínez y Chávez-Sánchez, 2010).

2.6.4 Proteína C reactiva (CRP)

Es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular y su expresión está regulada por citocinas como la IL-6, IL-1 y TNF- α . En procesos inflamatorios, como la obesidad, en la cual se incrementan las concentraciones de citocinas proinflamatorias, en especial IL-6 mandan la señal al hígado para que aumente la síntesis de CRP, lo cual a su vez lleva a incrementar la expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1 (Molécula de adhesión intercelular), VCAM-1 (Molécula de adhesión vascular), así como algunas otras moléculas que favorecerán el reclutamiento y adhesión de monocitos a la intima del subendotelio vascular y del tejido adiposo, como las proteínas quimioatrayentes de monocitos, lo cual llevará a una disfunción del endotelio por la formación de lesiones vasculares que son la base del desarrollo de la aterosclerosis (Rodríguez-López y col., 2004; Maiz, 2005; Amezcua-Guerra y col., 2007).

2.7 Complicaciones de la obesidad

Las principales complicaciones de la obesidad, a menudo hacen referencia al síndrome metabólico, que se caracteriza de resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, y posterior desarrollo de diabetes tipo II, además de dislipidemia, hipertensión y enfermedades cardiovasculares. La obesidad

abdominal es importante, ya que provoca acumulación ectópica de lípidos, esteatosis hepática, que pueden generar complicaciones metabólicas características de la obesidad (Jiménez-Martínez y Chávez-Sánchez, 2010; Singla y col., 2010).

La adiposidad visceral correlaciona positivamente con incremento en el riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes, esto se ha atribuido a que tiene acceso directo a la circulación portal, por lo que tiene impacto directo sobre hígado (Shoelson y col., 2007).

2.7.1 Diabetes

La diabetes es una enfermedad que se caracteriza por altos niveles de glucosa sanguínea, resultante de defectos en producción de insulina, su acción, o ambos. Hay dos tipos de diabetes, la tipo I se da cuando el sistema inmune del organismo destruye a las células β pancreáticas del organismo, dando lugar a una disminución en la producción de insulina. La diabetes tipo II, comienza con resistencia a la insulina, por lo que las células no usan correctamente a la insulina y por lo tanto la glucosa no puede ser utilizada por los tejidos dependientes de insulina; 90% de los casos de diabetes en el mundo le corresponden a la tipo II (Shoelson y col., 2007).

En todas las edades, el riesgo de padecer diabetes tipo II es mayor conforme se incrementa el peso corporal. La prevalencia de este tipo de diabetes es de 3 a 7 veces mayor en personas obesas, y es 20 veces más en personas con índices de masa corporal por arriba de 35 kg/m^2 (Thévenod y col., 2008).

2.7.2 Enfermedades cardiovasculares

La obesidad es considerada uno de los factores de riesgo cardiovascular más importantes a nivel mundial, y se incrementa por la coexistencia de otros

factores como dislipidemia, hipertensión, resistencia a la insulina y diabetes; los cuales a su vez están íntimamente ligados con un exceso de tejido adiposo y a su distribución corporal, ya que la grasa visceral, se correlaciona mejor con el riesgo de cardiopatía isquémica. El incremento de las LDL pequeñas y densas, el descenso de HDL, y la hipertrigliciremia, durante la obesidad, crean las condiciones metabólicas generales apropiadas para el desarrollo del proceso aterógeno. La prevalencia de hipertensión arterial en obesos puede llegar a ser del 25-50%, y se incrementa si además se acompaña de diabetes (Krauss y col., 1998).

La obesidad genera cambios en la estructura y función renal; dando lugar a disfunción renal, caracterizada por incremento de la reabsorción tubular de sodio, lo cual juega un papel importante en el aumento de la presión sanguínea. La vasodilatación renal, hiperfiltración glomerular y el incremento de la presión arterial son compensaciones que ayudan a mantener el balance de sodio en la obesidad; sin embargo a la larga se genera glomerulosclerosis y pérdida de la función de las nefronas (Krauss y col., 1998).

2.8 Prevención y control de obesidad

El tratamiento contra la obesidad está enfocado hacia la prevención en etapas tempranas de la vida. Se ha observado que es más fácil promover la adquisición de hábitos alimentarios y estilos de vida más saludables durante la infancia, que modificar hábitos ya estructurados y establecidos en la etapa adulta. Es por eso que las estrategias preventivas deben de realizarse desde la niñez, buscando fomentar hábitos alimentarios saludables y actividad física (Barquera-Cervera y col., 2010).

En la población adulta se busca lograr cambios en los patrones de alimentación y estilos de vida que permitan la prevención de enfermedades crónicas, la reducción de la prevalencia de sobrepeso y obesidad, y la disminución

de mortalidad cardiovascular y por diabetes tipo 2; esto con el propósito de detener y desacelerar el avance en la prevalencia de sobrepeso y obesidad (Barquera-Cervera y col., 2010).

2.9 Frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los cultivos más antiguos, ya que su consumo data desde tiempos prehispánicos. Se encuentra dentro de las leguminosas más utilizadas para el consumo humano en el mundo. Junto con el maíz, es uno de los legados más importantes para toda América, ya que el frijol se complementa perfectamente con el maíz, de esta manera los aminoácidos que no se encuentran en el frijol se encuentran en el maíz y viceversa, brindando una alimentación balanceada a quien lo consume. La producción total de esta leguminosa, supera los 23 millones de toneladas métricas, de los cuales, 7 millones se generan en Latinoamérica y África (Broughton y col., 2003).

El frijol pertenece a la familia de las leguminosas o fabáceas. Hay 70 variedades de frijol que se distribuyen en 7 grupos: negros, amarillos, blancos, morados, bayos, pintos, moteados (Financiera Rural, 2009). En la actualidad las variedades más distribuidas comercialmente son los frijoles bayos, pintos y negros (Broughton y col., 2003).

2.9.1 Consumo en México

El consumo actual promedio en México de frijol es de 11 a 12 kg por persona por año, y se registró una disminución del 6.4% al pasar de 1.07 millones de toneladas en 2007 a 1 millón de toneladas (Figura 4) (Financiera Rural, 2009).



Figura 4. Consumo del frijol en México (Financiera Rural, 2009).

Existen hábitos preferenciales en el consumo del frijol en México, las principales características que utilizan los consumidores para definir sus preferencias se basan en el tiempo de cocción y sabor, además del color, tamaño y brillantez.

Por la preferencia del consumidor el frijol se clasifica en muy preferente dentro de la que se encuentran el Azufrado, Mayocoba, Negro Jamapa (mezcla de variedades negras), Peruano, Flor de Mayo y Flor de Junio; preferentes son las variedades Garbancillo, Manzano, Negro San Luis, Negro Querétaro y Pinto, y por último los no preferentes que son Alubia Blanca, Bayo Blanco, Negro Zacatecas, Ojo de Cabra y Bayo Berrendo. En el noroeste del país se consumen las variedades azufradas, que se cultivan principalmente en Sinaloa; en el noreste las que mayor demanda tienen son los frijoles pintos o bayos; mientras que en la zona sur se consumen más las variedades negras, las cuales se cultivan principalmente en Nayarit y Zacatecas; y en el centro se consumen todas las clases comerciales, destacando Flor de Mayo y Flor de Junio (Castellano y col., 2007; Financiera Rural, 2009).

El 2% de la producción nacional y un volumen no determinado de frijol importado se transforma en productos muy diversos, tales como frijol cocido embolsado, frijol enlatado, deshidratado, alimentos colados y combinados con otros productos (Acosta-Gallegos y Pérez-Herrera, 2010).

2.9.2 Composición química

Los carbohidratos se encuentran presentes en un 52.4% de peso seco, por lo que son la parte principal del frijol; y se componen principalmente de carbohidratos complejos, almidón y fibra dietética, y de oligosacáridos como, rafinosa, estaquiosa y verbascosa. Su proporción es significativamente menor y son los causantes de las flatulencias. Además es una fuente importante de proteínas, conteniendo entre 16 y 33 % (Guzmán-Maldonado and Paredes-López, 1998; Iniestra-González y col., 2005).

El frijol aporta 134.4%, 19.1% y 15.9% de las cantidades diarias recomendadas de ácido fólico, hierro y zinc respectivamente. Por otro parte contienen una serie de compuestos conocidos como factores antinutricios, entre los que destacan los fitatos, oxalatos, entre otros, los cuales reducen el valor nutricional de la semilla, sin embargo esta capacidad inhibitoria se reduce significativamente con los procesos térmicos culinarios (Serrano y Goñi, 2004).

2.9.3 Propiedades antioxidantes y antiobesigénicas del frijol

El frijol contiene un grupo de sustancias bioactivas, entre las que se encuentran inhibidores de enzimas, carbohidratos complejos, oligosacáridos y compuestos fenólicos que actúan metabólicamente en humanos y animales que los consumen frecuentemente. Estos efectos pueden considerarse como positivos, negativos o ambos. Algunas de estas sustancias han sido consideradas como factores antinutricios debido a su efecto en la calidad de la dieta. Los inhibidores de enzimas pueden disminuir la digestibilidad de las proteínas, pero disminuye su

efecto después de la cocción. Algunos compuestos fenólicos pueden reducir la digestibilidad de las proteínas y la biodisponibilidad de minerales, y los galactooligosacáridos pueden ocasionar flatulencias. Sin embargo, algunos de los factores antinutricios son los que han demostrado tener efectos benéficos a la salud (Díaz-Batalla y col., 2006; Reyes-Rivas y col., 2008).

Una de las propiedades nutraceuticas del frijol se enfoca en el poder que tiene para disminuir o incluso prevenir la obesidad. Dentro de los componentes que contribuyen a que este efecto tanto en frijol crudo como cocido, son los carbohidratos no digeribles y de digestión lenta, como el almidón resistente, la fibra y oligosacáridos; los inhibidores de amilasas, las fitohemagluteninas, y los taninos (Serrano y Goñi, 2004).

Inhibidores de amilasas. Se ha comprobado que pueden reducir la digestibilidad del almidón, y por lo tanto reducir los niveles de glucosa sanguínea, por lo que el consumo de frijol, reduce los niveles de glucosa plasmática post-prandial, insulina, péptido C y péptido inhibidor gástrico, lo que sugiere que podría ser utilizado con propósitos terapéuticos en diabetes y control de obesidad (Serrano y Goñi, 2004).

Dentro de los inhibidores de amilasas, al que mayor beneficio se le ha atribuido es en específico a la isoforma 1 (α -AI1), la cual se ha extraído y usado en una diversidad de productos comerciales con la referencia de ser anti-obesidad y anti-diabetes por medio del bloqueo de la digestión del almidón. Los bloqueadores de la digestión del almidón son compuestos que tienen la capacidad de interferir con la hidrólisis de carbohidratos complejos provocando una reducción de la digestibilidad o prolongación del tiempo de digestión. Debido a esto la energía derivada de dichos carbohidratos se reduce y se disminuye la cantidad de glucosa en sangre. El mecanismo mediante el cual el inhibidor de α -amilasa ejerce su acción es bloqueando completamente el sitio activo de la enzima, mediante su

unión a dicha enzima, generando una serie de cambios estructurales que afectarán la conformación del sitio activo de la enzima (Obiro y col., 2008).

Dentro de los efectos benéficos que se han reportado para el inhibidor α -amilasa del frijol, es la disminución de la obesidad, lo cual se deriva de la movilización de las reservas de grasa del cuerpo debido a la restricción de energía como resultado de la acción inhibitoria que ejerce sobre las amilasas pancreáticas. Varios estudios han mostrado una reducción en la grasa corporal de ratas debido al consumo de extractos crudos de frijol. Así mismo, se ha reportado que la incorporación del inhibidor de α -amilasa a la dieta, ha permitido una reducción en los niveles de glucosa postprandial, por lo que el total de energía en forma de glucosa obtenida a partir de la dieta es por tanto reducida, incrementándose la movilización de la grasa corporal. En estudios con humanos se han observado cambios en el peso corporal, contenido del tejido adiposo, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera, circunferencia del muslo derecho y masa grasa (Celleno y col., 2007; Obiro y col., 2008).

Carbohidratos no digeribles. Dentro de estos se encuentra el almidón resistente, el cual representa la mayor cantidad de almidón del frijol, también los polisacáridos de la fracción de fibra dietética y oligosacáridos no digeribles forman parte de los carbohidratos que resisten la acción de la α -amilasa y alcanzan el intestino grueso donde pueden ser fermentados por las bacterias colónicas (Serrano y Goñi, 2004). Estos carbohidratos no afectan directamente la respuesta glicémica, pero tienen la capacidad de modular la composición de la microbiota colónica y los efectos fisiológicos de los productos finales de la fermentación anaerobia. La acción potencial contra la obesidad que ejercen estos componentes del frijol se basa en su capacidad de disminuir la absorción en el intestino. Uno de los mecanismos es la resistencia a la acción de enzimas intestinales, mientras que el otro mecanismo es su acción como agentes secuestrantes de otros componentes de la dieta. De esta manera, se disminuye la degradación de carbohidratos y grasas de la dieta, además se controlan los niveles de glucosa y

ácidos grasos en el organismo, lo que ocasiona que la síntesis de insulina disminuya.

Así mismo, el consumo de frijol como fuente de fibra, produce una mayor saciedad, esto debido a que se estimula la secreción de colecistocinina, que está relacionada con un retardo en el vaciamiento gástrico, lo que produce una mayor sensación de plenitud intestinal, y lo cual lleva a una disminución en la ingesta alimentaria, además se ha relacionado con reducciones en los niveles plasmáticos de glucosa e insulina en pacientes diabéticos (Obiro y col., 2008).

Compuestos fenólicos. Dentro de los compuestos fenólicos del frijol se pueden mencionar flavonoides como daidzeina, genisteina, kaempferol, y quercetina; ácidos fenólicos como ácido gálico, catequina, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido *p*-cumárico, y ácido ferúlico, así como, antocianinas. Estos compuestos han mostrado tener propiedades antioxidantes; sin embargo, de acuerdo a las condiciones edafoclimáticas y época del año en las que se cultive el frijol, serán factores determinantes en la calidad nutracéutica de dicha leguminosa. Dentro de las variedades que se consumen en México y presentan mayor capacidad antioxidante se encuentran Flor de Mayo M38 y Negro Durango (Iniestra-González y col., 2005).

También se ha reportado que las variedades agrupadas por color de testa con mayor concentración de factores antinutricios son las de tipo negro y bayos; mientras que los pintos tienen buena capacidad antioxidante y pocos factores antinutricios; por lo que se ha reportado que dentro de las variedades estudiadas, las de Flor de Mayo, negro y pinto son una fuente importante de antioxidantes y por lo tanto podrían disminuir enfermedades en las cuales la presencia de oxidación por radicales libres este presente, como obesidad, diabetes, cáncer, entre otras (Serrano y Goñi, 2004; Díaz-Batalla y col., 2006).

El mecanismo de acción de estos compuestos se basa en su potencial como compuestos antioxidantes, logrando disminuir el estrés oxidativo en el organismo, lo cual puede crear una protección en diferentes tejidos que están sometidos a un proceso de oxidación durante la obesidad, como las células β pancreáticas, tejido adiposo, renal, muscular, entre otros (Díaz-Batalla y col., 2006).

Se ha reportado que los compuestos fenólicos activan al receptor activado por proliferador de peroxisomas γ (PPAR γ), el cual está implicado en la inhibición de las cinasas de I κ B, esto disminuye la traslocación del factor de transcripción NF κ B hacia el núcleo, y por lo tanto la expresión de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión en tejidos como el riñón y el endotelio, disminuyendo por lo tanto el riesgo de desarrollar placa aterosclerótica y daño renal (Zeng y col., 2011).

La obesidad y la diabetes son enfermedades directamente relacionadas con la dieta, sin embargo, algunos alimentos como el frijol, ofrecen efectos benéficos potenciales en contra de los daños que ocasionan las enfermedades crónico-degenerativas, de una manera económica y de fácil acceso para toda la población, por lo tanto, se requiere generar información que respalde sus propiedades como alimento funcional.

III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas es la obesidad, la cual representa uno de los problemas de salud pública más importantes para los países de primer mundo y en vías de desarrollo. La obesidad está caracterizada por una acumulación excesiva de tejido graso en el organismo, generando una serie de trastornos metabólicos como hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, resistencia a la leptina, entre otros, que a largo plazo desencadenaran el desarrollo de patologías del tipo crónico-degenerativo. Por lo que la prevención y control de la obesidad deben estar enfocados hacia la modificación de los patrones alimentarios y el estilo de vida de la población, las cuales son las principales causas del incremento de la prevalencia de sobrepeso y obesidad. Es por esto que se debe promover y fomentar el consumo de alimentos de origen natural y que han demostrado tener compuestos funcionales, capaces de ejercer efectos benéficos sobre la salud, con el propósito principal de prevenir o reducir la progresión de los daños generados por las enfermedades.

Dentro de estos alimentos con potencial nutracéutico se encuentra el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), el cual a través de diversas investigaciones ha comprobado tener un efecto hipoglucemiante y antioxidante. Además, el frijol crudo se ha relacionado con la disminución en la ingesta de alimentos (efecto anorexigénico) y reducción en la absorción de carbohidratos de la dieta (efecto antiobesigénico), dos efectos fundamentales para la prevención y control de la obesidad. Por lo que se sugiere que el consumo de frijol cocido tradicionalmente podría tener efectos benéficos para proteger contra el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones.

IV. HIPÓTESIS

Debido a las propiedades antiobesigénicas, antioxidantes y antiinflamatorias, el consumo de frijol común cocido disminuye los depósitos de grasa en tejido adiposo y por lo tanto la resistencia a la insulina en animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo de frijol común cocido (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el almacenamiento de grasa y resistencia a la insulina en un modelo de obesidad inducido por dieta.

5.2 Objetivos específicos

- 1.-Determinar el efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el peso corporal de ratas obesas.
- 2.-Evaluar el almacenamiento de grasa en tejido adiposo visceral de animales obesos alimentados con frijol común cocido.
- 3.-Examinar la capacidad del frijol cocido para regular la resistencia a la insulina y su relación con estados inflamatorios.
- 4.-Caracterizar parcialmente los compuestos antiobesigénicos e hipoglucemiantes de las harinas de frijol común cocido.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Material biológico

6.1.1 Animales

Se emplearon 48 ratas Sprague-Dawley machos, de 7 semanas de edad, entre 180–220 g de peso corporal, los cuales se adquirieron del bioterio de RISMART.

