

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**



***“EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA NARINGENINA EN LA  
OBESIDAD INDUCIDA POR UNA DIETA OCCIDENTAL EN UN  
MODELO MURINO”***

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA**

PRESENTA

**M.C.S GABRIELA LÓPEZ ALMADA**

Mexicali, Baja California

Abril de 2025

***“Efectos de la administración de la naringenina en la obesidad  
inducida por una dieta occidental en un modelo murino”***

**M.C.S Gabriela López Almada**

**Asesor de tesis :**

Dra. Norma Julieta Salazar López

**Miembros del Comité Evaluador**

Dra. Ana Gabriela Leija Montoya

Dr. Jonathan Isaac Arauz Cabrera

Dr. Edgar Torres Maravilla

Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar

# Carta Dictamen de la Evaluación Escrita del Examen de Grado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## CARTA DE DICTAMEN DE LA EVALUACIÓN DE LA FASE ESCRITA DEL TRABAJO TERMINAL

Mexicali, B.C., a 6 de mayo de 2025.

Los abajo firmantes, miembros del Jurado Dictaminador del trabajo terminal titulado "Efectos de la administración de la naringenina en la obesidad inducida por una dieta occidental en un modelo murino", que para obtener el grado de **Doctor en Ciencias en Biomedicina**, presenta la C. Gabriela López Almada, una vez concluida la evaluación correspondiente, hemos resuelto **APROBAR**.

  
Dra. Norma Julieta Salazar López  
Presidente

  
Dra. Ana Gabriela Leija Montoya  
Secretario

  
Dr. Jonathan Isaac Arauz Cabrera  
Sinodal

  
Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar  
Sinodal

  
Dr. Edgar Torres Maravilla  
Sinodal

## **Agradecimientos**

***Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California, mi alma mater.***

***A SECIHTI, por el apoyo brindado para llevar a cabo mi formación.***

***A los integrantes del comité: Dra. Ana Gabriela Leija Montoya, CISALUD, UABC; Dr. Jonathan Isaac Arauz Cabrera, Laboratorio de Farmacología, UABC; Dr. Edgar Torres Maravilla, Facultad de Medicina, UABC y Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar, CIAD, Hermosillo, Sonora.***

***A quienes colaboraron para poder llevar a cabo este proyecto: Dra. Maribel Robles Sánchez, Laboratorio de Alimentos funcionales, DIPA, UNISON; M. en. C. Rafael Canett Romero, DIPA, UNISON; M. en C. Gustavo Martínez Coronilla, Laboratorio Histología, CISALUD, UABC; J. Abraham Domínguez Avila, CIAD, Hermosillo, Sonora; Dr. Nicolás Addiel Serafín Higuera, Laboratorio Biología Molecular, CISALUD, UABC; M. en C. Ángel A. Pulido Capiz, Facultad de Medicina, UABC y Biol. Natalia Briseida Vega Castellanos.***

***Un especial agradecimiento a la Dra. Norma Julieta Salazar López, directora de esta tesis, por su guía y acompañamiento.***

## Abreviaturas

ACC – acetil-CoA carboxilasa

AGCC – ácidos grasos de cadena corta

AgRP - proteína relacionada con agouti

$\alpha$ -MSH – hormona estimulante de melanocitos alfa

ARC – núcleo arcuato

BD – dieta basal

CART – transcrito regulado por cocaína y anfetaminas

CCK – colecistoquinina

ChREBP – proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos

CAT – catalasa

DHA – docosahexaenoico

DPP-IV – dipeptidil peptidasa-4

DM2 – diabetes mellitus tipo 2

ECT – enfermedades crónicas no transmisibles

EHGNA – enfermedad de hígado graso no alcohólico

EO – estrés oxidativo

EPA – grasas eicosapentaenoico

EROs – especies reactivas de oxígeno

F1P – fructosa-1-fosfato

FAS – sintasa de ácidos grasos

GHSR1A – receptor secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1A

Ghr-R – receptor de grelina

GLP-1 – péptido similar al glucagón tipo 1

GLUT-4 – transportador de glucosa 4

HyE – hematoxilina y eosina  
HDL - lipoproteína de alta densidad  
ICAM-1 – molécula de adhesión intracelular 1  
IL-1 – interleucina 1  
IL-10 – interleucina 10  
IL-12 – interleucina 12  
IL-18 – interleucina 18  
IL-6 – interleucina 6  
IMC – índice de masa corporal  
IRS-1 – sustrato del receptor insulínico tipo 1  
IR – receptor de insulina  
JNK1 – cinasa jun-N-terminal 1  
LDL - lipoproteína de baja densidad  
LDN – lipogénesis de novo  
LPS – lipopolisacárido  
MCP-1 – proteína quimioatrayente de monocitos-1  
NAR – naringenina  
NGN – naringina  
NF- $\kappa$ B – Factor nuclear kappa B  
NPY – neuropéptido Y  
NTS – núcleo del tracto solitario  
POMC – neuronas proopiomelanocortina  
PYY – péptido YY  
RRP – receptor de reconocimiento de patrones  
SOD – superóxido dismutasa

SREBP-1c – proteína de unión al elemento regulador de esteroides-1

SM – síndrome metabólico

TGI – tracto gastrointestinal

TLR4 – receptor de tipo Toll-4

TNF- $\alpha$  – factor de necrosis tumoral alfa

TRPA1 - receptor de potencial transitorio anquirina 1

VLDL - lipoproteína de muy baja densidad

WD – dieta occidental

-OH – grupos hidroxilo

## Contenido

Carta Dictamen de la Evaluación Escrita del Examen de Grado .....	iii
Agradecimientos .....	iv
Abreviaturas .....	v
Contenido .....	viii
Índice de Tablas .....	xi
Índice de Figuras.....	xii
RESUMEN .....	xiii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1 Definición y Etiología de la Obesidad. ....	3
2.2 Fisiopatología de la Obesidad .....	9
2.3 Vía de la Saciedad.....	13
2.3.1 Mecanismos Centrales .....	13
2.3.2 Mecanismos Periféricos.....	15
2.4. Compuestos Bioactivos .....	23
2.4.1. Compuestos Fenólicos .....	24
2.5 La Naringenina .....	26
3. ANTECEDENTES.....	28
3.1. Naringenina en la Obesidad.....	28
3.2. NAR sobre péptidos periféricos participantes en la vía de la saciedad.....	29
4. JUSTIFICACIÓN.....	37
5. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	39
6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	39
6.1. Hipótesis de investigación (H1) .....	39
6.2. Hipótesis nula (H0): .....	39
6.3. Hipótesis alterna (Ha): .....	39
6.4. Objetivo General .....	40
6.5. Objetivos Específicos .....	40
7. MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
7.1. Diseño experimental .....	41
7.2. Análisis histológico .....	43
7.4. Análisis bioquímico .....	43

7.5.	Determinación de capacidad antioxidante.....	44
7.6.	Evaluación de la saciedad.....	44
7.7.	Docking molecular .....	44
7.8.	Variables .....	46
7.9.	Análisis estadístico.....	47
7.10.	Aspectos éticos .....	48
8.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>48</b>
8.1.	Efecto de la NAR en el consumo de alimento .....	48
8.2.	Efecto de la NAR en la ganancia de peso corporal.....	50
8.3.	Efecto de NAR en el perfil lipídico.....	51
8.4.	Análisis histológico .....	55
8.5.	Efecto de la NAR en el peso del hígado.....	58
8.6.	Efecto de la NAR en el peso del tejido graso abdominal y retroperitoneal 61	
8.7.	Efecto de NAR en estrés oxidativo.....	63
8.8.	Efecto de la NAR en la eficiencia del alimento .....	66
8.9.	Efecto de NAR en péptidos periféricos participantes en la vía de la saciedad (colecistocinina y grelina).....	68
8.10.	Acoplamiento molecular .....	75
8.11	Limitaciones .....	82
9.	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>84</b>
10.	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>86</b>
11.	<b>ANEXOS: PRODUCTOS.....</b>	<b>109</b>
	ANEXO 1. Artículo original (2025) .....	109
	ANEXO 2. Artículo de revisión (2023) .....	111
	ANEXO 3. Artículo de revisión (2022) .....	113
	ANEXO 4. Capítulo de libro 2. Aceptado para publicación....	114
	ANEXO 5. Capítulo de libro 11. Aceptado para publicación. ....	116
	ANEXO 6. Capítulo de libro .....	117
	ANEXO 7. Artículo de revisión.....	118

<b>ANEXO 8. Presentación en Congreso Internacional, Actualidades en Nutrición (2023) .....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXO 9. Participación actividades de divulgación, 3MT (2022 y 2023).....</b>	<b>120</b>
<b>ANEXO 10. Participación en Jóvenes Investigadores (2022).....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO 11. Cápsula de radio “Inductores de la saciedad” (2023).....</b>	<b>123</b>
<b>ANEXO 12. Cápsula de radio “Los compuestos fenólicos como potenciales moduladores de la vía hambre-saciedad en la obesidad” (2023).....</b>	<b>124</b>

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Principales enterohormonas implicadas en la vía del hambre y la saciedad y hallazgos de estudios <i>in vivo e in vitro</i> que evalúan los efectos metabólicos de los tratamientos con naringenina (NAR).....	<b>31</b>
<b>Tabla 2.</b> Composición de las dietas experimentales (g/kg).....	<b>42</b>
<b>Tabla 3.</b> Operacionalización de variables.....	<b>46</b>
<b>Tabla 4.</b> Efecto de la NAR en la ingesta de energía y eficiencia del alimento.....	<b>67</b>
<b>Tabla 5.</b> Características de las interacciones de NAR con CCK-R y GHR-R.....	<b>76</b>
<b>Tabla 6.</b> Se resumen los resultados de cada uno de los objetivos establecidos.....	<b>81</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Fisiopatología de la obesidad.....	<b>11</b>
<b>Figura 2.</b> Esquema de la clasificación de los compuestos bioactivos y los subgrupos de flavonoides.....	<b>25</b>
<b>Figura 3.</b> Estructura molecular de la NAR.....	<b>27</b>
<b>Figura 4.</b> Potencial efecto modulador de la NAR sobre péptidos periféricos y su regulación con la vía del hambre-saciedad.....	<b>35</b>
<b>Figura 5.</b> Efecto de la NAR en el consumo de alimento a lo largo de las 8 semanas de tratamiento.....	<b>49</b>
<b>Figura 6.</b> Efecto de la NAR en la ganancia de peso corporal al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>50</b>
<b>Figura 7.</b> Efecto de la NAR en los niveles de triglicéridos (TG) (A), c-HDL (B), c-LDL (C), c-VLDL (D) y colesterol total (E) al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>53</b>
<b>Figura 8.</b> Microfotografías de hígados y cambios histológicos (H y E) representativos de tejido hepático al finalizar las 8 semanas de administración de NAR.....	<b>57</b>
<b>Figura 9.</b> Efecto de la NAR en el peso hepático al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>59</b>
<b>Figura 10.</b> Efecto de la NAR en el peso de tejido graso abdominal (A) y retroperitoneal (B) al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>61</b>
<b>Figura 11.</b> Efecto de la NAR en la actividad de (A) CAT y (B) SOD al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>65</b>
<b>Figura 12.</b> Efecto de la NAR en los niveles de CCK (A) y grelina (B) al finalizar las 8 semanas de tratamiento.....	<b>69</b>
<b>Figura 13.</b> Conformación bidimensional de la mejor interacción entre (A) NAR y el receptor de colecistoquinina (CCKR) y (B) NAR y el receptor de grelina (GHSR).....	<b>77</b>

## RESUMEN

La obesidad es una enfermedad de origen multifactorial con efectos perjudiciales para la salud; las alteraciones en el proceso de hambre-saciedad desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la obesidad. La naringenina (NAR) ha mostrado efectos beneficiosos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos en modelos animales, aunque su impacto en la adiposidad y la saciedad sigue sin definirse. Este estudio evaluó un modelo de obesidad inducida por dieta occidental (WD) en ratas de la cepa Wistar, en el que se administraron 100 mg/kg de NAR como agente antiobesógeno por 8 semanas; se analizó el estrés oxidativo, el perfil lipídico y biomarcadores de saciedad, así como la interacción *in silico* entre NAR y los receptores de colecistoquinina (CCK) y grelina. La suplementación con NAR resultó en una disminución del 31.2% del tejido adiposo retroperitoneal y del 17% del peso del hígado en comparación con el grupo WD no tratado ( $p < 0.05$ ). NAR previno el desarrollo de dislipidemia, particularmente al disminuir los triglicéridos séricos un 26% ( $p < 0.05$ ). Así mismo, NAR aumentó la concentración de CCK en el grupo de dieta basal, un efecto que fue abolido en el grupo de dieta WD ( $p < 0.05$ ). No se mostraron cambios significativos en las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). Los resultados del estudio *in silico* sugieren que la NAR es capaz de interactuar con el receptor de CCK y grelina, lo que podría modular estos receptores. Concluimos que la NAR tiene efectos antiobesogénicos y puede regular los niveles séricos de CCK, aunque aún se requieren más estudios.

# 1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es en la actualidad un gran problema de salud pública a nivel mundial y ha mostrado un patrón de crecimiento exponencial. Actualmente un tercio de la población mundial padece de sobrepeso u obesidad (Chooi et al., 2019) y se estima que para el año 2030 uno de cada dos adultos padecerá obesidad en los Estados Unidos (Ward et al., 2019). En el año 2022, México ya ha superado esta expectativa al mostrar una tasa en la prevalencia de obesidad o sobrepeso del 75.2 % (38.3% sobrepeso; 36.9% obesidad) mostrando un aumento en la prevalencia del 21.4% en comparación con el año 2006 (Campos-Nonato et al., 2023). Entre los factores de riesgo para el desarrollo de obesidad en México se encuentran patrones dietarios con alta densidad de energía, insuficiente actividad física, nivel bajo de escolaridad y socioeconómico y difícil acceso a los alimentos saludables (Campos-Nonato et al., 2023). Particularmente la dieta occidental se caracteriza por simular el contenido dietario hipercalórico y poco sano del occidente, capaz de desarrollar obesidad y alteraciones metabólicas (Christ et al., 2019). De manera general, se consideran como factores promotores de la obesidad la hiperfagia, un desequilibrio calórico a largo plazo y la acumulación excesiva de tejido adiposo (Boix-Castejón et al., 2018). En relación con el tejido adiposo, este tejido secreta una variedad de moléculas bioactivas que regulan y participan en múltiples vías de señalización, actuando así como una glándula endocrina (Tseng, 2023). La hipertrofia del tejido adiposo da lugar a la síntesis de citocinas pro-inflamatorias, que en conjunto, contribuyen al desarrollo de un tejido disfuncional. A causa de esto, la obesidad es considerada un estado inflamatorio crónico de bajo grado capaz de dar inicio y progresión a otras enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) (Auger y Kajimura, 2023), por lo que la búsqueda de tratamientos efectivos y preventivos de la obesidad es una necesidad.

Los cambios en la actividad física y la alimentación son estrategias claves para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad (Lin y Li, 2021). En relación con los cambios en la alimentación, además de un ajuste adecuado en el aporte calórico, el contenido o la calidad de los alimentos ha demostrado modular la obesidad (Cena y Calder, 2020; Meslier et al., 2020). Los alimentos de origen vegetal contienen

compuestos bioactivos con potenciales efectos benéficos en la salud. La naringenina (NAR) es un flavonoide que ha mostrado beneficios en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Saini et al., 2022). Al respecto un modelo animal de dieta alta en grasas suplementada con NAR, reveló una prevención en la ganancia de peso, así como una mejoría en triglicéridos séricos y en la tolerancia a la glucosa e hiperglucemia (Assini et al., 2015). Sin embargo, hasta el momento no se ha esclarecido el efecto de la NAR en el eje apetito-saciedad.

Por lo anterior, es de nuestro particular interés investigar el efecto antiobesogénico de la NAR, a través de la modulación de péptidos y hormonas orexigénicos y anorexigénicas periféricas que regulan la vía del hambre-saciedad, así como su impacto en los parámetros metabólicos relacionados con la obesidad.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Definición y Etiología de la Obesidad.

La obesidad, según la OMS, se caracteriza por una acumulación anormal o excesiva de grasas, que puede ser perjudicial para la salud (WHO, 2021), ya que puede acompañarse de múltiples trastornos metabólicos como el aumento del tejido adiposo, disfunción endotelial, dislipidemia, hipertensión, aterosclerosis y resistencia a la insulina (Lin y Li, 2021), y a su vez, reduce la esperanza de vida, considerando que el aumento de 5kg/m<sup>2</sup> sobre un índice de masa corporal (IMC) de 25kg/m<sup>2</sup>, aumenta la mortalidad un 30% (Prospective Studies Collaboration, 2009).

Las causas de obesidad son complejas y multifactoriales entre las cuales se incluyen factores ambientales y genéticos. Como ejemplo de factores ambientales obesogénicos se encuentra el aumento del consumo de los alimentos industrializados, en porciones desproporcionadas e incorrectas (Pineda et al., 2021), particularmente aquellas con alto contenido en grasas y carbohidratos, aunado a la disminución en la actividad física por un estilo de vida sedentario moderno (Nicolaidis, 2019).

En relación con el contenido de los alimentos, se ha identificado la importancia de los macronutrientes en la inducción de la obesidad y las enfermedades metabólicas asociadas. A este mecanismo se le ha denominado como “obesidad inducida por la dieta”. Entre los patrones dietarios y experimentales disponibles que representan este tipo de dieta se encuentran la dieta alta en grasas (“HFD” por sus siglas en inglés “High-Fat Diet”), la dieta tipo cafetería, la dieta alta en grasas y azúcares (“HFHSD” por sus siglas en inglés “High-Fat, High-Sucrose Diet”), dieta alta en sacarosa (“HSD” por sus siglas en inglés “High-Sucrose Diet”) y la dieta occidental (“WD” por sus siglas en inglés “Western Diet”) (Preguiça et al., 2020; Rakhra et al., 2020).

El modelo o patrón dietario de dieta occidental se caracteriza por un alto contenido de macronutrientes tales como grasas y azúcares, así como bajo contenido de fibra, micronutrientes (tales como vitaminas y minerales) y moléculas antioxidantes (Christ et al., 2019) en comparación a una dieta saludable la cual se define por contener una

proporción apropiada de macro y micronutrientes, para proveer de las necesidades energéticas y fisiológicas, sin un exceso en la ingesta (Cena y Calder, 2020).

La intervención dietética con el patrón dietario de WD es útil para el estudio de la obesidad en modelos murinos tales como la obesidad inducida por la dieta en ratas de la cepa Wistar. Bortolin y colaboradores (2015) concluyen que la WD fue la más eficaz para inducir la obesidad, trastornos metabólicos y alteraciones en la microbiota intestinal, al comparar con una dieta alta en grasas (60% kcal) y una dieta de tipo cafetería, por lo que puede utilizarse como un modelo “robusto” de obesidad humana, (Bortolin et al., 2018). Así mismo, el patrón de la dieta en el mundo occidental obtiene ~20% de la energía de azúcares, la cual suele ser en forma de fructosa, lo que ha permitido adicionar bebidas azucaradas con base en fructosa para inducir la obesidad. El contenido calórico de la WD suele ser excesiva, lo que aporta al desequilibrio entre la ingesta y gasto energético que, a largo plazo, conlleva al desarrollo de las alteraciones metabólicas observadas en la obesidad. El contenido de carbohidratos simples y refinados, asociado a un alto contenido en grasas saturadas, le otorgan la capacidad de inducir un proceso inflamatorio (Christ et al., 2019). Entre los mecanismos asociados se encuentra el potencial de la glucosa por inducir un aumento en la actividad de factores de transcripción pro-inflamatorios tales como el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), asociado a una disminución en la expresión de su subunidad inhibidora, I $\kappa$ B $\alpha$ , lo que resulta en un aumento del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6), proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1) y la molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1) (Biobaku et al., 2019). De igual manera, las grasas saturadas, mediante su unión a NF- $\kappa$ B, aumentan la expresión de citocinas proinflamatorias (Capece et al., 2022). Además, aumentan la producción de especies reactiva de oxígeno (EROs), lipoperoxidación (Alnahdi et al., 2019), la expresión de p47phox (asociado a la activación de NADPH y generación de superóxido) (F. González et al., 2019) lo que promueve un estado de estrés oxidativo (EO).

Así mismo, al metabolizarse estos nutrientes en la mitocondria mediante los procesos de  $\beta$ -oxidación y fosforilación oxidativa, en conjunto regulan energía mediante la producción de ATP, lo que se asocia con la formación de EROs, disminución en la razón GSH:GSSG

y una disfunción mitocondrial (Alnahdi et al., 2019). Lo anterior contribuye al EO, daño celular e inicio un proceso inflamatorio (Li et al., 2023).

A pesar de que aún continúan en estudio los mecanismos por los cuales TNF- $\alpha$  contribuye y amplifica a la inflamación en la obesidad desde un punto de vista sistémico, es claro que la presencia de TNF- $\alpha$ , en el tejido adiposo, interfiere con las señales de transducción del sustrato del receptor insulínico tipo 1 (IRS-1) y el receptor de insulina (IR), al inhibir la fosforilación de tirosina inducida por insulina asociado a una degradación del mismo, al mismo tiempo que regula a la baja el transportador de glucosa GLUT-4 (Mirabelli et al., 2024) además de activar vías inflamatorias tales como JNK1 (cinasa jun-N-terminal 1) y NF- $\kappa$ B, lo que también impide la señalización de insulina (Bu et al., 2020).

Lo anterior culmina en una resistencia a la insulina, que de manera crónica, estimula la lipogénesis *de novo* (LDN) en hígado, con un aumento en la síntesis de triglicéridos y desarrollo de esteatosis (Smith et al., 2020), además de la inducción en la expresión de genes lipogénicos tales como proteína de unión al elemento regulador de esteroides-1 (SREBP-1c), proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP), sintasa de ácidos grasos (FAS) y acetil-CoA carboxilasa (ACC) en hígado (Li et al., 2022).

Por otro lado, la fructosa, un monosacárido que comúnmente se encuentra en el jarabe de maíz de alta fructosa utilizado para endulzar alimentos industrializados, ha demostrado jugar un rol en la inducción del estrés oxidativo e inflamación asociadas a la obesidad. En conjunto con los ácidos grasos saturados, la fructosa ha demostrado ser capaz de activar el receptor de tipo Toll-4 ("TLR4", por sus siglas en inglés), lo que se asocia con el aumento en la producción de citocinas proinflamatorias en la respuesta inmune Th1 y una disminución en la síntesis de citocinas antiinflamatorias tales como IL-10 (Tamer et al., 2020). Los ácidos grasos saturados y fructosa, en conjunto, inducen la síntesis de ácidos grasos mediante la LDN y el almacenamiento de estas grasas en forma de triglicéridos, por lo que se consideran lipogénicos. También, contribuyen a la resistencia a la insulina y abolen su señalización vía AMPK, p-AMPK, p-IRS1 y peroxidación lipídica (Tamer et al., 2020).

La fructosa, además, posee la capacidad de causar hipertrigliceridemia y esteatosis hepática de manera aguda (horas-días posterior a su exposición), lo que se asocia con un aumento en la LDN hepática. Esto se debe a que la ingesta de fructosa aumenta la cantidad de ácidos grasos y triglicéridos. El mecanismo por el cual la fructosa causa esto es debido a que metabolitos de la fructosa, tales como la fructosa-1-fosfato (F1P), activa la glucocinasa mediante la disociación de su subunidad inhibidora, lo que aumenta el flujo glucolítico (de glucosa) y aumenta la concentración de hexosa y triosafosfatos. Estos metabolitos activan ChREBP, lo que regula río arriba las enzimas que se requieren para LDN y la síntesis de colesterol VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) (Herman y Birnbaum, 2021).

TLR4 es un receptor de reconocimiento de patrones (RRP) transmembranal en células leucocitarias, adipocitos, hepatocitos y células musculares, con respuestas variables pero específicas según su estímulo. Este receptor es capaz de reconocer a los ácidos grasos saturados, y hace excepción a los monoinsaturados y poliinsaturados. Este receptor se puede observar en células sanguíneas mononucleares (McKernan et al., 2020). Ante la activación de TLR4, la vía NF- $\kappa$ B regula importantemente el estado inflamatorio. Los ácidos grasos libres y las grasas saturadas han demostrado una capacidad de activación de TLR4 en macrófagos, lo que inicia vías de transducción de señales mediadas por NF- $\kappa$ B y MAPK cinasas. Lo anterior resulta en la expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias (Akieda-Asai et al., 2019; Kochumon et al., 2018).

El alto contenido de grasas y azúcares de la WD, conduce al cambio en la composición de la microbiota intestinal, lo que resulta en disbiosis, caracterizado por una pobre diversidad de microorganismos y un desbalance con predominancia de microorganismos patogénicos (Hamamah et al., 2023). Lo anterior se acompaña de cambios en los metabolitos generados, tales como una disminución en la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como butirato, propionato y acetato. Los AGCC ejercen un efecto en la regulación de la saciedad, al estimular la liberación de péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1, del inglés "glucagon-like peptide-1"), péptido YY (PYY, del inglés "peptide tyrosine tyrosine") y leptina (Jiao et al., 2021; Y. Zhang et al., 2022), por lo que

la disminución en la producción de AGCC se asocia con una disminución en la saciedad. Así mismo, AGCC participan en la regulación de la permeabilidad intestinal, al aumentar la expresión de ocludina, una proteína que mantiene las uniones estrechas del epitelio intestinal (Yue et al., 2022). Por lo que la disminución en AGCC se asocia con un aumento en la permeabilidad epitelial intestinal, permite la translocación de componentes bacterianos tales como lipopolisacárido (LPS), una endotoxina, a la circulación sistémica, a lo que se le conoce como endotoxemia. El LPS es capaz de activar TLR4 en neutrófilos, macrófagos y tejido adiposo lo que induce la liberación de citocinas proinflamatorias tales como TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 (Zwartjes et al., 2021) y la regulación río arriba de NF- $\kappa$ B. Lo anterior contribuye a la inflamación crónica de bajo grado y el desarrollo de la resistencia a la insulina observados en la obesidad (Al Bander et al., 2020).

Por otra parte, los macronutrientes prevalentes en la WD no ejercen un efecto de saciedad significativo. La fructosa, se asocia con un aumento en la ingesta de alimento al compararlo con otras dietas (Tamer et al., 2020) y otros tipos de carbohidratos tales como aquellos carbohidratos no digeribles (p.ej. la fibra). La disminución en el contenido de fibra disminuye su efecto de saciedad y la producción de AGCC. Lo anterior, puede llevar a el consumo repetitivo de alimentos, promoviendo así el desequilibrio calórico y aumento de peso corporal. Así mismo, la palatabilidad de la WD permite que su consumo sea frecuente, a pesar del potencial de saciedad que las grasas puedan tener (de Moura e Dias et al., 2021).

Considerando el potencial proinflamatorio de la dieta, aunado al proceso inflamatorio secundario a la disfunción del tejido adiposo en el estado obeso, se relacionan las causas de la inflamación crónica de bajo grado que caracteriza a la obesidad y promueve el desarrollo de otras patologías y complicaciones. Por todo lo anterior, se podría considerar que la obesidad es un problema de salud el cual es fuertemente asociado a las características de la dieta. Adicionalmente, la capacidad que han demostrado los nutrientes para regular la expresión genética, en respuesta a cambios en el estado nutricional, es estudiada por la nutrigenómica (Voruganti, 2023). La nutrigenómica estudia la interconexión entre el genoma y la dieta, en referencia con los efectos de los nutrientes en la expresión génica, proteica y de metabolitos, de manera directa o indirecta

(Renzo et al., 2019). Por lo anterior, las interacciones dieta-genes pueden observarse en intervenciones nutricionales limitantes o ante cambios en las proporciones de macronutrientes.

Una dieta con los macro- y micro- nutrientes en proporciones adecuadas, proveen de la energía necesaria para el funcionamiento del organismo (Cena y Calder, 2020). Una dieta con granos enteros provee de más fibra y micronutrientes, lo que se asocia con una disminución en el riesgo cardiovascular (Reynolds et al., 2020). La fibra, además promueve la sensación de saciedad lo que puede ayudar a satisfacer por periodos de tiempo más largos. Las frutas y verduras frescas, además de fibra, proveen de fitoquímicos o compuestos bioactivos, tales como polifenoles, que han demostrado beneficios en la salud mediante efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antiobesogénicos. Lo anterior se ha asociado a la capacidad de estas moléculas para modular vías de señalización inflamatorias o metabólicas, tales como NF-kB o AMPK, así como antioxidantes tales como la inhibición de NADPH, NOX-1 o activación del factor de transcripción Nrf2 (Nani et al., 2021).

Entre las grasas, las grasas insaturadas o poliinsaturadas se asocian con una disminución en riesgo cardiovascular y mortalidad. Entre estas se encuentran las grasas omega-3 y omega 6. Las grasas eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), de tipo omega 3, han evidenciado su beneficio antiinflamatorio, disminución de riesgo cardiovascular y de mejoría en datos de resistencia a la insulina (Cena y Calder, 2020).

El apego a una dieta de estilo mediterránea además ha demostrado ser capaz de cambiar la composición de la microbiota intestinal humana en 4 semanas (Meslier et al., 2020), considerando que la dieta determina el 50% de la variedad estructural de la microbiota intestinal (Hamamah et al., 2023). Esta modulación se asocia con efectos positivos en relación con el riesgo de enfermedades cardiovasculares, resultantes de una prevención del aumento de la permeabilidad intestinal, inflamación sistémica y mejoría en la sensibilidad a la insulina. Adicionalmente, la modulación de la microbiota intestinal en modelos murinos y humanos, secundaria a cambios en la dieta (p.ej. dieta mediterránea), se ha asociado a una regulación positiva de adipocinas, aumento en la secreción de

GLP-1 y de ácidos grasos de cadena corta con un efecto anorexigénico a nivel central (Hamamah et al., 2023; Romaní-Pérez et al., 2021).

Adicional a los factores ambientales y componentes de la dieta, la obesidad puede ser resultado de un desbalance del hambre y saciedad, aumento en la ingesta de alimentos, cambios en el tamaño de alimento ingerido así como del gasto energético, en un periodo predeterminado (Abdalla, 2017). Esto ha llevado a examinar las causas de hiperfagia en un intento de delimitar los mecanismos que promueven y mantienen la obesidad, considerando una desregulación de la vía del hambre y circuito neural que regula la homeostasis de energía, secundario a un desbalance en la ingesta de energía, su almacenamiento y el gasto energético (Roh y Choi, 2023).

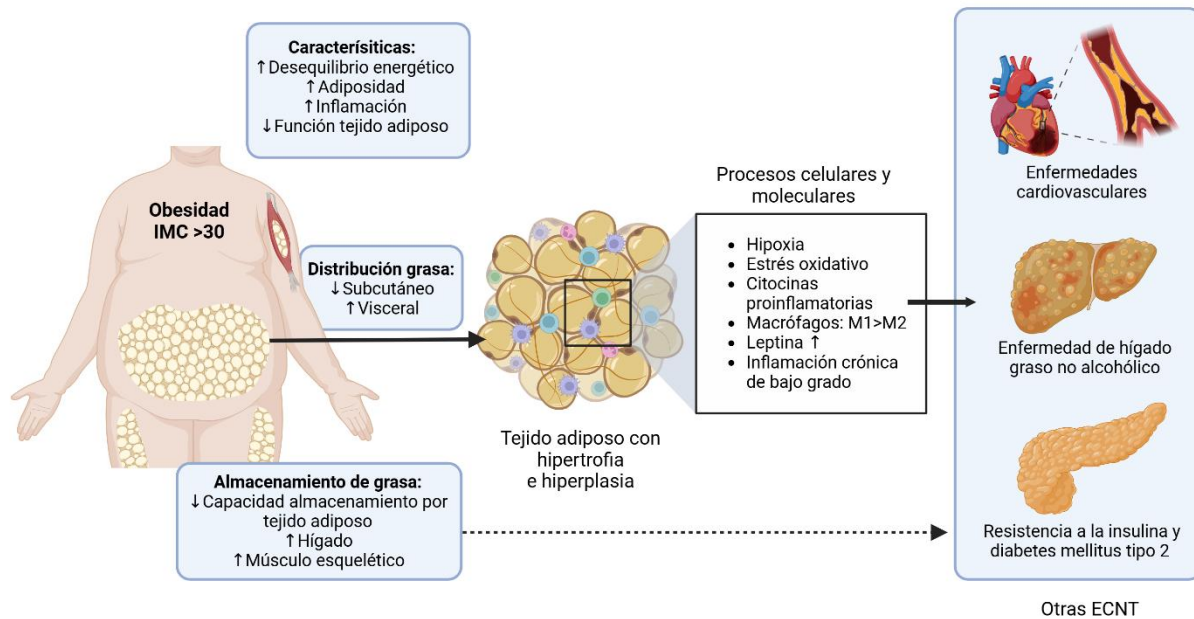
Para fines de este trabajo, nos centraremos en los factores ambientales, enfatizando la obesidad inducida por la dieta occidental, así como en la desregulación de la vía del hambre y saciedad.

## **2.2 Fisiopatología de la Obesidad**

Aunado a los mecanismos moleculares de los efectos de una dieta obesogénica en los procesos de inflamación y de estrés oxidativo, ocurren en paralelo mecanismos de daño situados en el tejido adiposo, lo que promueve aún más el desarrollo de las alteraciones en la obesidad, síndrome metabólico (SM) y complicaciones asociadas (Kawai et al., 2021).

El tejido adiposo, particularmente el tejido adiposo blanco, es un órgano endócrino que se distribuye en diferentes partes del cuerpo tales como el espacio subcutáneo, intraabdominal, intraperitoneal, retroperitoneal, epicárdico e intramuscular (Tseng, 2023). El tejido adiposo se encuentra formado por múltiples células, principalmente por adipocitos. Entre otros componentes celulares se encuentran las células vasculares estromales, fibroblastos, células endoteliales, pericitos y células inmunitarias tales como neutrófilos, linfocitos, células T y macrófagos (Kawai et al., 2021).

