



**UNIVERSIDAD MICHOCANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



Facultad de Biología

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Opción: Biotecnología Alimentaria

**Efecto de los compuestos mayoritarios de *Callistemon
citrinus* sobre el estrés oxidante en el cerebro de ratas
alimentadas con una dieta hipercalórica**

Proyecto de tesis que presenta:

Biól. Aram Josué García Calderón

Como requisito para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Biológicas

DIRECTOR DE TESIS: D.C. Patricia Rios Chavez

Morelia, Michoacán, Febrero 2025



DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Declaración de originalidad

El presente documento es producto del trabajo original de investigación de Aram Josué García Calderón, estudiante del Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas y respetando siempre los más altos estándares éticos solicitados por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Todos los datos de la investigación reportada en el presente documento de tesis (excepto los indicados explícitamente en el texto), fueron obtenidos por Aram Josué García Calderón durante el periodo que fue estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas, bajo la Dirección de la Dra. Patricia Rios Chavez.

Morelia, Mich., a 06 de 02 de 2025

AT

Biol. Aram Josué García Calderón 

Dra. Patricia Rios Chavez 

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, UMSNH

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanos Ángel y Cris, mi padre y en especial a mi mamá, por quien la realización del presente trabajo fue posible. A la Dra. Patricia Rios Chavez por su aceptación y mentoría en su laboratorio, que hicieron posible el poder desarrollar y culminar el presente trabajo con gran satisfacción. Por último, quiero agradecer también a Andy y a los chicos del laboratorio por su apoyo, amabilidad y compañerismo hacia mi persona.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	i
I. RESUMEN	1
II. SUMMARY	3
III. INTRODUCCIÓN	4
3.1. Radicales libres	4
3.2. Especies reactivas de oxígeno	4
3.3. Obesidad	5
3.4. Obesidad y salud cerebral	7
3.5. Vías metabólicas implicadas en la generación de ROS durante la obesidad	7
3.6. Sistemas antioxidantes	9
3.7. <i>Callistemon citrinus</i>	10
3.8. Compuestos mayoritarios de <i>Callistemon citrinus</i>	11
IV. JUSTIFICACIÓN	13
V. HIPÓTESIS	14
VI. OBJETIVOS	15
6.1. Objetivo general	15
6.2. Objetivos específicos	15
VII. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	16
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	17
8.1. Compuestos químicos	17
8.2. Recolección de plantas y preparación del extracto etanólico	17
8.3. Animales	17

8.4. Inducción de la obesidad	17
8.5. Parámetros antropométricos	18
8.6. Parámetros bioquímicos en suero	18
8.7. Homogeneizado de tejido cerebral	18
8.8. Determinaciones de las enzimas antioxidantes y biomarcadores de estrés oxidante en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica	19
8.8.1. Catalasa (CAT)	19
8.8.2. Superóxido dismutasa (SOD)	19
8.8.3. Glutación peroxidasa (GPx)	19
8.8.4. Paraoxonasa (PON1)	20
8.8.5. Glutación reducido (GSH)	20
8.8.6. Malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE)	20
8.8.7. Productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP)	21
8.9. Determinaciones de las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica	21
8.9.1. Ciclooxygenasa total (COX-1 y COX-2)	21
8.9.2. 5-lipooxygenasa (5-LOX)	21
8.9.3. Xantina oxidasa (XO)	22
8.9.4. Mieloperoxidasa (MPO)	22
8.10. Análisis estadístico	22
IX. RESULTADOS	23

9.1. Parámetros antropométricos y bioquímicos en suero	23
9.2. Efecto sobre las enzimas antioxidantes y biomarcadores de estrés oxidante	28
9.3. Efecto sobre las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio	35
X. DISCUSIÓN	40
XI. CONCLUSIÓN	47
XII. LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Estrategia experimental	16
Figura 2. Peso final de las ratas	23
Figura 3. Tasa de ganancia de masa corporal	24
Figura 4. Índice de Lee	25
Figura 5. Índice de adiposidad	26
Figura 6. Niveles de glucosa en ayunas	27
Figura 7. Niveles de triacilglicéridos en ayunas	27
Figura 8. Actividad de la enzima catalasa (CAT)	28
Figura 9. Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD)	29
Figura 10. Actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx)	30
Figura 11. Actividad de la enzima paraoxonasa (PON1)	31
Figura 12. Contenido de glutatión reducido (GSH)	32
Figura 13. Contenido de productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP)	33
Figura 14. Contenido de malondialdehído (MDA)	34
Figura 15. Contenido de 4-Hidroxinonenal (4-HNE)	35
Figura 16. Actividad enzimática de la ciclooxigenasa total (COX-1 y COX-2)	36
Figura 17. Actividad enzimática de la 5-lipooxigenasa (5-LOX)	37
Figura 18. Actividad enzimática de la xantina oxidasa (XO)	38
Figura 19. Actividad enzimática de la mieloperoxidasa (MPO)	39

I. RESUMEN

El consumo de dietas ricas en grasas y azúcares resulta en una ingesta excesiva de energía que cursa con la alteración de la regulación de múltiples procesos metabólicos como el aumento de la adiposidad y la desregulación de los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre. Varios estudios implican que la dieta y el metabolismo son moduladores importantes de la salud cerebral y se ha sugerido que el aumento del estrés oxidante producido por los efectos del consumo de dietas ricas en grasas y azúcares puede mediar en la patogénesis cerebral y las alteraciones cognitivas. Debido a la relación estrecha entre el estrés oxidante y el deterioro cognitivo, la terapia antioxidante para combatir el estrés oxidante a través de compuestos activos, como las sustancias fitoquímicas, representa una alternativa terapéutica prometedora. En este estudio, investigamos el efecto antioxidante de los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica. De acuerdo con el Reglamento Federal para el cuidado y uso de animales de laboratorio emitido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), se dividieron aleatoriamente 48 ratas Wistar macho en 8 tratamientos de 6 ratas. El grupo 1 fue el control; los grupos 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 se alimentaron con una dieta alta en grasas y sacarosa. Adicionalmente, al grupo 3 se le administró el extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* (200mg/kg de peso vía oral con cánula) y a los grupos 4, 5, 6, 7 y 8, se les administró, por vía oral con cánula diariamente, *d*-limoneno (0.4382mg/kg de peso), ácido elágico (0.0743mg/kg de peso), ácido gálico (0.00694mg/kg de peso), ácido *p*-cumárico (0.00047mg/kg de peso) y la mezcla de los compuestos a la misma concentración, respectivamente. Al final de 23 semanas, los animales fueron sacrificados con una sobredosis intraperitoneal de pentobarbital sódico (120 mg/kg de peso corporal). El cerebro fue extraído y se usó para determinar las enzimas del sistema antioxidante CAT, SOD, GPx y PON1, determinar el contenido de los biomarcadores de estrés oxidante GSH, AOPP, MDA y 4-HNE, así como para determinar las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio COX-1 y COX-2, 5-LOX, XO y MPO. Los resultados mostraron que los compuestos y la mezcla de ellos presentaron efectos positivos diferenciales sobre las actividades de las enzimas antioxidantes, biomarcadores de estrés oxidante y las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica, lo que sugiere la importancia de estos compuestos en las actividades de *Callistemon citrinus*.

Palabras clave: Sistema antioxidante, sustancias fitoquímicas, grasas y azúcares, deterioro cognitivo.

II. SUMMARY

A diet high in fat and sugar results in excessive energy intake, leading to altered regulation of various metabolic processes, such as increased adiposity and dysregulation of blood glucose and triglyceride levels. Several studies suggest that diet and metabolism are important modulators of brain health. It has been suggested that elevated oxidative stress from high-fat and high-sugar diets may affect brain pathogenesis and cognitive function impairment. Given the close relationship between oxidative stress and cognitive impairment, antioxidant therapy to address oxidative stress through active compounds like phytochemicals is a promising therapeutic alternative. In this study, we examined the antioxidant effects of the major compounds from *Callistemon citrinus* in the brains of rats fed a high-fat-sucrose diet. In accordance with the Federal Regulation for the care and use of laboratory animals issued by the Mexican Official Standard (NOM-062-ZOO-1999), 48 male Wistar rats were randomly divided into 8 treatments of 6 rats. Group 1 was the control; groups 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8 were fed a high-fat diet. Additionally, group 3 received the ethanolic extract of *Callistemon citrinus* leaf (200 mg/kg of body weight administered orally via cannula), while groups 4, 5, 6, 7, and 8 were given, also orally by cannula daily *d*-limonene (0.4382 mg/kg of body weight), ellagic acid (0.0743 mg/kg of body weight), gallic acid (0.00694 mg/kg of body weight), *p*-coumaric acid (0.00047 mg/kg of body weight), and a mixture of the compounds at the same concentrations respectively. At the end of 23 weeks, the animals were sacrificed using an intraperitoneal overdose of sodium pentobarbital (120 mg/kg of body weight). The brain was extracted and used to evaluate the antioxidant system enzymes CAT, SOD, GPx and PON1, assess the content of oxidative stress biomarkers GSH, AOPP, MDA and 4-HNE, as well as the enzymes involved in the proinflammatory process, including COX-1, COX-2, 5-LOX, XO and MPO. The results showed that the compounds and the mixture of them presented differential positive effects on the activities of antioxidant enzymes, biomarkers of oxidative stress and enzymes involved in the proinflammatory process in the brain of rats fed a hypercaloric diet, suggesting the importance of these compounds in the activities of *Callistemon citrinus*.

Keywords: Antioxidant system, phytochemicals, fats and sugars, cognitive impairment.

III. INTRODUCCIÓN

3.1. Radicales libres

Si bien los alimentos de la dieta representan los sustratos esenciales por medio de los cuales las células pueden garantizar que exista suficiente energía disponible para mantener sus funciones vitales, un consumo elevado de éstos puede conllevar a una desregulación de los procesos metabólicos del cuerpo. En particular, el consumo de dietas ricas en grasas y azúcar, mejor conocidas por sus siglas en inglés como HFSD (High Fat Sugar Diet), resulta en una ingesta excesiva de energía que cursa con la alteración de la regulación de múltiples procesos metabólicos como el aumento de la adiposidad y la desregulación de los niveles glucosa y triacilglicéridos en sangre. Un elevado sustento dietético puede dar como resultado un suministro excesivo de sustratos energéticos a las vías metabólicas en las células, lo que a su vez puede aumentar la producción de radicales libres, tales como las especies reactivas de oxígeno, mejor conocidas por sus siglas en inglés como ROS (Reactive Oxygen Species) y generar un estado de estrés oxidante crónico altamente perjudicial para la salud (McMurray *et al.* 2016). Los radicales libres (RL) pueden definirse como moléculas o fragmentos moleculares que contienen uno o más electrones no apareados en su orbital atómico externo (Chaudhary *et al.* 2023). El número impar de electrones de los radicales libres los hace ser moléculas inestables, de vida corta y reactivas (Martemucci *et al.* 2022), confiriéndoles la capacidad de reaccionar con moléculas adyacentes como las principales macromoléculas del cuerpo.

3.2. Especies reactivas de oxígeno

La mayoría de los RL que dañan los sistemas biológicos son radicales libres de oxígeno. Las ROS involucra no sólo a los RL derivados del oxígeno, sino también a los no radicales derivados de la reducción molecular del oxígeno (como el peróxido de hidrógeno) debido a que también van a tender a ser especies con reactividad (Rodríguez y Chaverri, 2018). Las ROS incluyen, entre otras, al anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($-OH$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ácido hipocloroso, el óxido nítrico ($-NO$) y el peroxinitrito ($OONO-$). Pueden producirse a partir de fuentes exógenas (radiación ionizante, luz ultravioleta, tabaco, dieta, iones de metales pesados como Fe, Cu, Cd y Ni, etc.) o endógenas (respiración celular, lipoperoxidación, actividad enzimática exacerbada de oxidasas, lipoxigenasas y ciclooxigenasas, etc.) (Jomova *et al.* 2023). En la mayoría de los tipos de células, las

mitocondrias representan los sitios de generación más importantes de ROS (McMurray *et al.* 2016). Durante la transferencia de electrones a través de los complejos I, II y III de la cadena transportadora de electrones en las mitocondrias, pueden existir fugas de electrones que pueden reducir el oxígeno molecular liberando anión superóxido en la matriz o en el espacio intermembranoso. Los complejos I y III representan los sitios con mayor contribución en la generación de O_2^- (Sinenko *et al.* 2021).

La alteración del equilibrio entre el aumento de la generación de ROS y la acción insuficiente de los sistemas de defensa antioxidante se conoce como estrés oxidante (EO). El estrés oxidante es un proceso perjudicial para los sistemas vivos que va a interferir en la capacidad de múltiples tejidos para funcionar con normalidad (Pantelis *et al.* 2023). Las ROS, en un nivel óptimo, desempeñan un papel crucial en procesos celulares como la defensa frente a agentes infecciosos, la comunicación celular y la maduración de la estructura celular. Por ejemplo, las ROS pueden participar en la señalización como segundos mensajeros; agentes fisiológicos como el factor de necrosis tumoral, factores de crecimiento y citocinas pueden estimular la formación de ROS. Se ha asociado a las ROS con un aumento de la actividad de las proteínas cinasas activadas por mitógenos, mejor conocido por sus siglas en inglés como MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), ya sea mediante la activación de tirosina cinasas o la oxidación-reducción de residuos de cisteína. Asimismo, a través de mecanismos como la oxidación del grupo tiol (-SH) en los residuos de cisteína, las ROS pueden regular la modificación postraducciona, la actividad y la reubicación celular de las proteínas. En el cerebro, el óxido nítrico puede actuar como neurotransmisor a través de la regulación de la actividad sináptica por la S-nitrosilación de proteínas (Tauffenberger y Magistretti, 2021). Sin embargo, un nivel elevado de ROS puede provocar un efecto dañino en los sistemas biológicos, ya que son capaces de reaccionar con otras biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos (ADN y ARN), alterando la estructura y función de estas macromoléculas y ocasionando, por consiguiente, daño a nivel celular y tisular (Singh *et al.* 2022).

3.3. Obesidad

La obesidad es una enfermedad metabólica multifactorial que se caracteriza por una acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2024). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el desequilibrio entre el ingreso y el gasto de

calorías es la causa fundamental de la obesidad. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla de las personas que se utiliza frecuentemente para identificar la obesidad en los adultos. El IMC se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2). En el caso de los adultos, la OMS define que existe sobrepeso cuando el IMC es igual o superior a 25 y obesidad cuando el IMC es igual o superior a 30. Actualmente, la obesidad representa una enfermedad de preocupación mundial debido a su alta prevalencia. De acuerdo a estimaciones de la OMS, en 2022, alrededor del 16% de los adultos de 18 años o más en todo el mundo tenían obesidad. Entre 1990 y 2022, la obesidad ha tenido un aumento a nivel mundial de más del 100%. La obesidad puede provocar un aumento del riesgo de diabetes de tipo 2 y cardiopatías, así como aumentar el riesgo de diferentes tipos de cáncer. Asimismo, la obesidad puede influir de manera importante en la calidad de vida de las personas, ya que puede afectar de manera negativa factores como el sueño o el movimiento (OMS, 2024).

