

EFFECTO DEL EXTRACTO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE MAÍZ CRIOLLO ELOTES OCCIDENTALES
SOBRE MARCADORES DE OBESIDAD ASOCIADOS A LA VÍA AMPK EN RATONES C57BL/6 ALIMENTADOS
CON UNA DIETA ALTA EN GRASA

L.N. Sarah Nicole Lee
Martínez



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA



Efecto del extracto de compuestos fenólicos de maíz criollo Elotes Occidentales sobre marcadores de obesidad asociados a la vía AMPK en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias en Biomedicina

Presenta

L.N. Sarah Nicole Lee Martínez

Dirigido por:

Dra. Mardey Liceth Cuéllar Núñez

Codirector:

Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo

Querétaro, Qro., octubre del 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Efecto del extracto de compuestos fenólicos de maíz
criollo Elotes Occidentales sobre marcadores de
obesidad asociados a la vía AMPK en ratones C57BL/6
alimentados con una dieta alta en grasa

por

Sarah Nicole Lee Martínez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: MEMAC-246317



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Maestría en Ciencias en Biomedicina



Efecto del extracto de compuestos fenólicos de maíz criollo Elotes Occidentales sobre marcadores de obesidad asociados a la vía AMPK en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en Biomedicina

Presenta:

L.N. Sarah Nicole Lee Martínez

Dirigido por:

Dra. Mardey Liceth Cuéllar Núñez

Codirigido por:

Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo

Dra. Mardey Liceth Cuellar Núñez

Presidenta

Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo

Secretario

Dra. Rosa Martha Pérez Serrano

Vocal

Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda

Vocal

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Octubre de 2023

México

DEDICATORIA

A mis padres y mi hermano, por nunca soltarme en el camino.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, la Dra. Liceth y el Dr. Iván quienes me han llevado de la mano, me han guiado y acompañado en cada paso de este camino y de quienes espero seguir aprendiendo día con día. Ser su alumna es una bendición.

A mis padres y a mi hermano, que sin ellos jamás habría llegado a este lugar y que me han brindado todo su apoyo y fortaleza para seguir mis sueños. Sé que un día seré quien les prometí ser, gracias por darme alas.

A David, que ha sido mi mejor amigo y confidente durante todo este proceso. Que Dios nos siga llenando de éxito y bendiciones.

A mis amigos y profesores del posgrado de Medicina y Química, de ellos aprendí que las experiencias difíciles mejoran cuando nos ayudamos unos a otros. Su amistad y apoyo me ayudó a superar muchos obstáculos.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca brindada para llevar a cabo este posgrado (CVU: 1142202) y al Fondo para el Desarrollo del Conocimiento (FONDEC-UAQ) por el financiamiento asignado para realizar esta investigación (número de registro: FME-2023-02).

Al MVZ. José Martín García Servín, Dra. Alejandra Castilla León, Dra. María Carbajo Mata y a la Biol. María Eugenia Ramos Aguilar por el apoyo técnico brindado en el Bioterio de la UNAM para la manipulación y mantenimiento de los roedores. Al Dr. Mario Enrique Rodríguez García y al M. en C. Luis Fernando Zubieta Otero por su enseñanza y apoyo técnico en el manejo del ultrasonido. A la Dra. Ericka A. de los Ríos Arellano, de la Unidad de Microscopía UNAM, por su valiosa ayuda en el tratamiento de muestras para histopatología y al Dr. Marco Alonso Gallegos Reyes por su apoyo en el análisis de las muestras de histopatología.

A quien más le agradeceré siempre, a Dios, por ponerme en este camino y darme fortaleza y fe para seguir cuando dudaba de mí. Todos mis logros son gracias a ti y a tu amor.

ÍNDICE

1. Introducción	12
1.1. Bases moleculares de la obesidad	14
1.1.2. Leptina.....	14
1.1.3. Insulina	14
1.1.4. Neuropeptidos	15
1.1.5. MC3R y MC4R	15
1.1.6. Proopiomelanocortina.....	15
1.1.7. Receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR γ)	16
1.1.8. Factor nuclear kappa B (NF- κ B).....	16
2. Antecedentes	18
2.1. Vía AMPK	18
2.2. Obesidad y alimentos funcionales	20
2.3. Compuestos bioactivos.....	20
2.4. Efecto anti obesogénico de los compuestos bioactivos	21
2.5. Análisis <i>in silico</i> del efecto de compuestos bioactivos	23
2.6. Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	24
2.7. Efecto anti obesogénico del maíz	27
2.7.6. Inhibición de la activación de vías NF- κ B y JNK.....	27
2.7.7. Vías de señalización por AMPK	27
2.7.8. Vía de señalización de PPAR γ	28
2.7.9. Efecto sobre marcadores bioquímicos	28
2.8. Efecto sobre hígado graso asociado a disfunción metabólica	29

3.	Hipótesis	30
4.	Objetivos	30
5.	Material y métodos	31
6.	Resultados y discusión	40
6.1.	Caracterización del extracto de MCEO.....	40
6.2.	Impacto de MCEO en la ganancia de peso.....	42
6.3.	Efecto de MCEO en parámetros bioquímicos plasmáticos	45
6.4.	Efecto de MCEO en el peso del tejido adiposo, hígado y bazo	50
6.5.	Análisis histopatológicos	54
6.6.	Análisis <i>in silico</i>	58
7.	Conclusiones	65
8.	Referencias bibliográficas	66
9.	Anexos	78
9.1.	Carta de aceptación de bioética	78
9.2.	Registro de protocolo	79

Índice de figuras:

Figura 1. Bases moleculares de la obesidad.....	16
Figura 2. Genes implicados en la vía AMPK.....	19
Figura 3. Mecanismos moleculares en el efecto antiobesogénico de los polifenoles.....	21
Figura 4. Efecto de los compuestos bioactivos en la vía AMPK.....	22
Figura 5. Diseño experimental de la investigación.....	33
Figura 6. Contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de MCEO.....	39
Figura 7. Ganancia de peso corporal.....	42
Figura 8. Niveles séricos de colesterol total.....	44
Figura 9. Niveles séricos de triglicéridos.....	45
Figura 10. Niveles séricos de glucosa.....	46
Figura 11. Peso del tejido adiposo subcutáneo.....	47
Figura 12. Peso del tejido adiposo epididimal.....	48
Figura 13. Peso del hígado.....	49
Figura 14. Peso del bazo.....	50
Figura 15. Imágenes representativas de hígado.....	52
Figura 16. Imágenes representativas del tejido adiposo.....	54
Figura 17. Coordenadas de interacción <i>in silico</i>	56
Figura 18. Acoplamiento molecular <i>in silico</i> con quercetina.....	57 - 58
Figura 19. Acoplamiento molecular <i>in silico</i> con (+) – catequina.....	59 - 60

Índice de imágenes:

Imagen 1. Grupo ocho hileras.....	25
Imagen 2. Elotes Occidentales.....	26
Imagen 3. Proceso de extracción de compuestos fenólicos.....	30
Imagen 4. Alojamiento de los ratones.....	32
Imagen 5. Sacrificio.....	35
Imagen 6. Muestras en placa de calentamiento para análisis histopatológico.....	36
Imagen 7. Imagen representativa de los grupos experimentales.....	43

Índice de tablas:

Tabla 1. Comparación del CFT y otros maíces nativos.....	40
Tabla 2. Presencia de esteatosis macro y micro vesicular y fibrosis.....	51
Tabla 3. Diámetro de adipocitos por grupo.....	53

Abreviaturas y siglas:

AMPK Proteína Quinasa Activada por Monofosfato de Adenina

MCEO Maíz criollo Elotes Occidentales

OMS Organización Mundial de la Salud

DAG Dieta alta en grasa

DE Dieta estándar

HPLC – DAD Cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos

OCDE Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

FTO Dioxigenasa dependiente de alfa-cetoglutarato

Pparg Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma

Srebf1 Proteína 1 de unión a los elementos reguladores de esteroides

Acaca Acetil-CoA carboxilasa 1

Hmgcr 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa

Sirt1 Sirtuína 1

Lkb1 Cinasa hepática B1

Malonil-CoA Malonil coenzima A

Resumen:

La obesidad es una enfermedad compleja con numerosas implicaciones moleculares y metabólicas en el individuo. La alimentación juega un papel crucial para el desarrollo y prevención de esta enfermedad por lo que es de gran relevancia investigar el potencial antiobesogénico de diversos compuestos de los alimentos. Esta investigación busca caracterizar un extracto metanólico del maíz criollo “Elotes Occidentales” (MCEO) y evaluar su efecto sobre marcadores de obesidad en un modelo *in vivo* con una dieta alta en grasa (DAG) y su potencial efecto modulador *in silico* de la ruta AMPK. Se realizó la extracción metanólica de compuestos fenólicos de MCEO mediante ultrasonido y rotaevaporación. Consecutivamente, se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos en el extracto de MCEO. El extracto de MCEO se administró mediante gelatinas a 4 grupos de ratones macho (n=8/grupo) de la cepa C57BL/6: grupo 1 (control sano), grupo 2 (control inducido: DAG); grupos 3 y 4 (DAG + MCEO: 200 y 400 mg/kg/día respectivamente), durante 13 semanas. Se llevó a cabo un monitoreo fisiológico y de parámetros bioquímicos. Se obtuvo que el MCEO contiene compuestos fenólicos y taninos condensados con capacidad antioxidante. El G4 (400 mg MCEO) mostró un peso final menor en comparación con el G2 (DAG); sin embargo, esta diferencia no fue significativa. Tras 12 semanas de tratamiento, el G1 (DE) y G4 (400 mg MCEO) presentaron los niveles séricos más bajos de colesterol total y triglicéridos en comparación con el G2 (DAG) y el G3 (200 mg MCEO). No se observaron diferencias significativas en los niveles de glucosa finales entre los grupos. Los grupos G2 (DAG) y G3 (200 mg MCEO) mostraron mayor presencia de esteatosis macro y microvesicular en comparación con G4 (400 mg MCEO). Los G3 y G4 (-11.5 y -21.9 μm , $p < 0.05$) mostraron una menor hipertrofia de adipocitos comparado con el G2. AMPK y HMGCR mostraron la mayor afinidad con los compuestos fenólicos catequina y quercetina mientras que SREBP1 mostró la menor afinidad con estos compuestos.

Palabras clave: AMPK, compuestos fenólicos, Elotes Occidentales, maíz nativo, Obesidad.

Abstract:

Obesity is a complex disease with numerous molecular and metabolic implications in the individual. Diet plays a crucial role in the development and prevention of this disease, so it is of great relevance to investigate the anti-obesogenic potential of various food compounds. This research aimed to characterize a methanolic extract of the creole maize "Elotes Occidentales" (MCEO) and to evaluate its effect on obesity markers in a high-fat diet (HFD) induced *in vivo* model (HFD) and its potential modulatory effect *in silico* on the AMPK pathway. Methanolic extraction of phenolic compounds from MCEO was performed by ultrasonication and rotaevaporation. Afterwards, the content of phenolic compounds in the MCEO extract was quantified. MCEO extract was administered via gelatin to 4 groups of male mice (n=8/group) of C57BL/6 strain: group 1 (healthy control), group 2 (induced control: HFD); groups 3 and 4 (HFD + MCEO: 200 and 400 mg/kg/day respectively), for 13 weeks. Physiological and biochemical parameters were monitored. It was obtained that MCEO contains phenolic compounds and condensed tannins with antioxidant capacity. G4 (400 mg MCEO) showed a lower final weight compared to G2 (HFD); however, this difference was not significant. After 12 weeks of treatment, G1 (SD) and G4 (400 mg MCEO) had the lowest serum levels of total cholesterol and triglycerides compared to G2 (HFD) and G3 (200 mg MCEO). No significant differences in final glucose levels were observed between groups. G2 (HFD) and G3 (200 mg MCEO) groups showed higher presence of macro- and microvesicular steatosis compared to G4 (400 mg MCEO). Groups 3 and 4 showed less TA hypertrophy compared to G2 (-11.5 y -21.9 μm , $p < 0.05$). AMPK and HMGCR showed the highest affinity for the phenolic compounds catechin and quercetin while SREBP1 showed the lowest affinity for these compounds.

Key words: Obesity, native maize, Elotes Occidentales, AMPK, phenolic compounds.

1. Introducción

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que es perjudicial para la salud (Organización Mundial de la Salud, 2021). A su vez, genera un estado de inflamación crónica de bajo grado o meta inflamación con efectos metabólicos (Russo & Lumeng, 2018). De acuerdo con la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), casi 1 de cada 3 personas en México padece obesidad (OCDE, 2019).

La alimentación juega un papel crucial en el desarrollo y prevención de este padecimiento. Si bien el consumo de dietas altas en azúcares y grasas saturadas ocasionan diversas alteraciones metabólicas que predisponen al individuo a padecer sobrepeso u obesidad, existen diversos alimentos con potencial benéfico a la salud. En este sentido, el estudio de alimentos funcionales como el maíz criollo tiene un gran potencial como estrategia terapéutica para el abordaje de esta enfermedad.

La obesidad se caracteriza por ser una enfermedad compleja con numerosas implicaciones moleculares y metabólicas en el individuo (Mayoral et al., 2020). Si bien la teoría de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético forma parte de la etiopatogenia de esta enfermedad, debemos abordar las diferentes etiologías desde los factores genéticos hasta los patológicos (USDA, 2015).

Esta enfermedad se caracteriza por ser una enfermedad multifactorial. Se han clasificado tres tipos de obesidad según su etiología siendo la más prevalente la obesidad común o multifactorial causada principalmente por mala alimentación y sedentarismo y en menor proporción la obesidad sindrómica causada por afecciones genéticas como el síndrome de Prader-Willi y síndrome de Cohen y la obesidad monogénica no sindrómica asociada a genes relacionados con obesidad severa (Quiroga de Michelena, 2017).

Respecto a los factores genéticos, el gen *FTO* se encuentra relacionado con el desarrollo de obesidad a través de un complejo proceso de adipogénesis capaz de actuar a nivel hipotalámico y afectar la homeostasis nutricional impactando en los ciclos de hambre y saciedad (Zhao et al., 2014).

Por su parte, la microbiota intestinal ha sido relacionada en la actualidad con procesos obesogénicos, por lo que la presencia de desequilibrios en la composición de esta ha sido asociada con el desarrollo de resistencia a la insulina y aumento del peso corporal (Abenavoli et al., 2019). Los estudios realizados en este proceso fisiopatológico han mostrado que la microbiota intestinal tiene implicaciones metabólicas capaces de reducir el tamaño de los adipocitos del tejido adiposo mesentérico, así como de reducir los niveles séricos de leptina (Clarke et al., 2014).

La obesidad no es una enfermedad aislada, sino que se interrelaciona con otras enfermedades las cuales, en conjunto, son responsables del detrimento en la calidad de vida del individuo. La obesidad predispone a las personas a padecer Diabetes Mellitus tipo 2 debido a la desregulación de glucosa, dislipidemia y cáncer por su efecto meta inflamatorio, hipertensión arterial y enfermedades hepáticas como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (Andolfi & Fisichella, 2018). Estudios recientes han demostrado que la obesidad predispone a una mayor severidad de COVID-19 (Zhou et al., 2021).

Una de las mayores complicaciones de la obesidad es la enfermedad de hígado graso asociado a disfunción metabólica (MAFLD por sus siglas en inglés) anteriormente conocido como hígado graso no alcohólico (NAFLD), ya que es la enfermedad hepática más común en el mundo y es considerada una síntoma hepático del síndrome metabólico. En la actualidad se ha determinado que cerca de un 80% de los individuos con MAFLD presentan un diagnóstico de obesidad (Vicente-Herrero et al., 2022). Esta enfermedad implica un amplio espectro de daño hepático que puede ir desde la afectación de los hepatocitos hasta fibrosis y se caracteriza por la presencia de esteatosis hepática, balonización e inflamación y fibrosis (Pouwels et al., 2022).

1.1. Bases moleculares de la obesidad

Si bien los factores ambientales como lo son el estilo de vida, la homeostasis energética y algunas enfermedades como las mencionadas con anterioridad son parte de la fisiopatología de la obesidad, en los últimos años, se ha incrementado el estudio de los eventos moleculares que suscitan la aparición de esta enfermedad.

1.1.2. Leptina

La alimentación se encuentra regulada por diversas moléculas en hipotálamo a través del sistema nervioso central (SNC). La leptina es la hormona responsable de inhibir la ingesta de alimentos, ya que funge como un sensor de energía acumulada en tejido adiposo blanco para la supresión del apetito y estimulación del gasto de energía (Izquierdo et al., 2019).

La leptina se encuentra relacionada con procesos metabólicos como la oxidación de ácidos grasos mediante la activación de la proteína activada por AMPK; sin embargo, en sujetos con obesidad, la leptina es incapaz de regular el consumo de alimentos, lo cual se define como resistencia a la leptina (Kwon et al., 2016).

1.1.3. Insulina

La insulina es una hormona secretada por las células β – pancreáticas capaz de detectar y actuar ante diversas señales de adiposidad ya que interactúa con receptores en el hipotálamo para disminuir la ingesta de alimentos (Mayoral et al., 2020). La obesidad se caracteriza por ser una acumulación excesiva de grasa en el individuo relacionada con la lipotoxicidad, la cual es responsable de alterar el metabolismo de la glucosa y alterar vías metabólicas causando resistencia a la insulina y disfunción β – pancreática, inhibiendo su función en el control hipotalámico del consumo de alimentos (Yazıcı & Sezer, 2017).

1.1.4. Neuropéptidos

Existen neuropéptidos responsables de estimular el apetito conocidos como orexígenos como la proteína relacionada con el agutí (AGRP) y el neuropéptido Y (NPY). Este último, envía señales al SNC para el aumento del consumo de alimentos, de peso corporal y de adiposidad (Dalvi et al., 2017).

Respecto a AGRP, esta proteína es capaz de estimular el apetito al ser un antagonista de los neurotransmisores MC3R (receptor 3 de melanocortina) y MC4R (receptor 4 de melanocortina) en el hipotálamo, regulando así no solo el apetito sino el peso corporal del individuo ya que son cruciales para el mantenimiento de la homeostasis energética (Sohn, 2015).

1.1.5. MC3R y MC4R

Como se mencionó con anterioridad, la MC3R y MC4R son receptores responsables de mantener la homeostasis energética mediante la regulación de la ingesta de alimentos. Estos receptores se encuentran involucrados en la conservación del equilibrio entre la ingesta de energía y el gasto energético. Es importante mencionar que estos receptores de señalización se centran en la vía de la melanocortina, responsable de regulación del equilibrio energético y la homeostasis mediante la activación e inhibición de la leptina (Baldini & Phelan, 2019).

1.1.6. Proopiomelanocortina

La proopiomelanocortina (POMC) es un polipéptido precursor de la hormona alfa-estimulante de melanocitos (α -MSH) con efectos anorexígenos en el individuo. Actúa a nivel del SNC en el hipotálamo recibiendo señales de AGRP/NPY. Su capacidad de inhibir el apetito surge de la producción de hormona estimulante de los melanocitos (MSH) e incidiendo en la actividad de MC4R y MC3R (Candler et al., 2019).

