

Efecto del jugo de granada (*Punica Granatum*) sobre patrones conductuales de ingesta en ratas con diabetes inducida

Effect of pomegranate juice (*Punica Granatum*) on behavioral patterns of intake in rats with induced diabetes

Elia Herminia Valdés Miramontes, *Carmen Alejandrina Virgen-Carrillo, Alma Gabriela Martínez Moreno, Jessica Elizabeth Pineda-Lozano, Verónica Fonseca-Bustos.

Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición (IICAN), Centro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara, Av. Enrique Arreola Silva No. 883, Edificio X3, C.P. 49000, Ciudad Guzmán, Municipio de Zapotlán el Grande, Jalisco, México. Correo electrónico: carmen.virgen@hotmail.com. Tel. y fax: 01 (341) 5752222, 5752223.

Resumen

Actualmente crece la evidencia sobre el tratamiento alternativo de la diabetes mellitus a través de alimentos funcionales como el jugo granada. La mayoría de los estudios se dirigen al efecto fisiológico del jugo cuando es suministrado forzosamente a ratas diabéticas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la exposición a libre acceso al jugo de granada sobre el consumo de líquidos, consumo de alimento y peso corporal en ratas diabéticas. Dos grupos de seis ratas sanas y seis hiperglucémicas, inducidas con 60 mg/kg de estreptozotocina intraperitoneal, se expusieron durante 21 días a jugo de granada, agua y alimento. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el consumo de líquidos y el peso corporal en ambos grupos. No se encontraron diferencias significativas en el consumo de alimento ($p > 0.05$). La exposición a libre acceso al jugo de granada evidenció su aceptación y generó diferencias conductuales en la ingesta.

Palabras clave: Granada; Diabetes mellitus; ratas.

Abstract

Evidence on the alternative treatment of diabetes mellitus is now growing through functional foods such as pomegranate juice. Most studies focus on the physiological effect of juice when administered by gavage to diabetic rats. The objective was to evaluate the effect of free access to pomegranate juice exposure on the consumption of liquids, food intake, and body weight in diabetic rats. Two groups of six healthy rats and six hyperglycemic rats, induced with 60 mg/kg of intraperitoneal streptozotocin, were exposed to pomegranate juice, water, and food for 21 days. The results showed significant differences ($p < 0.05$) in fluid consumption and body weight in both groups. There were no significant differences in food intake ($p > 0.05$). The free access exposure to pomegranate juice showed its acceptance and generated behavioral differences in the intake.

Keywords: Pomegranate; Diabetes mellitus; rats.

Recibido: 27 de junio 2017

Aceptado: 13 de septiembre de 2018

Publicado: 15 de agosto de 2019

Como citar: Valdés-Miramontes, E. H., Virgen-Carrillo, C. A., Martínez Moreno, A. G., Pineda-Lozano, J. E., & Fonseca-Bustos, V. (2019). Efecto del jugo de granada (*Punica Granatum*) sobre patrones conductuales de ingesta en ratas con diabetes inducida. *Acta Universitaria* 29, e1997. doi. <http://doi.org/10.15174/au.2019.1997>

Introducción

La granada (*Punica Granatum*) es un alimento con diversas propiedades funcionales para el organismo tanto en condiciones sanas como patológicas (Miguel, Neves & Antunes, 2010; Sreekumar, Sithul, Muraleedharan, Azeez & Sreeharshan, 2014; Viuda-Martos, Fernández-López & Pérez-Álvarez, 2010; Wang, Ding, Liu, Xiang & Du, 2010). Las evidencias sobre los efectos benéficos atribuidos a los compuestos bioactivos de ciertos alimentos, entre los que se incluye la granada, han incrementado el estudio de sus propiedades como alternativa en el tratamiento complementario de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus (Mirmiran, Bahadoran & Azizi, 2014; Pathak, 2014).

Efectos de la granada en la diabetes mellitus.