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2024), en México, la prevalencia de obesidad es de 37.1%, cifra que representa un incremento del 57.9% en los últimos 23 años. De acuerdo a la ENSANUT, el mayor incremento de obesidad fue en las personas adultas, donde la obesidad aumentó 78%. Por su parte, para el caso de la población escolar y adolescentes en México, la prevalencia de sobrepeso y obesidad es de 37% y de 40%, respectivamente. México representa uno de los países con mayor prevalencia de obesidad y se encuentra entre los primeros lugares en obesidad infantil en el mundo. Dentro de los factores que se han identificado como responsables de este aumento se encuentran los cambios en la alimentación y el estilo de vida saludable, como la disminución de la actividad física. Asimismo, se ha asociado a las bebidas energéticas industrializadas con la etiología de la obesidad, ya que representan una fuente importante de exceso de calorías de rápida digestión (ENSANUT, 2024).

En relación a la obesidad infantil, se estima que al menos 1 de cada 20 niños y niñas menores de 5 años padece obesidad. Por su parte, la proporción de niños y niñas mayores de 5 años con sobrepeso u obesidad es de 1 de cada 3, lo que favorece el riesgo de sufrir enfermedades circulatorias, del corazón y de los riñones, diabetes, entre otras. Dentro de las causas principales de la obesidad y el sobrepeso en niñas y niños se encuentra el consumo de alimentos procesados con altos niveles de azúcar, grasas trans y sal, así como de bebidas azucaradas de fácil acceso y

bajo costo. Otro factor importante que se ha asociado con la prevalencia de sobrepeso y obesidad infantil es la cantidad de actividad física que realizan los niños, niñas y adolescentes, la cual se cree que ha disminuido en los últimos años (UNICEF, 2016).

3.4. Obesidad y salud cerebral

Por otro lado, se ha asociado a la dieta y el metabolismo como moduladores importantes de la salud cerebral. Más particularmente, se ha inferido que una ingesta calórica elevada puede afectar negativamente el rendimiento cognitivo (Lizarbe *et al.* 2019). Asimismo, se ha implicado a la obesidad como un mediador de la disfunción cerebral (Morrison *et al.* 2010). Sin embargo, a pesar de que afecciones como el sobrepeso y la obesidad han indicado en diversos estudios ser mediadores importantes de la disfunción cerebral, aún no se conoce por completo los efectos de las alteraciones metabólicas que se cursan durante estas condiciones patológicas sobre la salud cerebral. Se ha sugerido la posibilidad de que la ingesta de dietas ricas en grasas y la ingesta elevada de hidratos carbono, que conlleva a alteraciones metabólicas como la desregulación de la glucosa o la adiposidad, puedan potenciar el deterioro cognitivo. En afecciones como la obesidad, el consumo de HFSD puede conducir a un aumento del EO y teniendo en cuenta la relación bien documentada entre el EO y el deterioro cognitivo, se ha sugerido que el aumento de éste producido por los efectos del consumo de HFSD puede mediar en la patogénesis cerebral y las alteraciones cognitivas (Pantelis *et al.* 2023).

3.5. Vías metabólicas implicadas en la generación de ROS durante la obesidad

En condiciones de obesidad puede existir un estado de alteración del metabolismo que puede manifestarse con niveles de glucosa y triacilglicéridos elevados. Se ha reportado que una elevación de los niveles de glucosa puede conducir a un aumento en los marcadores de daño oxidativo del ADN, productos de peroxidación lipídica y productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP), junto con una actividad enzimática antioxidante reducida y una elevación de ROS que conduce a la activación de vías de señalización intracelular sensibles al estrés y que dan como resultado la formación de productos que inducen daño celular. La vía de los polioles, la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), la vía de la proteína cinasa C (PKC) y la vía de la hexosamina representan las vías metabólicas estudiadas con mayor implicación en la generación de radicales libres. Se cree que estas vías participan directamente en la sobreproducción de ROS en condiciones de sobrepeso y obesidad (Singh *et al.* 2022). Por

ejemplo, una elevación en los niveles de glucosa puede conducir a la saturación de la enzima hexocinasa y a una mayor concentración de glucosa libre que puede activar la vía de los polioles. En la vía de los polioles la glucosa se reduce a sorbitol por acción de la enzima aldosa reductasa, que es dependiente de NADPH. Dado que la enzima aldosa reductasa es dependiente de NADPH, una activación exacerbada de esta enzima puede generar un desequilibrio entre la reducción del NADPH, junto con un nivel elevado de NADH, que puede actuar como sustrato para que la enzima NADH oxidasa genere ROS. Asimismo, dado que la NADPH es una coenzima que el glutatión requiere para reducirse a partir del glutatión oxidado por la enzima glutatión reductasa, el agotamiento de los niveles de NADPH afecta directamente el contenido de GSH, reduciendo sus niveles celulares (Rigalli *et al.* 2018).

Por otra parte, se reportado que los ROS pueden desempeñar un papel crucial en la inhibición de la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) mediante la activación de la enzima poli-ADP-ribosa polimerasa-1 (PARP-1). PARP-1 es una enzima que participa en la reparación del ADN y se activa mediante la inducción de roturas de hebras en el ADN por acción de ROS y de especies reactivas de nitrógeno. La activación de PARP-1 por condiciones de elevadas de ROS puede conducir a la inhibición de GAPDH, lo que lleva a la acumulación de gliceraldehído-3-fosfato y otros productos glucolíticos en las células. La acumulación de gliceraldehído-3-fosfato, junto a condiciones que cursan con niveles de glucosa elevados, puede conllevar a la activación de la vía de los AGEs mediante la síntesis de metilglioxal a través de gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona o a la producción de diacilglicerol, que activa la vía PKC. (Singh *et al.* 2022). Asimismo, una elevación en la cantidad de fructosa-6-fosfato da como resultado una regulación positiva de la actividad de la enzima glutamina fructosa-6-fosfato aminotransferasa, que es la principal enzima de la vía de la hexosamina (Jubaidi *et al.* 2022).

Dentro de los muchos efectos nocivos que conlleva la sobreproducción de ROS y, por consiguiente, la generación de EO en las células, la peroxidación lipídica de las membranas y la modificación oxidativa de las proteínas resultan de los procesos con mayor repercusión y nocividad para las células. La peroxidación lipídica es un proceso que ocurre sobre los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas y conlleva varias reacciones que incluyen la iniciación, la propagación y la terminación. Durante la peroxidación lipídica, un átomo de hidrógeno es

extraído de un ácido graso polinsaturado mediante la reacción con una especie reactiva, como por ejemplo un radical hidroxilo (-OH), formando así un radical lipídico (L). El radical lipídico interactúa con el oxígeno molecular formando un radical lipídico peroxilo ($\text{LOO}\cdot$). Después, las especies $\text{LOO}\cdot$ reaccionan con un átomo de hidrógeno de una molécula de ácido graso cercana para crear un hidroperóxido lipídico (LOOH), que se degrada en productos aldehídos reactivos como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE). Como consecuencia de este proceso, se produce un trastorno de la porción principal de lípidos de la membrana celular, lo que puede provocar cambios en la fluidez y permeabilidad de las membranas, alteración en los canales de transporte iónico, así como en la supresión de diferentes procesos metabólicos (Valgimigli *et al.* 2023). Se ha reportado que los residuos proteicos de histidina, cisteína o lisina de las proteínas pueden reaccionar con el 4-HNE para crear aductos de Michael, alterando la estructura y función de las proteínas. Por su parte, el MDA puede reaccionar particularmente con residuos de lisina para formar bases de Schiff. Tanto el MDA como el 4-HNE conducen a la oxidación de las proteínas y a la formación consiguiente de los AOPP. Asimismo, el MDA y el 4-HNE pueden conducir a la producción de AGEs. Se ha vinculado al MDA y al 4-HNE con el desarrollo de trastornos neurológicos relacionados con la edad y el envejecimiento. Asimismo, se ha demostrado que el 4-HNE puede unirse covalentemente a las membranas de neuronas, lo que conduce a la formación y agregación de ovillos neurofibrilares y, en última instancia, produce disfunción de las proteínas neuronales, muerte, deterioro cognitivo, trastornos del lenguaje y otros síntomas neurodegenerativos (Li *et al.* 2022).

3.6. Sistemas antioxidantes

Debido a la importancia de mantener las ROS dentro de niveles compatibles con la función celular normal, los organismos han desarrollado mecanismos antioxidantes (Carvajal, 2019). Estos mecanismos antioxidantes pueden ser generados de forma natural (antioxidantes endógenos), o bien suministrados externamente a través de los alimentos (antioxidantes exógenos). Un antioxidante se define como cualquier sustancia que retrasa, previene o remueve el daño oxidante de una molécula blanco (Halliwell y Gutteridge, 2015). Otros autores definen a los antioxidantes como sustancias que directamente van a eliminar ROS o que van a actuar indirectamente para regular positivamente las defensas antioxidantes e inhibir la sobreproducción de ROS (Sotler *et al.* 2019). Así, los antioxidantes retrasan o inhiben el daño

celular principalmente a través de su propiedad de eliminación de radicales libres (Lobo *et al.* 2010). Las principales funciones de los antioxidantes son el neutralizar el exceso de radicales libres, proteger las células contra sus efectos tóxicos y contribuir a la prevención de enfermedades. Por parte de los antioxidantes endógenos en las células, éstos se pueden clasificar como sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de las enzimas antioxidantes directamente involucradas en la neutralización de las ROS se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) (Pham *et al.* 2008), mientras que el principal antioxidante no enzimático de los organismos es el glutatión reducido (GSH).

Por otra parte, los antioxidantes exógenos son aquellos que se encuentran en los alimentos naturales, entre estos están las vitaminas A, E y C, los β -carotenos, fenoles, terpenos, etc., que son necesarios para la actividad del sistema enzimático endógeno (Delgado *et al.* 2010). En los últimos años se ha incrementado el interés por la búsqueda de antioxidantes naturales como una alternativa para prevenir y contrarrestar las diversas enfermedades asociadas al estrés oxidante (Viada *et al.* 2017). En este sentido, las plantas representan un importante centro de estudio debido a la presencia de metabolitos secundarios (también llamados sustancias fitoquímicas) con capacidades bioactivas, baja toxicidad y falta de efectos secundarios que normalmente se encuentran en los medicamentos. Hoy en día, muchos fármacos se derivan de plantas naturales. Los terpenos y los fenoles, por ejemplo, son un grupo de metabolitos secundarios a los cuales se les ha reportado actividades antioxidantes, antinociceptivas, gastroprotectoras, antiinflamatorias y neuroprotectoras (Mony *et al.* 2022).

3.7. *Callistemon citrinus*

En este sentido, *Callistemon citrinus* es una planta nativa de Australia que pertenece a la familia Myrtaceae y que se le conoce comúnmente como cepillo de botella. Es una planta considerada como un árbol ornamental en México. Sin embargo, en otros países, esta especie se usa en la medicina popular (Ríos *et al.* 2019). Durante los últimos años se han estudiado las propiedades de esta planta, encontrando que las diferentes partes de ésta consisten principalmente en componentes activos, tales como compuestos fenólicos, flavonoides, terpenoides, etc. (Petronilho *et al.* 2013). Asimismo, se han reportado propiedades fitoterapéuticas beneficiosas de *C. citrinus* como actividad anticancerígena en colon (López *et al.* 2019) y en mama (Ahmed *et al.* 2019), actividad antiinflamatoria (Radulović *et al.* 2015), efecto positivo contra la diabetes

tipo 2 (Kumar *et al.* 2011), así como actividades hepatoprotectoras, hipolipemiantes, antifúngicas y antibacterianas (Petronilho *et al.* 2013).

Por parte de nuestro equipo de trabajo, ya se ha realizado el estudio sobre la toxicidad de la planta. En el estudio llevado a cabo por Ortega *et al.* 2022, se realizó la evaluación de toxicidad en ratas Wistar tratadas durante 28 días con una dosis de 1000 mg/kg de extracto de hojas de *Callistemon citrinus*. Los resultados mostraron que no se presentaron signos de toxicidad, ni se observaron signos de daño en los órganos internos ni muerte durante el tratamiento. Asimismo, no se observaron signos de comportamiento anormal en las ratas tratadas, ni cambios significativos en el peso de las ratas después de los 28 días del tratamiento. Por otro lado, nuestro equipo de trabajo ya ha reportado también el efecto antioxidante del extracto de hoja *C. citrinus*. En el artículo de Ortega *et al.* 2022, se evaluó el efecto antioxidante del extracto de hoja *C. citrinus* en ratas Wistar que fueron alimentadas durante 15 semanas con una dieta rica en grasas y fructosa. Los resultados mostraron que el grupo tratado con la dieta hipercalórica + el extracto de hoja de *C. citrinus* moduló las enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx, GST y PON1) y redujo los biomarcadores de estrés oxidante (MDA, 4-HNE y AOPP) en el hígado, riñones, corazón y estómago de las ratas alimentadas con una dieta rica en grasas y fructosa. Por último, nuestro grupo de trabajo ya ha realizado también la evaluación del efecto antioxidante de los terpenos mayoritarios de la planta sobre ratas tratadas con una dieta alta en grasa y sacarosa. En el estudio llevado a cabo por Ayala-Ruiz *et al.* 2022, se evaluó el efecto de los terpenos mayoritarios de *Callistemon citrinus* frente al estrés oxidativo durante una dieta hipercalórica en ratas Wistar. El estudio mostró que el 1,8-cineol, el *d*-limoneno y el α -terpineol (terpenos mayoritarios del extracto de la planta) atenuaron el estrés oxidante al reducir los biomarcadores de estrés oxidativo como el MDA, 4-HNE y AOPP en el hígado de las ratas tratadas con la dieta hipercalórica durante 15 semanas. Asimismo, el 1,8-cineol, el *d*-limoneno y el α -terpineol mostraron un efecto positivo sobre los parámetros bioquímicos en suero, reduciendo los niveles de glucosa y triacilglicéridos en las ratas tratadas con la dieta alta en grasa y sacarosa.

3.8. Compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus*

Por otro lado, el *d*-limoneno, de la familia de los terpenos, el ácido gálico, el ácido elágico y el ácido *p*-cumárico, de la familia de los polifenoles, han revelado en nuestros estudios de cromatografía ser los compuestos mayoritarios del extracto de hoja de *C. citrinus*. A una

concentración del extracto de 200 mg/kg de peso, que representa la dosis a la cual nuestro grupo de trabajo ha encontrado y reportado actividad del extracto, los compuestos mayoritarios se encuentran presentes a las siguientes dosis: el *d*-limoneno a 0.4382mg/kg, el ácido elágico a 0.0743mg/kg, el ácido gálico a 0.00694mg/kg y el ácido *p*-cumárico a 0.00047mg/kg. Diferentes reportes han demostrado que el limoneno tiene una alta capacidad para reducir los biomarcadores de estrés oxidante como el MDA y para aumentar las actividades del sistema antioxidante como la SOD, CAT y el GSH en el cerebro de ratas (Eddin *et al.* 2021). Asimismo, existen reportes de propiedades antioxidantes y antiinflamatorias para el ácido gálico en el cerebro de ratas isquémicas, con propiedades de restauración de las actividades enzimáticas del sistema antioxidante como la SOD y la disminución de biomarcadores de estrés oxidante como el MDA (Mirshekari *et al.* 2020). Por su parte, diferentes ensayos han demostrado que el ácido elágico es un antioxidante eficaz debido a su capacidad eliminación de radicales superóxido, eliminación de peróxido de hidrógeno y actividades quelantes de metales, que pueden minimizar o prevenir la oxidación de lípidos (Kilic *et al.* 2014). Mientras que para el caso del ácido *p*-cumárico, los efectos beneficiosos que se han informado incluyen efectos antiinflamatorios, antihiperlipidémicos, antimicrobianos, antidiabéticos y neuroprotectores (Parvizi *et al.* 2020).