6.1.2 Frijol

Se usaron 2 variedades de frijol, Flor de mayo FMB08030 (FMB) y Flor de Junio FJB08058 (FJB), cosecha 2009; las cuales fueron proporcionadas por el campo experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Bajío, en Celaya, Gto.

6.2 Material químico

- Tiras reactivas para la determinación de glucosa en sangre, marca ACCUTREND®.
- Kits para la determinación de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL en suero, marca Randox Laboratories (Antrim, Reino Unido).
- Kit de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la determinación de insulina y CRP, marca Millipore (Massachusetts, Estados Unidos de América).
- Kits de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la determinación de TNF- α , AdipoQ y Leptina marca Invitrogen (California, Estados Unidos de América).

6.3 Grupos experimentales

Las 48 ratas se dividieron aleatoriamente en 6 grupos durante 6 meses del experimento. Los primeros 3 meses formaron parte de la etapa de prevención en donde se les dio una dieta alta en grasa saturada y fructosa (dieta OB) junto con la adición del frijol en dicha dieta al 9% (preventiva), esto con el fin de observar el efecto del frijol sobre la prevención en el desarrollo de obesidad. Mientras que a otro grupo de ratas se les indujo obesidad durante 3 meses mediante dieta OB, para posteriormente adicionar el frijol al 9% durante 3 meses más (control). La cantidad de frijol adicionada en las dietas fue para simular el consumo en algunas zonas rurales del estado de Querétaro (Figura 5).

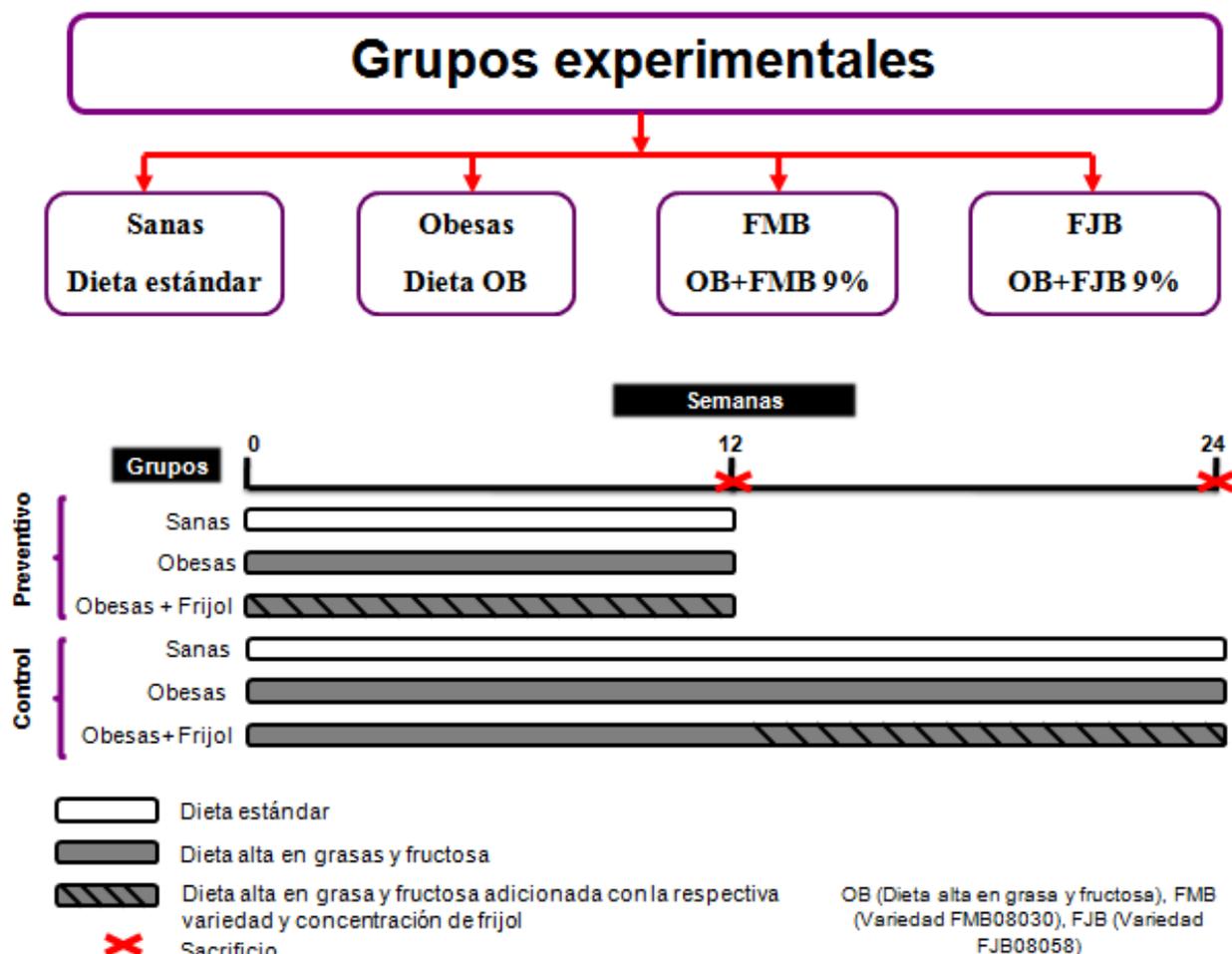


Figura 5. Grupos experimentales de la etapa preventiva y control.

6.4 Dieta alta en grasa y fructosa

Para la inducción de obesidad a las ratas se les proporcionó una dieta alta en grasa saturada y fructosa (dieta OB) compuesta por 18.25% de proteínas, 47% de carbohidratos (23% fructosa) y 34.75% (8% grasa saturada) de lípidos.

6.5 Harinas de frijol

Las 2 variedades de frijol, FMB08030 y FJB08058, se sometieron a un proceso de cocción en una relación 1:1.6 p/v de frijol con agua potable a una temperatura de $96 \pm 2^\circ\text{C}$, hasta obtener un producto homogéneamente cocido. Posteriormente, se trituraron y molieron con su caldo de cocción para después liofilizarse por un periodo de 5 días, para obtener una harina uniforme y completamente seca. Las harinas liofilizadas se almacenaron protegiéndolas de la luz hasta su uso. Se adicionaron en la dieta OB que se les dio a los animales, y además para la caracterización de los compuestos funcionales del frijol.

6.6 Estudios *in vivo*

Las ratas se colocaron en jaulas individuales, sometiéndolas a un periodo de adaptación de una semana en el que se les proporcionó el alimento comercial Zeigler (NIH-31 Mouse/Rat Sterilizable Diet) y se les mantuvo a 25°C , bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas con acceso libre al alimento y agua, durante todo el experimento. Después de la semana de adaptación, se formaron los grupos experimentales aleatoriamente, para posteriormente alimentar al control obeso y los grupos tratados con frijol con la dieta alta en grasa saturada y fructosa (dieta OB) para la inducción de obesidad, mientras que el control sano siguió con el alimento comercial durante todo el experimento.

6.7 Determinaciones de parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad y sus complicaciones

En cuanto a parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad se cuantificó diariamente la ingesta de alimento. Quincenalmente, se midió el peso corporal, el índice de masa corporal y el índice de obesidad. Respecto a las complicaciones de la obesidad, se cuantificaron los niveles de glucosa en ayuno cada mes mediante muestras de sangre obtenidas de la vena caudal de las ratas, con 8 horas de ayuno.

Al finalizar cada etapa, los animales se sometieron a un ayuno y se recolectaron muestras de orina de 12 h, posteriormente se anestesiaron colocándolos en una cámara con éter etílico, para tomarles una muestra de sangre por punción cardíaca, la cual se centrifugó para la obtención de suero, el cual se congeló y almacensó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para las determinaciones bioquímicas. Finalmente, las ratas se sacrificaron, se extrajo el páncreas y el tejido adiposo, los cuales se congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -70°C para los análisis correspondientes.

6.8 Parámetros relacionados con el almacenamiento de grasa

6.8.1 Determinación del número y tamaño de adipocitos

Se utilizó el tejido adiposo epididimal, el cual se fijó en una solución amortiguadora de fosfatos-formalina al 10% durante 24 h, y luego se incluyeron en parafina. Se cortaron secciones de $5\text{ }\mu\text{m}$ de grosor y se tiñeron con hematoxilina y eosina para su análisis al microscopio. Para determinar cuantitativamente el número y tamaño de los adipocitos, las secciones teñidas se observaron con un microscopio de fluorescencia, para posteriormente analizarlas mediante el sistema de imagen (Image Pro-Plus).

6.8.2 Cuantificación de triglicéridos en tejido adiposo

Los triglicéridos se cuantificaron de acuerdo a la metodología de Folch y col. (1957).

Para la preparación de la muestra se utilizaron 500 mg de tejido adiposo y se homogenizaron con la mezcla de solventes cloroformo:metanol (2:1). Posteriormente, la muestra se filtró y se adicionó un quinto del volumen de la fase superior de solvente puro con CaCl_2 , se homogenizó y se lavó con un pequeño volumen de la fase inferior de solvente puro, después se dejó reposar hasta la separación de dos fases. Después, la fase superior fue removida y descartada utilizando una pipeta pasteur, se realizaron 3 lavados de la fase inferior, utilizando la fase superior de solvente puro. Finalmente, a la fase inferior se le adicionó metanol, se homogenizó y luego se le agregó cloroformo.

Por último se realizó la determinación de triglicéridos mediante kit enzimático de la marca Randox (Antrim, Reino Unido).

6.9 Parámetros relacionados con alteraciones del metabolismo de la glucosa generados por la obesidad

6.9.1 Cuantificación de glucosa

Para la cuantificación de los niveles de glucosa sanguíneos, se empleó un glucómetro de la marca ROCHE, para lo cual se utilizaron tiras reactivas de la marca Accutrend. El fundamento del glucómetro consiste en la medición del poder reductor generado por la enzima glucosa deshidrogenasa, al metabolizar la glucosa a gluconolactona indicando la concentración en mg/dL.

6.9.2 Curva de tolerancia a la glucosa

A los animales en ayuno se les administró vía intragástrica una solución de glucosa (4 g/kg de peso corporal), y se obtuvieron las muestras de sangre de la vena caudal de las ratas a los tiempos 0, 30, 60, 90 y 120 minutos, cuantificando la glucosa empleando tiras reactivas de la marca Accutrend.

6.9.3 Determinación de Insulina

La determinación de insulina se realizó en las muestras de suero utilizando un kit basado en el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

6.9.4 Oxidación de proteínas en páncreas

Para realizar la determinación de oxidación de proteínas en páncreas se realizó una extracción de proteínas del tejido a analizar.

Se tomaron 500 μL de proteínas de páncreas y se añadieron 100 μL de solución amortiguadora de fosfatos y 200 μL de 2-4 dinitrofenilhidrazina 10 mM. Se agitaron e incubaron a 37°C por 1 h. Después se adicionaron 325 μL de ácido tricloroacético al 50% y se incubaron a 4°C por 10 min. Al término de la incubación se centrifugaron a 5000 x g por 10 min, se desechó el sobrenadante, el precipitado se lavó 4 veces con la mezcla etanol-acetato de etilo (1:1), entre cada lavado se centrifugaron a 13000 x g por 4 min. En el último lavado se retiró el sobrenadante y se dejó evaporar el solvente. Posteriormente, se resuspendió el precipitado en 1 mL de solución de guanidina 6 M, se agitó y se incubó a 37°C por 15 min. Después de la incubación se centrifugaron a 12000 x g durante 10 min a 4°C, se tomó el sobrenadante y se midió la absorbancia a 375 nm. Los valores se presentaron como restos de carbonilo/ μg de proteína.

6.10 Parámetros relacionados con alteraciones en el metabolismo de lípidos

6.10.1 Perfil lipídico

En el suero sanguíneo, se cuantificaron los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL, mediante kits enzimáticos (Randox).

Para el cálculo de las concentraciones de los lípidos a analizar se empleó la siguiente fórmula (en cada una de las determinaciones se debe hacer un patrón que contenga los reactivos indicados por el kit):

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del patrón}} \times \text{Concentración del patrón} = \text{Concentración en la muestra}$$

La concentración se expresó en mg/dL de muestra. Para el cálculo de LDL en mg/dL se emplea la siguiente fórmula, conociendo las concentraciones de colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos:

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol total} - \frac{\text{Triglicéridos}}{5} - \text{Colesterol HDL}$$

6.11 Parámetros relacionados con el desarrollo de procesos inflamatorios y oxidativos durante la obesidad

6.11.1 Citocinas proinflamatorias

Se cuantificó la concentración de citocinas como TNF- α , IL-6 y adiponectina mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). La concentración de TNF- α y leptina se expresaron en pg/mL, mientras que adiponectina se expresó en ng/mL.

6.11.2 Peroxidación lipídica en tejido adiposo

Se empleó tejido adiposo de la zona abdominal para la determinación de peroxidación lipídica. Se pesaron 0.75 g de tejido adiposo y se pulverizó con nitrógeno líquido y se adicionaron 2.5 mL de hidroxitolueno butilado (BHT) al 0.8%. Posteriormente, se añadieron 4 mL de ácido tricloroacético (ATC) al 5% y se homogenizaron en el polytron por 40 segundos, separando la fase de hexano, mientras que la fase acuosa se filtró. Después se ajustó a un volumen final de 5 mL con TCA al 5%; se tomaron 2 alícuotas de 1.5 mL y a cada una se le adicionó 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0.8%. Se incubaron a 70°C en un baño de agua con ligera agitación durante 30 min; posteriormente se colocaron en un baño de hielo por 7 min. Finalmente se midió la absorbancia a 521 nm. Los resultados se presentaron como nmol de MDA/mg de tejido.

6.12 Caracterización de las harinas de frijol

6.12.1 Composición química

El contenido de proteína total se determinó de acuerdo a la técnica descrita por Villegas y Mertz (1971) por el método Micro-Kjeldahl de la AOAC (1965).

El contenido de grasa, también llamado extracto etéreo, se determinó de acuerdo al método 920.39 descrito por la AOAC (1990).

El contenido de cenizas se determinó de acuerdo al método 923.03 descrito por la AOAC (1990).

6.12.2 Cuantificación de la fibra dietética total e insoluble

Para la determinación del contenido de fibra dietética total (soluble e insoluble) e insoluble del frijol, se empleó el método enzimático-gravimétrico

descrito por Prosky y col. (1988). Se pesaron 1 g de las harinas de frijol cocido previamente desgrasadas por duplicado. Se adicionaron 50 mL de solución reguladora de fosfatos 0.08 M pH 6 y 100 µL de enzima α-amilasa termoestable. Se cubrieron con aluminio y se agitaron en baño maría a 95°C durante 15 min. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y luego se adicionaron 10 mL de NaOH 0.275N, y ajustando el pH a 7.5. Posteriormente, se adicionaron 100 µL de una solución de proteasa (50 mg/mL) preparada con solución de fosfatos. Las muestras se cubrieron con aluminio y se agitaron en baño maría a 60°C durante 30 min. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se adicionaron 10 mL de HCl 0.325 M y se ajustó el pH a 4-4.6. Después se adicionaron 100 µL de amilogucosidasa, se cubrieron con papel aluminio y se colocaron en un baño maría con agitación a 60°C durante 30 min. Posteriormente se adicionaron 4 volúmenes de etanol al 95%, se cubrieron y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 24 h. Posteriormente se centrifugaron a 3000 x g por 10 min, el precipitado obtenido se congeló para liofilizarlo. Se registró el peso de los precipitados liofilizados, y se determinó el contenido de proteína y ceniza de los mismos.

Para la fibra insoluble se realizó el mismo procedimiento realizado para la fibra dietética total, con la diferencia de que después del tratamiento enzimático a las muestras no se les adicionó etanol, inmediatamente fueron centrifugadas.

El % de fibra dietética total y % de fibra soluble se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Fibra} = \left[\left((R_1 + R_2) / 2 \right) - \text{proteína} - \text{ceniza} \right] \times 100$$

Donde:

R₁= peso del precipitado de la réplica 1 (g).

R₂= peso del precipitado de la réplica 2 (g).

Proteína= Contenido de proteína total (g).

Ceniza= Contenido de ceniza total (g).

6.12.3 Cuantificación del almidón resistente

Esta determinación se realizó de acuerdo a la técnica establecida por Saura-Calixto y col. (1993), para lo cual se pesó 0.1 g de fibra insoluble obtenida de la determinación de fibra insoluble. Posteriormente se adicionaron 6 mL de KOH 2M y se agitó por 30 min a temperatura ambiente. Después se añadieron 3 mL de acetato de sodio 0.4M y se ajustó el pH a 4.75 con HCl 2N. Se adicionaron 60 µL de la enzima amiloglucosidasa, y se incubó a 60°C durante 30 min con agitación continua. Posteriormente se dejaron enfriar y se centrifugaron durante 15 min a 3000 x g. Se desechó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en 10 mL de agua destilada. Se centrifugaron 15 min a 3000 x g, se desechó el sobrenadante y se filtró el precipitado en papeles filtro previamente tarados. El % de almidón resistente se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Almidón resistente} = [(P_2 - P_1) \times 1000 \times 55] / 100$$

Donde:

P₁= peso del papel filtro con el precipitado (g).

P₂= peso del papel filtro (g).

6.13 Cuantificación de compuestos fenólicos

6.13.1 Extracto metanólico

Para la cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos condensados y capacidad antioxidante en las harinas de frijol crudo y en las harinas de frijol cocido liofilizadas se realizó una extracción de dichos componentes, para lo cual a un gramo de harina de frijol liofilizada se le adicionó 10 mL de metanol, protegiendo de la luz y agitándose durante 24 h, después se centrifugaron a 5000 x g por 10 min a temperatura ambiente, para obtener el sobrenadante al que se denominó extracto de frijol.

6.13.2 Extracto de antocianinas

Para la obtención del extracto de antocianinas, a 0.5 g de harina de cada variedad de frijol se le adicionó 4 mL de etanol acidificado (85 mL de etanol al 95 % + 15 mL de HCl 1.0 N); se protegió de la luz y se mezcló durante 2 min, después se ajustó el pH a 1.0 con HCl. Posteriormente se agitó durante 30 min protegido de la luz, para después centrifugar 10 000 x g por 20 min a temperatura ambiente, y por último se obtuvo el sobrenadante.