Sobre la diabetes mellitus, los efectos fisiológicos que se le atribuyen a la granada se han relacionado con la disminución de la hiperglucemia y la resistencia a la insulina (Bhaskar & Kumar, 2012; Tsang, Smail, Almoosawi, Davidson & Al-Dujaili, 2012), disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol total (Bagri, Ali, Aeri, Bhowmik & Sultana, 2009; Taheri, Sarker, Rahmat, Alkahtani & Othman, 2017), disminución de la producción de óxido nítrico y disminución de los niveles de biomarcadores inflamatorios: IL-6, TNF- α y NF-kB (Lee, Chen, Liang & Wang, 2010; Taheri *et al.*, 2017), así como elevación de las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa y catalasa (Aboonabi, Rahmat & Othman, 2014). Estos efectos se han evidenciado a partir de diversos derivados, entre los que destacan los extractos de cáscara (Lee *et al.*, 2010), flores (Bagri *et al.*, 2009), semillas (Taheri *et al.*, 2017) y el jugo de granada (Aboonabi *et al.*, 2014; Tsang *et al.*, 2012). Este último es considerado el derivado con mayor accesibilidad, dada la facilidad para su obtención.

De los estudios científicos sobre los efectos del jugo de granada se han evidenciado efectos antiaterogénicos (Taheri *et al.*, 2017), antioxidantes (Prasetyastuti, Anthony, Rahman, Ngadikun & Sunarti, 2014) e hipoglucemiantes (Banihani *et al.*, 2014). Para evaluar estos efectos se han empleado modelos animales con diabetes inducida, con los cuales es posible reproducir algunos de los procesos fisiopatológicos de la enfermedad así como signos y síntomas de hiperglucemia como poliuria, polifagia, polidipsia y pérdida de peso (Akbarzadeh *et al.*, 2007; De Castro & Balagura, 1975). Su empleo permite tener el control de variables como el tipo de alimento, el contenido nutricional, la cantidad de ingesta de alimento y líquidos, así como la dosificación exacta de las intervenciones. Con esto, es posible determinar cuáles elementos son capaces de influir en los procesos fisiológicos y que pudieran ser atribuidos o no a la manipulación experimental (Flores, 2011; Ribes, 2011). Por ello, en todos los casos el jugo de granada ha sido suministrado vía sonda intragástrica, empleando dosis específicas de jugo basadas en mililitros de jugo por kilogramo de peso corporal y en otros casos mililitros de jugo neto. Sin embargo, la condición de libre acceso al jugo de granada resulta de interés, pues la ingesta y el mantenimiento de la misma, para lograr sus efectos fisiológicos tanto en los animales como en los seres humanos, dependerán de la aceptación del alimento.

Los estudios que han empleado el libre acceso a un alimento funcional para la evaluación de sus efectos fisiológicos son limitados. Entre ellos se han incluido intervenciones con jugo de granada (Al-Olayan, El-Khadragy, Metwally & Abdel, 2014), jugo de fruta de palma (Bolsinger, Pronczuk, Sambanthamurthi & Hayes, 2014), jugo de uva (Farias *et al.*, 2015) y jugo de toronja (Miyata, Takano, Q.Guo, Nagata & Yamazoe, 2004), los cuales han logrado evidenciar diversos efectos como antioxidantes, hipoglucemiantes, reductores de estrés oxidativo y de daño hepático. Sin embargo, ninguno de ellos ha reportado las dosis de ingesta del alimento, ni su relación con los efectos fisiológicos obtenidos ni con otras variables como el consumo de alimento, consumo de agua y peso corporal.

Efectos conductuales en ratas con diabetes inducida.

En el caso de los modelos roedores inducidos a diabetes, el control experimental ha permitido determinar que, tras la modificación de una variable, el comportamiento del sujeto cambia, lo cual a su vez puede alterar el estado fisiológico. Por ejemplo, cuando las ratas diabéticas son expuestas a bebidas con diferente contenido calórico, alteran sus patrones de consumo de líquidos y de alimento (Smith & Gannon, 1991). Si son expuestas a dietas con diferentes tipos de carbohidratos, los patrones de consumo de alimento y líquidos, así como la severidad de sus síntomas, se modifican (Hallfrisch, Lev & Reiser, 1979).