Con base a lo anterior, *C. citrinus* es una planta altamente atractiva para el estudio de enfermedades relacionadas con el estrés oxidante debido a su gran cantidad de compuestos bioactivos. Y dado que el estrés oxidante es un estado fuertemente vinculado con la disfunción cerebral, el potencial terapéutico para combatir estas condiciones patológicas a través de compuestos con propiedades activas es muy prometedor. En este sentido, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto antioxidante de los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

IV. JUSTIFICACIÓN

La obesidad representa una enfermedad multifactorial de gran preocupación debido a su alta prevalencia a nivel mundial. Durante esta condición patológica, el consumo de una dieta alta en grasas y azúcares puede conducir a la sobreproducción de ROS y a la generación consiguiente de un estado de estrés oxidante sistémico. Teniendo en cuenta la relación bien documentada entre el estrés oxidante y el deterioro cognitivo, se ha sugerido que el aumento de EO producido por los efectos del consumo de HFSD puede mediar en la patogénesis cerebral. Debido a ello, se sugiere que la terapia antioxidante representa una vía prometedora para el tratamiento de estas afecciones, por lo que buscar alternativas naturales que puedan utilizarse como una estrategia terapéutica para modular la capacidad antioxidante y atenuar el daño por estrés oxidante es de suma importancia. Si bien se ha demostrado en varios estudios que el extracto de hoja de *C. citrinus* tiene efectos antioxidantes sobre el estrés oxidante en animales con obesidad, ningún trabajo ha evaluado el efecto antioxidante de los compuestos mayoritarios del extracto de esta planta sobre el estrés oxidante en el cerebro de ratas con obesidad. Por ello, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto antioxidante de los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

V. HIPÓTESIS

Los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* tienen la capacidad de modular la actividad antioxidante y atenuar el daño por el estrés oxidante que se genera en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

VI. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antioxidante de los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

6.2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de los compuestos mayoritarios de *C. citrinus* sobre las enzimas antioxidantes en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.
2. Determinar el efecto de los compuestos mayoritarios de *C. citrinus* sobre los biomarcadores de estrés oxidante en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.
3. Determinar el efecto de los compuestos mayoritarios de *C. citrinus* sobre las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

VII. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

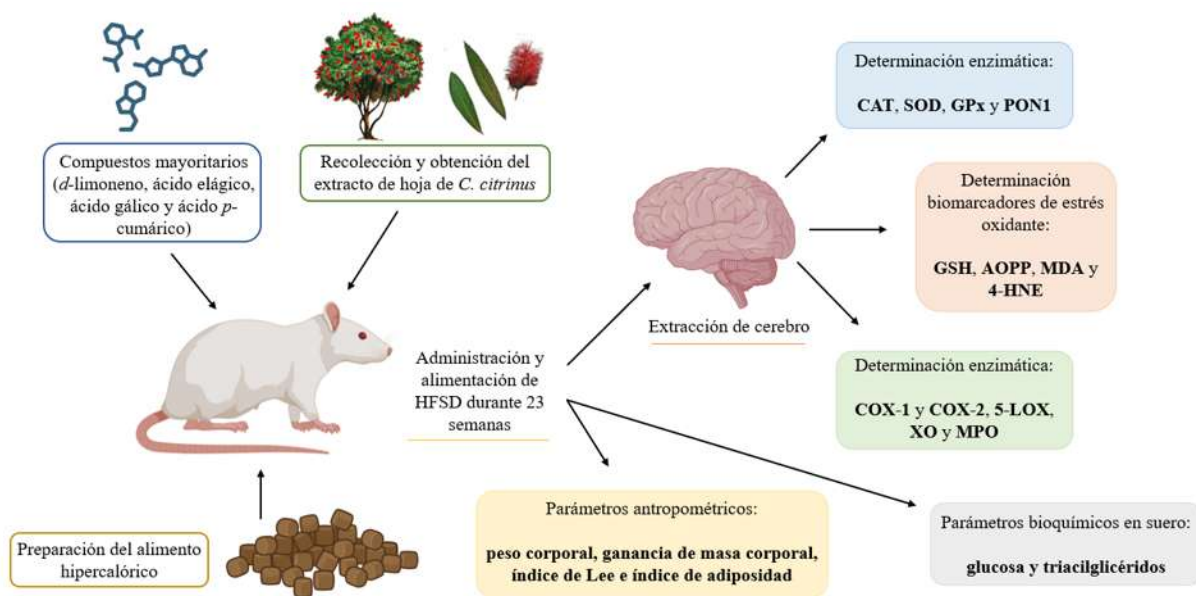


Fig. 1. Estrategia experimental. Como primer paso se adquirieron los compuestos *d*-limoneno, ácido gálico, ácido elágico y ácido *p*-cumárico. El segundo paso consistió en la recolección y obtención del extracto de hoja de *Callistemon citrinus*. El tercer paso consistió en la preparación del alimento alto en grasas y sacarosa. Después, se prosiguió con la administración de los compuestos y el extracto de *C. citrinus*, así como de la alimentación con la dieta hipercalórica durante 23 semanas. Transcurrido las 23 semanas, se prosiguió con la medición de los parámetros de antropométricos y bioquímicos en suero. Después de la eutanasia de los ejemplares, se extrajo el cerebro completo y se determinaron las enzimas del sistema antioxidante, los biomarcadores de estrés oxidante y las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. *Compuestos químicos*

El *d*-limoneno, el ácido gálico, el ácido elágico, el ácido *p*-cumárico y todos los demás productos químicos y reactivos fueron de calidad analítica y se adquirieron en Sigma-Aldrich Company®.

8.2. *Recolección de plantas y preparación del extracto etanólico*

Se recolectaron hojas de *Callistemon citrinus* en la ciudad de Morelia, Mich., México en agosto de 2023. Las hojas frescas se maceraron en una proporción de 1:10 (1 g de tejido vegetal en 10mL de etanol al 95%). El extracto se dejó reposar a temperatura ambiente en oscuridad durante 5 días. Posteriormente, se secó por evaporación con eliminación de vacío en un rotavapor a 45 °C y se almacenó a 4 °C hasta su posterior utilización.

8.3. *Animales*

Como modelo experimental se utilizaron ratas albino macho de la cepa Wistar con un peso de 200-250 g (8 semanas de edad), las cuales se obtuvieron del bioterio de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Los ejemplares fueron alojados en el bioterio del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y fueron criados bajo condiciones estándar; con un ciclo de 12 horas luz/12 horas oscuridad, temperatura promedio de 20°C, humedad relativa de 60-70 %, con libre acceso de agua y alimento balanceado. La manipulación y experimentación de los animales se realizó de acuerdo con el Reglamento Federal para el cuidado y uso de animales de laboratorio emitido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo de México.

8.4. *Inducción de obesidad*

El modelo experimental tuvo una duración de 23 semanas. Los grupos experimentales quedaron conformados de la siguiente manera: se dividieron aleatoriamente 48 ratas Wistar macho en 8 grupos (n= 6). El Grupo 1 fue el grupo control, que fue alimentado con una purina de comida estándar para roedores (Rodent Chow Purina®) y agua *ad libitum*; el grupo 2 fue el Grupo HFSD (High Fat Sugar Diet), que fue alimentado con una dieta rica en grasas y sacarosa. La dieta hipercalórica contuvo 41.66% del alimento Rodent Chow Purina®, 20.83% de grasa vegetal,

20.83% manteca de cerdo, 16.66% de sacarosa y agua *ad libitum*; los demás grupos fueron alimentados con la misma dieta del Grupo 2. Adicionalmente, al Grupo 3 se le administró el extracto etanólico de hoja de *Callistemon citrinus* (200mg/kg de peso vía oral con cánula), y a los grupos 4, 5, 6, 7 y 8, se les administró, por vía oral con cánula diariamente, *d*-limoneno (0.4382mg/kg de peso), ácido elágico (0.0743mg/kg de peso), ácido gálico (0.00694mg/kg de peso), ácido *p*-cumárico (0.00047mg/kg de peso), y la mezcla de los compuestos a la misma concentración, respectivamente. Al final de 23 semanas, los animales fueron sacrificados con una sobredosis intraperitoneal de pentobarbital sódico (120 mg/kg de peso corporal). El cerebro fue extraído y se usó para las determinaciones a evaluar.

8.5. *Parámetros antropométricos*

Al final de las 23 semanas de tratamiento se midieron los siguientes parámetros antropométricos: peso corporal final (PCF), con una báscula electrónica, longitud nariz-ano (LNA) y longitud de nariz-cola (LNC) utilizando una cinta métrica. El índice de adiposidad (IA) se calculó de la siguiente manera: $IA = (\text{peso total del tejido adiposo (grasa visceral)} / \text{PCF}) \times 100$. Además, también se determinó el índice de masa corporal (IMC). Para ratas, el índice de Lee (IL) es similar al IMC en humanos y se calculó de la siguiente manera: $IL = (\sqrt[3]{\text{PCF}} / \text{LNA}) \times 1000$. El índice específico de aumento de masa corporal se determinó de la siguiente manera: ganancia de peso (GP) = $dM/M \times 100$. Donde es dM representa la ganancia de peso corporal durante $dt = t_2 - t_1$ y M representa el peso inicial de la rata (Novelli *et al* 2007).

8.6. *Parámetros bioquímicos en suero*

Los parámetros bioquímicos que se midieron fueron la glucosa y triacilglicéridos, los cuales se midieron utilizando kits comerciales de la marca SPINREACT de métodos colorimétricos.

8.7. *Homogeneizado de tejido cerebral*

Se homogeneizó el cerebro completo en buffer de fosfatos 10 mM a 7,4 pH, y se centrifugó a 13,000 rpm durante 20 min a 4 °C. El sobrenadante se recuperó y se almacenó a -80 °C para estimar los marcadores bioquímicos. La concentración de proteína del cerebro completo se estimó por el método de Bradford, 1976. Se usó albúmina de suero bovino como estándar y la

absorbancia se midió en un espectrofotómetro a 590 nm. Se tomó 1 µL del homogenizado del cerebro completo para determinar la concentración de proteína de cada individuo.

8.8. Determinaciones de las enzimas antioxidantes y biomarcadores de estrés oxidante en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica

Los experimentos para la determinación de las enzimas y biomarcadores que fueron medidos se efectuaron por duplicado.

8.8.1. Catalasa (CAT)

La actividad de la enzima catalasa se midió con base a la desaparición del peróxido de hidrógeno usando el método de Aebi, 1984. En celdas de cuarzo se agregaron 920 µL de buffer de fosfato a una concentración de 50 mM y pH 7, 30 µL de homogenado del cerebro completo y 50 µL de peróxido de hidrogeno (H₂O₂) 30 mM. La mezcla se agitó suavemente e inmediatamente después se prosiguió a medir la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 240 nm, registrando la disminución de ésta durante 3 minutos a intervalos de 30 segundos.

8.8.2. Superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de la enzima superóxido dismutasa se determinó con base a la generación de aniones superóxido que reducen el cloruro de nitroazul de tetrazolio (NTB) a un producto de formazán, utilizando el método de Giannopolitis, 1997. En dicho método, se agregaron 40 µL de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (0.1 M), 20 µL de cloruro de nitrotetrazolio azul (NTB) (1.5 mM), 601 µL de buffer de fosfatos (50 Mm, pH 7.5), 50 µL de homogenado de tejido cerebral, 9 µL de riboflavina (0.1 mM) y 0.9 µL de metionina (10 mM). Las muestras se agitaron suavemente y se iluminaron a una distancia de 15 cm con una lámpara de 40 voltios durante 15 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm.

8.8.3. Glutación peroxidasa (GPx)

La actividad de la enzima glutatión peroxidasa se determinó empleando el método de Prabhu, 2001. En dicho método se preparó una mezcla con un volumen final de 1000 µL que contuvo 10 µL NADPH (0.5 mM), 10 µL glutatión reducido (100 mM), 4 µL de 1 U de la enzima

glutación reductasa, 901 μ L buffer de fosfatos (más EDTA 5 mM) 50 mM pH 7, 50 μ L cumeno 30 mM y 25 μ L de homogenado de tejido cerebral. Una vez preparada la mezcla se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 340 nm durante 5 minutos a intervalos de 30 segundos.

8.8.4. *Paraoxonasa (PON1)*

La actividad de la enzima paraoxonasa (PON1) se determinó siguiendo el método de Dantoine, 1998. Se preparó un coctel que contuvo buffer Tris-HCl 25 mM pH 8, CaCl_2 10 mM y acetato de 4-nitrofenilo 1 mM. Posteriormente, se tomaron 5 μ L de homogenado de tejido cerebral y se le adicionaron 1000 μ L del coctel preparado. Finalmente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 402 nm en un espectrofotómetro durante 3 minutos a intervalos de 30 segundos.

8.8.5. *Glutación reducido (GSH)*

El contenido de glutación reducido (GSH) se cuantificó de acuerdo a la técnica de Sedlak y Lindsay, 1968. Se agregaron 62.5 μ L de homogenado de tejido cerebral, 187.5 μ L de Tris buffer (0.2 M, pH 8.2) y 12.5 μ L de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DNTB) (0.01 M). La muestra se mezcló y se le adicionaron 987.5 μ L de metanol absoluto. Posteriormente, las muestras se colocaron en un agitador de laboratorio a 240 rpm durante 15 minutos y enseguida se centrifugaron a 3000 rpm a temperatura ambiente durante 15 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 412 nm.

8.8.6. *Malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE)*

La determinación del malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (HNE) se realizó siguiendo el método de Johnston *et al.* 2007. Para el MDA en tubos de eppendorff, se colocaron 0.65 mL de 1-metil-2-fenilindol (10 mM) y 0.2 mL de homogenado de tejido cerebral (adicionado con 10 μ L de BHT) y se le agregaron 0.15 mL de HCl 37%. La muestra se mezcló y posteriormente se incubaron las muestras a 45 °C durante 60 min. Transcurrido el tiempo, se detuvo la reacción en un baño de hielo. Finalmente, se midió la absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda de 586 nm. Para la determinación del 4-hidroxinonenal (HNE) se realizó lo mismo a lo mencionado en el MDA, excepto que el HCl fue remplazado por ácido metanosulfónico (15.4 M).

8.8.7. Productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP)

Finalmente, el contenido de productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP) se midió de acuerdo a la técnica de Hanasand *et al.* 2012. Se agregaron 1000 µL de buffer de fosfatos (20 mM, pH 7.4), 50 µL de homogenado de tejido cerebral, 50 µL de yoduro de potasio (KI) (1.16 M) y 100 µL de ácido acético. Las muestras se centrifugaron a 5800 g durante 5 minutos y posteriormente se incubaron durante 2 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 340 nm.