1.1.7. Receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR γ)

PPAR γ es el principal regulador de los procesos moleculares involucrados en la proliferación y diferenciación de los adipocitos. Se ha observado que la desregulación de PPAR γ conduce a cambios metabólicos en el individuo como lipodistrofia, obesidad y resistencia a la insulina (Engin, 2017; Lefterova et al., 2014).

Dado que PPAR γ actúa como reguladora de la diferenciación entre el tejido adiposo blanco y pardo (WAT y BAT, por sus siglas en inglés respectivamente), su papel en el desarrollo de la obesidad y la homeostasis energética es de gran importancia (WU et al., 2020).

1.1.8. Factor nuclear kappa B (NF- κ B)

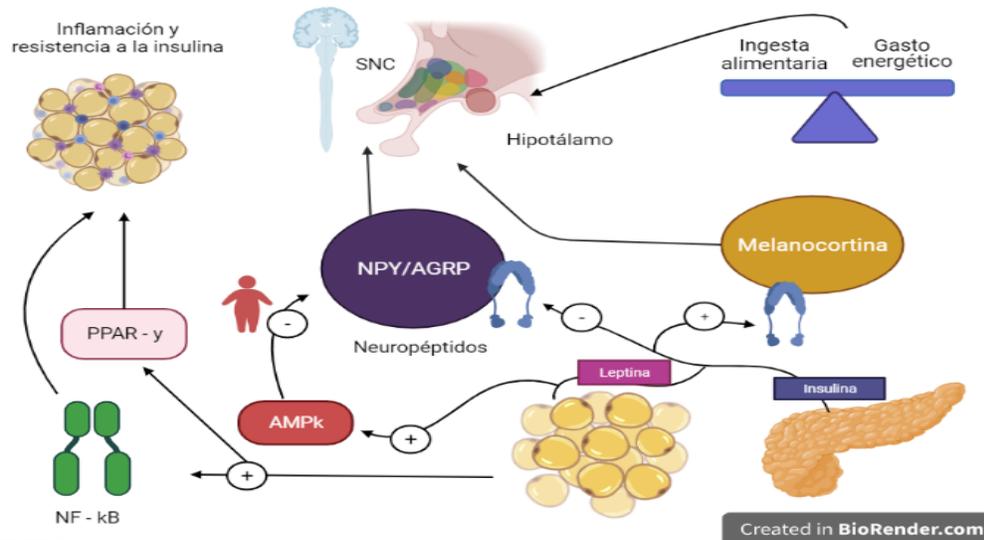
El factor nuclear kappa B (NF κ B) es un factor nuclear de transcripción cuya actividad es clave para generar las respuestas inflamatorias y la inmunidad. Este complejo proteico se encuentra altamente regulado, por lo que diversos estudios han señalado que la activación o desregulación de este factor produce resistencia a la insulina en individuos que viven con obesidad. Estudios recientes han demostrado un aumento en su activación tras el consumo de dietas altas en grasa y obesidad (de Sá et al., 2017; Minegishi et al., 2015; Mitchell et al., 2016).

1.1.6. Proteína quinasa activada por Adenosín monofosfato (AMPK)

La AMPK funge como un sensor de gran relevancia para mantener el balance energético mediante la detección de señales asociadas con la saciedad y el hambre. A su vez, actúa en hipotálamo para regular la termogénesis en el tejido adiposo pardo (BAT) en el SNC (López et al., 2016).

Figura 1

Bases moleculares de la obesidad.



Nota. En la figura se muestran eventos moleculares asociados con la obesidad. Elaborado por Lee-Martínez, 2021.

La obesidad es un problema de salud pública, cuya tendencia se encuentra al alza con el paso de los años. Según el Atlas de la Obesidad, se estima que para el año 2030 la prevalencia de esta enfermedad aumentará del 15 % al 18 % (Lobstein, Brinsden & Neveux, 2022), lo que hace aún más notable que la estadística de esta enfermedad va en aumento, ya que entre 1975 y 2016, la prevalencia de la obesidad se ha casi triplicado a nivel mundial.

La alimentación es un factor de suma importancia en la etiopatogenia de la obesidad por lo que la evaluación de los componentes bioactivos de alimentos funcionales como el maíz criollo y su impacto en procesos antiobesogénicos es de gran relevancia para el abordaje de esta enfermedad.

En México existen los Programas Nacionales Estratégicos (PRONACES) cuyos esfuerzos de investigación se encuentran enfocados en dar una solución a problemáticas nacionales. Generar investigaciones que permitan brindar un impulso

económico para dar salida comercial a los maíces criollos que se producen en nuestro país tales como los Elotes occidentales ofreciendo un valor agregado a través de su aporte a la salud, responde a dos problemáticas de gran relevancia en nuestro país como lo son la soberanía alimentaria y la salud de los mexicanos.

2. Antecedentes

2.1. Vía AMPK

En los estudios mencionados con anterioridad se demostraron que existen eventos moleculares y cascadas de señalización relacionadas con la obesidad como lo es la activación de la vía AMPK.

La AMPK es un complejo enzimático regulado por la relación entre AMP-ATP, por lo que se considera crucial para mantener la homeostasis energética al actuar como un sensor (Carling, 2017). La activación de AMPK disminuye procesos anabólicos como la síntesis de lípidos, gluconeogénesis, almacenamiento de glucógeno y síntesis de proteínas, mientras que aumenta procesos catabólicos como la absorción de glucosa, autofagia y la lipólisis.

Este complejo es capaz de promover la lipólisis a través de la estimulación de lipasa de triglicérido adiposo o ATGL para liberar los ácidos grasos de las reservas de triglicéridos que posteriormente serán transportados gracias a la enzima carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT1) a la mitocondria donde se lleva a cabo la β -oxidación (Wang et al., 2018).

Existe otro mecanismo de lipólisis a través de la activación de AMPK, el cual sucede gracias a la inhibición de las Acetil-CoA carboxilasas (ACC) 1 y 2, esto se traduce en una disminución del pool de malonil-CoA (precursor de la síntesis de ácidos grasos) aumentando así el transporte de ácidos grasos libres mediante CPT1 para su posterior oxidación (Jeon, 2016).

La disminución de adipogénesis sucede gracias a la inhibición de la fosforilación de las ACC 1 y 2 y 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (HMGCR),

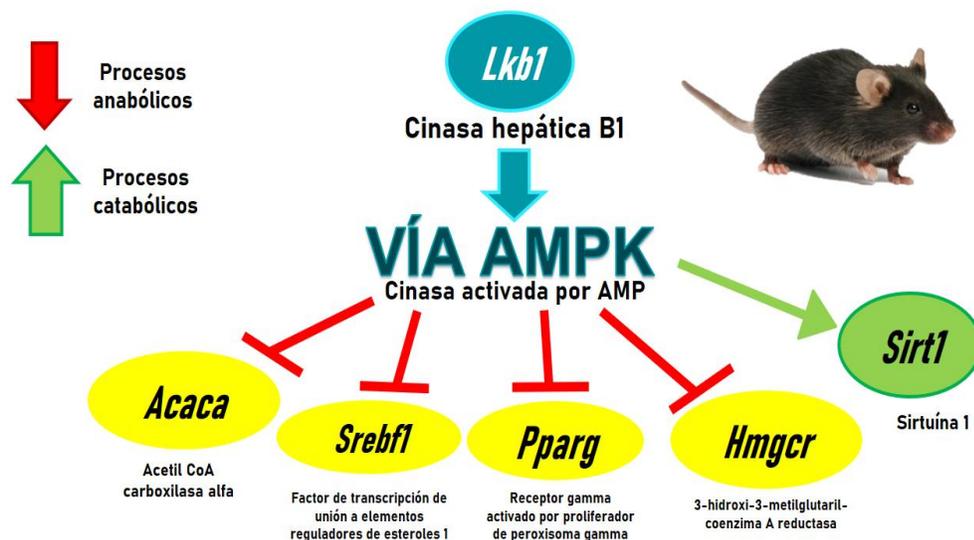
que en consecuencia inhibe la catálisis del primer paso en la síntesis *de novo* de lípidos (Lu et al., 2020).

Adicionalmente, otro de los mecanismos antiobesogénicos es la activación de la Sirtuína 1 desacetilasa dependiente de NAD o SIRT1, proteína capaz de promover la lipólisis a través de la mediación del efecto de la ATGL en PPAR α y PGC1 α incrementando la β -oxidación de ácidos grasos libres en mitocondria (Simmons et al., 2015).

La SIRT1 a su vez inhibe a PPAR γ , impidiendo de esta manera la adipogénesis, ya que SIRT1 y PPAR γ se unen a la misma secuencia de ADN, sugiriendo que SIRT1 es un correpresor de PPAR γ . La activación de esta proteína también ha demostrado ser promotora de la movilización de grasa al observarse una relación entre su activación y la disminución de triglicéridos y liberación de ácidos grasos (Ding et al., 2017; Ye et al., 2017).

Figura 2

Genes implicados en la vía AMPK.



Nota. La figura presenta algunos genes implicados en la vía AMPK. Elaborado por Lee-Martínez, 2023.

2.2. Obesidad y alimentos funcionales

A la fecha, los hábitos de alimentación inadecuados y el sedentarismo constituyen dos de los grandes factores de riesgo que explican la aparición de la obesidad. En la actualidad existe una gran exposición de la población a alimentos de elevado contenido calórico y bajo contenido nutrimental, lo cual ha causado modificaciones de gran escala en la alimentación de los seres humanos (Costa et al., 2018; Popkin & Reardon, 2018).

En este sentido, en México existe un elevado consumo de alimentos ricos en grasas saturadas y azúcares simples entre la población de 20 años y más tales como comida rápida, antojitos mexicanos, bebidas lácteas endulzadas como yogurt bebible y frappuccinos, botanas, dulces y postres y bebidas no lácteas endulzadas como refrescos y jugos (Shamah Levy et al., 2020). No obstante, la alimentación siempre ha tenido un papel de gran importancia en el abordaje terapéutico de diversas enfermedades. Por ello, numerosas investigaciones se han enfocado en el estudio de los alimentos funcionales y sus compuestos bioactivos (Green et al., 2020).

Los alimentos funcionales son todo alimento que, además de su valor nutritivo, contiene componentes biológicamente activos que aportan algún efecto añadido y beneficioso para la salud y reducen el riesgo de contraer ciertas enfermedades (Beltrán et al., 2016).

2.3. Compuestos bioactivos

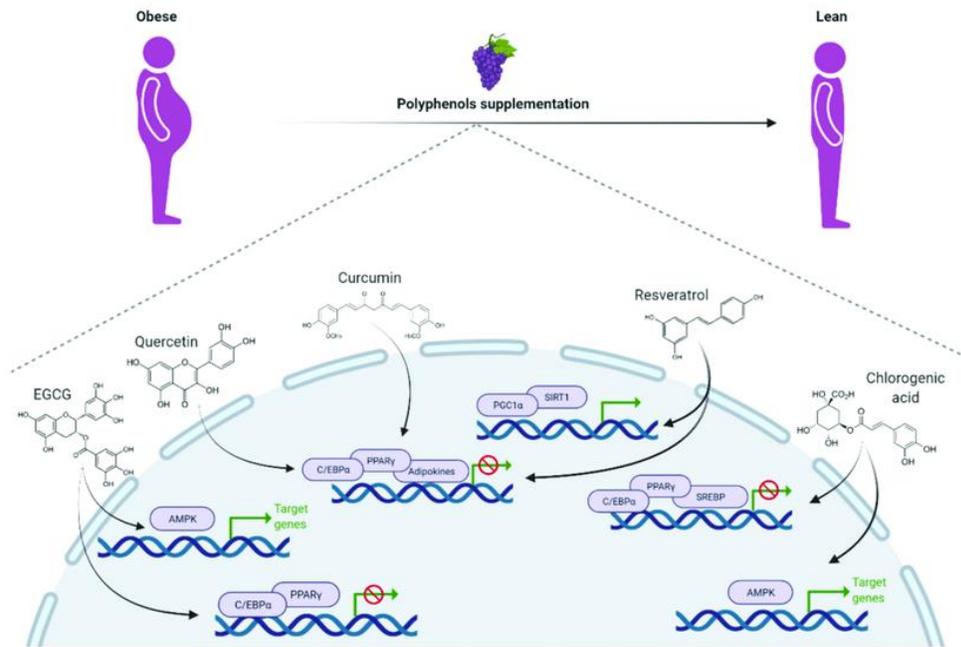
Estos componentes biológicamente activos o componentes bioactivos son un tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud (National Institute of Mental Health, 2021). A la fecha, se han evaluado los compuestos bioactivos de diversos alimentos y su relación con la obesidad.

2.4. Efecto anti obesogénico de los compuestos bioactivos

Diversos estudios en modelos *in vitro* e *in vivo* han evidenciado el potencial de algunos compuestos bioactivos para ejercer efectos anti obesogénicos.

Figura 3

Mecanismos moleculares en el efecto anti obesogénico de los polifenoles.



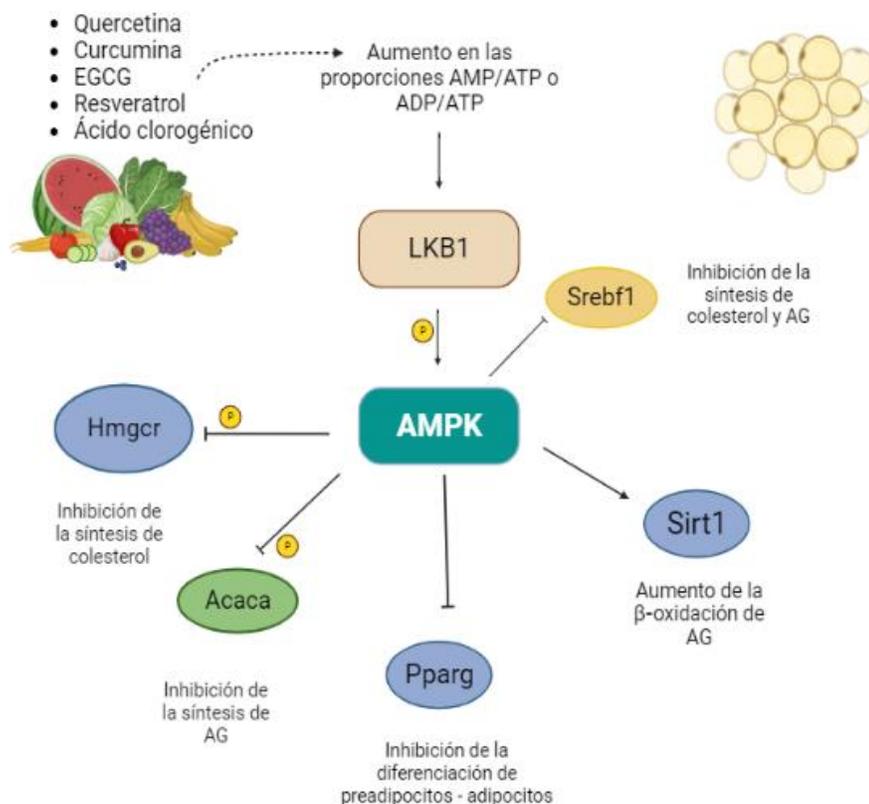
Nota. La figura muestra un esquema representativo de diversos mecanismos moleculares implicados en el efecto antiobesogénico de los principales compuestos fenólicos evaluados a la fecha. Imagen tomada de Fortunato et al., 2021.

En un estudio en ratones macho de la cepa C57BL/6J (6 – 8 semanas de edad), se observó que principalmente el ácido ferúlico y antocianinas como la cianidina y peonidina de un extracto acuoso de maíz púrpura (500 mg de pericarpio de maíz púrpura / kg) administrado durante 12 semanas, redujeron la adipogénesis y la inflamación inducida por adiposidad, promoviendo el gasto energético a través de la activación de una vía de señalización desencadenada por AMPK (Luna-Vital et al., 2020).

En otro estudio realizado en preadipocitos, se obtuvo que el 6-Gingerol, el cual es un compuesto fenólico del jengibre, obtenido a través de un extracto etanólico a 150 µg/mL, disminuyó la acumulación de lípidos a través de la inhibición de adipogénesis y el pardeamiento de adipocitos 3T3-L1 mediante la vía de señalización de AMPK (Wang et al., 2019).

Figura 4

Efecto de los compuestos bioactivos en la vía AMPK.



Nota. La figura presenta el efecto de los compuestos bioactivos en la vía AMPK evaluados en esta investigación. Elaborado por Lee-Martínez, 2023.

Además, un estudio realizado en Japón en 2014 demostró que las catequinas, teaflavinas y cafeína encontrados en un extracto acuoso de té Pu-Erh y té negro administrado durante 7 días a ratones ICR, disminuyeron la acumulación

de lípidos en grasa mesentérica mediante la activación de AMPK y posterior inhibición de PPAR γ (Yamashita et al., 2014).

Por último, el ácido clorogénico obtenido de un extracto etanólico de semillas de girasol y administrado a 500 mg/día durante 12 semanas redujo el índice de masa corporal (IMC), peso corporal y circunferencia de cintura en un estudio realizado en humanos. Este estudio demostró que las vías de AMPK y PPAR γ estaban involucradas en este proceso (Leverrier et al., 2019).

2.5. Análisis *in silico* del efecto de compuestos bioactivos

Los modelos *in silico* son un tipo de análisis que surgen de la bioinformática, que es la aplicación de la tecnología computacional para llevar a cabo un mejor manejo de los datos generados a partir de las investigaciones. La realización de estudios *in silico* permite experimentar y evaluar los procesos biológicos mediante el uso de computadoras para determinar el comportamiento de diversas moléculas.

Si bien este método requiere un modelo *in vivo* o *in vitro* para concluir sobre su efecto, es notable que el uso de este modelo ha permitido visualizar el comportamiento de ciertas moléculas como las proteínas y comprender mejor su comportamiento ante diversos estímulos mediante el modelado de moléculas a través de computadoras (Aguilar y Condori, 2021).

A la fecha ha sido ampliamente aceptado que estudios como el modelado *in silico*, las ciencias óhmicas y las biomatemáticas son tipos de estudios que pueden brindar información adicional que permita complementar los resultados obtenidos y generar un panorama más amplio sobre el efecto de un estímulo o molécula en un organismo (Madden et al., 2020).

En recientes estudios se ha demostrado que el modelado *in silico* permite investigar el efecto de los compuestos bioactivos (como son los compuestos fenólicos) en diversas enfermedades. Esto se atribuye a la gran capacidad de estos estudios de predecir la interacción entre los compuestos biológicamente activos y

las proteínas de interés relacionadas con el desarrollo de las enfermedades que se quieren investigar.