Cambios similares ocurren cuando el porcentaje de carbohidratos es modificado; cuando se exponen a dieta baja en carbohidratos las ratas presentan normofagia, de manera contraria sucede cuando se exponen a dieta alta en carbohidratos (Granneman & Stricker, 1984). Richter & Schmidt (1941) demostraron que ratas pancreatectomizadas desarrollaban síntomas de diabetes, las cuales, al ser expuestas a una dieta estándar, persistían con la sintomatología. Sin embargo, cuando la composición de la dieta era alterada, los sujetos eran capaces de modificar su comportamiento y elegir elementos que disminuyeran sus síntomas y permitieran su supervivencia. A esta capacidad de selección de alimentos que pudiesen compensar las deficiencias se le llamó reguladores totales del organismo o del comportamiento (Richter, 1943).

Bajo la perspectiva de Richter (1941), los organismos con alteraciones patológicas pueden emitir conductas relacionadas con el consumo de un alimento, el cual puede actuar para mantener la constancia del medio interno (homeostasis) a través de sus compuestos que ejercen consecuencias post-ingestivas de bienestar o recuperación.

Como ha sido mencionado, en el caso del jugo de granada, la gran mayoría de los experimentos reportados han dosificado la cantidad de jugo administrado, por lo que dicha premisa queda poco clara, dado que no se conoce qué es lo que sucede cuando el organismo hiperglucémico es expuesto al consumo a libre acceso de un alimento con propiedades funcionales, capaz de disminuir las alteraciones metabólicas provocadas por la enfermedad. Por otro lado, el jugo de granada posee características organolépticas de acidez y astringencia (Gumienna, Szewngiel & Górna, 2016; Mayuoni-Kirshinbaum & Porat, 2013) que ante la condición de libre acceso determinarían su ingesta y, por ende, sus efectos fisiológicos. Además, tampoco es conocido el patrón conductual del alimento y bebida del sujeto ante la exposición a dicho alimento funcional y en qué medida pueden afectarse otras variables como el consumo calórico y peso corporal. Es por ello que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del jugo de granada sobre el consumo de líquidos, consumo de alimento y peso corporal en ratas diabéticas. Como un objetivo específico, se midieron los niveles de glucosa al inicio y al final del experimento para determinar la condición de diabetes. Los resultados de estas variables fueron comparados con un grupo control.

Materiales y Métodos

El estudio fue experimental, analítico, longitudinal y prospectivo. Se emplearon 12 ratas macho de la cepa *Wistar* con 12 semanas de edad y peso entre 250 g y 350 g, experimentalmente inexpertas. Durante la fase previa al experimento o línea base, fueron expuestas a dieta estándar y agua *ad libitum*. El experimento se condujo acorde a la NOM-062-ZOO-1999 (Diario Oficial de la Federación [DOF], 2001) sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y la guía del cuidado y uso de animales de laboratorio de la *National Research Council*. El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Centro de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición de la Universidad de Guadalajara.

Se formaron dos grupos experimentales elegidos de manera aleatoria: SJ, grupo de ratas sanas expuestas a jugo ($n = 6$) y HJ, grupo de ratas hiperglucémicas expuestas a jugo ($n = 6$). La hiperglucemia fue inducida a los 6 sujetos del grupo HJ mediante la inyección intraperitoneal de 60 mg/kg de peso corporal de estreptozotocina (Sigma-Aldrich, Co.), diluidos en buffer citrato fresco de 0.1 M con pH 4.5, tras ayuno nocturno de 12 h (Aboonabi *et al.*, 2014). Se confirmó la hiperglucemia 24 h posteriores a la inducción a través de la determinación cuantitativa de glucosa mediante espectrofotometría y se determinaron nuevamente los niveles de glucosa al final de la fase experimental.