6.13.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Se determinó por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999), el cual se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos por el reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de ácido fosfotungstico y ácido fosfomolibdico) que al reducirse da una mezcla de óxidos azules de tungsteno y de molibdeno. La coloración azul producida absorbe a 760 nm. Para la cuantificación de fenoles totales, se tomó una alícuota de 40 µL del sobrenadante del extracto de frijol y se llevó a un volumen final de 500 µL, posteriormente se mezcló con 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1N) y después se adicionaron 1250 µL de Na₂CO₃ (20%) y se dejó reposar en la obscuridad por 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro. La cuantificación se realizó por interpolación de los resultados en una curva estándar de ácido gálico (0 a 20 µg), y se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de harina (mg equivalentes AG/g de harina).

6.13.4 Cuantificación de taninos condensados

La cuantificación de taninos se realizó de acuerdo al método de la vainillina, descrito por Deshpande y Cheryan (1987), adaptado para el uso de microplaca. A 50 µL del sobrenadante obtenido del extracto metanólico de frijol se

le agregaron 200 μL de una solución (1:1) recién preparada de vainillina al 1% en metanol y HCl 8%. Posteriormente, se preparó un blanco al cual se le adicionaron 50 μL de metanol y 200 μL de HCl al 4%. Para cuantificar los taninos condensados se determinó la absorbancia a 492 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó una curva estándar de (+)catequina (0-0.8 mg/ml) y los resultados obtenidos se expresaron como mg equivalentes de (+)catequina/g de harina.

6.13.5 Cuantificación de flavonoides totales

La determinación de flavonoides se realizó por la metodología descrita por Siddhuraju y Becker (2003). Para llevar a cabo la cuantificación se tomaron 50 μL del extracto metanólico de frijol y se le adicionaron 180 μL de metanol, posteriormente se adicionaron 20 μL de una solución de 2-aminoetil-difenilborato al 1% y se procedió a leer la absorbancia a 404 nm en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de rutina/g de harina.

6.13.6 Cuantificación de antocianinas

La determinación de antocianinas totales se realizó siguiendo el método de Abdel-Aal y Hucl (1999) con modificaciones de Rivera-López (1998). El sobrenadante del extracto de antocianinas del frijol se llevó a un volumen de 10 mL en un matraz aforado usando etanol acidificado. Posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 535 nm. El valor de la absorbancia obtenido se sustituyó en la siguiente fórmula:

$$C = (A/\epsilon) \times (V/1000) \times PM \times (1/\text{g de muestra}) \times 10^6$$

Donde:

C = concentración de antocianinas totales (mg/kg)

A = absorbancia a 535 nm

ϵ = coeficiente de absorción molar de cianidina 3-O-glucósido ($25\,965\text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$),

V = volumen total del extracto de antocianinas (mL)

PM = Peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449 g/mol),

Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/kg de muestra.

6.14 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media \pm el error estándar (EE) de cada factor en los grupos experimentales y para el análisis estadístico de los datos se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con el fin de determinar los factores estadísticamente significativos, además, se realizó un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey, mientras que para el estudio *in vivo* se empleó la prueba de Dunnett, así mismo se realizó la prueba de correlación de Pearson para los parámetros de interés. Estos análisis se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico JMP versión 5.0.1.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido en un modelo de obesidad inducido por dieta

7.1.1 Efectos de las harinas de frijol común cocido sobre el peso corporal de ratas obesas

Los modelos de obesidad inducidos por dieta asemejan la etiología de la obesidad que ocurre en las sociedades modernas (Tschöp and Heiman, 2001). Estos modelos se caracterizan por incrementar el peso corporal, grado de obesidad, niveles de leptina, insulina, triglicéridos, citocinas proinflamatorias, disminución de la sensibilidad a la insulina, entre otros parámetros; es por esto que asemejan en gran medida lo que ocurre en la obesidad humana (López y col., 2003).

En este proyecto se utilizó una dieta obesigénica compuesta principalmente por grasa saturada y fructosa (Dieta OB) para la inducción de obesidad. En la primera fase, dicha dieta fue proporcionada de manera conjunta con el frijol durante 12 semanas, a este diseño se le denominó etapa preventiva. En la segunda fase, se administró la dieta OB durante 12 semanas y posteriormente se continuó el experimento con la misma dieta pero adicionada con frijol durante 12 semanas más, a ésta se le asignó el nombre de etapa control.

Al existir un desequilibrio entre la ingesta alimentaria y el gasto energético, los nutrientes que se encuentran en exceso son almacenados en tejido adiposo, dando lugar al desarrollo de obesidad (Eckel y Grundy, 2006). En la Figura 6 se puede observar el comportamiento del peso corporal durante la etapa experimental preventiva, todos los animales comenzaron con peso corporal de $264.3 \pm 13.1\text{g}$, el incremento en dicho parámetro fue paulatino y gradual para todos los grupos durante las semanas de evaluación. Sin embargo, al finalizar el

control sano obtuvo menor ganancia de peso corporal en comparación con el grupo de animales obesos, los cuales presentaron un 10% de ganancia de peso corporal.

Algunos autores han reportado que el consumo de dietas altas en grasa incrementa el peso corporal entre 10-20% en comparación con animales alimentados con dieta estándar (Buettner y col., 2007), por lo que el incremento obtenido en dicho parámetro los animales sometidos a la dieta OB, mostró concordancia con los valores reportados por otros autores.

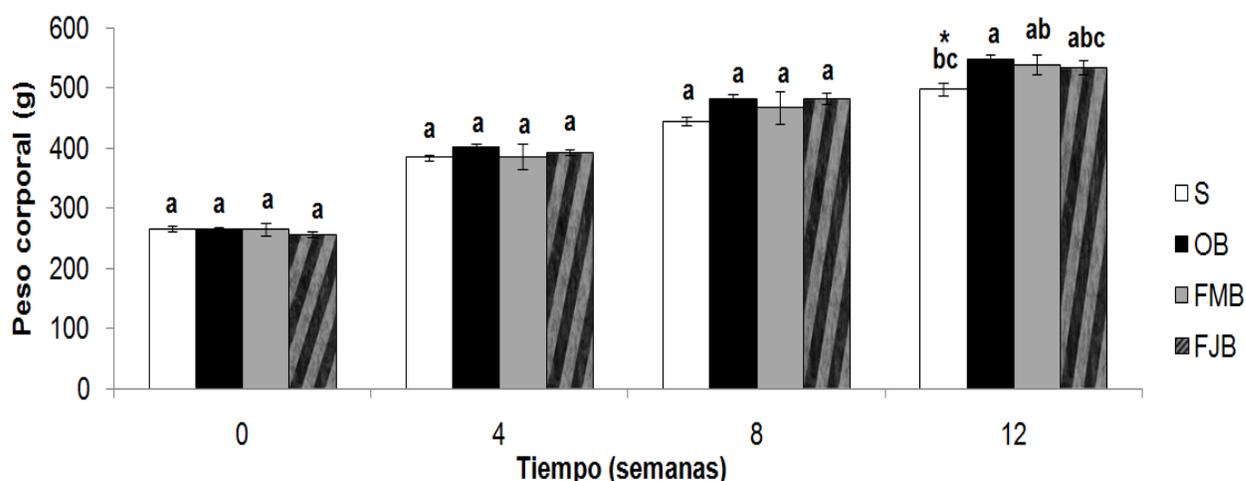


Figura 6. Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

En cuanto a los grupos tratados con frijol, no se observó una disminución de peso corporal, lo cual permite establecer que bajo las condiciones experimentales del modelo de obesidad empleado en este trabajo, el frijol adicionado al 9% no ejerce efectos sobre la reducción de peso corporal con fines preventivos; esto sugiere que el efecto del frijol sobre el desarrollo de obesidad, es

gradual, por lo que el tiempo de duración de la etapa preventiva, no fue el suficiente para observar efectos sobre el peso corporal. Así mismo, el grado de obesidad obtenido en la etapa preventiva, no fue el suficiente para tener una patología más acentuada en los animales, por lo que los efectos del frijol no pudieron ser observados.

La segunda etapa planteada (Figura 7) en este trabajo, tuvo como objetivo la inducción de obesidad en un grado más avanzado. Al inicio de la segunda etapa, los animales que formarían parte del control obeso y de los grupos alimentados con frijol presentaron un ligero incremento de peso corporal (8%) en comparación con los animales sano. Este aumento fue debido a que fueron alimentados durante 12 semanas con la dieta OB. Aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, si permitió observar el inicio del desarrollo de obesidad.

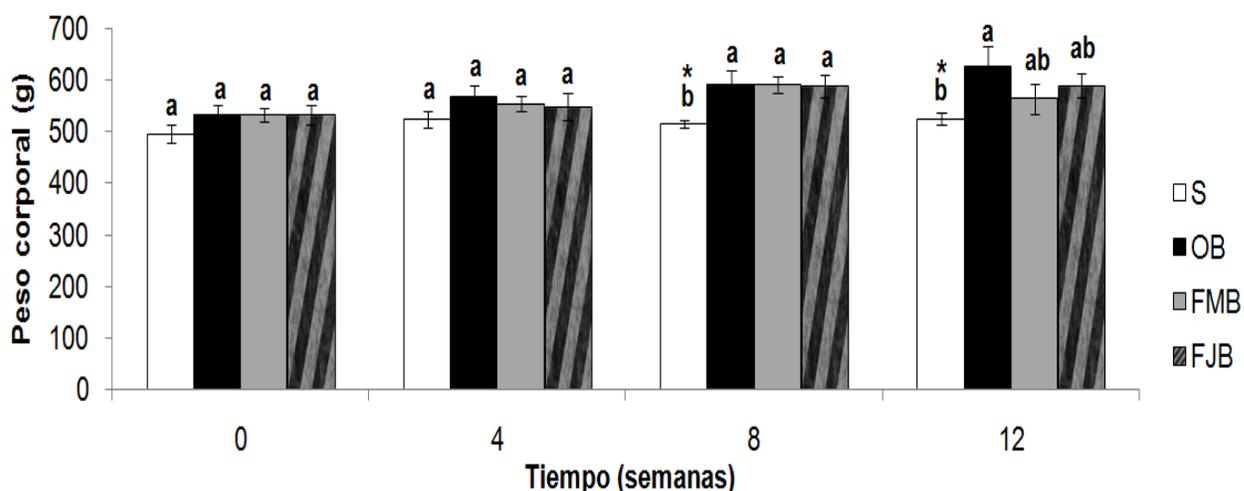


Figura 7. Peso corporal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Al finalizar la etapa control (semana 12), el grupo de animales obesos mostró hasta un 16% más de peso corporal en comparación con el control sano. Buettner y col. (2007) reportaron una ganancia entre 10 y 20% de peso corporal en modelos de obesidad inducidos por dieta, clasificando este incremento como parte de un grado de obesidad más avanzado.

Los grupos tratados con frijol presentaron un comportamiento similar al obeso hasta la semana 8; sin embargo, se puede observar que aunque fueron estadísticamente iguales a los dos controles al finalizar el experimento, estos grupos presentaron menor ganancia de peso corporal (6-11%) en comparación con el control obeso. Por lo tanto una vez establecida la obesidad en los animales, el frijol adicionado al 9% ejerce efectos sobre una menor ganancia de peso corporal.

Estos resultados permiten establecer que el consumo de frijol cocido de manera tradicional a una concentración del 9% disminuye de manera paulatina y gradual la ganancia de peso cuando la obesidad ya está presente.

Los resultados obtenidos sobre el desarrollo de obesidad en etapa control, demuestran el efecto antiobesógeno del frijol cocido, en donde dicha disminución se atribuye a los carbohidratos no digeribles y de digestión lenta, como el almidón resistente, fibra dietética y oligosacáridos, así como a los compuestos fenólicos (Serrano y Goñi, 2004; Celleno y col., 2007; Obiro y col., 2008).

A estos fitoquímicos se les ha propuesto como responsables en la disminución de la absorción de carbohidratos y grasas de la dieta, además de favorecer la secreción de adrenalina, la cual activa a la lipasa sensible a la hormona para la hidrólisis de los triglicéridos almacenados en tejido adiposo, promoviendo por lo tanto la disminución de los depósitos de grasa (Hendrick y col., 1992).

Sin embargo, estos efectos se pudieron observar una vez que la obesidad se desarrolló en los animales de la etapa control; esto concuerda con lo observado en algunos estudios en ratas diabéticas y sanas (Tormo, 2004; Ambriz, 2006), donde observaron que al administrar el frijol, los efectos nutraceuticos, se presentan una vez que la enfermedad se ha desarrollado.

7.1.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el Índice de masa corporal de ratas obesas

El índice de masa corporal (IMC) es un valor que relaciona el peso y talla para clasificar el sobrepeso y obesidad. El aumento del IMC se correlaciona directamente con el incremento en el riesgo de enfermedades del tipo crónico degenerativas, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, entre otras; además el grado de adiposidad es proporcional a dicho índice (OMS, 2011).

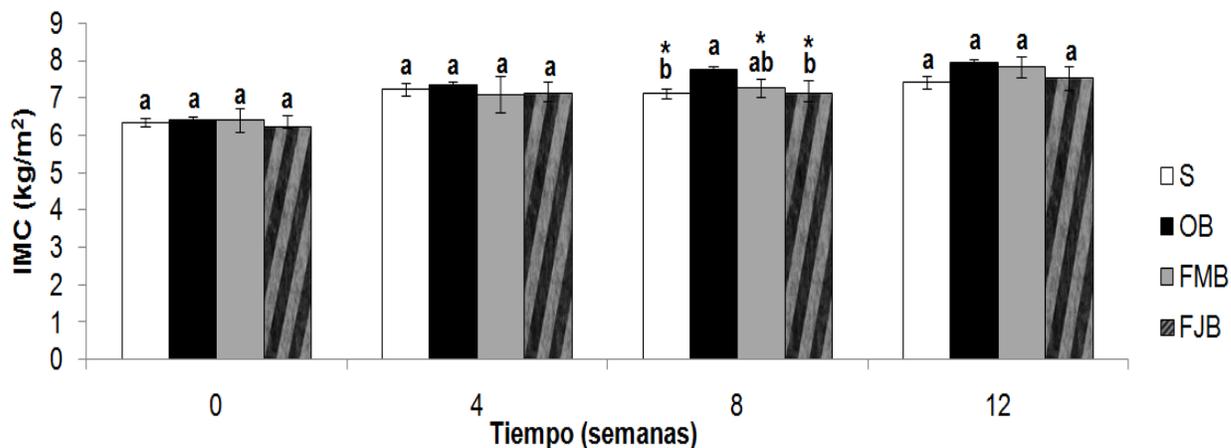


Figura 8. Índice de masa corporal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

La tendencia del índice de masa corporal (Figura 8) fue similar a lo observado en el peso corporal durante la etapa preventiva. En la semana 8, el grupo de animales obesos muestra un IMC más elevado en comparación con el control sano. Sin embargo, al finalizar el IMC fue similar para todos los grupos, incluyendo a los animales alimentados con frijol; este comportamiento se presentó debido a que los animales del control obeso incrementaron su talla en proporción con su peso, lo cual hizo que su IMC disminuyera.

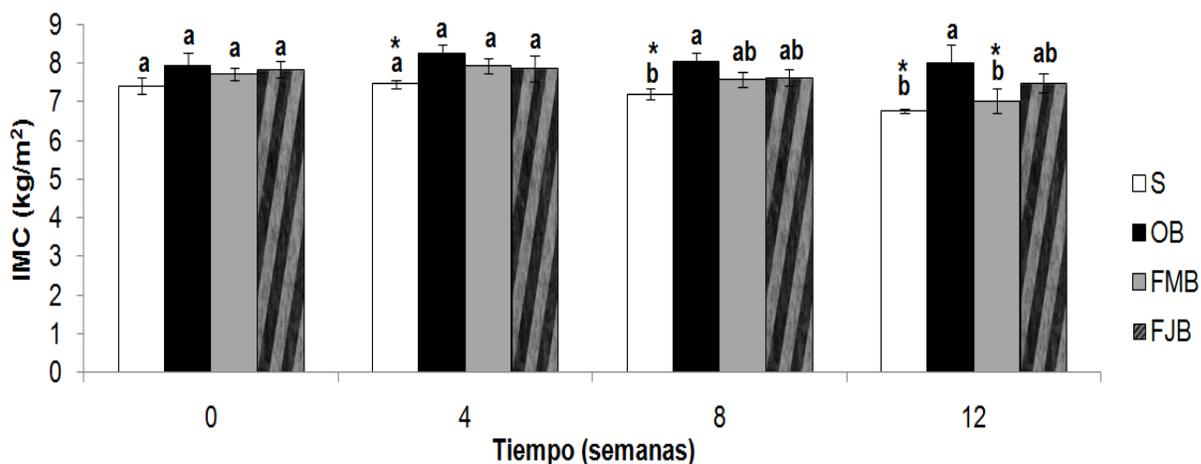


Figura 9. Índice de masa corporal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Durante la etapa experimental con fines de control, se puede observar que aunque no fue estadísticamente diferente, los animales del control obeso y los grupos tratados con frijol presentaron IMC más elevado (4.03-6.87%) respecto al control sano (Figura 9). Esto se debió a que estos grupos tenían 12 semanas de alimentación con la dieta alta en grasa saturada y fructosa para la obtención de obesidad. Sin embargo, al finalizar el estudio, los animales obesos tratados con frijol tuvieron 6-12% menos IMC en comparación con el control obeso. Estos

resultados permiten establecer que el consumo de frijol cocido ejerce efectos sobre el control del desarrollo de la obesidad.

En base a los resultados mostrados anteriormente, respecto al peso e IMC de las dos etapas experimentales fue importante establecer la relación del peso corporal con el almacenamiento de grasa en tejido adiposo de la zona abdominal, así como, su asociación con las complicaciones propias de la obesidad.

7.1.3 Parámetros metabólicos relacionados con el desarrollo de obesidad

7.1.3.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre el almacenamiento de grasa en tejido adiposo

La obesidad se caracteriza por mayor almacenamiento de triglicéridos en el tejido adiposo, por lo tanto aumenta el tamaño de los adipocitos, esto a su vez genera modificaciones en la síntesis de adipocinas como leptina y adiponectina, propiciando un estado inflamatorio crónico de bajo grado (Singla y col., 2010).