Para la realización de modelos *in silico* que permitan evaluar el efecto de los compuestos bioactivos en proteínas de interés, se debe realizar un acoplamiento molecular entre el compuesto y la proteína para determinar la energía de interacción y el tipo de enlaces generados y analizar la actividad biológica de la interacción (Damián et al., 2020).

En la actualidad, el análisis *in silico* se considera una herramienta de gran relevancia para evaluar un gran número de compuestos y su efecto sobre moléculas de interés de manera virtual y conseguir elucidar probables mecanismos de acción (Agu et al., 2023). En este sentido, se considera a este tipo de tecnologías cruciales para la biomedicina por su capacidad de generar resultados con mayor rapidez además de tener un bajo costo y reducir el uso de modelos animales para la generación de conocimiento (Riyaphan et al., 2021).

2.6. Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz es una especie de gran relevancia en Latinoamérica ya que forma parte de la alimentación y la cultura. En México es considerado la base de la alimentación y provee soberanía y seguridad alimentaria desde la época prehispánica. Su forma de consumo tiene una gran versatilidad y posee un valor sociocultural que se refleja principalmente en medios rurales (Cowan, 2019). En México se han registrado 64 razas, de las cuales 59 son nativas, con una clasificación de 7 grupos basados en características morfológicas y genéticas (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2021).

El maíz posee un alto contenido de flavonoides, glicósidos y compuestos fenólicos, mismos que han sido relacionados con efectos anti obesogénicos e hipolipemiantes tales como el ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido gálico, cianidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, quercetina, luteolina, rutina, catequinas y naringenina (Luna Vital et al., 2020).

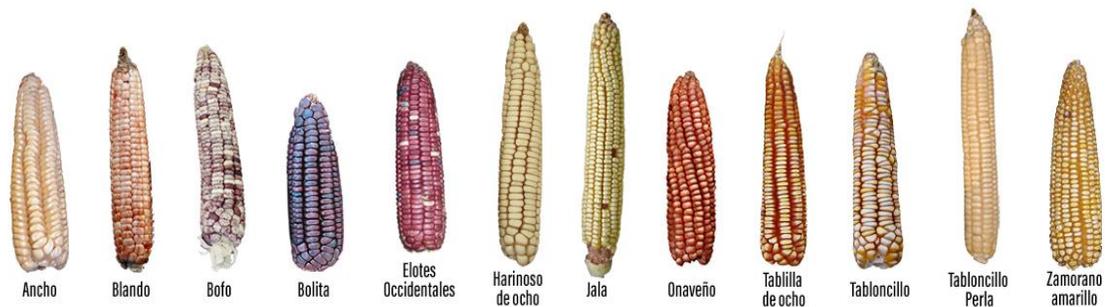
En un estudio realizado por Mex et al. (2013) se analizaron cinco variedades de maíz (blanco híbrido, blanco criollo, amarillo, rojo y morado). Los resultados mostraron que las variedades morado y rojo, presentaron un mayor contenido de fenoles (1445 mg y 354 mg de ácido gálico por cada 100 mg de maíz, respectivamente) y antocianinas (410 mg y 111 mg de ácido gálico por cada 100 mg de maíz) totales en comparación con el contenido en las variedades del maíz blanco y amarillo (Mex et al., 2013).

2.6.6. Elotes occidentales

Los Elotes Occidentales son una raza de maíz criollo o nativo perteneciente al grupo denominado “Ocho Hileras” que se produce en la zona occidente de México. Este tipo de maíz se cultiva en zonas con una elevación baja e intermedia y se encuentra en estados como Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, y otros estados del centro y sur del país.

Imagen 1

Grupo Ocho Hileras.

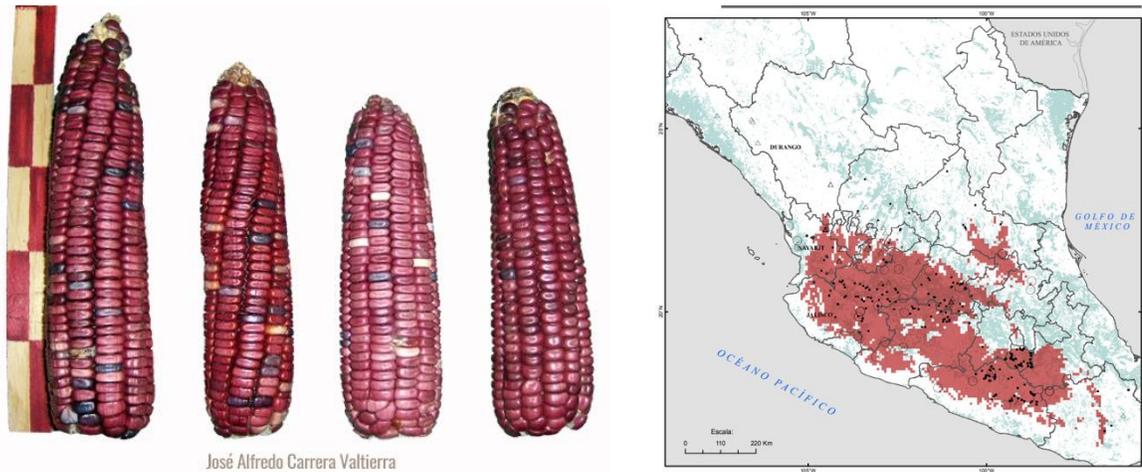


Nota. La imagen muestra las razas que conforman el grupo ‘Ocho hileras’. Imagen tomada de CONABIO (2021).

Morfológicamente son plantas que van de los 200 a 250 cm de altura y sus mazorcas tienen de 8 a 12 hileras de granos, de ahí surge su nombre “ocho hileras”; es ampliamente reconocido por sus mazorcas alargadas con pocas hileras debido a sus granos grandes, de sabor dulce y de coloración violáceo y rojizo.

Imagen 2

Elotes occidentales.



Nota. La imagen muestra el aspecto de la raza de maíz criollo ‘Elotes Occidentales’. Imagen tomada de CONABIO (2020).

El tamaño de las mazorcas va de 18 a 22 cm y se cultivan con fines gastronómicos ya que se consumen como elotes, atoles, tlayudas, tejuino y principalmente como maíz pozolero. Su ciclo de cultivo es corto y son sembrados en verano e invierno ya que son ampliamente reconocidos y valorados en las comunidades rurales por su calidad elotera y pozolera; además, por estos motivos, tiene un precio de venta mayor al del maíz blanco y amarillo (CONABIO, 2021).

2.7. Efecto anti obesogénico del maíz

Se ha demostrado que el extracto de maíz tiene efectos anti obesogénicos a través del efecto de sus componentes bioactivos como antocianinas y flavonoides.

2.7.6. Inhibición de la activación de vías NF- κ B y JNK

Las antocianinas provenientes del maíz morado (PMW) y rojo (RMW) mostraron una disminución de la producción de citocinas proinflamatorias y lipólisis mediante la inhibición de la activación de las vías NF- κ B y JNK a través de la regulación de la fosforilación de I κ B α y JNK, respectivamente en un co-cultivo de macrófagos RAW264.7 y preadipocitos 3T3-L1 murinos (Zhang et al., 2019).

En un extracto de maíz morado a una concentración de antocianinas de 290 mg / kg de peso / día, se observó una disminución de la inflamación de tejido adiposo *in vivo* con una reprogramación a largo plazo de los macrófagos de tejido adiposo y el perfil de adipocitos respecto al fenotipo antiinflamatorio tras la administración de este extracto. Los macrófagos del tejido adiposo regularon de manera positiva marcadores que favorecen el genotipo de macrófagos M2 (Arg1, Fizz1, TGF- β) disminuyendo mediadores de inflamación como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 β (IL-1 β) y ciclooxygenasa 2 (COX-2) a través de la supresión de señalización de NF- κ B (Tomay et al., 2019).

2.7.7. Vías de señalización por AMPK

El extracto de maíz Apache rojo mostró que su contenido de antocianinas, ácidos fenólicos y flavonoides presentaba un potencial inhibitorio de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa. Cuando se administró este extracto, se observó una inhibición de las enzimas que utilizan hidratos de carbono (HC) y una disminución en el transporte de glucosa, lo que redujo la absorción de HC, postulándose como un coadyuvante en la pérdida de peso. Estos compuestos bioactivos activaron al receptor 1 de ácido graso libre (GPR40) relacionado con la vía de secreción de insulina y activación del regulador del metabolismo de glucosa AMPK en células

pancreáticas iNS-1E, células de adenocarcinoma colónico Caco-2 y células de carcinoma hepatocelular HepG2 (Luna-Vital et al., 2019).

La suplementación con extracto de seda de maíz Hwabongwa, aunado a la exposición a una dieta alta en grasa, aumentó los niveles de secreción de adipocinas y la homeostasis de glucosa. A su vez, se observó una disminución del colesterol hepático y en sangre mediante la activación de AMPK (Cha et al., 2016).

2.7.8. Vía de señalización de PPAR γ

En un estudio realizado por Hsu et al. (2018) se obtuvo que el extracto de seda de maíz obtenida a través de inmersión en agua mostró una reducción significativa de peso y disminución de adipocitos en órganos como el hígado y tejido adiposo a través de la reducción de la expresión del promotor de galectina-12 en células 3T3-L1 mediante PPAR γ (Hsu et al., 2018).

El flavonoide llamado “Maysin”, encontrado en la seda de maíz, actúa mediante la supresión de PPAR γ promoviendo la disminución de ganancia de peso y peso de la grasa del epididimal, en dietas altas en grasa en ratones C57BL/6. A su vez, se observó una disminución de niveles séricos de triglicéridos, colesterol total, LDL y glucosa (Lee et al., 2017).

La seda de maíz morado provocó una inhibición de la proliferación y adipogénesis, así como inducción de lipólisis y apoptosis de los adipocitos mediante la desregulación de PPAR γ en preadipocitos 3T3-L1 (Chaiittianan et al., 2017).

2.7.9. Efecto sobre marcadores bioquímicos

Tras la administración de un extracto de maíz azul de raza Mixteco a ratas Wistar macho se observó un aumento del colesterol HDL y disminución de la presión sistólica, triglicéridos séricos, colesterol total y peso del tejido adiposo epididimal gracias a los polifenoles y antocianinas presentes en este extracto (Guzmán-Gerónimo et al., 2017)

A partir del extracto hidroalcohólico atomizado de una variedad de maíz morado, se obtuvo una disminución del colesterol total en las ratas hipercolesterolémicas que consumieron dosis de 250 y 500 mg/kg en relación con el grupo control positivo (Arroyo et al., 2007).

2.8. Efecto sobre hígado graso asociado a disfunción metabólica

En un estudio realizado con un extracto de seda de maíz (100 mg/kg de peso/día) más una dieta alta en grasa se demostró que la suplementación con este extracto fue capaz de disminuir la presencia de hígado graso inducido por el consumo de una dieta alta en grasa. Los resultados obtenidos en esta investigación indicaron que, tras el tratamiento con este extracto, las gotas lipídicas en hígado disminuyeron su tamaño en comparación con el grupo administrado únicamente con dieta alta en grasa (Cha et al., 2016).

Además, en un estudio realizado por Hsu y colaboradores se observó que la administración de un extracto acuoso de seda de maíz (400 mg/kg/día) a ratones C57BL/6 con una dieta alta en grasa fue capaz de reducir el tamaño de las gotas lipídicas en células hepáticas en comparación con el grupo control (Hsu et al., 2018).

3. Hipótesis

El extracto de la raza de maíz criollo “Elotes Occidentales” (MCEO) reducirá marcadores de obesidad asociados a la vía AMPK en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.

4. Objetivos

Objetivo general: Evaluar el efecto del extracto de compuestos fenólicos de maíz criollo Elotes Occidentales (MCEO) sobre marcadores de obesidad y su potencial *in silico* sobre proteínas de la ruta de AMPK en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.

Objetivos específicos:

1. Obtener y caracterizar el contenido de fenoles y flavonoides totales, taninos y capacidad antioxidante del MCEO.
2. Evaluar el efecto del consumo de dos dosis del extracto de MCEO sobre la ganancia de peso corporal, parámetros bioquímicos e histológicos en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.
3. Valorar el potencial *in silico* de los compuestos fenólicos presentes en el extracto (quercetina y (+) – catequina) del MCEO sobre proteínas de la ruta de AMPK.

5. Material y métodos

a) Obtención y caracterización metabolómica de extractos metanólicos de maíz

Se utilizó una variedad de maíz criollo Elotes Occidentales, cosecha 2020, cultivados agroecológicamente en la región del Bajío, los cuales fueron proporcionados por agricultores del municipio de Tarimoro, Guanajuato (México). Para la obtención del extracto se siguió la metodología descrita por Urquizo y Sánchez (2019) con modificaciones, 500 mg de la muestra (tamaño de partícula aproximado de 60 micras), se colocó en un matraz de 500 mL y se le adicionó 400 mL de metanol y 100 mL de agua desionizada.

Imagen 3

Proceso de extracción de compuestos fenólicos.



Nota. La imagen muestra el proceso de extracción de compuestos fenólicos, rotaevaporación, liofilización y elaboración de gelatinas para el modelo *in vivo*. Elaborado por Lee-Martínez, 2022.

El matraz se protegió de la luz y se mantuvo en agitación durante el proceso de ultrasonido. La ultrasonicación se llevó a cabo a una potencia del 70 % durante 15 minutos. Posterior a la extracción, las muestras se centrifugaron a 10000× g por 10 minutos a 4 °C y el sobrenadante se rotaevaporó para eliminar el solvente. Finalmente, la muestra se liofilizó para obtener un polvo fino con el cual se prepararon las gelatinas (Urquiza Cruz & Sánchez Salcán, 2019).

Para la cuantificación de los compuestos se prepararon extractos del polvo liofilizado de MCEO en (nivel de sonicación: 70 %) disolviendo el polvo liofilizado en 1 mL de metanol grado HPLC (concentración final: 1 mg/mL).

Tras vortexear por 5 min, las mezclas fueron filtradas utilizando una acrodisco de 0.22 µm (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, Estados Unidos) y se depositaron en viales ámbar de 1 mL. Los viales fueron subsecuentemente congelados a 4 °C para su posterior análisis y cuantificación.

Los compuestos fenólicos totales (CFT) fueron determinados por la técnica de Folin-Ciocalteu en microplaca (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999) y fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico/g muestra, utilizando una curva de calibración de ácido gálico. Los taninos condensados totales (TC) fueron determinados por el método de vainillina acidificada (Feregrino-Pérez et al., 2008) y se expresaron como microgramos equivalentes de (+)-catequina/g de muestra, utilizando una curva de calibración de (+)-catequina.

La capacidad antioxidante fue determinada por medio de la inhibición de los radicales: ácido 2,2-azino(bis-3-(etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) (Re et al., 1999) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (Fukumoto & Mazza, 2000), adaptados a microplaca. Para determinar la capacidad antioxidante de los extractos, se compararon sus absorbancias con una curva de calibración de Trolox (0-500 µM) y los resultados se expresaron como µmol equivalentes Trolox/g muestra.

a) Estudio *in vivo*

Para el estudio se adquirieron un total de 32 ratones macho de la cepa C57BL/6 a través del bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, con registro SAGARPA-SENASICA No. AUT-B-C-0815-024.

Los ratones fueron alojados en jaulas de plástico bajo condiciones controladas de humedad ($50 \pm 10\%$) y bajo ciclos de 12 horas de día y 12 horas de noche. La temperatura fue de $23 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en todo momento contaron con ventilación.

Respecto al manejo de los animales a través de la fase experimental, todos los procedimientos se llevaron a cabo siguiendo las especificaciones de la NOM-062-200-199 en su apartado 10.4 que establece el uso de guantes, cubrebocas y bata cuando exista contacto con los animales (Norma Oficial Mexicana, 2001).

Imagen 4

Alojamiento de los ratones.



Nota. La imagen muestra el alojamiento de los ratones en jaulas con condiciones específicas.

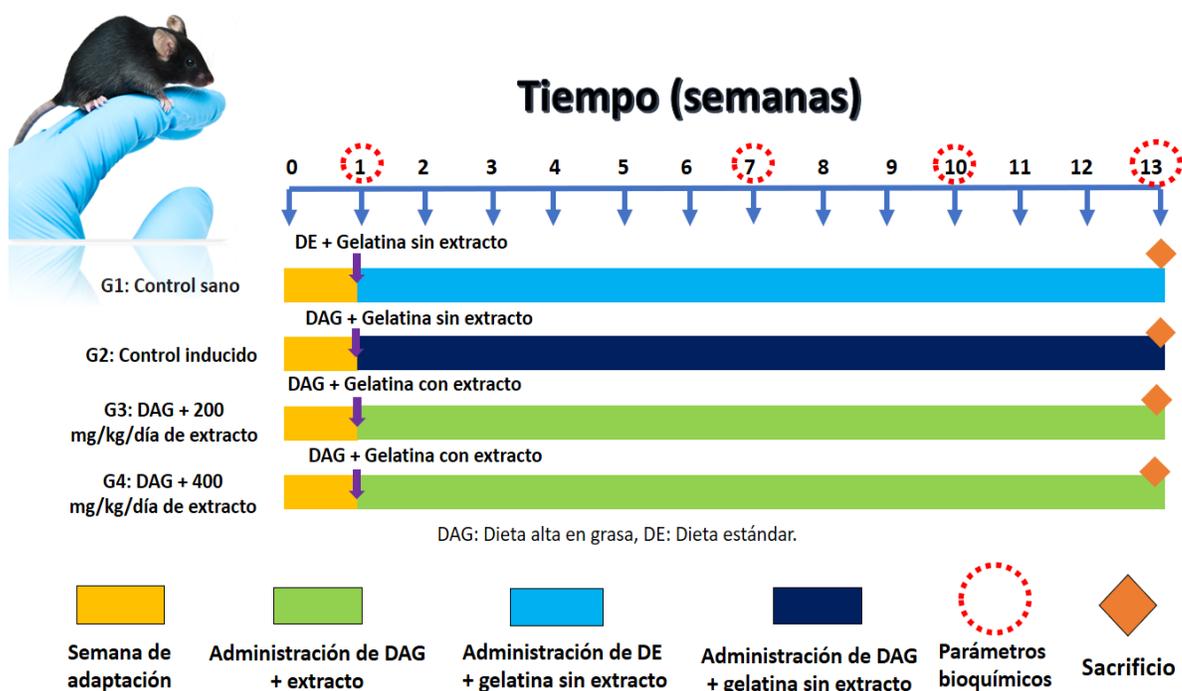
a) Diseño experimental

Los ratones se dividieron aleatoriamente en 4 grupos (n=8): Grupo 1 (control sano, alimentado con dieta estándar); grupo 2 (control inducido, alimentado con dieta alta en grasa, DAG); grupo 3 (administrado con 200 mg/kg peso corporal/día de extracto de maíz + DAG); y grupo 4 (administrado con 400 mg/kg peso corporal/día de extracto de maíz + DAG) (Figura 2). Los animales fueron alimentados con dietas estándar Rodent Lab Chow 5001 (Nupec®), y dieta alta en grasa TD.06414 (ENVIGO®). La duración del estudio *in vivo* fue de 13 semanas.

