



# Instituto Politécnico Nacional

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral  
Regional Unidad Oaxaca

---

---



## TESIS:

“Efecto de *Ganoderma lucidum* sobre la expresión de genes  
antioxidantes en un modelo de obesidad inducido por dieta”

Que para obtener el grado académico de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos  
Naturales

Presenta:

Zoha Bautista Montero

Directoras de Tesis:

Dra. Aleyda Pérez Herrera

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Enero del 2023.



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, 15 de 12 del 2022

El Colegio de Profesores de Posgrado de **CIIDIR UNIDAD OAXACA** en su Sesión  
(Unidad Académica)

ordinaria No 11 celebrada el día 07 del mes noviembre de 2022 conoció la solicitud presentada por la alumna:

Apellido Paterno:	Bautista	Apellido Materno:	Montero	Nombre (s):	Zoha
-------------------	----------	-------------------	---------	-------------	------

Número de registro: A 2 1 0 3 8 7

del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

“Efecto de Ganoderma lucidum sobre la expresión de genes antioxidantes en un modelo de obesidad inducido por dieta”

Objetivo general del trabajo de tesis:

Evaluar el efecto de los extractos de *Ganoderma lucidum* sobre la expresión de genes y proteínas antioxidantes en tejido hepático de ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.

2.- Se designa como Directoras de Tesis a los profesores:

Directora: Dra. Aleyda Pérez Herrera

2° Directora: Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, Colegio de Postgraduados Campus Puebla y Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Directora de Tesis

Dra. Aleyda Pérez Herrera

Aspirante

Bautista Montero Zoha

2° Directora de Tesis

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS  
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
OAXACA





# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Santa Cruz Xoxocotlán, Oax., siendo las 13:00 horas del día 21 del mes de Diciembre del 2022 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada

por el Colegio de Profesores de Posgrado Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral

Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA) para examinar la tesis titulada:

"Efecto de Ganoderma lucidum sobre la expresión de genes antioxidantes en un modelo de obesidad inducido por dieta"

de la alumna:

Apellido Paterno:	Bautista	Apellido Materno:	Montero	Nombre (s):	Zoha
-------------------	----------	-------------------	---------	-------------	------

Número de registro: A 2 1 0 3 8 7

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Ciencias en Conservación y

Aprovechamiento de Recursos Naturales.

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene **3%** de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo  **NO SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:** (Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)

**El 3% de la similitud se ha registrado en metodología y en unas palabras del índice.**

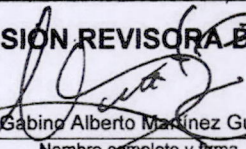
**\*\*Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR**  **SUSPENDER**  **NO APROBAR**  la tesis por **UNANIMIDAD**  o **MAYORÍA**  en virtud de los motivos siguientes:

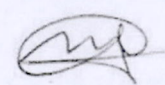
**La tesis de la estudiante es un trabajo original que se trabajó a lo largo de 4 semestres.**

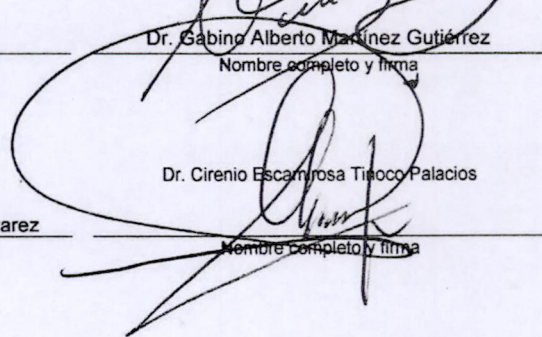
### COMISIÓN REVISORA DE TESIS

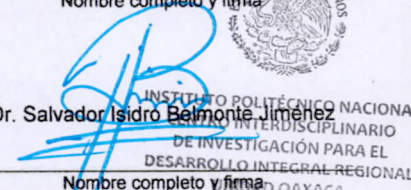
  
Dra. Aleyda Pérez Herrera  
Directora de Tesis  
Nombre completo y firma

  
Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez  
Nombre completo y firma

  
Dra. Patricia Araceli Santiago García  
Nombre completo y firma

  
Dra. María Eugenia Meneses Álvarez  
2ª Directora de Tesis  
Nombre completo y firma

  
Dr. Cirenio Escamrosa Tinoco Palacios  
Nombre completo y firma

  
Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez  
Nombre completo y firma  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**





## INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 16 del mes de diciembre del año 2022, la que suscribe **Bautista Montero Zoha**, alumna del programa **Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales** con número de registro **A210387**, adscrita al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral de Oaxaca manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de la **Dra. Aleyda Pérez Herrera** y la **Dra. María Eugenia Meneses Álvarez** y cede los derechos del trabajo intitulado **“Efecto de Ganoderma lucidum sobre la expresión de genes antioxidantes en un modelo de obesidad inducido por dieta”**, al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o director(es). Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo **aaahoz2295@gmail.com**. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD OAXACA

**Bautista Montero Zoha**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA), por permitirme realizar mis estudios de posgrado y por el apoyo otorgado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado.

A mis directoras de tesis. A la Dra. Aleyda Pérez Herrera y a la Dra. María Eugenia Meneses Álvarez por su tiempo, por su atención, por su apoyo y confianza brindada en la realización de esta tesis, por sus valiosas observaciones y consejos dados.

A mis revisores de tesis. A la Dra. Patricia Araceli Santiago García, al Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez y al Dr. Cirenio Escamirosa Tinoco por todas las aportaciones a esta tesis.

A la Dra. Elda del Carmen Cortes González por todo su apoyo, confianza, consejos y por haber hecho mi estancia más amena.

A los integrantes del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*. Al Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera, por recibirme en su laboratorio. A la M. C. Beatriz Inés Petlascalco Sánchez, al M. C. Iván Omar Castillo Sebastián, a la M.C. Myrna Bonilla Quintero y al M. C. Alfredo Guadalupe Morales Juárez por su apoyo en el bioterio.

A los integrantes del Laboratorio de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por haberme recibido en su laboratorio. Especialmente a la Dra. Mónica Todd Curie Sánchez Tapia por su apoyo y por compartir sus conocimientos conmigo.

## ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Obesidad.....	2
2.1.1 Clasificación de la obesidad .....	3
2.1.2 Epidemiología de la obesidad.....	3
2.1.3 Etiología de la obesidad.....	4
2.1.4 Fisiopatología de la obesidad .....	5
2.1.5 Enfermedades asociadas a la obesidad .....	7
2.1.6 Relación entre obesidad y estrés oxidativo.....	9
2.1.7 Antioxidantes y genes antioxidantes .....	11
2.2 Hígado y obesidad.....	12
2.2.1 Función hepática.....	12
2.2.2 Metabolismo de lípidos en el hígado.....	14
2.2.3 Esteatosis hepática no alcohólica .....	14
2.3 <i>Ganoderma lucidum</i> .....	15
2.3.1 Actividad antioxidante de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	16
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
IV. JUSTIFICACIÓN .....	18
V. HIPÓTESIS.....	18
5.1 Hipótesis nula.....	18
5.2 Hipótesis alterna.....	19
VI. OBJETIVOS .....	19
6.1 Objetivo general .....	19
6.2 Objetivos específicos.....	19
VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
7.1 Animales de laboratorio .....	19
7.2 Elaboración del extracto hidroalcohólico de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	20
7.3 Composición bromatológica de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	20
7.4 Composición de dietas .....	24
7.5 Determinación de la ingesta de alimento de los ratones de la cepa C57BL/6 .....	26
7.6 Mediciones en suero.....	26
7.6.1 Determinaciones bioquímicas séricas.....	26
7.6.2 Determinaciones de la actividad antioxidante total sérica.....	26
7.7 Mediciones en tejido hepático.....	27

7.7.1	Análisis histológico del hígado.....	27
7.7.2	Expresión génica.....	28
7.7.3	Western-Blot.....	29
7.8	Análisis estadístico.....	29
<i>VIII.</i>	<i>RESULTADOS</i> .....	29
8.1	Efecto del consumo del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre la ingesta calórica ratones C57BL/6 .....	29
8.1.1	Efecto del consumo del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre el peso corporal de ratones C57BL/6 .....	31
8.2	Mediciones bioquímicas séricas.....	32
8.2.1	Perfil lipídico (colesterol total, LDL-c, triglicéridos).....	32
8.2.2	Glucosa .....	34
8.2.3	Actividad antioxidante total sérica .....	35
8.2.4	Transaminasas (ALT y AST) .....	36
8.3	Depósito de lípidos en tejido hepático de ratones C57BL/6.....	37
8.3.1	Peso proporcional del hígado .....	37
8.3.2	Histología de hígado.....	38
8.4	Determinación de la expresión génica y proteínas antioxidantes en tejido hepático de ratones C57BL/6 .....	40
8.4.1	Determinación de la expresión de genes antioxidantes .....	40
8.4.2	Determinación de la expresión de proteínas antioxidantes .....	42
<i>IX.</i>	<i>DISCUSIÓN</i> .....	44
<i>X.</i>	<i>CONCLUSIONES</i> .....	49

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de la obesidad según la OMS.....	3
Cuadro 2. Formulaciones de las dietas AIN-93 y HFSD.....	21
Cuadro 3. Composición química y análisis de extractos de basidiomas maduros de <i>Ganoderma lucidum</i> mexicano, cultivados sobre aserrín de Quercus ( <i>G11</i> ) y aserrín de Quercus más ácido acetilsalicílico (10 mM; <i>G12</i> ).....	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estimaciones de prevalencia de obesidad en adultos.....	4
Figura 2. Principales marcadores indirectos de estrés oxidativo in vivo .....	9
Figura 3. Relaciones entre las influencias prooxidante y antioxidante en el estrés oxidativo inducido por la obesidad.....	10
Figura 4. Esquema de la fisiología del hígado.....	13
Figura 5. Anatomía del hígado.....	13
Figura 6. Patogenia de la esteatosis hepática.....	15
Figura 7. Cuerpo fructífero de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	16
Figura 8. Histologías de hígados de ratones C57BL/6.....	39
Figura 9. Imágenes de Western Blot de ratones C57BL/6 alimentados con los distintos tratamientos.....	44

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Ingesta calórica de dieta y agua de ratones C57BL/6.....	30
Gráfica 2. Ingesta calórica total de ratones C57BL/6.....	31
Grafica 3. Ganancia de peso de ratones C57BL/6.....	32
Grafica 4. Concentraciones de colesterol en suero de ratones C57BL/6.....	33
Grafica 5. Concentración de triglicéridos en suero de ratones C57BL/6.....	34
Grafica 6. Concentraciones de glucosa en suero de ratones C57BL/6.....	35
Grafica 7. Actividad antioxidante en suero de ratones C57BL/6.....	36
Grafica 8. Transaminasas en suero de ratones C57BL/6.....	37
Grafica 9. Peso proporcional del hígado de ratones C57BL/6.....	38
Grafica 10. Expresión génica relativa de ratones C57BL/6.....	41
Grafica 11. Unidades relativas de proteínas de ratones C57BL/6.....	42