8.9. Determinaciones de las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica

Los experimentos para la determinación de cada una de las enzimas evaluadas se efectuaron por duplicado.

8.9.1. Ciclooxygenasa total (COX-1 y COX-2)

La determinación de la actividad enzimática total de la ciclooxygenasa (COX-1 y COX-2) se determinó mediante la técnica descrita por Kumar *et al.* 2011. Dicha técnica se lleva a cabo mediante un ensayo colorimétrico que se basa en la oxidación del diclorhidrato de N,N,N',N'-tetrametil-p-fenilendiamina (TMPD) durante la reducción de PGG₂ a PGH₂, la mezcla de reacción se midió a 603 nm.

8.9.2. 5-lipooxygenasa (5-LOX)

La determinación enzimática de la 5-lipooxygenasa (5-LOX) se realizó de acuerdo al análisis espectrofotométrico establecido por Kumar *et al.* 2011. Dicho método se lleva a cabo mediante la formación de hidroperóxidos provenientes de la reacción enzimática, en la cual se lleva a cabo la oxidación del sulfato ferroso a sulfato férrico. Durante la reacción, el sulfato férrico que se deriva puede formar un complejo con el xilenol naranja, para formar un complejo (ferríco-xilenol-anaranjado) que posee un color azul fuerte. La mezcla de reacción se midió a 590 nm.

8.9.3. *Xantina oxidasa (XO)*

La determinación enzimática de la xantina oxidasa se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Young *et al.* 1997. Se agregaron 40 μ L de homogenado de cerebro, 880 μ L de buffer de fosfatos 33mM pH 7.5, 100 μ L de xantina 0.17 mM. La muestra se mezcló y se incubó a 37 grados centígrados durante 20 minutos. Después de ese tiempo a la muestra se le agregaron 200 μ L de ácido tricloroacético (TCA). La muestra se centrifugó a 10,000 g durante 15 minutos y finalmente se leyó la muestra en un espectrofotómetro a 293nm.

8.9.4. *Mieloperoxidasa (MPO)*

La determinación enzimática de la enzima mieloperoxidasa (MPO) se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Suzuki *et al.* 1983. Se agregaron 425 μ L de PBS 200mM pH 5.5, 10 μ L de H₂O₂ 15mM y 40 μ L de TMB 20mM. La muestra se mezcló y se la añadieron 10 μ L de homogenado de cerebro. La muestra se incubó durante 3 minutos a 37 grados centígrados, para después colocar la muestra en hielo durante 3 minutos. Finalmente, se añadió 1ml de acetato de sodio a 200mM pH 3 y se leyó la absorbancia a 655nm durante 3 minutos.

8.10. *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos fueron registrados y procesados con el programa Microsoft Excel 2019. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software estadístico JMP versión 14.0, en el cual se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía seguido por el procedimiento de comparación múltiple de la prueba de Tukey. Se consideró un nivel de significancia de $*P \leq 0.05$ para las pruebas estadísticas realizadas. Finalmente, para la realización y obtención de los gráficos se utilizó el programa GraphPad Prism versión 9.0.

IX. RESULTADOS

9.1. Parámetros antropométricos y bioquímicos en suero

Los resultados para el peso final de las ratas del grupo administrado únicamente con HFSD mostró valores de peso estadísticamente superiores respecto al grupo control y el resto de los tratamientos experimentales, con excepción del grupo tratado con ácido *p*-cumárico, quien presentó niveles de peso estadísticamente similares al grupo HFSD (**Fig. 2**). Por su parte, los tratamientos con el extracto de hoja de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y la mezcla de los compuestos no mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto al peso del grupo control, manteniendo niveles de peso similares a pesar del consumo de la dieta alta en grasas y sacarosa.

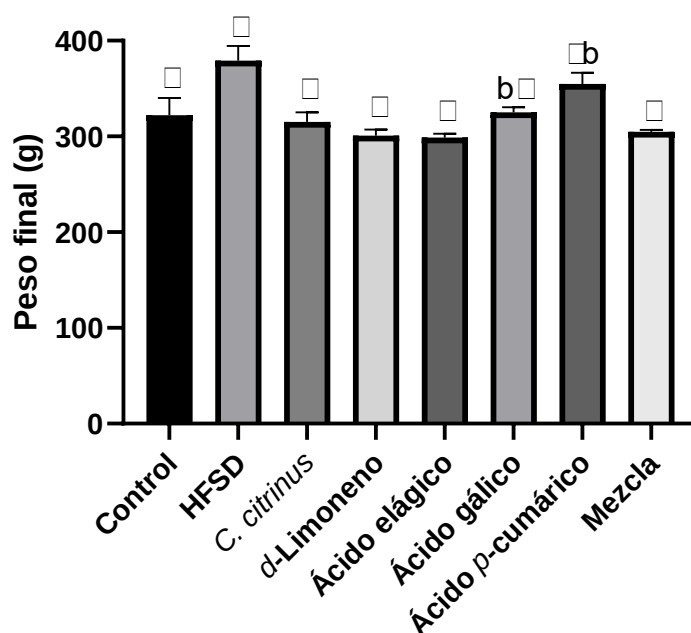


Fig. 2. Peso final. Se muestra el peso en gramos de las ratas de cada uno de los grupos experimentales al término de 23 semanas. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Respecto a la ganancia de masa corporal de las ratas, los resultados mostraron que el grupo tratado únicamente con HFSD y el grupo HFSD + ácido *p*-cumárico presentaron valores de ganancia de masa corporal estadísticamente superiores respecto al grupo control y el resto de los tratamientos experimentales (**Fig. 3**). Por su parte, los tratamientos con el extracto de hoja de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y la mezcla de los compuestos no mostraron diferencias significativas en la ganancia de masa corporal en comparación a los valores de ganancia de peso del grupo control.

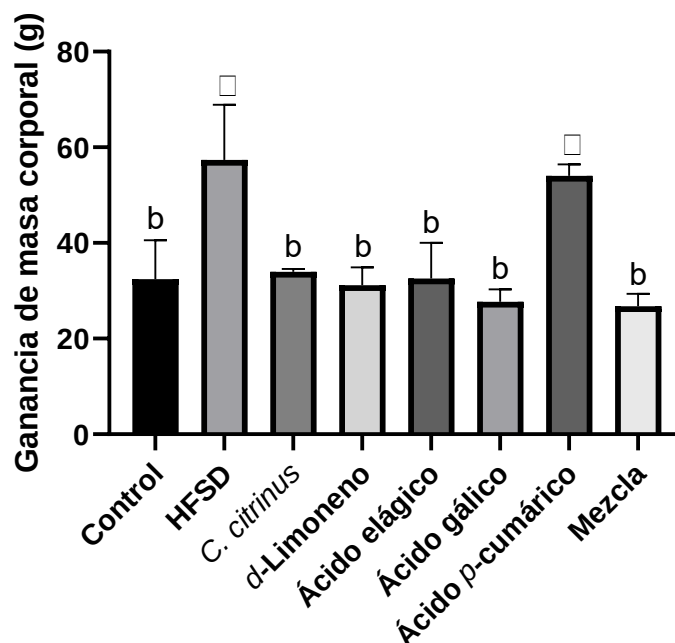


Fig. 3. Tasa de ganancia de masa corporal. Se muestra la ganancia de masa corporal de las ratas para cada tratamiento experimental al término de 23 semanas. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Por su parte, los resultados para el índice de Lee mostraron que el grupo administrado únicamente con HFSD presentó valores estadísticamente superiores respecto al grupo control y el resto de los tratamientos experimentales, con un índice de Lee de 338.01 (**Fig. 4**). Por su parte, los tratamientos con ácido gálico, ácido *p*-cumárico y la mezcla de los compuestos no mostraron diferencias respecto al grupo control, mostrando valores del índice de Lee estadísticamente similares. Por último, los tratamientos con el extracto de hoja de *C. citrinus* y *d*-limoneno presentaron valores del índice de Lee estadísticamente inferiores respecto a los

niveles del grupo control. Sin embargo, no mostraron diferencias respecto a los valores de la mezcla de compuestos.

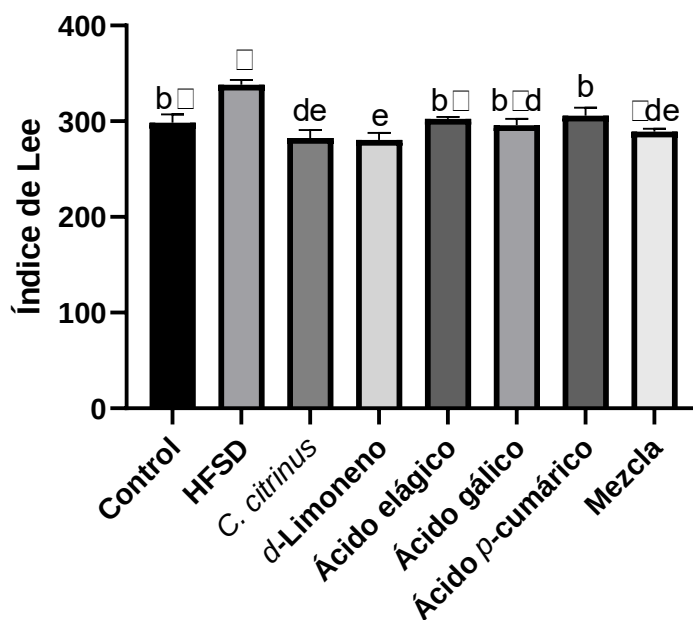


Fig. 4. Índice de Lee. Se muestra el índice de Lee para cada grupo experimental al término de 23 semanas del tratamiento. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Respecto el índice de adiposidad, los resultados mostraron que el grupo HFSD y el grupo HFSD + ácido elágico fueron quienes presentaron valores del índice de adiposidad estadísticamente superiores respecto al grupo control y el resto de los tratamientos. Sin embargo, el grupo de ácido elágico mostró valores de índice de adiposidad similares a los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y la mezcla de los compuestos (**Fig. 5**). Por su parte, los tratamientos con el extracto de hoja de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y la mezcla de los compuestos mostraron diferencias significativas en los valores del índice de adiposidad comparado con el grupo HFSD, presentando valores estadísticamente inferiores. Sin embargo, también mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto a los valores del grupo control, que representó el grupo con los valores de índice adiposidad más bajos.

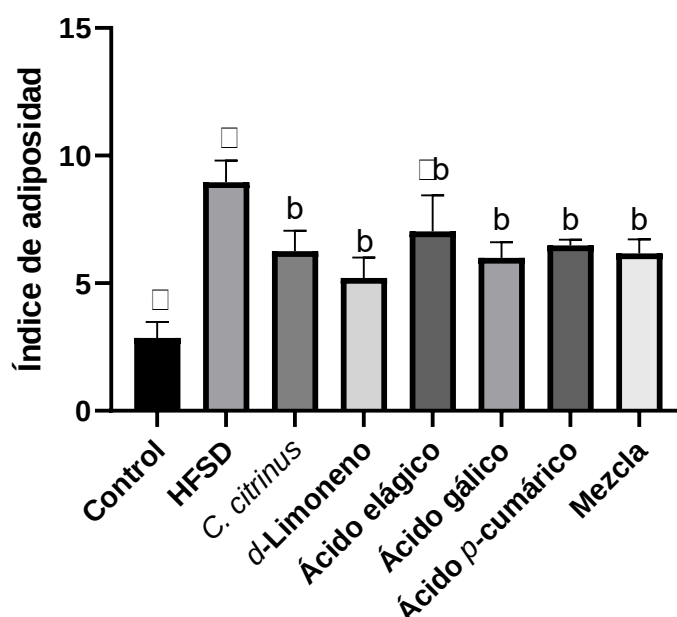


Fig. 5. Índice de adiposidad. Se muestra el índice de adiposidad de las ratas de cada tratamiento experimental al término de 23 semanas. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Por otro lado, los parámetros bioquímicos en suero mostraron niveles de glucosa y triacilglicéridos en ayunas significativamente más altos en el grupo HFSD comparados con los niveles de glucosa y triacilglicéridos del grupo control y el resto de los tratamientos, con excepción de los grupos *C. citrinus* y ácido *p*-cumárico quienes, para el caso de los niveles de glucosa, mostraron niveles estadísticamente similares al grupo HFSD. Sin embargo, el grupo de *C. citrinus* también mostró niveles de glucosa estadísticamente similares al resto de los tratamientos (**Fig. 6**). Mientras que los niveles de glucosa en los tratamientos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y mezcla de compuestos mostraron niveles estadísticamente similares en comparación con los niveles de glucosa del grupo control. Por su parte, los tratamientos con ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla presentaron niveles de triacilglicéridos estadísticamente similares en comparación al grupo control, mientras que el grupo de *C. citrinus* y *d*-limoneno presentaron niveles de triacilglicéridos estadísticamente inferiores respecto al grupo control. Sin embargo, no presentaron diferencias respecto a los niveles de los grupos ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos (**Fig. 7**).

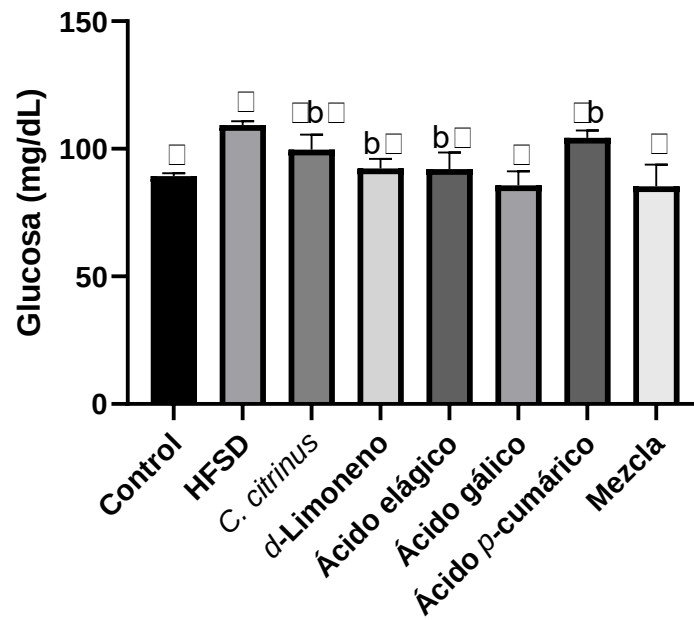


Fig. 6. Glucosa en sangre. Se muestran los niveles de glucosa sérica en ayunas de las ratas de cada grupo experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

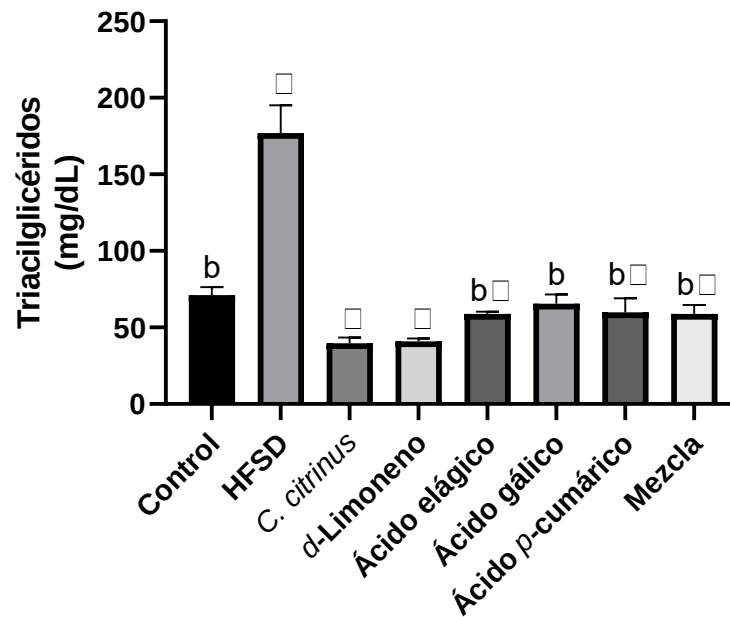


Fig. 7. Triacilglicéridos en sangre. Se muestran los niveles de triacilglicéridos séricos en ayunas de las ratas de cada grupo experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

9.2. Efecto sobre las enzimas antioxidantes y biomarcadores de estrés oxidante

Los resultados para la actividad enzimática de la enzima catalasa en el cerebro de las ratas mostraron un decremento estadísticamente significativo en el grupo HFSD en comparación a los niveles de actividad de la enzima del grupo control y los diferentes tratamientos experimentales. Por su parte, los niveles de actividad de la enzima no mostraron diferencias significativas en los grupos de *C. citrinus*, *d*-limoneno y ácido *p*-cumárico respecto al grupo control. Asimismo, los resultados también mostraron un incremento estadísticamente significativo en el nivel de actividad de la enzima de los grupos ácido elágico, ácido gálico y la mezcla de los compuestos respecto al grupo control. Sin embargo, los niveles de actividad de los grupos ácido elágico y ácido gálico no mostraron diferencias en comparación a los niveles de actividad de los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno y ácido *p*-cumárico (**Fig. 8**).