La principal función del tejido adiposo es de almacenar energía en forma de triacilglicéridos. Es por esta razón, que ante el aumento en la disponibilidad de energía, ya sea por un aumento excesivo en el consumo de alimentos y una disminución en la actividad física o gasto energético, se exagera el almacenamiento de energía en forma de grasa en el tejido adiposo, que promueve una hipertrofia (aumento en el tamaño) e hiperplasia (aumento en el número) del mismo tejido (Kojta et al., 2020). Lo anterior permite la expansión del tejido, sin embargo, la hipertrofia e hiperplasia aumenta la demanda de oxígeno y nutrientes lo que conduce a un límite de almacenamiento por el adipocito y un tejido adiposo disfuncional, que es capaz de comprometer el flujo sanguíneo del tejido, lo que desarrolla un estado hipóxico en el mismo y necrosis lo que se traduce como daño tisular (Sun et al., 2023) (**Figura 1**). Debido a la presencia de múltiples células en la vecindad y su interacción con los adipocitos, se inicia la síntesis y secreción de una variedad de moléculas, como citocinas y adipocinas, que responden a la señal de daño y dirigen un infiltrado de macrófagos, así como a cambios fenotípicos de células inmunes residentes del tejido. Se han descrito dos fenotipos de infiltrado macrocítico en el tejido adiposo: M1 el cual es proinflamatorio y M2 el cual se describe como antiinflamatorio. Mientras que los macrófagos M2 se ubican en el espacio intersticial, los macrófagos M1 infiltran el tejido adiposo del sujeto obeso y producen citocinas proinflamatorias. Por lo anterior, la razón de macrófagos M1 a M2 se ha tomado en cuenta para caracterizar el estado inflamatorio (Tanaka, 2020).



**1Figura 1.** Fisiopatología de la obesidad. La obesidad se caracteriza por el aumento de adiposidad, lo que conduce a cambios en la distribución de grasa y pérdida del funcionamiento normal del tejido adiposo. La hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo conducen a procesos celulares y moleculares de daño celular que incluyen la hipoxia, estrés oxidativo, cambio fenotípico y razón de macrófagos M1:M2 y la liberación de citocinas proinflamatorias. La presencia conjunta de estos procesos desencadena una inflamación crónica de bajo grado, que ante su persistencia favorece el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles tales como enfermedades cardiovasculares, enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) y diabetes mellitus tipo 2. Lo anterior resalta la asociación entre la obesidad y el desarrollo de estas patologías. IMC: índice de masa corporal; ECNT: enfermedades crónicas no transmisibles. Figura propia elaborada con Biorender.

El aumento en la producción de adipocinas, tales como leptina, y citocinas proinflamatorias IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1B y MCP-1, caracterizan a la obesidad, por lo que la obesidad es considerada un estado crónico inflamatorio de bajo grado, iniciada por la expansión disregulada del tejido adiposo y el infiltrado de células proinflamatorias descrito anteriormente (Fernø et al., 2020).

Las citocinas participantes en la iniciación y amplificación de la inflamación se han asociado con la desregulación de la sensibilidad a la insulina, la presión arterial, la inmunidad y el apetito que de manera conjunta se asocia con el desarrollo de

enfermedades tales como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hiperlipidemia y aterosclerosis. Debido a lo anterior, la obesidad, particularmente la abdominal, es un factor de riesgo importante para el desarrollo del SM, aumentando así el riesgo del desarrollo de otras enfermedades y complicaciones (Suárez-Cuenca et al., 2021).

De manera paralela, la acumulación de grasa en el hígado lleva al desarrollo de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA), considerado como la manifestación hepática del SM (Heeren y Scheja, 2021). Esto se debe a la acumulación de lípidos intrahepáticos secundarios a un desequilibrio entre la captación hepática de ácidos grasos, la síntesis y oxidación de lípidos, así como alteraciones en su transporte (p. ej. alteraciones en VLDL). Así mismo, la lipólisis juega un rol importante en el establecimiento de esta patología. El tejido adiposo disfuncional se ha asociado con un aumento en la lipólisis, lo que permite la llegada de más ácidos grasos al hígado (Rytka et al., 2011). Con respecto a esto, Donnelly y colaboradores en 2005 definieron las fuentes de ácidos grasos y triglicéridos almacenados en el hígado de pacientes obesos con EHGNA. Se demostró que más de la mitad (59%) de los triglicéridos y ácidos grasos son provenientes de la lipólisis del tejido adiposo (el resto proviene de síntesis *de novo* en hígado (26%) y de la dieta (15%)) (Donnelly et al., 2005), lo que determina la importancia de la lipólisis del tejido adiposo en esta patología.

El SM es el conjunto de anomalías metabólicas en las cuales se incluye la presencia de 3 o más de las siguientes características: 1) el aumento de la presión arterial (hipertensión arterial sistémica, >130/80 mm/Hg), 2) aumento de las cifras de glucosa séricas (hiperglucemia > 110 mg/dL en ayuno), 3) exceso de grasa evidente en el perímetro abdominal (circunferencia abdominal >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres), 4) aumento en las cifras séricas de triglicéridos (hipertrigliceridemia >150 mg/dL) y 5) bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL <40 mg/dL en hombres, <50mg/dL en mujeres) (Expert Panel on Detection, Evaluation, 2001). El principal problema de la presencia del SM es que aumenta el riesgo de problemas cardiovasculares, diabetes tipo 2 y enfermedad vascular cerebral isquémica así como la enfermedad de hígado graso no alcohólico.

## **2.3 Vía de la Saciedad**

El mantenimiento de un adecuado balance energético y peso corporal a largo plazo requiere de un control entre el ingreso y el gasto energético de un individuo. Lo anterior involucra un mecanismo de control complejo y estructurado, que integra señales periféricas derivadas del tracto gastrointestinal y el tejido adiposo en circuitos neuronales y moléculas señalizadoras del sistema nervioso central para regular la alimentación y el metabolismo (Narayanaswami y Dvoskin, 2017).

La regulación del inicio y el final de la ingesta de un alimento, así como el intervalo entre alimentos, es mediado a corto plazo y largo plazo por péptidos enteroendocrinos y señales derivadas del tejido adiposo, respectivamente, con efectos orexigénicos (que inducen el hambre) y anorexigénicos (que inhiben el hambre) al integrarse al hipotálamo. Lo anterior representa la modulación del hambre y saciedad. La saciedad es considerada como una sensación de plenitud después de comer, que suprime el hambre y que logra inhibir la acción de comer entre comidas (Narayanaswami y Dvoskin, 2017; Bellisle et al., 2012).

La obesidad, puede ser resultado de un desbalance del hambre y saciedad, el aumento en la ingesta de alimentos, cambios en el tamaño de alimento ingerido así como del gasto energético, en un periodo de tiempo predeterminado (Abdalla, 2017), lo que propicia el desarrollo de la enfermedad.

Debido a que los mecanismos implicados en esta vía son complejos y extensos, se realizará una revisión sintetizada de aquellas estructuras y señales que resultan relevantes para la temática de este trabajo de tesis doctoral, con especial interés en los mecanismos periféricos derivados del tracto gastrointestinal.

### **2.3.1 Mecanismos Centrales**

La ingesta de alimento es controlada de manera central por estructuras como el hipotálamo y el tallo cerebral. El hipotálamo es una zona en el cerebro que integra y

regula las señales en la vía del hambre-saciedad debido a la presencia de múltiples núcleos que se encuentran en esta zona y que participan en lo antes mencionado. Entre estos se encuentran el núcleo arcuato (ARC), el núcleo paraventricular, el núcleo dorsomedial, el núcleo ventromedial y el núcleo hipotalámico lateral.

Sin embargo, el ARC ha demostrado ser una zona crítica para la integración de estas señales y la regulación de la ingesta de alimentos (Page et al., 2020) ya que estos núcleos reciben proyecciones neuronales que se originan del ARC para su regulación y la secreción de sustancias anorexigénicas u orexigénicas, según su función. El ARC se encuentra en una zona la cual carece de una barrera hematoencefálica funcional, lo que le permite estar expuesto a hormonas, nutrientes y otras señales circulantes. De esta manera, el ARC contiene dos poblaciones neuronales que ante su activación o inhibición, expresan neuropéptidos con efectos opuestos: orexigénicos y anorexigénicos. (Heymsfield y Wadden, 2017).

La población neuronal en el ARC que estimula la ingesta de alimentos mediante la expresión de péptidos orexigénicos se conforma por las neuronas del neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con agouti (AgRP, del inglés “agouti-related protein”). La población de neuronas del ARC con efectos anorexigénicos se conforma por las neuronas proopiomelanocortina (POMC) que expresan la POMC, la hormona estimulante de melanocitos alfa ( $\alpha$ -MSH, del inglés “ $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone”) así como el transcrito regulado por cocaína y anfetaminas (CART, del inglés “cocaine and amphetamine regulated transcript”) (Yasrebi et al., 2016).

En relación con la integración de estas señales, las neuronas NPY/AgRP expresan receptores para hormonas periféricas incluidas la insulina, la leptina, la grelina y PYY, siendo las antes mencionadas inhibidas por insulina y leptina. Las neuronas NPY/AgRP se proyectan a neuronas POMC, y al activarse o estimularse, inhiben y antagonizan el efecto anorexigénico de la zona POMC (Clemmensen et al., 2017). Por otro lado, las neuronas POMC son por excelencia sensibles a la leptina. La leptina derivada del tejido adiposo, se une a su receptor en estas neuronas, lo que activa la vía de señalización JAK2/STAT3 y PI3K. Esto induce una despolarización y reduce la expresión de los

neuropéptidos AgRP/NPY, lo que ejerce un efecto anorexigénico (Sun et al., 2016; Vohra et al., 2022).

El tallo o tronco cerebral, también participa en esta señalización. En el tronco cerebral se encuentra el complejo dorso-vagal, el cual consiste del núcleo motor dorsal del vago, el área postrema y el núcleo del tracto solitario (NTS). Estas estructuras, de manera general, reciben señales periféricas y las transmiten al hipotálamo, pues contienen receptores para señales y enterohormonas periféricas tales como colecistoquinina (CCK), insulina, péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), grelina, leptina y orexina (Abdalla, 2017). Adicionalmente, en el NTS se encuentran neuronas POMC, lo que resalta la participación de este núcleo en el efecto de saciedad.

La disfunción del ARC, incluido el aumento de la actividad de NPY/AgRP en comparación con neuronas anorexigénicas y la resistencia central a los efectos de péptidos circulantes en parte han explicado algunas formas de obesidad (Beutler et al., 2020). Adicionalmente, se ha asociado el consumo de dietas altas en grasas a una inflamación y daño hipotalámico (Balland et al., 2019; Briggs et al., 2010; Colley y Castonguay, 2015), lo que también pudiera explicar el desarrollo de obesidad secundaria a la desregulación de los mecanismos centrales de control de la saciedad.

Existen otros mecanismos de regulación de saciedad centrales tales como el sistema endocanabinoide y opioide endógeno, sin embargo, no se revisarán a más profundidad en este escrito.

### **2.3.2 Mecanismos Periféricos**

Las señales periféricas derivadas del tracto gastrointestinal (TGI) y el tejido adiposo provee información tanto de la disponibilidad de energía a corto plazo como de la energía que se encuentra almacenada (Amin y Mercer, 2016).

Algunas de las moléculas periféricas circulantes que regulan la vía hambre-saciedad derivadas del TGI y en las que se enfocarán este escrito incluyen a la grelina, CCK, GLP-

1, PYY e insulina. La leptina y adiponectina, liberadas de los adipocitos, también se incluyen (Roh y Choi, 2023).

### **2.3.2.1. Tracto gastrointestinal**

El tracto gastrointestinal provee señales centrales mediante la producción de hormonas, péptidos y cambios en la motilidad gastrointestinal, tales como la acomodación, distensión y vaciamiento gástrico, los cuales se transmiten por nervio vago y espinal al NTS, logrando así un control en la iniciación y terminación de la alimentación. Las células enteroendocrinas en el tracto gastrointestinal se han considerado como el órgano más grande del cuerpo humano, debido al tamaño y al número de células y hormonas producidas por las mismas (Rehfeld, 2016). Estas células al ser sensibles a nutrientes contenidos en la luz del intestino, mediante receptores específicos, inician la secreción basolateral de péptidos u hormonas (enterohormonas) que participan en la regulación del apetito.

**2.3.2.1.1 Grelina.** La grelina es un péptido estimulador del apetito (orexigénico), único con este efecto, que se sintetiza y secreta principalmente en el estómago. En individuos sanos, los niveles circulantes de grelina aumentan en el ayuno y antes de iniciar la alimentación, seguido por una disminución tras comer, regulando a corto plazo la ingesta de alimento. Adicional a esto, la grelina regula a largo plazo la inducción de la adiposidad (Smith y Moran, 2021) al parecer mediante la activación del SN simpático, lo que aumenta el depósito de grasa en tejido adiposo e hígado (Cargnin-Carvalho et al., 2020).

Tras su liberación a circulación periférica y adecuada acilación, la grelina ejerce sus efectos parcialmente mediante señalización transmitida por el nervio vago y directamente en el sistema nervioso central (SNC) al cruzar la barrera hematoencefálica, donde se une a los receptores de grelina, receptor secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1A (GHSR1A). Este receptor se expresa en neuronas del NPY/AgRP, y ante la unión del ligando peptídico y su activación, ejerce sus efectos orexigénicos (Airapetov et al., 2021; Perelló et al., 2022).

En el estado obeso, se ha demostrado que los niveles de grelina circulante se encuentran disregulados, mediante una disminución en sus niveles o una falla en su disminución ante el consumo de alimentos (Tschöp et al., 2001; Wang et al., 2022; Witjaksono et al., 2019). Esta desregulación se ha asociado con la disminución de la expresión de mRNA de grelina en estómago y del receptor en hipotálamo; de esta manera, se suprime la activación de las neuronas NPY/AgRp en el ARC (Briggs et al., 2010; Zigman et al., 2016). Lo anterior es resultado de una supresión del eje de la grelina, o una “resistencia a la grelina”, la cual, suele ser reversible ante la pérdida de peso (Naznin et al., 2018).

**2.3.2.1.2 Colecistocinina (CCK).** La colecistocinina es una hormona peptídica liberada principalmente por las células L enteroendocrinas de duodeno y yeyuno proximal que induce un efecto anorexigénico en respuesta a la alimentación, particularmente posterior a la absorción de grasas y proteína. Existe una variedad de isoformas moleculares de esta hormona, con predominancia de la CCK-8, CCK-22, CCK-33 y CCK-58 (Pathak et al., 2018). Esta variabilidad ha demostrado ejercer diferentes efectos, tales como la isoforma 8 y 58 que inducen la saciedad y la isoforma 33 que prolonga el intervalo y frecuencia entre comidas (Abdalla, 2017) por lo que de esta manera, la CCK regula el consumo de energía a corto plazo mediante un efecto de saciedad, la disminución de la cantidad de alimento y los intervalos entre comidas.

Existen 2 subtipos de receptores de CCK mediante los cuales la CCK ejerce sus efectos: CCK-1 (ó CCK-A) y CCK-2 (ó CCK-B). Múltiples estudios han concluido que CCK-1, pero no CCK-2, se encuentra involucrada en la regulación de la saciedad, ya que la activación de CCK-1 inicia la señalización de saciedad al hipotálamo y NTS mediante el nervio vago (Kowalski et al., 2020). De manera paralela la CCK posee efectos que contribuyen a un efecto de saciedad, tales como la estimulación de la secreción de insulina y el retraso del vaciamiento gástrico (Cawthon y de La Serre, 2021). Por otro lado, los efectos de la CCK parecen depender, en parte, de la secreción conjunta de otros enteropéptidos tales como GLP-1 y leptina, pues se ha descrito que ejercen un efecto sinérgico/aditivo al promover la saciedad (Vana et al., 2021) además de que la activación del receptor CCK-1, estimula la secreción de leptina (Koizumi et al., 2020).

En individuos delgados, el aumento de CCK posprandial tiende a ser rápido y alto, alcanzando su máxima concentración de niveles plasmáticos 15 minutos tras la alimentación. En individuos obesos, los niveles de CCK postprandial se mantienen elevados por más tiempo o se encuentran disminuidos (Ali Ahmad et al., 2022; Mesgari-Abbasi, 2020); lo anterior parece ser resultado de un mecanismo de resistencia a la CCK por disminución a la respuesta por su receptor (Cawthon y de La Serre, 2021; Desai et al., 2017).

**2.3.2.1.3 Péptido tirosina-tirosina (PYY).** PYY es miembro de la familia de polipéptidos pancreáticos, los cuales se sintetizan y secretan principalmente por las células tipo L del intestino distal y colon, al igual que el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1; ver más adelante). Se han reportado dos isoformas circulantes, PYY (1-36) y PYY (3-36) siendo la última la forma activa en circulación. PYY 3-36 es resultado de la actividad escisional de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV). A pesar de que ambas isoformas se unen a receptores hipotalámicos, PYY 3-36 posee efectos anorexigénicos notorios tras la unión a su receptor y posterior activación de vías vagales aferentes, inactivación de neuronas NPY/AgRP y activación de neuronas POMC en el ARC (Kjaergaard et al., 2019). También se ha asociado a PYY con un retraso del vaciamiento gástrico (Huang et al., 2022), lo que favorece a su efecto de saciedad.

En sujetos con peso adecuado, los niveles de PYY aumentan tras la ingesta de alimento y alcanzan concentraciones máximas a los 60-90 minutos. En sujetos obesos, los resultados han sido controversiales, aunque se han identificado bajos niveles de PYY sin un aumento postprandial, los cuales suelen corregirse postprandialmente tras cirugía bariátrica (Lampropoulos et al., 2021).

Como se ha observado con otros péptidos, la secreción y actividad de PYY se ve influenciada por la presencia de otros péptidos, ejerciendo un efecto sinérgico en la saciedad ante la presencia de GLP-1. Por otro lado, la secreción de grelina y su actividad en el ARC es inhibida por PYY y viceversa (Jones et al., 2019), lo que confirma la interacción entre estos péptidos.

**2.3.2.1.4 Péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1).** GLP-1 es sintetizada y co-secretada con PYY, principalmente por las células L del íleon y colón en respuesta a la digestión de carbohidratos y grasas. Es producto de escisiones enzimáticas en el intestino del gen pro-glucagón, el cual produce GLP-1 y GLP-2. GLP-1 es considerado regulador del apetito de tipo incretina, ya que además de actuar como péptido anorexigénico al ejercer sus efectos mediante terminaciones vagales aferentes en el ARC, media la liberación pancreática de insulina, inhibe el glucagón y retrasa el vaciamiento gástrico (Steinert et al., 2017).

Por el contrario a PYY, GLP-1 es desactivada por la enzima DPP-IV lo que resulta en una semivida muy corta. Sus concentraciones plasmáticas se caracterizan por encontrarse disminuidas en el ayuno y aumentadas ante la ingesta de alimento. Sin embargo, la obesidad se asocia con niveles disminuidos de GLP-1 y se propone que esto es secundario a una disminución en la secreción de GLP-1 y no debido a una desregulación de su capacidad de ejercer un efecto anorexigénico a nivel central (Krieger, 2020). En la actualidad se indica la administración de medicamentos agonistas de los receptores GLP-1 para la DM2 y control del peso, secundario a su efecto de disminución de la ingesta de alimentos (Grill, 2020), lo que refleja el potencial terapéutico de estos péptidos en el control de la saciedad.

**2.3.2.1.5 Insulina.** La insulina es una hormona sintetizada y secretada por las células beta del páncreas en respuesta a la ingesta de alimento. Es bien conocido el rol crítico de la insulina en la homeostasis de la glucosa y de energía mediante la regulación de vías centrales y periféricas (Beddows y Dodd, 2021). Con respecto a su regulación central y efecto en la saciedad, la insulina ejerce un efecto anorexigénico asociado con una pérdida de peso, la cual se ha hecho evidente ante su administración intracerebroventricular o intranasal (Hallschmid et al., 2012; Nakhate et al., 2019).

Tras su liberación pancreática y entrada a circulación plasmática, la insulina penetra la barrera hematoencefálica mediante transocitosis o extravasación pasiva de capilares fenestrados; se une posteriormente a sus receptores en células endoteliales donde es internalizada y exocitada para permitir su entrada a cerebro, donde se une a sus receptores en distintas zonas (Rhea et al., 2018). Los receptores de insulina se encuentran abundantemente en el hipotálamo y ARC, donde participan en la regulación de las neuronas NPY/AgRP y POMC. En la zona POMC, la insulina promueve la excitabilidad neuronal, la activación de receptores de melanocortina mediante la síntesis de  $\alpha$ -MSH que resultan en su efecto de saciedad (Beddows y Dodd, 2021; Qiu et al., 2018) mientras que en neuronas NPY/AgRP ejerce un efecto inhibitorio mediante hiperpolarización neuronal y al inhibir la transcripción de AgRP y NPY (Beddows y Dodd, 2021), reduciendo así el apetito y aumentando del gasto energético (Loh et al., 2017) .

Las personas con obesidad carecen de activaciones neuronales estimuladas por insulina lo que coincide con el desarrollo de la resistencia a la insulina periférica, lo cual se conoce como resistencia central a la insulina (Beddows y Dodd, 2021). Aún está en duda si la masa de tejido adiposo visceral es causa o consecuencia de la resistencia a la insulina hipotalámica (Kullmann et al., 2020). La hiperinsulinemia crónica observada en individuos obesos, resulta en un aumento hipotalámico de los niveles de NPY, probablemente secundario a la ausencia de señalización central de insulina y una regulación río arriba de la expresión hipotalámica de NPY, lo que a su vez, aumenta la ingesta de alimento (Loh et al., 2017), creando así un ciclo vicioso en el individuo obeso.

### **2.3.2.1. Adipocinas**

Las señales derivadas del tejido adiposo incluyen mecanismos de retroalimentación que se generan en respuesta a la ingesta de alimento y a la acumulación de grasa corporal. Estas señales regulan a largo plazo la vía del hambre-saciedad, al cruzar la barrera hematoencefálica y actuar directamente en distintas poblaciones de neuronas del ARC que estimulan o inhiben la ingesta de alimento (Roh y Choi, 2023).

El adipocito produce y libera adipocinas (también conocidas como adipocitocinas), hormonas estructuralmente similares a citocinas, con propiedades anti- o proinflamatorias. Inicialmente ejercen una función anti-lipotóxica con el fin proteger a otros tejidos de los efectos citotóxicos de las altas concentraciones de ácidos grasos, así como una función de retroalimentación en la vía del hambre-saciedad. Sin embargo, en la obesidad se ha identificado la disfunción del tejido adiposo abdominal por hipertrofia de los adipocitos, aumento del infiltrado de macrófagos y desregulación en la secreción y las concentraciones de adipocinas, con un desequilibrio a favor de un estado proinflamatorio que contribuye a los trastornos metabólicos e inflamación sistémica. Estas adipocinas se involucran en la regulación de procesos sistémicos tales como la ingesta de alimentos, el metabolismo de nutrientes, la sensibilidad a la insulina y la inflamación. Entre las principales adipocinas destacan la adiponectina y la leptina.

**2.3.2.2.1 Adiponectina.** La adiponectina es una hormona polipeptídica, producida y secretada principalmente por adipocitos. Los niveles de adiponectina plasmática se correlacionan inversamente con la adiposidad y el IMC y se ha asociado la disminución de sus niveles plasmáticos en alteraciones metabólicas tales como la obesidad, SM, en la resistencia a la insulina y DM (Engin, 2017). Por el contrario, los niveles plasmáticos de adiponectina aumentan después de la restricción de alimentos y la pérdida de peso, así también por ciertos componentes de la dieta (Shabalala et al., 2020). Esta adipocina ha mostrado una capacidad de disminuir el peso corporal y los niveles de lípidos plasmáticos, así como aumentar la capacidad de la insulina de suprimir la gluconeogénesis (Li et al., 2020). A causa de lo anterior, la adiponectina es categorizada como anti-inflamatoria, ya que inhibe la producción de TNF- $\alpha$  e IL-6 al inhibir la activación de NF- $\kappa$ B y al estimular la liberación de IL-10 (Wang et al., 2016), sensibiliza a las células a la insulina (Li et al., 2020) y promueve la oxidación de ácidos grasos (Yamauchi et al., 2002).

Se han identificado diferentes isoformas de la adiponectina las cuales determinan las diferentes funciones de la misma. Tras un proceso de modificación post-traduccional, la adiponectina se ensambla en la forma trimérica, hexamérica y multimerica (Choi et al., 2020). Se ha identificado que las formas hexaméricas y triméricas juegan un papel

importante en el control de la ingesta de alimento, debido a su permeabilidad a SNC (Idrizaj et al., 2020) aunado a la presencia de receptores de adiponectina en hipotálamo. En relación con esto, se han identificado 2 receptores para la adiponectina: adipoR1 y adipoR2. AdipoR1 se ha destacado como el principal receptor mediador de los efectos anorexigénicos de la adiponectina en el ARC (Coope et al., 2008; Qi et al., 2004) mediante el cual la adiponectina inhibe neuronas NPY y activa neuronas POMC, efecto que se ejerce de manera sinérgica en presencia de la leptina (Sun et al., 2016). Recientemente, un estudio identificó que las neuronas del POMC desempeñan un efecto regulatorio, mediado por el flujo simpático, sobre los niveles de adiponectina circulantes lo que sugiere que los niveles de adiponectina se deben a los cambios en la adiposidad de manera parcial (Yu et al., 2020).

Por otro lado, la presencia de ambos receptores de adiponectina en la mucosa gástrica y vías aferentes vagales proponen que la adiponectina se asocia a cambios motores gastrointestinales, la cual pudiera influir en el vaciamiento gástrico, lo que genera de manera secundaria, un aumento en la saciedad (Idrizaj et al., 2019; Kentish et al., 2015) participando así en la regulación de la vía hambre-saciedad de manera periférica.

**2.3.2.2.2 Leptina.** La leptina es producto del gen obeso (*ob*), hormona sintetizada y secretada principalmente por adipocitos, por lo que se produce de manera proporcional a los almacenamientos grasos corporales. La leptina se caracteriza por ejercer un efecto anorexigénico. Esta es transportada a través de la barrera hematoencefálica y en el cerebro se une a sus receptores los cuales se expresan abundantemente en el ARC para modular la expresión de otros neuropéptidos. La leptina disminuye la expresión de NPY/AgRP y estimula POMC (Dodd et al., 2015), lo que muestra un efecto inhibitorio en la ingesta de alimentos y del peso corporal. Por otro lado, la leptina disminuye el vaciamiento gástrico mediante regulación de la actividad simpática nerviosa (Tanida et al., 2019), lo que se ha asociado con una disminución de la cantidad de alimento ingerido, más no con cambios en la frecuencia de alimentación (Koizumi et al., 2020).

Los niveles de leptina se encuentran elevados en plasma en sujetos obesos, sin embargo, estos no se relacionan con una disminución ante la ingesta de alimentos

(Andreoli et al., 2019). Esto se debe a una disminución de la sensibilidad central a la leptina a pesar de una hiperleptinemia, por lo que los sujetos obesos son considerados “resistentes a la leptina” y a sus efectos anorexigénicos. El mecanismo que contribuye a este estado resistente se atribuye a la hiperleptinemia que a largo plazo lleva a una disminución en el transporte de leptina sérica a hipotálamo lo que imposibilita a la leptina de ejercer sus efectos anorexigénicos, la supresión de la vía de señalización de la leptina (específicamente del receptor largo LepRb) la cual se hace evidente ante la disminución de la fosforilación de STAT3 (Liu et al., 2021), al estrés de retículo endoplásmico y la respuesta a proteínas desplegadas, así como los efectos pro-inflamatorios propios de esta citosina, ya que aumenta la producción de citocinas tales como IL-6, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , entre otros lo que puede iniciar un proceso de inflamación hipotalámico y alteración en las vías neuronales (Balland y Cowley, 2015).

En relación con otras enterohormonas, un estudio reciente sugiere que la hiperleptinemia contribuye a la resistencia central a la grelina observada en la obesidad (Briggs et al., 2014). Por otro lado, se ha identificado un efecto sinérgico de la leptina y la CCK que promueve la activación de zonas anorexigénicas y de esta manera potencializar un efecto de saciedad a corto plazo (Koizumi et al., 2020; Maniscalco et al., 2020).

## **2.4. Compuestos Bioactivos**

En comparación con la dieta occidental, caracterizada por un bajo contenido en fibra, moléculas antioxidantes y un alto contenido de grasas saturadas y azúcares simples, una dieta de tipo mediterránea se caracteriza por contener frutas, verduras y otros alimentos de origen vegetal ricos en polifenoles, flavonoides y fibra, lo que se ha asociado con un efecto antiinflamatorio (Cena y Calder, 2020).

Los compuestos bioactivos se encuentran en los alimentos y son fuentes importantes de agentes con beneficios potenciales para la salud, útiles en el desarrollo de alternativas más seguras y de origen natural en comparación a los fármacos. Estos compuestos

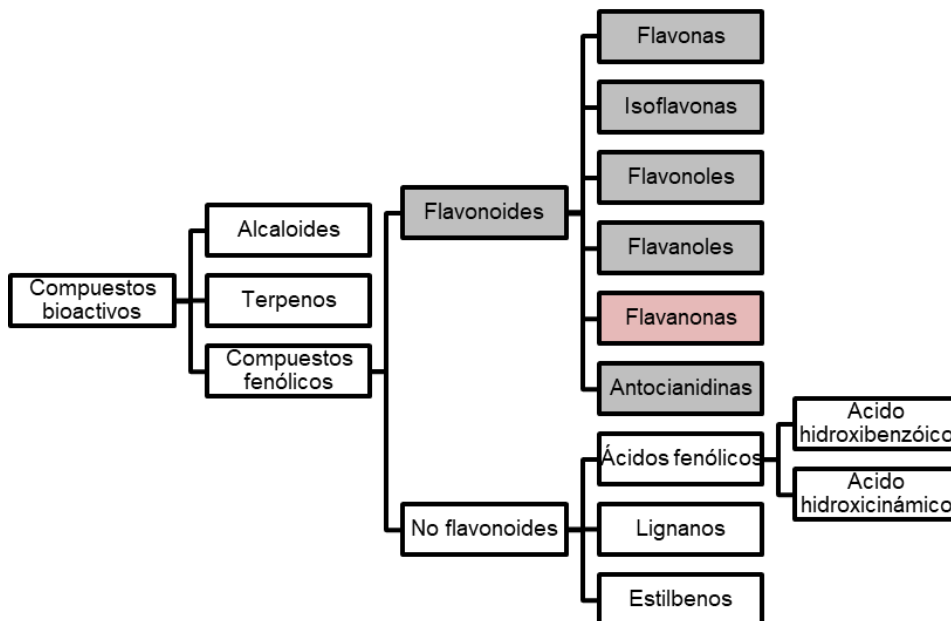
tienen la capacidad de interactuar con otros compuestos de tejido vivo y resultar en un gran rango de efectos probables (González, 2020).

Los compuestos bioactivos se pueden clasificar acorde a su importancia clínica y efectos benéficos para la salud, el tipo de fuente (plantas, frutas, etc.), su estructura química o vías biosintéticas. Según su estructura química, los compuestos bioactivos se pueden clasificar en 3 grupos: las sustancias que contienen nitrógeno (alcaloides), terpenos y compuestos fenólicos.

#### **2.4.1. Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, que se encuentran de manera natural en algunos alimentos como frutas, vegetales, cereales, leguminosas, chocolate oscuro, café, té y vino (Rodríguez-Pérez et al., 2019)

Existe una gran variedad de compuestos fenólicos. Estos se caracterizan por poseer uno o más anillos aromáticos (monofenoles o polifenoles, respectivamente) y por lo menos un grupo hidroxilo unido a su estructura (Shen et al., 2022). Por lo anterior, los compuestos fenólicos son estructuralmente diversos pero pueden clasificarse en 4 subclases: flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y ligninas (**Figura 2**).



**Figura 2.** Esquema de la clasificación de los compuestos bioactivos y los subgrupos de flavonoides.

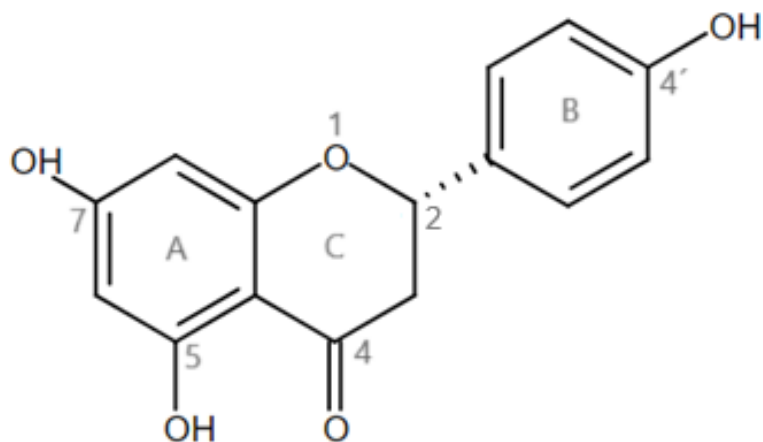
Los flavonoides son la clase más abundante de compuestos fenólicos y se pueden dividir en 6 subgrupos: antocianidinas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, flavonas e isoflavonas (Truzzi et al., 2021). Los flavonoides se caracterizan químicamente por una columna de 15 carbonos que se distribuyen en 3 anillos: dos anillos de bencénicos (denominados “A” y “B”) unidos mediante un anillo heterocíclico (anillo “C”).

Además, los flavonoides poseen una actividad antioxidante natural. Este efecto se debe principalmente a la presencia de los grupos hidroxilo (-OH), unidos a un grupo fenol, que permiten la transferencia de hidrogeniones y/o la transferencia de electrones, eliminando y reduciendo así, la formación de radicales libres (Ullah et al., 2020). Por lo anterior, la posición y el número de grupos hidroxilo en la molécula determina y caracteriza la capacidad antioxidante de la misma, considerándose que, un mayor número de grupos hidroxilo en la molécula del polifenol, resulta en una capacidad antioxidante mayor (Sordon et al., 2019).

La suma de estudios epidemiológicos ha evidenciado que el consumo de dietas ricas en compuestos fenólicos pueden ofrecer efectos benéficos en la salud humana y de prevención ante el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) (Rienks et al., 2018). Estudios en animales y en humanos sugieren que los flavonoides y alimentos ricos en estos compuestos pueden ejercer un efecto en la pérdida de peso y en la obesidad (Rodríguez-Pérez et al., 2019; Ullah et al., 2020). Además, se ha descrito la capacidad de algunos flavonoides de participar en una o más vías involucradas en el desarrollo de la obesidad, tal como la estimulación en la secreción de CCK (Al Shukor et al., 2016). Por lo que, las propiedades antiobesogénicas de los compuestos fenólicos derivados de plantas han suscitado interés de investigación.