## RESUMEN

La obesidad es una enfermedad que está presente en gran parte de la población y está asociada a enfermedades como la esteatosis hepática no alcohólica. Esta patología puede abordarse mejorando las defensas antioxidantes. *Ganoderma lucidum* es utilizado en China, Japón y otros países como un alimento para preservar un buen estado de salud gracias a sus compuestos bioactivos con actividad antioxidante. Se desarrolló un modelo de obesidad con ratones de la cepa C57BL/6 al ser alimentados con dieta alta en grasa y azúcares, se evaluó el efecto de dos extractos de una cepa mexicana de *G. lucidum* con crecimiento en sustratos diferentes, uno en sustrato de encino (*G11*) y otro en sustrato de encino enriquecido con ácido acetilsalicílico (AAS) (*G12*). Los ratones se asignaron aleatoriamente a los siguientes tratamientos con una n=8 cada uno: CTRL, HFSD, HFSD+*G11*, HFSD+*G12*, HFSD+*G11* TX, HFSD+*G12* TX, HFSD+MET TX. Se analizó la ingesta calórica, peso, perfil lipídico (triglicéridos, colesterol y LDL-c), glucosa, actividad antioxidante y transaminasas en plasma. Se evaluó la expresión génica (catalasa (CAT), superóxido dismutasa 1 (SOD1) y glutatión peroxidasa 1 (GPX1)) y proteica (CAT, SOD1 y el factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (NRF2)) antioxidante en tejido hepático. Los resultados indicaron que los tratamientos con los extractos de *G. lucidum* tienden a disminuir el aumento de peso, perfil lipídico y glucosa de manera similar al fármaco metformina. La actividad antioxidante en plasma fue estadísticamente mayor en el tratamiento CTRL con respecto a los demás tratamientos, lo que sugiere el estado oxidativo presente en la obesidad. La alanina aminotransferasa (ALT) no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los tratamientos, sin embargo, la aspartato aminotransferasa (AST) fue menor en el tratamiento HFSD+*G12* TX con respecto a los demás tratamientos. El peso proporcional del hígado fue menor de manera significativa en el tratamiento HFSD+*G12* TX con respecto al tratamiento HFSD+*G11*, en los demás grupos no se observaron diferencias. Las histologías de hígado mostraron que el tratamiento HFSD presentó esteatosis mientras que en los tratamientos HFSD+*G11* y HFSD+*G11* TX se observó una esteatosis moderada. Los resultados de expresión génica y Western Blot coinciden, mostrando una mayor expresión tanto de genes como de proteínas antioxidantes en los tratamientos adicionados con *G. lucidum* se observó una notoria reducción en la acumulación de lípidos. Los resultados del presente estudio indican que el consumo de los extractos de *G. lucidum* podrían mejorar los efectos causados por una dieta alta en grasa y azúcares a través de mecanismos

moleculares que involucran un cambio en la expresión de genes y proteínas antioxidantes gracias a la presencia de compuestos bioactivos con actividad antioxidante.

**Palabras claves:** Actividad antioxidante, esteatosis hepática no alcohólica, *Ganoderma lucidum*, obesidad.

## I. INTRODUCCIÓN

La obesidad se define como una acumulación anormal y excesiva de grasa. Es considerada uno de los principales problemas de salud pública, debido a que afecta a aproximadamente a 671 millones de personas en el mundo (NCD-RisC, 2017). En México, existe una prevalencia de obesidad en el 36.1 % de la población adulta (ENSANUT, 2018). Esta enfermedad está asociada al desarrollo de patologías como esteatosis hepática no alcohólica, diabetes y enfermedad cardiovascular (De Lorenzo *et al.*, 2019). La obesidad puede ser contrarrestada al implementar un mejor estilo de vida (actividad física y dieta saludable). Además, se han realizado estudios enfocados al hallazgo de tratamientos médicos más seguros y eficaces, como los que involucran compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales con actividad antioxidante (Herranz-López *et al.*, 2015).

Los antioxidantes son moléculas endógenas o exógenas con la capacidad de prevenir o retrasar la oxidación en el organismo, que es ocasionada por los radicales libres. Los antioxidantes endógenos son propios del organismo, consisten en diversas enzimas y compuestos no enzimáticos, así como en proteínas de transferencia que secuestran metales prooxidantes e inhiben su participación en las reacciones redox (Da Costa *et al.*, 2012). Los antioxidantes exógenos se obtienen de los alimentos y funcionan como un apoyo externo a la vía endógena que confiere protección al organismo ante diferentes patologías (Zamora, 2007). Entre los alimentos con actividad antioxidante destacan los hongos medicinales.

*G. lucidum* es un hongo polyporal, perteneciente a la familia Ganodermataceae. Su carpóforo es persistente y va aumentando de tamaño. Su píleo es coriáceo, de color café y de forma semicircular o arriñonada (Tortella *et al.*, 2008). Este hongo produce pudrición blanca y es capaz de descomponer lignina y celulosa (Eastwood *et al.*, 2011). Es conocido como “Ling zhi” en China y “Reishi” en Japón. Ancestralmente, ha sido utilizado en la medicina tradicional de las culturas orientales para prevenir o tratar diversas enfermedades. En la actualidad, estudios farmacológicos han demostrado la actividad antioxidante de *G. lucidum*, que se debe principalmente a los polisacáridos, polifenoles, terpenoides y esteroides (Smina *et al.*, 2011).

Los compuestos bioactivos presentes en *G. lucidum* han resultado eficaces en la prevención y tratamiento de la obesidad, así como de los trastornos relacionados a esta enfermedad. Además, no presentan efectos secundarios ni toxicidad (Liang *et al.*, 2018). Por ejemplo, Chang *et al.* (2015)

sugieren que el extracto acuoso de *G. lucidum* podría inhibir la obesidad a través de la modulación intestinal, la cual se debe principalmente a la actividad antioxidante de los polisacáridos contenidos en este hongo. Otro estudio afirma que el extracto etanólico de *G. lucidum* aumenta los niveles de enzimas antioxidantes y disminuye la producción de peróxidos de lípidos que podría contrarrestar de manera eficaz el estrés oxidativo y optimizar la capacidad antioxidante del cuerpo (Zhang *et al.*, 2022). También se ha reportado que el extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* reduce la acumulación de grasa, la esteatosis hepática y la hiperlipidemia (Sang *et al.*, 2021). Estos resultados sugieren que este hongo podría usarse como un tratamiento seguro y eficaz contra la obesidad y sus enfermedades relacionadas. Sin embargo, los estudios del efecto antioxidante de *G. lucidum* para tratar la obesidad siguen siendo escasos.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar dos extractos hidroalcohólicos de *G. lucidum* en un modelo de obesidad inducido por una dieta alta en grasa y azúcares. Los resultados obtenidos indican que el consumo de los extractos de *G. lucidum* podrían mejorar los efectos causados por una dieta alta en grasa y azúcares en el organismo a través de mecanismos moleculares que involucran un cambio en la expresión de genes y proteínas antioxidantes debido a la presencia de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, obteniendo un resultado benéfico mayor con el extracto *G12*.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Obesidad**

La obesidad fue declarada epidemia mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1997 (OMS, 1998). La obesidad es una enfermedad crónica, causada por una ingesta calórica mayor a la que el cuerpo necesita. Es precursora para el desarrollo de esteatosis hepática, diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer, inflamación de bajo grado y otras enfermedades que reducen la esperanza de vida (Hoyt *et al.*, 2014, Ganesan y Xu, 2018; Komshilova y Troshina, 2018; Desharnais *et al.*, 2022).