Para la administración de los extractos de maíz se realizaron cubos de gelatina sin sabor siguiendo el protocolo de Zhang (2011) a concentraciones de 200 y 400 mg/kg peso corporal/día para la administración vía oral en ratones.

Figura 5

Diseño experimental de la investigación.



Nota. Esquema experimental para la inducción del modelo de obesidad en ratones macho C57BL/6. Elaborado por Lee-Martínez, 2023.

b) Monitoreo del estado fisiológico

Durante todo el experimento se realizaron mediciones semanales de consumo de alimento y peso corporal. Ningún animal perdió más de un 20 % de su peso corporal o presentó signos evidentes de enfermedad severa, por lo que no fue necesario retirar a ningún animal del experimento. Se aseguró en todo momento la protección de los animales utilizados para la experimentación con fines científicos, concediendo los cuidados adecuados, el personal se apegó estrictamente al código de ética para no causar dolor innecesario, sufrimiento, estrés o lesiones prolongadas, y se evitó a toda costa la duplicación inútil de experimentos.

Adicionalmente, se tomaron muestras de sangre de la cola de los ratones al inicio (semana 1), en la semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13) para monitorear la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos mediante un dispositivo portátil de tiras reactivas SD LipidoCare Analyzer (SD Biosensor, Suwon, South Korea) que permite medir cada parámetro bioquímico mediante fotometría de reflectancia con resultados en unidades de mg/dL.

c) Condiciones del sacrificio

Al finalizar el experimento, los animales recibieron un método físico de eutanasia (decapitación) que se aplica en animales pequeños de fácil manejo y con características anatómicas compatibles con el método seleccionado tras 8 horas de ayuno (Norma Oficial Mexicana, 2001). La sangre recolectada se utilizó para realizar la última medición de parámetros bioquímicos.

d) Recolección de muestras biológicas

Posterior al sacrificio, se realizó un corte con bisturí esterilizado de tórax a ano separando la piel y el músculo para tener acceso a las vísceras abdominales. Se extrajo el tejido adiposo subcutáneo y epididimal, bazo e hígado, los cuales fueron lavados con solución fisiológica. Una porción de las muestras obtenidas se recolectó en tubos eppendorf de 1.5 ml con RNA later (Sigma Aldrich) y se

almacenaron a -80 °C para estudios moleculares y otra porción se fijó con paraformaldehído (PFA) al 4 % para los estudios histopatológicos.

Imagen 5

Sacrificio.



Nota. La imagen muestra el proceso llevado a cabo para el sacrificio y recolección de muestras biológicas.

e) Desecho de animales y material quirúrgico

Los desechos se colocaron en bolsas color amarillo para cadáveres y rojo para residuos peligrosos, evitando rebasar el 80% de su capacidad y correctamente rotulados con la leyenda “desechos patológicos” para su debido transporte e incineración a cargo de la empresa Planta Incineradora de Residuos Bio-Infecciosos S.A. de C.V. (Norma Oficial Mexicana, 2003).

f) Análisis histopatológico

Los órganos y tejidos fueron cortados en tamaños adecuados para colocarlos en casetes de inclusión. Los casetes con las muestras de hígado y tejido adiposo se sumergieron en solución (agua destilada). Las muestras fueron marcadas con la siguiente nomenclatura: HígC1R1 para muestras de hígado, TASC1S para muestras de tejido adiposo subcutáneo y TAEC1R1 para tejido adiposo epididimal.

Posteriormente se eliminó el exceso de fijador (PFA) con agua y se colocaron en una canastilla. A continuación, se situó la canastilla en el deshidratador Leica TP1020 donde las muestras fueron deshidratadas en diferentes niveles de etanol (70-100 %) donde permanecieron 12 horas (1 hora en cada depósito).

Tras el proceso de deshidratación, se colocó el órgano o tejido con la cara más plana hacia el fondo en un molde de metal con parafina líquida (equipo Leica 1160) que cuenta con una zona caliente y fría con el casete en la parte superior y se situó en la zona fría para solidificar la parafina. Tras solidificar la parafina, se llevaron las muestras al micrótopo de rotación y se obtuvieron muestras de 9 micras para el tejido adiposo subcutáneo y epididimal y de 5 micras para el hígado.

Las muestras obtenidas del microtomo se pasaron por un baño de flotación a 40 – 45 °C y se colocaron en portaobjetos esmerilados de 24 x 50 mm para posteriormente dejarlas en una placa de calentamiento a 42 °C (HI1220) durante una noche.

Imagen 6

Muestras en placa de calentamiento para análisis histopatológico.



Nota. Imagen de muestras parafinadas, cortadas con micrótopo y colocadas en portaobjetos esmerilados.

Finalmente se realizó una tinción con hematoxilina y eosina (H&E) con el fin de determinar características histomorfológicas. En el hígado, se realizó examinación por hígado graso asociado a disfunción metabólica (MAFLD, por sus siglas en inglés) y se le asignó un puntaje gracias a una examinación ciega por parte de un histopatólogo, utilizando un sistema de examinación adaptado para roedores (Liang et al., 2014).

Específicamente para el tejido adiposo, se cuantificó el diámetro promedio de los adipocitos utilizando el software Image J.

g) Análisis *in silico* de proteínas asociadas a vía AMPK

Se realizaron análisis *in silico* para el modelo de obesidad *in vivo* donde se consideraron los siguientes compuestos fenólicos según lo que ha sido reportado para el maíz pigmentado: Ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, (+)-catequina y quercetina. Los compuestos se descargaron de la base de datos de PubChem. Se tomaron algunos de los principales compuestos fenólicos reportados para maíces pigmentados del norte de México (Rodríguez-Salinas et al., 2020).

Se ensayaron diferentes proteínas asociadas a genes de la ruta de AMPK: *Lkb1*, *Ampk*, *Acaca*, *Srebf1*, *Pparg*, *Hmgcr*, *Sirt1* descargando la secuencia de aminoácidos de UniProt y Protein Databank.

h) Aspectos bioéticos y de bioseguridad

Para la realización de este proyecto, se siguen las especificaciones de la NOM-O62-200-199. Además, el presente proyecto se encuentra revisado y aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UAQ y cuenta con registro ante la Dirección de Investigación y Posgrado de la UAQ desde el 11 de mayo del presente año con número de registro de proyecto **13207**.

i) Análisis estadísticos

El procesamiento de datos se realizó de manera electrónica utilizando diversos softwares y paquetes estadísticos. Con base en la información generada, se realizaron tablas y gráficas que permitieron describir los resultados obtenidos.

Para el análisis estadístico, los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar (DE). Para el estudio *in vivo*, los grupos se compararon utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para examinar las diferencias en las medias de los grupos con un post – hoc usando la prueba de Dunnett. Las diferencias con un valor de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativas. Para el análisis se utilizó el software SPSS v. 22.

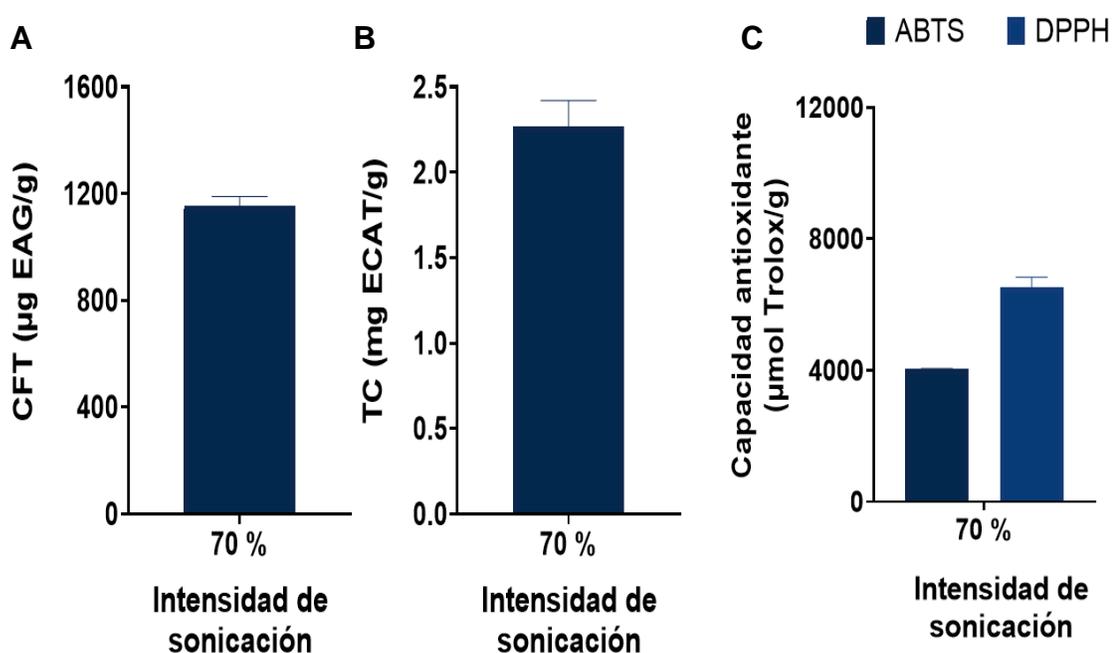
6. Resultados y discusión

6.1. Caracterización del extracto de MCEO

El contenido de fenoles totales se determinó al 70 % de potencia mediante extracción asistida por ultrasonido y para la cuantificación se realizó la técnica de Folin-Ciocalteu. La Figura 6 muestra los resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales (Figura 6A), taninos condensados (Figura 6B) y capacidad antioxidante (Figura 6C) de extractos de maíz morado.

Figura 6

Contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de MCEO.



Nota. Los resultados que se muestran han sido expresados como la media \pm D. E. de dos experimentos independientes en duplicado. **ABTS**: ácido 2,2'-azino(bis-3(etil-benzotiazolina) sulfónico); **DPPH**: 2,2-difenil-1-picrihidrazilo. A: Compuestos fenólicos totales (CFT), B: Taninos condensados (TC) y C: Capacidad antioxidante por las metodologías de ABTS y DPPH.

Los resultados obtenidos para el maíz Elotes Occidentales de compuestos fenólicos totales (1126 µg EAG/g) y taninos condensados (2.15 mg CE/g) son superiores a contenidos reportados de CFT (1040-1340 µg EAG/g) y TC (0.67-1.58 mg CE/g) para variedades pigmentadas de maíz del noreste de México (Rodríguez-Salinas et al., 2020), maíz del estado de Querétaro (694-2128 µg equivalentes de ácido ferúlico/g) (Loarca-Piña et al., 2019) aunque inferiores para maíz pigmentado del estado de Guerrero (TFC: 2296 µg EAG/g) (Bonilla-Vega et al., 2022).

Tabla 1

Comparación del CFT y otros maíces nativos.

	MCEO	TRB (cónico norteño, N.L.)	Maíz rojo y azul (Huimilpan)	MMB (cónico norteño x elotes cónicos, N.L.)
CFT (µg EAG/g)	1,178.86	1,047.10	694 – 2,128	1,055.0
TC (mg ECAT/g)	2.37	0.337 – 1.58	0.122	0.703
Capacidad AOX por ABTS (µmol Trolox/g)	4,049.37	719.40	20.6 – 73.4	720.15
Capacidad AOX por DPPH (µmol Trolox/g)	6,311.66	620.10	ND	470.10
Referencia		(Rodríguez-Salinas et al., 2020)	(Loarca-Piña et al., 2019)	(Rodríguez-Salinas et al., 2020)

Nota. Los resultados que se muestran han sido expresados como la media ± D. E. de dos experimentos independientes en duplicado. **ABTS**: ácido 2,2'-azino(bis-3(etil-benzotiazolina) sulfónico); **DPPH**: 2,2-difenil-1-picrihidrazilo. A: Compuestos fenólicos totales (CFT), B: Taninos condensados (TC) y C: Capacidad antioxidante por las metodologías de ABTS y DPPH.

En cuanto a la capacidad antioxidante, debido a que la muestra presentó compuestos fenólicos totales y taninos condensados, era de esperarse que tuviera una capacidad antioxidante por ABTS y DPPH puesto que la abundancia de compuestos fenólicos se ha asociado a estas propiedades (Luzardo-Ocampo et al., 2017).

En este sentido, es notable que en la literatura se ha establecido un comportamiento similar en otros extractos respecto a lo observado en una extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chíá al utilizar metanol como solvente. Por lo tanto, se concluye que este tipo de extracción donde se utiliza un ultrasonido, se postula como un método eficaz para extraer compuestos fenólicos aumentando y mejorando el rendimiento de extracción (Corona et al., 2016).

6.2. Impacto de MCEO en la ganancia de peso

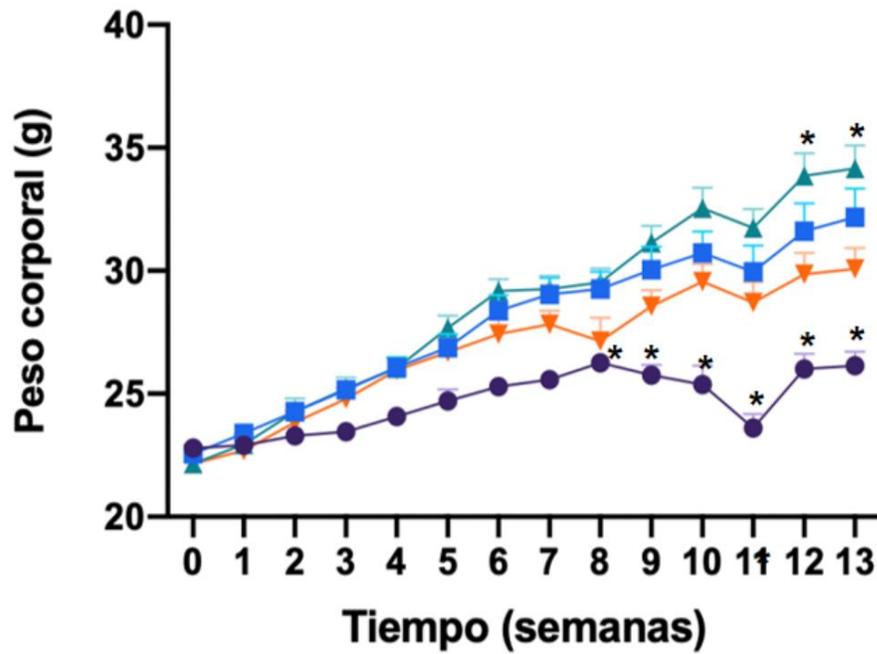
Existen diversos mecanismos asociados al efecto de los compuestos fenólicos en el peso corporal. Entre ellos se encuentra la inhibición de enzimas, la estimulación del gasto energético, inhibición de la diferenciación de adipocitos y regulación del metabolismo lipídico (Singh et al., 2020).

En la presente investigación se evaluó la evolución del peso corporal de los animales durante el tratamiento. En la figura 7 se observa que todos los ratones comenzaron con un peso corporal similar y la diferencia en la ganancia de peso fue estadísticamente significativa a partir de la semana 8 ($p < 0.05$). Tras 12 semanas de tratamiento, G4 mostró un peso final menor (30.07 gramos) en comparación con el G2 (31.57); sin embargo, esta diferencia no fue significativa.

Aunado a esto, se observó que los ratones expuestos a una dieta alta en grasa mostraron un mayor peso en comparación con el grupo que recibió una dieta estándar en concordancia con reportes previos para esta misma cepa de ratón e inducción de obesidad con dieta alta en grasa (Li et al., 2020; Luna-Vital et al., 2020).

Figura 7

Ganancia de peso corporal.



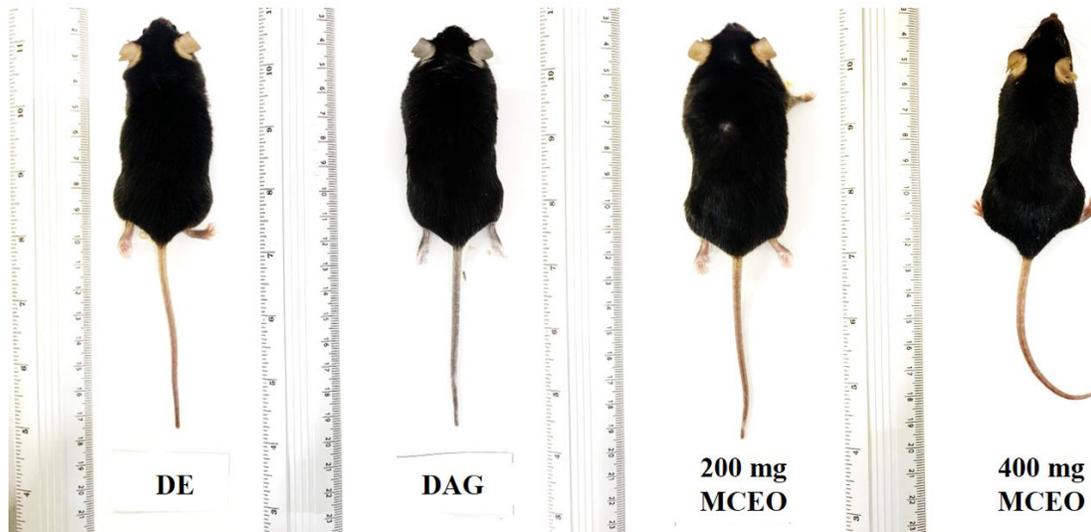
Nota. La figura presenta el peso corporal en gramos durante el experimento. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas ($n=8/\text{grupo}$, $p<0.05$).

El grupo que presentó el mayor peso final fue G3 (200 mg MCEO) y aunque el grupo de mayor dosis (G4, 400 mg MCEO) no tuvo una diferencia significativa en comparación con el G1 (DE) y G2 (DAG), se observó que este grupo presenta un menor peso final entre los grupos con administración de DAG.

Dentro de los mecanismos antiobesogénicos de los compuestos fenólicos sugeridos por la literatura se encuentra la estimulación del gasto energético. En un estudio realizado en ratones usando curcumina como aditivo a la dieta alta en grasa (80 mg/kg/día), se sugiere que la disminución de peso corporal observado en ratones se debió a alteraciones en la utilización de energía debido a la activación de AMPK capaz de aumentar procesos catabólicos como la lipólisis (Panzhinskiy et al., 2019).

Imagen 7

Imagen representativa de los grupos experimentales.



Nota. Imagen representativa de cada grupo experimental. Grupo 1: Control sano (dieta estándar, DE), grupo 2: Control inducido (DAG), grupo 3: 200 mg/kg peso corporal/día de MCEO + DAG, grupo 4: 400 mg/kg peso corporal/día de MCEO + DAG (n=8/grupo).

Imágenes representativas de los grupos de animales se muestran en la imagen 7, en la que se observa que los animales del G4 (400 mg MCEO) son morfológicamente similares al G1 (DE).