El tejido adiposo se constituye por los adipocitos y tejido intercelular; el tamaño de los adipocitos varía de 10 a 100 μm , dependiendo del estado nutricional, ya que los adipocitos cuentan con dos características muy importantes que los hacen cambiar de tamaño (hipertrofia) o aumentar su cantidad (hiperplasia), aunque este último proceso generalmente se presenta cuando el grado de obesidad es muy severo (Barreto y col., 2001).

Los adipocitos son células esféricas en las que el espacio intercelular está ocupado por una vacuola llena de triglicéridos, cada célula es capaz de almacenar hasta 1.2 μg de triglicéridos, aunque en personas sanas el contenido de triglicéridos es de 0.4-0.6 μg /adipocito. En la obesidad, los adipocitos son capaces

de aumentar hasta 40 veces su tamaño, al almacenar mayor cantidad de triglicéridos en su interior (Rovira, 2011).

El tejido adiposo de la zona visceral juega un papel muy importante en el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones; como ya se mencionó, este tejido es capaz de secretar una serie de proteínas como la leptina y adiponectina (Després y col., 2008).

Cuadro 1. Parámetros de obesidad de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Grupos	Diámetro ¹	Área ²	TAG ³	Leptina ⁴	AdipoQ ⁵
S	23.4 ± 0.6 ^{b*}	430.7 ± 10.5 ^{b*}	450.3 ± 100.1 ^{b*}	1187 ± 61 ^a	14.3 ± 1.3 ^{ab}
OB	31.9 ± 0.6 ^a	798.8 ± 13.1 ^a	904.5 ± 99.2 ^a	2147 ± 520 ^a	10.3 ± 0.4 ^{ab}
FMB	21.1 ± 1.5 ^{b*}	349.4 ± 25.2 ^{b*}	737.5 ± 89.2 ^{ab}	1758 ± 173 ^a	8.2 ± 0.6 ^b
FJB	22.2 ± 0.4 ^{b*}	386.2 ± 6.9 ^{b*}	1097.4 ± 163.9 ^a	2931 ± 290 ^a	16.8 ± 2.4 ^{a*}

Los valores se presentan como media de los valores ± E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058, TAG= Triacilglicéridos, AdipoQ= Adiponectina. Expresados en: ¹µm, ²µm², ³mg/g de tejido adiposo, ⁴pg/mL, ⁵ng/mL.

En el Cuadro 1 se muestran los valores obtenidos para parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad durante la etapa preventiva. En lo referente al tamaño de adipocitos, se observa que el control obeso presentó adipocitos de mayor tamaño, lo cual se ha relacionado con mayor almacenamiento

de triglicéridos en dicho tejido (Jeong and Yoon, 2009); en el caso de los grupos tratados con frijol mostraron hasta 34% menos diámetro y 56% menor área de adipocitos (Cuadro 1 y Figura 10).

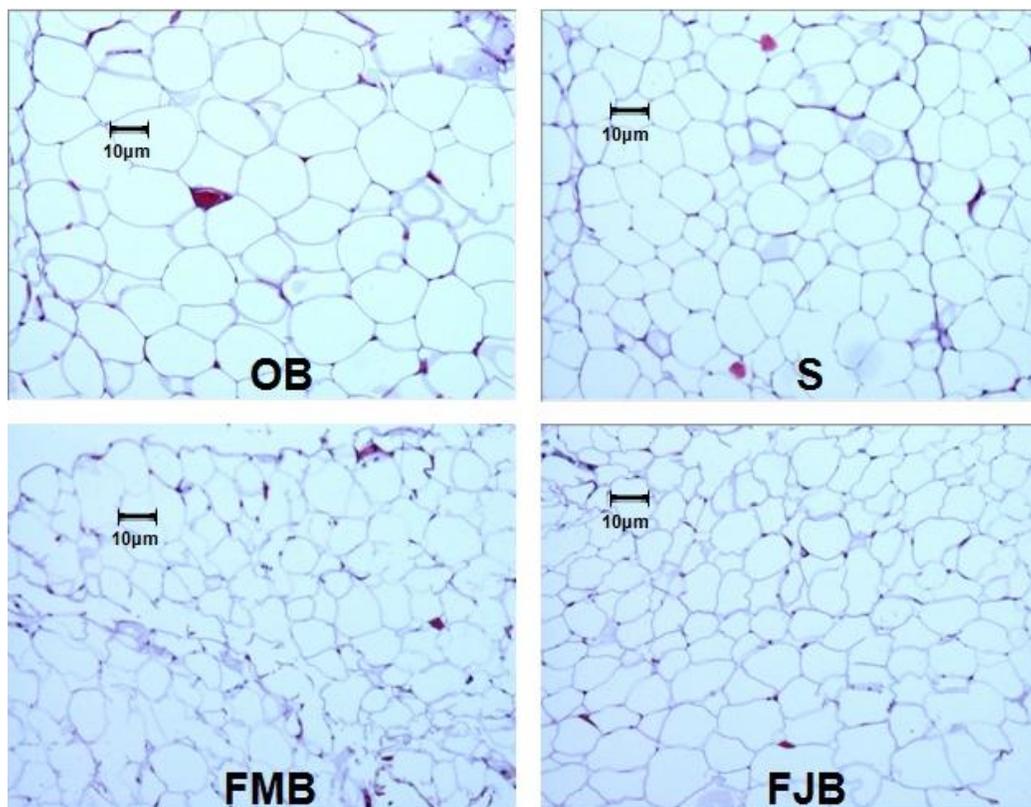


Figura 10. Tamaño de adipocitos de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Con respecto al contenido de triglicéridos (Cuadro 1), este se relacionó con el tamaño del adipocito para el control obeso ($r=0.83$, $p<0.05$); mientras que para FJB que tuvo menor diámetro y área comparado con el control obeso pero con similar concentración de triglicéridos. Esto podría sugerir que los adipocitos de los animales obesos presentan hipertrofia; mientras que, en el caso del grupo alimentado con frijol Flor de Junio, cuyos diámetros fueron menores respecto al

control obeso, sugiere que el frijol protegió a los adipocitos de este proceso, sin embargo, posiblemente pudo presentarse un mayor número de adipocitos (hiperplasia).

En el caso de la concentración de leptina, está ampliamente reportado que tiene relación directa con la cantidad de tejido adiposo (Almanza-Pérez y col., 2008). La concentración de leptina (Cuadro 1) se encontró en el intervalo normal para todos los grupos (200-30000 pg/mL); así como la concentración de adiponectina (0.375-24 ng/mL). Por lo que estos resultados sugieren que en el caso de los animales obesos, a pesar de presentar mayor peso corporal atribuible en parte al contenido de triglicéridos en tejido adiposo, el grado de alteración todavía no produce modificaciones en este tipo de proteínas y posiblemente no se presentó una inflamación sistémica.

Cuadro 2. Parámetros de obesidad de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercelórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Grupos	Diámetro ¹	Área ²	TAG ³	% G A ⁴	Leptina ⁵
S	29.1 ± 0.9 ^{b*}	668.1 ± 41.1 ^{b*}	553.1 ± 115.3 ^{b*}	1.1 ± 0.1 ^{b*}	1189 ± 231 ^b
OB	48.3 ± 3.6 ^a	1864.6 ± 56.2 ^a	1054.3 ± 150.1 ^a	1.9 ± 0.1 ^a	2727 ± 205 ^{ab}
FMB	31.5 ± 2.2 ^{b*}	785.0 ± 44.9 ^{b*}	649.2 ± 70.8 ^{b*}	1.4 ± 0.1 ^{ab}	1967 ± 326 ^b
FJB	31.8 ± 0.6 ^{b*}	793.7 ± 29.7 ^{b*}	856.6 ± 68.9 ^{ab}	1.6 ± 0.2 ^{ab}	3520 ± 562 ^a

Los valores se presentan como media de los valores ± E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso (p<0.05), analizados con la prueba de Dunnet. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058, TAG= Triacilglicéridos, % G A= % Grasa abdominal. Expresados en: ¹µm, ²µm², ³mg/g de tejido adiposo, ⁴% de peso corporal, ⁵pg/mL.

En estados de obesidad más avanzados, la acumulación de los depósitos grasos se incrementa, lo que genera la proliferación de nuevos adipocitos (hiperplasia), los cuales tendrán la capacidad de almacenar más triglicéridos, contribuyendo por lo tanto al desarrollo de obesidades más severas y potencialmente a la generación de otras alteraciones (Kauffer-Horwitz y col., 2000).

Con respecto a los parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad, durante la etapa control, los animales del control obeso mostraron mayor tamaño de adipocitos, indicado por el diámetro ($48.3 \pm 3.6 \mu\text{m}$) y área ($1864.6 \pm 56.2 \mu\text{m}^2$) (Cuadro 2 y Figura 11) en comparación con el control sano ($29.1 \pm 0.9 \mu\text{m}$ y $668.1 \pm 41.1 \mu\text{m}^2$, respectivamente). Alteraciones que a su vez se relacionan con la cantidad de triglicéridos almacenados en dicho tejido ($r=0.81$, $p<0.05$); lo que sugiere que al finalizar la etapa control se logró un grado de obesidad más significativo en comparación con la etapa preventiva.

En los resultados obtenidos para los grupos tratados con frijol, ambos obtuvieron menores dimensiones (hasta 34%) (Figura 11) en comparación con el control obeso, mientras que solo el grupo de la variedad Flor de Mayo mostró menor concentración de triglicéridos en tejido adiposo de la zona abdominal (hasta 38%).

Para corroborar los parámetros anteriormente mencionados, se cuantificó el porcentaje de grasa abdominal, siendo el control obeso, el que mostró mayor concentración de tejido adiposo en la zona abdominal, a diferencia del control sano. Mientras que los grupos tratados con frijol no mostraron ser diferentes estadísticamente a los dos controles, respecto a este parámetro.

La disminución de la adiposidad de la zona abdominal, observada principalmente en el tamaño de los adipocitos, por efecto de la administración del frijol posterior a la inducción de la obesidad es de gran relevancia, ya que este tipo

de adiposidad está directamente relacionada con el incremento en el riesgo de las complicaciones propias de la obesidad (Goran and Gower, 1999; Luzuriaga, 2000).

En el caso de los valores de leptina, nuevamente la concentración de todos los grupos de experimentación se encontró dentro de los valores normales (1189-3520 pg/mL), por lo tanto este periodo de inducción de obesidad no es suficiente para producir cambios en los niveles de esta adipocina.

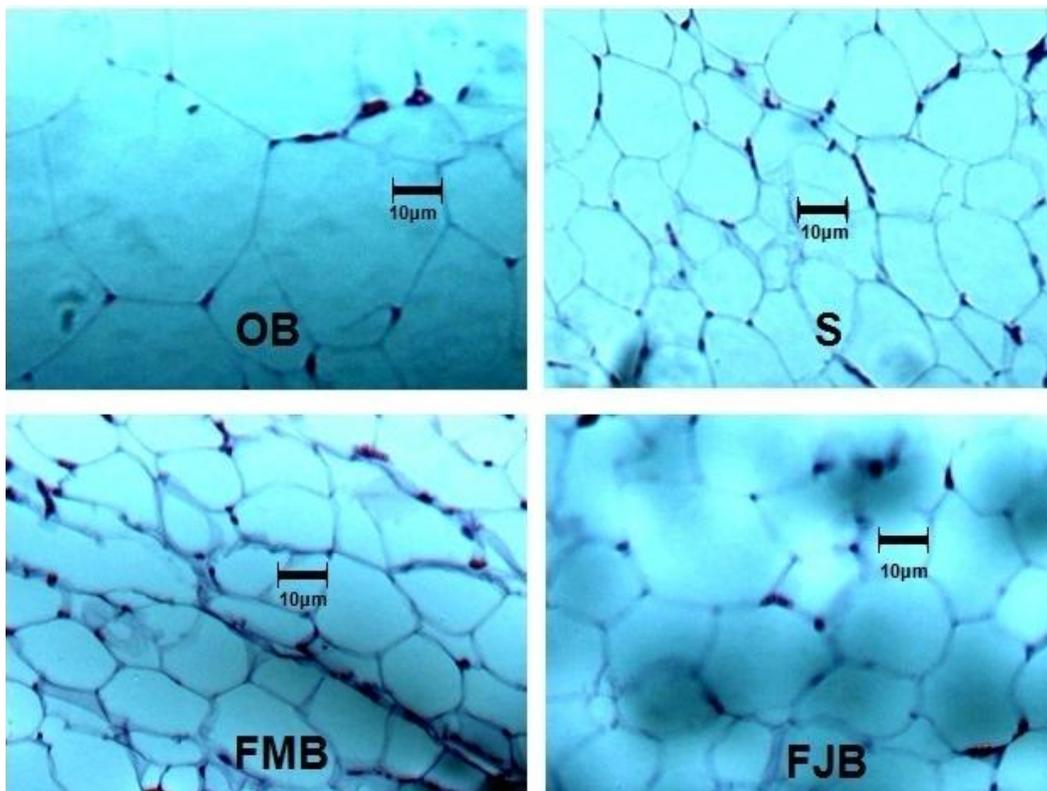


Figura 11. Tamaño de adipocitos de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

7.1.4 Parámetros relacionados con concentración de glucosa y resistencia a la insulina

7.1.4.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de glucosa en ayuno de ratas obesas

Uno de los parámetros bioquímicos que se altera durante el desarrollo de obesidad es el metabolismo de la glucosa.

Se puede observar en la Figura 12 el comportamiento de los niveles de glucosa en ayuno de las ratas en la etapa preventiva. Al iniciar la etapa experimental, todos los animales comenzaron con niveles de glucosa similares. Posteriormente se observa en el control obeso que, debido a la dieta alta en grasa saturada y fructosa, los niveles de glucosa aunque todavía se encontraban dentro de los rangos normales, comenzaron a incrementarse en el transcurso de las semanas de experimentación, en mayor grado (91.3 ± 1.7 mg/dL) comparado con el control sano (81.1 ± 1.6 mg/dL).

El grupo tratado con frijol de la variedad Flor de Mayo mostró menores (13.8%) niveles de glucosa al finalizar la etapa preventiva, comparado con los animales obesos, presentando valores similares al control sano al finalizar (78.7 ± 4.5 mg/dL y 81.1 ± 4.5 mg/dL, respectivamente); lo cual muestra el efecto hipoglucemiante de esta variedad. Algunos autores han sugerido que los carbohidratos no digeribles y de digestión lenta presentes en el frijol, disminuyen la absorción de grasa y carbohidratos de la dieta, reduciendo los niveles de glucosa provenientes de la dieta (Serrano y Goñi, 2004; Reynoso-Camacho y col., 2006).

Así mismo, la fibra puede interactuar con otras macro y micromoléculas, como la glucosa, además de captar agua, lo que produce una disminución de la velocidad de absorción y liberación de dichas moléculas. Lo anterior genera respuestas glicémicas más bajas, lo cual contribuye a controlar la hiperinsulinemia

y otras manifestaciones de la obesidad y diabetes (Chandalia y col., 2000; Mederos, 2006).

Aunque el grupo tratado con la variedad Flor de Junio tuvo valores ligeramente más bajos en comparación con el control obeso (87.4 ± 2.9 mg/dL y 91.3 ± 6.9 mg/dL, respectivamente), no hubo una reducción significativa en este parámetro. En el caso de esta variedad no mostró el efecto hipoglucemiante ya reportado para el frijol; esto puede deberse a la composición química de esta variedad, que quizá muestre valores más reducidos en su proporción de carbohidratos no digeribles y de digestión lenta, o por el contrario su aporte en carbohidratos que contribuyan a la respuesta glicémica sea mayor en comparación con otras variedades.

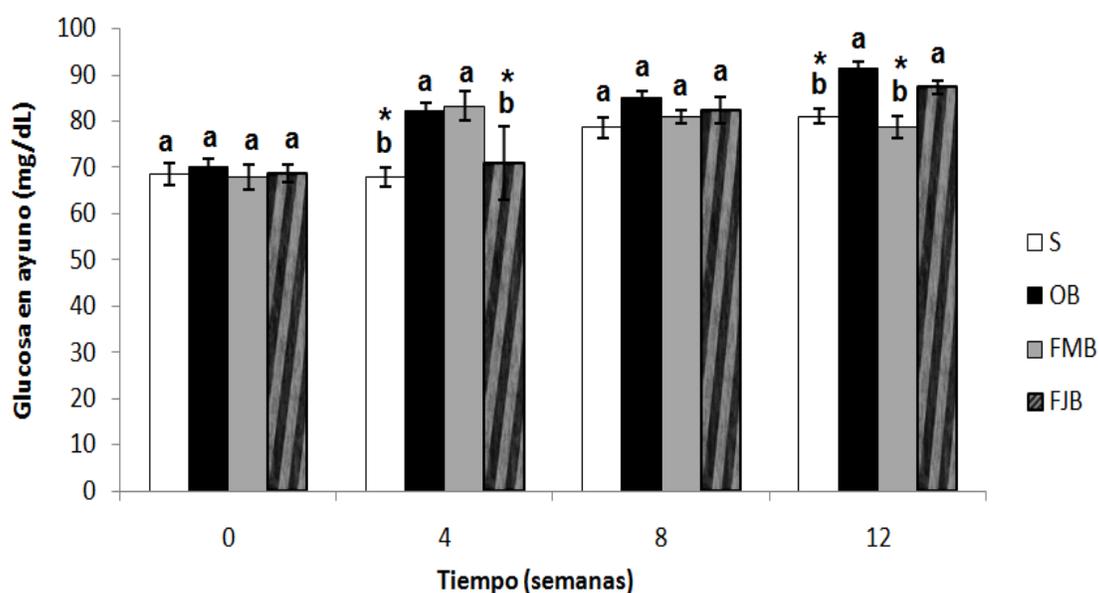


Figura 12. Niveles de glucosa en ayuno de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnet. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

En lo que respecta a los valores de glucosa obtenidos durante la etapa control (Figura 13), se puede observar que aunque los animales del control obeso y los grupos suplementados con frijol comenzaron con valores mayores (7.2-8.4%) al control sano, no se presentó diferencia estadística significativa. Sin embargo, este comportamiento se atribuye a la dieta que se les proporcionó durante doce semanas para inducir obesidad, la cual además de incrementar parámetros de adiposidad, también alteró patrones relacionados con el metabolismo de glucosa.