## 2.5 La Naringenina

La naringenina (NAR) (4',5,7-trihidroxiflavanona) ( $C_{15}H_{12}O_5$ ) es una fitomolécula flavonoide que pertenece a la subclase de las flavanonas, derivado de la vía del ácido cinámico. Su estructura 4',5,7-dihidroxiflavanona se caracteriza por una unión saturada en C2 y C3 (**Figura 3**). La NAR se encuentra abundantemente en frutas y vegetales comestibles tales como pulpa y cáscara de especies de *Citrus*, (limón, toronja, naranja, bergamota) (Spigoni et al., 2017), higo (Soltana et al., 2018), cáscara de tomate, frijoles y cocoa, entre otros. La NAR es derivada de la naringina (NGN) que se encuentra en mayor proporción en los alimentos de origen vegetal en comparación con la NAR. La NGN contiene en su estructura al disacárido neohesperidosa (una rhamnosa) lo que le otorga cualidades de una molécula hidrofílica. Por otro lado, la NAR es poco soluble en soluciones acuosas (Lucas-Abellán et al., 2019). Se han identificado a las flavanonas como los principales polifenoles en el jugo de naranja (76.3%) (Castello et al., 2020) y en particular, hesperetina (46.7%), naringenina (23.2%), isosakuranetina (5.0%), derivados del eriodictiol (1.4%), así como la hesperidina (Mohammadi et al., 2019) y narirutina.



**Figura 3.** Estructura molecular de la NAR. Figura de López-Almada et al., 2023.

En relación con los efectos benéficos en la salud conferidos por la NAR, la NAR y sus metabolitos han mostrado acumularse de manera significativa en plasma, hígado, riñón, corazón y cerebro en modelos animales (Felgines et al., 2000; Lin et al., 2014). En estudios humanos, la NAR se acumula en plasma tras el consumo de alimentos ricos en NAR (jugo de naranja, toronja y tomate) (Bugianesi et al., 2002), por lo que la NAR parece tener una biodisponibilidad adecuada de la dieta. Además, el consumo de NAR no se ha asociado con efectos adversos debido a su rápido metabolismo y eliminación (Kanaze et al., 2007).

Recientemente, se han reportado múltiples actividades biológicas y farmacológicas de la NAR al ser utilizada tanto en estudios *in vitro* e *in vivo*, volviéndola en uno de los flavonoides más importantes. Entre estos efectos se incluyen efectos hepatoprotectores, antiaterogénicos, antidislipidémicos (Liu et al., 2022), antiinflamatorios (Hua et al., 2021), antimutagénicos, anticancerígenos (Motallebi et al., 2022), antimicrobianos, antioxidantes (Jia et al., 2019), antihiper glucémicos (Assini et al., 2015) por lo que su estudio en múltiples disciplinas relacionadas al área de la salud han suscitado interés.

Se ha demostrado mejoría ante el uso de NAR en enfermedades metabólicas tales como la EHGNA y la DM2. Lo anterior debido a que la NAR parece mejorar la sensibilidad a la insulina de los hepatocitos (Jia et al., 2019) y aumentar la activación de AMPK, resultando en una mejor captación de glucosa y disminución a la resistencia a la insulina (Li et al., 2019), por lo que su uso y estudio resultan atractivos en el SM.

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Naringenina en la Obesidad**

La NAR ha demostrado poseer un efecto protector ante la ganancia de peso corporal desde las fases tempranas de su administración. Burke et al. (2018) reportan que la suplementación con NAR en la dieta previno la ganancia de peso de manera significativa desde la primera semana del tratamiento al comparar con el grupo control ante una dieta estándar en ratones doble Knockout homocigotos para el receptor de lipoproteínas de baja densidad (Ldlr -/-), por lo que estos efectos se observaron en la ausencia de obesidad y de una dieta alta en grasas (Burke et al., 2018). Lo anterior concuerda con la investigación de Liu et al. (2022), donde se utilizó un modelo de intervención de obesidad inducida por una dieta alta en grasas (HFD) en el cual tras 12 semanas de exposición a esta dieta, se inició la administración de NAR a diferentes dosis (Liu et al., 2022). Este estudio demostró que NAR a 100 mg/kg previno la ganancia de peso de manera significativa al comparar con el grupo de HFD sin suplementar desde la

primera semana. Los datos anteriores muestran que los efectos de prevención de la ganancia de peso de la NAR pueden ser evidentes aún en el estado obeso y ante la exposición de una HFD por lo que pone en cuestión el mecanismo subyacente. La prevención en la ganancia de peso, de manera general, puede deberse a la disminución de la adiposidad y/o un aumento en el gasto energético (Burke et al., 2019). Sin embargo, para esclarecer las causas de prevención en la ganancia de peso, deben de considerarse la disminución del apetito, aumento de la saciedad (Ding et al., 2020; Park et al., 2019) y cambios en la secreción gastrointestinal de enterohormonas (Lampropoulos et al., 2021).

Otros efectos protectores se han reportado, tal como el de un modelo animal de diabetes mellitus gestacional que mostró que la administración de NAR resultó en una menor ganancia de peso en comparación con el grupo que no recibió este tratamiento, además de mostrar mejoría en otros parámetros metabólicos (Li et al., 2019). El estudio antes mencionado, no mostró una diferencia entre la cantidad de ingesta de alimento entre grupos, tal como lo han reportado Kannappan y Anuradha (2010).

Con respecto al rol de NAR en los mecanismos centrales reguladores de saciedad, Ke et al. (2015) reportó una disminución de peso corporal en ratones ( $p \leq 0.05$ , control vs NAR) ante la intervención dietaria con NAR (dieta suplementada con NAR 3% wt/wt) asociado a una disminución de la adiposidad total de hasta 54% ( $p \leq 0.05$ , Control vs NAR), y con una tendencia a la disminución de la ingesta de alimento (~14%), al igual que lo reportado por Burke et al. (2018, 2019). Sin embargo, en un modelo de diabetes mellitus gestacional realizado en ratones, la administración de NAR (100 mg/kg peso corporal/día/oral) logró prevenir la ganancia de peso, sin lograr normalizar el peso al comparar con la cepa parental y sin cambios en la ingesta de alimento (Li et al., 2019),

Con fines de este estudio, se describirá con mayor profundidad el rol de la NAR en los mecanismos periféricos reguladores de la saciedad.

### **3.2. NAR sobre péptidos periféricos participantes en la vía de la saciedad**

Los efectos de la NAR sobre péptidos y hormonas periféricas participantes en la vía del hambre-saciedad en el estado obeso son escasos. En la **Tabla 1**, se presenta un resumen del efecto de la NAR sobre biomarcadores periféricos derivados del tracto gastrointestinal y tejido adiposo asociados a la vía hambre-saciedad.

**Tabla 1.** Principales enterohormonas implicadas en la vía del hambre y la saciedad y hallazgos de estudios *in vivo* e *in vitro* que evalúan los efectos metabólicos de los tratamientos con naringenina (NAR).

Péptido	Efecto fisiológico	Célula enteroendocrina	Localización por mayor densidad	Receptor principal en la ruta del hambre-saciedad	Niveles en peso adecuado	Niveles en obesidad	Efectos reportados de NAR
Grelina	Orexigénico	P	Estómago	GHSR1A	Aumenta antes de los alimentos, disminuyen después de los alimentos.	Bajos antes y después de los alimentos (Y. Wang et al., 2022)	El receptor de grelina es activado por NAR <i>in vitro</i> (Jang, Kim, Oh, et al., 2013)
CCK	Anorexigénico	I	Duodeno y yeyuno proximal	CCK1	Aumentan después de los alimentos, concentraciones máximas 15 minutos.	Bajos después de los alimentos o falla a la disminución después de los alimentos (Ali Ahmad et al., 2022; Mesgari-Abbasi, 2020b)	NAR estimula la secreción de CCK <i>in vitro</i> (Park et al., 2014)
GLP-1	Anorexigénico	L	Duodeno y colon	GLP-1	Disminuidas antes de los alimentos, aumento después de los alimentos.	Bajos antes y después de los alimentos (Krieger, 2020)	NR
PYY (3-36)	Anorexigénico	L	Colon	Y2R	Aumentan después de los alimentos	Variable. Algunos reportan bajos después de los alimentos (Lampropoulos et al., 2021)	NR
Insulina	Anorexigénico	Células $\beta$ pancreáticas	Páncreas	IR	Bajos (comparados al estado obeso)	Altos (ante la resistencia a la insulina)	NAR aumenta la secreción de insulina dependiente de glucosa y la sensibilidad a la glucosa <i>in vitro</i> (Bhattacharya et al., 2014) NAR mejora la sensibilidad a la insulina, la tolerancia a la glucosa e insulina <i>in vivo</i> mediante la traslocación de GLUT4 por AMPK (S. Li et al., 2019)
Leptina	Anorexigénico	Adipocito	Tejido adiposo	LepRb	Bajos (comparados al estado obeso)	Elevados (Andreoli et al., 2019)	NAR disminuye los niveles séricos de leptina (H. Liu et al., 2022) Y su expresión <i>in vivo</i> (Ke et al., 2015)

Adiponectina	Anorexigénico	Adipocito	Tejido adiposo	AdipoR1 y adipoR2	Aumentados (comparados al estado obeso)	Bajos (Inversamente proporcional a la masa de tejido adiposo) (Engin, 2017)	NAR aumenta los niveles de adiponectina séricos ante una dieta alta en grasas <i>in vivo</i> (H. Liu et al., 2022) NAR mejora la expresión de ARNm de adiponectina <i>in vivo</i> (Ahmed et al., 2017)
--------------	---------------	-----------	----------------	-------------------	---	---	---

NAR= naringenina; CCK= colecistoquinina; GLP-1 = péptido-1 similar al glucagón; PYY = péptido YY; ARNm = ARN mensajero; NR=no reporta

Con respecto al efecto de la NAR sobre la grelina, un estudio *in vitro* que empleó un extracto de *Poncirus fructus* (Jang, Kim, Oh, et al., 2013) sugiere que la NAR en el extracto es capaz de activar el receptor de grelina (GHSR), mediante un mecanismo de movilización de calcio. El mismo equipo demostró en un modelo *in vivo* la capacidad procinética de la naringina, precursor de la NAR (Jang, Kim, y Shim, 2013). Sin embargo, ninguno de estos estudios ha empleado a la NAR como compuesto aislado y el efecto de la NAR como potencial procinético y sus implicaciones en la vía del hambre y la saciedad requieren de más estudios. Hasta donde conocemos existe poca información sobre el efecto de NAR en grelina, y ninguna de las investigaciones ha empleado a la NAR como compuesto aislado en un modelo *in vivo* haciendo evidente la necesidad de mayores investigaciones. En contraste, existe una amplia evidencia de un efecto positivo de la NAR sobre la secreción de insulina.

Con respecto a la CCK, se ha descrito que el tratamiento con NAR en un modelo *in vitro* de células enteroendocrinas murinas STC-1 mostró un aumento significativo ( $p < 0.05$ , vs no tratado) en la secreción de CCK de manera dosis dependiente (Park et al., 2014). Así mismo, en este estudio la NAR indujo un aumento en las concentraciones de calcio intracelulares de manera dosis dependiente, las cuales se asocian con los mecanismos de liberación de CCK. Este estudio propone que la NAR media la activación del canal TRP (TRPA1), el cual permite la entrada de calcio extracelular a la célula, ya que el uso de antagonistas de este canal, disminuyó la liberación de CCK mediada por NAR.

Adicionalmente, se han reportado efectos benéficos con respecto a una modulación positiva de los niveles circulantes de adipocinas por la NAR. Un estudio que empleó un modelo de intervención demostró que la administración de NAR en dosis de 50 y 100 mg/kg de peso corporal previene la disminución de los niveles de adiponectina ante una dieta alta en grasas al comparar con el grupo de dieta alta en grasas ( $p < 0.05$ ) (Liu et al., 2022). Así mismo, se ha asociado la exposición a NAR con un aumento en la expresión de mRNA de adiponectina en cultivo de adipocitos humanos ( $p < 0.01$ ) (Rebello et al., 2019), en células 3T3-L1 (Liu et al., 2008) e *in vivo* (Ahmed et al., 2017) mediante la activación de PPAR- $\gamma$  (Horiba et al., 2010). Así mismo se observó un aumento en el

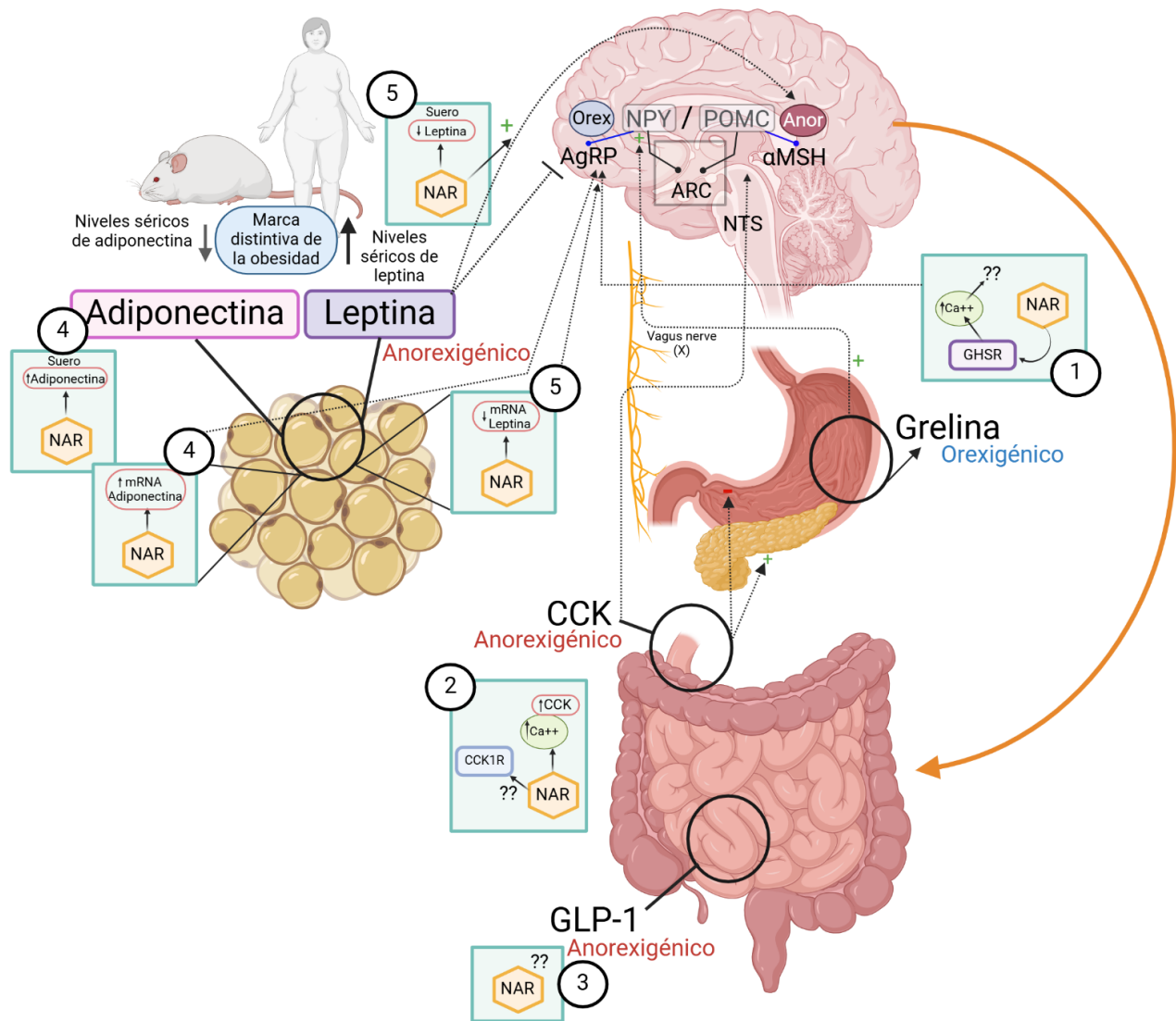
receptor adipoR2 en tejido adiposo, sin embargo, no se han desarrollado más estudios al respecto (Horiba et al., 2010). Lo anterior sugiere que la NAR puede ejercer un efecto protector al modular los niveles circulantes de adiponectina, desde su expresión genética lo cual se hace evidente en los niveles circulantes de la misma.

Con respecto a la leptina, la administración de NAR en un modelo *in vivo* disminuyó los niveles de leptina séricos en ayunas hasta 80% y la expresión en tejido adiposo del 55 al 60% (Ke et al., 2015) lo que se ha observado en otros estudios (Liu et al., 2022) y se asocia fuertemente con la disminución en la obesidad reportada.

Otro efecto positivo, asociado al anterior, es la capacidad de la NAR para restaurar la sensibilidad central a la leptina y a su efecto anorexigénico. Un estudio, además de reportar una disminución de los niveles de leptina tras la administración de NAR, asoció un aumento en la fosforilación de STAT3 en hipotálamo, la cual sugiere que la NAR restauró la resistencia a la leptina inducida por una dieta obesogénica (Liu et al., 2022). Cabe mencionar que la NAR ha mostrado mantener su eficacia en modelos murinos deficientes de leptina (tal como ratón *ob/ob*), por lo que el efecto de la NAR sobre la leptina en relación a la saciedad, no sería el único mecanismo de modulación de la ingesta de alimento (Assini et al., 2015; Burke et al., 2019).

La evidencia revisada hasta el momento, muestra que NAR, podría modular o prevenir diversas aristas asociadas a la obesidad, así como sus complicaciones. Sin embargo, la información en referencia al efecto sobre la ruta de la saciedad aun es un área de oportunidad en investigación. Las investigaciones al respecto, en su mayoría, se han realizado en modelos *in vitro*, *in silico*, o con extractos sin emplear el compuesto aislado. Además, no se han descrito los mecanismos por los que la NAR podría inducir un efecto en la saciedad, por ejemplo no se ha reportado el efecto de la NAR sobre los niveles circulantes de GLP-1, PYY o glucagón.

En la **Figura 4**, se presenta un esquema del potencial efecto de la NAR sobre biomarcadores periféricos derivados del tracto gastrointestinal y tejido adiposo asociados a la vía hambre-saciedad.



**Figura 4.** Potencial efecto modulador de la NAR sobre péptidos periféricos y su regulación con la vía del hambre-saciedad. **1.** La NAR activa el receptor de grelina GHSR con aumento posterior de los niveles de calcio intracelular. **2.** La NAR ha demostrado, *in vitro*, aumentar la secreción de CCK de manera dosis dependiente mediado por el aumento de las concentraciones de calcio intracelulares al activar el canal TRPA1 que permite el ingreso de calcio a la célula. **3.** La GLP-1 es sintetizada en íleon y colon y ejerce un efecto anorexigénico mediante terminaciones vagales, además de estimular la secreción de insulina y retrasar el vaciamiento gástrico al igual que la CCK, sin embargo se desconoce el efecto de NAR sobre los niveles de GLP-1. **4.** La NAR previene la disminución de los niveles de adiponectina en el estado obeso. Además induce un aumento en su expresión y el de su receptor (AdipoR2) en tejido adiposo. **5.** La NAR ha demostrado, *in vivo*, disminuir los niveles séricos de leptina así como su expresión en tejido adiposo. Además, la NAR restaura la sensibilidad central a la leptina y su efecto anorexigénico.

NAR: naringenina; GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1; CCK: colecistoquinina; mRNA: RNA mensajero; CCK1R: receptor de colecistoquinina; GHSR: receptor secretagogo de la hormona de crecimiento; NPY: neuropéptido Y; POMC: neuronas proopiomelanocortina; NTS: núcleo del tracto solitario; AgRP: proteína relacionada con agouti; ARC: núcleo arcuato;  $\alpha$ MSH: hormona estimulante de melanocitos alfa; TRPA1: receptor de potencial transitorio anquirina 1. Fuente: Adaptado de: López-Almada et al., 2023.

## 4. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles son causa de alrededor del 75% de las defunciones a nivel mundial, principalmente debido a las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus tipo 2 y el cáncer (WHO, 2024). Distintos factores no-genéticos como la inactividad física, hábitos nutricionales, composiciones de la dieta y el estilo de vida se han implicado en la aparición y progresión de estas enfermedades y de otros factores de riesgo metabólicos, como la obesidad.

La obesidad es considerada una pandemia y problema a nivel mundial. En la última década, México ha tenido un aumento significativo en la prevalencia de obesidad, particularmente la abdominal, en sus diferentes grupos etarios, lo que predispone al desarrollo de múltiples enfermedades y complicaciones, persistiendo como problema de salud pública en el país asociado a la susceptibilidad genética de la población, así como el ambiente obesogénico asociado al entorno alimentario del país (Pineda et al., 2021).

El aumento en la prevalencia de esta condición sugiere la presencia y persistencia de factores obesogénicos, por lo que abordar la fase temprana de esta enfermedad representa una oportunidad significativa para intervenciones de naturaleza preventiva en el inicio y progresión de la misma, generando con ello un impacto positivo en la salud pública y los sistemas de salud.

Algunos alimentos funcionales han mostrado efectos moderados en el cuerpo humano y han mostrado tener efectos preventivos en el desarrollo de enfermedades metabólicas (Schwingshackl y Hoffmann, 2014). La inhibición de factores patogénicos, como la inflamación, utilizando fitoquímicos derivados de la dieta, podría ser una estrategia terapéutica preventiva para la obesidad y sus complicaciones.

Las investigaciones centradas en los efectos de compuestos naturales como los flavonoides en la obesidad han aumentado, como búsqueda del uso potencial de los flavonoides en el desarrollo de nuevos productos, más seguros y libres de efectos adversos, que induzcan la saciedad y supriman la ingesta de alimentos, ya sea para

administrar en forma de alimentos funcionales, ingredientes de alimentos funcionales o suplementos alimenticios (Al Shukor et al., 2016).

Estudios recientes han demostrado que los compuestos fenólicos pueden tener un impacto positivo en la obesidad mediante la regulación del metabolismo de lípidos, carbohidratos e inflamación, sin embargo el estudio del mecanismo de disminución de ganancia de peso *in vivo* se encuentran limitados. Derivado de lo anterior surge el interés de conocer los efectos de la NAR, como una posible alternativa a la obstaculización de la progresión de la obesidad.

Actualmente, se desconoce el efecto de la administración de la NAR en biomarcadores circulantes relacionadas con la vía del apetito y la saciedad en un modelo murino de obesidad inducido por una dieta occidental que contribuya a esclarecer la participación de estas señalizaciones en el mecanismo de la prevención en la ganancia de peso.

## 5. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

A pesar de que la obesidad es prevenible y tratable, existe un pobre apego a los cambios del estilo de vida del paciente, tales como una dieta balanceada y el ejercicio físico, por lo que se requieren alternativas de tratamiento para prevenir y tratar la obesidad. Estudios recientes han demostrado que los compuestos bioactivos, como los flavonoides, pueden tener un impacto positivo en la salud y obesidad mediante la regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos, por lo que surge la pregunta: ¿puede la administración de naringenina modular los biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos en el contexto de obesidad?

## 6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

**6.1. Hipótesis de investigación (H1):** La administración de naringenina modula biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos, lo cual impacta positivamente el apetito, la desregulación en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo derivados de la obesidad.

**6.2. Hipótesis nula (H0):** La administración de naringenina no induce cambios en biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos, ni muestra cambios en el apetito, la desregulación en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo derivados de la obesidad.

**6.3. Hipótesis alterna (Ha):** La administración de naringenina modula biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos, lo cual impacta negativamente el apetito, la desregulación en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo derivados de la obesidad.

## **6.4. Objetivo General**

Evaluar el efecto de la administración de la naringenina en biomarcadores periféricos de saciedad, estrés oxidativo y del metabolismo de lípidos en un modelo murino de obesidad inducido por una dieta occidental.

## **6.5. Objetivos Específicos**

- 1) Evaluar el efecto de la administración de la naringenina en parámetros metabólicos asociados a lípidos y estrés oxidativo en la obesidad inducida por una dieta occidental en un modelo murino.
- 2) Comparar los cambios histológicos en tejido hepático tras la administración de naringenina en un modelo murino de obesidad inducido por una dieta occidental
- 3) Evaluar el efecto de la administración de naringenina sobre la ganancia de peso corporal, tejido adiposo y del apetito, así como en enterohormonas orexigénicas y anorexigénicas.
- 4) Examinar la interacción de la NAR con los receptores de colecistoquinina y grelina mediante un estudio *in silico*.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos antes mencionados, se desarrolló la siguiente metodología:

### 7.1. Diseño experimental

Para evaluar el efecto de la NAR sobre biomarcadores metabólicos y péptidos reguladores de la vía de la saciedad en la obesidad, se empleó un modelo de inducción de obesidad con dieta occidental. Las ratas macho de la cepa Wistar ( $n=24$ , con peso inicial de  $278 \pm 4$  g) fueron obtenidas del Bioterio del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora (UNISON) (Hermosillo, Sonora, México). Los sujetos de experimentación fueron sometidos a una semana de aclimatación, en jaulas metabólicas individuales con condiciones controladas de temperatura ( $25^{\circ}\text{C}$ ) y humedad (40-70%) en ciclos de 12 horas luz/oscuridad, y acceso libre a dieta basal y agua. Posteriormente, los animales se dividieron en 4 grupos ( $n=6/\text{grupo}$ ) de manera aleatoria y fueron alimentados con las siguientes dietas experimentales no isocalóricas: grupo 1 fue alimentado con una dieta basal (BD), elaborada con base en AIN 93G (15% de energía proveniente de grasas, 64% energía de carbohidratos y 20% energía de proteína), grupo 2 con dieta occidental (WD) la cual se desarrolló con 36% de energía de grasas, 47% de energía de carbohidratos y 16% de energía de proteínas como resultado de los siguientes componentes (g): grasas (manteca animal (Lard DYETS®) 160 g, aceite de soya 30 g: total 190 g), carbohidratos (almidón 230 g, maltodextrina 70 g, sacarosa 239.5 g, fibra 30 g: total 569.5 g), y proteínas (caseína 190g.: total 190 g) (**Tabla 2**). Se optó por una (WD) la cual se caracteriza por simular el patrón dietario hipercalórico del occidente capaz de inducir enfermedades crónicas mediante la combinación de un alto contenido de grasas y azúcares, así como bajas cantidades de fibra, vitaminas, minerales y moléculas antioxidantes en comparación con una dieta saludable (Cena y Calder, 2020; Christ et al., 2019). Se desarrolló una dieta occidental (WD) basada en la propuesta por Reichardt et al. (2017) y en la formulación de Bortolin et al. (2018), con la adición de una bebida de

fructosa al 20%. Por otro lado, la dieta del grupo DB se desarrolló con base en la formulación de la dieta experimental AIN-93G, utilizada para crecimiento en las etapas tempranas del roedor.

El cálculo de kcal/g de cada dieta experimental no incluye la fructosa incluida en la bebida. Las Kcal se determinaron con base en las equivalencias: carbohidratos 4 kcal por 1 g; lípidos: 9 kcal por 1 g; proteína: 4 kcal por 1 g; fibra (celulosa) 2 kcal por 1 g (*CFR - Code of Federal Regulations Title 21, 2025*). El grupo 3 (WD+NAR) se alimentó con WD suplementada con NAR y el grupo 4 (BD+NAR) con dieta basal suplementada con NAR. Los tratamientos con NAR ( $\geq 98\%$ ) de Sigma-Aldrich (Merck) (CAS 67604-48-2) se administraron a dosis de 100mg/kg peso corporal por canulación oral de manera diaria (lunes a domingo) a la misma hora por 8 semanas; los grupos restantes fueron administrados por canulación oral con vehículo (carboximetilcelulosa, CMC 0.5%). La dosis de NAR administrada fue obtenida con base en estudios previos (Hua et al., 2021; Liu et al., 2022). El consumo de alimento se registró de manera diaria y la ganancia de peso cada 4 días.

**Tabla 2.** Composición de las dietas experimentales (%)

<b>Componente</b>	<b>BD</b>	<b>WD</b>
Caseína	20.0	19.0
Manteca	0	16.0
Aceite de soya	7.0	3.0
Almidón	44.75	23.0
Maltodextrina	13.2	7.0
Sucrosa	5.0	23.95
Fibra	5.0	3.0
Metionina	0.3	0.3
Colina	0.25	0.25
Vitaminas	1.0	1.0

Minerales	3.5	3.5
Fructosa	-	20% (bebida)
Energía (Kcal/g)	4.06	4.70*

BD: dieta basal; WD: dieta occidental. \* el cálculo de las kcal/g no incluye la fructosa incluida en la bebida. Las Kcal se determinaron con base en las equivalencias: carbohidratos 4 kcal por 1 g; lípidos: 9 kcal por 1 g; proteína: 4 kcal por 1 g; fibra (celulosa) 2 kcal por 1 g.

Al finalizar el periodo experimental, los sujetos fueron puestos en ayuno de 6 horas y posteriormente anestesiados con pentobarbital 60 mg/kg peso corporal intraperitoneal (Aranda®) para extraer muestras sanguíneas por punción cardiaca. Las muestras sanguíneas fueron recolectadas en tubos con y sin anticoagulante (EDTA), a partir de los cuales se obtuvo plasma y suero el cual fue almacenado a -80 para su análisis posterior. El hígado, tejido graso abdominal y retroperitoneal, se extrajeron para el registro de peso en gramos.

## 7.2. Análisis histológico

El hígado fue inmediatamente extraído, pesado y lavado con solución salina para posteriormente dividirse en segmentos inmersos en formaldehído al 10% e incorporados en parafina para su análisis. Para evaluar la esteatosis hepática, las muestras de tejido hepático fueron teñidas con hematoxilina y eosina (HyE) (Ruiz-Canizales et al., 2019).

## 7.4. Análisis bioquímico

Las concentraciones en suero de triglicéridos plasmáticos (TG), colesterol total (CT), lipoproteínas de baja densidad (c-LDL), lipoproteína de alta densidad (c-HDL) fueron obtenidas mediante kits comerciales (RANDOX, Crumlin, Antrim, UK) siguiendo las

especificaciones del fabricante. Las lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL) se calcularon con base en los triglicéridos (TG/5) (Lee et al., 2020).

### **7.5. Determinación de capacidad antioxidante**

Se evaluaron las actividades en plasma de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD; Sigma-Aldrich, USA) y catalasa (CAT; ThermoFisher, USA), mediante ensayos de actividad colorimétrica.

### **7.6. Evaluación de la saciedad**

Con la finalidad de evaluar el efecto de la administración de NAR sobre la ganancia de peso corporal y del apetito mediante hormonas orexigénicas y anorexigénicas, inicialmente se realizó la medición del peso corporal y se analizó el consumo de alimento a lo largo del bioensayo así como la eficiencia de alimento. El consumo de alimento se registró de manera diaria y la ganancia de peso cada 4 días. La eficiencia de alimento fue calculada de la siguiente manera: ganancia de peso corporal (g/día)/ingesta de energía (Kcal/día) (Salazar-López et al., 2017). Esto permite determinar el almacenamiento de grasa secundario al alimento consumido (Rinde et al., 2020)

Con respecto a las determinaciones de las enterohormonas, se analizaron las determinaciones de concentraciones séricas de colecistoquinina (CCK) y grelina mediante kits comerciales de ELISA y siguiendo el procedimiento indicado por el fabricante (RayBiotech, GA, USA). Las concentraciones se expresaron en pg/ml para CCK y ng/ml para grelina.

### **7.7. Docking molecular**

Inicialmente, se preparó el receptor y el ligando. La estructura 3D de la molécula NAR se descargó de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (2024, 19

de febrero) con el siguiente ID: Naringenina (CID: 932) en formato SDF. Utilizando el software M.O.E (Molecular Operating Environment 2008.10), se analizaron todas las conformaciones posibles.

Para explorar los sitios de unión de los ligandos en las estructuras 3D del receptor de colecistocinina (CCK-R) y receptor de grelina (Ghr-R), las estructuras cristalinas del dominio extracelular se obtuvieron de la base de datos Protein Data Bank (PDB) (<http://rcsb.org>) con las identificaciones (PDB ID): CCK-R: 7MBX; Ghr-R: 7NA7; seleccionadas en función de la calidad de resolución ( $<3\text{\AA}$ ). Posteriormente se descargaron en formato PDB. Se eliminaron las moléculas de disolvente (agua) para evitar interacciones mediadas por disolvente de los ligandos con sitios activos y alostéricos de los receptores. También, se eliminaron de la estructura del PDB los ligandos innecesarios: para CCK-R (7MBX) la cadena E (colecistoquinina) y las cadenas A,B,C,D (otros ligandos); para Ghr-R (7NA7) la cadena A,B y C (subunidades del receptor) y las cadenas D,F (otros ligandos). Posteriormente, se protonaron las moléculas añadiendo hidrógenos y se minimizó la energía utilizando los parámetros AMBER99 (Assisted Model Building and Energy Refinement) para facilitar la interacción y estabilizar las estructuras.

Después de la preparación de los ligandos y receptores, se realizó el acoplamiento molecular (docking molecular) utilizando el software M.O.E 2008.10 (Vilar et al., 2008). Utilizando la función de puntuación dG de London (Kalinowsky et al., 2018), se recuperaron las posibles entradas de interacción entre el número de conformaciones posibles de las moléculas (“preparación de ligando y receptor”) con los receptores de interés en el estado rígido. Los resultados se ordenaron según el S-score en orden descendente. Se seleccionó la interacción con el valor más negativo según el S-score, considerándola como la predicción con la mejor interacción, mejor energía de enlace y mayor afinidad (Attique et al., 2019; Ndzibongwana et al., 2019). Posteriormente, se analizó la interacción 2D en el sitio de unión ligando-receptor identificando los átomos y aminoácidos involucrados, así como los tipos de enlaces, incluyendo enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals e interacciones

electrostáticas. La visualización de las interacciones en modo 3D se realizó en UCSF-CHIMERA (1.15) (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) (Pettersen et al., 2004).