En el 2014, los gastos médicos para tratar esta enfermedad se estimaron en 151 894 millones de pesos. Esta cifra equivale al 34% del gasto público en salud y causa una pérdida de productividad estimada en 71 669 millones de pesos (0.4% del PIB) por año (ENSANUT, 2018).



### 2.1.1 Clasificación de la obesidad

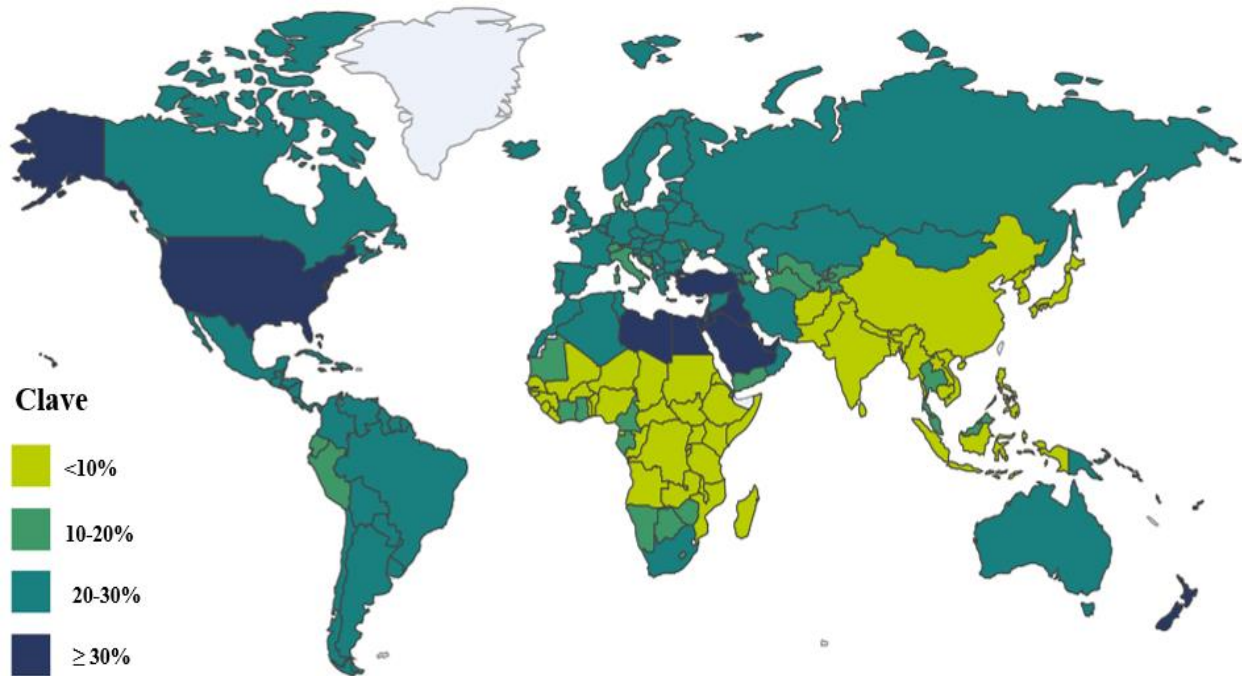
Para determinar el grado de obesidad se puede emplear la clasificación propuesta por la OMS, que está basada en el índice de masa corporal (IMC) (Cuadro 1). Se calcula dividiendo el peso del individuo expresado en kilos entre el cuadrado de la altura en metros. También, la ATP III (Tercer Reporte de Panel de expertos en detección, evaluación y tratamiento de concentraciones elevadas de colesterol en adultos) ha establecido criterios indicadores de obesidad abdominal, cuyas medidas son de 88 cm en mujeres y 102 cm (Córdova-Pluma *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Clasificación de la obesidad según la OMS.

<b>Peso corporal</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>Normal</b>	18.5 y 24.9
<b>Sobrepeso</b>	25 y 29.9
<b>Obesidad clase I</b>	30 y 34.9
<b>Obesidad clase II</b>	35 y 39.9
<b>Obesidad clase III</b>	>40

### 2.1.2 Epidemiología de la obesidad

La prevalencia de la obesidad a nivel mundial ha aumentado a un ritmo alarmante. En el 2008, aproximadamente 500 millones de personas en el mundo presentaba obesidad clase II. Para el 2016 este número aumentó a 671 millones (NCD-RisC, 2017) y se estima que para el 2050 el 45% de la población podría padecerla (Desharnais *et al.*, 2022). De acuerdo con los datos de World Obesity, los países con mayor prevalencia de obesidad son Estados Unidos (36.2%), Arabia Saudita (35.4%), Libia (32.5%), Turquía (32.1%), Egipto (32%), Nueva Zelanda (30.8%), Iraq (30.4%), Fiji (30.2%) y las Islas Salomón (22.5%) (Figura 1). Esta enfermedad se presenta en mayor porcentaje en mujeres, tanto en países en desarrollo como en países desarrollados (Rana *et al.*, 2021). En México, la obesidad está presente en el 36.1% de la población total (ENSANUT, 2018) y se estima que el 70% de los adultos y el 40% de los niños la padecen. Estas cifras convierten a la obesidad en uno de los principales problemas de salud pública en el mundo y en México. Además, se calcula que causa la muerte de 2.8 millones de personas al año (INCY TU, 2016).



**Figura 1.** Estimaciones de prevalencia de obesidad en adultos. Obesidad IMC  $\geq 30$  kg / m<sup>2</sup> (World Obesity, 2021).

### 2.1.3 Etiología de la obesidad

El origen de la obesidad se debe a condiciones genéticas del individuo (genes implicados y síndromes monogénicos) y a los factores ambientales (nutrición, microbiota intestinal, actividad física, aspectos psicológicos y sociales) (Farrera-Rozman, 2013). Sin embargo, una dieta alta en grasa representa una contribución importante para su padecimiento. Una dieta alta en grasa es aquella que está conformada con al menos el 35% de calorías provenientes de grasa y que supera los requerimientos energéticos necesarios en un individuo (Krisanits *et al.*, 2020). Por ende, un peso saludable está estrechamente relacionado con un consumo y gasto energético adecuados (Martínez-Vizcaíno *et al.*, 2021). El desequilibrio energético produce el incremento del tejido adiposo y peso corporal, consecuentemente, obesidad y sus enfermedades relacionadas ((De Lorenzo *et al.*, 2019).