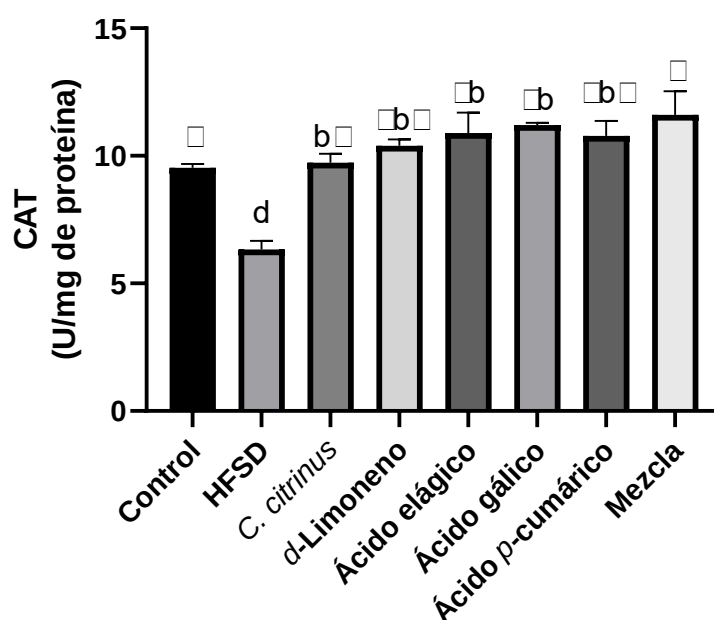


Fig. 8. CAT. Se muestra la actividad de la enzima catalasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Por su parte, los resultados para la actividad enzimática de la enzima superóxido dismutasa mostraron un incremento estadísticamente significativo en el grupo HFSD en comparación a los niveles de actividad de la enzima del grupo control y los diferentes tratamientos experimentales.

Asimismo, los niveles de actividad de la enzima no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los grupos de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos en comparación a los niveles de actividad del grupo control (**Fig. 9**).

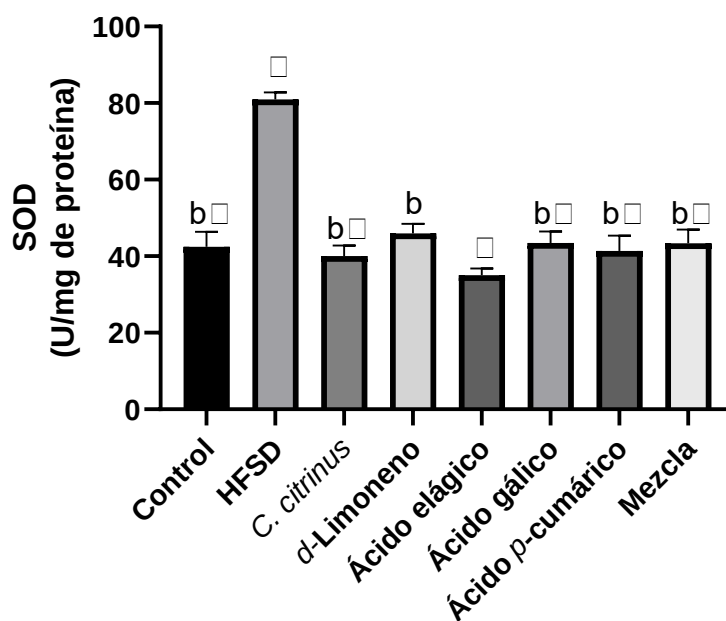


Fig. 9. SOD. Se muestra la actividad de la enzima superóxido dismutasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Respecto a los niveles de actividad de la enzima glutatión peroxidasa, los resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo en el grupo HFSD en comparación a los niveles de actividad de la enzima del grupo control y los diferentes tratamientos experimentales. Por su parte, los niveles de actividad de la enzima del resto de los tratamientos no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control, manteniendo niveles de actividad de la GPx similares al grupo control (**Fig. 10**).

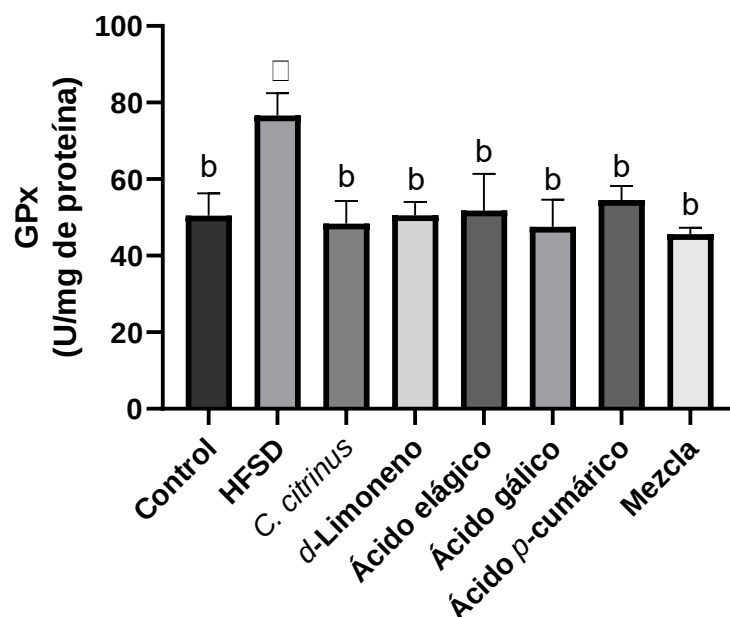


Fig. 10. GPx. Se muestra la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Por otro lado, los resultados de la actividad de la enzima paraoxonasa 1 mostraron valores estadísticamente inferiores en el grupo tratado únicamente con HFSD en comparación a los valores de actividad del grupo control y de los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos. Asimismo, los resultados mostraron niveles estadísticamente diferentes en la actividad de la enzima en los grupos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y mezcla de los compuestos respecto a los niveles del grupo control. Finalmente, los grupos de *C. citrinus* y ácido *p*-cumárico fueron quienes presentaron niveles de actividad estadísticamente similares a los niveles de actividad de la enzima del grupo control. Sin embargo, el grupo de ácido *p*-cumárico no mostró diferencias significativas respecto a los grupos *d*-limoneno, ácido elágico y ácido gálico (**Fig. 11**).

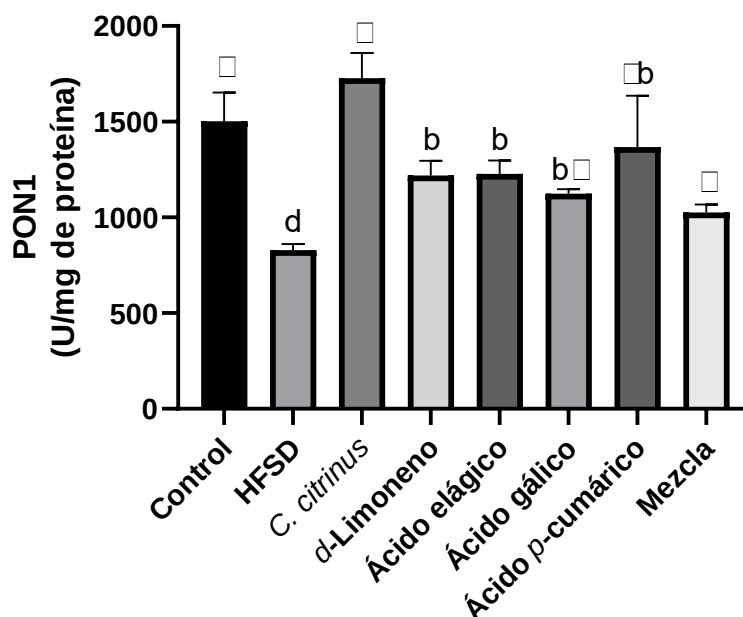


Fig. 11. PON1. Se muestra la actividad de la enzima paraoxonasa 1 en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

En relación a los biomarcadores de estrés oxidante en el cerebro de las ratas, los resultados mostraron que el contenido de glutatión reducido decrecentó significativamente en los grupos HFSD y *d*-limoneno en comparación al contenido de GSH del grupo control. Por su parte, los grupos *C. citrinus*, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos presentaron valores de GSH similares al grupo control. Sin embargo, el grupo de ácido gálico no mostró niveles estadísticamente diferentes respecto a los grupos HFSD y *d*-limoneno (**Fig. 12**).

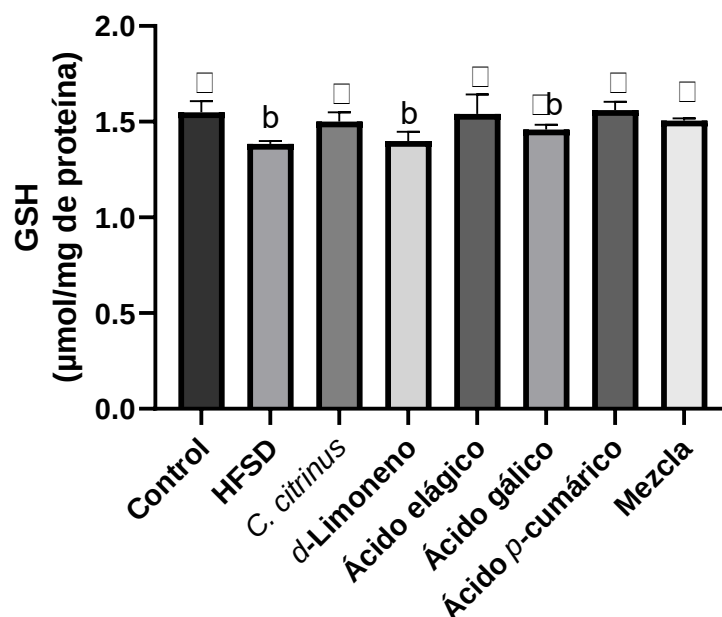


Fig. 12. GSH. Se muestra el contenido de glutatión reducido en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Respecto al contenido de productos avanzados de oxidación de proteínas, los resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo en el grupo tratado solamente con HFSD en comparación al grupo control y el resto de los tratamientos experimentales. Por su parte, los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos mostraron niveles de contenido de AOPP estadísticamente similares en comparación al grupo control a pesar del consumo de la dieta alta en grasas y azúcar (**Fig. 13**).

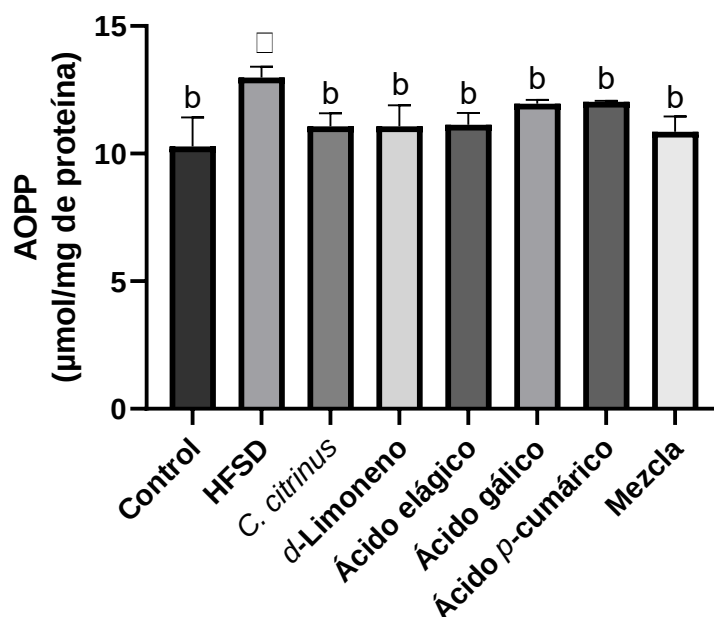


Fig. 13. AOPP. Se muestra el contenido de productos avanzados de oxidación de proteínas en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

En relación al contenido de malondialdehído, el grupo HFSD mostró un incremento estadísticamente significativo en comparación con el grupo control y el resto de los tratamientos. Por su parte, el contenido de MDA de los grupos de los compuestos, la mezcla de éstos y el grupo del extracto de hoja de *C. citrinus* mostraron valores similares en comparación al grupo control (**Fig. 14**).

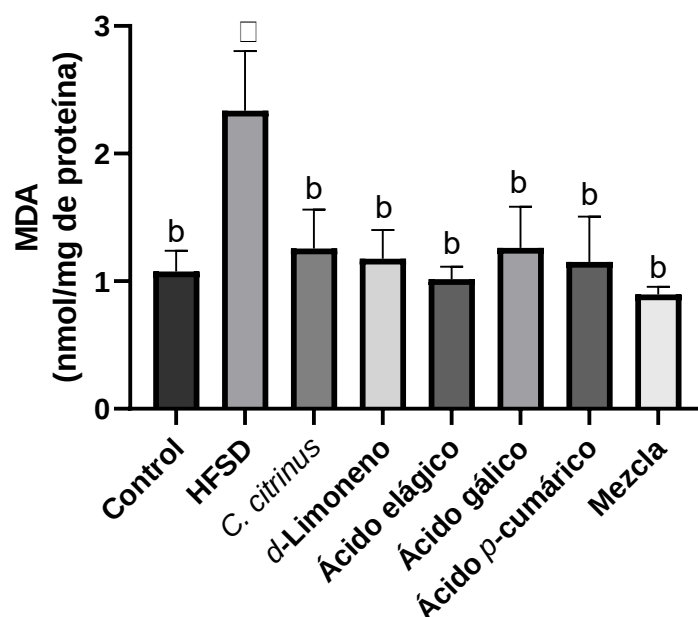


Fig. 14. MDA. Se muestra el contenido de malondialdehído en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Finalmente, el contenido de 4-hidroxinonenal presentó un incremento estadísticamente significativo en los grupos HFSD, *C. citrinus* y ácido gálico en comparación al contenido de 4-HNE del grupo control y el resto de los tratamientos. Sin embargo, el grupo de ácido gálico no mostró diferencias significativas respecto al grupo control y el resto de los tratamientos. Por su parte, los grupos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos mostraron niveles de 4-HNE estadísticamente similares al contenido de 4-HNE del grupo control (**Fig. 15**).