## 7.8. Variables

Con la finalidad de definir las variables dependientes e independientes de este estudio, se diseñó una tabla de operacionalización de las variables, para facilitar su integración (Tabla 3).

**Tabla 3.** Operacionalización de variables

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Variables</b>	<b>Técnica de medición</b>
<p><b>Objetivo 1</b></p> <p>Evaluar el efecto de la administración de la NAR en parámetros metabólicos asociados a lípidos y capacidad antioxidante en la obesidad inducida por una dieta occidental en un modelo murino.</p>	<p><b>Dependiente</b></p> <p>Lípidos séricos SOD y CAT</p> <p><b>Independiente</b></p> <p>Obesidad y NAR</p>	<p>Técnica de determinación colorimétrica</p> <p>Perfil lipídico: Colesterol total, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, c-VLDL.</p> <p>Actividad SOD y CAT.</p>
<p><b>Objetivo 2</b></p> <p>Comparar los cambios histológicos en tejido hepático tras la administración de NAR.</p>	<p><b>Dependiente</b></p> <p>Cambios histológicos en tejido hepático.</p> <p><b>Independiente</b></p> <p>Obesidad y NAR</p>	<p>Tinción histológica con hematoxilina y eosina para visualizar cambios en este tejido.</p>
<p><b>Objetivo 3</b></p>	<p><b>Dependiente</b></p>	<p>Técnica de ELISA para determinar niveles de</p>

<p>Evaluar el efecto de la administración de NAR sobre la ganancia de peso corporal, tejido adiposo y del apetito, así como en enterohormonas orexigénicos y anorexigénicos.</p>	<p>Biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos: colecistocinina y grelina.</p> <p><b>Independiente</b> Obesidad y NAR</p>	<p>grelina y colecistocinina en suero.</p>
<p><b>Objetivo 4</b> Examinar la interacción de la NAR con los receptores de colecistoquinina y grelina mediante un estudio <i>in silico</i>.</p>	<p><b>Dependiente</b> Biomarcadores orexigénicos y anorexigénicos: Receptores de colecistocinina y grelina .</p> <p><b>Independiente</b> NAR (molécula)</p>	<p>Análisis de interacciones entre NAR y los receptores de colecistoquinina y grelina mediante docking molecular en software MOE.</p>

NAR: naringenina.

### 7.9. Análisis estadístico

Los resultados son expresados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Las muestras se analizaron en duplicado. Para evaluar diferencias entre tratamientos se realizó análisis de varianza mediante ANOVA seguido por prueba de Duncan. Se consideró diferencia significativa cuando los resultados entre tratamientos tuvieron un valor  $p < 0.05$ . Las correlaciones entre variables fueron calculadas utilizando la correlación de Pearson ( $p < 0.05$ ). El análisis estadístico se realizó con el software JMP 12.0 e Infostat 2020.

## **7.10. Aspectos éticos**

La presente investigación forma parte del proyecto “Naringenina como modulador de obesidad-saciedad: un estudio integral de biomarcadores orexigénicos-anorexigénicos y eubiosis intestinal en un modelo murino”, el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Sonora (UNISON) (CEI-UNISON, No. 20/2023). Parte de los resultados referentes a la implementación del modelo están incluidos en la tesis Titulada “Naringenina como Potencial Inhibidor del Aumento de Índice Aterogénico Inducido por Dieta Occidental en un Modelo Murino” de Jesús Cruz Valdez y Rogelio Eduardo Coronado Campa, de la Universidad de Sonora (Cruz y Coronado, 2024).

Los cuidados animales fueron realizados conforme a lo establecido por la NOM-062-ZOO-1999, así como los cuidados establecidos en las guías de la NIH con respecto al uso y cuidado de animales de laboratorio.

## **8. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

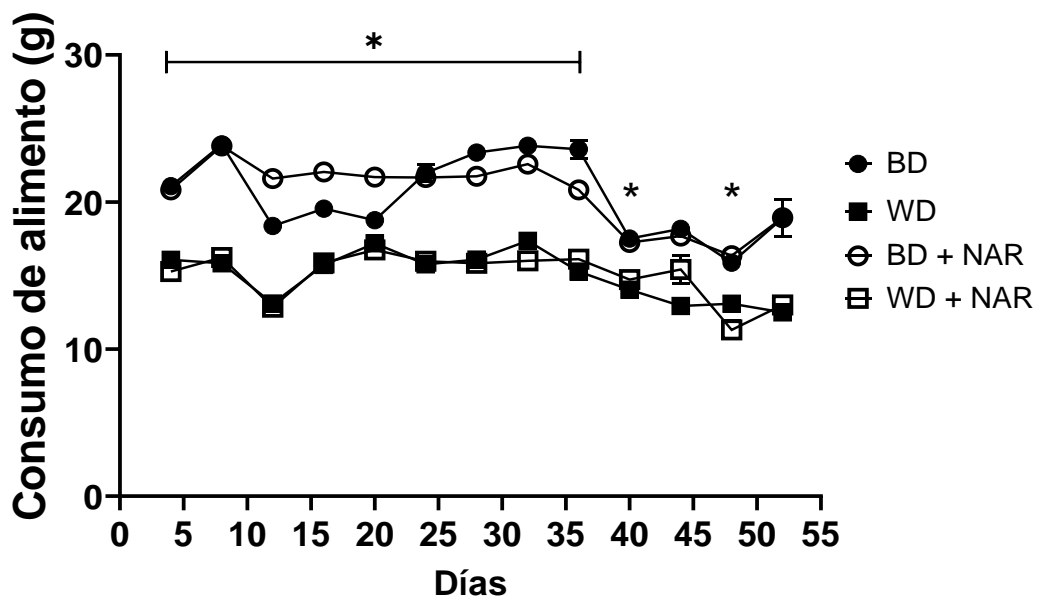
### **8.1. Efecto de la NAR en el consumo de alimento**

El modelo de obesidad fue inducido con WD en un periodo de 8 semanas. Los componentes de ambas dietas (WD y BD) contienen una base nutricional similar (en relación con micronutrientes, p.ej. la colina, vitaminas, minerales), lo que permite interpretar los resultados sin sesgos en este aspecto, así como evaluar el desarrollo de obesidad y los resultados obtenidos, lo que permite que la diferencia radique en los macronutrientes para inducir la obesidad (de Moura e Dias et al., 2021).

Se registró el consumo de alimento a lo largo del periodo experimental para determinar cambios que sugirieran algún efecto de hambre o saciedad. Al analizar el comportamiento del consumo diario a lo largo del periodo experimental, se muestra una

diferencia significativa entre grupos sometidos a una dieta basal y los grupos que fueron sometidos a una WD los primeros 35 días, y en los días 40 y 50, independientemente de la NAR (**Figura 5**). Esto se podría explicar debido a las características de la WD, el cual debido a su contenido alto en grasas y carbohidratos, es denso en kilocalorías, lo que podría resultar en un consumo de alimento menor en el grupo WD a manera de compensación del aumento de energía percibida por los mecanismos reguladores centrales y periféricos del eje hambre-saciedad del sujeto, como intento de mantener la homeostasis de energía y prevenir la ganancia excesiva de peso (Cifuentes y Acosta, 2022; Fiszman y Varela, 2013). Sin embargo, fue necesario analizar el consumo de kilocalorías, así como la eficiencia de alimento para confirmar este punto.

El principal determinante de la cantidad de alimento es el inicio de la saciedad, el cual se induce por señales generadas durante la alimentación y que lleva a la terminación (Bellisle et al., 2012). La NAR no demostró cambios significativos en la ingesta de alimento en ninguna de las dos dietas.



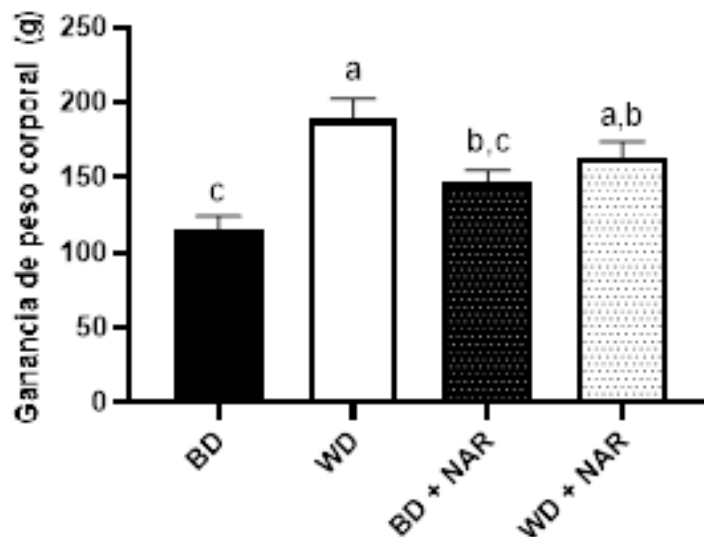
**Figura 5.** Efecto de la NAR en el consumo de alimento a lo largo de las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; WD+NAR: dieta occidental + naringenina; BD + NAR: dieta basal + naringenina. Los valores son representados como

media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) (n=6/grupo). (\*) indica diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre grupos WD y BD con respecto al tiempo. NAR: 100mg/kg peso corporal.

## 8.2. Efecto de la NAR en la ganancia de peso corporal

La ingesta crónica de alimentos hipercalóricos resulta en el ingreso excesivo de energía en el organismo, que al acompañarse de una vida sedentaria o una actividad física insuficiente, promueve la ganancia de peso por el aumento de la masa de tejido adiposo, característico en la obesidad.

Al finalizar el periodo experimental, el grupo WD mostró una ganancia de peso corporal significativa de 38.84% en comparación con el grupo BD ( $189.00 \pm 13.66$  WD vs  $115.58 \pm 8.88$  BD;  $p < 0.05$ ) (**Figura 6**). Sin embargo, la suplementación con NAR en este periodo de tiempo no logró prevenir la ganancia de peso inducido con WD.



**Figura 6.** Efecto de la NAR en la ganancia de peso corporal al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) (n=6/grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

El grupo WD mostró una ganancia de peso significativa en comparación con el grupo BD. Por lo anterior, resulta esencial analizar el consumo de kilocalorías, considerando que las dietas no son isocalóricas y la diferencia entre el consumo en gramos entre grupos, así como la eficiencia del alimento, Lo anterior esclarecerá las causas del aumento de la ganancia de peso del grupo WD.

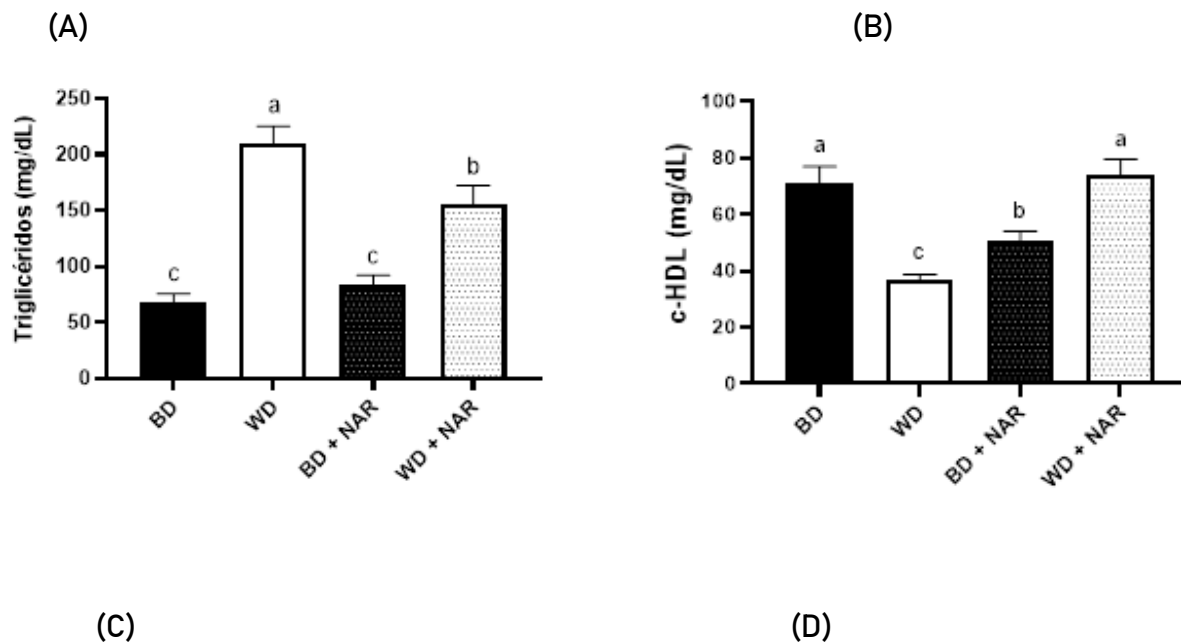
La suplementación con NAR en modelos *in vivo* ha demostrado un efecto preventivo en la ganancia de peso (Li et al., 2019; Liu et al., 2022). Liu et al. (2022) en un modelo en ratas Wistar, administraron NAR por cánula oral a dosis de 25, 50 y 100 mg/Kg de manera simultánea a una dieta alta en grasas que tras 4 semanas demostró una disminución en la ganancia de peso corporal entre el grupo suplementado y no suplementado en la dosis de 100 mg/Kg ( $p < 0.05$ ). Si bien este estudio empleó la misma dosis y tuvo una menor duración que nuestro bioensayo, se basó en una dieta con menor porcentaje de grasas (27% de grasas), lo que podría favorecer la disminución en ganancia de peso reportada por este equipo. Por otro lado, el estudio de (Burke et al., 2018), en un modelo de intervención con ratones *Ldlr*<sup>-/-</sup> obesos, utilizaron una dieta alta en grasas y colesterol con el 42% de las calorías provenientes de grasas y suplementaron con NAR al 3% wt/wt (porcentaje de peso). Lo anterior resultó en una pérdida de peso corporal del ~13% tras la intervención, lo que fue significativo ( $p < 0.05$ ) al comparar con el grupo sin suplementar. Sin embargo, el periodo de suplementación del estudio de Burke et al. (2018) fue de 12 semanas, lo que pudiera brindar un mayor tiempo al desarrollo del modelo y los resultados reportados.

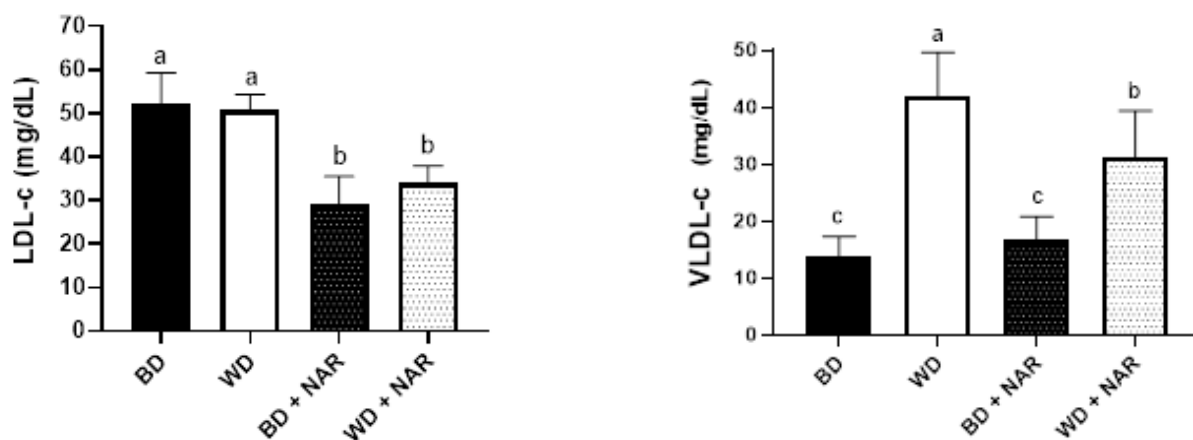
### **8.3. Efecto de NAR en el perfil lipídico**

La ingesta de fructosa se ha identificado como un factor para el desarrollo de dislipidemias; principalmente por su capacidad de inducir la lipogénesis de novo en el hígado. Una dieta alta en grasas, promueve la formación de quilomicrones ricos en triglicéridos. El exceso de grasa en tejido adiposo, promueve la hipertrofia y disfunción de este tejido, en particular el tejido adiposo visceral, que permite un aumento del flujo de ácidos grasos al hígado. Lo anterior promueve la síntesis de lipoproteínas tales como

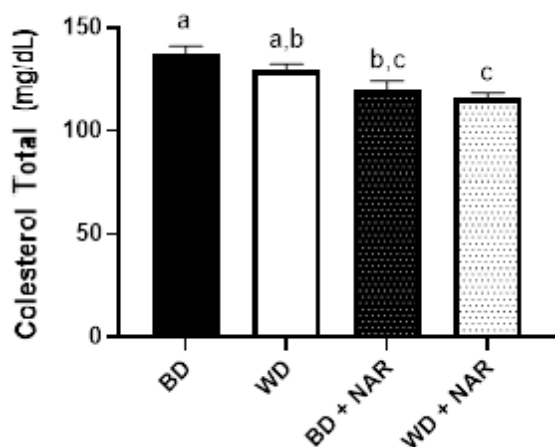
VLDL. El potencial desarrollo de resistencia a la insulina, suma a estas alteraciones, al promover por un lado la lipogénesis en hígado y disminuir la lipólisis en tejido adiposo, por una disminución en la actividad de lipoproteína lipasa lo que desarrolla una hipertrigliceridemia (Vekic et al., 2019). La dislipidemia presente en la obesidad, se caracteriza por un aumento en los niveles de triglicéridos, c-LDL y niveles bajos de c-HDL (Su et al., 2021). Para evaluar la dislipidemia inducida por la WD, así como el efecto de la NAR, se evaluaron los niveles en suero de triglicéridos (TG), c-HDL, c-LDL, c-VLDL y colesterol total (CT).

El grupo de WD desarrolló una hipertrigliceridemia en comparación con el grupo DB ( $209.65 \pm 15.81$  vs  $68.33 \pm 7.43$  mg/dL, respectivamente;  $p < 0.05$ ) (**Figura 7A**). La suplementación con NAR logra prevenir el desarrollo de una hipertrigliceridemia en este modelo, al disminuir un 26% los niveles de triglicéridos a pesar de la exposición a una dieta obesogénica, ( $155 \pm 16.9$  mg/dL;  $p < 0.05$  vs WD). Con respecto al c-HDL, el grupo WD mostró una disminución en los niveles de c-HDL en comparación con el grupo BD ( $36.53 \pm 2.08$  vs  $71.13 \pm 5.86$  mg/dL, respectivamente;  $p < 0.05$ ) (**Figura 7B**). El grupo WD + NAR mostró una prevención en la disminución de esta lipoproteína en un 28% de manera significativa ( $50.9 \pm 3.10$  mg/dL;  $p < 0.05$  vs WD.).





(E)



**Figura 7.** Efecto de la NAR en los niveles de triglicéridos (TG) (A), c-HDL (B), c-LDL (C), c-VLDL (D) y colesterol total (E) al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) ( $n=6$ /grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos ( $p<0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

Con respecto al c-LDL, no hubo diferencia significativa entre los grupos BD y WD ( $52.22 \pm 7.08$  vs  $50.68 \pm 3.67$  mg/dL, respectivamente;  $p > 0.05$ ) (**Figura 7C**). La suplementación con NAR mostró efectos de disminución de esta lipoproteína en ambas dietas, ( $p<0.05$  vs WD:  $33.90 \pm 3.98$  mg/dL; vs BD:  $52.22 \pm 7.08$  mg/dL). Con respecto al c-VLDL, el grupo sometido a una WD desarrollo un aumento en los niveles de esta lipoproteína en

comparación con la BD ( $41.93 \pm 3.16$  vs  $13.66 \pm 1.48$  mg/dL, respectivamente;  $p < 0.05$ ) (**Figura 7D**). La adición de NAR a una WD (WD+NAR) logró prevenir parcialmente el aumento de esta lipoproteína en un 25% ( $31.06 \pm 3.39$  mg/dL;  $p < 0.05$  vs WD). El análisis de CT no mostró diferencias significativas entre los grupos BD y WD (**Figura 7E**) ( $137.03 \pm 3.88$  vs  $129.14 \pm 3.05$  mg/dL). Sin embargo se mostró una reducción en los niveles de CT con la suplementación de NAR en una WD en comparación con el grupo WD ( $115.87 \pm 2.38$  mg/dL vs WD;  $p < 0.05$ ).

La WD culminó en el desarrollo de las alteraciones en el perfil lipídico y una hiperlipidemia, tales como el aumento en triglicéridos y disminución en c-HDL. Lo anterior confirma nuevamente el establecimiento exitoso de un modelo de obesidad inducida por la dieta (Preguiça et al., 2020). El desarrollo de una dislipidemia puede indicar un aumento en la lipogénesis de novo y la síntesis de triglicéridos en hígado. Así mismo, esto puede ser resultado de alteraciones en la función de la lipoproteína lipasa en tejido adiposo lo que resulta en una disminución en la hidrólisis periférica de triglicéridos y su acumulación en sangre, desarrollando así, una dislipidemia (Zwartjes et al., 2021). El aumento de triglicéridos en el grupo WD puede deberse a la presencia de fructosa en la dieta, lo que se ha observado en estudios que emplearon fructosa con porcentajes similares (23%) en periodos de 2 semanas (Lidqvist et al. 2008). Otro estudio empleó fructosa al 16% y se mostró un aumento significativo de triglicéridos circulantes tras solo 24 horas de acceso a la bebida, lo que revela el potencial lipogénico de la fructosa a corto plazo (Colley y Castonguay, 2015).

Los efectos de NAR observados en este bioensayo concuerdan con otros estudios. Al respecto, se ha reportado una disminución en niveles de TG de hasta 46% en un modelo genéticamente modificado (Ldlr -/-) expuesto a una dieta isocalórica suplementado con NAR al 3% con un periodo de duración de 8 semanas (Burke et al., 2019) y en >50% en un modelo de obesidad inducido por una dieta alta en grasas (Burke et al., 2018). El mecanismo por el cual la NAR logra atenuar el desarrollo de una hipertrigliceridemia sugiere ser mediante el aumento de oxidación de ácidos grasos en hígado, así como un aumento en la lipólisis el cual se ha hecho evidente mediante el aumento en la expresión

del gen *PNPLA* (ATGL) de hasta 33% en el grupo suplementado con NAR (Burke et al. 2019). NAR ha demostrado la capacidad de disminuir y prevenir la dislipidemia, mediante el aumento en la oxidación de ácidos grasos, mediante la activación de PPAR- $\gamma$ , prevención de lipogénesis mediada por SREBP1 al disminuir hiperinsulinemia y disminución de VLDL (Mulvihill et al., 2009).

#### 8.4. Análisis histológico

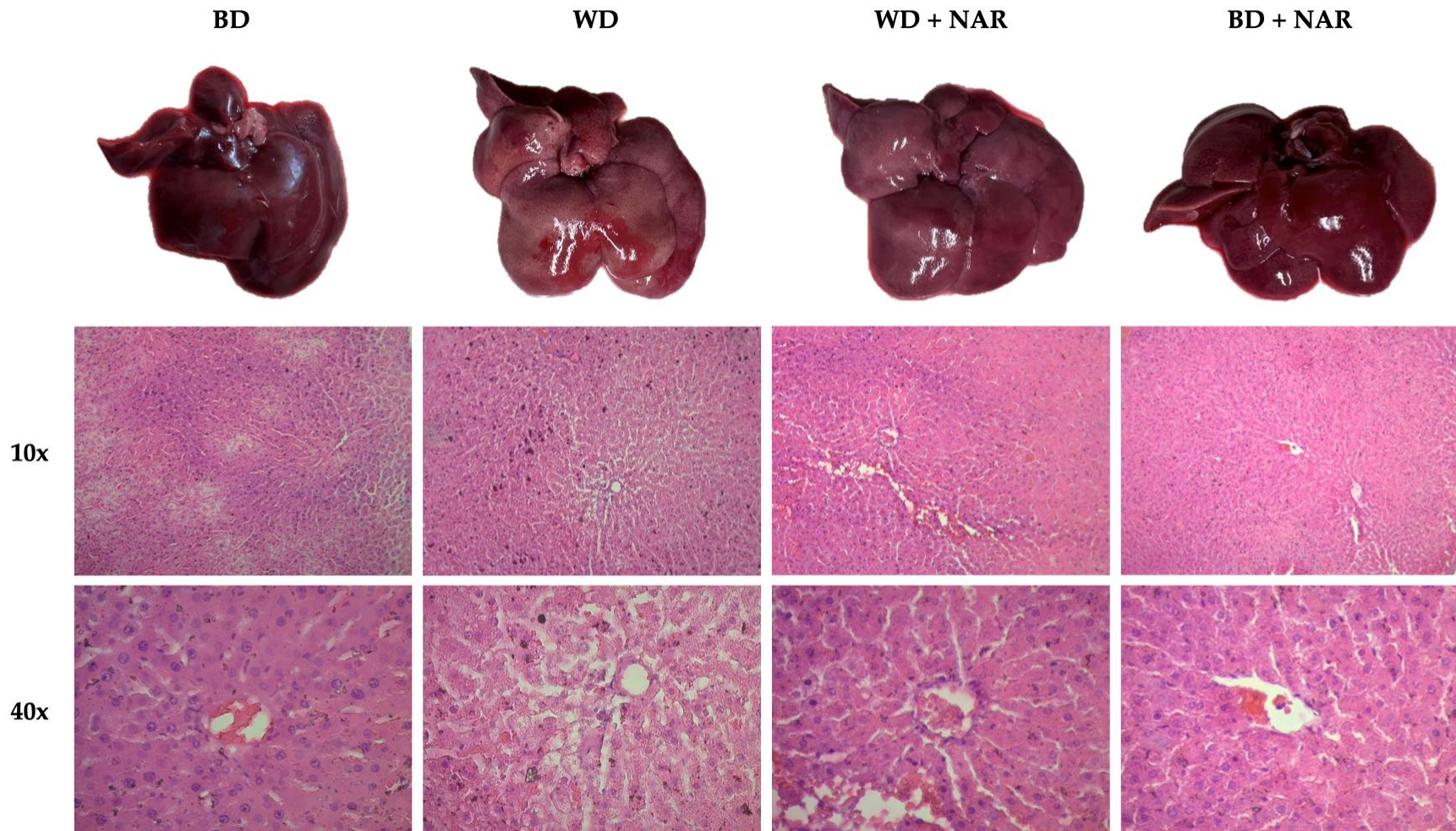
El análisis histológico, mediante la tinción de hematoxilina y eosina (H y E), permite identificar diferencias histológicas entre grupos, tales como la acumulación de triglicéridos en tejido hepático (esteatosis) lo que indica un almacenamiento ectópico y patológico (Fernø et al., 2020); en este caso, debido al exceso de energía derivado de la dieta.

Histológicamente, la esteatosis hepática se caracteriza por la acumulación de grasa en forma de gotas o vesículas lipídicas intrahepáticas, las cuales contienen triglicéridos. Estas vesículas pueden variar en tamaño, por lo que se pueden denominar micro o macrovesiculares. La esteatosis microvesicular puede observarse inicialmente como hepatocitos “balonizados” o edematizados, caracterizados por un citoplasma de tipo reticulado o espumoso por las pequeñas gotas de grasa. Las lesiones de esteatosis suelen predominar en la zona 3 del acino hepático, caracterizado por la presencia de la vena central (Brunt, 2007).

El análisis histológico bajo microscopio óptico del tejido hepático correspondiente al grupo BD mostró una morfología celular regular con un citoplasma homogéneo y sinusoides delimitados (**Figura 8**). En comparación con el grupo WD, fue evidente el aumento de espacios entre hepatocitos y se observó una acumulación de gotas/vacuolas lipídicas (esteatosis), macro y microvesiculares en ciertas partes del parénquima hepático con hepatocitos edematizados y desordenados. La adición de NAR a una WD logra atenuar los cambios observados compatibles con esteatosis y se observa una

morfología más regular y uniforme, sin presencia de vacuolas lipídicas, lo que sugiere que la NAR logra una disminución significativa de la acumulación de grasa en hígado ante una WD. El grupo BD + NAR evidencia una estructura similar a la BD.

Los beneficios de la NAR mediante la prevención de esteatosis hepática se han reportado anteriormente. Ke et al. (2015), demostró una disminución en contenido de lípidos totales y triglicéridos en hígado de manera significativa en un modelo *in vivo* suplementado con NAR, en comparación con el grupo no suplementado (Ke et al., 2015). De igual manera, se ha reportado una disminución de triglicéridos hepáticos de entre 58-82% al finalizar un periodo de administración de 12 semanas en un modelo sometido a una dieta alta en grasa (Burke et al., 2018), lo que coincide con nuestro modelo. Lo anterior le confiere a la NAR un potencial efecto hepatoprotector.



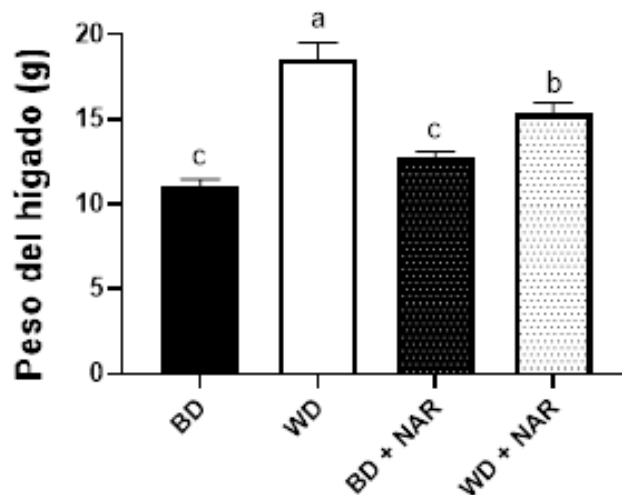
**Figura 8.** Microfotografías de hígados y cambios histológicos (H y E) representativos de tejido hepático al finalizar las 8 semanas de administración de naringenina (NAR). La administración de NAR en una dieta occidental (WD) previene la acumulación de grasas intrahepáticas. H y E: hematoxilina y eosina. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; WD+NAR: dieta occidental + naringenina; BD+NAR: dieta basal + naringenina. NAR: 100mg/kg peso corporal. Aumento 10x y 40x en microscopio óptico

La esteatosis hepática visible en el grupo de WD probablemente se debe a las características de la dieta, incluida la fructosa. En el estudio de Lindqvist et al. (2008a), el aumento de ácidos grasos secundario al consumo de fructosa al 23% fue significativo al compararlo con otras bebidas azucaradas (glucosa y sucrosa) ( $p < 0.005$ ). Este factor también pudiera favorecer el desarrollo de esteatosis hepática. Con respecto a esto, Donnelly y colaboradores en 2005 definieron las fuentes de ácidos grasos y triglicéridos almacenados en el hígado de pacientes obesos con enfermedad de hígado graso no alcohólico y demostraron que más de la mitad (59%) de los triglicéridos y ácidos grasos son provenientes de la lipólisis del tejido adiposo, siendo el resto de origen de síntesis de novo en hígado (26%) y de la dieta (15%) (Donnelly et al., 2005). Lo anterior pudiera explicar la esteatosis observada en el grupo sometido a una WD, mientras que la suplementación de NAR favoreció una menor acumulación de triglicéridos, probablemente secundaria a la disminución de la síntesis de novo.

### 8.5. Efecto de la NAR en el peso del hígado

Para elucidar la causa de ganancia de peso del hígado y del peso corporal de los sujetos de experimentación, se registraron los pesos de los hígados al finalizar el periodo experimental. Además, la disfunción del tejido adiposo induce la acumulación ectópica de grasa en este órgano, que aunado a cambios en el metabolismo de lípidos, permite el almacenamiento y acumulación de lípidos en el hepatocito, lo que puede cambiar la arquitectura micro y macroscópica del órgano.

Al finalizar el periodo experimental, los pesos de los hígados del grupo WD mostraron una ganancia de peso ( $18.50 \pm 1.01$  g) en comparación con el grupo BD ( $11.08 \pm 0.39$  g) ( $p < 0.05$ ) (**Figura 9**). La suplementación con NAR logró obstaculizar la ganancia de peso en este órgano a pesar de una dieta obesogénica (WD+NAR:  $15.33 \pm 0.65$ ;  $p < 0.05$  vs WD).



**Figura 9.** Efecto de la NAR en el peso hepático al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) ( $n=6$ /grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos ( $p<0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

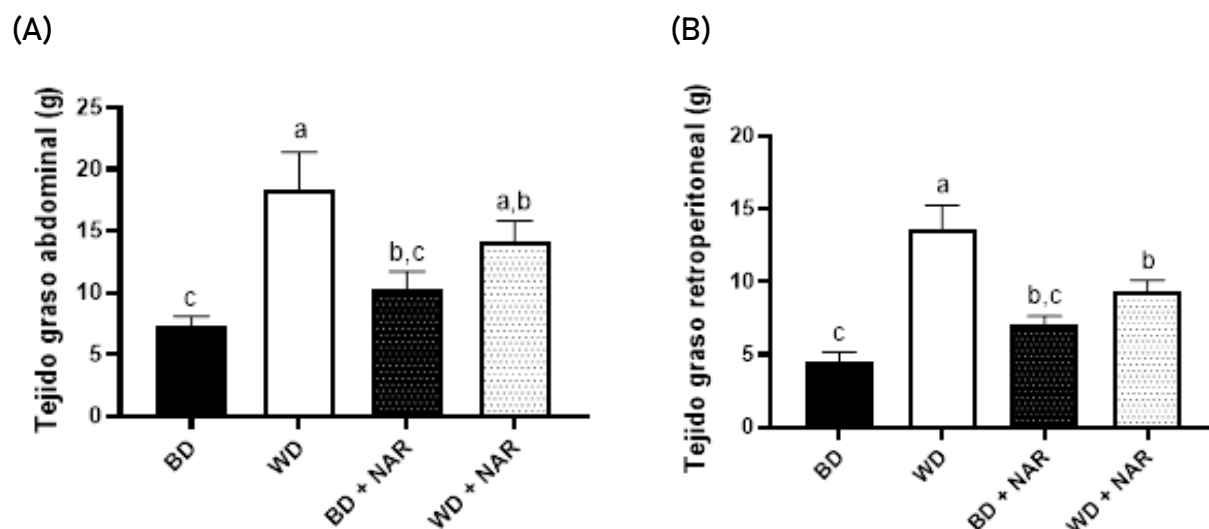
A pesar de que el grupo de WD mostró un menor consumo de alimento y menor consumo de kilocalorías, mostró una mayor eficiencia de alimento, que, aunado a su ambiente sedentario, indujo la acumulación de la energía excedente en forma de grasa culminando en un aumento de peso corporal de manera importante en comparación con las ratas expuestas a una BD. Este aumento en el peso se observó de manera sostenida a lo largo del tiempo y secundaria a un aumento de tejido adiposo y hepático. El aumento del tejido adiposo y de peso hepático en el grupo WD se debe a que el tejido adiposo en el estado obeso se caracteriza por ser un tejido hipertrófico e hiperplásico con una funcionalidad comprometida. Lo anterior desencadena un proceso inflamatorio y la liberación de ácidos grasos, productos de la lipólisis, lo que permite la llegada de un exceso de ácidos grasos al hígado mediante la circulación portal para aumentar la síntesis de triglicéridos intrahepáticos (Rytka et al., 2011). Adicionalmente, se activan una serie de enzimas importantes en la vía lipogénica en hígado, que aunado a los niveles altos de fructosa derivados de la dieta, induce esteatosis hepática mediante LDN en hígado (Herman y Birnbaum, 2021).