Se ha determinado que el aumento de adipogénesis y diferenciación de adipocitos resulta en un acumulación excesiva de adipocitos y posteriormente, obesidad. Una manera importante en la que los compuestos fenólicos intervienen en este proceso es a través de la inhibición de la diferenciación de adipocitos. A la fecha se ha establecido que la curcumina, resveratrol, apigenina, epigallocatequina-3-galato (EGCG) y la genisteína tienen la capacidad de interferir o inhibir etapas de la adipogénesis alterando el ciclo de vida de los adipocitos, es decir, disminuyen la proliferación de preadipocitos e inhiben la diferenciación de adipocitos además de

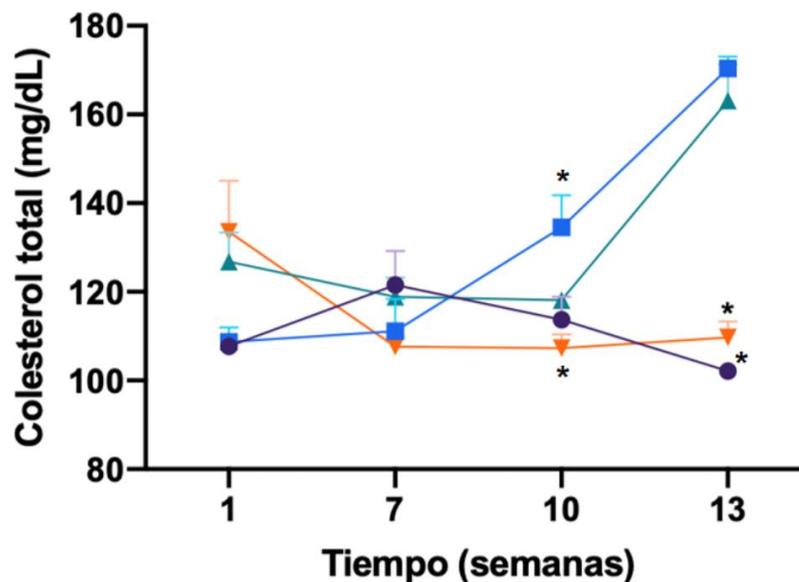
inducir la apoptosis de adipocitos maduros (Mohamed et al., 2014; Aranaz et al., 2019; Singh et al., 2020).

6.3. Efecto de MCEO en parámetros bioquímicos plasmáticos

Según lo establecido por diversas investigaciones, los ratones de la cepa C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa presentan hiperglicemia y dislipidemia evidenciadas por el aumento en los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos y colesterol total en comparación con los ratones alimentados con dieta estándar (Lee et al., 2017; Li et al., 2020).

Figura 8

Niveles séricos de colesterol total.



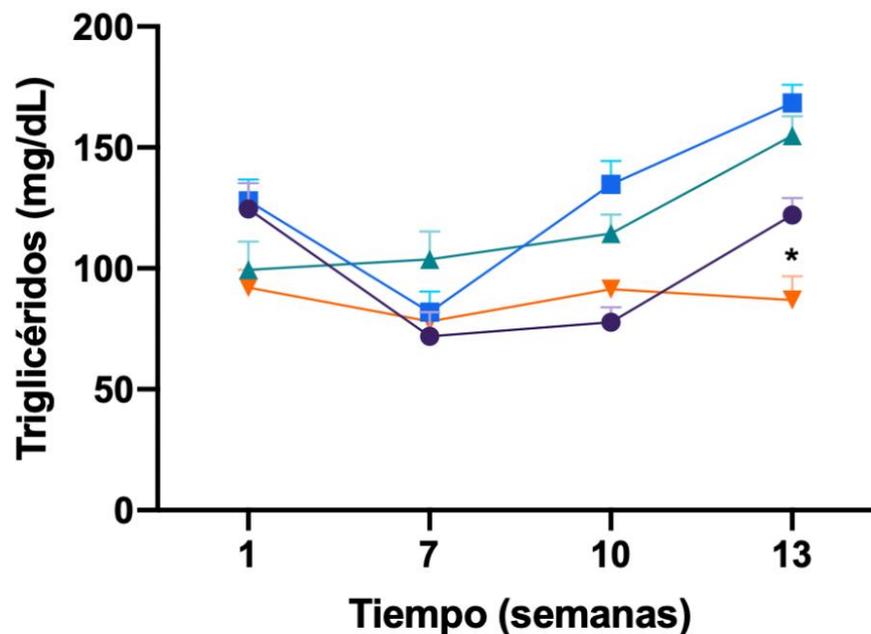
Nota. Los niveles de colesterol total se evaluaron en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas (n=8/grupo, p<0.05).

Al inicio del estudio no se observaron diferencias significativas en los niveles basales del colesterol total en ayuno entre los diferentes grupos evaluados durante la primera medición (semana 1). Los grupos a los que se les administró una dieta alta en grasa (G2 - G4) mostraron diferencias significativas en la segunda medición (semana 7) ($p < 0.05$) en comparación con el grupo sano (G1) sin embargo, en la tercera medición (semana 10), no se observaron diferencias entre los grupos (Figura 8).

Al finalizar el tratamiento, el G1 (DE) y G4 (400 mg MCEO) ($p < 0.05$) presentaron los menores valores de colesterol total comparados con G2 (DAG) y G3 (200 mg MCEO).

Figura 9

Niveles séricos de triglicéridos.



Nota. Los niveles de triglicéridos se evaluaron en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas ($n=8$ /grupo, $p < 0.05$).

No hubo diferencias significativas en los niveles basales de triglicéridos (figura 9) en ayuno entre los diferentes grupos evaluados durante la primera medición (semana 1). Al finalizar el tratamiento, el G4 (400 mg MCEO) mostró los niveles más bajos de triglicéridos (98.62 mg/dL) en comparación a los demás grupos (G1: 167.125 mg/dL, G2: 162.75 mg/dL, G3: 153.75 mg/dL).

En la presente investigación se observó que el extracto de MCEO administrado a dosis de 400 mg/kg de peso corporal disminuyó niveles de colesterol total y triglicéridos en concordancia con lo establecido sobre el potencial de estos compuestos bioactivos para el manejo de la obesidad. Por ejemplo, el ácido ferúlico, un compuesto fenólico abundante en el maíz, se ha vinculado a una disminución de la ganancia de peso corporal, reducción de niveles de glucosa y de niveles de insulina *in vivo* (Naowaboot et al., 2016).

Según lo establecido por Naowaboot y colaboradores, el tratamiento con ácido ferúlico fue efectivo en el incremento de la expresión hepática de PPAR α y posterior decremento de la expresión de SREBP1. Esto a su vez genera una disminución en la síntesis de ácidos grasos libres mediante la inhibición de ACC y consecuentemente, la reducción de los niveles séricos de colesterol total y triglicéridos. En conjunto, los autores aluden el efecto hipolipemiante de este compuesto fenólico a la modulación de genes involucrados en la síntesis de lípidos, menor acumulación de lípidos en hígado y aumento de la oxidación de ácidos grasos generando una homeostasis lipídica (Naowaboot et al., 2016).

Por su parte, en un estudio realizado con la seda de un maíz híbrido (Kwangpyeongok) se observó una disminución de niveles séricos de triglicéridos y colesterol total dada su capacidad de incrementar la lipólisis tras reducir la expresión de C/EBP-b, C/EBP-a y PPAR-g, lo cual resulta en una disminución de la acumulación de lípidos en la célula, diferenciación de adipocitos, lipogénesis y aumento de β -oxidación aludiendo el efecto de los compuestos fenólicos de esta seda de maíz a los mecanismos previamente mencionados (Lee et al., 2017).

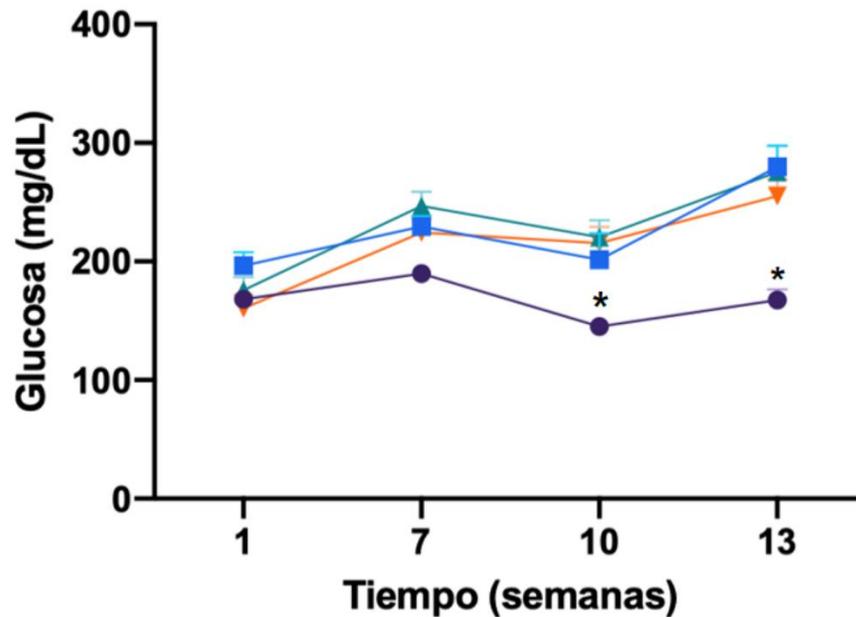
En otro estudio realizado por Cha y colaboradores (2016) con seda de maíz se encontró un efecto hipolipemiante tras la administración de este extracto mediado por la inhibición de la síntesis de colesterol mediante la modulación de los niveles de expresión de HMGCR, la cual es una enzima limitante en la biosíntesis del colesterol ya que cataliza la conversión de HMG – CoA a mevalonato (precursor del colesterol). En este sentido, los autores sugieren que la disminución de la expresión del mRNA de HMGCR en el grupo tratado con el extracto conduce a un bloqueo en la síntesis del colesterol y disminuye la disponibilidad de colesterol hepático para la síntesis de lipoproteínas lo cual se traduce a cambios en la concentración plasmática de colesterol.

De hecho, los autores mencionan que los resultados encontrados en su estudio son consistentes con los resultados observados en otros estudios realizados con atorvastatina (un inhibidor de la HMGCR) donde se inhibe la biosíntesis de colesterol *in vivo* mediante el decremento en la secreción de apolipoproteína B en plasma reduciendo a su vez las concentraciones de VLDL y LDL, responsables del transporte de triglicéridos y colesterol a tejidos extrahepáticos (Burnett et al., 1997; Cha et al., 2016).

Por lo tanto, se concluye que el efecto hipolipemiante de los compuestos fenólicos se encuentra asociado, entre otros mecanismos mencionados a lo largo de este estudio, a la disminución de niveles plasmáticos y hepáticos de colesterol debido al decremento de síntesis de colesterol y aumento de la β -oxidación.

Figura 10

Niveles séricos de glucosa.



Nota. Los niveles de glucosa se evaluaron en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas (n=8/grupo, $p < 0.05$).

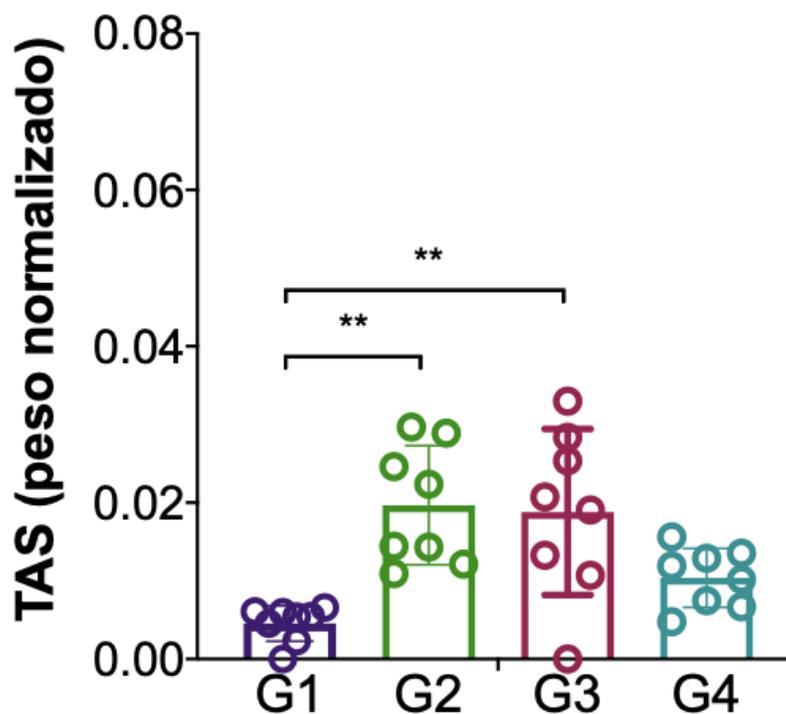
A pesar de haberse presentado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa de los diversos grupos durante la semana 7 y 10 (Figura 10), al finalizar el experimento, los grupos administrados con dieta alta en grasa exclusivamente (G2) o dieta alta en grasa más el extracto de MCEO (G3 y G4) concluyeron con niveles de glucosa similares sin importar el tratamiento al que se encontraron expuestos. El comportamiento al alza de los niveles de glucosa que se observó al finalizar el tratamiento es consistente con los resultados obtenidos en otros estudios (Hsu et al., 2018; Luna-Vital et. al, 2020).

6.4. Efecto de MCEO en el peso del tejido adiposo, hígado y bazo

Aunque no hubo diferencias entre el G4 (400 mg MCEO) y el G2 (DAG) para el tejido adiposo subcutáneo (TAS) normalizado, en promedio el grupo 4 presentó la mitad de peso de TAS comparado con el control inducido (0.32 vs. 0.64) (Figura 11). Por otra parte, el G3 (200 mg MCEO) tuvo un peso de TAS similar al G2 (DAG).

Figura 11

Peso del tejido adiposo subcutáneo.



Nota. Los valores de Tejido Adiposo Subcutáneo (TAS) se encuentran normalizados (peso del órgano/peso corporal del animal). Las unidades se encuentran expresadas en g/g.

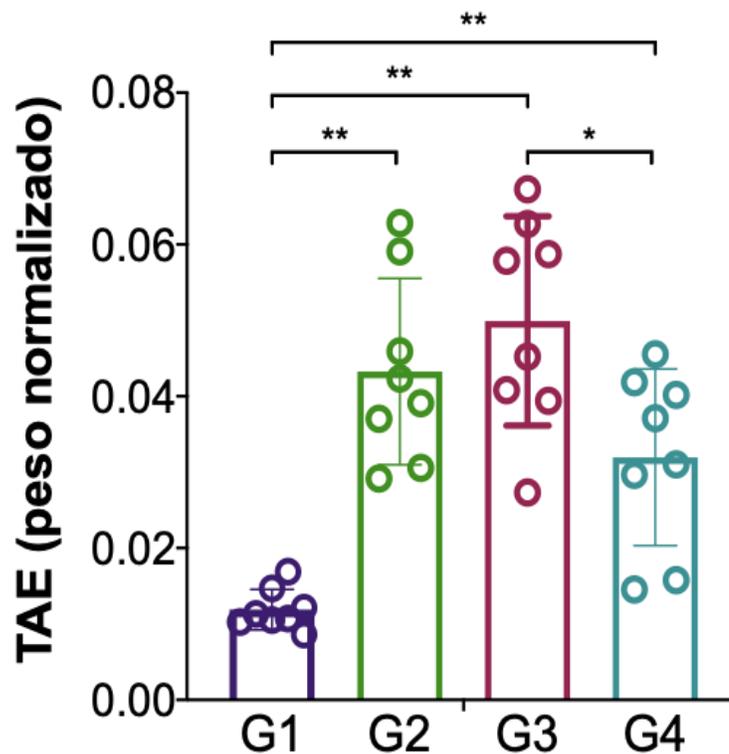
Respecto al TAS, aunque no hay reportes del impacto de extractos de maíces criollos en este tipo de tejido adiposo, estudios previos realizados por Chen *et al.* (2021) en un modelo de obesidad *in vivo* mostraron reducciones significativas en

ratones en combinación de DAG y curcumina, un compuesto fenólico, tras 12 semanas de tratamiento, en comparación al grupo inducido con DAG.

Según lo observado en el tejido adiposo epididimal (TAE) (Figura 12), todos los grupos presentaron mayores pesos comparados con el G1 (DE) y el G4 (400 mg MCEO) mostró menor peso que el G3 (200 mg MCEO), pero ninguno de los grupos de tratamiento (G3 y G4) fue diferente del G2 (DAG).

Figura 12

Peso del tejido adiposo epididimal.



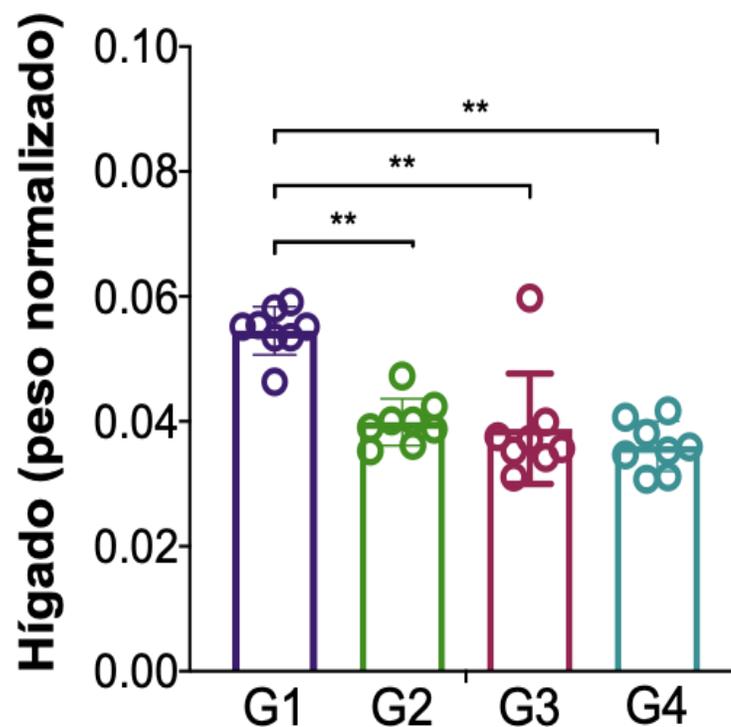
Nota. Los valores de Tejido Adiposo Epididimal (TAE) se encuentran normalizados (peso del órgano / peso corporal del animal). Las unidades se encuentran expresadas en g/g.

Aunque el tratamiento (G3, G4) no fue exitoso en disminuir TAE en comparación con el control inducido, los resultados coinciden con un estudio en el que se administró un extracto de maíz morado administrado en agua a una

concentración de antocianinas de 290 mg / kg de peso al día en la misma cepa de ratones, donde en la semana 12 los animales no presentaron diferencias en comparación con el grupo inducido; sin embargo, los autores concluyeron que un mayor tiempo de tratamiento podría favorecer cambios significativos en TAE (Tomay et al., 2019).

Figura 13

Peso del hígado.