## **2.1.4 Fisiopatología de la obesidad**

### ***2.1.4.1 Tejido adiposo***

El tejido adiposo (TA) es un importante órgano endocrino, representa entre el 20 y 28 % de la masa corporal en individuos sanos y hasta el 80 % en individuos con obesidad. De acuerdo con su distribución y localización se determina su función. El tejido subcutáneo se localiza debajo de la piel y corresponde al 80% de la grasa corporal total. El tejido visceral comprende el 10% de la grasa corporal total y rodea el riñón, los intestinos, las gónadas, la vasculatura y el corazón (Frigolet y Gutiérrez-Aguilar, 2020).

El TA, según su función también se divide en tejido adiposo blanco (TAB), tejido adiposo pardo (TAP) y tejido adiposo beige. El TAB almacena grasa y secreta citocinas; el TAP distribuye la energía por termogénesis y el tejido adiposo beige aparece en respuesta a estímulos como el ejercicio, la exposición al frío y a algunas hormonas. Estas últimas se acumulan en depósitos de TAB, pero tienen características de adipocitos pardos (Frigolet y Gutiérrez-Aguilar, 2020).

### ***2.1.4.2 Adipocitos***

Los adipocitos se originan de células fibroblásticas. Puede desarrollarse a partir de dos procesos: por hipertrofia (aumentando su tamaño) o por hiperplasia (aumentando el número de células). Este desarrollo está mediado por varios factores, como una dieta alta en grasa. Los adipocitos con hipertrofia tendrán una anomalía en su función, es decir, una disminución en la sensibilidad a la insulina, hipoxia, estrés intracelular, autofagia, apoptosis e inflamación de los tejidos (Suárez-Carmona, *et al.*, 2017). Los adipocitos estimulados por señales infecciosas o inflamatorias producen reactantes de fase aguda y mediadores de la inflamación como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6, IL8, IL10 y IL15 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6, IL8, IL10 y IL15 (Bastarrachea *et al.*, 2007).

### ***2.1.4.3 Macrófagos***

Los macrófagos se relacionan con el desarrollo y mantenimiento de la inflamación producida por la obesidad, producen moléculas proinflamatorias que en su función paracrina provocan una disminución en la sensibilidad a la insulina en los hepatocitos, que desarrollan finalmente una lesión hepática. Asimismo, existe una correlación positiva entre la cantidad de macrófagos en el tejido adiposo con la obesidad, ya que los macrófagos pueden atraer, englobar y almacenar lípidos

para convertirse en células espumosas ateroscleróticas, que son el inicio de la formación de la placa aterosclerótica (Bastarrachea *et al.*, 2007).

#### **2.1.4.4 Adipocinas**

Existen alrededor de 50 adipocinas diferentes, entre las que destacan la adiponectina, el TNF- $\alpha$  y la IL-6. Uno de los principales efectos de las adipocinas es el proceso de homeostasis. Las adipocinas intervienen en los procesos de consumo de alimento, el equilibrio energético, la acción de la insulina y metabolismo de la glucosa. El aumento en la síntesis y secreción de las adipocinas está relacionado con el desarrollo de la obesidad, además, surge un decremento de las adipocinas antiinflamatorias (adiponectina), que influyen en la resistencia a la insulina y otras patologías asociadas (Muñoz-Sánchez *et al.*, 2005).

#### **2.1.4.5 Factor de necrosis tumoral- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )**

El TNF- $\alpha$  es una citocina proinflamatoria secretada por el sistema inmune por monocitos y macrófagos, por linfocitos T y B, células NK y por leucocitos polimorfonucleares. La expresión de TNF- $\alpha$  en los adipocitos está ligada a la obesidad, a la inflamación crónica y a la resistencia a la insulina. Se ha descrito una mayor expresión de TNF- $\alpha$  en tejido adiposo de sujetos obesos. Los mecanismos moleculares por los que TNF- $\alpha$  induce la resistencia a la insulina se deben a que interviene como inhibidor de la actividad tirosina cinasa del receptor de la insulina y de la vía de señalización de la insulina (Ramírez-Alvarado y Sánchez-Roitz, 2012).

#### **2.1.4.6 Interleucina-6 (IL-6)**

La interleucina-6 es una citocina proinflamatoria producida por monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células endoteliales, sinoviocitos, células de la glía, adipocitos y células epiteliales intestinales. Los principales estímulos para su síntesis y liberación son la acción de otras citocinas, como la IL-1, TNF- $\alpha$ . Tiene efectos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios, gracias a su pluripotencial. A diferencia de la IL-1 y el TNF- $\alpha$  y sus efectos proinflamatorios, los efectos de la IL-6 en la inmunidad dependen del ambiente, de su disposición, de otras proteínas reguladoras que actúan en la vía de transducción de señales y de la concentración de su receptor soluble (Saavedra-Ramírez *et al.*, 2011). Los niveles en plasma de IL-6 se ven incrementados en la obesidad, produciendo a su vez resistencia a la insulina (Wunderlich *et al.*, 2010).



#### **2.1.4.7 Resistencia a la insulina**

La resistencia a la insulina (RI) se define como la disminución de la acción de la insulina a nivel celular, lo que provoca alteraciones sus funciones fisiológicas en el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas (Pollak, 2016). Está relacionada con patologías como la diabetes mellitus tipo 2, el síndrome metabólico y obesidad. La obesidad produce un aumento en la producción de citoquinas inflamatorias y una disminución de la adiponectina, lo que induce RI en el tejido adiposo, hígado y musculo (Ros-Pérez y Medina-Gómez, 2011).

#### **2.1.5 Enfermedades asociadas a la obesidad**

La obesidad está asociada con múltiples comorbilidades, que reducen la calidad y esperanza de vida. Estas son principalmente de carácter crónico degenerativas. Entre ellas se pueden nombrar a la esteatosis hepática no alcohólica, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus, las enfermedades cerebrales, las enfermedades respiratorias y la osteoartritis (De Lorenzo *et al.*, 2019).