Por otro lado, la capacidad de prevención en la acumulación de tejido adiposo por la NAR coincide con otros estudios. El estudio de Ke et al. (2015), en un modelo de intervención en ratones hembra C57BL/6J ovariectomizadas, se suplementó una dieta estándar con NAR al 3% por un periodo de 11 semanas. Al finalizar se observó la disminución del peso corporal del grupo suplementado, que de manera paralela, disminuyó también la adiposidad total, intraabdominal y subcutánea al 54, 59 y 50% respectivamente. Otros estudios han demostrado resultados similares ante una disminución del tejido adiposo, tal como el estudio de Burke et al. (2019), quienes reportaron que tras suplementación con NAR en la dieta una disminución de la adiposidad de hasta 71% para el tejido adiposo inguinal, el cual fue significativo en el grupo suplementado con NAR vs grupo no suplementado (Burke et al., 2019). De manera similar, un estudio reporta que tras la administración de 100 mg/kg de NAR por 4 semanas logra disminuir el tejido adiposo visceral y epididimal (Liu et al., 2022). Los resultados reportados entre estos estudios han sido en diferentes tipos de tejido adiposo (epididimal, inguinal, visceral, etc); lo que puede limitar la comparación entre resultados.

## 8.6. Efecto de la NAR en el peso del tejido graso abdominal y retroperitoneal

Para continuar con el estudio de la ganancia de peso corporal, se evaluaron los cambios de peso en el tejido adiposo. La ganancia de peso, como resultado del desequilibrio entre el ingreso y el gasto energético, se asocia con un aumento de la masa de tejido adiposo, el cual presenta hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos.

Con respecto al peso del tejido adiposo graso, se comparó el peso final del tejido adiposo abdominal y retroperitoneal entre los diferentes grupos de tratamiento (**Figura 10**). El peso del tejido adiposo abdominal ( $18.41 \pm 2.97$  g) fue significativamente mayor en el grupo WD en comparación con el grupo BD ( $7.25 \pm 0.85$  g). La suplementación con NAR (WD+NAR) no logró obstruir la ganancia de peso de este tejido ( $14.16 \pm 1.68$  g;  $p > 0.05$ ). El peso del tejido adiposo retroperitoneal de igual manera se mostró mayor en el grupo WD ( $13.58 \pm 1.70$  g) en comparación con el grupo BD ( $4.5 \pm 0.68$  g;  $p < 0.05$ ), lo que confirma el adecuado establecimiento del modelo. La suplementación con NAR (WD+NAR) mostró prevenir el incremento de peso del tejido retroperitoneal en un 31.2% ( $9.33 \pm 0.80$  g;  $p < 0.05$ ).



**Figura 10.** Efecto de la NAR en el peso de tejido graso abdominal (A) y retroperitoneal (B) al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) (n=6/grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

La ingesta de calorías totales en una WD suele ser mayor que aquella consumida por una dieta basal. Lo anterior resulta en un mayor aumento de peso, debido al exceso de calorías consumidas en forma de energía, que se almacena en forma de triglicéridos y grasa y el potencial almacenamiento ectópico.

El tejido adiposo visceral, es más vascularizado, innervado y metabólicamente activo, con aumento en lipólisis e inflamación. Por lo que participa más en la liberación de citocinas y ácidos grasos. Esto es lo que ha asociado el aumento de tejido graso visceral con el aumento en mortalidad y riesgo cardiovascular al comparar con el tejido adiposo subcutáneo. En ratas, una dieta obesogénica se ha asociado con el aumento en hiperplasia del tejido adiposo subcutáneo e hipertrofia en el tejido adiposo visceral (de Moura e Dias et al., 2021) .

Adicionalmente, el tipo de grasa derivado de la dieta puede contribuir al depósito graso. Los ácidos grasos saturados de cadena larga, no son oxidados tan eficientemente como los ácidos grasos insaturados, por lo que son fácilmente almacenados en tejido adiposo (Enos et al., 2013). En este caso, las grasas saturadas suelen ser integradas en el triglicérido, lo que promueve su depósito en el tejido graso y un efecto obesogénico.

El análisis de correlación de Pearson mostró una correlación positiva entre la ganancia de peso corporal y pesos de los hígados ( $r = 0.87$ ,  $p = < 0.0001$ ) , tejido graso retroperitoneal (Pearson  $r=0.86$ ,  $p= 0.0001$ ) y tejido adiposo abdominal (Pearson  $r= 0.82$ ,  $p=0.0001$ ) lo que sugiere que la ganancia de peso corporal se debe a la suma del peso del hígado y tejido adiposo, secundario al aumento de triglicéridos séricos derivados de la dieta y su depósito en estos órganos.

## 8.7. Efecto de NAR en estrés oxidativo

La obesidad se ha asociado con un estado de estrés oxidativo, el cual es resultado de la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, derivadas de la disfunción de tejidos, lipotoxicidad y procesos inflamatorios, así como una deficiencia en el sistema antioxidante endógeno. La NAR ha demostrado en múltiples estudios un efecto antioxidante. En este proyecto, se evaluó la capacidad antioxidante de la NAR mediante la actividad de catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD), las cuales son enzimas pertenecientes al sistema endógeno antioxidante, y se utilizan como biomarcadores del estado redox del organismo. Sin embargo, a diferencia de otras investigaciones en las que se evidencia el efecto de NAR como antioxidante (Kometsi et al., 2020), los resultados obtenidos en esta investigación no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en estrés oxidativo evaluado a través de la actividad de SOD y CAT debido al consumo de las dietas WD o BD con o sin NAR (**Figura 11**). De manera similar a nuestros resultados, el estudio de Kobi et al (2023), mediante un modelo con ratas Wistar de intervención dietaria con una dieta alta en grasas y alta en sacarosa (HFHS; carbohidratos 43.4%, lípidos 37.4%) con duración de 20 semanas, no mostró diferencias significativas en las actividades de SOD y CAT en suero (Kobi et al., 2023), por lo que la intervención dietaria no mostró estrés oxidativo en este sistema. Los porcentajes de contenido de grasas y carbohidratos por este modelo es similar al utilizado por nosotros. Kobi y colaboradores sugieren que la ausencia de hiperglucemia e hiperleptinemia en el modelo pudiera explicar la ausencia de cambios en estos marcadores, así como la ausencia de otras comorbilidades. Sin embargo, nuestro modelo sí mostro comorbilidades, tales como la dislipidemia en un periodo de 8 semanas. Esto se puede deber a la adición de fructosa a la dieta, lo que ejerce un efecto aditivo. Lo anterior sugiere explorar el efecto oxidativo de la dieta y el efecto antioxidante de la NAR, de manera local p. ej. en tejidos, tales como el tejido adiposo, en modelos de duración como el nuestro.

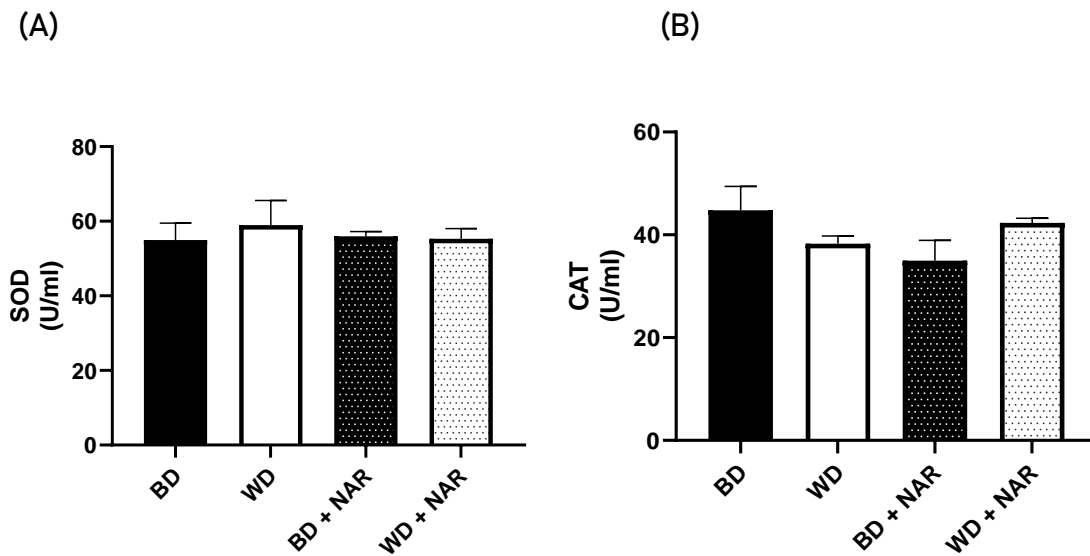
Por otra parte, investigaciones previas indican que la NAR ejerce un efecto antioxidante mediante la neutralización de radicales libres, secundario a su estructura química la cual incluye grupos hidroxilo, responsables de la transferencia de hidrogeniones y eliminación

de radicales libres. Además de este efecto directo o secundario a su estructura, la NAR es capaz de modular el sistema antioxidante endógeno, tal como la modulación del factor de transcripción nuclear eritroide 2 (Nrf2) (Kometsi et al., 2020). SOD y CAT son considerados antioxidantes endógenos, esencial para la protección ante el estrés oxidativo. SOD causa la dismutación de radicales superóxido a oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno mientras que CAT descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno molecular. La actividad de SOD y CAT suelen relacionarse con un estado de estrés oxidativo, secundario a un exceso de EROs.

Las diferencias con nuestros resultados se puede deber al tejido evaluado (plasma), a una posible dosis insuficiente para mostrar el efecto a nivel sistémico o a un periodo experimental insuficiente. También debe considerarse el periodo de toma de muestra como la vida media del compuesto (NAR), considerando que la presencia de la NAR en circulación sistémica es transitoria debido a los procesos farmacocinéticos de distribución, metabolismo y eliminación. El efecto antioxidante de la NAR mediante la regulación en la actividad de las enzimas SOD y CAT podría estar limitado al tiempo que permanece en circulación sanguínea o en los tejidos, tras su administración oral (Murray et al., 2021). Al respecto, un estudio ha reportado que la vida media de NAR en ratas Sprague Dawley es de  $2.75 \pm 1.04$  horas (Bai et al., 2020). La obtención de muestra sérica en nuestro estudio se realizó en un tiempo mayor al reportado desde la administración de NAR.

Nguyen-Ngo et al. (2019) evaluaron la expresión de mRNA de SOD y CAT en tejido adiposo visceral humano (*in vitro*) y en un modelo *in vivo*. En su primer fase, *in vitro*, la incubación con NAR (400  $\mu$ m) en estos tejidos, estimulados con TNF- $\alpha$ , mostró un aumento en la expresión relativa de mRNA de SOD y CAT, en comparación con el grupo TNF- $\alpha$  sin NAR ( $p < 0.05$  vs TNF). En una segunda fase de este estudio, mediante un modelo *in vivo*, se evaluó la expresión de estas enzimas en ratones con diabetes gestacional y la administración con NAR (50 mg/kg peso corporal, intraperitoneal por 18 días). En tejido adiposo visceral, se mostró una disminución significativa en la expresión génica de CAT ( $p < 0.05$  vs CT), mientras que, en el tejido subcutáneo, se observó un aumento en la expresión génica de SOD ( $p < 0.05$  vs CT) (Nguyen-Ngo et al., 2019). A

pesar de que estos estudios resultados sugieren una capacidad de modulación a nivel génico estas enzimas, no se evaluaron niveles séricos o sistémicos y no se sometieron a diferentes dietas. Por otro lado, Liu et al. (2022) evaluaron los niveles séricos de SOD en ratas Wistar, en grupos sometidos a una HFD (27% grasas, 41% carbohidratos) por 16 semanas. Los niveles séricos de SOD en el grupo HFD se mostraron menores en comparación con el grupo control ( $p < 0.05$ ). El tratamiento con NAR en 50 y 100mg/kg en las últimas 4 semanas (modelo de intervención), logró aumentar los niveles séricos de SOD ( $p < 0.05$  vs HFD). En comparación con nuestro estudio, la principal diferencia radica que el modelo implementado por Liu y colaboradores, tuvo una duración mayor.



**Figura 11.** Efecto de la NAR en la actividad de (A) CAT y (B) SOD al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) ( $n=6$ /grupo). No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

## 8.8. Efecto de la NAR en la eficiencia del alimento

Se determinó la eficiencia del alimento, el cual evalúa la relación entre la ingesta de alimento o energía y la adiposidad o el porcentaje de alimento consumido almacenado en forma de grasa (Rinde et al., 2020). Esto permite identificar la presencia de un desbalance entre estas dos variables. La eficiencia de alimento se calculó mediante la fórmula: ganancia de peso corporal (g cada día)/ingesta de energía(Kcal/día) (Hsu et al., 2009; Salazar-López et al., 2017).

El grupo WD mostró una menor ingesta de energía en comparación con el grupo BD ( $70.49 \pm 2.79$  WD vs  $80.57 \pm 1.56$  BD Kcal/día;  $p < 0.05$ ) (**Tabla 4**). Lo anterior puede ser secundario a la menor cantidad de alimento consumido por el grupo WD. La adición de NAR a una WD no mostró diferencias en la ingesta de energía ( $70.23 \pm 3.12$ ;  $p > 0.05$  vs WD). Sin embargo, al realizar el cálculo de la eficiencia de alimento, la adición de NAR a una WD mostró una disminución en los valores de la eficiencia de alimento de manera significativa ( $2.366 \pm 0.154$  WD vs  $1.797 \pm 0.112$  WD+NAR;  $p < 0.05$ ). Por otro lado, el grupo WD mostró una mayor eficiencia que el grupo BD ( $1.193 \pm 0.069$  BD;  $p < 0.05$  vs WD).

Los valores menores en la eficiencia de alimento reflejan una disminución en el consumo de alimento y/o el almacenamiento de las calorías en tejido adiposo (Rinde et al., 2020). Rinde et al. (2020) establecen que uno de los mecanismos de disminución en el tejido adiposo es a través de una disminución de la eficiencia de alimento. Lo anterior coincide con lo observado en este estudio, en el cual la adición de NAR disminuyó los valores de la eficiencia del alimento de manera significativa en comparación con una dieta occidental sin suplementar, lo que concuerda con la disminución en el peso graso del grupo WD+NAR. Esto sugiere que la disminución de la eficiencia de alimento en el grupo WD+ NAR, a pesar de contener una ingesta calórica y de cantidad de alimento similar con el grupo WD, se debe a la NAR y una disminución de almacenamiento de tejido

adiposo, lo que le pudiera mostrarse como un efecto protector o antiobesogénico. El mecanismo por el cual disminuye el almacenamiento graso aún no se establece, aunque puede ser secundario al aumento en el gasto energético (Thone-Reineke et al., 2006), sin embargo, se requieren de otros estudios para elucidar este punto.

**Tabla 4.** Efecto de la NAR en la ingesta de energía y eficiencia del alimento.

Parámetro	BD	WD	BD+NAR	WD+NAR
Ingesta de energía (Kcal/día)	80.57 ± 1.56 <sup>a</sup>	70.49 ± 2.79 <sup>b</sup>	81.37 ± 1.85 <sup>a</sup>	70.23 ± 3.12 <sup>b</sup>
Eficiencia del alimento (g/Kcal)	0.03 ± 0.002 <sup>c</sup>	0.06 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.002 <sup>bc</sup>	0.05 ± 0.002 <sup>b</sup>

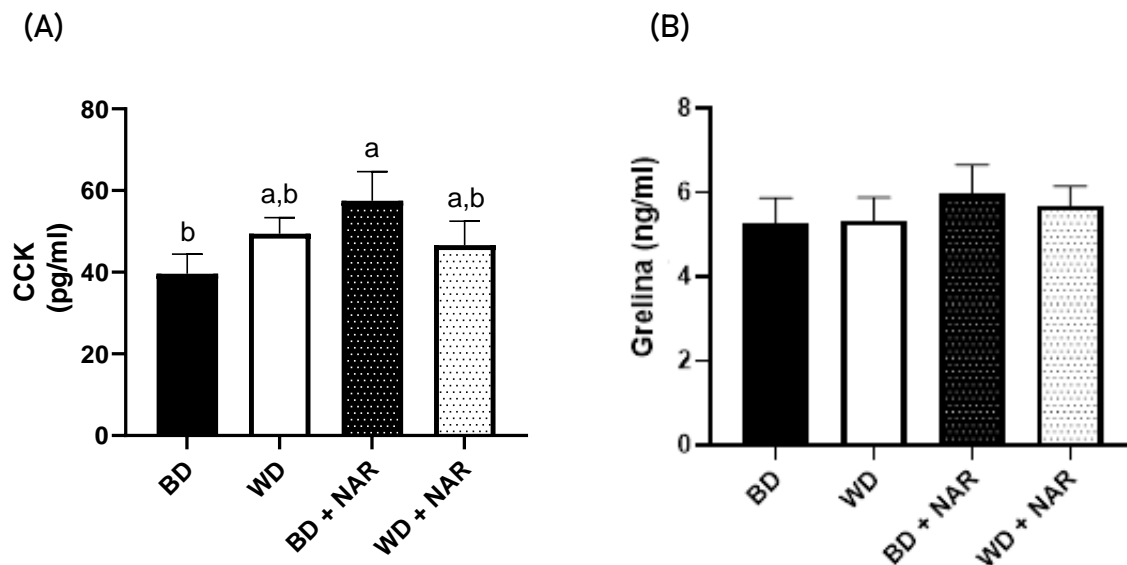
La eficiencia del alimento (g/Kcal) se calculó de la siguiente manera: ganancia de peso corporal (g/día)/ingesta de energía(Kcal/día). BD: dieta basal; WD: dieta occidental; WD+NAR: dieta occidental + naringenina; BD + NAR: dieta basal + naringenina. Los valores son representados como media ± error estándar de la media (SEM) (n=6/grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos (p<0.05). NAR: 100mg/kg peso corporal.

## 8.9. Efecto de NAR en péptidos periféricos participantes en la vía de la saciedad (colecistocinina y grelina)

Para evaluar el efecto de la NAR en péptidos periféricos participantes en la vía de la saciedad, así como en la prevención en su desregulación causada por la obesidad inducida por la WD, se evaluaron los niveles en suero de grelina (total) y colecistocinina (CCK). Se eligieron estas dos enterohormonas para evaluar el efecto de la NAR en una hormona anorexigénica (CCK) y una hormona orexigénica (grelina).

En relación con la CCK los grupos alimentados con dieta occidental no mostraron una diferencia significativa entre ellos (WD:  $49.444 \pm 3.932$  pg/ml; WD+NAR:  $46.63 \pm 5.848$  pg/ml;  $p > 0.05$ ) (**Figura 12A**), sin embargo CCK mostró un incremento cuando fue administrada en conjunto con una dieta basal (BD+NAR:  $57.500 \pm 7.151$  pg/ml; BD:  $39.662 \pm 4.764$  pg/ml;  $p < 0.05$ ). En relación con grelina, no se mostraron diferencias significativas entre grupos (WD:  $5.325 \pm 0.556$  ng/ml; WD+NAR:  $5.670 \pm 0.481$  ng/ml; BD+NAR:  $5.992 \pm 0.670$  ng/ml; BD:  $5.270 \pm 0.601$  ng/ml;  $p > 0.05$ ) (**Figura 12B**) .

La CCK es estimulada por la presencia de nutrientes, tales como por lípidos (principalmente) y carbohidratos en el intestino. CCK es un péptido anorexigénico, el cual disminuye el vaciamiento gástrico y el tránsito del quimo y de esta manera contribuye a la saciedad temprana y disminución de la ingesta de alimento o consumo de energía, por lo que se considera un mecanismo regulador a corto plazo. La CCK se encuentra en concentraciones basales bajas que aumentan tras la estimulación por nutrientes hasta 5 veces más (Rehfeld, 2020). Lo anterior es resultado de la unión de la CCK al receptor periférico CCK1R en vagales aferentes y la modulación positiva en CART. Se ha identificado que los ácidos grasos de cadena larga son los responsables de la disminución de ingesta de alimento temprana (Steinert et al., 2017), tras la hidrólisis de grasas en intestino por la lipoproteína lipasa intestinal y una mayor estimulación de secreción de CCK. Así mismo se ha identificado que los ácidos grasos largos más saturados estimulan menos la secreción de CCK (Steinert et al., 2017). Esto es importante mencionar ya que la WD contenía un porcentaje importante de grasa, la cual



**Figura 12.** Efecto de la NAR en los niveles de CCK (A) y grelina (B) al finalizar las 8 semanas de tratamiento. BD: dieta basal; WD: dieta occidental; BD + NAR: dieta basal + naringenina; WD+NAR: dieta occidental + naringenina. Los valores son representados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) (n=6/grupo). Letras diferentes representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ). NAR: 100mg/kg peso corporal.

deriva principalmente de la manteca que se caracteriza por un alto contenido de grasas saturadas (Rakhra et al., 2020). Por lo anterior, se esperaría que la presencia de estas grasas en el intestino estimulara la liberación de CCK, induciendo un efecto de saciedad, lo que explicaría la disminución en la cantidad de alimento ingerido por el grupo WD. Sin embargo, no se mostraron diferencias significativas entre grupos. Debe considerarse que en el momento de la toma de muestras, las ratas habían sido sometidos a un periodo de ayuno, lo que pudo impedir observar un aumento en los niveles séricos de CCK, considerando que es una hormona reguladora a corto plazo.

En relación con la WD, la lipotoxicidad puede influir en la función de las células productoras de CCK. El estudio de Filippello et al. (2022) analizó el efecto de la

lipotoxicidad mediada por palmitato de manera crónica en el epitelio intestinal, así como el proceso de diferenciación en células enteroendocrinas, mediante organoides intestinales obtenidos de ratones C57BL/6J y la expresión genética de factores de transcripción involucrados en la diferenciación de células (Filippello et al., 2022). El equipo de Filippello (2022), identificó que la lipotoxicidad altera la diferenciación de enterocitos enteroendocrinos, incluido las células I, en las fases iniciales del desarrollo. Así mismo, los niveles de CCK aumentaron de manera significativa en el cultivo de los organoides intestinales expuestos a palmitato, al comparar con el control. Lo anterior, mediante la regulación río arriba de los factores de transcripción *Atoh1* y *Ngn3*, con posterior aumento en los niveles de mRNA de CCK y células CCK positivas, lo que resulta en el aumento de los niveles de CCK. Los resultados de este estudio deben explorarse en modelos *in vivo* y correlacionar con el efecto en los niveles séricos. Filippello et al. proponen que el aumento en los niveles circulantes de CCK secundarios a la lipotoxicidad inducida por palmitato, podría ser una respuesta compensatoria a la resistencia a la insulina, en la cual también se involucra el proceso de lipotoxicidad, considerando que la CCK tiene la capacidad de estimular la secreción pancreática de insulina, por lo que podría llevar a una hiperinsulinemia compensatoria.

Adicionalmente, el estudio de Colley y Castonguay, (2015) identificó que la fructosa al 16% en la bebida en un periodo de 24 horas redujo de manera significativa la expresión de CCK hipotalámica por 37% al comparar con control, mientras que otras bebidas causaron un aumento (glucosa al 16%, jarabe de maíz alto en fructosa 16%). Asociado a esto, se observó una disminución en el consumo de alimento del grupo expuesto a la fructosa, lo que coincide con nuestros hallazgos (un menor consumo de alimento). A pesar de que nuestro modelo tuvo un plazo mayor al de este estudio, la fructosa de la dieta pudiera influenciar la saciedad mediante señalización central de CCK.

El ensayo clínico de Samra et al. (2022), analizó hormonas peptídicas tales como GLP-1, CCK y PYY en 37 individuos libaneses obesos (n=16) y con normopeso (n=21). Tras un periodo de 12 horas de ayuno (Abou-Samra et al., 2022), no se mostraron diferencias significativas en los niveles de CCK entre grupos. Por el contrario, el estudio de Ali Ahmad et al. (2022), ensayo clínico de 30 individuos obesos y 30 individuos delgados

sometidos a un ayuno de 12 hrs, se mostraron diferencias significativas entre grupos de CCK, ya que los individuos delgados mostraron niveles CCK significativamente más altos en comparación con el grupo obeso. Las diferencias entre ambos estudios pudieran ser resultado del tamaño de muestra. Por lo anterior, los niveles de CCK y su desregulación en la obesidad aún requiere de mayores estudios, que logren establecer una clara diferencia (Rehfeld, 2020). A pesar de esto, se ha identificado que hay una resistencia a CCK que se desarrolla en la obesidad. Esta resistencia permite una pérdida a los efectos anorexigénicos de la CCK, lo que se asocia a una hiperfagia, que contribuye al estado obeso. En relación con esto, el estudio de de Lartigue et al. (2012), mediante un modelo *in vivo* e *in vitro*, confirmaron la capacidad de modulación de sensibilidad neuronal de CCK por la leptina y que la resistencia a la leptina es responsable de la disminución en la sensibilidad vagal a CCK, resultando eventualmente en hiperfagia. Lo anterior a través de la co-expresión del receptor de leptina con el receptor de CCK (CCK1R) en las neuronas vagales aferentes. En una segunda parte de este estudio, en un modelo en ratas Sprague Dawley sometidas a una dieta alta en grasas (45% kcal/g grasas) por 8 semanas, las ratas mostraron un aumento en la ingesta calórica en comparación con el grupo resistente a la obesidad y el grupo de una dieta baja en grasas, de manera significativa a partir de la quinta semana. Lo anterior sugiere que a partir de la quinta semana de exposición a una dieta alta en grasas se observa una pérdida de la sinergia de efecto anorexigénico entre la leptina y la CCK. Lo anterior coincide con el periodo de tiempo requerido para el desarrollo de resistencia a la leptina en las neuronas vagales aferentes en ratas obesas inducida por una dieta alta en grasas que tras ocho semanas desarrollan resistencia central a la leptina (de Lartigue et al., 2011). Por lo que después de las ocho semanas, se desarrolla una resistencia a la leptina, secundariamente hay una pérdida en los efectos anorexigénicos de la CCK, lo que resulta en una hiperfagia. La hiperfagia en ratas obesas se desarrolla a las 4-5 semanas después de la dieta alta en grasas, la resistencia a la leptina 4 a 6 semanas después de la dieta alta en grasas. No hubo hiperfagia en este modelo por lo que podemos concluir que todavía no se desarrolla una resistencia a la leptina y no se desarrolla una resistencia a los efectos anorexigénicos de la CCK aunque no hubo cambios significativos en los niveles de CCK en ayunas. Otra manera de comprobar los niveles de las alteraciones de

CCK pudo haber sido mediante la estimulación de CCK endógena con alimentación y su medición 2 horas después.

La NAR ha demostrado en un estudio *in vitro* en células STC-1 murinas, un aumento dosis-dependiente en la secreción de CCK, asociado a un mecanismo de aumento de las concentraciones de calcio intracelulares (Park et al., 2014). Lo anterior confirma lo observado por el estudio de Feng et al. (2021), lo que sugiere que la NAR modula algunos de sus efectos al modificar la actividad de canales iónicos. Sin embargo, el efecto de la NAR sobre la secreción de CCK en modelos *in vivo*, aún no se ha elucidado (López-Almada et al. 2023).

En este estudio, la WD indujo un estado de obesidad, la cual no se asoció a una hiperfagia. Se visualizó un aumento significativo en los niveles de CCK en el grupo BD+NAR al comparar con el grupo BD. Continúa la interrogante del efecto de la NAR en la vía de la saciedad, particularmente para correlacionar la disminución en la ingesta de alimento observada ante una WD y el efecto de la NAR. Se necesitan más investigaciones para determinar si el aumento de CCK sérica es resultado de una modulación transcripcional (ARNm) o traduccional (proteína) en las células enteroendocrinas.

En relación con la grelina, no se observaron cambios de grelina en suero, esto puede deberse a que su estímulo (la alimentación) no estaba presente. Cabe mencionar que debe considerarse la existencia de una secreción basal de grelina, la cual con base en estos resultados, tampoco mostró cambios. En relación con esto, se han asociado niveles bajos de grelina en individuos obesos (Wali et al., 2014). Sin embargo, la falta de diferencias significativas entre grupos, se puede deber al tiempo de nuestro modelo, el cual podría considerarse corto para visualizar los cambios asociados a la desregulación de grelina observados en otros estudios, tales como niveles séricos disminuidos, disminución en su transporte a través de la BHE (Cui et al., 2017), disminución en la expresión de mRNA de grelina en el estómago y disminución en la expresión del receptor GHSR1 a nivel central (Yasrebi et al., 2016; Zhang et al., 2013). En comparación con otros modelos murinos, el estudio de Briggs et al. (2010), la obesidad inducida por una dieta alta en grasas (23.50% de kcal proveniente de grasas) en un modelo *in vivo* de

ratones C57BL/6 con duración de 12 semanas, logró mostrar niveles disminuidos de grelina totales y de acil-grelina en plasma de manera significativa en comparación con el grupo control ( $p < 0.05$ ) (Briggs et al., 2010). Lo anterior se asoció con una disminución en los niveles de mRNA de grelina en estómago y de mRNA del receptor GHSR en hipotálamo, por lo que la dieta alta en grasas en un periodo de 12 semanas, logra una desensibilización tanto periférica como central. El equipo de Briggs propone que estos cambios son resultado de un mecanismo protector establecido por el hipotálamo, que previene el balance excesivo positivo de energía (Briggs et al., 2010). De igual manera, el estudio de Sahin et al. (2011), mediante un modelo *in vivo* en ratas Wistar con una dieta obesogénica de tipo cafetería (33% alimento para rata, 33% leche condensada con grasa entera (Nestle), 7% sacarosa, 27% agua) por un periodo de 12 semanas, mostró niveles menores en grelina séricos total ( $p < 0.01$ ), desacetilada ( $p < 0.05$ ) y acetilada ( $p > 0.05$ , tendencia) en comparación con el grupo control (Sahin et al., 2011). Lo anterior sugiere la necesidad de un modelo de obesidad inducido por la dieta de mayor duración a 8 semanas. Sin embargo, los porcentajes de la dieta utilizada correspondientes a grasa no son claros en este último estudio. Adicionalmente, el estudio de Hóla et al. (2023), mediante un modelo *in vivo* con ratones C57BL/6N, alimentados con una dieta alta en grasas (13% proteína, 60% grasas, 27% carbohidratos Kcal provenientes de la dieta) alimentados por un periodo de 15 semanas, mostraron menores niveles plasmáticos de grelina total en comparación con el grupo control (dieta estándar) en un corte a la semana 9 ( $p < 0.001$ ) (Hóla et al., 2023). Sin embargo la dieta utilizada por este equipo muestra diferencias en comparación a la utilizada por el nuestro, con un mayor porcentaje de grasa y un modelo animal diferente, lo que podría justificar la diferencia entre resultados séricos de grelina.

Sin embargo, aún queda duda si los componentes de la dieta tienen un efecto directo en los niveles de grelina. La fructosa ha mostrado ser capaz de modular la grelina, sin embargo, su efecto en la saciedad aún debe aclararse. A. Lindqvist et al. (2008) compararon 3 diferentes soluciones azucaradas (sucrosa 23%, glucosa 23%, agua natural), entre ellas fructosa al 23% e identificaron que el grupo sometido a la fructosa en un periodo de 2 semanas consumió menos alimento, al comparar con las ratas que tomaron agua natural. La fructosa indujo un aumento en los niveles de grelina en suero

(40%) mientras que el resto de las bebidas no mostraron cambios en este péptido (Lindqvist et al., 2008). El aumento de la grelina sérica en el estudio de Lindqvist no coincide con la disminución en el consumo de alimento observado, considerando que esta hormona ejerce un efecto orexigénico a nivel central, por lo que esto debe investigarse.

Por otro lado, se ha determinado que la resistencia central a la grelina, en neuronas NPY/AgRP, se observa en un periodo de 3 semanas iniciado el cambio de dieta a una dieta alta en grasas. Lo anterior se evidencia mediante la ausencia de inmunoreactividad en estas neuronas y falla en el inicio de potencial de acción inducido por grelina (Briggs et al., 2014), lo que sugiere que los cambios en respuesta a la grelina se desarrollan inicialmente a nivel central (Briggs et al., 2014). De igual manera, el estudio de Yasrebi et al. (2016), mediante un modelo en ratones macho C57BL/6J y ratones transgénicos GFP-NPY de obesidad inducida por una dieta alta en grasas (45% kcal provenientes de grasas) con una duración de 12 semanas, no mostró diferencias significativas en los niveles plasmáticos de grelina, sin embargo, sí se observaron diferencias en la expresión génica del GHSR a nivel central, lo que concuerda con el estudio de Briggs et al. (2010) (Yasrebi et al., 2016). El conjunto de estos hallazgos sugiere que, los cambios centrales, incluidos la desensibilización del receptor GHSR secundaria a la disminución en la expresión génica, anteceden los cambios plasmáticos observados.

En contraste, otro estudio muestra que, a las 4 y 8 semanas, el modelo *in vivo* de dieta alta en grasas muestra una disminución en los niveles de mRNA de grelina gástrico ( $p < 0.01$  vs control), así como la disminución de mRNA del receptor de grelina GHSR1A en el ARC ( $p < 0.01$  vs control) y niveles plasmáticos de grelina menores ( $p < 0.01$  vs CT) (Zhang et al., 2013).