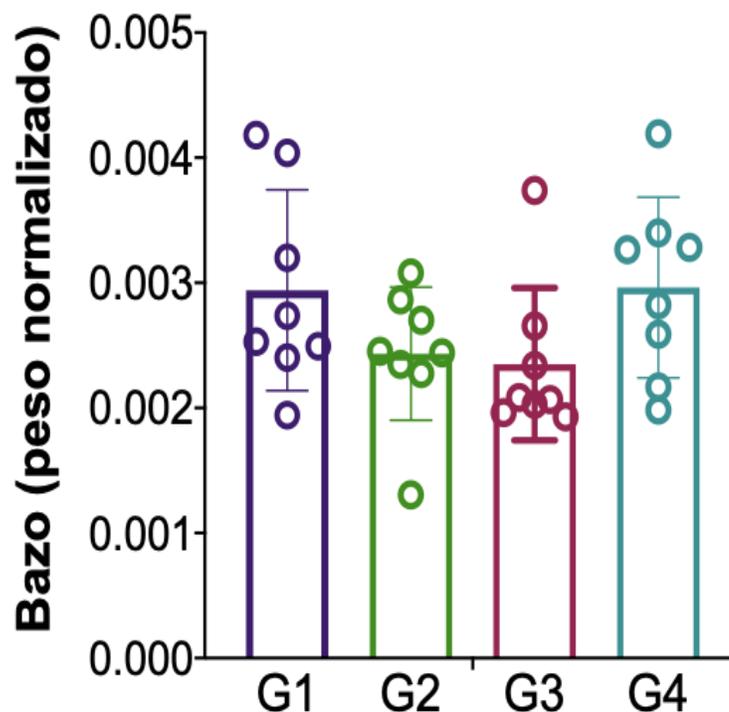
Nota. Los valores de hígado se encuentran normalizados (peso del órgano / peso corporal del animal). Las unidades se encuentran expresadas en g/g.

En el caso del hígado (Figura 13), el grupo que recibió dieta estándar (G1) presentó el hígado de mayor peso, mientras que no hubo diferencias entre los demás grupos (G2, G3 y G4). En este sentido, los resultados de esta investigación son similares a los reportados por Luna et al. (2020) tras la administración de un

extracto acuoso de maíz púrpura donde obtuvieron un peso promedio de este órgano disminuido en los grupos que recibieron el tratamiento.

Figura 14

Peso del bazo.



Nota. Los valores del bazo se encuentran normalizados (peso del órgano / peso corporal del animal). Las unidades se encuentran expresadas en g/g.

En este estudio se observó que el peso del bazo no presentó ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los diversos grupos.

En el presente estudio se evaluó la presencia de esplenomegalia (agrandamiento del bazo) en los grupos expuestos a la dieta alta en grasa y el efecto del extracto de MCEO en la misma. En la presente investigación no se observaron diferencias significativas entre los diversos grupos respecto al peso del bazo, coincidiendo con lo observado en un estudio realizado en ratas donde se evaluó el

peso en gramos de este órgano y no se presentaron diferencias significativas entre los grupos (Feng *et al.*, 2021).

En un estudio enfocado en la evaluación del efecto de la exposición a dietas altas en grasa y sacarosa se observó que los ratones expuestos a este tipo de dieta presentan un peso más elevado de bazo ($p < 0.05$) que los ratones a los que se les administró dieta estándar (Buchan *et al.*, 2018).

6.5. Análisis histopatológicos

Para los análisis histopatológicos se tomaron fotografías representativas de los grupos mediante microscopio tras una tinción con H & E de secciones del hígado y del tejido adiposo de los ratones (40x). El MAFLD se determinó mediante la presencia de esteatosis hepática en un 5 % o más del área del hígado.

En la figura 15B y 15C se observan acumulaciones de micro vacuolas grasas en el hígado, lo cual se traduce a la presencia de esteatosis macro y microvesicular en los grupos 2 (DAG) y 3 (DAG + 200 mg MCEO) mientras que las imágenes de los grupos 1 (DE) y 4 (DAG + 400 mg MCEO) no revelaron ningún aspecto anormal ni cambio histopatológico. En la tabla 2 se puede observar que ninguno de los grupos presentó fibrosis hepática.

Tabla 2

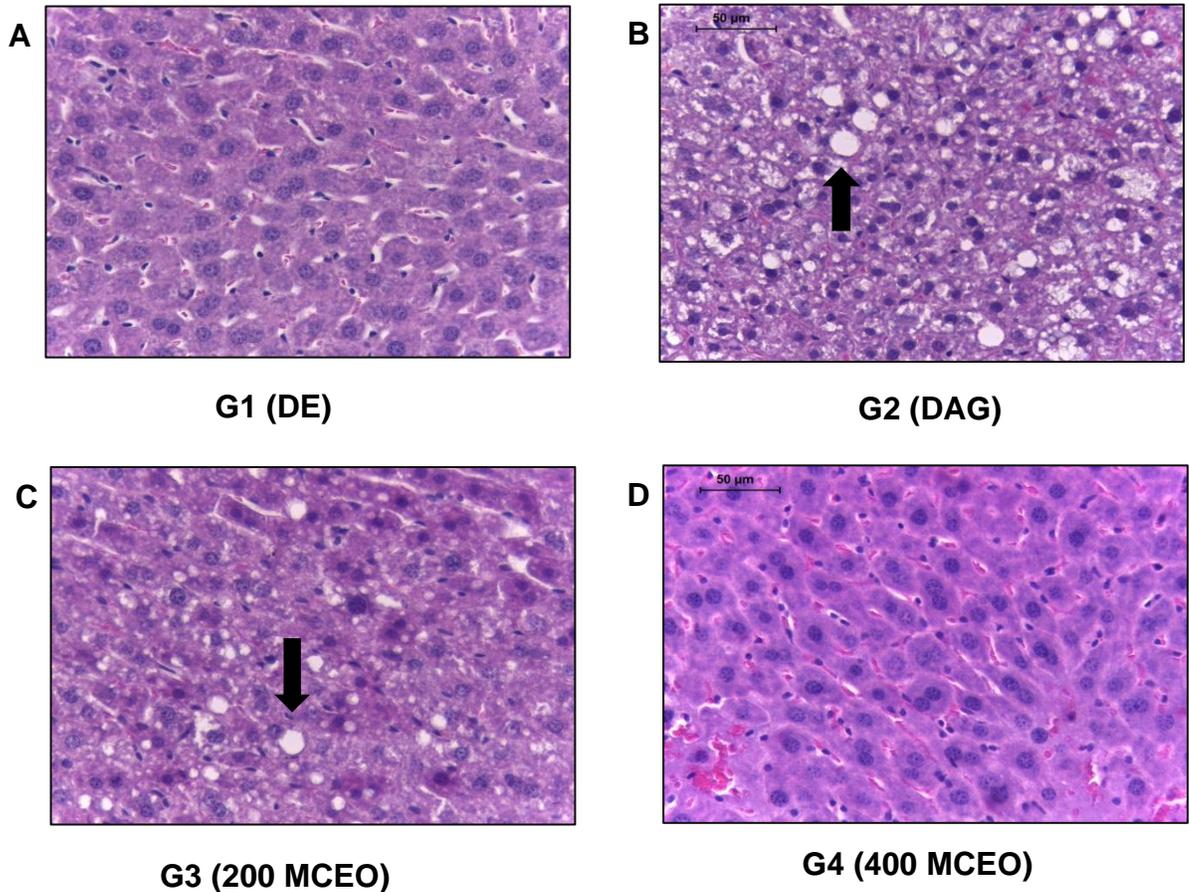
Presencia de esteatosis macro y microvesicular y fibrosis.

Grupo (n = 8)	Esteatosis macrovesicular	Esteatosis microvascular	Fibrosis
G1 (DE)	1	1	0
G2 (DAG)	6	8	0
G3 (200 MCEO)	5	8	0
G4 (400 MCEO)	0	1	0

Nota. La tabla arroja la presencia de esteatosis macro y micro vesicular y fibrosis obtenido al microscopio (40x).

Figura 15

Imágenes representativas de hígado.



Nota. Efecto del MCEO en secciones de hígado de ratones C57BL6 con tinción con H & E a 40x. A: G1 con DE, B: G2 con DAG, C: G3 con DAG + 200 mg MCEO y D: G4 con DAG + 400 mg de MCEO.

En un estudio en el cual se indujo MAFLD en ratones C57BL/6 mediante el consumo de DAG y se les administró un extracto acuoso de cúrcuma a 900 mg/kg/día se demostró que, al exponer a los ratones a dieta alta en grasa, el hígado muestra signos de hígado graso por la presencia de numerosas gotas lipídicas en el tejido. Tras el tratamiento con el extracto acuoso de cúrcuma, el hígado de los ratones de este grupo mostró una disminución significativa de estas gotas lipídicas.

El efecto en hígado observado tras la administración de este extracto de cúrcuma se atribuye a una capacidad inhibitoria de acumulación de lípidos en hepatocitos; en este sentido, los autores aluden un mecanismo de hepatoprotección gracias a la disminución de la de esta acumulación de lípidos y a la modulación de la captación de ácidos grasos comparable con lo obtenido a través del producto “Silymarin” que es un agente terapéutico aprobado para el tratamiento del daño hepático (Mun et al., 2019).

Respecto al tejido adiposo, se realizó una tinción con H & E (Figura 16) y se tomaron imágenes al microscopio (40x). En este tejido se evaluó el tamaño de los adipocitos para determinar diferencias significativas entre sus diámetros.

Morfológicamente es notable que los grupos que estuvieron expuestos a dieta alta en grasa y dieta alta en grasa más 200 mg del extracto, presentaron un mayor tamaño del adipocito (G26 y G3) mientras que el control sano y el grupo de 400 mg de MCEO (G1 y G4) no presentó signos de hipertrofia de los adipocitos.

Al evaluarse el diámetro de los adipocitos mediante el software Image J, se determinó que el diámetro de los adipocitos disminuyó significativamente ($p < 0.05$) bajo el tratamiento con 200 mg de MCEO ($60.7 \mu\text{m}$) y 400 mg de MCEO ($50.3 \mu\text{m}$) en comparación con el grupo control inducido (G2, $72.2 \mu\text{m}$).

Tabla 3

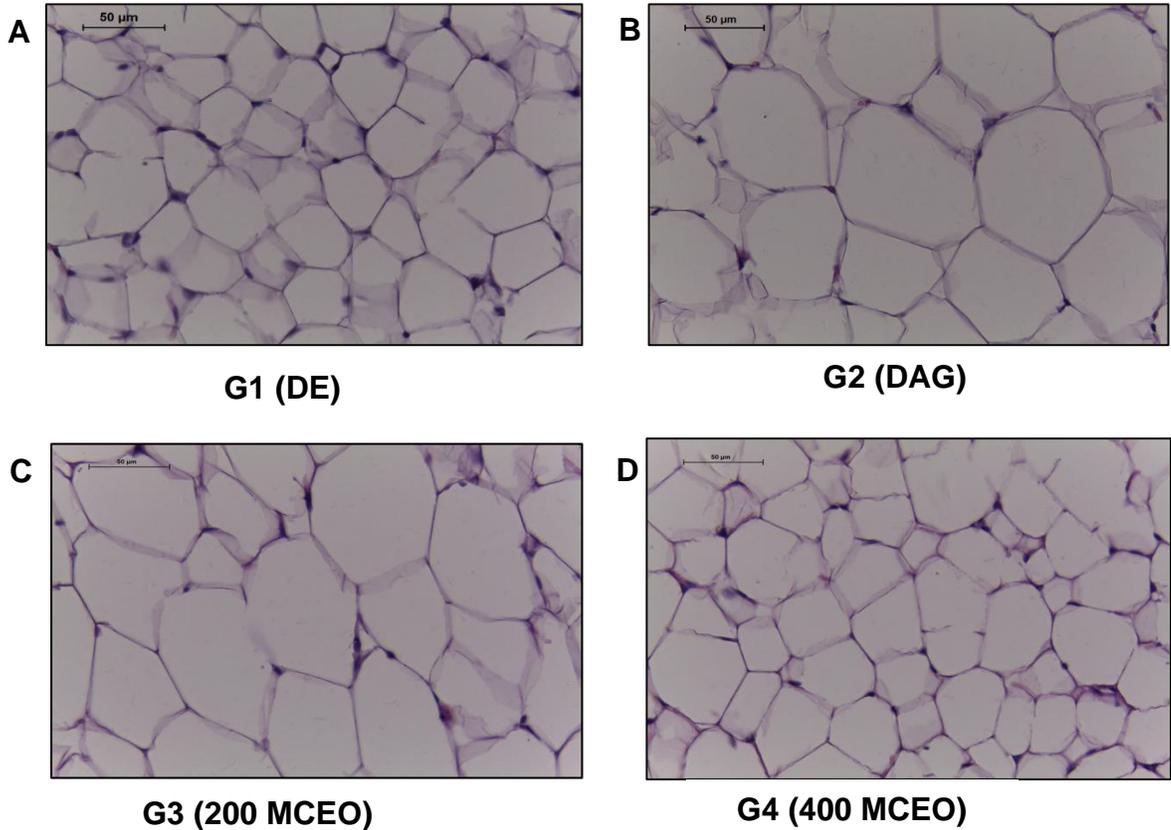
Diámetro de adipocitos por grupo.

Grupo	Media de diámetro de adipocitos (μm)
G1 (DE)	48.9 ± 7.5 d
G2 (DAG)	72.2 ± 8.6 a
G3 (200 mg MCEO)	60.7 ± 10.5 b
G4 (400 mg MCEO)	50.3 ± 11.0 c

Nota. La tabla arroja la media \pm desviación estándar de los grupos. G1: Dieta estándar, G2: Dieta alta en grasa, G3: DAG + 200 mg MCEO y G4: DAG + 400 mg MCEO.

Figura 16

Imágenes representativas del tejido adiposo.



Nota. Efecto del MCEO en secciones del tejido adiposo de ratones C57BL6 con tinción con H & E a 40x. A: G1 con DE, B: G2 con DAG, C: G3 con DAG + 200 mg MCEO y D: G4 con DAG + 400 mg de MCEO.

En un estudio donde se administró un extracto acuoso de maíz púrpura (500 mg de pericarpio de maíz púrpura / kg) se observó una disminución del diámetro de adipocitos tras 12 semanas de tratamiento. Los autores atribuyen estos cambios a diversos mecanismos de acción a través de los cuales actúan los compuestos fenólicos como aumento de la β – oxidación hepática, uso de ácidos grasos como fuente de energía e inhibición de la proliferación de adipocitos reduciendo su número y tamaño (Luna-Vital et al., 2020).

Otro estudio realizado en ratones macho de la cepa C57BL/6 mostró que la administración de un flavonoide nombrado “Maysin” (por su localización en la seda de maíz) fue capaz de disminuir no solo la ganancia de peso de los animales sino también promovió la disminución de peso de la grasa epididimal y una menor infiltración de gotas lipídicas en tejido adiposo e hígado. Estos efectos fueron demostrados *in vitro* y se aluden a la capacidad de este extracto de reducir la acumulación de lípidos en la célula y aumentar la β – oxidación conduciendo a un proceso de lipólisis (Lee et al., 2017).

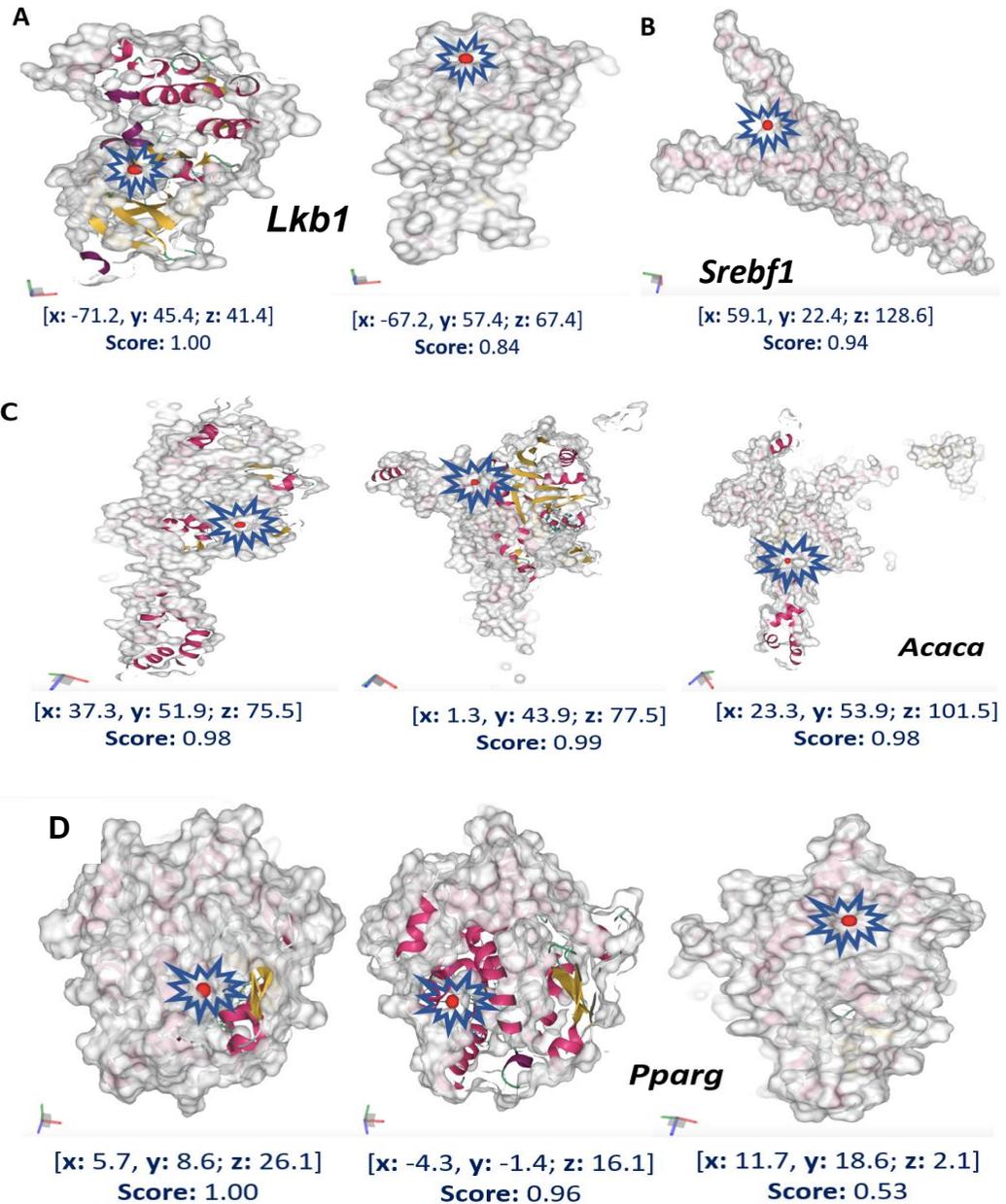
6.6. Análisis *in silico*

Se evaluó el potencial *in silico* de la quercetina y (+) - catequina del MCEO sobre proteínas de la ruta de AMPK por lo que primero se determinaron las coordenadas (lugar o zona) donde sucede la interacción. Para ello, se utilizaron proteínas codificadas por los genes de interés. En la figura 17 se observan las coordenadas del punto más probable donde suceda una interacción.