Así mismo, el control obeso aumentó de manera más significativa los valores de glucosa durante la etapa control, hasta en un 15 %. Esto debido a los macronutrientes que se encuentran en exceso en la dieta, además se ha reportado que en procesos de obesidad más avanzados, el organismo comienza a presentar desarrollo de resistencia a la insulina (Eckardt y col., 2008). Lo que conlleva a que la glucosa no pueda ingresar al interior de las células y permanece en el torrente sanguíneo incrementando sus niveles, a su vez el organismo favorece la síntesis de glucosa endógena, generando de esta manera que se incremente más la concentración de glucosa.

El grupo alimentado con Flor de Mayo mostró niveles más reducidos de este carbohidrato al finalizar esta etapa experimental; esto se relaciona con lo observado en la etapa preventiva ($r=0.94$, $p<0.05$), en donde esta misma variedad mostró efectos hipoglucemiantes.

Los animales alimentados con la variedad Flor de Junio tuvieron un comportamiento similar al observado en la etapa con fines preventivos ($r=0.94$, $p<0.05$), ya que mostró una tendencia más similar al control obeso, lo cual permite establecer que bajo las condiciones utilizadas en este modelo de obesidad, esta variedad no muestra efecto hipoglucemiante.

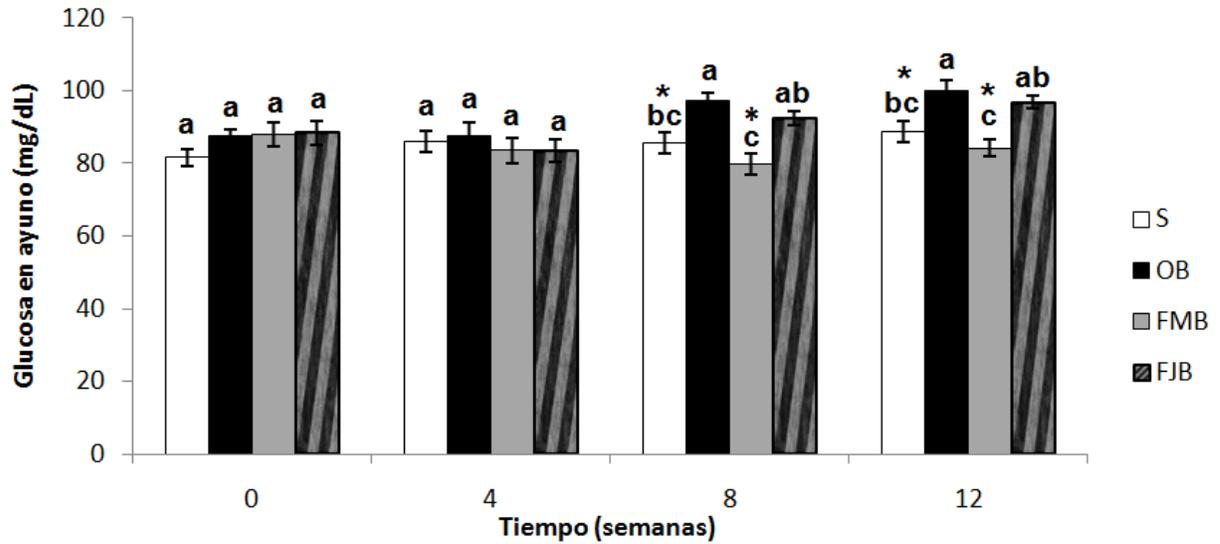


Figura 13. Niveles de glucosa en ayuno de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por doce semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Con los resultados obtenidos en cuanto a los niveles de glucosa se plantearon otras determinaciones que confirmen el efecto diferencial obtenido para ambos frijoles respecto al metabolismo de este carbohidrato.

7.1.4.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre la utilización de glucosa exógena en ratas obesas

Durante el desarrollo de obesidad, la captación y utilización de glucosa se ven alteradas debido al deterioro en la sensibilidad a la insulina y al incremento en la síntesis endógena de glucosa. Algunas pruebas para la evaluación del metabolismo de la glucosa son las curvas de tolerancia a la glucosa, la prueba de tolerancia a la insulina y la prueba de pinzamiento euglicémico hiperinsulinémico; las cuales muestran el funcionamiento de la insulina y glucosa en el organismo y además pueden detectar de manera más temprana problemas en el metabolismo

(Chiarelli and Marcovecchio, 2008; Bartoli y col., 2011). Mediante la curva de tolerancia a la glucosa (CTG) se evaluó el proceso de captación de glucosa exógena. El objetivo de este estudio fue determinar el proceso de utilización de glucosa por el organismo; y según el comportamiento de la curva, se pueden detectar problemas de intolerancia a la glucosa (Kim y col., 2001; Rufino y col., 2007).

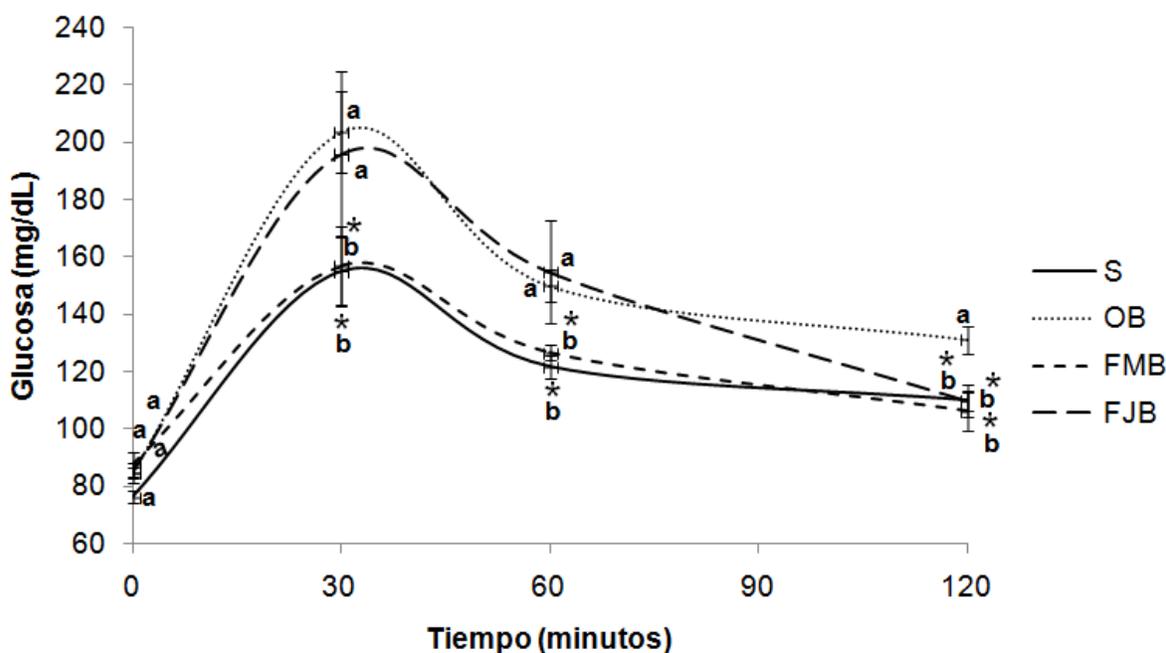


Figura 14. Curva de tolerancia a la glucosa de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

En la Figura 14 se puede observar el comportamiento de la captación de glucosa, en donde todos los animales comenzaron con niveles de glucosa muy similares. A los 30 minutos se presenta el pico hiperglicémico (180-200 mg/dL), que es la concentración más alta de glucosa postpandrial. Los animales obesos mostraron mayores niveles de glucosa a diferencia del control sano, esto muestra

alteraciones en la captación de glucosa. En los tiempos posteriores, los niveles de glucosa fueron disminuyendo hasta llegar a niveles basales a los 120 minutos para los animales sanos (109.7 ± 3.4 mg/dL). Sin embargo, los animales obesos presentaron una concentración estadísticamente mayor de glucosa en este tiempo evaluado (130.9 ± 4.9 mg/dL).

Los resultados observados en la curva muestran intolerancia a la glucosa en los animales del control obeso. Esto puede deberse a que están presentando disminución en la sensibilidad a la insulina o resistencia a dicha hormona, menor síntesis de insulina por el páncreas, o mayor síntesis de glucosa por el hígado, lo cual es generado por el desarrollo de obesidad (Cañete-Estrada y Gil-Campos, 2007; Chiarelli and Marcovecchio, 2008). Sin embargo, con este estudio no se puede establecer el motivo por el cual los animales estén presentando intolerancia a la glucosa, por lo que es necesario determinar otros parámetros relacionados con el desarrollo de resistencia a la insulina.

Los animales tratados con la variedad Flor de Mayo, muestra un comportamiento muy similar al control sano. Esto permite establecer que dicha variedad ejerció un efecto preventivo sobre el desarrollo de alteraciones en el metabolismo de glucosa y, por lo tanto, puede disminuir el riesgo de desarrollo de diabetes. Lo anterior se relaciona también con los niveles más reducidos de glucosa en ayuno mostrados por dicho grupos ($r=0.93$, $p<0.05$), ya que a pesar de que los animales tratados con frijol están consumiendo la misma dieta que los animales obesos, sus niveles de glucosa en ayuno son menores, además de que el proceso de captación de dicha molécula fue más eficiente en comparación con los animales obesos.

El grupo alimentado con Flor de Junio, mostró una tendencia más parecida al control obeso. Sin embargo, los niveles de glucosa disminuyeron casi a niveles basales al finalizar la curva. Estos resultados sugieren cierta capacidad

del frijol para regular los niveles de glucosa exógena. Este efecto es menor que el presentado por el grupo alimentado con Flor de Mayo.

Respecto a la curva de tolerancia a la glucosa (CTG) realizada para los animales en etapa control (Figura 15), se puede observar como los animales alimentados con la dieta para la inducción de obesidad comenzaron con niveles diferentes de glucosa en comparación con el control sano y el grupo alimentado con Flor de Mayo. Posteriormente, en el pico hiperglucémico se observa que los animales del grupo obeso mostraron mayores niveles de glucosa en comparación con el control sano y los grupos tratados con frijol. En los tiempos posteriores, el control obeso no logra reducir los niveles de glucosa, lo cual muestra una evidente intolerancia a la glucosa por este grupo.

El grupo tratado con Flor de Mayo presentó un comportamiento similar al grupo sano, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos en los niveles de glucosa en ayuno ($r=0.75$, $p<0.05$). Además, en la etapa preventiva esta misma variedad ejerció efectos hipoglucemiantes y preventivos sobre alteraciones en el metabolismo de la glucosa. Estos resultados sugieren que dentro de la composición del frijol de la variedad Flor de Mayo empleada en este estudio, se encuentra componentes que están protegiendo al organismo del animal contra el desarrollo de alteraciones en el metabolismo de la glucosa a causa del desarrollo de la obesidad.

La variedad Flor de Junio se comporta de manera más parecida al control sano; sin embargo, a los 120 minutos no logra disminuir la glucosa a niveles basales, lo cual muestra menor grado de captación de la glucosa exógena; esto se relaciona con los mayores niveles de glucosa que mostró durante toda la etapa experimental ($r=0.83$, $p<0.05$). De acuerdo a los resultados obtenidos, el frijol de la variedad Flor de Junio no controló el proceso de intolerancia a la glucosa generada una vez establecida la obesidad.

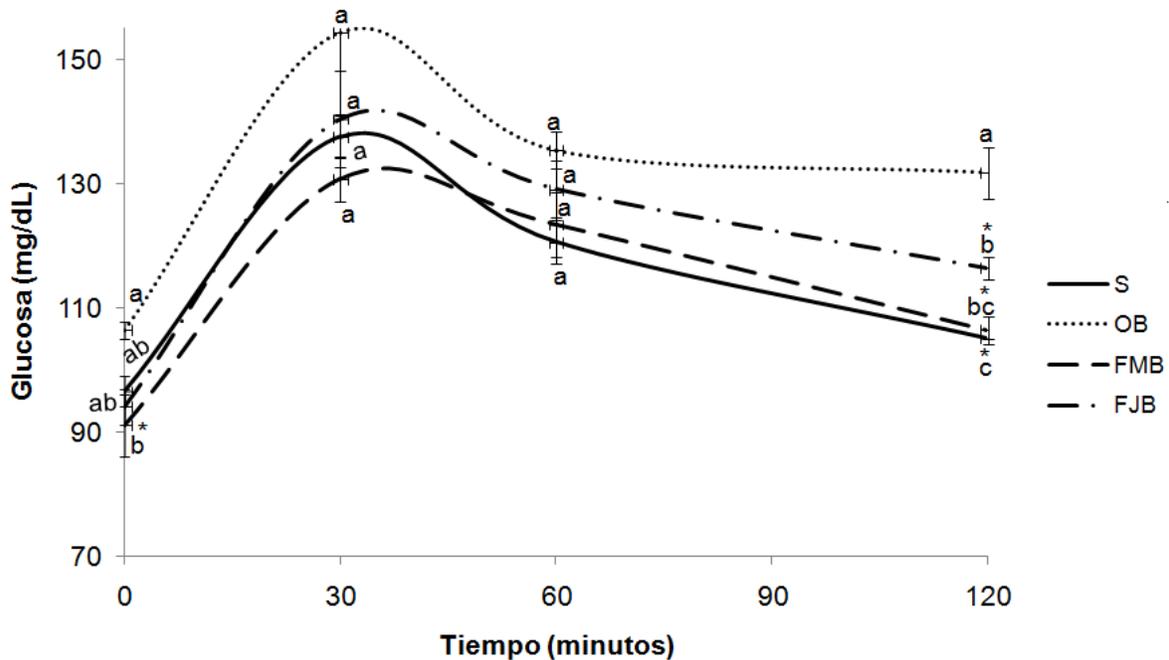


Figura 15. Curva de tolerancia a la glucosa de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Por los resultados obtenidos en cuanto a los niveles de glucosa en ayuno y la CTG, se realizó la determinación de los niveles de insulina, que se mostrarán a continuación.

7.1.4.3 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de insulina y desarrollo de resistencia a la insulina de ratas obesas

La insulina es un regulador crítico de la mayoría de los aspectos metabólicos del adipocito. Dentro del papel fisiológico de la insulina se pueden mencionar el metabolismo de los 3 macronutrientes más importantes, carbohidratos, lípidos y proteínas, además del crecimiento celular. Así mismo, sus funciones más específicas son promover el transporte, captación y utilización de

glucosa, por los tejidos insulino-dependientes; también favorece la síntesis de triglicéridos (lipogénesis) y la inhibición de la lipólisis (Boden, 1997).

Una de las principales alteraciones durante el desarrollo de la obesidad es la resistencia a la insulina, la cual se presenta por una serie de defectos en la cascada de señalización para la captación de glucosa por las células dependientes de la hormona (Bajaj and Defronzo, 2003).

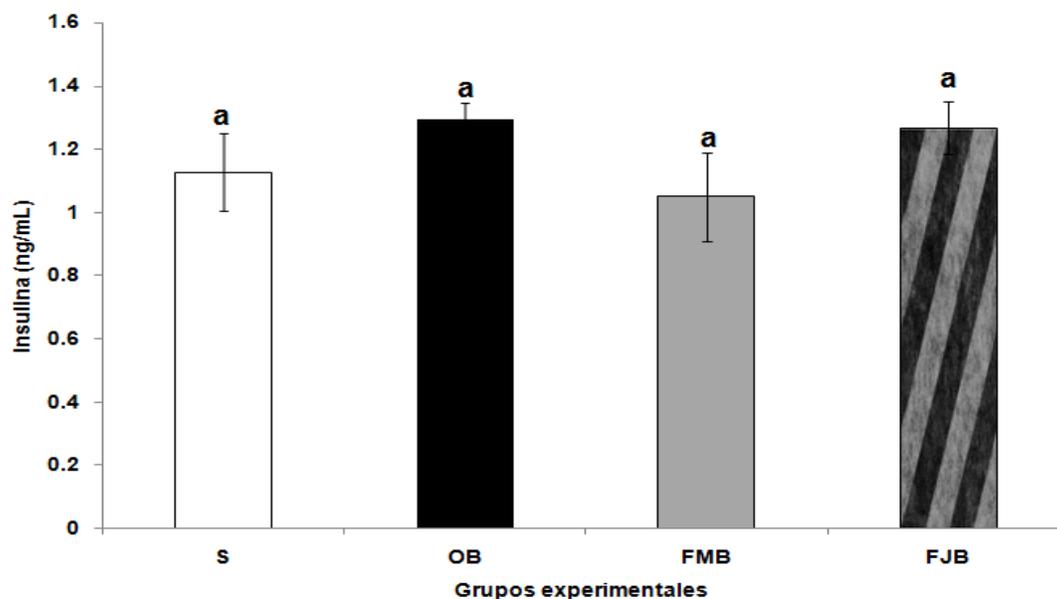


Figura 16. Niveles de insulina de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre variedades. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

En obesidades tempranas, los niveles de insulina se incrementan para compensar los niveles elevados de glucosa en el organismo (Eckardt y col., 2008; Singla y col., 2010). En la Figura 16 se puede observar que los niveles de insulina aunque no mostraron diferencia estadística significativa, son ligeramente más elevados en el control obeso (1.29 ± 0.05 ng/mL), en comparación con el control

sano (1.13 ± 0.12 ng/mL). Relacionando el resultado anterior con lo obtenido en la CTG ($r=0.87$, $p<0.05$) y los niveles de glucosa ($r=0.85$, $p<0.05$) en ayuno para este grupo se puede establecer que, debido a la dieta que se les proporcionó para la inducción de obesidad, los animales comienzan a presentar alteraciones en el metabolismo de glucosa. Esto sugiere que a pesar de tener la misma concentración de insulina, la capacidad de los tejidos para transportarla glucosa al interior de las células dependientes de esta hormona es menor o puede existir una alteración en la síntesis endógena de glucosa.

Así mismo, el grupo tratado con frijol Flor de Junio también mostró niveles más elevados de insulina, con un comportamiento similar al grupo obeso en cuanto a los mismos parámetros, por lo que esta variedad bajo las condiciones probadas no ejerció efectos preventivos sobre el desarrollo de resistencia a la insulina generada por la obesidad.