Posterior a la inducción de hiperglucemia en el grupo HJ, ambos grupos se mantuvieron durante 21 días bajo las condiciones de libre acceso a alimento estándar *Rodent Laboratory Chow* 5001, cuyo contenido de proteína fue 23%, grasa 4.5%, fibra 6%, carbohidratos asimilables 46.5%, humedad 12% y minerales totales 8%; así como a un bebedero con agua purificada y otro bebedero con jugo de granada. Se llevó a cabo un registro diario del consumo de líquidos y alimento. Además, se determinó el peso corporal cada semana. Al finalizar la fase experimental se realizó el sacrificio de los sujetos de ambos grupos por decapitación, tras su sedación con Xilacina y anestesia con Zoletil ® 50.

El jugo de granada (variedad Wonderful) se extrajo bajo presión del arilo y filtración de residuos en maquinaria industrial de acero inoxidable. Se obtuvo una concentración de sólidos solubles totales de 16.6 °B que corresponde a igual porcentaje de azúcares. Posterior a la extracción, el jugo fue homogeneizado y congelado (-20 °C). Posteriormente, se descongeló bajo condiciones ambientales estables para su incorporación a los bebederos.

Para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para *Windows* versión 15.0, con un intervalo de confianza del 95%. Los resultados son presentados como promedio \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm DE$). Las diferencias se consideraron significativas con un valor $p \leq 0.05$. Posterior a la obtención de los datos se determinó la normalidad de los parámetros cuantitativos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Una vez determinada la normalidad, se utilizó la prueba de *t* de Student para muestras independientes, con el fin de comparar los valores medios de las variables entre los dos grupos.

Resultados

A continuación, se presenta la descripción de las variables dependientes de este estudio: consumo de agua y jugo, líquidos totales, alimento y peso corporal en la tabla 1. Además, se muestra el patrón de consumo de las variables durante los 21 días de la fase experimental en la figura 1.

Tabla 1. Consumo de líquido, alimento y peso corporal.

Grupo	Jugo	Agua	Líquidos totales	Alimento	Peso corporal
SJ	12.03 \pm 2.37*	42.41 \pm 5.68*	54.45 \pm 4.21*	24.39 \pm 1.07	349.14 \pm 27.75*
HJ	34.37 \pm 2.77	96.15 \pm 4.55	130.52 \pm 5.74	25.06 \pm 1.84	228.12 \pm 20.24

Nota. Se presenta el promedio grupal \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm DE$) de las variables evaluadas.

*Indica diferencia significativa entre grupos ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

Se observó que las ratas del grupo HJ consumieron una cantidad significativamente mayor ($p < 0.05$) de líquidos totales (agua + jugo) que las ratas del grupo SJ. El promedio de consumo de agua fue

significativamente superior ($p < 0.05$) con respecto al jugo en ambos grupos. Con relación al jugo de granada, ambos grupos lo consumieron. Sin embargo, el grupo HJ consumió significativamente más ($p < 0.05$) que el grupo SJ. Respecto al consumo de alimento, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos (25.06 ± 1.84 vs 24.39 ± 1.07). En el caso de la variable peso corporal, se observó que el promedio de los sujetos del grupo HJ fue significativamente inferior ($p < 0.05$) con respecto al grupo SJ. Sin embargo, dicha diferencia solo fue significativa a partir de la segunda semana experimental (figura 1). Con respecto a los niveles de glucosa en el grupo HJ, se determinó que al final de la fase experimental el promedio de glucosa de los sujetos disminuyó 61 mg/dL respecto al inicio del experimento (417 mg/dL vs 356 mg/dL), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$), mientras que el promedio en el grupo de ratas SJ varió solamente 3mg/dL (115 mg/dL vs 118 mg/dL, $p > 0.05$).