Por otro lado, además de evaluar el potencial de la regulación de la NAR en los niveles de grelina séricos, la NAR podría ejercer efectos directos sobre el receptor de grelina. La NAR es capaz de interactuar y activar el receptor de grelina (GHSR), evidenciado por un aumento de calcio intracelular (Jang, Kim, Oh, et al., 2013) en un modelo *in vitro* utilizando células HEK293T. Sin embargo, se desconoce el resultado de este efecto en modelos *in vivo*, lo que pudiera reflejarse como un aumento en la motilidad

gastrointestinal (Jang, Kim, y Shim, 2013) o un efecto orexigénico, por lo que aún debe elucidarse. Por último, estos resultados recuerdan que el rol fisiológico de la grelina no se limita a la ejecución de un efecto orexigénico, por lo que deben contemplarse otros efectos paralelos tales como cambios en el metabolismo de lípidos, carbohidratos, balance de energía, y a largo plazo, en la adiposidad así como su rol con la leptina (Cui et al., 2017).

Por lo que, las diferencias en los resultados obtenidos en este estudio en comparación con otros estudios, podrían resultar de i) las diferencias entre la duración del modelo, el cual podría ser considerado corto para contemplar las diferencias séricas observadas en otros estudios y la aparición de más alteraciones metabólicas, las cuales parecen influir en la desregulación de la grelina y ii) las diferencias entre dietas experimentales. Aunque se sugiere que los niveles de leptina tienen un efecto mayor en la desregulación de la grelina que la dieta, las dietas experimentales varían en su contenido de grasas y carbohidratos, lo que puede impactar en la cantidad de depósito de grasa y así influir diferente en los niveles de leptina circulantes. Se desconocen los niveles de leptina en nuestro modelo, por lo que faltaría por elucidarse este punto, así como la desregulación génica de grelina a nivel periférico (en estómago) y a nivel central (receptor de grelina en neuronas NPY/AgRP).

## **8.10. Acoplamiento molecular**

En este trabajo se eligió un modelo predictivo de acoplamiento (docking) molecular de las diferentes conformaciones de la molécula de NAR, con los receptores de CCK y de Ghr, para determinar la mejor conformación de unión con base en la energía de unión y determinar el potencial de interacción entre la molécula y los receptores. Se decidió utilizar el software MOE porque permite evaluar la diversidad de interacciones y conformaciones, así como la afinidad de unión mediante el S-score, lo que permite evaluar y comparar posibles interacciones (Attique et al., 2019).

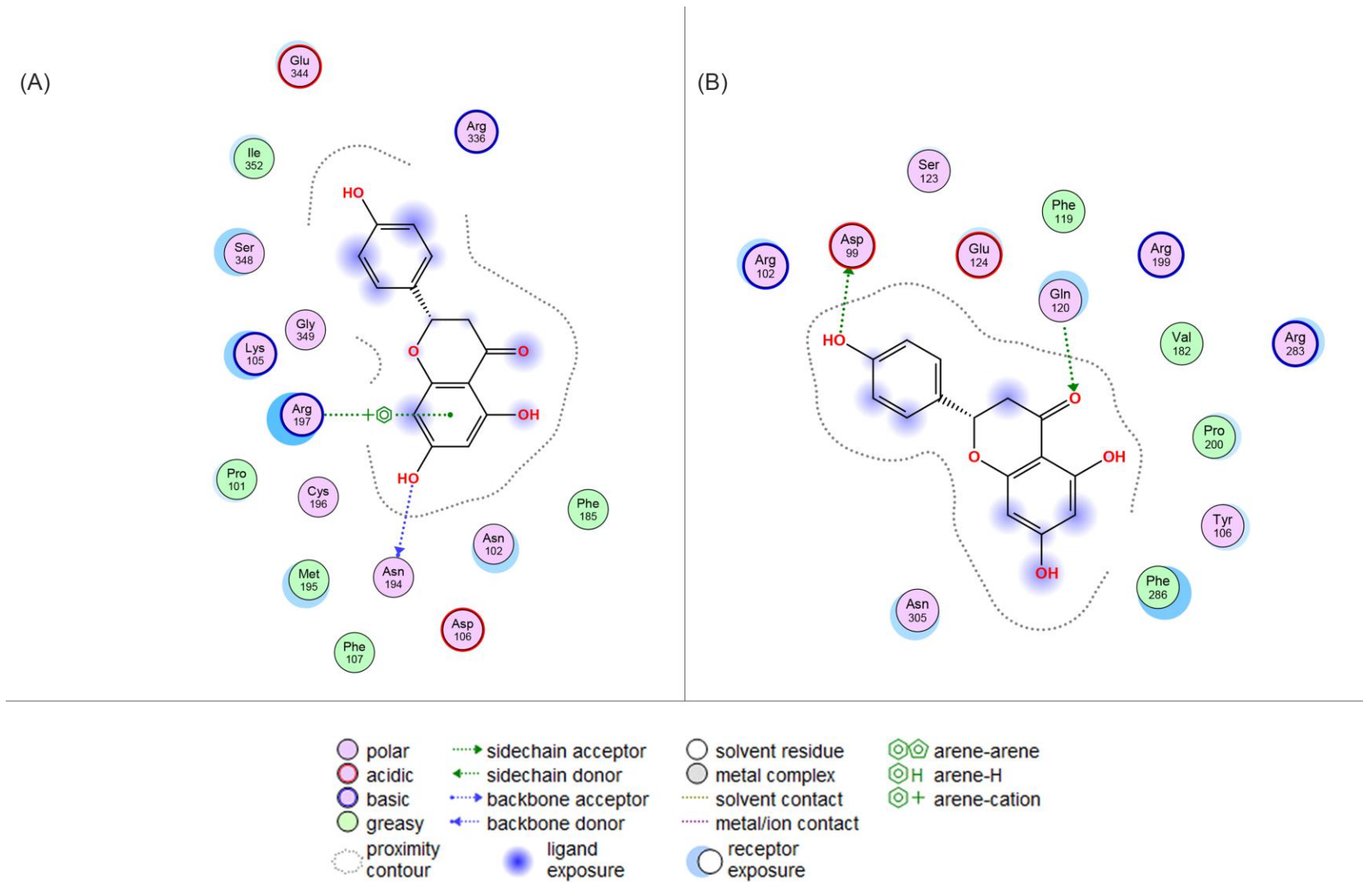
Los resultados mostraron 3 posibles conformaciones para NAR. Se realizó docking molecular para predecir las interacciones ligando-receptor con base en el S-score, se seleccionaron los valores más negativos con mejores posiciones (**Tabla 5**). El S-score negativo revela la predicción de mayores valores de afinidad entre las dos moléculas (ligando y receptor). El análisis conformacional seguido del docking molecular permitió observar que las características del flavonoide le permiten plegarse y posicionarse en el receptor.

**Tabla 5.** Características de las interacciones de NAR con CCK-R y GHR-R.

NARINGENINA (NAR)									
CCK-R					GHR-R				
S-score	Amino ácidos	Donador	Aceptor	Enlaces particulares	S-score	Amino ácidos	Donador	Aceptor	Enlaces particulares
-5.5540	Arg197 Asn194	1	0	Arg197: areno- cación con anillo A  Asn194: OH del 7' del anillo fenólico A, como donador	-5.7476	Gln120 Asp99	1	1	Gln120: como donador de cadena lateral al carbonilo en posición 4 del anillo C.  Asp99: como aceptor de cadena lateral del hidroxilo en posición 4' del anillo B.

Valores de enlace negativo basados en el puntaje S, residuos de aminoácidos involucrados, comportamiento de NAR como donador o aceptor de electrones y enlaces particulares obtenidos a partir del acoplamiento molecular.

El acoplamiento molecular de NAR con CCK-R reveló las mejores y principales interacciones ligando-receptor. La segunda mejor posición en la puntuación S fue elegida con una puntuación S de -5,5540. Las interacciones revelaron una interacción areno-cación entre el Arg197 del receptor y el anillo A fenólico de la NAR, así como una interacción de tipo donante de cadena principal del residuo OH en la posición 7 del anillo A fenólico con Asn194 (**Tabla 5; Figura 13A**).



**Figura 13.** Conformación bidimensional de la mejor interacción entre (A) NAR y el receptor de colecistoquinina (CCKR) y (B) NAR y el receptor de grelina (GHSR). El contorno de proximidad se muestra con la línea de puntos. Los residuos hidrófilos se muestran en violeta, los residuos hidrófobos se muestran en verde, los anillos azules indican grupos básicos, los anillos rojos indican grupos ácidos, los anillos negros indican grupo neutro.

El acoplamiento molecular con Ghr-R mostró las interacciones con NAR. La tercera mejor posición fue elegida con una puntuación S de -5,7476, con interacciones entre Gln120 y el grupo funcional carbonilo en la posición 4 del anillo fenólico C, así como el grupo hidroxilo en la posición 4' del anillo fenólico B con Asp99. (**Tabla 5; Figura 13B**).

Los estudios de acoplamiento de NAR mostraron una potencial interacción con ambos receptores. Estudios previos han identificado características estructurales de los flavonoides, como los grupos hidroxilo, que le confieren la capacidad de interactuar con ciertos receptores (Zhang y Zhu, 2020). NAR es una molécula anfipática, es decir, una molécula que contiene una porción polar y otra apolar en su estructura. Los grupos hidroxilo le confieren un comportamiento polar e hidrofílico, mientras que los anillos aromáticos se consideran apolares e hidrofóbicos (Sadžak et al., 2023). De igual forma, los aminoácidos pueden ser polares o apolares, cargados o no cargados. Esto también influye en su interacción con los flavonoides.

Existen 2 subtipos de receptores CCK a través de los cuales la CCK ejerce sus efectos: CCK-1 (o CCK-A) y CCK-2 (o CCK-B). Varios estudios han concluido que la CCK-1, pero no la CCK-2, está implicada en la regulación de la saciedad, ya que la activación de la CCK-1 inicia la señalización de saciedad al hipotálamo y al NTS a través del nervio vago (Kowalski et al., 2020). Paralelamente, la CCK tiene efectos que contribuyen a la saciedad, como la estimulación de la secreción de insulina y el retraso del vaciamiento gástrico (Cawthon y de La Serre, 2021). Por otro lado, los efectos de la CCK parecen depender en parte de la co-secreción de otros enteropéptidos como el GLP-1 y la leptina, ya que se ha descrito que ejercen un efecto sinérgico o aditivo al promover la saciedad (Vana et al., 2021), además de que la activación del receptor CCK-1 estimula la secreción de leptina (Koizumi et al., 2020). En conjunto, estos efectos inducen un efecto anorexigénico.

En este estudio *in silico*, se seleccionó la segunda mejor posición de acoplamiento molecular entre NAR y CCK-R, determinada por el S-score y las interacciones entre NAR y el receptor; guiado por las interacciones del receptor CCK y su ligando natural de mayor

afinidad, CCK-8 sulfatado. En este sentido, Liu et al. (2021) evaluaron las estructuras de criomicroscopía electrónica del receptor CCK-A y CCK-8 sulfatado. El receptor utilizado por Liu et al. 2021, incluye los dominios extracelular y transmembrana, junto con su acoplamiento a proteínas G (PDB ID: 7EZH, 7EZK, 7EZM). Por el contrario, nuestro estudio utilizó un receptor que consta solo de los dominios extracelular y transmembrana (PDB ID: 7MBX). En el estudio de Liu et al. (2021), se estableció que el aminoácido Arg197 es determinante para discriminar entre CCK sulfatada y no sulfatada, lo que lo hace crucial para su reconocimiento y unión (Gigouj et al., 1999; Liu et al., 2021). Este hallazgo se alinea con las interacciones observadas en nuestros resultados. Además, el estudio describió interacciones en el bolsillo de unión del receptor CCK-A, involucrado en el reconocimiento de CCK-8 sulfatada, particularmente con la porción extracelular, que incluyen Asp333, His210, Tyr360, Arg197, Ser348. También se identificaron residuos críticos para la activación de CCK-AR como Arg336, Asp333, Ala343, Leu347 y Ser348. Estos residuos y la posición reportados por Liu et al. (2021) coinciden con los nuestros, en los que NAR se encontraba en proximidad con otros residuos distintos a Arg197, como Arg336 y Ser348, residuos descritos como esenciales y críticos para el reconocimiento y activación del ligando endógeno CCK-8.

La interacción areno-cación entre el anillo A fenólico de NAR y Arg197 probablemente ocurre porque la arginina es un aminoácido básico hidrofílico y con carga positiva, que atrae su unión al oxígeno con carga negativa de los anillos aromáticos de fenol con elementos electronegativos -OH (Banerjee y Bhargava, 2024). Las interacciones areno-cación son el resultado de la atracción electrostática entre un grupo areno rico en electrones (grupo aromático, en este caso el anillo benceno-fenol) y un catión deficiente en electrones (Arg) (Kumar et al., 2018). Lo anterior proporciona una estabilización cinética adicional. Además, Asn, un aminoácido neutro y polar, tiene un grupo de cadena lateral hidrofílico amida (CONH<sub>2</sub>) que actúa como un aceptor de átomos de hidrógeno del grupo hidroxilo en el anillo A fenólico, formando así un puente de hidrógeno (Wiegand et al., 2020).

Todo lo anterior propone a NAR como una flavanona capaz de interactuar con CCK-R, es decir, de manera similar a CCK-8. Por lo tanto, se prevé que el NAR actúe como

agonista del receptor CCK-R, provocando así efectos anorexigénicos a través de este mecanismo. Hasta donde sabemos, no se han identificado estudios *in silico* o de acoplamiento molecular del NAR con el CCK-R.

La grelina ejerce sus efectos en parte mediante la señalización a través del nervio vago y directamente en el SNC al cruzar la barrera hematoencefálica, donde se une a los receptores de grelina, el receptor secretagogo de la hormona de crecimiento tipo 1A (GHSR1A). Este receptor se expresa en las neuronas NPY/AgRP y ejerce sus efectos orexigénicos tras la unión y activación de ligandos peptídicos (Airapetov et al., 2021; Perelló et al., 2022).

El NAR es capaz de interactuar y activar el receptor de grelina (GHSR) *in vitro* (Jang, Kim, Oh, et al., 2013). En este estudio, para facilitar la comparación entre el NAR y el ligando del Ghr-R (grelina) en el Ghr-R, primero analizamos la molécula agonista del receptor de grelina, HM01 (PubChem CID: 134817268) (resultados no mostrados). Esto se debió al complejo de grelina y a su tamaño mucho más diferente (PubChem CID 16133832, MW 3370.9g/mol). Por lo tanto, se seleccionó la tercera mejor posición entre el NAR y el Ghr-R, con base en el Ghr-R y el HM01 en el que en la quinta mejor posición mostró una interacción con Asp99. Asp, un aminoácido ácido, se comportó como un aceptor de electrones del NAR. Esto se debe a que Asp presenta un oxígeno cargado negativamente en su estructura, el cual atrae el hidrógeno del grupo hidroxilo unido en la posición 4' del anillo fenólico B del NAR. Considerando que Asp tiene carga negativa e es hidrofílica, esto sugiere que un aminoácido hidrofílico interactuará más fácilmente con la porción hidrofílica de la molécula de flavonoide. Por otro lado, Gln como un aminoácido polar neutro, se comportó de manera similar a Asn194 en la interacción NAR-CCK a través de su grupo amida de cadena lateral -NH<sub>2</sub>, al donar un hidrógeno al grupo carbonilo del anillo fenólico C del NAR, que también es polar.

De lo anterior se desprende que la acidez o basicidad del aminoácido, la participación de elementos electronegativos y la presencia de grupos hidroxilo en el NAR y en los aminoácidos favorecerán la formación de posibles interacciones. Hasta donde sabemos, el mecanismo y efecto del NAR sobre el receptor CCK y GHR, es decir, un efecto agonista o antagonista, no ha sido esclarecido.

Se desconoce el resultado de estos efectos en modelos *in vivo*, considerando que la NAR pudiera actuar como agonista o antagonista, y ejercer así un efecto orexogénico o anorexigénico, dependiendo de cada uno de los receptores estudiados. Los resultados de este estudio se resumen en la **Tabla 6**.

**Tabla 6.** Se resumen los resultados de cada uno de los objetivos establecidos.

Objetivos específicos	Resultado
<p style="text-align: center;"><b>Objetivo 1</b></p> <p>Evaluar el efecto de la administración de la NAR en parámetros metabólicos asociados a lípidos y en la actividad antioxidante en la obesidad inducida por una dieta occidental en un modelo murino.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Efecto antidislipidémico:</b></p> <p>En nuestro modelo, la suplementación de NAR en una WD disminuye triglicéridos séricos en un 26% (<math>p &lt; 0.05</math> vs WD), colesterol total en un 10% (<math>p &lt; 0.05</math> vs WD), c-VLDL en un 25.9% (<math>p &lt; 0.05</math> vs WD). y c-LDL en un 33%. Por otro lado, aumentó c-HDL en un 28% (<math>p &lt; 0.05</math> vs WD).</p> <p>En nuestro modelo, la suplementación de NAR en una WD no mostró cambios significativos en las actividades de SOD y/o CAT séricas (<math>p &gt; 0.05</math> vs WD).</p>
<p style="text-align: center;"><b>Objetivo 2</b></p> <p>Comparar los cambios histológicos tras la administración de NAR en tejido hepático.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Efecto hepatoprotector:</b></p> <p>En nuestro modelo, la suplementación de NAR en una WD disminuye la acumulación de lípidos intrahepáticos visibles ante tinción con HyE, lo que disminuye el peso del hígado en un 17% (<math>p &lt; 0.05</math> vs WD).</p>

<p style="text-align: center;"><b>Objetivo 3</b></p> <p>Evaluar el efecto de la administración de naringenina sobre la ganancia de peso corporal, tejido adiposo y del apetito, así como en enterohormonas orexigénicas y anorexigénicas.</p>	<p><b>Efecto modulador de CCK sérica:</b></p> <p>En nuestro modelo, la suplementación de NAR en una WD no previno una ganancia de peso corporal significativa (<math>p &gt; 0.05</math> vs WD). NAR aumentó los niveles séricos de CCK ante una BD (<math>p &lt; 0.05</math> vs BD). Sin embargo, no se mostraron cambios significativos en los niveles séricos de grelina entre los grupos experimentales (<math>p &gt; 0.05</math>).</p>
<p style="text-align: center;"><b>Objetivo 4</b></p> <p>Examinar la interacción de la NAR con los receptores de colecistoquinina y grelina mediante un estudio <i>in silico</i>.</p>	<p>El estudio de acoplamiento molecular mostró un potencial de interacción entre la NAR con el receptor de CCK y de grelina, así como los aminoácidos que participan en estas interacciones.</p>

### 8.11 Limitaciones

Entre algunas limitaciones de este estudio, destaca el período de tiempo experimental; aunque 8 semanas son suficientes para inducir la obesidad y observar cambios tempranos en los parámetros metabólicos, algunas variables pueden requerir un mayor tiempo para evidenciar los cambios, tales como los cambios inflamatorios sistémicos y del EO, así como los cambios en CCK y grelina séricos. Por lo anterior es importante considerar las etapas tempranas y más avanzadas o crónicas de la enfermedad y documentar los efectos a corto y largo plazo. Adicional a lo anterior, la recolección de muestras de sangre en múltiples puntos temporales, incluidos los períodos de ayuno, prandial y posprandial, podría revelar los cambios dinámicos en los niveles de CCK y grelina en respuesta al tratamiento con NAR, lo que ofrece una comprensión más clara de su modulación a lo largo del tiempo.

Otra limitación es la ausencia de una cuantificación precisa de la ingesta de fructosa, que podría dificultar la interpretación de los resultados sobre la ingesta de energía y la eficiencia energética en la adiposidad.

Por otro lado, el análisis de marcadores inflamatorios y de EO en tejido adiposo e hígado, podría proporcionar información valiosa sobre el efecto del NAR en estos tejidos, considerando que la inflamación se comporta diferente en cada tejido durante diferentes períodos de tiempo. En relación con esto, se ha demostrado que la inflamación del tejido adiposo ocurre antes del inicio de la inflamación del hígado, lo que resalta la importancia de explorar intervenciones que se dirijan a la inflamación en las primeras etapas de este órgano endocrino (van der Heijden et al., 2015).

Por último, podría considerarse la necesidad de confirmar las interacciones entre NAR con los receptores CCK y grelina mediante modelos in vitro; esto confirmaría su efecto agonista o antagonista, lo que potencialmente promovería un efecto orexigénico o anorexigénico.

## 9. CONCLUSIONES

Los cambios observados tanto en los grupos WD, como los grupos BD y BD+NAR, muestran la influencia de los componentes de la dieta. A pesar de que las condiciones ambientales fueron las mismas para todos los grupos y que la cepa del modelo de rata comparte el mismo trasfondo genético, se mostraron diferencias en el momento de exponer a los grupos a diferentes dietas. Las diferencias entre los compuestos en la dieta, particularmente macronutrientes (grasas saturadas, carbohidratos simples) y flavonoides (NAR), potencialmente fueron los responsables de estas diferencias.

Los hallazgos más importantes en este estudio son, un modelo de obesidad inducido por una WD establecido en 8 semanas de manera exitosa al desarrollar una ganancia significativa de peso corporal, de tejido adiposo y hepático, compatible fenotípicamente con obesidad y dislipidemia. Adicionalmente, la NAR previene el aumento de peso de tejido adiposo, de peso hepático y dislipidemia, así como el depósito de lípidos intrahepáticos, inducido por una WD, lo que indica sus potenciales efectos antiobesogénicos.

Por otro lado, los grupos experimentales en este estudio, no mostraron cambios que evidenciaran un estado de estrés oxidativo sistémico; la NAR no mostró modulación de enzimas antioxidantes o capacidad antioxidante por exposición a radicales libres así como la regulación de los niveles periféricos de grelina o CCK ante la exposición a una dieta occidental, pero sí en una dieta basal.

Se requieren de más estudios para analizar el mecanismo del aumento de CCK plasmática cuando se consume una dieta basal, en particular, para elucidar una modulación de su síntesis a nivel proteico o génico, por la célula I enteroendocrina.



## 10. REFERENCIAS

- Abdalla, M. M. I. (2017). Central and peripheral control of food intake. *Endocrine Regulations*, 51(1), 52–70. <https://doi.org/10.1515/enr-2017-0006>
- Abou-Samra, M., Venema, K., Ayoub Moubareck, C., & Karavetian, M. (2022). The Association of Peptide Hormones with Glycemia, Dyslipidemia, and Obesity in Lebanese Individuals. *Metabolites*, 12(11), 1051. <https://doi.org/10.3390/metabo12111051>
- Ahmed, O. M., Hassan, M. A., Abdel-Twab, S. M., & Abdel Azeem, M. N. (2017). Navel orange peel hydroethanolic extract, naringin and naringenin have anti-diabetic potentials in type 2 diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.094>
- Airapetov, M. I., Eresko, S. O., Lebedev, A. A., Bychkov, E. R., & Shabanov, P. D. (2021). Expression of the growth hormone secretagogue receptor 1a (GHS-R1a) in the brain. *Physiological Reports*, 9(21), e15113. <https://doi.org/10.14814/phy2.15113>
- Akieda-Asai, S., Ma, H., & Date, Y. (2019). Palmitic acid induces guanylin gene expression through the Toll-like receptor 4/nuclear factor- $\kappa$ B pathway in rat macrophages. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 317(6), C1239–C1246. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00081.2019>
- Al Bander, Z., Nitert, M. D., Mousa, A., & Naderpoor, N. (2020). The Gut Microbiota and Inflammation: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(20), 7618. <https://doi.org/10.3390/ijerph17207618>
- Al Shukor, N., Ravallec, R., Van Camp, J., Raes, K., & Smagghe, G. (2016). Flavonoids stimulate cholecystokinin peptide secretion from the enteroendocrine STC-1 cells. *Fitoterapia*, 113, 128–131. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.07.016>
- Ali Ahmad, M., Karavetian, M., Moubareck, C. A., Wazz, G., Mahdy, T., & Venema, K. (2022). The Association between Peptide Hormones with Obesity and Insulin Resistance Markers in Lean and Obese Individuals in the United Arab Emirates. *Nutrients*, 14(6), 1271. <https://doi.org/10.3390/nu14061271>
- Alnahdi, A., John, A., & Raza, H. (2019). Augmentation of Glucotoxicity, Oxidative Stress, Apoptosis and Mitochondrial Dysfunction in HepG2 Cells by Palmitic Acid. *Nutrients*, 11(9), 1979. <https://doi.org/10.3390/nu11091979>

- Amin, T., & Mercer, J. G. (2016). Hunger and Satiety Mechanisms and Their Potential Exploitation in the Regulation of Food Intake. *Current Obesity Reports*, 5(1), 106–112. <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0184-5>
- Andreoli, M. F., Donato, J., Cakir, I., & Perello, M. (2019). Leptin resensitisation: a reversion of leptin-resistant states. *Journal of Endocrinology*, 241(3), R81–R96. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0606>
- Assini, J. M., Mulvihill, E. E., Burke, A. C., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Chhoker, S. S., Sawyez, C. G., Drangova, M., Adams, A. C., Kharitonov, A., Pin, C. L., & Huff, M. W. (2015). Naringenin Prevents Obesity, Hepatic Steatosis, and Glucose Intolerance in Male Mice Independent of Fibroblast Growth Factor 21. *Endocrinology*, 156(6), 2087–2102. <https://doi.org/10.1210/en.2014-2003>
- Attique, S., Hassan, M., Usman, M., Atif, R., Mahboob, S., Al-Ghanim, K., Bilal, M., & Nawaz, M. (2019). A Molecular Docking Approach to Evaluate the Pharmacological Properties of Natural and Synthetic Treatment Candidates for Use against Hypertension. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(6), 923. <https://doi.org/10.3390/ijerph16060923>
- Auger, C., & Kajimura, S. (2023). Adipose Tissue Remodeling in Pathophysiology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 18(1), 71–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-042220-023633>
- Bai, Y., Peng, W., Yang, C., Zou, W., Liu, M., Wu, H., Fan, L., Li, P., Zeng, X., & Su, W. (2020). Pharmacokinetics and Metabolism of Naringin and Active Metabolite Naringenin in Rats, Dogs, Humans, and the Differences Between Species. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00364>
- Balland, E., Chen, W., Tiganis, T., & Cowley, M. A. (2019). Persistent Leptin Signaling in the Arcuate Nucleus Impairs Hypothalamic Insulin Signaling and Glucose Homeostasis in Obese Mice. *Neuroendocrinology*, 109(4), 374–390. <https://doi.org/10.1159/000500201>
- Balland, E., & Cowley, M. A. (2015). New insights in leptin resistance mechanisms in mice. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 39, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2015.09.004>
- Banerjee, S., & Bhargava, B. L. (2024). Effect of electronegative atoms on  $\pi$  -  $\pi$  stacking and hydrogen bonding behavior in simple aromatic molecules — An Ab initio MD study. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 127, 108693. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2023.108693>

- Beddows, C. A., & Dodd, G. T. (2021). Insulin on the brain: The role of central insulin signalling in energy and glucose homeostasis. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(4). <https://doi.org/10.1111/jne.12947>
- Bellisle, F., Drewnowski, A., Anderson, G. H., Westerterp-Plantenga, M., & Martin, C. K. (2012). Sweetness, Satiety, and Satiety. *The Journal of Nutrition*, 142(6), 1149S-1154S. <https://doi.org/10.3945/jn.111.149583>
- Beutler, L. R., Corpuz, T. V, Ahn, J. S., Kosar, S., Song, W., Chen, Y., & Knight, Z. A. (2020). Obesity causes selective and long-lasting desensitization of AgRP neurons to dietary fat. *ELife*, 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.55909>
- Bhattacharya, S., Oksbjerg, N., Young, J. F., & Jeppesen, P. B. (2014). Caffeic acid, naringenin and quercetin enhance glucose-stimulated insulin secretion and glucose sensitivity in INS-1E cells. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(7), 602–612. <https://doi.org/10.1111/dom.12236>
- Biobaku, F., Ghanim, H., Batra, M., & Dandona, P. (2019). Macronutrient-Mediated Inflammation and Oxidative Stress: Relevance to Insulin Resistance, Obesity, and Atherogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(12), 6118–6128. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01833>
- Boix-Castejón, M., Herranz-López, M., Pérez Gago, A., Olivares-Vicente, M., Caturla, N., Roche, E., & Micol, V. (2018). Hibiscus and lemon verbena polyphenols modulate appetite-related biomarkers in overweight subjects: a randomized controlled trial. *Food & Function*, 9(6), 3173–3184. <https://doi.org/10.1039/c8fo00367j>
- Bortolin, R. C., Vargas, A. R., Gasparotto, J., Chaves, P. R., Schnorr, C. E., Martinello, K. B., Silveira, A. K., Rabelo, T. K., Gelain, D. P., & Moreira, J. C. F. (2018). A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *International Journal of Obesity*, 42(3), 525–534. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.225>
- Briggs, D. I., Enriori, P. J., Lemus, M. B., Cowley, M. A., & Andrews, Z. B. (2010). Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in arcuate NPY/AgRP neurons. *Endocrinology*, 151(10), 4745–4755. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0556>
- Briggs, D. I., Lockie, S. H., Benzler, J., Wu, Q., Stark, R., Reichenbach, A., Hoy, A. J., Lemus, M. B., Coleman, H. A., Parkington, H. C., Tups, A., & Andrews, Z. B. (2014). Evidence That Diet-Induced Hyperleptinemia, but Not Hypothalamic Gliosis,

- Causes Ghrelin Resistance in NPY/AgRP Neurons of Male Mice. *Endocrinology*, 155(7), 2411–2422. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1861>
- Brunt, E. M. (2007). Pathology of fatty liver disease. *Modern Pathology*, 20, S40–S48. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800680>
- Bu, L., Cao, X., Zhang, Z., Wu, H., Guo, R., & Ma, M. (2020). Decreased secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  attenuates macrophages-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Life Sciences*, 244, 117304. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117304>
- Bugianesi, R., Catasta, G., Spigno, P., D'Uva, A., & Maiani, G. (2002). Naringenin from cooked tomato paste is bioavailable in men. *The Journal of Nutrition*, 132(11), 3349–3352. <https://doi.org/10.1093/jn/132.11.3349>
- Burke, A. C., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Morrow, M. R., Sawyez, C. G., Edwards, J. Y., Drangova, M., & Huff, M. W. (2018). Intervention with citrus flavonoids reverses obesity and improves metabolic syndrome and atherosclerosis in obese Ldlr $^{-/-}$  mice. *Journal of Lipid Research*, 59(9), 1714–1728. <https://doi.org/10.1194/jlr.M087387>
- Burke, A. C., Telford, D. E., Edwards, J. Y., Sutherland, B. G., Sawyez, C. G., & Huff, M. W. (2019). Naringenin Supplementation to a Chow Diet Enhances Energy Expenditure and Fatty Acid Oxidation, and Reduces Adiposity in Lean, Pair-Fed Ldlr $^{-/-}$  Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(6), e1800833. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800833>
- Campos-Nonato, I., Galván-Valencia, Ó., Hernández-Barrera, L., Oviedo-Solís, C., & Barquera, S. (2023). Prevalencia de obesidad y factores de riesgo asociados en adultos mexicanos: resultados de la Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65, s238–s247. <https://doi.org/10.21149/14809>
- Capece, D., Verzella, D., Flati, I., Arboretto, P., Cornice, J., & Franzoso, G. (2022). NF- $\kappa$ B: blending metabolism, immunity, and inflammation. *Trends in Immunology*, 43(9), 757–775. <https://doi.org/10.1016/j.it.2022.07.004>
- Cargnin-Carvalho, A., de Mello, A. H., Bressan, J. B., Backes, K. M., Uberti, M. F., Fogaça, J. B., da Rosa Turatti, C., Cavalheiro, E. K. F. F., Vilela, T. C., & Rezin, G. T. (2020). Can fructose influence the development of obesity mediated through hypothalamic alterations? *Journal of Neuroscience Research*, 98(8), 1662–1668. <https://doi.org/10.1002/jnr.24628>
- Castello, F., Fernández-Pachón, M.-S., Cerrillo, I., Escudero-López, B., Ortega, Á., Rosi, A., Bresciani, L., Del Rio, D., & Mena, P. (2020). Absorption, metabolism, and

- excretion of orange juice (poly)phenols in humans: The effect of a controlled alcoholic fermentation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 695, 108627. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108627>
- Cawthon, C. R., & de La Serre, C. B. (2021). The critical role of CCK in the regulation of food intake and diet-induced obesity. *Peptides*, 138, 170492. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170492>
- Cena, H., & Calder, P. C. (2020). Defining a Healthy Diet: Evidence for the Role of Contemporary Dietary Patterns in Health and Disease. *Nutrients*, 12(2), 334. <https://doi.org/10.3390/nu12020334>
- CFR - Code of Federal Regulations Title 21. (2025, January 8). Available Online.
- Choi, H. M., Doss, H. M., & Kim, K. S. (2020). Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1219. <https://doi.org/10.3390/ijms21041219>
- Chooi, Y. C., Ding, C., & Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism*, 92, 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005>
- Christ, A., Lauterbach, M., & Latz, E. (2019). Western Diet and the Immune System: An Inflammatory Connection. *Immunity*, 51(5), 794–811. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.09.020>
- Cifuentes, L., & Acosta, A. (2022). Homeostatic regulation of food intake. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 46(2), 101794. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2021.101794>
- Clemmensen, C., Müller, T. D., Woods, S. C., Berthoud, H.-R., Seeley, R. J., & Tschöp, M. H. (2017). Gut-Brain Cross-Talk in Metabolic Control. *Cell*, 168(5), 758–774. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.025>
- Colley, D. L., & Castonguay, T. W. (2015). Effects of sugar solutions on hypothalamic appetite regulation. *Physiology & Behavior*, 139, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.025>
- Coope, A., Milanski, M., Araújo, E. P., Tambascia, M., Saad, M. J. A., Geloneze, B., & Velloso, L. A. (2008). AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *FEBS Letters*, 582(10), 1471–1476. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.03.037>
- Cui, H., López, M., & Rahmouni, K. (2017). The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(6), 338–351. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.222>