Siendo que el score o puntaje igual a 1 o más cercano a 1 nos indica la probabilidad de que este sea el punto donde interactúan las moléculas con cualquier compuesto, el score más bajo de interacción fue de 0.53 para Pparg [x: 11.7, y: 18.6, z: 2.1] mientras que las proteínas que mostraron un score más alto (1.00) fueron Lkb1 [x: -71.2, y: 45.4, z: 41.4] y Pparg [x: 5.7, y: 8.6, z: 26.1].

Figura 17

Coordenadas de interacción *in silico*.



Nota. La imagen muestra las coordenadas y puntaje de interacción proteína – ligando en un modelo *in silico*. A: Lkb1, B: Srebf1, C: Acaca y D: Pparg.

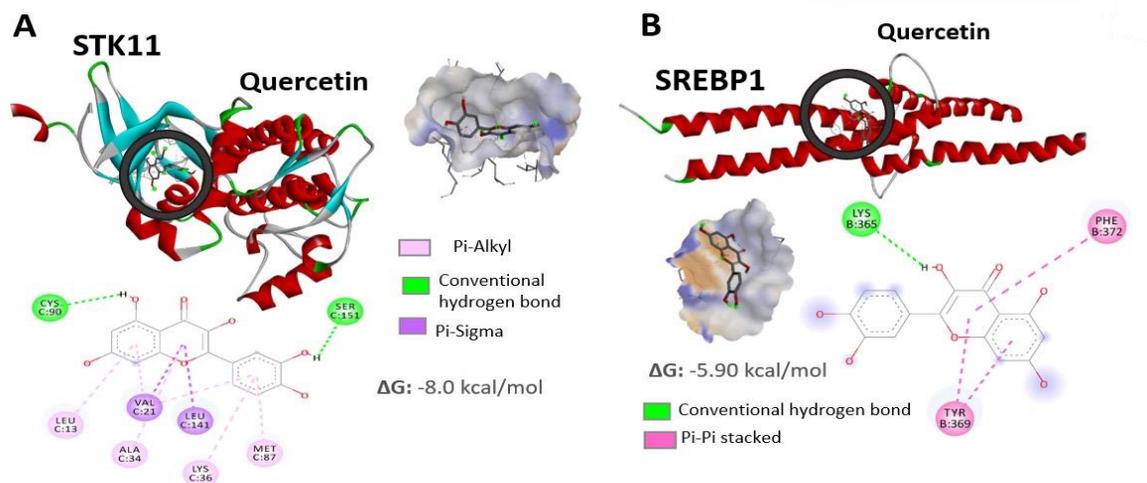
Por otro lado, se analizó la interacción de las proteínas de interés y su ligando (Figuras 18 y 19). Se asociaron los compuestos fenólicos de mayor relevancia reportados en maíz pigmentado con proteínas dianas de la vía AMPK mediante análisis *in silico* y se seleccionaron las de mayor afinidad de unión.

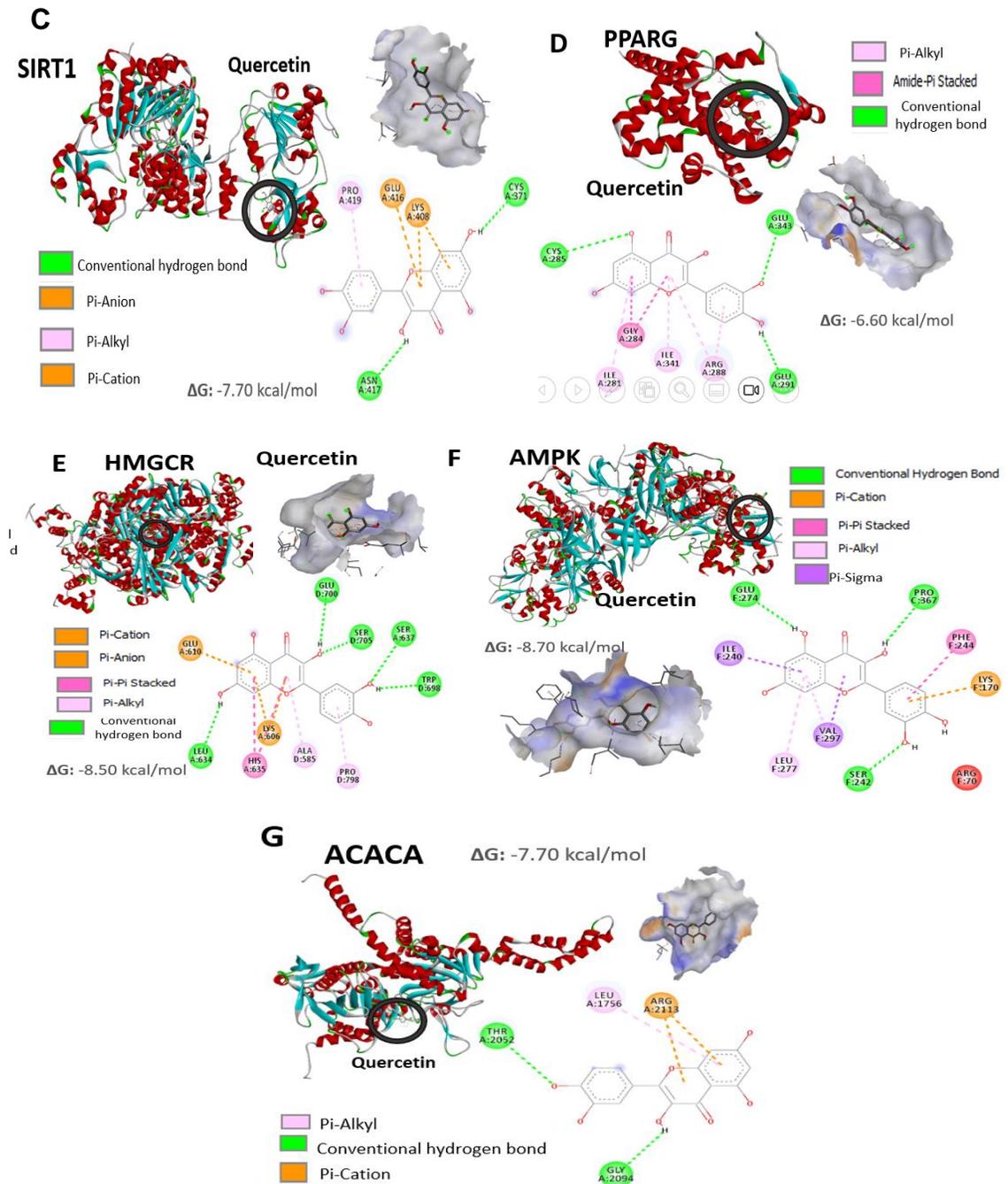
A la fecha, se ha determinado que la presencia y el número de enlaces de hidrógeno (conventional hydrogen bond) en la simulación de acoplamiento molecular es de gran relevancia para la estabilidad del complejo proteína – ligando ya que esta interacción se hace más estable conforme aumenta el número de este tipo de enlaces; sin embargo, además de evaluar el tipo de enlaces que se realizan, se debe tomar en cuenta la energía de Gibbs para evaluar la interacción entre la proteína y el ligando.

Tras llevar a cabo diversas pruebas de acoplamiento molecular, las de menor energía de unión fueron seleccionadas y se encuentran representadas en la figura 18. AMPK (-8.70 kcal/mol) y HMGCGR (-8.50 kcal/mol) mostraron la mayor afinidad mientras que SREBP1 (-5.9 kcal/mol) mostró la menor afinidad con el compuesto fenólico quercetina.

Figura 18

Acoplamiento molecular in silico con quercetina.

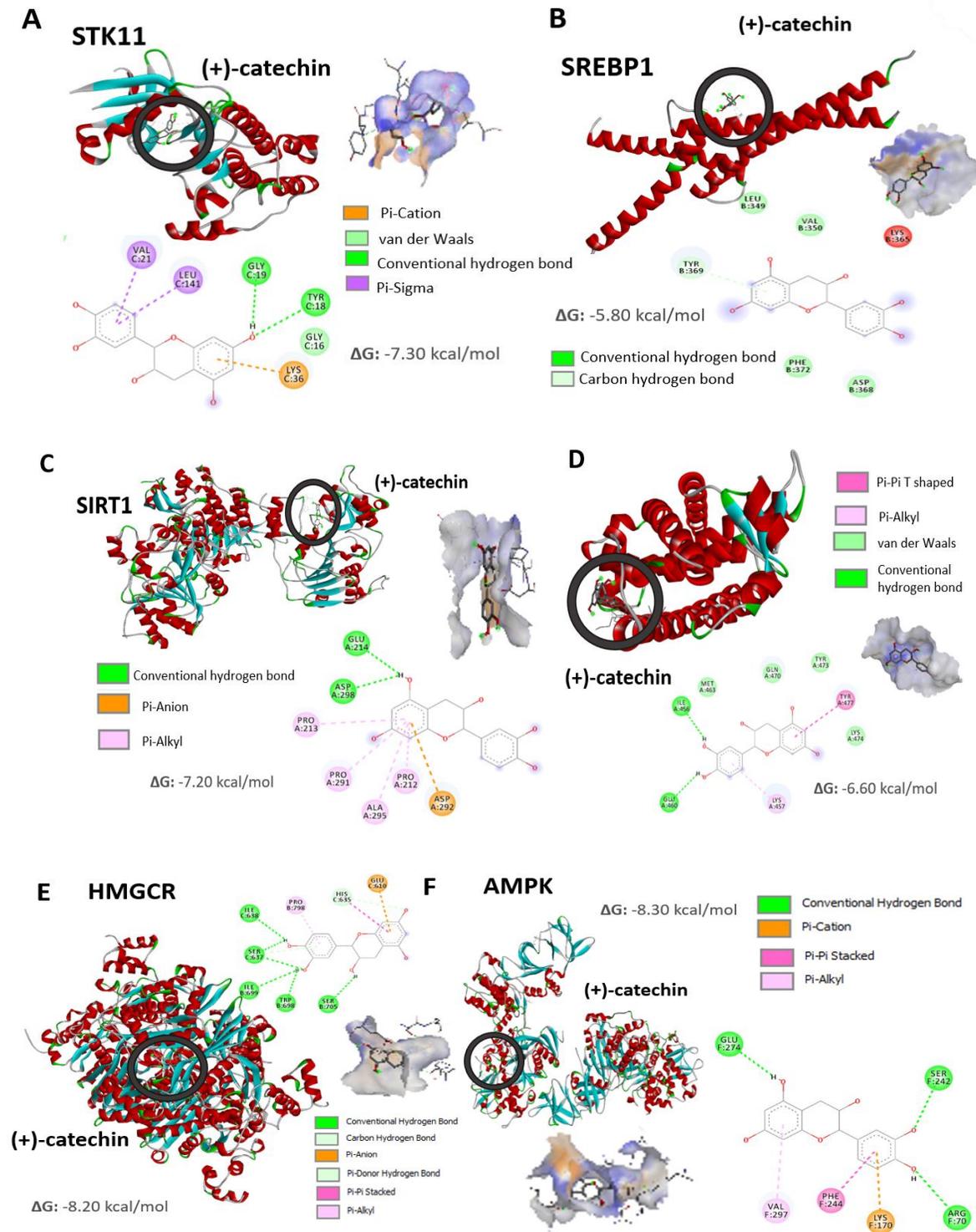


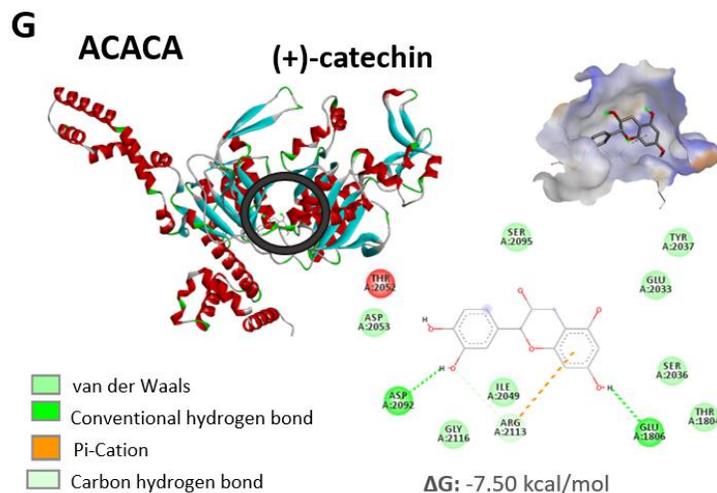


Nota. Imagen del acoplamiento entre la quercetina y las proteínas asociadas a AMPK *in silico*. A: STK11, B: SREBP1, C: SIRT1, D:PPARG, E: HMGCR y F: AMPK.

Figura 19

Acoplamiento molecular in silico con (+) - catequina.





Nota. Imagen del acoplamiento entre (+) – catequina y las proteínas asociada a AMPK *in silico*. A: STK11, B: SREBP1, C: SIRT1, D:PPARG, E: HMGCR y F: AMPK.

La mayoría de las proteínas presentaron una energía de unión media con la (+)- catequina (entre -4.70 y -6.20 Kcal/mol). AMPK (-8.30 kcal/mol) y HMGCR (-8.20 kcal/mol) mostraron la mayor afinidad mientras que SREBP1 (-5.8 kcal/mol) muestra la menor afinidad con el compuesto fenólico catequina (figura 19).

Como se mencionó con anterioridad, AMPK es una proteína de gran relevancia en el metabolismo energético ya que actúa como un sensor de energía celular y se encuentra altamente conservado. Esta proteína tiene la capacidad de modular el metabolismo lipídico en hígado mediante diversos factores de transcripción como Srebp1, responsable de regular la síntesis de lípidos de novo.

Otro mecanismo de acción sugerido en el que los compuestos fenólicos actúan para la inhibición de adipogénesis sucede gracias a la inhibición de la fosforilación de las ACC 1 y 2 y 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (HMGCR), que en consecuencia inhibe la catálisis del primer paso en la síntesis *de novo* de lípidos.

En este sentido, a través del acoplamiento molecular observado en esta investigación, es notable que tanto la quercetina como la (+)-catequina son capaces de interactuar y, por consiguiente, modular la acción de las proteínas AMPK y HMGCR; sin embargo, se debe evaluar la acción del extracto de MCEO sobre la expresión génica para determinar el efecto de este sobre los genes de interés señalados.

7. Conclusiones

Los resultados obtenidos a través de la presente investigación muestran que la administración del extracto de MCEO presenta un alto contenido de compuestos fenólicos totales (1,178.86 µg EAG/g) y taninos condensados (2.37 mg ECAT/g) con capacidad antioxidante determinada por los métodos de ABTS y DPPH, 4,049.37 y 6,311.66 µmol Trolox/g respectivamente. Este extracto demostró tener un impacto en el peso final de los ratones cuando se les administró 400 mg/kg/día de MCEO mediante gelatinas; sin embargo, la diferencia entre este grupo y el control inducido (G2) no fue estadísticamente significativa.

A partir de la presente investigación se determinó que el extracto de MCEO posee un potencial hipolipemiante debido a su efecto sobre parámetros bioquímicos, específicamente triglicéridos y colesterol total. Aunado a esto, el MCEO presentó un impacto positivo en tejido adiposo e hígado mediante la disminución del tamaño y número de adipocitos y presencia de enfermedad del hígado graso asociada con la disfunción metabólica (MAFLD).

Este estudio demostró desde un enfoque *in silico* que la quercetina y (+) – catequina (compuestos fenólicos encontrados en el extracto de MCEO) tienen el potencial de interactuar y modular la actividad de proteínas asociadas a la vía AMPK, misma que se encuentra relacionada con el metabolismo energético por lo que se atribuye el efecto antiobesogénico de este extracto al impacto de los compuestos fenólicos en el metabolismo lipídico.

Esta investigación permite elucidar mecanismos potenciales de acción de los compuestos fenólicos a través de un estudio *in vivo* complementado con información *in silico*; sin embargo, nuevos estudios deben ser llevados a cabo para lograr un mayor entendimiento de los mecanismos antiobesogénicos de estos compuestos bioactivos.

8. Referencias bibliográficas

- Abenavoli, L., Scarpellini, E., Colica, C., Boccuto, L., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aiello, V., Romano, B., de Lorenzo, A., Izzo, A. A., & Capasso, R. (2019). Gut microbiota and obesity: A role for probiotics. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11112690>
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezeh, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., ... & Aja, P. M. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, 13(1), 13398.
- Aguilar, A. A. V., & Condori, R. F. (2021). Estudios in Silico, Simulando Vida en un Entorno Virtual. *Gaceta Médica Boliviana*, 44(2), 278-278.
- Andolfi, C., & Fisichella, P. M. (2018). Epidemiology of Obesity and Associated Comorbidities. *Journal of Laparoendoscopic and Advanced Surgical Techniques*, 28(8), 919–924. <https://doi.org/10.1089/lap.2018.0380>
- Aranaz, P., Navarro-Herrera, D., Zabala, M., Miguéiz, I., Romo-Hualde, A., López-Yoldi, M., ... & González-Navarro, C. J. (2019). Phenolic compounds inhibit 3T3-L1 adipogenesis depending on the stage of differentiation and their binding affinity to PPAR γ . *Molecules*, 24(6), 1045.
- Arroyo, J., Raez, E., Rodríguez, M., Chumpitaz, V., Burga, J., de La Cruz, W., & Valencia, J. (2007). Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolémicas. In *Rev Peru Med Exp Salud Pública* (Vol. 24, Issue 2).
- Baldini, G., & Phelan, K. D. (2019). The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. In *Journal of Endocrinology* (Vol. 241, Issue 1, pp. R1–R33). BioScientifica Ltd. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0596>

- Buchan, L., St Aubin, C. R., Fisher, A. L., Hellings, A., Castro, M., Al-Nakkash, L., ... & Plochocki, J. H. (2018). High-fat, high-sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. *BMC Research Notes*, 11(1), 1-6.
- Burnett, J. R., Wilcox, L. J., Telford, D. E., Kleinstiver, S. J., Barrett, P. H. R., Newton, R. S., & Huff, M. W. (1997). Inhibition of HMG-CoA reductase by atorvastatin decreases both VLDL and LDL apolipoprotein B production in miniature pigs. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 17(11), 2589-2600.
- Candler, T., Kühnen, P., Prentice, A. M., & Silver, M. (2019). Epigenetic regulation of POMC; implications for nutritional programming, obesity and metabolic disease. In *Frontiers in Neuroendocrinology* (Vol. 54). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100773>
- Carling, D. (2017). AMPK signalling in health and disease. In *Current Opinion in Cell Biology* (Vol. 45, pp. 31–37). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2017.01.005>
- Cha, J. H., Kim, S. R., Kang, H. J., Kim, M. H., Ha, A. W., & Kim, W. K. (2016). Corn silk extract improves cholesterol metabolism in C57BL/6J mouse fed high-fat diets. *Nutrition Research and Practice*, 10(5), 501–506. <https://doi.org/10.4162/nrp.2016.10.5.501>
- Chaiittianan, R., Sutthanut, K., & Rattanathongkom, A. (2017). Purple corn silk: A potential anti-obesity agent with inhibition on adipogenesis and induction on lipolysis and apoptosis in adipocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 201, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.044>
- Chen, Y., Wu, R., Chen, W., Liu, Y., Liao, X., Zeng, B., ... & Wang, X. (2021). Curcumin prevents obesity by targeting TRAF4-induced ubiquitylation in m6A-dependent manner. *EMBO reports*, 22(5), e52146.