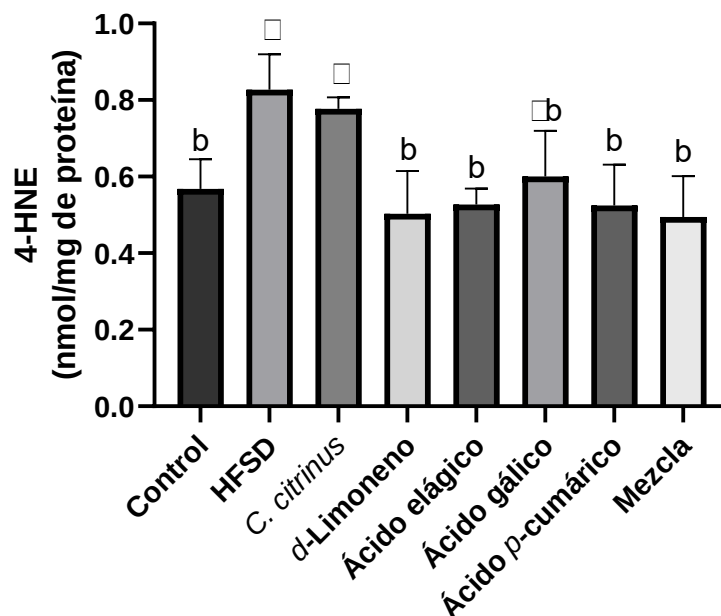


Fig. 15. 4-HNE. Se muestra el contenido de 4-hidroxinonenal en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

9.3. Efecto sobre las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio

En relación a las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de las ratas, los resultados para la actividad de la ciclooxygenasa total (COX-1 y COX-2) mostraron un incremento estadísticamente significativo en los valores de actividad del grupo HFSD en comparación con los niveles de actividad de la enzima del grupo control. Todos los demás grupos presentaron niveles de actividad estadísticamente inferiores en comparación con el grupo HFSD y valores estadísticamente similares en relación a los valores de actividad del grupo control (**Fig. 16**).

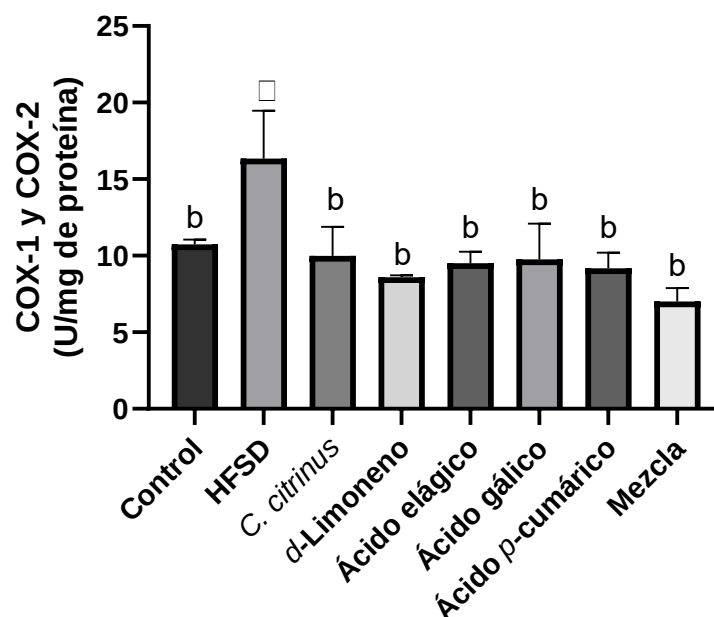


Fig. 16. COX-1 y COX-2. Se muestra la actividad enzimática de la ciclooxigenasa total (COX-1 y COX-2) en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Por otro lado, los resultados para la actividad de la enzima 5-lipooxigenasa mostraron un incremento estadísticamente significativo en los niveles de actividad del grupo HFSD en comparación a los valores de actividad del grupo control. Por su parte, los grupos *C. citrinus* y ácido gálico, si bien no mostraron diferencias significativas respecto a la actividad de la enzima en comparación al grupo HFSD, tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control y el resto de los tratamientos. Finalmente, los grupos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos mostraron valores de actividad de la enzima estadísticamente similares en relación a los niveles de actividad del grupo control (**Fig. 17**).

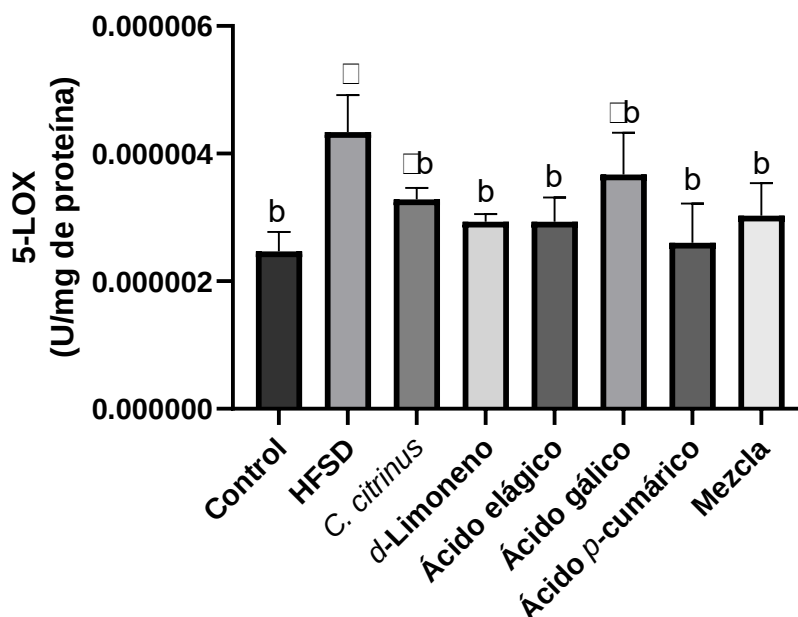


Fig. 17. 5-LOX. Se muestra la actividad de la enzima 5-lipooxigenasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Para el caso de la enzima xantina oxidasa, los resultados mostraron un incremento significativo en el grupo HFSD en comparación al grupo control y el resto de los grupos experimentales. El grupo *d*-limoneno presentó valores de actividad significativamente mayores en relación a los niveles de actividad del grupo control y valores significativamente menores respecto al grupo HFSD. Por su parte, los grupos *C. citrinus*, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de compuestos mostraron valores de actividad de la enzima estadísticamente similares en relación al grupo control (**Fig. 18**).

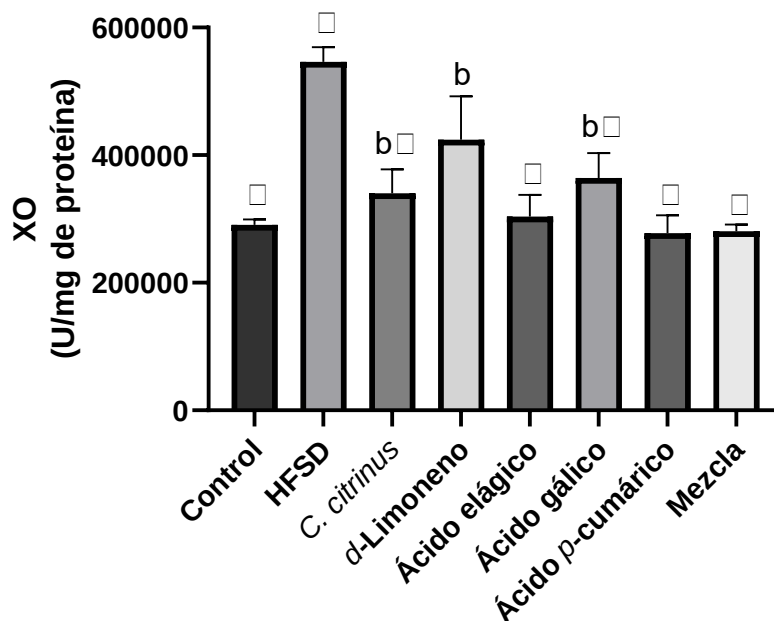


Fig. 18. XO. Se muestra la actividad de la enzima xantina oxidasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

Finalmente, los resultados para la actividad enzimática de la mieloperoxidasa mostraron un incremento estadísticamente significativo en los grupos HFSD, *C. citrinus*, ácido gálico y ácido *p*-cumárico en comparación a los niveles de actividad del grupo control. Por su parte, los grupos *d*-limoneno, ácido elágico y mezcla de compuestos mostraron niveles de actividad estadísticamente similares en comparación a los valores de actividad de la enzima del grupo control (**Fig. 19**).

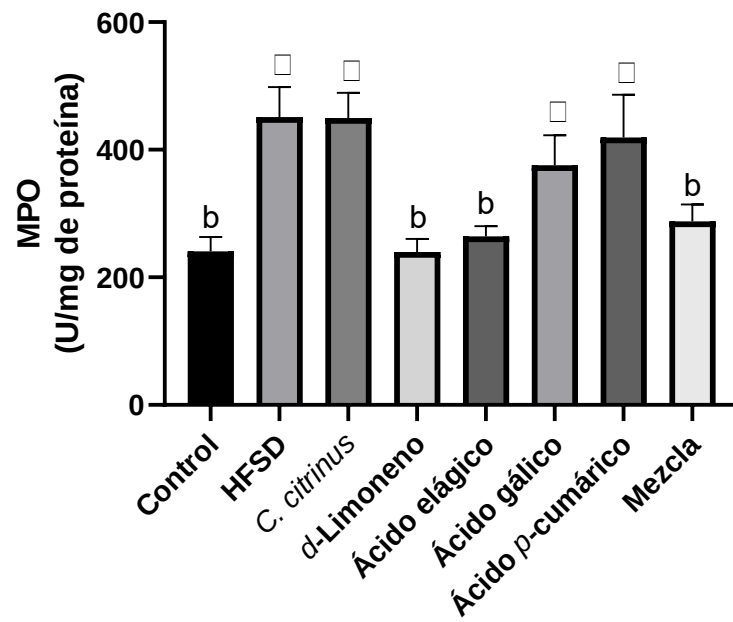


Fig. 19. MPO. Se muestra la actividad de la enzima mieloperoxidasa en el cerebro de las ratas de cada tratamiento experimental. ANOVA de una vía seguido de Tukey ($p < 0.05$).

X. DISCUSIÓN

Nuestro estudio muestra por primera vez el efecto de los compuestos mayoritarios de *Callistemon citrinus* sobre el estrés oxidante en el cerebro de ratas inducido por el consumo de HFSD. El consumo de dietas hipercalóricas puede conducir a la desregulación de los niveles de glucosa y triacilglicéridos en sangre y puede aumentar parámetros como el peso corporal, ganancia de masa corporal, índice de Lee y de adiposidad. En este sentido, en el presente estudio encontramos que las ratas que fueron alimentadas con una dieta alta en grasas y sacarosa durante 23 semanas mostraron un aumento significativo en cada uno de los parámetros antropométricos y bioquímicos medidos en comparación al grupo control. Estos resultados se relacionan con lo reportado en estudios previos por parte de nuestro grupo de trabajo, en donde hemos demostrado el impacto de dietas hipercalóricas sobre el incremento de peso, índice de adiposidad, ganancia de masa corporal e índice de Lee cuando las ratas son alimentadas con una dieta alta en grasas y fructosa (Ortega *et al.* 2022), así como cuando las ratas son alimentadas con una dieta alta en grasas y sacarosa (Ayala *et al.* 2022). Por su parte, nuestros resultados mostraron que los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos presentaron efectos diferenciales positivos sobre los parámetros antropométricos, manteniendo o reduciendo los valores respecto al grupo control. Ya hemos reportado en trabajos previos los efectos positivos del extracto de *C. citrinus* y el *d*-limoneno sobre estos parámetros en ratas sometidas a dietas con un alto contenido de grasas y azúcar (Ortega *et al.* 2022) (Ayala *et al.* 2022). De todos los tratamientos, los grupos *d*-limoneno y ácido elágico fueron quienes presentaron los mejores resultados, mostrando efecto inhibitorio sobre los parámetros antropométricos a pesar del consumo de HFSD. Para el caso del *d*-limoneno ya hemos demostrado su capacidad antiobesogénica en ratas alimentadas con HFSD (Ayala *et al.* 2022). En relación al índice de Lee, el cual establece que valores superiores a 310 indican grado de obesidad en ratas, nuestros resultados mostraron que el grupo tratado únicamente con HFSD superó estos niveles, mostrando un valor de 338.01. Mientras que el grupo control y el resto de los tratamientos mantuvieron valores debajo de 310.

Por otro lado, nuestros resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo de los niveles de glucosa y de los niveles de triacilglicéridos para el grupo HFSD en comparación con los niveles del grupo control y el resto de los tratamientos experimentales. En Ayala *et al.* 2022, se reportó el efecto de los terpenos mayoritarios de *C. citrinus* en ratas con obesidad, reportando,

en particular, que el tratamiento con *d*-limoneno redujo los niveles de glucosa y triacilglicéridos en las ratas tratadas con una dieta alta en grasas y azúcar, mismo resultado reportado en el presente trabajo. Se ha informado que plantas que contienen *d*-limoneno pueden estimular la secreción de insulina en las células pancreáticas. En este sentido, se ha sugerido que la capacidad del *d*-limoneno para reducir los niveles de glucosa en ayunas puede deberse a la potenciación de la secreción de insulina, que aumenta la utilización de la glucosa por los tejidos (Murali y Saravanan, 2012).