En cuanto al grupo tratado con frijol Flor de Mayo, aunque no se observa diferencia estadística significativa entre los grupos, se observa una tendencia de disminución en los niveles de insulina, lo cual al relacionarlo con los niveles de glucosa ($r=0.99$, $p<0.05$) y el comportamiento de la CTG ($r=0.89$, $p<0.05$), este grupo ejerció efectos preventivos sobre las alteraciones relacionadas con el metabolismo de la glucosa.

Al presentar menores niveles de glucosa en el organismo de los animales tratados con frijol, la síntesis de insulina fue menor, sugiriendo una protección contra el desarrollo de procesos relacionados con resistencia a la insulina (Eckardt y col., 2008). También en la reducción de procesos lipogénicos y de movilización de depósitos de grasa en adipocitos (Singla y col., 2010), lo cual se ve reflejado en los parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad. Por lo anterior, esta variedad mostró mejores resultados sobre la prevención de esta enfermedad.

La obesidad desencadena estrés oxidativo debido a dos mecanismos diferentes, el tejido adiposo que se encuentra en exceso es una fuente de citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF- α , las cuales son un potente estímulo para la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) por los macrófagos y monocitos; además, TNF- α inhibe la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial, incrementando la interacción de los electrones con O₂ para generar anión superóxido (O₂^{·-}).

El otro mecanismo involucra un efecto de los triglicéridos elevados sobre el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial, específicamente se ha propuesto que los triglicéridos intracelulares, que también están elevados, inhiben el translocador de adenin nucleótidos y fomentan la generación de O₂^{·-} (Martínez-Abundis y col., 2005).

Uno de los órganos que sufre las afectaciones propias del avance de la obesidad es el páncreas. Las células β son las encargadas de sintetizar y secretar insulina en respuesta a los niveles de glucosa presentes en el organismo. Sin embargo, en la obesidad, la hiperglicemia, intolerancia a la glucosa y disminución en la sensibilidad a la insulina, generan el agotamiento progresivo de las células β , principalmente por la sobrecarga metabólica sostenida, lo cual produce estrés oxidativo en el páncreas y, conforme avanza la obesidad puede llevar a disminución en la síntesis de insulina (Ng y col., 2010; Xie y col., 2010).

En el caso de los niveles de insulina durante la etapa control (Cuadro 3), en el control obeso se observó una disminución en comparación con los animales sanos, debido al estrés oxidativo presente en el páncreas, además se ha reportado lipotoxicidad ejercida por dietas altas en grasa en células β pancreáticas (Buettner y col., 2007; Ng y col., 2010; Xie y col., 2010).

Los grupos alimentados con frijol mostraron niveles más elevados de insulina, lo cual demuestra la protección del frijol contra la disfunción de las células

β pancreáticas. Este resultado podría atribuirse a los compuestos antioxidantes presentes en el frijol, los cuales se ha reportado por diversos autores tienen actividad antioxidante (Oomah y col., 2010) capaz de proteger contra el estrés oxidativo de diversas patologías como la diabetes (Mendoza-Sánchez, 2009).

Para comprobar el proceso de oxidación presente en el páncreas de los animales de este trabajo, se realizó la cuantificación de oxidación de proteínas como marcador temprano del proceso oxidativo ejercido por la obesidad, en donde la técnica detecta los residuos carbonilos libres de las proteínas que se encuentran oxidadas. Como se esperaba los resultados obtenidos muestran mayor grado de oxidación en las proteínas del páncreas del grupo obeso en comparación con el control sano y los grupos tratados con frijol.

Cuadro 3. Niveles de insulina y oxidación de proteínas del páncreas de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Grupos	Insulina ¹	Oxidación de proteínas ²
S	1.86 ± 0.24 ^{ab}	29.69 ± 5.68 ^{bc*}
OB	1.35 ± 0.27 ^b	82.89 ± 3.80 ^a
FMB	2.16 ± 0.29 ^{a*}	21.41 ± 3.18 ^{c*}
FJB	1.86 ± 0.36 ^{ab}	33.22 ± 3.91 ^{b*}

Los valores se presentan como media de los valores ± E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058. Expresados en: ¹ng/mL, ²residuos de carbonilo/ μ g de proteína en páncreas.

Los grupos alimentados con frijol mostraron protección contra el estrés oxidativo generado durante el desarrollo de obesidad. Por lo tanto, estos resultados se relacionan con los niveles de insulina más elevados para dichos grupos en comparación con los animales obesos ($r=-0.81$, $p<0.05$).

Así mismo, los niveles de insulina y oxidación de proteínas que presentaron los grupos tratados con frijol fueron muy parecidos a los obtenidos para el control sano, por lo que la protección antioxidante ejercida es de suma relevancia para este tipo de patologías.

7.1.5 Parámetros relacionados con alteraciones en el metabolismo de los lípidos

7.1.5.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre perfil lipídico de ratas obesas

En la obesidad, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres, los cuales a su vez provocan en el hígado un incremento de la producción de glucosa, triglicéridos y la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Los trastornos asociados al exceso de grasas y lipoproteínas son la reducción del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y un aumento de la densidad de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Los triglicéridos en plasma juegan un papel muy importante en el desarrollo de las dislipidemias que se presentan en la obesidad; además, conforme la obesidad avanza, el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares se incrementa (Singla y col., 2010).

Como se puede observar en la Cuadro 4, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el control obeso y los grupos tratados con frijol, en ninguno de los parámetros evaluados para el perfil lipídico.

Dicho comportamiento es debido a que el grado de obesidad obtenido en esta etapa con fines preventivos no fue tan severo como para ocasionar dislipidemias, aunque en cuanto a este tipo de datos, hay mucha incongruencia en modelos de obesidad, ya que depende en gran medida del tipo de grasa adicionada en la dieta y el tiempo de duración, entre otros factores, que determinan el grado de daño ocasionado por la dieta (Buettner y col., 2007).

Cuadro 4. Perfil lipídico de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Grupos	Triglicéridos ¹	Colesterol total ¹	HDL ¹	LDL ¹
S	53.7 ± 9.2 ^a	72.5 ± 6.8 ^a	30.8 ± 1.3 ^a	31.2 ± 7.0 ^a
OB	97.9 ± 8.9 ^a	85.3 ± 11.6 ^a	37.1 ± 4.8 ^a	28.2 ± 5.3 ^a
FMB	101.9 ± 19.5 ^a	78.8 ± 4.7 ^a	33.4 ± 2.3 ^a	25.0 ± 1.9 ^a
FJB	104.7 ± 12.8 ^a	74.0 ± 8.1 ^a	31.3 ± 3.5 ^a	23.3 ± 4.4 ^a

Los valores se presentan como media de los valores ± E.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058. Expresados en: ¹mg/dL.

En el caso del perfil lipídico en la etapa con fines de control (Cuadro 5), se puede observar que aunque no se presentó diferencia estadística significativa entre los grupos analizados, el control obeso mostró valores mayores en triglicéridos, colesterol total, y LDL; lo cual se atribuye al efecto ejercido por la dieta hipercalórica que se les proporcionó durante un total de 24 semanas de experimentación.

Cuadro 5. Perfil lipídico de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Grupos	Triglicéridos ¹	Colesterol total ¹	HDL ¹	LDL ¹
S	114.7±4.5 ^a	93.4±12.1 ^a	40.2±4.7 ^a	24.6±5.7 ^a
OB	146.1±9.6 ^a	105.7±5.3 ^a	42.9±3.1 ^a	33.5±4.3 ^a
FMB	129.9±12.5 ^a	92.1±4.5 ^a	38.2±1.8 ^a	27.9±4.5 ^a
FJB	137.2±10.7 ^a	103.0±4.4 ^a	44.6±4.0 ^a	31.0±3.7 ^a

Los valores se presentan como media de los valores ± E.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058. Expresados en: ¹mg/dL.

7.1.6 Parámetros relacionados con el desarrollo de procesos inflamatorios y oxidativos durante la obesidad

7.1.6.1 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre la concentración del factor de necrosis tumoral α de ratas obesas

Al incrementar la cantidad de tejido adiposo en la obesidad, la síntesis de citocinas se ve alterada, en específico las proinflamatorias, contribuyendo de manera importante con el estado de inflamación presente en esta patología. La expresión del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) ha mostrado alta correlación con el incremento de tejido adiposo en modelos de obesidad inducidos por dieta, tanto en roedores como en humanos (Norman y col., 1995).

La relevancia de esta citocina en la obesidad, se da por la relación directa que tiene con el desarrollo de resistencia a la insulina. Algunos estudios que sustentan lo anterior han encontrado altos niveles de expresión de la citocina en

tejido adiposo de individuos obesos en comparación con sujetos sanos, y a su vez estos resultados correlacionaron con los niveles plasmáticos de insulina (Hotamisligil y col., 1995).

Dentro de la participación que tiene TNF- α en el desarrollo de resistencia a la insulina, se ha reportado que puede favorecer fosforilaciones en residuos de serina del receptor (IR) y substrato del receptor de insulina (IRS), lo que genera el desarrollo de resistencia a la insulina (Shoelson y col., 2007).

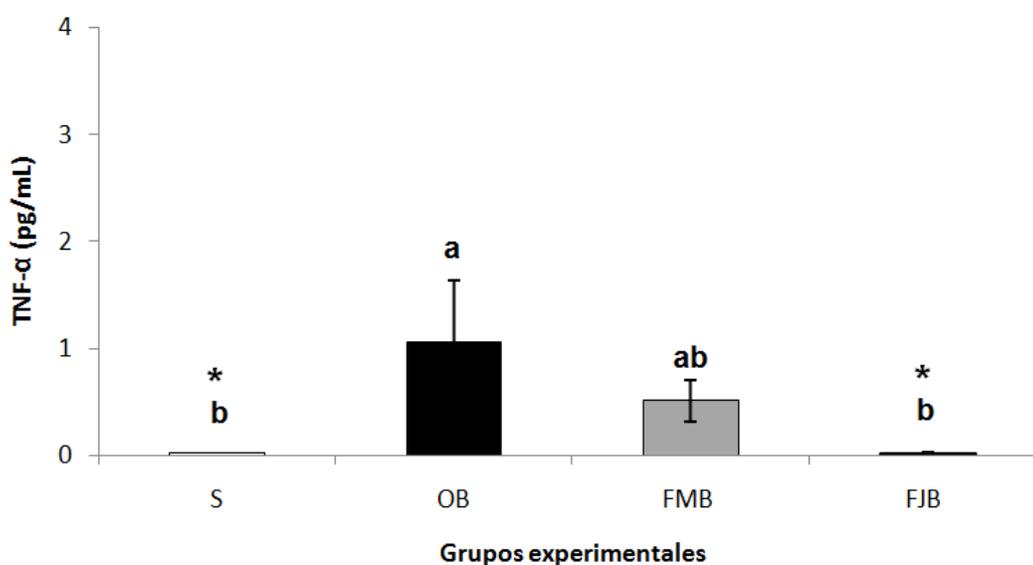


Figura 17. Concentración del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnet. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre variedades. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Como se puede observar en la Figura 17, los valores de TNF- α , que mostraron los animales durante la etapa preventiva, se encontraron dentro de los valores esperados en animales sanos (< 11.7 pg/mL). Sin embargo, se puede

observar que el control obeso muestra una mayor concentración de TNF- α en comparación con el control sano. Por lo tanto, aunque no se presentó un estado de inflamación elevado, hay indicios de que los animales obesos presentan más predisposición a presentar inflamación.

Los valores de TNF- α en el grupo alimentado con frijol de la variedad Flor de Junio fue significativamente más bajo en comparación con el control obeso, por lo que se puede hablar de una actividad antiinflamatoria de dicha variedad, y aunque la variedad Flor de Mayo no mostró diferencia estadística significativa, presentó valores más bajos que el control obeso, lo que hizo que fuera también estadísticamente similar al control sano.

En cuanto a los resultados obtenidos durante la etapa control (Figura 18), la cual cabe mencionar tuvo una duración total de 24 semanas, los valores de TNF- α de todos los grupos fueron más elevados comparados con los observados en la etapa preventiva. Además, en el grupo de animales obesos se puede observar de manera importante que los valores superaron el rango de concentraciones esperadas en animales sanos, ya que mostró valores de TNF- α de 15.2 pg/mL, mientras que en los animales sanos se encontraron valores de 5.6 pg/mL. Por lo que, el control obeso en esta etapa de experimentación presentó un estado de inflamación más avanzado en comparación con los demás grupos evaluados.

Para el caso de los grupos alimentados con frijol, estos fueron estadísticamente diferentes al control obeso, siendo sus concentraciones de 6.6 pg/mL para Flor de Mayo y 7.4 pg/mL para Flor de Junio, lo cual nos muestra el efecto antiinflamatorio ejercido por el frijol durante el desarrollo de obesidad. Este resultado es bastante relevante, debido a que el estado de inflamación presente en la obesidad es uno de los factores más importantes para el establecimiento de complicaciones. El mecanismo propuesto para este efecto antiinflamatorio podría atribuirse a la acción de los compuestos fenólicos presentes en el frijol, los cuales

son capaces de activar al receptor activado por proliferadores de peroxisomas y (PPAR γ), el cual inactiva la traslocación del factor nuclear κ B (NF- κ B), generando una reducción en la expresión de genes que codifican para citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión (Wardle, 2004; Zeng y col., 2011).

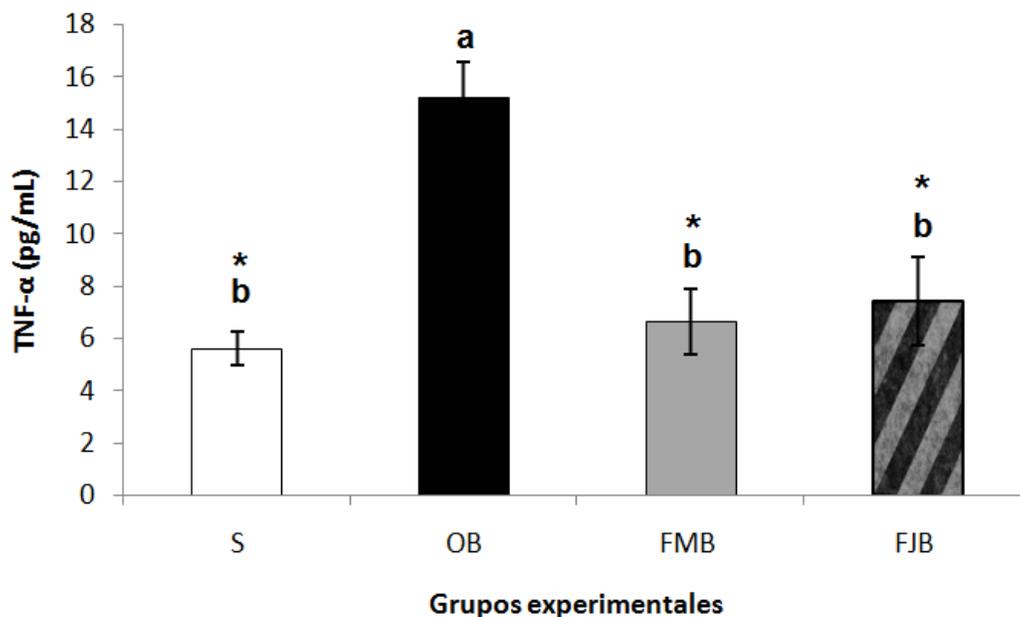


Figura 18. Concentración del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

7.1.6.2 Efecto de las harinas de frijol común cocido sobre los niveles de peroxidación lipídica en tejido adiposo de ratas obesas

Debido al estrés oxidativo generado durante la obesidad, se inducen procesos de oxidación en los diferentes tejidos del organismo. Uno de estos mecanismos de oxidación es la peroxidación lipídica, la cual es favorecida por el incremento en la concentración de especies reactivas de oxígeno, en específico

en tejido adiposo, en donde participan de manera importante con el desarrollo de resistencia a la insulina y desregulación génica de adipocitocinas. Así mismo, se ha sugerido que el estrés oxidativo en los depósitos grasos es un promotor temprano del síndrome metabólico y existen evidencias de que la hiperlipidemia y las dietas ricas en azúcar, grasa o ambas inducen dicho estrés (Girard y col., 2005; Galinier y col., 2006).

La peroxidación lipídica es un mecanismo de daño celular que se caracteriza por la descomposición de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas biológicas, generando compuestos como el malonildialdehído (MDA) y 4-hidroxiacetonilqueno (4-HNE) como productos finales de las reacciones de oxidación. La determinación de estos compuestos sirve como marcadores de daño oxidativo en las células (Gutteridge, 1995).

Para evaluar el grado de estrés oxidativo en los animales sometidos a la inducción de obesidad mediante la dieta alta en grasas saturadas y fructosa, se evaluaron los niveles de peroxidación lipídica en tejido adiposo, mediante la reacción del MDA con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA). Los resultados obtenidos (Figura 19) muestran mayores niveles de peroxidación lipídica en tejido adiposo de animales obesos en comparación con el control sano, el cual a su vez mostró 28% menos peroxidación lipídica.

Los grupos alimentados con frijol aunque no presentaron diferencia estadística significativa, tuvieron alrededor de 13% menos peroxidación en comparación con los animales obesos. Esto sugiere que el frijol está presentando protección contra el desarrollo de daño oxidativo causado por el establecimiento de la obesidad, lo cual a su vez los hace estadísticamente parecidos a los animales del control sano. Dichos efectos podrían ser el resultado de la acción de los compuestos con naturaleza antioxidante presentes en el frijol, como los compuestos fenólicos, los cuales han sido evaluados en una amplia variedad de

trabajos, tanto *in vitro* como *in vivo* (Iniestra-González y col., 2005; Oomah y col., 2010).