- de Lartigue, G., Barbier de la Serre, C., Espero, E., Lee, J., & Raybould, H. E. (2011). Diet-induced obesity leads to the development of leptin resistance in vagal afferent neurons. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *301*(1), E187–E195. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00056.2011>
- de Lartigue, G., Barbier de la Serre, C., Espero, E., Lee, J., & Raybould, H. E. (2012). Leptin Resistance in Vagal Afferent Neurons Inhibits Cholecystokinin Signaling and Satiety in Diet Induced Obese Rats. *PLoS ONE*, *7*(3), e32967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032967>
- de Moura e Dias, M., dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Sedyama, C. M. N. de O., Pereira, S. S., de Oliveira, L. L., Gouveia Peluzio, M. do C., Martinez, J. A., & Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, *13*(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>
- Desai, A. J., Dong, M., Langlais, B. T., Dueck, A. C., & Miller, L. J. (2017). Cholecystokinin responsiveness varies across the population dependent on metabolic phenotype. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *106*(2), 447–456. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.156943>
- Di Renzo, L., Gualtieri, P., Romano, L., Marrone, G., Noce, A., Pujia, A., Perrone, M. A., Aiello, V., Colica, C., & De Lorenzo, A. (2019). Role of Personalized Nutrition in Chronic-Degenerative Diseases. *Nutrients*, *11*(8), 1707. <https://doi.org/10.3390/nu11081707>
- Ding, L., Fan, Y., Li, H., Zhang, Y., Qi, D., Tang, S., Cui, J., He, Q., Zhuo, C., & Liu, M. (2020). Comparative effectiveness of bariatric surgeries in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: A network meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*, *21*(8). <https://doi.org/10.1111/obr.13030>
- Dodd, G. T., Decherf, S., Loh, K., Simonds, S. E., Wiede, F., Balland, E., Merry, T. L., Münzberg, H., Zhang, Z.-Y., Kahn, B. B., Neel, B. G., Bence, K. K., Andrews, Z. B., Cowley, M. A., & Tiganis, T. (2015). Leptin and Insulin Act on POMC Neurons to Promote the Browning of White Fat. *Cell*, *160*(1–2), 88–104. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.022>
- Donnelly, K. L., Smith, C. I., Schwarzenberg, S. J., Jessurun, J., Boldt, M. D., & Parks, E. J. (2005). Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical Investigation*, *115*(5), 1343–1351. <https://doi.org/10.1172/JCI23621>

- Engin, A. (2017). *Adiponectin-Resistance in Obesity* (pp. 415–441).  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_18)
- Enos, R. T., Davis, J. M., Velázquez, K. T., McClellan, J. L., Day, S. D., Carnevale, K. A., & Murphy, E. A. (2013). Influence of dietary saturated fat content on adiposity, macrophage behavior, inflammation, and metabolism: composition matters. *Journal of Lipid Research*, *54*(1), 152–163. <https://doi.org/10.1194/jlr.M030700>
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and T. of H. B. C. in A. (2001). Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, *285*(19), 2486–2497. <https://doi.org/10.1001/jama.285.19.2486>
- Felgines, C., Texier, O., Morand, C., Manach, C., Scalbert, A., Régerat, F., & Rémésy, C. (2000). Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, *279*(6), G1148-54. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2000.279.6.G1148>
- Feng, B., Harms, J., Patel, N., Ye, H., Luo, P., Irizarry, V. T., Vidrine, J., Coulter, A., Rebello, C. J., Yu, S., Fan, J., Berthoud, H.-R., Greenway, F., Münzberg, H., Morrison, C., Xu, P., & He, Y. (2021). Targeting the T-type calcium channel Cav3.2 in GABAergic arcuate nucleus neurons to treat obesity. *Molecular Metabolism*, *54*, 101391. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101391>
- Fernø, J., Strand, K., Mellgren, G., Stiglund, N., & Björkström, N. K. (2020). Natural Killer Cells as Sensors of Adipose Tissue Stress. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *31*(1), 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.08.011>
- Filippello, A., Di Mauro, S., Scamporrino, A., Torrisi, S. A., Leggio, G. M., Di Pino, A., Scicali, R., Di Marco, M., Malaguarnera, R., Purrello, F., & Piro, S. (2022). Molecular Effects of Chronic Exposure to Palmitate in Intestinal Organoids: A New Model to Study Obesity and Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(14), 7751. <https://doi.org/10.3390/ijms23147751>
- Fizman, S., & Varela, P. (2013). The satiating mechanisms of major food constituents – An aid to rational food design. *Trends in Food Science & Technology*, *32*(1), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.006>
- Gigouj, V., Escriveau, C., Silvente-Poirot, S., Bouisson, M., Vaysse, N., Fourmy, D., Maigret, B., Fehrentz, J., Martinez, J., Moroder, L., & Gully, D. (1999). Arginine 197 of the cholecystokinin-A receptor binding site interacts with the sulfate of the

peptide agonist cholecystokinin. *Protein Science*, 8(11), 2347–2354.  
<https://doi.org/10.1110/ps.8.11.2347>

- González, F., Considine, R. V., Abdelhadi, O. A., & Acton, A. J. (2019). Oxidative Stress in Response to Saturated Fat Ingestion Is Linked to Insulin Resistance and Hyperandrogenism in Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(11), 5360–5371. <https://doi.org/10.1210/jc.2019-00987>
- González, S. (2020). Dietary Bioactive Compounds and Human Health and Disease. *Nutrients*, 12(2), 348. <https://doi.org/10.3390/nu12020348>
- Grill, H. J. (2020). A Role for GLP-1 in Treating Hyperphagia and Obesity. *Endocrinology*, 161(8). <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa093>
- Hallschmid, M., Higgs, S., Thienel, M., Ott, V., & Lehnert, H. (2012). Postprandial administration of intranasal insulin intensifies satiety and reduces intake of palatable snacks in women. *Diabetes*, 61(4), 782–789.  
<https://doi.org/10.2337/db11-1390>
- Hamamah, S., Amin, A., Al-Kassir, A. L., Chuang, J., & Covasa, M. (2023). Dietary Fat Modulation of Gut Microbiota and Impact on Regulatory Pathways Controlling Food Intake. *Nutrients*, 15(15), 3365. <https://doi.org/10.3390/nu15153365>
- Heeren, J., & Scheja, L. (2021). Metabolic-associated fatty liver disease and lipoprotein metabolism. *Molecular Metabolism*, 50, 101238.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101238>
- Herman, M. A., & Birnbaum, M. J. (2021). Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease. *Cell Metabolism*, 33(12), 2329–2354.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.010>
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *New England Journal of Medicine*, 376(3), 254–266.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMra1514009>
- Holá, L., Tureckiová, T., Kuneš, J., Železná, B., & Maletínská, L. (2023). High-Fat Diet Induces Resistance to Ghrelin and LEAP2 Peptide Analogs in Mice. *Physiological Research*, 72(5), 607–619. <https://doi.org/10.33549/physiolres.935189>
- Horiba, T., Nishimura, I., Nakai, Y., Abe, K., & Sato, R. (2010). Naringenin chalcone improves adipocyte functions by enhancing adiponectin production. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 323(2), 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.03.020>

- Hsu, C.-L., Wu, C.-H., Huang, S.-L., & Yen, G.-C. (2009). Phenolic Compounds Rutin and o-Coumaric Acid Ameliorate Obesity Induced by High-Fat Diet in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(2), 425–431. <https://doi.org/10.1021/jf802715t>
- Hua, Y. Q., Zeng, Y., Xu, J., & Xu, X. Le. (2021). Naringenin alleviates nonalcoholic steatohepatitis in middle-aged Apoe<sup>-/-</sup>mice: role of SIRT1. *Phytomedicine*, *81*, 153412. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153412>
- Huang, H.-H., Wang, T.-Y., Yao, S.-F., Lin, P.-Y., Chang, J. C.-Y., Peng, L.-N., Chen, L.-K., & Yen, D. H.-T. (2022). Gastric Mobility and Gastrointestinal Hormones in Older Patients with Sarcopenia. *Nutrients*, *14*(9), 1897. <https://doi.org/10.3390/nu14091897>
- Idrizaj, E., Garella, R., Castellini, G., Francini, F., Ricca, V., Baccari, M. C., & Squecco, R. (2019). Adiponectin Decreases Gastric Smooth Muscle Cell Excitability in Mice. *Frontiers in Physiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01000>
- Idrizaj, E., Garella, R., Squecco, R., & Baccari, M. C. (2020). Can adiponectin have an additional effect on the regulation of food intake by inducing gastric motor changes? *World Journal of Gastroenterology*, *26*(20), 2472–2478. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i20.2472>
- Jang, Y., Kim, S.-W., Oh, J., Hong, G.-S., Seo, E.-K., Oh, U., & Shim, W.-S. (2013). Ghrelin receptor is activated by naringin and naringenin, constituents of a prokinetic agent *Poncirus fructus*. *Journal of Ethnopharmacology*, *148*(2), 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.04.039>
- Jang, Y., Kim, T.-K., & Shim, W.-S. (2013). Naringin Exhibits in vivo Prokinetic Activity via Activation of Ghrelin Receptor in Gastrointestinal Motility Dysfunction Rats. *Pharmacology*, *92*(3–4), 191–197. <https://doi.org/10.1159/000354579>
- Jia, B., Wang, Y., Yu, G., Cheng, Y., Yang, C., Cao, F., He, Y., Cao, P., Meng, X., & Yu, D. (2019). Naringenin ameliorates insulin resistance by modulating endoplasmic reticulum stress in hepatitis C virus-infected liver. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *115*, 108848. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108848>
- Jiao, A., Yu, B., He, J., Yu, J., Zheng, P., Luo, Y., Luo, J., Yan, H., Wang, Q., Wang, H., Mao, X., & Chen, D. (2021). Sodium acetate, propionate, and butyrate reduce fat accumulation in mice via modulating appetite and relevant genes. *Nutrition*, *87–88*, 111198. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111198>
- Jones, E. S., Nunn, N., Chambers, A. P., Østergaard, S., Wulff, B. S., & Luckman, S. M. (2019). Modified Peptide YY Molecule Attenuates the Activity of NPY/AgRP

- Neurons and Reduces Food Intake in Male Mice. *Endocrinology*, 160(11), 2737–2747. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00100>
- Kalinowsky, L., Weber, J., Balasupramaniam, S., Baumann, K., & Proschak, E. (2018). A Diverse Benchmark Based on 3D Matched Molecular Pairs for Validating Scoring Functions. *ACS Omega*, 3(5), 5704–5714. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01194>
- Kanaze, F. I., Bounartzi, M. I., Georgarakis, M., & Niopas, I. (2007). Pharmacokinetics of the citrus flavanone aglycones hesperetin and naringenin after single oral administration in human subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(4), 472–477. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602543>
- Kannappan, S., & Anuradha, C. V. (2010). Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in a dietary model of metabolic syndrome. *European Journal of Nutrition*, 49(2), 101–109. <https://doi.org/10.1007/s00394-009-0054-6>
- Kawai, T., Autieri, M. V., & Scalia, R. (2021). Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 320(3), C375–C391. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00379.2020>
- Ke, J.-Y., Kliewer, K. L., Hamad, E. M., Cole, R. M., Powell, K. A., Andridge, R. R., Straka, S. R., Yee, L. D., & Belury, M. A. (2015). The flavonoid, naringenin, decreases adipose tissue mass and attenuates ovariectomy-associated metabolic disturbances in mice. *Nutrition & Metabolism*, 12(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-12-1>
- Kentish, S. J., Ratcliff, K., Li, H., Wittert, G. A., & Page, A. J. (2015). High fat diet induced changes in gastric vagal afferent response to adiponectin. *Physiology & Behavior*, 152, 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.016>
- Kjaergaard, M., Salinas, C. B. G., Rehfeld, J. F., Secher, A., Raun, K., & Wulff, B. S. (2019). PYY(3-36) and exendin-4 reduce food intake and activate neuronal circuits in a synergistic manner in mice. *Neuropeptides*, 73, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.11.004>
- Kobi, J. B. B. S., Matias, A. M., Gasparini, P. V. F., Torezani-Sales, S., Madureira, A. R., da Silva, D. S., Correa, C. R., Garcia, J. L., Haese, D., Nogueira, B. V., de Assis, A. L. E. M., Lima-Leopoldo, A. P., & Leopoldo, A. S. (2023). High-fat, high-sucrose, and combined high-fat/high-sucrose diets effects in oxidative stress and inflammation in male rats under presence or absence of obesity. *Physiological Reports*, 11(7). <https://doi.org/10.14814/phy2.15635>

- Kochumon, S., Wilson, A., Chandy, B., Shenouda, S., Tuomilehto, J., Sindhu, S., & Ahmad, R. (2018). Palmitate Activates CCL4 Expression in Human Monocytic Cells via TLR4/MyD88 Dependent Activation of NF- $\kappa$ B/MAPK/ PI3K Signaling Systems. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46(3), 953–964. <https://doi.org/10.1159/000488824>
- Koizumi, H., Mohammad, S., Ozaki, T., Muto, K., Matsuba, N., Kim, J., Pan, W., Morioka, E., Mochizuki, T., & Ikeda, M. (2020). Intracellular interplay between cholecystokinin and leptin signalling for satiety control in rats. *Scientific Reports*, 10(1), 12000. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69035-6>
- Kojta, I., Chacińska, M., & Błachnio-Zabielska, A. (2020). Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients*, 12(5), 1305. <https://doi.org/10.3390/nu12051305>
- Kometsi, L., Govender, K., Mofo Mato, E. P., Hurchund, R., & Owira, P. M. O. (2020). By reducing oxidative stress, naringenin mitigates hyperglycaemia-induced upregulation of hepatic nuclear factor erythroid 2-related factor 2 protein. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(10), 1394–1404. <https://doi.org/10.1111/jphp.13319>
- Kowalski, C. W., Lindberg, J. E. M., Fowler, D. K., Simasko, S. M., & Peters, J. H. (2020). Contributing mechanisms underlying desensitization of cholecystokinin-induced activation of primary nodose ganglia neurons. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 318(4), C787–C796. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00192.2019>
- Krieger, J.-P. (2020). Intestinal glucagon-like peptide-1 effects on food intake: Physiological relevance and emerging mechanisms. *Peptides*, 131, 170342. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170342>
- Kullmann, S., Kleinridders, A., Small, D. M., Fritsche, A., Häring, H.-U., Preissl, H., & Heni, M. (2020). Central nervous pathways of insulin action in the control of metabolism and food intake. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(6), 524–534. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30113-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30113-3)
- Kumar, K., Woo, S. M., Siu, T., Cortopassi, W. A., Duarte, F., & Paton, R. S. (2018). Cation- $\pi$  interactions in protein–ligand binding: theory and data-mining reveal different roles for lysine and arginine. *Chemical Science*, 9(10), 2655–2665. <https://doi.org/10.1039/C7SC04905F>
- Lampropoulos, C., Alexandrides, T., Tsochatzis, S., Kehagias, D., & Kehagias, I. (2021). Are the Changes in Gastrointestinal Hormone Secretion Necessary for the

- Success of Bariatric Surgery? A Critical Review of the Literature. *Obesity Surgery*, 31(10), 4575–4584. <https://doi.org/10.1007/s11695-021-05568-7>
- Lee, J., Jang, S., Jeong, H., & Ryu, O.-H. (2020). Validation of the Friedewald formula for estimating low density lipoprotein cholesterol: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey, 2009 to 2011. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 35(1), 150–159. <https://doi.org/10.3904/kjim.2017.233>
- Li, H., Ren, J., Li, Y., Wu, Q., & Wei, J. (2023). Oxidative stress: The nexus of obesity and cognitive dysfunction in diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1134025>
- Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W., & Xu, H. (2022). Trends in insulin resistance: insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01073-0>
- Li, S., Zhang, Y., Sun, Y., Zhang, G., Bai, J., Guo, J., Su, X., Du, H., Cao, X., Yang, J., & Wang, T. (2019). Naringenin improves insulin sensitivity in gestational diabetes mellitus mice through AMPK. *Nutrition & Diabetes*, 9(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41387-019-0095-8>
- Li, X., Zhang, D., Vatner, D. F., Goedeke, L., Hirabara, S. M., Zhang, Y., Perry, R. J., & Shulman, G. I. (2020). Mechanisms by which adiponectin reverses high fat diet-induced insulin resistance in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(51), 32584–32593. <https://doi.org/10.1073/pnas.1922169117>
- Lin, S.-P., Hou, Y.-C., Tsai, S.-Y., Wang, M.-J., & Chao, P.-D. L. (2014). Tissue distribution of naringenin conjugated metabolites following repeated dosing of naringin to rats. *BioMedicine*, 4, 16. <https://doi.org/10.7603/s40681-014-0016-z>
- Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.706978>
- Lindqvist, A., Baelemans, A., & Erlanson-Albertsson, C. (2008a). Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regulatory Peptides*, 150(1–3), 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.06.008>
- Lindqvist, A., Baelemans, A., & Erlanson-Albertsson, C. (2008b). Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regulatory Peptides*, 150(1–3), 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.06.008>
- Liu, H., Du, T., Li, C., & Yang, G. (2021). STAT3 phosphorylation in central leptin resistance. *Nutrition & Metabolism*, 18(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12986-021-00569-w>

- Liu, H., Zhao, H., Che, J., & Yao, W. (2022). Naringenin alleviates obesity-associated hypertension by reducing hyperlipidemia and oxidative stress. *Kidney and Blood Pressure Research*. <https://doi.org/10.1159/000524172>
- Liu, L., Shan, S., Zhang, K., Ning, Z.-Q., Lu, X.-P., & Cheng, Y.-Y. (2008). Naringenin and hesperetin, two flavonoids derived from *Citrus aurantium* up-regulate transcription of adiponectin. *Phytotherapy Research*, *22*(10), 1400–1403. <https://doi.org/10.1002/ptr.2504>
- Liu, Q., Yang, D., Zhuang, Y., Croll, T. I., Cai, X., Dai, A., He, X., Duan, J., Yin, W., Ye, C., Zhou, F., Wu, B., Zhao, Q., Xu, H. E., Wang, M.-W., & Jiang, Y. (2021). Ligand recognition and G-protein coupling selectivity of cholecystokinin A receptor. *Nature Chemical Biology*, *17*(12), 1238–1244. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00841-3>
- Loh, K., Zhang, L., Brandon, A., Wang, Q., Begg, D., Qi, Y., Fu, M., Kulkarni, R., Teo, J., Baldock, P., Brüning, J. C., Cooney, G., Neely, G., & Herzog, H. (2017). Insulin controls food intake and energy balance via NPY neurons. *Molecular Metabolism*, *6*(6), 574–584. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.03.013>
- López-Almada, G., Domínguez-Avila, J. A., Mejía-León, M. E., Robles-Sánchez, M., González-Aguilar, G. A., & Salazar-López, N. J. (2023). Could Naringenin Participate as a Regulator of Obesity and Satiety? *Molecules*, *28*(3), 1450. <https://doi.org/10.3390/molecules28031450>
- Lucas-Abellán, C., Pérez-Abril, M., Castillo, J., Serrano, A., Mercader, M. T., Fortea, M. I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2019). Effect of temperature, pH,  $\beta$ - and HP- $\beta$ -clds on the solubility and stability of flavanones: Naringenin and hesperetin. *LWT*, *108*, 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.059>
- Maniscalco, J. W., Edwards, C. M., & Rinaman, L. (2020). Ghrelin signaling contributes to fasting-induced attenuation of hindbrain neural activation and hypophagic responses to systemic cholecystokinin in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *318*(5), R1014–R1023. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00346.2019>
- McKernan, K., Varghese, M., Patel, R., & Singer, K. (2020). Role of TLR4 in the induction of inflammatory changes in adipocytes and macrophages. *Adipocyte*, *9*(1), 212–222. <https://doi.org/10.1080/21623945.2020.1760674>
- Mesgari-Abbasi, M. (2020a). Serum Concentrations of Cholecystokinin, Peptide YY, Ghrelin and High Sensitive C-Reactive Protein in Association with Metabolic Syndrome Ingredients in Obese Individuals. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, *16*(1), 37–42. <https://doi.org/10.4183/aeb.2020.37>

- Mesgari-Abbasi, M. (2020b). Serum Concentrations of Cholecystokinin, Peptide YY, Ghrelin and High Sensitive C-Reactive Protein in Association with Metabolic Syndrome Ingredients in Obese Individuals. *Acta Endocrinologica (Bucharest)*, 16(1), 37–42. <https://doi.org/10.4183/aeb.2020.37>
- Meslier, V., Laiola, M., Roager, H. M., De Filippis, F., Roume, H., Quinquis, B., Giacco, R., Mennella, I., Ferracane, R., Pons, N., Pasolli, E., Rivellese, A., Dragsted, L. O., Vitaglione, P., Ehrlich, S. D., & Ercolini, D. (2020). Mediterranean diet intervention in overweight and obese subjects lowers plasma cholesterol and causes changes in the gut microbiome and metabolome independently of energy intake. *Gut*, 69(7), 1258–1268. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-320438>
- Mirabelli, M., Misiti, R., Sicilia, L., Brunetti, F. S., Chiefari, E., Brunetti, A., & Foti, D. P. (2024). Hypoxia in Human Obesity: New Insights from Inflammation towards Insulin Resistance—A Narrative Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 9802. <https://doi.org/10.3390/ijms25189802>
- Mohammadi, M., Ramezani-Jolfaie, N., Lorzadeh, E., Khoshbakht, Y., & Salehi-Abargouei, A. (2019). Hesperidin, a major flavonoid in orange juice, might not affect lipid profile and blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Phytotherapy Research*, 33(3), 534–545. <https://doi.org/10.1002/ptr.6264>
- Motallebi, M., Bhia, M., Rajani, H. F., Bhia, I., Tabarraei, H., Mohammadkhani, N., Pereira-Silva, M., Kasaii, M. S., Nouri-Majd, S., Mueller, A.-L., Veiga, F. J. B., Paiva-Santos, A. C., & Shakibaei, M. (2022). Naringenin: A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy. *Life Sciences*, 305, 120752. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120752>
- Mulvihill, E. E., Allister, E. M., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Sawyez, C. G., Edwards, J. Y., Markle, J. M., Hegele, R. A., & Huff, M. W. (2009). Naringenin prevents dyslipidemia, apolipoprotein B overproduction, and hyperinsulinemia in LDL receptor-null mice with diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 58(10), 2198–2210. <https://doi.org/10.2337/db09-0634>
- Murray, M., Selby-Pham, S., Colton, B.-L., Bennett, L., Williamson, G., & Dordevic, A. L. (2021). Does timing of phytonutrient intake influence the suppression of postprandial oxidative stress? A systematic literature review. *Redox Biology*, 46, 102123. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102123>
- Nakhate, K. T., Subhedar, N. K., & Kokare, D. M. (2019). Involvement of neuropeptide CART in the central effects of insulin on feeding and body weight. *Pharmacology*

- Biochemistry and Behavior*, 181, 101–109.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.05.001>
- Nani, A., Murtaza, B., Sayed Khan, A., Khan, N. A., & Hichami, A. (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Polyphenols Contained in Mediterranean Diet in Obesity: Molecular Mechanisms. *Molecules*, 26(4), 985.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26040985>
- Narayanaswami, V., & Dwoskin, L. P. (2017). Obesity: Current and potential pharmacotherapeutics and targets. *Pharmacology & Therapeutics*, 170, 116–147.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.10.015>
- Naznin, F., Toshinai, K., Waise, T. M. Z., Okada, T., Sakoda, H., & Nakazato, M. (2018). Restoration of metabolic inflammation-related ghrelin resistance by weight loss. *Journal of Molecular Endocrinology*, 60(2), 109–118.  
<https://doi.org/10.1530/JME-17-0192>
- Ndzibongwana, S., Ngobese, S., Sayed, A., Shongwe, C., White-Phillips, S., & Joubert, J. (2019). Structural Analysis, Molecular Modelling and Preliminary Competition Binding Studies of AM-DAN as a NMDA Receptor PCP-Site Fluorescent Ligand. *Molecules*, 24(22), 4092. <https://doi.org/10.3390/molecules24224092>
- Nguyen-Ngo, C., Willcox, J. C., & Lappas, M. (2019). Anti-Diabetic, Anti-Inflammatory, and Anti-Oxidant Effects of Naringenin in an In Vitro Human Model and an In Vivo Murine Model of Gestational Diabetes Mellitus. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(19), 1900224. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900224>
- Nicolaidis, S. (2019). Environment and obesity. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 100S, 153942. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.07.006>
- Page, A. J., Christie, S., Symonds, E., & Li, H. (2020). Circadian regulation of appetite and time restricted feeding. *Physiology & Behavior*, 220, 112873.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112873>
- Park, C. H., Nam, S.-J., Choi, H. S., Kim, K. O., Kim, D. H., Kim, J.-W., Sohn, W., Yoon, J. H., Jung, S. H., Hyun, Y. S., & Lee, H. L. (2019). Comparative Efficacy of Bariatric Surgery in the Treatment of Morbid Obesity and Diabetes Mellitus: a Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Obesity Surgery*, 29(7), 2180–2190. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-03831-6>
- Park, M., Kim, K., Lee, Y. M., Rhyu, M. R., & Kim, H. Y. (2014). Naringenin stimulates cholecystokinin secretion in STC-1 cells. *Nutrition Research and Practice*, 8(2), 146. <https://doi.org/10.4162/nrp.2014.8.2.146>

- Pathak, V., Flatt, P. R., & Irwin, N. (2018). Cholecystokinin (CCK) and related adjunct peptide therapies for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Peptides*, *100*, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.09.007>
- Perelló, M., Cornejo, M. P., De Francesco, P. N., Fernandez, G., Gautron, L., & Valdivia, L. S. (2022). The controversial role of the vagus nerve in mediating ghrelin's actions: gut feelings and beyond. *IBRO Neuroscience Reports*, *12*, 228–239. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2022.03.003>
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, *25*(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Pineda, E., Brunner, E. J., Llewellyn, C. H., & Mindell, J. S. (2021). The retail food environment and its association with body mass index in Mexico. *International Journal of Obesity*, *45*(6), 1215–1228. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00760-2>
- Preguiça, I., Alves, A., Nunes, S., Fernandes, R., Gomes, P., Viana, S. D., & Reis, F. (2020). Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders—A guide to a translational perspective. *Obesity Reviews*, *21*(12). <https://doi.org/10.1111/obr.13081>
- Prospective Studies Collaboration. (2009). Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *The Lancet*, *373*(9669), 1083–1096. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60318-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60318-4)
- Qi, Y., Takahashi, N., Hileman, S. M., Patel, H. R., Berg, A. H., Pajvani, U. B., Scherer, P. E., & Ahima, R. S. (2004). Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nature Medicine*, *10*(5), 524–529. <https://doi.org/10.1038/nm1029>
- Qiu, J., Wagner, E. J., Rønnekleiv, O. K., & Kelly, M. J. (2018). Insulin and leptin excite anorexigenic pro-opiomelanocortin neurones via activation of TRPC5 channels. *Journal of Neuroendocrinology*, *30*(2), e12501. <https://doi.org/10.1111/jne.12501>
- Rakhra, V., Galappaththy, S. L., Bulchandani, S., & Cabandugama, P. K. (2020). Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Missouri Medicine*, *117*(6), 536–538. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33311784>
- Rebello, C. J., Greenway, F. L., Lau, F. H., Lin, Y., Stephens, J. M., Johnson, W. D., & Coulter, A. A. (2019). Naringenin Promotes Thermogenic Gene Expression in Human White Adipose Tissue. *Obesity*, *27*(1), 103–111. <https://doi.org/10.1002/oby.22352>

- Rehfeld, J. F. (2016). *The Endocrine Gut* (pp. 1–15). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-27318-1\\_19-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-27318-1_19-1)
- Rehfeld, J. F. (2020). Measurement of cholecystokinin in plasma with reference to nutrition related obesity studies. *Nutrition Research*, *76*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.01.003>
- Reichardt, F., Chassaing, B., Nezami, B. G., Li, G., Tabatabavakili, S., Mwangi, S., Uppal, K., Liang, B., Vijay-Kumar, M., Jones, D., Gewirtz, A. T., & Srinivasan, S. (2017). Western diet induces colonic nitrergic myenteric neuropathy and dysmotility in mice via saturated fatty acid- and lipopolysaccharide-induced TLR4 signalling. *The Journal of Physiology*, *595*(5), 1831–1846. <https://doi.org/10.1113/JP273269>
- Reynolds, A. N., Akerman, A. P., & Mann, J. (2020). Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses. *PLOS Medicine*, *17*(3), e1003053. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003053>
- Rhea, E. M., Rask-Madsen, C., & Banks, W. A. (2018). Insulin transport across the blood-brain barrier can occur independently of the insulin receptor. *The Journal of Physiology*, *596*(19), 4753–4765. <https://doi.org/10.1113/JP276149>
- Rienks, J., Barbaresko, J., Oluwagbemigun, K., Schmid, M., & Nöthlings, U. (2018). Polyphenol exposure and risk of type 2 diabetes: dose-response meta-analyses and systematic review of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *108*(1), 49–61. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy083>
- Rinde, M., Kupferschmidt, N., Iqbal, M. N., Robert-Nicoud, G., Johnston, E. V., Lindgren, M., & Bengtsson, T. (2020). Mesoporous Silica with Precisely Controlled Pores Reduces Food Efficiency and Suppresses Weight Gain in Mice. *Nanomedicine*, *15*(2), 131–144. <https://doi.org/10.2217/nnm-2019-0262>
- Rodríguez-Pérez, C., Segura-Carretero, A., & del Mar Contreras, M. (2019). Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(8), 1212–1229. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1399859>
- Roh, E., & Choi, K. M. (2023). Hormonal Gut–Brain Signaling for the Treatment of Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3384. <https://doi.org/10.3390/ijms24043384>
- Romaní-Pérez, M., Bullich-Vilarrubias, C., López-Almela, I., Liébana-García, R., Olivares, M., & Sanz, Y. (2021). The Microbiota and the Gut–Brain Axis in Controlling Food Intake and Energy Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 5830. <https://doi.org/10.3390/ijms22115830>

- Ruiz-Canizales, J., Domínguez-Avila, J. A., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., González-Córdova, A. F., Vallejo-Córdoba, B., Salazar-López, N. J., & González-Aguilar, G. A. (2019). Fiber and phenolic compounds contribution to the hepatoprotective effects of mango diets in rats fed high cholesterol/sodium cholate. *Phytotherapy Research*, 33(11), 2996–3007. <https://doi.org/10.1002/ptr.6479>
- Rytka, J. M., Wueest, S., Schoenle, E. J., & Konrad, D. (2011). The Portal Theory Supported by Venous Drainage–Selective Fat Transplantation. *Diabetes*, 60(1), 56–63. <https://doi.org/10.2337/db10-0697>
- Sadžak, A., Brkljača, Z., Eraković, M., Kriechbaum, M., Maltar-Strmečki, N., Přebyl, J., & Šegota, S. (2023). Puncturing lipid membranes: onset of pore formation and the role of hydrogen bonding in the presence of flavonoids. *Journal of Lipid Research*, 64(10), 100430. <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2023.100430>
- Sahin, İ., Aydin, S., Ozkan, Y., Dagli, A. F., Akin, K. O., Guzel, S. P., Catak, Z., & Ozercan, M. R. (2011). Diet-induced obesity suppresses ghrelin in rat gastrointestinal tract and serum. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 355(1–2), 299–308. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0867-5>
- Saini, R. K., Ranjit, A., Sharma, K., Prasad, P., Shang, X., Gowda, K. G. M., & Keum, Y.-S. (2022). Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes. *Antioxidants*, 11(2), 239. <https://doi.org/10.3390/antiox11020239>
- Salazar-López, N. J., Astiazarán-García, H., González-Aguilar, G. A., Loarca-Piña, G., Ezquerra-Brauer, J.-M., Domínguez Avila, J. A., & Robles-Sánchez, M. (2017). Ferulic Acid on Glucose Dysregulation, Dyslipidemia, and Inflammation in Diet-Induced Obese Rats: An Integrated Study. *Nutrients*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/nu9070675>
- Schwingshackl, L., & Hoffmann, G. (2014). Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, 24(9), 929–939. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.03.003>
- Shabalala, S. C., Dlodla, P. V., Mabasa, L., Kappo, A. P., Basson, A. K., Pheiffer, C., & Johnson, R. (2020). The effect of adiponectin in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the potential role of polyphenols in the modulation of adiponectin signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110785. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110785>

- Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 383, 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
- Smith, G. I., Shankaran, M., Yoshino, M., Schweitzer, G. G., Chondronikola, M., Beals, J. W., Okunade, A. L., Patterson, B. W., Nyangau, E., Field, T., Sirlin, C. B., Talukdar, S., Hellerstein, M. K., & Klein, S. (2020). Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical Investigation*, 130(3), 1453–1460. <https://doi.org/10.1172/JCI134165>
- Smith, K. R., & Moran, T. H. (2021). Gastrointestinal peptides in eating-related disorders. *Physiology & Behavior*, 238, 113456. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113456>
- Soltana, H., De Rosso, M., Lazreg, H., Vedova, A. D., Hammami, M., & Flamini, R. (2018). LC-QTOF characterization of non-anthocyanic flavonoids in four Tunisian fig varieties. *Journal of Mass Spectrometry*, 53(9), 817–823. <https://doi.org/10.1002/jms.4209>
- Sordon, S., Popłoński, J., Milczarek, M., Stachowicz, M., Tronina, T., Kucharska, A. Z., Wietrzyk, J., & Huszcza, E. (2019). Structure–Antioxidant–Antiproliferative Activity Relationships of Natural C7 and C7–C8 Hydroxylated Flavones and Flavanones. *Antioxidants*, 8(7), 210. <https://doi.org/10.3390/antiox8070210>
- Spigoni, V., Mena, P., Fantuzzi, F., Tassotti, M., Brighenti, F., Bonadonna, R., Del Rio, D., & Dei Cas, A. (2017). Bioavailability of Bergamot (Citrus bergamia) Flavanones and Biological Activity of Their Circulating Metabolites in Human Pro-Angiogenic Cells. *Nutrients*, 9(12), 1328. <https://doi.org/10.3390/nu9121328>
- Steinert, R. E., Feinle-Bisset, C., Asarian, L., Horowitz, M., Beglinger, C., & Geary, N. (2017). Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3–36): Secretory Controls and Physiological Roles in Eating and Glycemia in Health, Obesity, and After RYGB. *Physiological Reviews*, 97(1), 411–463. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2014>
- Su, X., Cheng, Y., Zhang, G., & Wang, B. (2021). Novel insights into the pathological mechanisms of metabolic related dyslipidemia. *Molecular Biology Reports*, 48(7), 5675–5687. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06529-0>
- Suárez-Cuenca, J. A., De La Peña-Sosa, G., De La Vega-Moreno, K., Banderas-Lares, D. Z., Salamanca-García, M., Martínez-Hernández, J. E., Vera-Gómez, E., Hernández-Patricio, A., Zamora-Alemán, C. R., Domínguez-Pérez, G. A., Ruíz-Hernández, A. S., Gutiérrez-Buendía, J. A., Melchor-López, A., Ortíz-Fernández,