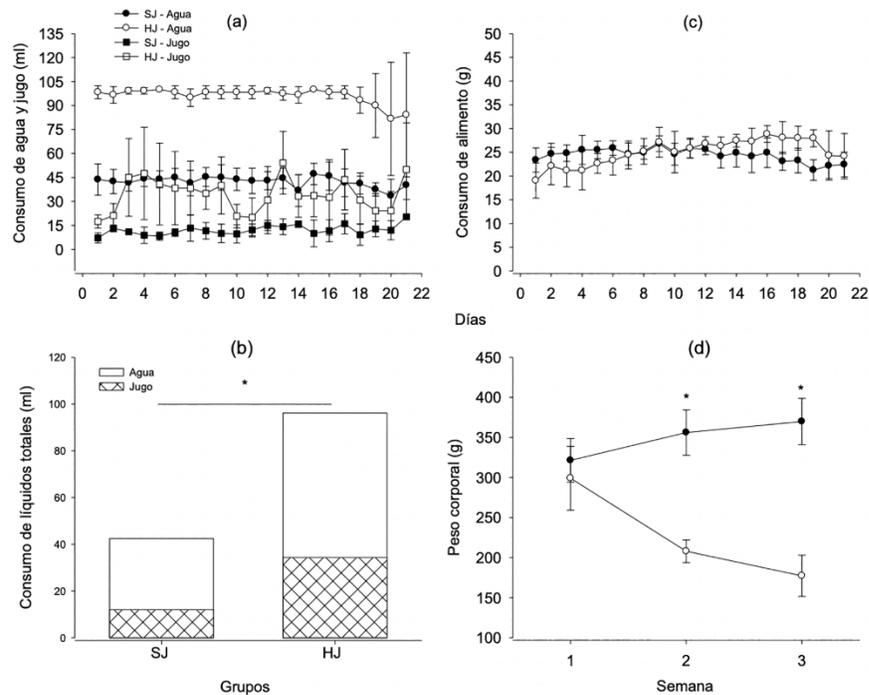


Figura 1. El color negro representa el grupo SJ y el color blanco el grupo HJ.

*Indica diferencia significativa entre grupos ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia

Discusión

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la exposición a jugo de granada sobre el consumo de líquidos, consumo de alimento y peso corporal en ratas diabéticas y comparar estas variables con respecto a un grupo sano. Los hallazgos principales fueron: a) las ratas HJ consumieron significativamente más jugo que el grupo SJ; b) el patrón de consumo de jugo en ratas HJ presentó variaciones entre los 15 ml y 75 ml, mientras que el de las ratas SJ se mantuvo estable; c) las ratas HJ consumieron significativamente más agua que las SJ; d) el consumo de líquidos totales fue significativamente mayor en las ratas HJ; e) el patrón de consumo de alimento fue similar en ambos grupos y no se encontraron diferencias significativas; f) las ratas HJ disminuyeron de peso corporal de manera progresiva hasta el final del experimento, mientras que las ratas SJ aumentaron de peso corporal de manera progresiva hasta el final

del experimento; y g) se presentó una diferencia significativa del peso corporal de ambos grupos a partir de la segunda semana de exposición.

De los resultados, destaca el hecho de que el grupo HJ consumió más jugo de granada que el grupo SJ. Estudios previos han demostrado que el consumo forzado de jugo de granada en ratas diabéticas tiene efectos positivos en la salud (Osman, Eshak, El-Sherbiny & Bayoumi, 2012; Prasetyastuti *et al.*, 2014). Sin embargo, es poca la evidencia que considera estos beneficios al exponer a las ratas al consumo a libre acceso. Al-Olayan *et al.* (2014) demostraron que la exposición a jugo de granada a libre acceso representó un mecanismo de defensa antioxidante que puede ser utilizado en las intervenciones contra enfermedades generadas por radicales libres. Otros resultados ante la exposición al libre acceso de alimentos con componentes similares al jugo de granada se han evidenciado, tal es el caso de las propiedades hipoglucemiantes del jugo de fruta de palma (Bolsinger *et al.*, 2014), la disminución del estrés oxidativo tras exposición a jugo de uva (Farias *et al.*, 2015) y la protección del jugo de toronja contra daño hepático (Miyata *et al.*, 2004).