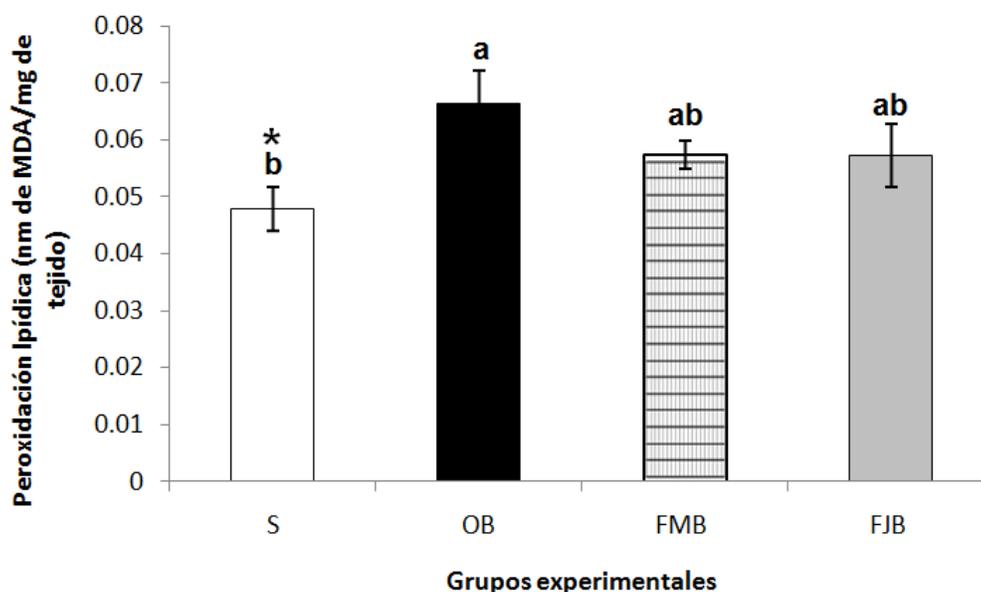


Figura 19. Peroxidación lipídica del tejido adiposo abdominal de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa preventiva)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnett. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

Sobre los valores de peroxidación lipídica obtenidos para los animales de la etapa control (Figura 20), se puede observar la misma tendencia que en la etapa con fines preventivos, donde los animales sanos presentaron 21% menos peroxidación en comparación con el control obeso. Mientras que, los grupos alimentados con frijol tuvieron hasta un 22% menos peroxidación lipídica en tejido adiposo a diferencia de los animales obesos. Con los resultados anteriormente mencionados se corrobora el efecto antioxidante de las harinas de frijol cocido sobre alteraciones de daño oxidativo en tejido adiposo. Esto es de suma importancia ya que durante la obesidad el incremento en los radicales libres, provenientes de la dieta y de los procesos inflamatorios, altera el balance oxidativo

de los tejidos en el organismo, originando el desarrollo de alteraciones como la formación de moléculas oxidadas que contribuirán a la generación de múltiples daños, como por ejemplo en tejido adiposo, en donde incrementan la toxicidad mitocondrial, que a su vez contribuirá al desarrollo de resistencia a la insulina en dichas células (Maassen y col., 2007).

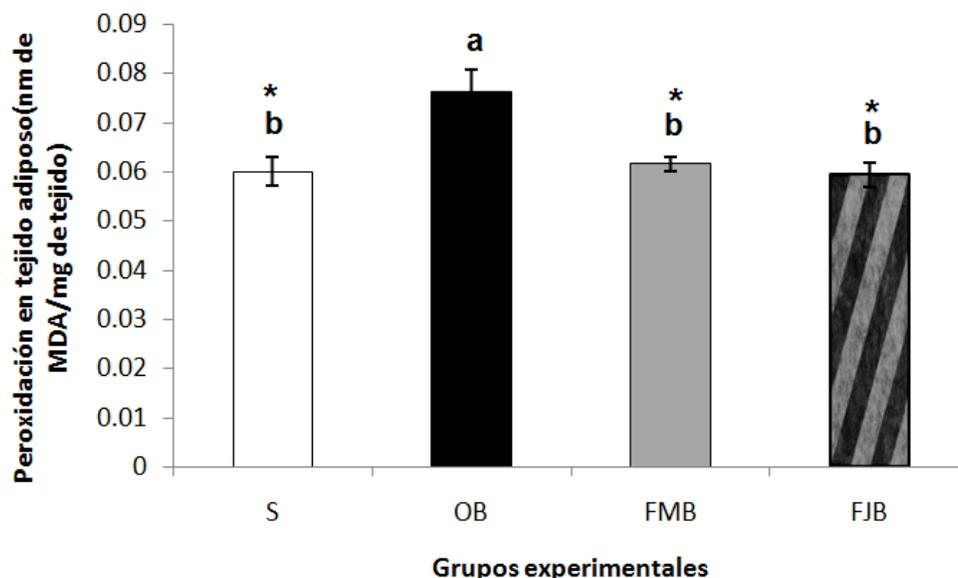


Figura 20. Peroxidación lipídica del tejido adiposo abdominal de ratas obesas alimentadas con una dieta hipercalórica por 12 semanas y después suplementada con frijol común cocido Flor de Mayo y Flor de Junio (etapa control)

Los valores se presentan como media de los valores \pm E.E. * Indica diferencia estadística significativa con respecto al control obeso ($p < 0.05$), analizados con la prueba de Dunnet. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre grupos. S= Control sano, OB= Control obeso (Dieta OB), FMB= Dieta OB + Flor de Mayo 08030, FJB= Dieta OB + Flor de Junio 08058.

7.2 Caracterización parcial de los compuestos antiobesigénicos e hipoglucemiantes de las harinas de frijol cocido

7.2.1 Composición química de las harinas de frijol cocido

El frijol es una fuente importante de proteínas, así como de carbohidratos, los cuales se componen principalmente de carbohidratos de digestión lenta y

carbohidratos no glicémicos; dichos carbohidratos constituyen aproximadamente el 55% de la composición total del frijol, siendo el almidón y la fibra dietaria los principales constituyentes (Serrano y Goñi, 2004). La composición del frijol fue de interés en este trabajo debido a que algunos componentes, principalmente carbohidratos, se encuentran relacionados con los beneficios a la salud.

En el Cuadro 6 se muestra el análisis proximal de las harinas de frijol de las variedades Flor de Mayo y Flor de Junio, en donde se puede apreciar que el contenido de proteína está dentro de los valores reportados por algunos autores que han evaluado distintas variedades y encontraron que el porcentaje de proteína del frijol está entre el 20-40% (Jacinto-Hernández y col., 1996; Pérez-Herrera y col., 2002; Gallegos-Tintoré y col., 2004), lo cual hace a esta leguminosa una de las fuentes principales de este nutrimento.

El contenido de grasa, del frijol se encuentra entre un 1-14%, por lo que es considerado un alimento que no aporta un elevado nivel calórico. Las variedades Flor de Mayo y Flor de Junio mostraron contenido de grasa de 3.86 y 3.50 g de grasa/100 g de harina respectivamente, los cuales se encuentran dentro de la concentración de grasa reportada por otros autores (Serrano y Goñi, 2004; Drago y col., 2007).

Los valores obtenidos para el contenido de cenizas, de las variedades analizadas, fue de entre 3.4-4.0 g de cenizas/ 100 g de harina de frijol; lo cual coincide por lo reportado por algunos autores, en donde han encontrado valores de 3.8-4.5 % de cenizas; este parámetro puede variar por las características del suelo de cultivo, así como de la genética del cultivar (Carmona-García y col., 2007; Aguirre-Santos y Gómez-Aldapa, 2010).

La fibra dietética total es uno de los principales componentes del frijol, algunos autores han reportado concentraciones entre 14 y 27% en distintas variedades de frijol. En el caso de las variedades Flor de Mayo y Flor de Junio, se

obtuvieron valores de 14.87 y 14.76 g de fibra/100 g de harina de frijol respectivamente, no observándose diferencia estadística significativa en lo que respecta a este parámetro. El tratamiento térmico afecta la composición y contenido de la fibra dietaria total, ya que se ha reportado que la cocción reduce el contenido de fibra soluble y aumenta significativamente el contenido de fibra insoluble (Paredes-López y Valverde, 2006).

Algunos autores han encontrado valores de fibra soluble e insoluble de 3.1-7.6% y 10.1-13.4% respectivamente, para frijoles sometidos a procesos de cocción, por lo que las variedades analizadas en este trabajo, mostraron valores de fibra soluble e insoluble similares a las reportadas por dichos autores. Sin embargo Flor de Mayo mostró valores más elevados de fibra insoluble y menor contenido de fibra soluble con respecto a Flor de Junio, esto podría estar relacionado con el estudio *in vivo*, en donde Flor de Mayo mostró mejores resultados ya que disminuyó el IMC comparado con Flor de Junio, sin embargo, deben existir otro tipo de compuestos presentes en la variedad Flor de Mayo que pudieran estar relacionados con los efectos observados para el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones, como los compuestos fenólicos, que más adelante se mencionarán (Reyes-Moreno and Paredes-López, 1993; Guzmán-Maldonado and Paredes-López, 1999; Serrano y Goñi, 2004).

Uno de los componentes principales de la fracción de carbohidratos presentes en el frijol es el almidón, del cual la mayor parte corresponde al almidón resistente, reportándose concentraciones para distintas variedades de frijol entre 13.9 y 26.9%; por lo que las variedades Flor de Mayo y Flor de Junio mostraron contenido de almidón resistente similar al ya reportado. Aunque se puede observar una notable diferencia entre las variedades analizadas, mostrándose nuevamente que el frijol de la variedad Flor de Mayo obtuvo mayor contenido de almidón resistente en comparación con la variedad Flor de Junio (Serrano y Goñi, 2004; Sandoval-Gallegos y col., 2007).

Cuadro 6. Composición química de las harinas de frijol cocido

Parámetro¹	FMB	FJB
Proteína	32.70 ± 0.25 ^b	36.47 ± 0.06 ^a
Grasa	3.86 ± 0.02 ^a	3.50 ± 0.05 ^b
Cenizas	3.39 ± 0.03 ^b	4.05 ± 0.01 ^a
Fibra dietética total	14.87 ± 0.11 ^a	14.76 ± 0.03 ^a
Fibra insoluble	9.51 ± 0.01 ^a	6.16 ± 0.14 ^b
Fibra soluble	5.36 ± 0.01 ^b	8.61 ± 0.19 ^a
Almidón resistente	17.74 ± 0.14 ^a	10.48 ± 0.41 ^b

Los valores representan la media ± D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre variedades, para cada parámetro evaluado ($p < 0.05$), mediante la prueba de Tukey. FMB= Flor de Mayo 08030, FJB= Flor de Junio 08058.

¹Expresados en g/100 g de harina seca

Los resultados obtenidos en el análisis proximal permiten dilucidar el efecto observado por las dos variedades en el estudio *in vivo* anteriormente mencionado. En donde cabe destacar el efecto antiobesogénico, hipoglucemiante, antiinflamatorio y antioxidante observado para la variedad Flor de Mayo en comparación con Flor de Junio; lo cual podría atribuirse principalmente a su composición en carbohidratos no glicémicos, ya que se ha reportado que éstos son capaces de disminuir la absorción de carbohidratos y grasas de la dieta, dando como resultado menor respuesta glicémica, y que además se dispongan de las reservas de energía presentes en el organismo para poder satisfacer los requerimientos energéticos, por lo que se da como resultado una disminución en los depósitos de grasa, y a su vez una reducción en el riesgo de las complicaciones de la obesidad (Mederos, 2006).

7.2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las harinas de frijol cocido

Dentro de la composición química del frijol se encuentran una serie de compuestos funcionales a los cuales se les ha atribuido los efectos benéficos a la salud mencionados anteriormente, dichos componentes son los carbohidratos y los compuestos fenólicos tales como flavonoides, antocianinas y taninos condensados, y algunos inhibidores de enzimas como los inhibidores de α -amilasa y de tripsina (Obiro y col., 2008; Carai y col., 2009).

En el Cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y concentración inhibitoria media de la capacidad antioxidante de las harinas de frijol. La variedad Flor de Mayo presentó 1, 2.5 y 1.5 veces más concentración de fenoles totales, taninos condensados y flavonoides, respectivamente, así como, mayor capacidad antioxidante, que la variedad Flor de Junio; la cual a su vez mostró mayor contenido de antocianinas y su capacidad inhibitoria media (CI_{50}) de la capacidad antioxidante fue menor.

La concentración de fenoles totales obtenidos en este estudio para las variedades Flor de Mayo y Flor de Junio se encuentran dentro de los valores reportados por Guzmán-Maldonado y col. (2005), así como Espinosa-Alonso y col. (2006), quienes evaluaron algunas variedades de frijol cocido, dentro de las que se encuentran las variedades negras, cafés, amarillos y moteadas, mostrando un rango de fenoles totales de entre 0.90-2.1 mg eq. ácido gálico/g de harina.

En cuanto al contenido de taninos condensados, Gallegos-Tintoré y col. (2004), Espinosa-Alonso y col. (2006) y Aparicio-Fernández y col. (2005), reportaron valores entre 9.4 y 37.8 mg eq. (+)catequina/g de harina para diferentes variedades de frijol, por lo que los resultados obtenidos para las variedades Flor de mayo y Flor de junio se encuentran dentro de dicho rango.

Respecto a la concentración de antocianinas obtenida para las dos variedades, ésta se encontró dentro de los valores reportados por Guzmán-Maldonado y col. (2005) y Serna (2007), quienes obtuvieron concentraciones en diversas variedades de frijol de 14.1-323.3 mg eq. cianidina 3-glucósido /kg de harina.

La capacidad hipoglucemiante y antioxidante del frijol se le ha atribuido de manera importante al contenido de compuestos fenólicos presentes en dicha leguminosa; además, se relaciona con su capacidad antioxidante. Los compuestos fenólicos poseen en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo, lo cual hace que posea la característica de secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado al radical, además la estructura quinona formada es bastante estable para soportar un electrón desapareado (Fernández-Pachón y col., 2006).

Serna (2007) reportaron valores de 257.1 y 357.4 μM eq. Trolox/g de harina para frijoles pintos y negros, respectivamente. Los resultados obtenidos muestran valores similares a los reportados por otros autores, y es importante destacar que la variedad Flor de Mayo presenta 1.2 veces más capacidad antioxidante que Flor de Junio. Esto a su vez se correlaciona directamente con el contenido de fenoles totales, taninos y flavonoides que mostró Flor de Mayo, ya que los valores fueron mayores para esta variedad en comparación con Flor de Junio.

Sobre la CI_{50} , se puede observar en el Cuadro 7, que la variedad Flor de Junio mostró menor CI_{50} que Flor de Mayo, para la cual fue 1.2 veces mayor. Estos resultados nos indican que la variedad Flor de Junio requiere menor concentración para inhibir el radical ABTS, sin embargo esta variedad no fue la que mostró mayor concentración de fenoles totales, taninos y flavonoides, por lo que la actividad sobre el radical ABTS pudiera ser ejercida por las antocianinas,

las cuales estuvieron en mayor concentración en dicha variedad, o por algunos otros compuestos no evaluados en este trabajo, como algunas fracciones peptídicas, que se han reportado para algunas variedades e hidrolizados de frijol, capaces de ejercer actividad antioxidante (Ruiz-Ruiz y col., 2008).

Cuadro 7. Concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las harinas de frijol cocido

Parámetro	FMB	FJB
Fenoles totales¹	1.53 ± 0.03 ^a	1.49 ± 0.01 ^a
Taninos condensados²	18.42 ± 0.30 ^a	7.47 ± 0.08 ^b
Flavonoides³	23.17 ± 3.16 ^a	15.00 ± 1.33 ^a
Antocianinas⁴	27.50 ± 0.29 ^b	31.24 ± 0.23 ^a
Capacidad antioxidante⁵	409.10 ± 20.40 ^a	350.80 ± 11.80 ^a
Cl₅₀⁶	49.71 ± 0.51 ^a	41.62 ± 0.95 ^b

Los valores representan la media ± D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa entre variedades, para cada parámetro evaluado ($p < 0.05$), mediante la prueba de Tukey. FMB= Flor de Mayo 08030, FJB= Flor de Junio 08058.

¹Expresados en mg eq. ácido gálico/g de harina

²Expresados en mg eq. (+)catequina/g de harina

³Expresados en mg eq. rutina/g de harina

⁴ Expresados en mg eq. cianidina 3-glucósido/kg de harina

⁵Expresada en μ M eq. Trolox/g de harina

⁶ Expresados en mg de harina/mL

Así mismo, no se tienen reportes referentes a la Cl₅₀ para las variedades empleadas en este estudio. Este resultado, aunque es ejemplo de la capacidad antioxidante que los frijoles pueden ejercer, es importante mencionar que es un estudio *in vitro*, además de que muchos otros compuestos pueden ser capaces de donar electrones para estabilizar el radical de ABTS y por lo tanto mostrar Cl₅₀ menores; por lo que los resultados obtenidos para el Cl₅₀ de esta variedad no mostraron relación con lo observado en el estudio *in vivo* sobre obesidad, ya que Flor de Mayo fue la variedad que mostró mejores resultados en dicho estudio.

VIII. CONCLUSIONES

Mediante la dieta obesigénica que se utilizó en este trabajo, se obtuvieron algunas alteraciones, principalmente en el metabolismo de la glucosa, durante la etapa preventiva. Sin embargo, dichos cambios, no proporcionaron el conjunto de factores que componen toda la patología establecida para la obesidad, por lo que los efectos nutracéuticos del frijol no se pudieron observar de manera detallada.

Por lo anterior, el frijol no mostró efectos preventivos sobre el incremento de peso corporal causado por la dieta hipercalórica administrada para la inducción de obesidad; sin embargo, la variedad Flor de Mayo previno el proceso de hipertrofia en los adipocitos, así como, la acumulación de triglicéridos en dichas células.

Así mismo, la variedad Flor de Mayo mostró protección contra el desarrollo de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina en la etapa con fines preventivos, lo cual se pudo observar al obtener menor área bajo la curva durante la realización de una prueba de tolerancia a la glucosa, así como en los niveles de glucosa e insulina en ayuno.

En la etapa control se logró un grado de obesidad más avanzado en los animales sometidos a la dieta obesigénica; ya que se obtuvo mayor incremento de peso corporal e IMC, así como, mayor contenido de triglicéridos en adipocitos, lo que se vio reflejado en mayor tamaño de dichas células; así mismo, se alteró de manera importante el metabolismo de carbohidratos, reflejado en mayores niveles de glucosa, intolerancia a la glucosa, además de presentarse procesos oxidativos en el páncreas.

Por lo que el consumo de la variedad Flor de Mayo mostró reducciones en parámetros relacionados con el desarrollo de obesidad, así como en el almacenamiento de grasa en la etapa control de este estudio.