El consumo continuado de una dieta alta en grasas y azúcar, junto con un aumento en parámetros como los niveles de glucosa y triacilglicéridos en sangre y el peso corporal, puede exacerbar la sobreproducción de ROS y ocasionar un estado de estrés oxidante/inflamación sistémica. Todo lo anterior puede llevar a la desregulación del sistema antioxidante del organismo, que puede reflejarse en una actividad aumentada o disminuida de enzimas antioxidantes. En este sentido, la determinación de la actividad de la CAT, SOD y GPx representa un parámetro importante para la evaluación del estrés oxidante, ya que estas enzimas representan enzimas antioxidantes directamente involucradas en la neutralización de las ROS (Pham, 2008), por lo que su actividad puede tomarse como un indicador directo del estado de estrés oxidante del organismo. En este estudio encontramos una disminución de la actividad de la CAT en el grupo que fue tratado únicamente con HFSD. Este resultado se relaciona con lo reportado en el artículo de Uzar *et al.* 2012, en donde se evaluó el efecto del ácido elágico contra el estrés oxidante en el cerebro de ratas diabéticas inducidas con estreptozocina, reportando que en el grupo de las ratas diabéticas hubo una disminución significativa de la actividad de la CAT en el tejido cerebral. Asimismo, en el artículo de De Mello *et al.* 2019, se evaluó las alteraciones cerebrales de ratones en un modelo de obesidad inducida por una dieta rica en grasas, encontrando que los animales del grupo HFD mostraron una actividad reducida de la enzima CAT en el hipocampo del cerebro de los ratones. Por otro lado, nuestros resultados concuerdan con lo reportado en dicho artículo, en donde reportaron un aumento de la actividad de la SOD en el hipotálamo, hipocampo, la corteza prefrontal y el cuerpo estriado. En otro trabajo llevado a cabo por Maciejczyk *et al.* 2018, donde se evaluó el daño oxidativo en el hipotálamo y la corteza cerebral de ratas con resistencia a la insulina inducida por una dieta rica en grasas, reportaron un incremento en la actividad de la SOD-1 en la corteza cerebral de los animales del grupo HFD. El hecho de que nuestros resultados mostraran una disminución en la actividad de la CAT junto con un aumento de la

actividad de la SOD y la GPx nos podría indicar la presencia de un estado de estrés oxidante en el cerebro de las ratas del grupo HFSD, respaldado por una actividad elevada de SOD y GPx en respuesta al aumento de la producción de ROS. Específicamente, en respuesta a un aumento en la generación de anión superóxido y el aumento subsecuente, por la actividad de la SOD, en la generación de peróxido de hidrogeno, cuya dismutación se lleva a cabo por la CAT y la GPx. En este sentido, inferimos que la actividad incrementada de la GPx en el grupo de HFSD se encuentra relacionada con una mayor actividad de la SOD y con los niveles reducidos de GSH. Por otro lado, el hecho de que nuestros resultados mostraran niveles de actividad de estas enzimas similares al grupo control en los grupos tratados con los compuestos mayoritarios de ésta, así como con la mezcla de éstos, nos indica la importancia de estos compuestos en la actividad antioxidante de esta planta reportada en trabajos previos (Ortega *et al.* 2022) (Ayala *et al.* 2022).

Este estudio incluyó la evaluación de la enzima PON1 debido a su función antioxidante y sus propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas (Francik *et al.* 2014). Existen reportes sobre su posible implicación en enfermedades neurodegenerativas; se ha reportado que una baja actividad de la PON1 puede mediar como factor de riesgo en trastornos neurológicos como la enfermedad de Alzheimer (Suszyńska *et al.* 2014). En un trabajo llevado a cabo por Francik *et al.* 2014, se evaluó el efecto neuroprotector del *Cornus mas* en el tejido cerebral de ratas Wistar, reportando que una dieta rica en fructosa y una dieta con un alto contenido de grasa disminuían la actividad de la PON1 en el tejido cerebral de las ratas. Asimismo, en dicho estudio también se encontró que la adición de frutos de cereza cornalina (ricos en polifenoles y vitamina C) a la dieta incrementó la actividad de la PON1 en el tejido cerebral. Estos resultados concuerdan con nuestros resultados mostrados, en donde hubo una disminución de la actividad de la PON1 en el grupo HFSD, mientras que los grupos del extracto de hoja de *C. citrinus* y ácido *p*-cumárico mostraron niveles de actividad de la PON1 similares al grupo control. Por su parte, los grupos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y mezcla de compuestos mostraron niveles significativamente superiores respecto al grupo HFSD a pesar del consumo de la dieta hipercalórica.

En nuestro estudio encontramos una disminución del contenido de GSH y un aumento en el contenido de AOPP, MDA y 4-HNE en el grupo tratado únicamente con HFSD, lo que refleja una respuesta favorable en el establecimiento de un estado de estrés oxidante producido por el

consumo de una dieta alta en grasas y azúcar. Estos resultados concuerdan con lo reportado en Keshk *et al.* 2020, en donde encontraron que ratas Wistar que fueron alimentadas con HFD presentaron una disminución significativa de GSH y un aumento significativo de los niveles de MDA en la corteza cerebral de las ratas. Asimismo, en el estudio llevado a cabo por De Mello *et al.* 2019, se reportó una disminución del contenido de GSH en el hipotálamo, hipocampo y el cuerpo estriado y un aumento de los niveles de MDA en el hipotálamo e hipocampo de ratones que fueron sometidos a una dieta alta en grasas. Los diferentes tratamientos experimentales mostraron efectos diferenciales sobre cada uno de los biomarcadores de estrés oxidante que fueron evaluados. Para el caso del tratamiento de HFSD + ácido elágico, los resultados mostraron un efecto positivo en la mayoría de los biomarcadores medidos, mostrando valores similares al grupo control. Ya se ha reportado la capacidad antioxidante que tiene el ácido elágico en el cerebro en diferentes modelos en los que el estrés oxidante se encuentra implicado. Por ejemplo, en el estudio de Uzar *et al.* 2012, se reportó que en el cerebro de ratas diabéticas inducidas con estreptozocina hubo un agotamiento significativo de las actividades de la PON-1 y CAT junto con niveles elevados de MDA en el tejido cerebral de las ratas. Sin embargo, en las ratas diabéticas tratadas con ácido elágico se revirtieron significativamente las actividades de la PON-1 y CAT y se redujeron los niveles de MDA. En otro estudio realizado por Aslan *et al.* 2020, se investigó el papel neuroprotector del ácido elágico en la lesión cerebral inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄) en ratas, encontrando que las ratas tratadas con CCl₄ mostraron una disminución significativa en la actividad de la CAT y el contenido de GSH, junto con un aumento en los niveles de MDA en el tejido cerebral de las ratas. Sin embargo, en las ratas tratadas con CCl₄ + ácido elágico la actividad de la CAT y los niveles de GSH aumentaron significativamente, mientras que los niveles de MDA se redujeron significativamente. Por otro lado, ya se ha reportado también el efecto del ácido *p*-cumárico contra condiciones de estrés oxidante. Por ejemplo, en el estudio de Sakamula *et al.* 2018, se evaluó el efecto neuroprotector del ácido *p*-cumárico en ratones con lesiones por isquemia-reperfusión cerebral, reportando que el pretratamiento con ácido *p*-cumárico redujo de manera significativa los niveles de MDA en el tejido cerebral de los ratones, además de aumentar significativamente la actividad de la CAT y SOD en el cerebro de los ratones con lesión por isquemia-reperfusión. Por su parte, en un estudio llevado a cabo por Eddin *et al.* 2023, donde se evaluó el efecto del limoneno en un modelo de neurodegeneración dopaminérgica inducida por rotenona en ratas, se encontró que el

tratamiento con limoneno redujo significativamente los niveles de MDA y mejoró significativamente las actividades de la SOD y CAT, así como las concentraciones de GSH en el mesencéfalo de las ratas que recibieron rotenona en comparación con las ratas inyectadas solo con rotenona.

Por otro lado, encontramos un aumento en la actividad de la ciclooxigenasa total (COX-1 y COX-2), 5-lipooxigenasa, xantina oxidasa y mieloperoxidasa en el grupo que fue tratado solamente con HFSD, por lo que la respuesta inflamatoria en el cerebro de las ratas como resultado de una dieta alta en grasas y azúcar se puso de manifiesto en el presente estudio. Los resultados mostraron efectos diferenciales del extracto de hoja de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y la mezcla de los compuestos sobre las diferentes enzimas que se evaluaron, siendo los tratamientos de HFSD + ácido elágico y HFSD + mezcla de los compuestos quienes mostraron efectos positivos en cada una de las enzimas. En el artículo de Keshk *et al.* 2020, se reportó un aumento significativo en la actividad de la enzima MPO en la corteza cerebral de ratas Wistar que fueron tratadas con HFD, resultado que se relaciona con lo reportado en el presente estudio. Asimismo, en el artículo de Eddin *et al.* 2023, se reportó que el tratamiento con limoneno en ratas inyectadas con rotenona produjo una reducción significativa en la actividad de COX-2 en el cuerpo estriado del cerebro de las ratas, resultado que se correlaciona con lo reportado aquí, en donde encontramos una disminución significativa de la actividad de la ciclooxigenasa total (COX-1 y COX-2) en el cerebro de las ratas tratadas con HFSD + *d*-limoneno. Ya se ha demostrado que el cerebro de roedores que se someten a dietas ricas en grasas y carbohidratos muestran una homeostasis redox deteriorada, que incluye una actividad elevada de enzimas que generan radicales libres, como la xantina oxidasa (Lizarbe *et al.* 2019) y la mieloperoxidasa. En nuestro estudio encontramos que los tratamientos con ácido elágico y la mezcla de los compuestos disminuyeron significativamente los niveles de actividad de ambas enzimas a pesar del consumo de HFSD.

La sobreproducción de ROS puede conducir a procesos como la lipoperoxidación en donde se pueden generar a su vez productos reactivos como el caso del MDA y 4-HNE, los cuales pueden llevar a la oxidación de proteínas para formar AOPP. Asimismo, procesos como la lipoperoxidación pueden exacerbar la actividad de enzimas que pueden conducir a la oxidación de los lípidos de las membranas, como el caso de las enzimas ciclooxigenasas (COX-1 y COX2)

y 5-LOX. Todo lo anterior puede conducir al reclutamiento de células relacionadas con los procesos inflamatorios del organismo, como el caso del reclutamiento de macrófagos o neutrófilos, que pueden activar enzimas proinflamatorias como la xantina oxidasa para producir más ROS, o como el caso de la MPO, cuya actividad exacerbada puede conducir a la sobreproducción de ácido hipocloroso, que a su vez puede conducir a la oxidación de las lipoproteínas, y con ello conducir a un mayor reclutamiento de células del proceso inflamatorio, exacerbando el estado de estrés oxidante y de inflamación sistémica del cuerpo. Aquí, proponemos una atenuación de este estado de estrés oxidante/inflamación través de la administración del extracto *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos en donde se observaron efectos positivos particulares sobre las enzimas del sistema antioxidante, neutralizando la sobreproducción de ROS al modular las actividades de la SOD, GPx, CAT y el contenido de GSH. Asimismo, observamos una reducción de los niveles de MDA por parte de los grupos *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos, una reducción de los niveles de 4-HNE por parte del *d*-limoneno, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos, una reducción de los niveles de AOPP por parte *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos, una reducción de la actividad de la COX-1 y COX-2 por parte del *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos, así como una reducción de la actividad de la 5-LOX por parte del *d*-limoneno, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos. Además, observamos una disminución de la actividad de la XO por parte de *C. citrinus*, ácido elágico, ácido *p*-cumárico y mezcla de los compuestos y una reducción en la actividad de la enzima MPO por parte del *d*-limoneno, ácido elágico y mezcla de los compuestos. Por su parte, encontramos un aumento de la PON1 por parte de *C. citrinus* y ácido *p*-cumárico. Finalmente, también encontramos una disminución de la glucosa y triacilglicéridos por parte de los tratamientos, así como una disminución de la ganancia de masa corporal por parte de *C. citrinus*, *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y mezcla de los compuestos (**Fig.20**).

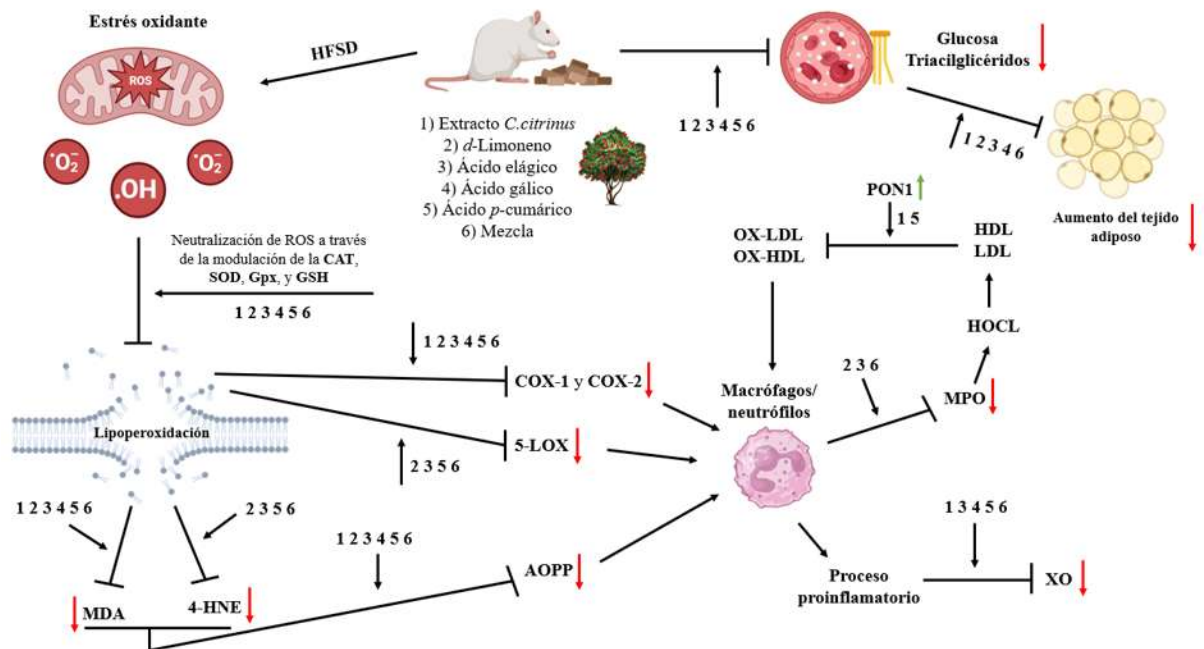


Fig. 20. Mecanismo general propuesto. 1) *C. citrinus*. 2) *d*-Limoneno. 3) Ácido elágico. 4) Ácido gálico. 5) Ácido *p*-cumárico. 6) Mezcla de los compuestos. MDA (malondialdehído). 4-HNE (4-hidroxinonenal). AOPP (productos avanzados de oxidación de proteínas). COX-1 y COX-2 (ciclooxigenasas 1 y 2). 5-LOX (5-lipooxigenasa). XO (xantina oxidasa). MPO (mieloperoxidasa). HOCL (ácido hipocloroso). HDL (lipoproteína de alta densidad). LDL (lipoproteína de baja densidad). PON1 (paraoxonasa1). OX-LDL (lipoproteína de baja densidad oxidada). OX-HDL (lipoproteína de alta densidad oxidada).

XI. CONCLUSIÓN

Los compuestos *d*-limoneno, ácido elágico, ácido gálico y el tratamiento con la mezcla de los compuestos mayoritarios mostraron una reducción en la ganancia de masa corporal y los niveles de glucosa y triacilglicéridos en sangre. Sin embargo, todos los compuestos y la mezcla de ellos presentaron efectos positivos diferenciales sobre las actividades de las enzimas antioxidantes, biomarcadores de estrés oxidante y las enzimas involucradas en el proceso proinflamatorio en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica, lo que sugiere la importancia de estos compuestos en las actividades de *Callistemon citrinus*.