- Clarke, G., Stilling, R. M., Kennedy, P. J., Stanton, C., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2014). Minireview: Gut microbiota: The neglected endocrine organ. In *Molecular Endocrinology* (Vol. 28, Issue 8, pp. 1221–1238). Endocrine Society. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1108>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (8 de octubre de 2021). Razas de maíz de México. <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>
- Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruiz-Espinosa, H., & Carranza-Concha, J. (2016). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chia (*Salvia hispanica* L.) y su actividad antioxidante. *Agrociencia*, 50(4), 403-412.
- Costa, C. S., Del-Ponte, B., Assunção, M. C. F., & Santos, I. S. (2018). Consumption of ultra-processed foods and body fat during childhood and adolescence: A systematic review. In *Public Health Nutrition* (Vol. 21, Issue 1, pp. 148–159). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S1368980017001331>
- Cowan, C. (2019, May 22). Tras los pasos del maíz criollo, 50 años después.
- Dalvi, P. S., Chalmers, J. A., Luo, V., Han, D. Y., Wellhauser, L., Liu, Y., Tran, D. Q., Castel, J., Luquet, S., Wheeler, M. B., & Belsham, D. D. (2017). High fat induces acute and chronic inflammation in the hypothalamus: Effect of high-fat diet, palmitate and TNF- α on appetite-regulating NPY neurons. *International Journal of Obesity*, 41(1), 149–158. <https://doi.org/10.1038/ijo.2016.183>
- Damián-Medina, K., Salinas-Moreno, Y., Milenkovic, D., Figueroa-Yáñez, L., Marino-Marmolejo, E., Higuera-Ciapara, I., ... & Lugo-Cervantes, E. (2020). In silico analysis of antidiabetic potential of phenolic compounds from blue corn (*Zea mays* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Heliyon*, 6(3).

- De sá, P. M., Richard, A. J., Hang, H., & Stephens, J. M. (2017). Transcriptional regulation of adipogenesis. *Comprehensive Physiology*, 7(2), 635–674. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160022>
- Dhanraj, P., Pepper, M. S., & Pitere, R. (2021). The impact of obesity on the cellular and molecular pathophysiology of COVID-19. *South African Medical Journal*, 111(3), 211–214.
- Ding, R. B., Bao, J. L., & Deng, C. X. (2017). Emerging roles of SIRT1 in fatty liver diseases. In *International Journal of Biological Sciences* (Vol. 13, Issue 7, pp. 852–867). Ivyspring International Publisher. <https://doi.org/10.7150/ijbs.19370>
- Engin, A. (2017). The pathogenesis of obesity-associated adipose tissue inflammation. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 960, pp. 221–245). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_9
- Feng, L., Huang, F., Ma, Y., & Tang, J. (2021). The Effect of high-fat diet and exercise intervention on the TNF- α level in rat spleen. *Frontiers in Immunology*, 12.
- Fortunato, I. M., Dos Santos, T. W., Ferraz, L. F. C., Santos, J. C., & Ribeiro, M. L. (2021). Effect of polyphenols intake on obesity-induced maternal programming. *Nutrients*, 13(7), 2390.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M. A., Hu, F. B., Després, J. P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., Moreno, L. A., Bray, G. A., & Martínez, J. A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 3. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34>
- Green, M., Arora, K., & Prakash, S. (2020). Microbial medicine: Prebiotic and probiotic functional foods to target obesity and metabolic syndrome. In

International Journal of Molecular Sciences (Vol. 21, Issue 8). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/ijms21082890>

- Guzmán-Gerónimo, R. I., Alarcón-Zavaleta, T. M., Oliart-Ros, R. M., Meza-Alvarado, J. E., Herrera-Meza, S., & Chávez-Servia, J. L. (2017). Blue Maize Extract Improves Blood Pressure, Lipid Profiles, and Adipose Tissue in High-Sucrose Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 20(2), 110–115. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0087>
- Hursel, R., & Westerterp-Plantenga, M. S. (2013). Catechin- and caffeine-rich teas for control of body weight in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98(6), 1682S-1693S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.058396>
- Hsu, Y. A., Kuo, Y. H., Chen, C. S., Chen, Y. C., Huang, C. C., Chang, C. Y., Lin, C. J., Lin, C. W., Lin, H. J., Liu, F. T., & Wan, L. (2018). Galectin-12 is involved in corn silk-induced anti-adipogenesis and anti-obesity effects. *American Journal of Chinese Medicine*, 46(5), 1045–1063. <https://doi.org/10.1142/S0192415X18500544>
- Izquierdo, A. G., Crujeiras, A. B., Casanueva, F. F., & Carreira, M. C. (2019). Leptin, obesity, and leptin resistance: Where are we 25 years later? In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11112704>
- Jeon, S. M. (2016). Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. In *Experimental & molecular medicine* (Vol. 48, Issue 7, p. e245). <https://doi.org/10.1038/emm.2016.81>
- Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea Americana* Mill. peels and seeds of two varieties. *Journal of agricultural and food Chemistry*, 60(18), 4613-4619.
- Kwon, O., Kim, K. W., & Kim, M. S. (2016). Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 73, Issue

7, pp. 1457–1477). Birkhauser Verlag AG. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2133-1>

Lee, C. W., Seo, J. Y., Kim, S. L., Lee, J., Choi, J. W., & Park, Y. il. (2017). Corn silk maysin ameliorates obesity in vitro and in vivo via suppression of lipogenesis, differentiation, and function of adipocytes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 93, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.039>

Lefterova, M. I., Haakonsson, A. K., Lazar, M. A., & Mandrup, S. (2014). PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond. In *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 25, Issue 6, pp. 293–302). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.04.001>

Leverrier, A., Daguet, D., Calame, W., Dhoye, P., & Kodimule, S. P. (2019). Helianthus annuus seed extract affects weight and body composition of healthy obese adults during 12 weeks of consumption: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Nutrients*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/nu11051080>

Li, J., Wu, H., Liu, Y., & Yang, L. (2020). High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. *Experimental animals*, 19-0148.

Liang, W., Menke, A. L., Driessen, A., Koek, G. H., Lindeman, J. H., Stoop, R., ... & van den Hoek, A. M. (2014). Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. *PloS one*, 9(12), e115922.

López, M., Nogueiras, R., Tena-Sempere, M., & Diéguez, C. (2016). Hypothalamic AMPK: A canonical regulator of whole-body energy balance. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 12, Issue 7, pp. 421–432). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.67>

- Lu, X. Y., Shi, X. J., Hu, A., Wang, J. Q., Ding, Y., Jiang, W., Sun, M., Zhao, X., Luo, J., Qi, W., & Song, B. L. (2020). Feeding induces cholesterol biosynthesis via the mTORC1–USP20–HMGCR axis. *Nature*, 588(7838), 479–484. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2928-y>
- Luna-Vital, D. A., Chatham, L., Juvik, J., Singh, V., Somavat, P., & de Mejia, E. G. (2019). Activating Effects of Phenolics from Apache Red Zea mays L. on Free Fatty Acid Receptor 1 and Glucokinase Evaluated with a Dual Culture System with Epithelial, Pancreatic, and Liver Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(33), 9148–9159. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06642>
- Luna-Vital, D., Luzardo-Ocampo, I., Cuellar-Nuñez, M. L., Loarca-Piña, G., & Gonzalez de Mejia, E. (2020). Maize extract rich in ferulic acid and anthocyanins prevents high-fat-induced obesity in mice by modulating SIRT1, AMPK and IL-6 associated metabolic and inflammatory pathways. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 79. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108343>
- Madden, J. C., Enoch, S. J., Paini, A., & Cronin, M. T. (2020). A review of in silico tools as alternatives to animal testing: principles, resources and applications. *Alternatives to Laboratory Animals*, 48(4), 146-172.
- Mayoral, L. P. C., Andrade, G. M., Mayoral, E. P. C., Huerta, T. H., Canseco, S. P., Rodal Canales, F. J., Cabrera-Fuentes, H. A., Cruz, M. M., Pérez Santiago, A. D., Alpuche, J. J., Zenteno, E., Ruíz, H. M., Cruz, R. M., Jeronimo, J. H., & Perez-Campos, E. (2020). Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. In *The Indian journal of medical research* (Vol. 151, Issue 1, pp. 11–21). NLM (Medline). https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1768_17
- Mex, R., Bolívar, N., Garma, P., Tut, J., & Romero, K. (2013). Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(6), 558–571. www.blacpma.usach.cl

- Minegishi, Y., Haramizu, S., Misawa, K., Shimotoyodome, A., Hase, T., & Murase, T. (2015). Deletion of nuclear Factor-B p50 upregulates fatty acid utilization and contributes to an anti-obesity and high-endurance phenotype in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 309, 523–533. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00071.2015.-The>
- Mitchell, S., Vargas, J., & Hoffmann, A. (2016). Signaling via the NFκB system. In *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* (Vol. 8, Issue 3, pp. 227–241). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1331>
- Mohamed, G. A., Ibrahim, S. R., Elkhayat, E. S., & El Dine, R. S. (2014). Natural anti-obesity agents. *Bulletin of faculty of pharmacy, Cairo University*, 52(2), 269-284.
- Mun, J., Kim, S., Yoon, H. G., You, Y., Kim, O. K., Choi, K. C., ... & Jun, W. (2019). Water extract of *Curcuma longa* L. ameliorates non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*, 11(10), 2536.
- Murase, T., Nagasawa, A., Suzuki, J., Hase, T., & Tokimitsu, I. (2002). Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. *International Journal of Obesity*, 26(11), 1459–1464. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802141>
- Naowaboot, J., Piyabhan, P., Munkong, N., Parklak, W., & Pannangpetch, P. (2016). Ferulic acid improves lipid and glucose homeostasis in high-fat diet-induced obese mice. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(2), 242–250. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12514>
- Norma Oficial Mexicana. (18 de junio de 2001). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. [NOM-062- ZOO-1999]. *Diario Oficial de la Federación, México*.
- Norma Oficial Mexicana. (17 de febrero de 2003). NOM-087-ECOL-1995. Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento,

recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica. Diario Oficial de la Federación, México.

OECD (2019), The Heavy Burden of Obesity: The Economics of Prevention, OECD Health Policy Studies, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/67450d67-en>

Organización Mundial de la Salud. (2021). Obesidad y Sobrepeso. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Panzhinskiy, E., Bashir, R., Bagchi, D., & Nair, S. (2019). Effect of curcumin and α -lipoic acid in attenuating weight gain and adiposity. *Journal of the American College of Nutrition*, 38(6), 493-498.

Popkin, B. M., & Reardon, T. (2018). Obesity and the food system transformation in Latin America HHS Public Access. *Obes Rev*, 19(8), 1028–1064. <https://doi.org/10.1111/obr>

Pouwels, S., Sakran, N., Graham, Y., Leal, A., Pintar, T., Yang, W., ... & Ramnarain, D. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC endocrine disorders*, 22(1), 1-9.

Riyaphan, J., Pham, D. C., Leong, M. K., & Weng, C. F. (2021). In silico approaches to identify polyphenol compounds as α -glucosidase and α -amylase inhibitors against type-II diabetes. *Biomolecules*, 11(12), 1877.

Russo, L., & Lumeng, C. N. (2018). Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. In *Immunology* (Vol. 155, Issue 4, pp. 407–417). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/imm.13002>

Shamah Levy, T., Cuevas Nasu, L., Romero Martínez, M., Gaona Pineda, E. B., Gómez Acosta, L. M., Mendoza Alvarado, L. R., Méndez Gómez Humarán,

- I., & Rivera Dommarco, J. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 - 2019.
- Simmons, G. E., Pruitt, W. M., & Pruitt, K. (2015). Diverse roles of SIRT1 in cancer biology and lipid metabolism. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 16, Issue 1, pp. 950–965). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms16010950>
- Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., & Adhikari, B. (2020). Managing obesity through natural polyphenols: A review. *Future Foods*, 1, 100002.
- Sohn, J. W. (2015). Network of hypothalamic neurons that control appetite. In *BMB Reports* (Vol. 48, Issue 4, pp. 229–233). The Biochemical Society of the Republic of Korea. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2015.48.4.272>
- Tomay, F., Marinelli, A., Leoni, V., Caccia, C., Matros, A., Mock, H. P., Tonelli, C., & Petroni, K. (2019). Purple corn extract induces long-lasting reprogramming and M2 phenotypic switch of adipose tissue macrophages in obese mice. *Journal of Translational Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1972-6>
- Urquizo Cruz, E. P., & Sánchez Salcán, N. de J. (2019). Extracto del maíz morado como indicador químico. <https://orcid.org/0000-0001-6250-777X>
- Usda, H. (2015). 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee Report.
- Vicente-Herrero, M., de la Torre, R. I., Victoria, M., & López González, Á. A. (2022). Obesidad, hábitos de vida y riesgo de hígado graso en la población laboral española durante la pandemia por COVID-19. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 15(2), 93-98.
- Wang, J., Zhang, L., Dong, L., Hu, X., Feng, F., & Chen, F. (2019). 6-Gingerol, a Functional Polyphenol of Ginger, Promotes Browning through an AMPK-Dependent Pathway in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(51), 14056–14065. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05072>

- Wang, Q., Liu, S., Zhai, A., Zhang, B., & Tian, G. (2018). AMPK-Mediated Regulation of Lipid Metabolism by Phosphorylation. In *Biol. Pharm. Bull* (Vol. 41, Issue 7).
- WU, H., LI, X., & SHEN, C. (2020). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ in White and Brown Adipocyte Regulation and Differentiation. *Physiological Research*, 69(5), 759–773. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934411>
- Yamashita, Y., Wang, L., Wang, L., Tanaka, Y., Zhang, T., & Ashida, H. (2014). Oolong, black and pu-erh tea suppresses adiposity in mice via activation of AMP-activated protein kinase. *Food and Function*, 5(10), 2420–2429. <https://doi.org/10.1039/c4fo00095a>
- Yazıcı, D., & Sezer, H. (2017). Insulin resistance, obesity and lipotoxicity. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 960, pp. 277–304). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_12
- Ye, X., Li, M., Hou, T., Gao, T., Zhu, W.-G., & Yang, Y. (2017). Sirtuins in glucose and lipid metabolism. In *Oncotarget* (Vol. 8, Issue 1). www.impactjournals.com/oncotarget/
- Zhang, Q., Luna-Vital, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2019). Anthocyanins from colored maize ameliorated the inflammatory paracrine interplay between macrophages and adipocytes through regulation of NF- κ B and JNK-dependent MAPK pathways. *Journal of Functional Foods*, 54, 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.016>
- Zhang, L. (2021). Method for voluntary oral administration of drugs in mice. *STAR protocols*, 2(1), 100330.
- Zhao, X., Yang, Y., Sun, B. F., Zhao, Y. L., & Yang, Y. G. (2014). FTO and obesity: Mechanisms of association. In *Current Diabetes Reports* (Vol. 14, Issue 5). Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11892-014-0486-0>

Zhou, Y., Chi, J., Lv, W., & Wang, Y. (2021). Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). In *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* (Vol. 37, Issue 2). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3377>

9. Anexos

9.1. Carta de aceptación de bioética



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA



Facultad de Medicina a 25 de abril del 2022

Sarah Nicole Lee Martínez
Presente

Por medio de la presente le hacemos llegar las observaciones y recomendaciones al protocolo de Tesis de Maestría:

Efecto del extracto rico en compuestos fenólicos de maíz criollo Elotes Occidentales sobre marcadores de obesidad asociados a la vía AMPk en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.

Que ha turnado a este Comité de Bioética:

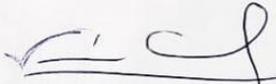
Se acompaña solicitud con carta responsiva de Bioterio donde se compromete al apego de normas bioéticas de manejo y sacrificio.

Con base en lo anterior el dictamen Correspondiente es de:

APROBADO

"EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR"
"POR LA VIDA Y LA SALUD"


Dr. Carlos Francisco Sosa Ferreyra
Presidente del Comité de Bioética
Facultad de Medicina


Dra Claudia Verónica Cabeza Cabrera
Secretaria del Comité de Bioética
Facultad de Medicina



LX
SEXAGÉSIMO
ANIVERSARIO
DE LA AUTONOMÍA

SOMOS UAQ
EDUCAR CRECER CONSOLIDAR

Clavel No. 200, Col. Prados de la Capilla, Santiago de Querétaro, Qro. México C.P. 76170
Tel. 01 (442)192 12 73 y 01 (442) 192 12 00 Ext. 6200

9.2. Registro de protocolo

Universidad Autónoma de Querétaro

Dirección de Investigación y Posgrado
Registro del Protocolo de Investigación del Estudiante de Posgrado

Espacio exclusivo para la Dirección

No. Registro de Proyecto ¹ :	13207
Fecha de Registro ¹ :	11-05-2022
Fecha de inicio de proyecto:	01 de agosto de 2021
Fecha de término de proyecto:	31 de julio de 2023

1. Datos del solicitante:

No. de expediente: 246317

Nombre: Lee

Martínez	Sarah Nicole
Apellido Paterno	Apellido Materno
	Nombre(s)

Dirección: Verona #82

Terranova	76910
Calle y número	Colonia
	C.P.

Querétaro

442 159 5629	
Estado	Teléfono (incluir lada)

2. Datos del proyecto:

Facultad: Facultad de Medicina

(Escribir el nombre completo del posgrado en el que está inscrito)

Especialidad en: _____

Maestría en: Maestría en Ciencias en Biomedicina

Doctorado en: _____



Tema específico del proyecto: Efecto del extracto rico en compuestos fenólicos de maíz criollo Elotes Occidentales sobre marcadores de obesidad asociados a la vía AMPk en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.

Dra. Mardel Ligeth Cuéllar Núñez	Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo	D. en C. Nicolás Camacho Calderón
Director de Tesis ¹	Co-director ¹	Jefe de Investigación y Posgrado de la Facultad ¹
Sarah Nicole Lee Martínez	Dra. Guadalupe Zaldívar Lelo de Larrea	Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Alumno ¹	Director de Facultad ¹	Director de Investigación y Posgrado ¹

¹ Escribir nombre completo y firma.