La condición de libre acceso en este experimento permitió evidenciar que ante condiciones sanas y patológicas se presentó un consumo voluntario de un alimento novedoso en el ambiente de los sujetos, del cual se reconoce su aceptación, dado que los sujetos del grupo HJ consumieron un promedio de 34 ml y los del grupo SJ un promedio de 12 ml.

En cuanto al consumo de agua, los resultados mostraron concordancia con los experimentos de Akbarzadeh *et al.* (2007), Booth (1972) y Hernandez & Briese (1972), quienes observaron síntomas de polidipsia representada por un aumento del consumo de agua posterior a la inducción de diabetes que se mantuvo durante toda su fase experimental.

En relación al consumo de alimento, evidencia previa sugiere que las ratas aumentan su consumo posterior a la inducción de diabetes (Akbarzadeh *et al.*, 2007; Booth, 1972; De Castro & Balagura, 1975; Hernandez & Briese, 1972). Sin embargo, los resultados de la presente investigación mostraron que el patrón de consumo de alimento en las ratas hiperglucémicas fue similar al de las ratas sanas entre los días 8 y 10 de exposición. Posteriormente y hasta el final de la fase experimental, el consumo del grupo HJ fue superior al del SJ, más no de manera significativa. Al parecer, el jugo de granada podría actuar como un posible regulador del consumo de alimento derivado de su contenido de calórico. No obstante, sería necesario acumular más evidencias al respecto.

Sobre el peso corporal, la disminución progresiva del grupo HJ y el aumento progresivo del grupo SJ hasta el final de la fase experimental concuerda con lo reportado por Smith & Gannon (1991). Al parecer, la condición de enfermedad es suficiente para observar este efecto, a pesar de la disponibilidad del jugo de granada.

Con base en lo anterior, los resultados sugieren que la exposición de los animales a un alimento nuevo en su entorno, con propiedades funcionales, tiene efectos en la conducta de consumo de manera diferencial a partir de un estado de enfermedad. Resulta interesante llevar a cabo este tipo de intervenciones para conocer qué sucede con los sujetos y cómo se manifiesta la interacción entre el consumo de líquidos, alimento y peso corporal cuando se le adiciona una bebida diferente a su entorno, con propiedades funcionales y de qué manera los sujetos distribuyen sus conductas de alimentación.

Tras 21 días de exposición se obtuvieron variaciones significativas entre grupos con respecto a algunas de las variables evaluadas, además de que los niveles de glucosa del grupo HJ se redujeron al final de la fase experimental, lo cual evidencia un efecto hipoglucemiante del jugo. Sin embargo, la duración de

la exposición pudo haber sido una limitante para conocer qué sucede con las variables durante un periodo mayor y si es que se modifican o se mantienen estas condiciones de alimentación. Además de esto, sería interesante evaluar la ingesta calórica de los sujetos para determinar si existe relación entre esta y las variaciones obtenidas en cuanto al consumo de líquidos, alimento y peso corporal. Inclusive, resulta necesario evaluar si estas condiciones se repiten cuando los sujetos son expuestos a otro tipo de alimentos con propiedades similares a las del jugo de granada.

Conclusiones

La exposición y libre acceso al jugo de granada en ratas sanas y diabéticas generó la aceptación de un alimento novedoso representado por su consumo voluntario. Además, dichas condiciones ocasionaron diferencias significativas entre el consumo de líquidos y el peso corporal en ambos grupos. Sin duda, es necesaria más experimentación animal que permita obtener datos consistentes con los cuales ofrecer estrategias nutricionales para el tratamiento de enfermedades en seres humanos. El consumo de alimentos funcionales disponibles en México podría representar una directriz para la implementación de políticas públicas sustentables.