En la etapa control, los animales obesos presentaron daño oxidativo en páncreas, lo que posiblemente originó disminución en la síntesis de insulina y por lo tanto, alteraciones en el metabolismo de la glucosa.

El frijol de la variedad Flor de Mayo mostró actividad antioxidante y antiinflamatoria en el modelo de obesidad.

El consumo de la variedad Flor de Junio no ejerció efectos preventivos ni de control sobre el desarrollo de obesidad, por lo que se presentaron alteraciones en parámetros relacionados con el desarrollo de resistencia a la insulina; sin embargo, disminuyó el tamaño de adipocitos de la zona abdominal, lo cual es deseable durante la obesidad, ya que se reduce de manera importante el riesgo de complicaciones propias de dicha patología.

La protección del frijol fue dependiente de la variedad de frijol y el grado de obesidad obtenido; sin embargo en términos generales el frijol puede considerarse como parte de una dieta equilibrada para disminuir la obesidad y sus complicaciones.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Aal E S M, Hucl P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* 76: 350-354.
- Acosta-Gallegos J A, Pérez-Herrera P. Situación del cultivo de frijol común en México. *Producción e investigación*. Consultado el 28 de abril 2010.
- Aguirre-Santos E A, Gómez-Aldapa C A. 2010. Evaluación de las características fisicoquímicas en la especie de frijol *Phaseolus vulgaris* L. de las variedades Pinto Saltillo, Bayo Victoria y Negro San Luis. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Almanza-Pérez J A, Blancas-Flores G, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar F J, Cruza M. 2008. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *Gac Méd Méx.* 144: 535-542.
- Amezcu-Guerra L M, Springall del Villar R, Bojalil-Parra R. 2007. Proteína C Reactiva: aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda. *Arch Cardiol Méx.* 77: 58-66.
- AOAC. 1965. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 10th edition. 744-745.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists, 923.03, 920.39.
- Aparicio-Fernández X, Yousef G G, Loarca-Piña G, De Mejia E, Lila M A. 2005. Characterization of polyphenolics in the seed coat of Black Jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *J Agric Food Chem.* 53: 4615-4622.

- Bajaj M, DeFronzo R A. 2003. Metabolic and molecular basis of insulin resistance. *J Nucl Cardiol.* 10: 311-323.
- Barquera-Cervera S, Hernández-Ávila M, Rivera-Dommarco J, Rodríguez-Cabrera L, Santos-Burgoa Zarnecki C, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, Durán-Vidaurre E. 2010. Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, Estrategias contra el sobrepeso y la obesidad. 1ª edición. Enero 2010. 7-19.
- Barreto L, Munar F, Acosta E, Terront A. 2001. Obesidad: fisiología de la ingesta (Primera parte). *RCCP.* 7:46-51.
- Bartoli E, Fra G P, Carnevale Schianca G P. 2011. The oral glucose tolerance test (OGTT) revisited. *Eur J Intern Med.* 22:8-12.
- Bastarrachea R A, López-Alvarenga J C, Bolado-García V E, Téllez-Mendoza J, Laviada-Molina H, Comuzzie A G. 2007. Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gac Méd Méx.* 143: 505-512.
- Blanco-Quirós A. 2007. Obesidad y respuesta inflamatoria. *Bol Pediatr.* 47: 237-249.
- Boden G. 1997. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes.* 46: 3-10.
- Bonet M L, Ribot J, Palou A. 2009. Citocinas y control metabólico. *Rev Esp Obes.* 7: 22-47.

- Broughton W J, Hernández G, Blair M, Beebe S, Gepts P, Vanderleyden J. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant and soil*. 252: 55-128.
- Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer L C. 2007. High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. *Obesity*.15: 798-808.
- Cañete-Estrada R, Gil-Campos M. 2007. Nuevos aspectos de la obesidad. *Vox Pediatr*. 15: 44-49.
- Carai M, Fantini N, Loi B, Colombo G, Riva A, Morazzoni P. 2009. Potencial efficacy of preparations derived from *Phaseolus vulgaris* in the control of appetite, energy intake, and carbohydrate metabolism. *Diabetes, Metab Syndr Obes*. 2: 145-153.
- Carmona-García R, Osorio-Díaz P, Agama-Acevedo E, Tovar J, Bello-Pérez L A. 2007. Composition and effect of soaking on starch digestibility of *Phaseolus vulgaris* L. cv `Mayocoba´. *Int J Food Sci Technol*. 42: 296-302.
- Castellanos JZ, Guzmán-Maldonado SH, Jiménez A, Mejía C, Muñoz-Ramos JJ, Acosta-Gallegos JA, Hoyos G, López-Salinas E, González ED, Salinas-Pérez R, González-Acuña J, Muñoz-Villalobos JA, Fernández-Hernández P, Cázares B. (1997). Preferential habits of Mexican consumers of common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Arch Lat Nutr*. 27: 163–167.
- Celleno L, Tolaini M V, D'Amore A, Perricone N V, Preuss H G. 2007. A dietary supplement containing standardized *Phaseolus vulgaris* extract influences body composition of overweight men and women. *Int J Med Sci*. 4: 45-52.

- Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, von Bergmann K, Grundy S M, Brinkley L J. 2000. Beneficial Effects of High Dietary Fiber Intake in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 342:1392-1398
- Chiarelli F, Marcovecchio ML. 2008. Insulin resistance and obesity in childhood. *Eur J Endocrinol.* 159:S67-74.
- Córdova-Villalobos JA, Barriguete-Meléndez JA, Lara-Esqueda A, Barquera S, Rosas-Peralta M, Hernández-Ávila M, de León-May ME, Aguilar-Salinas CA. 2008. Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública de México.* 50: 419-427.
- Deshpande S S, Cheryan M. 1987. Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. *J Food Sci.* 52: 332-334.
- Després J P, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, Rodés-Cabau J, Bertrand O F, Poirier P. 2008. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution of global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28:1039-1049
- Diaz-Batalla L, Widholm J M, Fahey G C Jr, Castaño-Tostado E, Paredes-López O. 2006. Chemical components and health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem.* 54: 2045-2052.
- Drago S R, González R J, Chel-Guerrero L, Valencia M E. 2007. Evaluación de la disponibilidad de minerales en harinas de frijol y en mezclas de maíz/frijol extrudidas. *Información Tecnológica.* 18: 41-46.
- Eckardt K, Sell H, Eckel J. 2008. Novel aspects of adipocyte-induced skeletal muscle insulin resistance. *Arch Physiol Biochem,* 114: 287-298.

- Eckel R, Grundy S. 2006. Insensibilidad a la Insulina y obesidad: la causa subyacente. *Diabetes Voice*. 51: 28-30.
- Engstrom L W, Bobber L, Chen S C, Fine J S, Li Y, Stanton M C, Kinsley D, Cui L, Jackson J V, Rojas-Triana A, Lundell D, Lavery M, Gustafson E L, Jenh C H, Kowalski T J, Manfra D J. 2010. Kinetic Assessment and therapeutic modulation of metabolic and inflammatory profiles in mice on a high-fat and cholesterol diet. *PPAR Res*. 10:1-13.
- Espinoza-Alonso L G, Lygin A, Widholm J M, Valverde M E, Paredes-Lopez O. 2006. Polyphenols in wild and weebly mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem*. 54:4436-4444.
- Fernández-Pachón M S, Villaño D, Troncoso A M, García-Parrilla M C. 2006. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Arch Latinoam Nutr*. 56:110-122.
- Financiera Rural. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. 2011. Monografía del Frijol.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 226:497-509.
- Gallegos-Tintoré S, Pacheco-Aguirre J, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. 2004. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano en *Phaseolus lunatus* L. *Arch Latinoam Nutr*. 54: 81-88.
- Galinier A, Carriere A, Fernandez Y, Caspar-Bauguil S, Periquet B, Periquet A, Penicaud L, Casteilla L. 2006. Site specific changes of redox metabolism in adipose tissue of obese Zucker rats. *FEBS Lett*. 580: 6391 - 6398.

- Girard A, Madani S, El Boustani ES, Belleville J, Prost J. 2005. Changes in lipid metabolism and antioxidant defense status in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats fed a diet enriched with fructose and saturated fatty acids. *Nutrition* 21: 240 - 248.
- Gómez R, Conde J, Gómez-Reino J J, Lago F, Gualillo O. 2009. Las adipocinas: mediadores emergentes de la respuesta inmune y de la inflamación. *Reumatol Clín.* 5: 6-12.
- Goran MI, Gower BA. 1999. Relation between visceral fat and disease risk in children and adolescents. *Am J Clin Nutr.* 70: 149-156.
- Gutteridge J M. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 41: 1819-1828.
- Guzmán-Maldonado S H, Paredes-López O. 1998. Functional products of plant indigenous to Latin America, quinoa, common beans and botanicals. En *Functional Foods: Biochemical and processing Aspects.* Mazza G (ed.), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster PA. 293-328.
- Guzmán-Maldonado S H, Paredes-López O. 1999. Biotechnology for the improvement of nutritional quality of food crop plants. En: *Molecular Biotechnology for Plant Food Production.* Paredes-López O (ed.). Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, PA. 553-620.
- Guzmán-Maldonado S H, Torres-Pacheco I, Mora-Avilés A, Acosta-Gallegos J A, Miranda-López R, Guevara-Lara R. 2005. Potencial de plantas de uso común en México como fuentes de compuestos fenólicos, hierro y vitamina C. *Agric Téc Méx.* 31: 115-123.
- Hendrick J A, Tadokoro T, Emenhiser C, Nienaber U, Fennema O R. 1992. Various dietary fibers have different effects on lipase-catalyzed hydrolysis of tributyrin *in vitro*. *J Nutr.* 122: 269-277.

- Hotamisligil G S, Arner P, Caro J F, Atkinson R L, Spiegelman B M. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 95: 2409–2415.
- Iniestra-González J J, Ibarra-Pérez F J, Gallegos-Infante J A, Rocha-Guzmán N E, González-Laredo R F. 2005. Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia.* 39: 603-610.
- Jacinto-Hernández C, Carrillo-Castañeda G, Campos-Escudero A. 1996. Caracterización de cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por sus cualidades físicas y nutricionales y aspectos metodológicos. *Agronomía Mesoamericana.* 7: 32-41.
- Jeong S, Yoon M. 2009. Fenofibrate inhibits adipocyte hypertrophy and insulin resistance by activating adipose PPAR α in high fat diet-induced obese mice. *Exp Mol Med.* 41: 397-405.
- Jiménez-Martínez M C, Chávez-Sánchez F R. Respuesta inmunológica en la obesidad. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado el 27 de abril 2010 en: <http://www.facmed.unam.mx/pibc/segundo/guias/referencias/resinm.pdf>
- Kauffer-Horwitz M, Tavano-Colaizzi L, Ávila-Rosas H. 2000. Obesidad en el adulto. En: *Nutriología médica.* Casanueva E, Kaufer- Horwitz M, Pérez-Lizaur A, Arroyo P. 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. Madrid, España. 283-310
- Kim J, Choi S, Kong B, Oh Y, Shinn S. 2001. Insulin secretion and sensitivity during oral glucose tolerance test in Korean lean elderly women. *J Korean Med Sci.* 16:592-7.

- Krauss R M, Winston M, Fletcher B J, Grundy S M. 1998. Obesity: Impact on cardiovascular disease. *Circulation*. 98: 1472:1476.
- López I P, Marti A, Milagro F I, Zulet M A, Moreno-Aliaga M J, Martinez J A, De Miguel C. 2003. DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (cafeteria) obese rats. *Obes Res*. 11:188-194.
- Luzuriaga C. 2000. Complicaciones de la obesidad. Consultada el 30 de abril 2010
- Maassen J A, Romijn J A, Heine R J. 2007. Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling in adipocytes as a key protective factor against insulin resistance and beta cell dysfunction: a new concept in the pathogenesis of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 50: 2036-2041.
- Maiz A. 2005. El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. *Bol Esc Med*. 30: 25-30.
- Martinez-Abundis E, Sánchez-Rodríguez M A, Hafidi-Bentlakder M E. 2005. Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquímica*. 30: 82-89.
- Mederos Y. 2006. Indicadores de la calidad en el grano de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*. 27: 55-62.
- Mendoza-Sánchez M. 2009. Efecto protector del frijol Negro 8025 sobre el daño pancreático y renal generado durante el desarrollo y complicaciones de la diabetes. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Ng S F, Lin R C, Laybutt D R, Barres R, Owens J A, Morris M J. 2010. Chronic high-fat diet in fathers programs β -cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*. 467:963-966.

- Norman R A, Bogardus C, Ravussin E. 1995. Linkage between Obesity and a Marker Near the Tumor Necrosis Factor- α Locus in Pima Indians. *J Clin Invest.* 96: 158–162.
- Obiro W C, Zhang T, Jiang B. 2008. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amilasa inhibitor. *Br J Nutr.* 100: 1-12.
- Oomah B D, Corbé A, Balasubramanian P. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *J Agric Food Chem.* 58: 8225-8230.
- Organización Mundial de la Salud, Nota descriptiva N° 311, Marzo 2011. Obesidad y Sobrepeso. Consultada el 6 de julio del 2011 en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>.
- Paredes-López O, Valverde M E. 2006. Los recursos nutracéuticos y medicinales que Mesoamérica le ha dado al mundo. *Avance y Perspectiva (Cinvestav).* 25: 65-73
- Pérez-Herrera P, Esquivel-Esquivel G, Rosales-Serna R, Acosta-Gallegos J A. 2002. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Arch Latinoam Nutr.* 52: 172-180
- Prosky L, Asp N G, Schweizer T F, DeVries J W, Furda I. 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem.* 71:1017-1023.
- Reyes-Moreno C, Paredes-López O. 1993. Hard-to-cook phenomenon in common beans—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 33: 227–286.
- Reyes-Rivas E, Padilla-Bernal L E, Pérez-Veyna O, López-Jáquez P. 2008. Historia, Naturaleza y Cualidades alimentarias del frijol. *Rev Inves Cient.* 4: 1–21.

- Reynoso-Camacho R, Ramos-Gómez M, Loarca-Pina G. 2006. Bioactive components in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). En: Advances in Agricultural and Food Biotechnology. Guevara-González R G, Torres-Pacheco I, (eds.). Research Signpost, India. 217- 236.
- Rivera-Dommarco JA, Barquera S, Campirano F, Campos I, Safdie M, Tovar V. 2002. Epidemiological and nutritional transition in Mexico: Rapid increase of non-communicable chronic diseases and obesity. Public Health Nutr. 5: 113-122.
- Rodríguez-López A J, Navarro-Méndez J M, Verlezza S. 2004. Obesidad: efecto de la pérdida de peso sobre los valores de proteína C reactiva, fibrinógeno e insulino resistencia. Med Interna. 20: 211-220.
- Rovira B L. 2011. Capítulo II. Tejido Adiposo. En: Obesidad y psicopatología. 25-50. Consultada el 11 de julio 2011 en: http://www.ama-med.org.ar/obesidad/CAP-2_TEJIDO%20ADIPOSO.pdf
- Rufino M, Barbero P, Hernández D, Torres A, Lorenzo V. 2007. Importancia del test de sobrecarga oral a la glucosa (TSOG) en una consulta específica de IRC avanzada estadio IV y V. Nefrología. 27: 30-7.
- Ruiz-Ruiz J, Dávila-Ortíz G, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. 2008. Actividad Antioxidante de fracciones peptídicas de hidrolizados de frijol endurecido. IV Congreso Nacional y III del Caribe en Ciencia y Tecnología de Alimentos “Alimentos, innovación y salud”.
- Sandoval-Gallegos E M, Ramírez-Moreno E, Palma-Orozco G, Suárez-Diequez T. 2007. Determinación de la Digestibilidad del Almidón y proteína, Almidón Resistente de Proteína en frijol variedad “Pinto de Saltillo. IX Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 545-553.

- Saura-Calixto F, Bravo L, Mañas E. 1993. Resistant starch in foods: modified method for dietary fiber residues. *J Food Sci.* 58: 642-653.
- Secretaría de Salud. 2006. Instituto Nacional de Salud Pública. Boletín de Práctica Médica Efectiva, Obesidad Infantil, Noviembre 2006. Consultada el 20 de abril del 2010 en http://www.insp.mx/Portal/Centros/ciss/nls/boletines/PME_14.pdf.
- Secretaría de Salud. 2007. Dirección General de Información en Salud. Diez Principales Causas de Mortalidad en Hombres y Mujeres, 2007. Consultada el 19 de abril del 2010 en http://sinais.salud.gob.mx/descargas/xls/diezprincausasmort2007_CNE GySR
- Serna, M. C. 2007. Estudio de la relación del consumo de diferentes concentraciones de frijol cocido con la prevención y desarrollo de cáncer de colon. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Serrano J, Goñi I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. *Arch Lat Nutr.* 54: 36-44.
- Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. 2007. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology.* 132: 2169-2180.
- Siddhuraju P, Becker K. 2003. Antioxidant properties of various solvent ex-tracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J Agric Food Chem.* 51: 2144 – 2155.
- Singla P, Bardoloi A, Parkash A A. 2010. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes.* 1: 76-88.

- Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299:152-178.
- Thévenod F, Masur K, Zänker K S. 2008. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: Role of obesity, insulin resistance and β -cell dysfunction. *Diabetes and cancer.* 19: 1-18
- Tschöp M, Heiman M L. 2001. Rodent obesity models: an overview. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 109: 307-319.
- Villegas E, Mertz E T. (1971) Chemical screening methods for maize protein quality at CIMMYT. *Research Bull No. 1. CIMMYT.*
- Wardle E N. 2004. PPAR: Receptors that Regulate Inflammation. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 15:1-6.
- Xie K X, Xiao Y F, Xu E D, Yin C Y, Yi X Q, Chang M. 2010, Effect of early high fat diet on pancreatic β cellularity and insulin sensibility in young rats. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 12:740-743.
- Zeng H, Locatelli M, Bardelli C, Amoruso A, Coisson J D, Travaglia F, Arlorio M, Brunelleschi S. 2011. Anti-inflammatory properties of clovamide and Theobroma cacao phenolic extracts in human monocytes: evaluation of respiratory burst, cytokine release, NF- κ B activation, and PPAR γ modulation. *J Agric Food Chem.* 59:5342-50.