La esteatosis hepática no alcohólica se caracteriza por la acumulación de lípidos en el hígado, que generan daños similares a los causados por el consumo del alcohol, pero en individuos sin historial de consumo crónico. La acumulación de lípidos puede ser macro o microvesicular mayor al 5 % del peso total del hígado (Aguilera-Méndez, 2018). La esteatosis hepática no alcohólica es la enfermedad hepática más común y de no ser tratada a tiempo podría desarrollar esteatosis, cirrosis y hepatitis (Marchesini *et al.*, 2008; Yilmaz y Younossi, 2014; Zhou *et al.*, 2020).

Las enfermedades cardiovasculares se refieren a los trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos. Entre estos se incluyen a la enfermedad coronaria, la insuficiencia cardiaca, la fibrilación auricular, las arritmias ventriculares y la muerte súbita. La distribución de la grasa corporal podría ser la mejor forma de establecer el riesgo del desarrollo de las enfermedades cardiovasculares, pues ha relacionado al TA visceral con factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Pérez-Miguelsanz *et al.*, 2010). Además, los niveles altos de colesterol transportado por las LDL se pueden acumular en las paredes de las arterias, donde se pueden modificar y participar en los procesos implicados en el desarrollo de la placa aterosclerótica. Este proceso puede originarse durante las primeras décadas de la vida y progresar a través de los años, gracias a la hiperlipemia y otros factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión, la diabetes y el tabaquismo. Al aumentar de tamaño las placas pueden obstruir el interior de las arterias y

disminuye el flujo sanguíneo de los tejidos y el suministro de oxígeno (isquemia) (Cachofeiro, 2009). También, se ha reportado que el miocardio de los sujetos obesos realiza un trabajo mayor, debido a que la masa de tejido adiposo requiere de un incremento en la vascularización (López-Alvarenga y González-García, 2001).

La diabetes mellitus es una enfermedad causada por un funcionamiento anormal de la hormona de la insulina, la cual regula el metabolismo de la glucosa a nivel celular (Soumaya, 2013). Esta anomalía está relacionada con el exceso de grasa en el cuerpo. Esta involucra diferentes vías fisiopatológicas mediadas por citocinas y leptina (López-Alvarenga y González-García, 2001). Los altos niveles de glucosa en la sangre promueven efectos adversos relacionados con el estrés oxidativo, respuesta inmune y metabolismo de lípidos, que a largo plazo y sin intervención médica influyen en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, enfermedad hepática, ceguera y neuropatías (Yang y Cao, 2017).

Las enfermedades neurodegenerativas se relacionan con el proceso de muerte celular, que provoca la degeneración del tejido nervioso. La enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson están directamente relacionadas con cambios metabólicos y la obesidad (Niero-Mazon *et al.*, 2017). Se ha determinado que los individuos obesos presentan tres veces más posibilidades de desarrollar demencia (Whitmer *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2017), depresión y ansiedad en comparación con individuos no obesos (Chen *et al.*, 2018). Los altos niveles de citocinas proinflamatorias incrementan la inflamación y originan déficit cognitivo (Niero-Mazon *et al.*, 2017). Estas enfermedades pueden pasar desapercibidas por años hasta que se vuelven clínicamente evidentes.

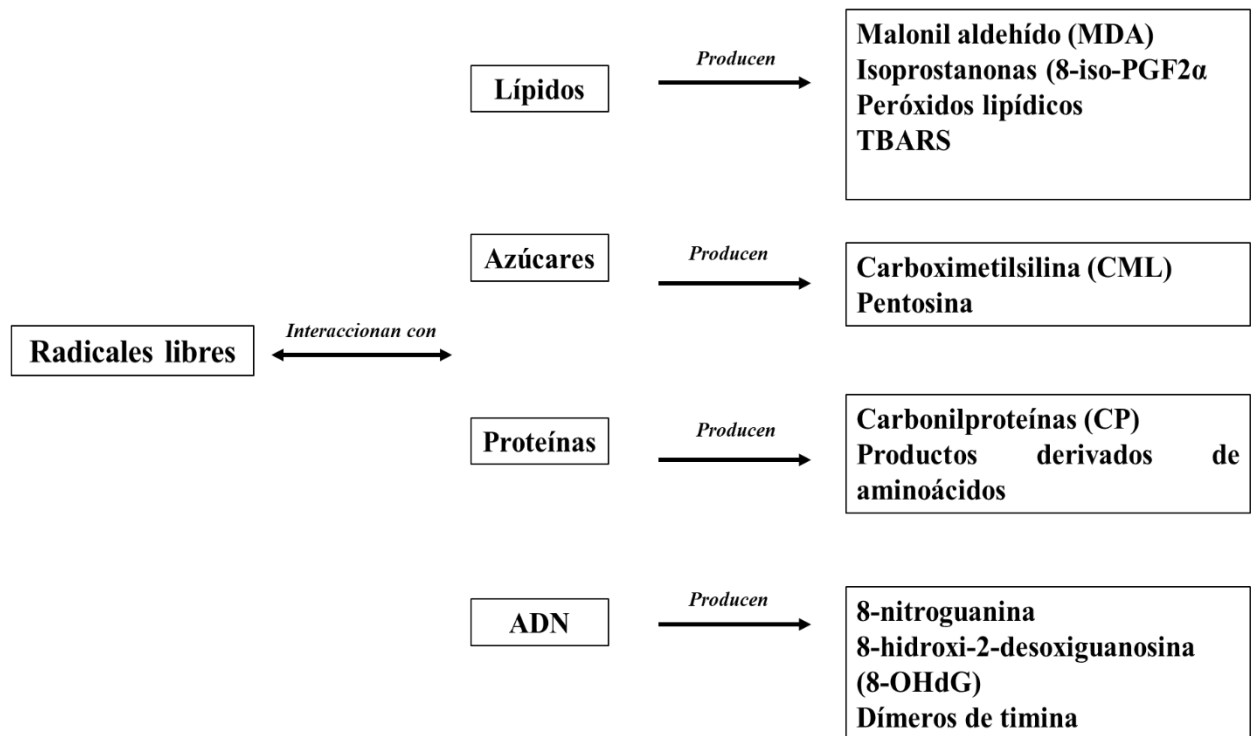
Las enfermedades respiratorias se producen cuando existe una alteración en las estructuras de las vías respiratorias. El peso excesivo de los individuos obesos ejerce fuerza contra las paredes de la cavidad torácica, lo que dificulta una respiración profunda y continua. Conjuntamente el espacio de la apertura retrofaríngea disminuye, lo que conduce al desarrollo de problemas respiratorios como asma, bronquitis, neumonía, apnea del sueño y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Ajay *et al.*, 2018). Además, estudios recientes evidencian que la obesidad es el principal contribuyente de mortalidad por COVID-19 (López-Barrera y Miljkovic, 2022).