Agradecimientos

Proyecto financiado por la Universidad de Guadalajara, folio: SAC/CI/004/16.

Referencias

- Aboonabi, A., Rahmat, A., & Othman, F. (2014). Antioxidant effect of pomegranate against streptozotocin-nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats. *Toxicology Reports*, *1*, 915–922. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.10.022>
- Al-Olayan, E. M., El-Khadragy, M. F., Metwally, D. M., & Abdel Moneim, A. E. (2014). Protective effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice on testes against carbon tetrachloride intoxication in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*(1), 1-9. doi: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-164>
- Akbarzadeh, A., Norouzi, D., Mehrabi, M. R., Jamshidi, S., Farhangi, A., Verdi, A. A., Mofidian, S. M. A., & Rad, B. L. (2007). Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *22*(2), 60–64. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02913315>
- Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., & Sultana, S. (2009). Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: Effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(1), 50–54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.058>
- Banihani, S. A., Makahleh, S. M., El-Akawi, Z., Al-Fashtaki, R. A., Khabour, O. F., Gharibeh, M. Y., Saadah, N. A., Al-Hashimia, F. H., & Al-Khasieb, N. J. (2014). Fresh pomegranate juice ameliorates insulin resistance, enhances β -cell function, and decreases fasting serum glucose in type 2 diabetic patients. *Nutrition Research*, *34*(10), 862–867. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.08.003>
- Bhaskar, A., & Kumar, A. (2012). Antihyperglycemic, antioxidant and hypolipidemic effect of *Punica granatum* L flower extract in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(3), 1764–1769. doi: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60491-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60491-2)
- Bolsinger, J., Pronczuk, A., Sambanthamurthi, R., & Hayes, K. C. (2014). Anti-diabetic effects of palm fruit juice in the Nile rat (*Arvicanthis niloticus*). *Journal of Nutritional Science*, *3*(5). doi: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.3>
- Booth, D. A. (1972). Some characteristics of feeding during streptozotocin-induced diabetes in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *80*(2), 238–249. doi: <https://doi.org/10.1037/h0032968>

- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2001). NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México.
- De Castro, J. M., & Balagura, S. (1975). Meal patterning in the streptozotocin-diabetic rat. *Physiology & Behavior*, 15(3), 259–263. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(75\)90091-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(75)90091-8)
- Farias, M., Wohlenberg, L. K., Gonçalves, T. K., Schaffer, D. K., Hilger, R. D., Braccini Neto, C., Antunes, C., Frusciante, M., Rodrigues, A., Funchal, C., & Dani, C. (2015). Effect of grape juice on some biochemical and oxidative stress parameters in serum and liver enzymes of pregnant and lactating rats. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 3(4), 37–46.
- Flores, C. J. (2011). De los modelos animales a la práctica psicológica: el surgimiento de algunas técnicas aplicadas a problemas de salud. *Suma Psicológica*, 18(1), 115–123.
- Granneman, J., & Stricker, E. (1984). Food intake and gastric emptying in rats with streptozotocin-induced diabetes. *American Journal of Physiology*, 247(6), 1054–1061. doi: 10.1152/ajpregu.1984.247.6.R1054
- Gumienna, M., Szwengiel, A., & Górna, B. (2016). Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermentation processes. *European Food Research and Technology*, 242(5), 631–640. doi: 10.1007/s00217-015-2582-z
- Hallfrisch, J., Lev Lazar, F., & Reiser, S. (1979). Effect of feeding sucrose or starch to rats made diabetic with streptozotocin. *The Journal of nutrition*, 109(11), 1909–1915. doi: <https://doi.org/10.1093/jn/109.11.1909>
- Hernandez, L., & Briese, E. (1972). Analysis of diabetic hyperphagia and polydipsia. *Physiology & Behavior*, 9(5), 741–746. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(72\)90044-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(72)90044-3)
- Lee, C. J., Chen, L. G., Liang, W. L., & Wang, C. C. (2010). Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 118(2), 315–322. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.123>
- Mayuoni-Kirshinbaum, L., & Porat, R. (2013). The flavor of pomegranate fruit: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(1), 21–27. doi: 10.1002/jsfa.6311
- Miguel, M., Neves, M., & Antunes, M. (2010). Pomegranate (*Punica granatum* L.): A medicinal plant with myriad biological properties - A short review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2836–2847. a
- Mirmiran, P., Bahadoran, Z., & Azizi, F. (2014). Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review. *World Journal of Diabetes*, 5(3), 267–281. doi: <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i3.267>
- Miyata, M., Takano, H., Guo, L., Nagata, K., & Yamazoe, Y. (2004). Grapefruit juice intake does not enhance but rather protects against aflatoxin B1-induced liver DNA damage through a reduction in hepatic CYP3A activity. *Carcinogenesis*, 25(2), 203–209. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgg194>
- Osman, H., Eshak, M., El-Sherbiny, E., & Bayoumi, M. (2012). Biochemical and genetical evaluation of pomegranate impact on diabetes mellitus induced by alloxan in female rats. *Life Science Journal*, 9(3), 1543–1553.
- Pathak, M. (2014). Diabetes mellitus type 2 and functional foods of plant origin. *Recent Patents on Biotechnology*, 8(2), 160–164. doi: 10.2174/1872208309666140904120633
- Prasetyastuti, A., Rahman, M. W. P., N. A., Ngadikun., & Sunarti. (2014). Hypoglycemic and antioxidative effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice in streptozotocin induced diabetic rats, 13(10), 567–572. doi: <https://doi.org/10.3923/pjn.2014.567.572>
- Ribes, E. (2011). ¿Por qué es necesario estudiar el comportamiento animal? *Suma Psicológica*, 18(1), 9–15.
- Richter, C. P. (1941). Behavior and endocrine regulators of the internal environment. *Endocrinology*, 28(2), 193–195. doi: <https://doi.org/10.1210/endo-28-2-193>
- Richter, C. P., & Schmidt, E. C. H. (1941). Increased fat and decreased carbohydrate appetite of pancreatectomized rats. *Endocrinology*, 28(2), 179–192. doi: <https://doi.org/10.1210/endo-28-2-179>
- Richter, C. (1943). Total self-regulatory functions in animals and human beings. *Harvey Lecture Series*, 38, 63–103.

- Smith, J. C., & Gannon, K. S. (1991). Ingestion patterns of food, water, saccharin and sucrose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Physiology & Behavior*, *49*(1), 189–199. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(91\)90253-K](https://doi.org/10.1016/0031-9384(91)90253-K)
- Sreekumar, S., Sithul, H., Muraleedharan, P., Azeez, J. M., & Sreeharshan, S. (2014). Pomegranate Fruit as a rich source of biologically active compounds. *BioMed Research International*, *2014*, 1–12. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/686921>
- Taheri Rouhi, S. Z., Sarker, M. M. R., Rahmat, A., Alkahtani, S. A., & Othman, F. (2017). The effect of pomegranate fresh juice versus pomegranate seed powder on metabolic indices, lipid profile, inflammatory biomarkers, and the histopathology of pancreatic islets of Langerhans in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic Sprague–Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1667-6>
- Tsang, C., Smail, N. F., Almoosawi, S., Davidson, I., & Al-Dujaili, E. A. S. (2012). Intake of polyphenol-rich pomegranate pure juice influences urinary glucocorticoids, blood pressure and homeostasis model assessment of insulin resistance in human volunteers. *Journal of Nutritional Science*, *1*, 1-9. doi: <https://doi.org/10.1017/jns.2012.10>
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *9*(6), 635–654. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00131.x>
- Wang, R., Ding, Y., Liu, R., Xiang, L., & Du, L. (2010). Pomegranate: constituents, bioactivities, and pharmacokinetics. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, *4*(2), 77–87.