- M., Montoya-Ramírez, J., Gaytán-Fuentes, O. F., Toríz-Ortíz, A., Osorio-Valero, M., Orozco-Vázquez, J., ... Mondragón-Terán, P. (2021). Enlarged adipocytes from subcutaneous vs. visceral adipose tissue differentially contribute to metabolic dysfunction and atherogenic risk of patients with obesity. *Scientific Reports*, 11(1), 1831. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81289-2>
- Sun, J., Gao, Y., Yao, T., Huang, Y., He, Z., Kong, X., Yu, K., Wang, R., Guo, H., Yan, J., Chang, Y., Chen, H., Scherer, P. E., Liu, T., & Williams, K. W. (2016). Adiponectin potentiates the acute effects of leptin in arcuate Pomc neurons. *Molecular Metabolism*, 5(10), 882–891. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.08.007>
- Sun, K., Li, X., & Scherer, P. E. (2023). Extracellular Matrix (ECM) and Fibrosis in Adipose Tissue: Overview and Perspectives. In *Comprehensive Physiology* (pp. 4387–4407). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c220020>
- Tamer, F., Ulug, E., Akyol, A., & Nergiz-Unal, R. (2020). The potential efficacy of dietary fatty acids and fructose induced inflammation and oxidative stress on the insulin signaling and fat accumulation in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110914. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110914>
- Tanaka, M. (2020). Molecular mechanism of obesity-induced adipose tissue inflammation; the role of Mincle in adipose tissue fibrosis and ectopic lipid accumulation. *Endocrine Journal*, 67(2), 107–111. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ19-0417>
- Tanida, M., Iwasaki, Y., & Yamamoto, N. (2019). Central Injection of Leptin Increases Sympathetic Nerve Outflows to the Stomach and Spleen in Anesthetized Rats. *In Vivo*, 33(6), 1827–1832. <https://doi.org/10.21873/invivo.11675>
- Thone-Reineke, C., Kalk, P., Dorn, M., Klaus, S., Simon, K., Pfab, T., Godes, M., Persson, P., Unger, T., & Hocher, B. (2006). High-protein nutrition during pregnancy and lactation programs blood pressure, food efficiency, and body weight of the offspring in a sex-dependent manner. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 291(4), R1025–R1030. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00898.2005>
- Truzzi, F., Tibaldi, C., Zhang, Y., Dinelli, G., & D'Amen, E. (2021). An Overview on Dietary Polyphenols and Their Biopharmaceutical Classification System (BCS). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5514. <https://doi.org/10.3390/ijms22115514>

- Tschöp, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., Devanarayan, V., Ravussin, E., & Heiman, M. L. (2001). Circulating Ghrelin Levels Are Decreased in Human Obesity. *Diabetes*, *50*(4), 707–709. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.4.707>
- Tseng, Y.-H. (2023). Adipose tissue in communication: within and without. *Nature Reviews Endocrinology*, *19*(2), 70–71. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00789-x>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, *25*(22), 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
- van der Heijden, R. A., Sheedfar, F., Morrison, M. C., Hommelberg, P. P., Kor, D., Kloosterhuis, N. J., Gruben, N., Youssef, S. A., de Bruin, A., Hofker, M. H., Kleemann, R., Koonen, D. P., & Heeringa, P. (2015). High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging*, *7*(4), 256–268. <https://doi.org/10.18632/aging.100738>
- Vana, V., Lærke, M. K., Kleberg, K., Mroz, P. A., Lindberg, B. L., Ekberg, J. H., Rehfeld, J. F., Schwartz, T. W., & Hansen, H. S. (2021). Post-oral fat-induced satiation is mediated by endogenous CCK and GLP-1 in a fat self-administration mouse model. *Physiology & Behavior*, *234*, 113315. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113315>
- Vekic, J., Zeljkovic, A., Stefanovic, A., Jelic-Ivanovic, Z., & Spasojevic-Kalimanovska, V. (2019). Obesity and dyslipidemia. *Metabolism*, *92*, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.005>
- Vilar, S., Cozza, G., & Moro, S. (2008). Medicinal Chemistry and the Molecular Operating Environment (MOE): Application of QSAR and Molecular Docking to Drug Discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *8*(18), 1555–1572. <https://doi.org/10.2174/156802608786786624>
- Vohra, M. S., Benchoula, K., Serpell, C. J., & Hwa, W. E. (2022). AgRP/NPY and POMC neurons in the arcuate nucleus and their potential role in treatment of obesity. *European Journal of Pharmacology*, *915*, 174611. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174611>
- Voruganti, V. S. (2023). Precision Nutrition: Recent Advances in Obesity. *Physiology*, *38*(1), 42–50. <https://doi.org/10.1152/physiol.00014.2022>
- Wali, P., King, J., He, Z., Tonb, D., & Horvath, K. (2014). Ghrelin and Obestatin Levels in Children With Failure to Thrive and Obesity. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *58*(3), 376–381. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000223>

- Wang, X., Chen, Q., Pu, H., Wei, Q., Duan, M., Zhang, C., Jiang, T., Shou, X., Zhang, J., & Yang, Y. (2016). Adiponectin improves NF- $\kappa$ B-mediated inflammation and abates atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice. *Lipids in Health and Disease*, 15, 33. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0202-y>
- Wang, Y., Wu, Q., Zhou, Q., Chen, Y., Lei, X., Chen, Y., & Chen, Q. (2022). Circulating acyl and des-acyl ghrelin levels in obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 2679. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06636-3>
- Ward, Z. J., Bleich, S. N., Cradock, A. L., Barrett, J. L., Giles, C. M., Flax, C., Long, M. W., & Gortmaker, S. L. (2019). Projected U.S. State-Level Prevalence of Adult Obesity and Severe Obesity. *New England Journal of Medicine*, 381(25), 2440–2450. <https://doi.org/10.1056/NEJMsa1909301>
- WHO. (2021, June 9). *Obesity and overweight*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- WHO. (2024). *Noncommunicable diseases*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Wiegand, T., Malär, A. A., Cadalbert, R., Ernst, M., Böckmann, A., & Meier, B. H. (2020). Asparagine and Glutamine Side-Chains and Ladders in HET-s(218–289) Amyloid Fibrils Studied by Fast Magic-Angle Spinning NMR. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.582033>
- Witjaksono, F., Simadibrata, M., Lukito, W., Wijaya, A., & Nurwidya, F. (2019). Profiles of peptide YY and ghrelin, levels of hunger and satiety, and ad libitum intake in obese and non-obese Indonesian women. *Romanian Journal of Internal Medicine*, 57(1), 15–22. <https://doi.org/10.2478/rjim-2018-0027>
- Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B. B., & Kadowaki, T. (2002). Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 8(11), 1288–1295. <https://doi.org/10.1038/nm788>
- Yasrebi, A., Hsieh, A., Mamounis, K. J., Krumm, E. A., Yang, J. A., Magby, J., Hu, P., & Roepke, T. A. (2016). Differential gene regulation of GHSR signaling pathway in the arcuate nucleus and NPY neurons by fasting, diet-induced obesity, and 17 $\beta$ -estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 422, 42–56. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.11.007>

- Yu, H., Chhabra, K. H., Thompson, Z., Jones, G. L., Kiran, S., Shangguan, G., & Low, M. J. (2020). Hypothalamic POMC deficiency increases circulating adiponectin despite obesity. *Molecular Metabolism*, *35*, 100957. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.01.021>
- Yue, X., Wen, S., Long-kun, D., Man, Y., Chang, S., Min, Z., Shuang-yu, L., Xin, Q., Jie, M., & Liang, W. (2022). Three important short-chain fatty acids (SCFAs) attenuate the inflammatory response induced by 5-FU and maintain the integrity of intestinal mucosal tight junction. *BMC Immunology*, *23*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12865-022-00495-3>
- Zhang, M., & Zhu, X. (2020). Computational investigation of flavonol-based GLP-1R agonists using DFT calculations and molecular docking. *Computational and Theoretical Chemistry*, *1190*, 113005. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2020.113005>
- Zhang, S., Zhang, Q., Zhang, L., Li, C., & Jiang, H. (2013). Expression of ghrelin and leptin during the development of type 2 diabetes mellitus in a rat model. *Molecular Medicine Reports*, *7*(1), 223–228. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1154>
- Zhang, Y., Li, X., Huang, G., Wang, H., Chen, H., Su, Y., Yu, K., & Zhu, W. (2022). Propionate stimulates the secretion of satiety hormones and reduces acute appetite in a cecal fistula pig model. *Animal Nutrition*, *10*, 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.06.003>
- Zigman, J. M., Bouret, S. G., & Andrews, Z. B. (2016). Obesity Impairs the Action of the Neuroendocrine Ghrelin System. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, *27*(1), 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.09.010>
- Zwartjes, M. S. Z., Gerdes, V. E. A., & Nieuwdorp, M. (2021). The Role of Gut Microbiota and Its Produced Metabolites in Obesity, Dyslipidemia, Adipocyte Dysfunction, and Its Interventions. *Metabolites*, *11*(8), 531. <https://doi.org/10.3390/metabo11080531>

# 11. ANEXOS: PRODUCTOS

## ANEXO 1. Artículo original (2025)



Article

### Naringenin Decreases Retroperitoneal Adiposity and Improves Metabolic Parameters in a Rat Model of Western Diet-Induced Obesity

Gabriela López-Almada <sup>1</sup>, J. Abraham Domínguez-Avila <sup>2</sup>, Rosario Maribel Robles-Sánchez <sup>3</sup>, Jonathan Arauz-Cabrera <sup>1</sup>, Gustavo Martínez-Coronilla <sup>1</sup>, Gustavo A. González-Aguilar <sup>4</sup> and Norma Julieta Salazar-López <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Facultad de Medicina de Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Dr. Humberto Torres Sanginés, Centro Cívico, Mexicali 21000, BCN, Mexico; gabriela.lopez.almada@uabc.edu.mx (G.L.-A.)
- <sup>2</sup> SECIHTI—Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Col. La Victoria, Hermosillo 83304, SO, Mexico; abrahamdominguez9@gmail.com
- <sup>3</sup> Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales, Col. Centro, Hermosillo 83000, SO, Mexico
- <sup>4</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Col. La Victoria, Hermosillo 83304, SO, Mexico
- \* Correspondence: njulietas@yahoo.es; Tel.: +52-686-5571622 (ext. 45335)

**Abstract: Background:** Obesity is a multifactorial disease with detrimental effects on health and quality of life; unregulated satiety plays a crucial role in food intake and obesity development. Naringenin (NAR) has shown beneficial effects on lipid and carbohydrate metabolism, although its impact on adiposity and satiety remains unclear. This study reports a Western diet (WD)-induced obesity model in rats, wherein 100 mg/kg of NAR was administered as an anti-obesity agent for 8 weeks; oxidative stress, lipid profile, and satiety biomarkers were then studied, as well as in silico interaction between NAR and cholecystokinin (CCK) and ghrelin receptors. **Results:** NAR supplementation resulted in a significant decrease in retroperitoneal adipose tissue and liver weight, as compared to the untreated WD group ( $p < 0.05$ ), potentially associated with a decreased feed efficiency. NAR also inhibited the development of dyslipidemia, particularly by reducing serum triglycerides ( $p < 0.05$ ). NAR supplementation increased CCK serum levels in the basal diet group, an effect that was abolished by the WD ( $p < 0.05$ ); likewise, no changes were determined on ghrelin ( $p > 0.05$ ). In silico data shows that NAR is capable of interacting with the CCK and ghrelin receptors, which suggests a potential for it to modulate hunger/satiety signaling by interacting with them. **Conclusions:** We conclude that NAR has anti-obesogenic effects and may regulate CCK serum levels, although further research is still needed.

**Keywords:** phenolic compounds; hunger; satiety; cholecystokinin; ghrelin; obesity; high-fat diet



Academic Editor: Takayuki Masaki

Received: 11 January 2025

Revised: 4 February 2025

Accepted: 6 February 2025

Published: 8 February 2025

**Citation:** López-Almada, G.; Domínguez-Avila, J.A.; Robles-Sánchez, R.M.; Arauz-Cabrera, J.; Martínez-Coronilla, G.; González-Aguilar, G.A.; Salazar-López, N.J. Naringenin Decreases Retroperitoneal Adiposity and Improves Metabolic Parameters in a Rat Model of Western Diet-Induced Obesity. *Metabolites* 2025, 15, 109. <https://doi.org/10.3390/metabo1502109>

**Copyright:** © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

Obesity is a major global health problem that results from complex interactions between multiple factors. One of the main lifestyle factors is poor dietary habits, which often leads to hyperphagia and, alongside low physical activity, results in a positive caloric imbalance that manifests in excessive accumulation and dysfunction of adipose tissue [1]. Adipose tissue secretes a variety of molecules that regulate and participate in multiple signaling pathways, thereby acting as an endocrine gland. When it suffers hypertrophy in the



*metabolites*

an Open Access Journal by MDPI

IMPACT  
FACTOR  
3.5

Indexed in:  
PubMed

CITESCORE  
5.7

## CERTIFICATE OF ACCEPTANCE



The certificate of acceptance for the manuscript (**metabolites-3447288**) titled:  
Naringenin decreases retroperitoneal adiposity and improves metabolic parameters in a rat model of  
Western diet-induced obesity

Authored by:

Gabriela López-Almada; J. Abraham Domínguez-Avila; Rosario Maribel Robles-Sánchez; Jonathan Arauz-  
Cabrera; Gustavo Martínez-Coronilla; Gustavo A. González-Aguilar;  
Norma Julieta Salazar-López

was accepted in *Metabolites* (ISSN 2218-1989) on 06 February 2025



Basel, February 2025

Stefan Tochev  
Chief Executive Officer

## ANEXO 2. Artículo de revisión (2023)

Review

### Could Naringenin Participate as a Regulator of Obesity and Satiety?

Gabriela López-Almada <sup>1</sup>, J. Abraham Domínguez-Avila <sup>2</sup>, María Esther Mejía-León <sup>1</sup>,  
Maribel Robles-Sánchez <sup>3</sup>, Gustavo A. González-Aguilar <sup>4</sup> and Norma Julieta Salazar-López <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Facultad de Medicina de Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Dr. Humberto Torres Sanginés S/N, Centro Cívico, Mexicali 21000, BN, Mexico
  - <sup>2</sup> CONACYT—Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Col. La Victoria, Hermosillo 83304, SO, Mexico
  - <sup>3</sup> Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales, Col. Centro, Hermosillo 83000, SO, Mexico
  - <sup>4</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46, Col. La Victoria, Hermosillo 83304, SO, Mexico
- \* Correspondence: njulietasl@yahoo.es; Tel.: +52-686-5571622

**Abstract:** Obesity is a serious health problem worldwide, since it is associated with multiple metabolic disorders and complications such as cardiovascular disease, type 2 diabetes, fatty liver disease and overall metabolic dysfunction. Dysregulation of the hunger–satiety pathway, which includes alterations of central and peripheral signaling, explains some forms of obesity by favoring hyperphagia and weight gain. The present work comprehensively summarizes the mechanisms by which naringenin (NAR), a predominant flavanone in citrus fruits, could modulate the main pathways associated with the development of obesity and some of its comorbidities, such as oxidative stress (OS), inflammation, insulin resistance (IR) and dyslipidemia, as well as the role of NAR in modulating the secretion of enterohormones of the satiety pathway and its possible antiobesogenic effect. The results of multiple in vitro and in vivo studies have shown that NAR has various potentially modulatory biological effects against obesity by countering IR, inflammation, OS, macrophage infiltration, dyslipidemia, hepatic steatosis, and adipose deposition. Likewise, NAR is capable of modulating peptides or peripheral hormones directly associated with the hunger–satiety pathway, such as ghrelin, cholecystokinin, insulin, adiponectin and leptin. The evidence supports the use of NAR as a promising alternative to prevent overweight and obesity.

**Keywords:** overweight; satiety; naringenin; enterohormones; dyslipidemia; phenolic compounds



**Citation:** López-Almada, G.;

Domínguez-Avila, J.A.; Mejía-León,

M.E.; Robles-Sánchez, M.;

González-Aguilar, G.A.;

Salazar-López, N.J. Could

Naringenin Participate as a Regulator

of Obesity and Satiety? *Molecules*

2023, 28, 1450. [https://doi.org/](https://doi.org/10.3390/molecules28031450)

10.3390/molecules28031450

Academic Editor: Weidong Xie

Received: 11 December 2022

Revised: 26 January 2023

Accepted: 31 January 2023

Published: 2 February 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article

distributed under the terms and

conditions of the Creative Commons

Attribution (CC BY) license ([https://](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

[creativecommons.org/licenses/by/](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

4.0/).

#### 1. Introduction

Approximately one third of the world's population is currently classified as overweight or obese [1]. The World Health Organization (WHO) defines obesity according to a body mass index (BMI)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> and an abnormal or excessive accumulation of adipose tissue, which can be detrimental to health due to its association with multiple metabolic disorders [2]. Abdominal obesity is an important risk factor for the development of metabolic syndrome (MetS) which, through hypertension, hyperglycemia and dyslipidemia, increases the risk of cardiometabolic complications such as cardiovascular disease, type 2 diabetes mellitus (T2DM) and metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) [3].

The causes of obesity are complex and multifactorial, and include unbalanced caloric intake, environmental factors, reduced physical activity and genetic factors, among many others [4]. Improperly regulated pathways of hunger and satiety are particularly highlighted, a condition that leads to hyperphagia and long-term positive energy balance that culminates in weight gain and obesity [5].



**molecules**

an Open Access Journal by MDPI



# CERTIFICATE OF PUBLICATION



Certificate of publication for the article titled:

Could Naringenin Participate as a Regulator of Obesity and Satiety?

Authored by:

Gabriela López-Almada; J. Abraham Domínguez-Avila; María Esther Mejía-León; Maribel Robles-Sánchez;  
Gustavo A. González-Aguilar; Norma Julieta Salazar-López

Published in:

*Molecules* **2023**, Volume 28, Issue 3, 1450



Academic Open Access Publishing  
since 1996

Basel, February 2023

## ANEXO 3. Artículo de revisión (2022)

### Abordaje preventivo en la enfermedad por hígado graso no alcohólico

GABRIELA LÓPEZ-ALMADA<sup>1</sup>, J. ABRAHAM DOMÍNGUEZ-AVILA<sup>2</sup>, GUSTAVO A. GONZÁLEZ-AGUILAR<sup>3</sup>, MARIA ESTHER MEJÍA-LEÓN<sup>4</sup>, NORMA J. SALAZAR LÓPEZ<sup>5</sup>

#### RESUMEN

**La obesidad es actualmente un problema de salud pública a nivel mundial. Ésta se caracteriza por afectar a múltiples órganos, entre ellos el hígado, desarrollándose enfermedades como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA), la cual predispone al desarrollo de carcinoma hepatocelular. En esta revisión se discute la asociación entre la obesidad y la EHGNA, enfatizando un abordaje preventivo y de intervención en etapas tempranas de la enfermedad, así como los potenciales efectos de algunos compuestos bioactivos presentes en la dieta. Al respecto es recomendable centrar la intervención en mejorar el IMC, a través de un programa de actividad física, educación nutricional y de salud, y cambios en los patrones dietéticos. La inclusión de alimentos ricos en compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos, fibra y vitaminas pueden proveer de un efecto antioxidante, antiinflamatorio y anti-obesogénico que podrían obstaculizar la progresión de la EHGNA, y otras comorbilidades y complicaciones.**

**Palabras clave:** obesidad, salud pública, compuestos bioactivos, hígado graso no alcohólico, prevención primaria

<sup>1</sup>Maestría, Facultad de Medicina de Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México.

[gabriela.lopez.almada@uabc.edu.mx](mailto:gabriela.lopez.almada@uabc.edu.mx), ORCID: 0000-0002-4564-661X

<sup>2</sup>Doctorado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Hermosillo, Sonora, México. [abrahamdominguez9@gmail.com](mailto:abrahamdominguez9@gmail.com), ORCID: 0000-0001-6220-1623.

<sup>3</sup>Doctorado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Hermosillo, Sonora, México. [gustavo@ciad.mx](mailto:gustavo@ciad.mx), ORCID: 0000-0002-7452-286X

<sup>4</sup>Doctorado, Facultad de Medicina de Mexicali, Mexicali, Baja California, México. [esther.mejia86@uabc.edu.mx](mailto:esther.mejia86@uabc.edu.mx), ORCID: 0000-0003-3387-4858

<sup>5</sup>Doctorado, Facultad de Medicina de Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México.

[norma.salazar@uabc.edu.mx](mailto:norma.salazar@uabc.edu.mx), ORCID: 0000-0002-8597-3455

**Autor de correspondencia:** Norma J. Salazar-López, [norma.salazar@uabc.edu.mx](mailto:norma.salazar@uabc.edu.mx)

**Recibido:** 15 / 10 / 2022

**Aceptado:** 17 / 02 / 2022

**Publicado:** 21 / 04 / 2022

#### Cómo citar este artículo:

LÓPEZ-ALMADA, G., DOMÍNGUEZ-AVILA, J. A., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A., MEJÍA-LEÓN, M. E., & SALAZAR-LÓPEZ, N. J. (2022). ABORDAJE PREVENTIVO EN LA ENFERMEDAD POR HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO. EPISTEMUS, 16(32). <https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i32.185>

**ANEXO 4. Capítulo de libro 2. Aceptado para publicación.** “Fisiopatología de la Obesidad” del libro: “Décadas con obesidad en México: un abordaje multidisciplinario” (2024). Editorial UABC.

**CAPÍTULO 2**

**FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD**

Gabriela López-Almada, Norma Julieta Salazar-López\*

Facultad de Medicina, Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California

\*Autor de correspondencia: [norma.salazar@uabc.edu.mx](mailto:norma.salazar@uabc.edu.mx)

**RESUMEN**

La fisiopatología de la obesidad es compleja y multifactorial, y se involucran diversos procesos celulares y moleculares, tanto localizados en tejido adiposo, como sistémicos. Entre los principales inductores de esta patología, se incluyen un desequilibrio de energía y un almacenamiento excesivo en tejido adiposo. Las alteraciones de la vía del hambre-saciedad repercuten en la obesidad, mediante cambios en péptidos derivados del tracto gastrointestinal, de manera periférica, así como cambios en el sistema nervioso central. En el individuo obeso, el exceso de grasas en tejido adiposo promueve un estado de hipoxia, daño celular y de organelos incluido el retículo endoplásmico y mitocondria, estrés oxidativo, apoptosis, inflamación y un infiltrado de células inmunitarias, que en conjunto con otras citocinas propias del tejido adiposo, amplifican la señalización de estos procesos, comunican el estado energético excedente y continúan promoviendo la



Universidad Autónoma  
de Baja California

COORDINACIÓN GENERAL DE EXTENSIÓN DE LA CULTURA  
Y DIVULGACIÓN DE LA CIENCIA  
DEPARTAMENTO DE EDITORIAL UNIVERSITARIA

“2024, año de los pueblos yumanos, pueblos originarios y de las personas afromexicanas”

Oficio número: 07/2024-2

**DRA. NORMA JULIETA SALAZAR LÓPEZ**

Facultad de Medicina

Presente.

Con un atento saludo, por medio del presente le notifico que la obra que registró en la Convocatoria de la Selección Anual para el Libro Universitario 2023-2, “Investigación” y “Divulgación”, titulada *Décadas con obesidad en México: un abordaje multidisciplinario*, obtuvo **fallo positivo** en el proceso de dictaminación doble ciego, por lo que será publicada conforme a los procesos establecidos en la referida convocatoria. Para tal efecto, con base en las observaciones de los pares académicos asentadas en los dictámenes adjuntos, le agradeceré que:

- 1) Modifique o ajuste el contenido de su propuesta, y
- 2) En documento aparte —en formato libre, con su nombre, firma y el título de la propuesta—, resuma las sugerencias que tomó en cuenta (es decir, los cambios realizados) y replique las observaciones que omitió (explique brevemente por qué no las incorporó).

Para ello dispone de un plazo máximo e improrrogable de 45 días naturales, durante el cual deberá enviar al correo electrónico [editorial@uabc.edu.mx](mailto:editorial@uabc.edu.mx), lo siguiente: 1) la segunda versión de su obra, y 2) el resumen de los cambios incorporados y su réplica. Tenga en cuenta que la edición de las obras se realizará conforme al orden en que sean recibidas, como se establece en la convocatoria.

Sin otro particular, le agradezco su atención y le reitero mi saludo cordial.

**ATENTAMENTE**

Mexicali, Baja California, 6 de agosto de 2024  
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”

**MTRA. LAURA FIGUEROA LIZÁRRAGA**  
Jefa del Departamento de Editorial Universitaria



## **ANEXO 5. Capítulo de libro 11. Aceptado para publicación.**

“Perspectivas” del libro: “Décadas con obesidad en México: un abordaje multidisciplinario” (2024). Editorial UABC.

Enero 2024

### PERSPECTIVAS

La revisión de los mecanismos patológicos implicados en la obesidad puede resultar en un contenido extenso de información que continúa en incremento, considerando que en la actualidad, siguen explorándose los mecanismos celulares y moleculares (Kojta et al., 2020). La exploración de estos mecanismos ha permitido una cercanía a la comprensión de la comunicación que surge entre el tejido adiposo, el intestino y el cerebro. En este eje, el mensaje primordial a comunicar incluye el estado de energía del individuo y la disponibilidad de fuentes nutricionales, lo que permite su adecuada regulación, es decir, el almacenamiento o uso de energía. Por otro lado, las investigaciones en el campo han permitido revelar aquellos procesos centrales en la progresión de la enfermedad y de las enfermedades asociadas tales como la hipoxia, la inflamación, estrés oxidativo, regulación inmune, disfunción endotelial, resistencia a la insulina, y el apetito y saciedad. Lo anterior ha invitado a evaluar mecanismos de regulación que aporten a condicionar la cronicidad de estos procesos que finalmente contribuyen a la afección sistémica. Así mismo, se impulsa la identificación de blancos terapéuticos y el desarrollo de nuevas propuestas para prevenir y tratar, mediante tratamientos farmacológicos y/o cambios dirigidos al estilo de vida, tales como la integración de alimentos funcionales (Nataraj et al., 2020; Wu et al., 2019). Además de la exploración de aquellos eslabones de conocimiento que aún requieren de mayor estudio, tales como el esclarecimiento entre la interacción del tejido adiposo con las células endoteliales para el control del desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Li et al., 2021), cambios en microbiota intestinal mediante trasplantes fecales (Aron-

**ANEXO 6. Capítulo de libro “Propiedades antiobesogénicas de los citroflavonoides” (2025). Libro: Compuestos bioactivos en la salud. Enviado.**

**CAPÍTULO 3**

**Propiedades Antiobesogénicas de los Citroflavonoides**

Gabriela López Almada<sup>1</sup>, Norma Julieta Salazar López<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Medicina de Mexicali, Universidad Autónoma de Baja California, Dr. Humberto Torres Sanginés, Centro Cívico, Mexicali 21000, México.

\*Autor de correspondencia: norma.salazar@uabc.edu.mx

**RESUMEN**

La obesidad es un estado patológico prevalente en todo el mundo, de riesgo significativo para la salud. El tejido adiposo desempeña un papel iniciador y amplificador en la obesidad, que induce alteraciones como estrés oxidativo, inflamación, desregulación de adipocinas, dislipidemia, hiperglucemia y resistencia a la insulina, además de un depósito ectópico de grasa, que puede ser tóxico para otros órganos como el hígado. El presente capítulo explora efectos antiobesogénicos de los citroflavonoides naringina (NGN), naringenina (NAR), hesperidina, hesperetina, eriocitrina, eriodictiol y trangeretina en diferentes modelos, para comprender su impacto regulador sobre los parámetros relacionados con la obesidad, así como sus mecanismos como regulación a nivel génico y proteico del metabolismo de lípidos.

## **ANEXO 7. Artículo de revisión - en proceso de envío a revista JCR (2025).**

### **Naringenina: farmacocinética y la interacción/afectación bidireccional con la microbiota intestinal**

Key words: naringenin, naringin, pharmacokinetics, intestinal microbiota, health effects, Beneficial bioactivities,

#### **Introduction**

El desarrollo de patrones dietarios saludables ha demostrado los beneficios que brinda la inclusión de los alimentos de origen vegetal en la salud, al impactar positivamente las enfermedades cardiovasculares, neurológicas, cognitivas, cáncer y otras enfermedades crónicas no transmisibles (Cena & Calder, 2020). También, se ha demostrado la importancia de la microbiota intestinal y el efecto que los alimentos pueden tener sobre este microbioma, para en conjunto influenciar el estado de salud o enfermedad

## ANEXO 8. Presentación en Congreso Internacional, Actualidades en Nutrición (2023)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA  
LICENCIATURA EN NUTRICIÓN



Extiende la presente

### CONSTANCIA

A: Gabriela López Almada, Norma Julieta Salazar-López, Ángel A. Pulido Capiz,  
María Esther Mejía León.

Por su valiosa participación con el trabajo presentado en forma oral: *"CITROFLAVONOIDEOS CON POTENCIAL EFECTO MODULADOR EN LA RUTA HAMBRE-SACIEDAD VÍA LA INTERACCIÓN CON LOS RECEPTORES DE CCK Y GLP-1: UN ESTUDIO IN SILICO."*, en el marco del 3er Congreso Internacional de Actualidades en Nutrición "Cultivar, nutrir, preservar. Juntos", llevado a cabo del 18 al 20 de octubre de 2023, en la Facultad de Medicina y Psicología de la UABC, Tijuana.

ATENTAMENTE  
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"  
Tijuana, Baja California, 18 de octubre de 2023

Dra. Julieta Yadira Islas Limón  
Directora de la Facultad de Medicina y Psicología

Dra. Estefanía Ochoa  
Responsable de Comité Científico

Dr. Alberto Abraham Escobar Puentes  
Responsable del Comité Organizador

## ANEXO 9. Participación actividades de divulgación, 3MT (2022 y 2023)



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
COORDINACIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Otorga la presente



# CONSTANCIA

**A: LÓPEZ ALMADA GABRIELA**

**POR SU DESTACADA PARTICIPACIÓN EN EL CONCURSO INSTITUCIONAL UABC-3MT 2022**  
**MODALIDAD VIRTUAL**

Mexicali, Baja California, a 12 de agosto del 2022  
"Por la realización plena del ser"

  
Dr. Juan Guillermo Vaca Rodríguez

Coordinación General de Investigación y Posgrado

# Universidad Autónoma de Baja California

## COORDINACIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Otorga la presente

### CONSTANCIA

A:

**Gabriela López Almada**

POR SU VALIOSA COLABORACIÓN EN EL CONCURSO INSTITUCIONAL  
UABC-3MT 2023 TESIS EN 3 MINUTOS MODALIDAD VIRTUAL.

**ATENTAMENTE**  
Mexicali, Baja California, a 17 de agosto de 2023  
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"  
COORDINADORA GENERAL

  
DRA. DORA LUZ FLORES GUTIÉRREZ



## ANEXO 10. Participación en Jóvenes Investigadores (2022)



**Universidad Autónoma de Baja California**  
**Coordinación General de Investigación y Posgrado**



Otorga la presente Constancia a:

***LÓPEZ ALMADA GABRIELA***

Por su destacada participación en la modalidad *POSTER* con el título:  
***“EFECTOS DE LA NARINGENINA EN UN MODELO DE OBESIDAD INDUCIDA POR  
UNA DIETA OCCIDENTAL”***

*En el área de: Medicina y Salud, Grado Académico: Posgrado*

**ATENTAMENTE**  
Mexicali, Baja California, 27 de octubre de 2022  
**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**

  
**DR. RIGOBERTO NEGRETE URBANO**  
JEFE DE DEPARTAMENTO

  
**DR. JUAN GUILLERMO VACA RODRÍGUEZ**  
COORDINADOR GENERAL

## ANEXO 11. Cápsula de radio “Inductores de la sociedad” (2023)



### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA Coordinación General de Extensión de la Cultura y Divulgación de la Ciencia Departamento de Producción y Medios

*otorga la presente*

---

# CONSTANCIA

---

**A: Mtra. Gabriela López Almada**

Agradeciendo su valiosa participación en el desarrollo de guion y locución de Capsulas en el episodio “*Inductores de la sociedad*” del programa radiofónico “*Buen provecho*” durante el mes de febrero del 2023

Transmitiendo desde las instalaciones de UABC Radio y Televisión Digital y por Internet [radio.uabc.edu.mx](http://radio.uabc.edu.mx)

Mexicali, B.C., a 19 de mayo del 2023  
**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**

*Jefe del Departamento de Producción y Medios*

  
**MTRO. LUIS MANUEL SERRANO DÁVILA**

**ANEXO 12. Cápsula de radio “Los compuestos fenólicos como potenciales moduladores de la vía hambre-saciedad en la obesidad” (2023)**



## Universidad de Sonora

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

Otorga la presente

**constancia a:**

**M.C. Gabriela López Almada**

Por su participación en el **Programa Alimentación Problema de Nuestro Tiempo**, con el tema: “*Los compuestos fenólicos como potenciales moduladores de la vía hambre-saciedad en la obesidad*”, realizado el 16 de febrero de 2023, en Hermosillo, Sonora, México.

Dra. Carmen María López Saiz  
Jefa del Departamento

Lic. Alma Griselda Calvo Corral  
Jefa de Radio Universidad de Sonora

Q.S. Francisco J. Parra Vergara  
Coordinador General

<https://radio.unison.mx/>

<https://www.unison.mx/nota/?idnoti=33739>