La osteoartritis es una enfermedad que causa la degeneración del tejido articular. En la obesidad, los problemas articulares se deben al aumento de la carga que se ejerce en las articulaciones de las rodillas de tres a seis veces el peso corporal, lo que incrementa el estrés en esa zona y acelera el

deterioro del cartílago. También se le ha asociado con la osteoartritis en manos; este hallazgo sugiere que la obesidad es un factor sistémico (Yilmaz y Younossi, 2014).

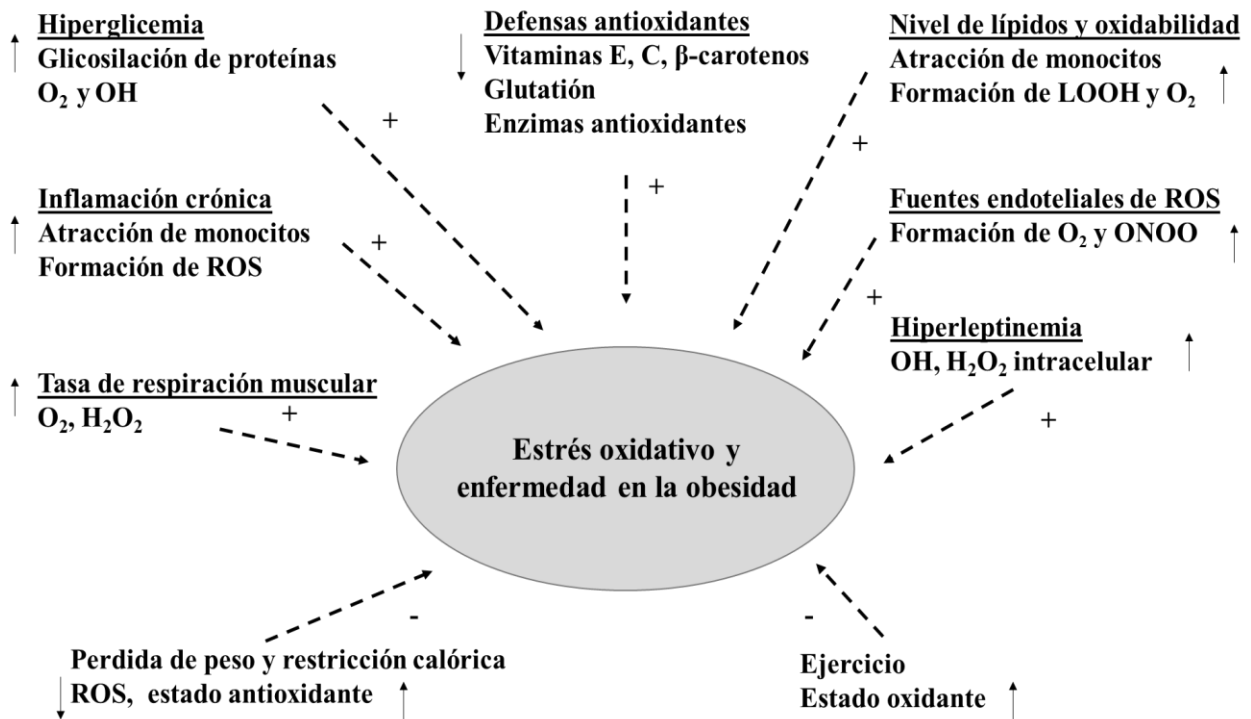
### 2.1.6 Relación entre obesidad y estrés oxidativo

El estrés oxidativo surge por un desequilibrio entre la cantidad de radicales libres y las defensas antioxidantes en el organismo (Valdecantos *et al.*, 2009). Las especies reactivas de oxígeno (ROS), son moléculas con alta reactividad, como los radicales libres, el superóxido (O<sub>2</sub>), el hidróperóxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el radical hidroxilo (OH), el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrilo (ONOO<sup>-</sup>) (Martínez-Sánchez, 2005; Valdecantos *et al.*, 2009; Nita y Grzybowski, 2016). El estrés oxidativo *in vivo* se mide mediante diversos marcadores, algunos de estos han permitido visualizar una correlación positiva entre el aumento del estrés oxidativo con el sobrepeso y la obesidad (Figura 2). Esta relación no ha sido dilucidada en su totalidad, sin embargo, se ha observado que la disminución de agentes antioxidantes ocurre simultáneamente con un aumento de elementos prooxidantes (Figura 3) (Vincent y Taylor *et al.*, 2006).



**Figura 2.** Principales marcadores indirectos de estrés oxidativo *in vivo* (Valdecantos *et al.*, 2009).

Se propone que la obesidad promueve el estrés oxidativo mediante dos vías: en la primera el tejido adiposo en exceso produce citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ ) que funcionan como un estímulo para la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), disminuyen la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial y aumentan la interacción de los electrones con O<sub>2</sub> para formar radicales superóxidos; en la segunda las cantidades elevadas de triglicéridos inhiben el translocador de nucleótidos de adenina y promueven la generación de O<sub>2</sub> (Martínez-Abundis *et al.*, 2005; Fenster *et al.*, 2002).



**Figura 3.** Relaciones entre las influencias prooxidante y antioxidante en el estrés oxidativo inducido por la obesidad (Vincent y Taylor, 2006).



### 2.1.7 Antioxidantes y genes antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas que neutralizan radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO). Pueden clasificarse en endógenos o exógenos. Los primeros son fabricados por la propia célula y consisten en varias enzimas, compuestos no enzimáticos y de proteínas de unión a metales prooxidantes que inhiben su participación en las reacciones redox. Los segundos son sustancias presentes en los alimentos e ingresan al organismo a través de la dieta (Klotz *et al.*, 2003). Ambos tratamientos de antioxidantes están estrechamente relacionados y en conjunto confieren protección al organismo ante el estrés oxidativo y las patologías.