XII. LITERATURA CITADA

- Aebi, H. 1984. **Catalase *in vitro*. Methods Enzymol. ScienceDirect Journals.** 105: 121-126.
- Ahmed, R. Tariq, M. Ahmad, I.S. Fouly, H. Hasan, A. Kushad, M. 2019. **Poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles loaded with *Callistemon citrinus* phenolics exhibited anticancer properties against tree breast cancer cell lines. *J Food Qual.* 2019:1–12.**
- Aslan, A. Gok, O. Beyaz, S. Arslan, E. Erman, O and Ağca, C. A. 2020. **The preventive effect of ellagic acid on brain damage in rats via regulating of Nrf-2, NF-kB and apoptotic pathway. *Journal of Food Biochemistry,* e13217.**
- Ayala-Ruiz L. A. Ortega-Pérez L.G. Piñón-Simental J. S. Magaña-Rodriguez O.R. Meléndez-Herrera, E. Rios-Chavez, P. 2022. **Role of the major terpenes of *Callistemon citrinus* against the oxidative stress during a hypercaloric diet in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 153:113505.**
- Bradford, M. 1976. **A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Biochem.* 72 248–254.**
- Carvajal-Carvajal, C. 2019. **Especies reactivas del oxígeno: formación, funcion y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica,* 36(1), 91-100.**
- Chaudhary, P. Janmeda, P. Docea, A. O. Yeskaliyeva, B. Abdull, A. F. Modu, B. Calina, D and Sharifi-Rad, J. 2023. **Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front. Chem.* 11:1158198.**
- Delgado-Olivares, L. Betanzos-Cabrera, G y Sumaya-Martínez, Ma. T. 2010. **Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia,* 18(50),10-15.**
- De Mello, A.H. Schraiber, R.B. Goldim, M.P.S. 2019. **Omega-3 Fatty Acids Attenuate Brain Alterations in High-Fat Diet-Induced Obesity Model. *Mol Neurobiol* 56, 513–524.**
- Eddin, L. Azimullah, S. Jha, N. Nagoor-Meeran, M. Beiram, R. Ojha, S. 2023. **Limonene, a Monoterpene, Mitigates Rotenone-Induced Dopaminergic Neurodegeneration by Modulating Neuroinflammation, Hippo Signaling and Apoptosis in Rats. *Int J Mol Sci.* 24(6):5222.**

- Eddin, L.B. Jha, N.K. Meeran, M.F.N. Kesari, K.K. Beiram, R & Ojha, S. 2021. **Neuroprotective Potential of Limonene and Limonene Containing Natural Products.** *Molecules* 26, no. 15: 4535.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. 2024. **Obesidad.** Consultado el 17 de febrero de 2025, en: <https://www.insp.mx/avisos/presentan-resultados-de-la-ensanut-2020-2023>
- Francik, R. Kryczyk, J. Krośniak, M. Berköz, M. Sanočka, I. Francik, S. 2014. **The neuroprotective effect of *Cornus mas* on brain tissue of Wistar rats.** *Scientific World Journal*. 847368.
- Giannopolitis, C.N. Reis, S.K. 1977. **Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants.** *Plant Physiol.* 59: 309-314
- Halliwell, B y Gutteridge, J. 2015. **Free Radicals in Biology and Medicine.** 5a. ed. Oxford. Clarendon Press. 9780198717478
- Hanasand, M. Omdal, R. Norheim, K.B. Gøransson, L.G. Brede, C. Jonsson, G. 2012. **Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma.** *Clin Chim Acta*. 18;413(9-10):901-6.
- Johnston, J. W. Horne, S. Harding, K. Benson, E.E. 2007. **Evaluation of the 1-methyl-2-phenylindole colorimetric assay for aldehydic lipid peroxidation products in plants: Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal.** *Plant Physiology and Biochemistry*. 45(2), 108-112.
- Jomova, K. Raptova, R. Alomar, S.Y. *et al.* 2023. **Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging.** *Arch Toxicol* 97. 2499–2574.
- Jubaidi, F.F. Zainalabidin, S. Taib, I.S. Abdul-Hamid, Z. Mohamad-Anuar, N.N. Jalil, J. Mohd-Nor, N.A. Budin, S.B. 2022. **The Role of PKC-MAPK Signalling Pathways in the Development of Hyperglycemia-Induced Cardiovascular Complications.** *International Journal of Molecular Sciences*. 23(15):8582.
- Keshk, W. A. Ibrahim, M. A. Shalaby, S. M. Zalat, Z. A. Elseady, W. S. 2020. **Redox status, inflammation, necroptosis and inflammasome as indispensable contributors to high fat diet (HFD)-induced neurodegeneration; Effect of N-acetylcysteine (NAC).** *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 680, 108227.
- Kilic, I. Yeşiloğlu, Y. Bayrak, Y. 2014. **Spectroscopic studies on the antioxidant activity of ellagic acid.** *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 130:447-52.

- Kumar, K.A. Reddy, T. C. Reddy, G.V. Reddy, D.B. Mahipal, S.V. Sinha, S. Gaikwad, A.N. Reddanna, P. 2011. **High-throughput screening assays for cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase, the targets for inflammatory disorders.** *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 48(4), 256–261,
- Li, Y. Zhao, T. Li, J. Xia, M. Li, Y. Wang, X. Liu, C. Zheng, T. Chen, R. Kan, D. Xie, Y. Song, J. Feng, Y. Yu, T. Sun, P. 2022. **Oxidative Stress and 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE): Implications in the Pathogenesis and Treatment of Aging-related Diseases.** *Journal of Immunology Research*. 2233906.
- Lizarbe, B. Soares, A.F. Larsson, S. Duarte, J.M.N. 2019. **Neurochemical modifications in the hippocampus, cortex and hypothalamus of mice exposed to long-term high fat die.** *Frontier in Neuroscience*. 12:985.
- López-Mejía, A. Ortega-Pérez, L.G. Godínez-Hernández, D. Nateras-Marin, B. Meléndez-Herrera, E. Rios-Chavez, P. 2019. **Chemopreventive effect of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels against colon cancer induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rats.** *J Cancer Res Clin Oncol*. 145(6):1417–1426.
- Lobo, V. Patil, A. Phatak, A. Chandra, N. 2010. **Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health.** *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118–126.
- Maciejczyk, M. Żebrowska, E. Zalewska, A. Chabowski, A. 2018. **Redox Balance, Antioxidant Defense, and Oxidative Damage in the Hypothalamus and Cerebral Cortex of Rats with High Fat Diet-Induced Insulin Resistance.** *Oxid Med Cell Longev*. 2018:6940515.
- Martemucci, G. Costagliola, C. Mariano, M. D'andrea, L. Napolitano, P. D'Alessandro, A.G. 2022. **Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health.** *Oxygen.*; 10.3390/2020006.
- McMurray, F. Patten, D. A. Harper, M. E. 2016. **Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity-Recent Findings and Empirical Approaches.** *Obesity*. 24(11), 2301–2310.
- Mirshekari-Jahangiri, H. Sarkaki, A. Farbood, Y. *et al.* 2020. **Gallic acid affects blood-brain barrier permeability, behaviors, hippocampus local EEG, and brain oxidative stress in ischemic rats exposed to dusty particulate matter.** *Environ Sci Pollut Res*. 27, 5281–5292.

- Mony, T.J. Elahi, F. Choi, J.W. Park, S.J. 2022. **Neuropharmacological effects of terpenoids on preclinical animal models of psychiatric disorders: A review.** *Antioxidants*. 11:1834
- Morrison, C.D. Pistell, P.J. Ingram, D.K. Johnson, W.D. Liu, Y. Fernandez-Kim, S.O. White, C.L. Purpera, M.N. Uranga, R.M. Bruce-Keller, A.J. Keller, J.N. 2010. **High fat diet increases hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in aged mice: implications for decreased Nrf2 signaling.** *J Neurochem*. 114(6):1581-9.
- Murali, R and Saravanan, R. 2012. **Antidiabetic effect of d-limonene, a monoterpene in streptozotocin-induced diabetic rats.** *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2(4), 269–275.
- Novelli, B. Diniz, Y. Galhardi, C *et al.* 2007. **Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats.** *Laboratory Animals*. 41(1):111-119.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2024. **Obesidad y sobrepeso.** <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (04/02/2025).
- Ortega-Pérez, L.G. Piñon-Simental, J.S. Magaña-Rodriguez, O. López-Mejía, A. Ayala-Ruiz, L.A. García-Calderón, A.J. Godínez-Hernández, D. Ríos-Chavez, P. 2022. **Evaluation of the toxicology, anti-lipase, and antioxidant effects of *Callistemon citrinus* in rat fed with a high fat-fructose diet.** *Pharmaceutical Biology*. 60 (1): 1384-1393.
- Pantelis, P. Theocharous, G. Lagopati, N. Veroutis, D. Thanos, D.F. Lampoglou, G.P. Pippa, N. Gatou, M.A. Tremi, I. Papaspyropoulos, A. Kyrodimos, E. Pavlatou, E.A. Gazouli, M. Evangelou, K. Gorgoulis, V.G. 2023. **The Dual Role of Oxidative-Stress-Induced Autophagy in Cellular Senescence: Comprehension and Therapeutic Approaches.** *Antioxidants (Basel)*. 10.3390/12010169.
- Parvizi, F. Yaghmaei, P. Haeri-Rohani, S.A. Mard, S.A. 2020. **Hepatoprotective properties of p-coumaric acid in a rat model of ischemia-reperfusion.** *Avicenna J Phytomed*. 10(6):633-640.
- Petronilho, S. Rocha, S. Ramírez-Chávez, E. Molina-Torres, J. Ríos-Chavez, P. 2013. **Assessment of the terpenic profile of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels from Mexico.** *Industrial Crops and Products*. 46, 369–379.

- Pham-Huy, L. A. He, H. Pham-Huy, C. 2008. **Free radicals, antioxidants in disease and health.** *International journal of biomedical science.* 4(2), 89–96.
- Prabhu, K.S. Reddy, P.V. Gumpricht, E. Hildenbrandt, G.R. Scholz, R.W. Sordillo, L.M. Reddy, C.C. 2001. **Mircosomal glutathione S-transferase A1-1 with glutathione peroxidase activity from sheep liver: molecular cloning, expression and characterization.** *Biochemical Journal.* 360,345-354.
- Radulović, N.S. Randjelović, P.J. Stojanović, N.M. Cakić, N.D. Bogdanović, G.A. Živanović, A.V. 2015. **Aboriginal bush foods: A major phloroglucinol from Crimson Bottlebrush flowers (*Callistemon citrinus*, Myrtaceae) displays strong antinociceptive and anti-inflammatory activity.** *Food Res Int.* 77:280–289.
- Rigalli, A. Chulibert, M. E. Ferrer, A. 2018. **Vías metabólicas relacionadas a la glucólisis.**
- Ríos-Chávez, P. Perez-Gonzalez, J. Salgado-Garciglia, R. Ramírez-Chávez, E. Molina-Torres, J. Martinez-Trujillo, M. Carreon-Abud, Y. 2019. **Antibacterial and cytotoxicity activities and phytochemical analysis of three ornamental plants grown in Mexico.** *An Acad Bras Cienc.* 91:1–13.
- Rodríguez, N.C. y Chaverri, J.P. 2018. **Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes. aspectos básicos.** *Educación Química.* 17(2), 164.
- Sakamula, R y Thong-asa, W. 2018. **Neuroprotective effect of p-coumaric acid in mice with cerebral ischemia reperfusion injuries.** *Metab Brain Dis.* 33, 765–773.
- Sedlak, J. y Lindsay, R.H. 1968. **Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent.** *Analytical biochemistry.* 25: 192-205.
- Sinenko, A. Starkova, Y. Kuzmin, A. Tomilin, A. 2021. **Physiological Signaling Functions of Reactive Oxygen Species in Stem Cells: From Flies to Man.** *Front. Cell Dev. Biol.* 9:714370.
- Singh, A. Kukreti, R. Saso, L. Kukreti, S. 2022. **Mechanistic Insight into Oxidative Stress-Triggered Signaling Pathways and Type 2 Diabetes.** *Molecules.* 10.3390/27030950.
- Sotler, R. Poljšak, B. Dahmane, R. Jukić, T. Jukić, D. Rotim, C. Trebše, P. Starc, A. 2019 **Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health.** *Acta Clin Croat.* 58(4):726-736.

- Suszyńska-Zajczyk, J. Łuczak, M. Marczak, Ł. Jakubowski, H. 2014. **Inactivation of the Paraoxonase 1 Gene Affects the Expression of Mouse Brain Proteins Involved in Neurodegeneration.** *Journal of Alzheimer's Disease*, 42(1), 247–260.
- Tauffenberger, A and Magistretti, J. **Reactive Oxygen Species: Beyond Their Reactive Behavior.** 2021. *Neurochem Res.* 46(1):77-87.
- UNICEF (Fondo de las Naciones Unidas para la infancia). 2016. **Sobrepeso y obesidad en niños, niñas y adolescentes.** Consultado el 17 de febrero de 2025 en: <https://www.unicef.org/mexico/sobrepeso-y-obesidad-en-ni%C3%B1osni%C3%B1ay-adolescentes>
- Uzar, E. Alp, H. Cevik, M.U. *et al.* 2012. **Ellagic acid attenuates oxidative stress on brain and sciatic nerve and improves histopathology of brain in streptozotocin-induced diabetic rats.** *Neurol Sci.* 33, 567–574.
- Valgimigli, L. 2023. **Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection.** *Biomolecules.* 13(9):1291.
- Viada-Pupo, E. Gómez-Robles, L. Campaña-Marrero, I. 2017. **Estrés oxidativo.** *Correo Científico Médico.* 21(1), 171-186.

Aram Josué García Calderón

Efecto de los compuestos mayoritarios de Callistemon citrinus sobre el estrés oxidante en el cerebro

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:431450930

Fecha de entrega

18 feb 2025, 12:29 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

18 feb 2025, 12:31 p.m. GMT-6

Nombre de archivo

Efecto de los compuestos mayoritarios de Callistemon citrinus sobre el estrés oxidante en el cere....pdf

Tamaño de archivo

1.4 MB

61 Páginas

15,444 Palabras

80,241 Caracteres

39% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 38%  Fuentes de Internet
- 22%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas (PIMCB)	
Título del trabajo	Efecto de los compuestos mayoritarios de <i>Callistemon citrinus</i> sobre el estrés oxidante en el cerebro de ratas alimentadas con una dieta hipercalórica	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Aram Josué García Calderón	1208935x@umich.mx
Director	D.C. Patricia Rios Chavez	patricia.rios@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	D.C. Martha Elena Pedraza Santos	mae.ciencias.biologicas@umich.mx

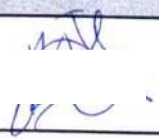
Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	no	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	no	
Traducción a otra lengua	no	
Revisión y corrección de estilo	no	
Análisis de datos	no	
Búsqueda y organización de información	no	
Formateo de las referencias bibliográficas	no	
Generación de contenido multimedia	no	
Otro	no	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Aram Josué García Calderón 
Lugar y fecha	Morelia, Mich., a 18 de 02 de 2025