El gen SOD1 codifica para la enzima SOD1, que tiene la función de proteger del daño causado por los radicales libres derivados del oxígeno. Convierte el anión superóxido en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). En presencia de  $Fe^{2+}$  el  $H_2O_2$  es parcialmente reducido al radical hidroxilo (OH). Este radical es muy reactivo y puede atacar a los lípidos de la membrana, las proteínas y el ADN, entonces la eliminación de  $H_2O_2$  y  $O_2$  es necesaria y beneficiosa. Existen 3 tipos de SOD: CuZnSOD (SOD1), presente en el citoplasma, en el núcleo y en las microsomas; MnSOD (SOD2), localizada en la matriz mitocondrial y la ECSOD (SOD3) localizada extracelularmente (Carvajal-Carvajal, 2019). Se ha reportado que en el comienzo del desarrollo de la obesidad se presenta un aumento de la actividad del superóxido dismutasa, sin embargo, se observó una disminución de la actividad cuando la obesidad está desarrollada (Lewandowski *et al.*, 2020). SOD trabaja en conjunto con la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX) para la remoción del  $H_2O_2$  en las células (Carvajal-Carvajal, 2019).

La catalasa es una enzima que reduce el peróxido de hidrógeno a  $H_2O$  y oxígeno y que requiere de la presencia de NADPH para llevar a cabo su función (Carvajal-Carvajal, 2019). En la obesidad la actividad de la catalasa (CAT) disminuye (Cheng *et al.*, 2019).

La glutatión peroxidasa (GPX) reduce el peróxido de hidrógeno y los peróxidos orgánicos (ROOH) a  $H_2O_2$  o alcohol (ROH), respectivamente, utilizando glutatión reducido. La GPX se localiza en el citoplasma y en la mitocondria. El glutatión oxidado debe ser regenerado para poder continuar funcionando y lo hace a través de la enzima glutatión reductasa (Carvajal-Carvajal, 2019). Al inicio de la obesidad se presenta un aumento de la actividad del superóxido dismutasa, pero su expresión disminuye conforme la obesidad se desarrolla (Cheng *et al.*, 2019).

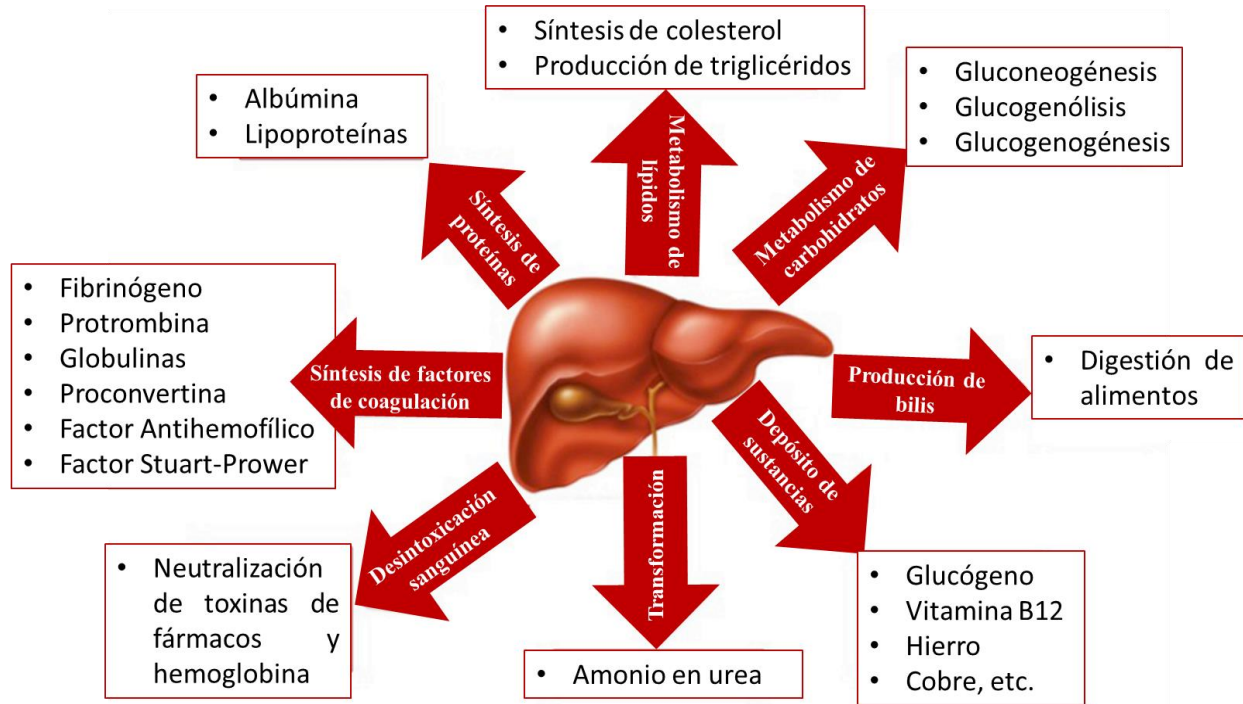
La expresión de las tres principales enzimas antioxidantes (SOD, CAT y GPX) aumente de forma dependiente del nivel de los ROS. Hay dos reguladores principales de la respuesta celular al estrés oxidativo, los factores de transcripción NF- $\kappa$ B y AP-1, pueden unirse a sitios específicos en la región promotora de los genes de SOD2, GPX y CAT en las células de músculo esquelético y estimular la producción de estas enzimas (Carvajal-Carvajal, 2019).

NRF2 es un factor de transcripción que regula la expresión de numerosos genes de enzimas que protegen contra el estrés oxidativo, a través de la unión a una secuencia específica del ADN conocida como ARE (de sus siglas en inglés: "Antioxidant Response Element"), cuya reacción se debe a compuestos oxidantes y/o electrófilos de naturaleza química muy variada (Königsberg-Fainstein, 2007). Entre las enzimas que regular se encuentran la catalasa y la superóxido dismutasa, también, aumenta los niveles de glutatión reducido y NADPH + H<sup>+</sup> y reduce la producción de superóxido mitocondrial e inducción de la expresión de enzimas de la vía de las pentosas fosfato. Como es factor de transcripción y no específicamente un antioxidante, entonces es capaz de desencadenar una respuesta celular amplificada, lo que lo hace sumamente importante en la búsqueda de tratamientos para enfermedades relacionadas al estrés oxidativo (Tebay *et al.*, 2015).

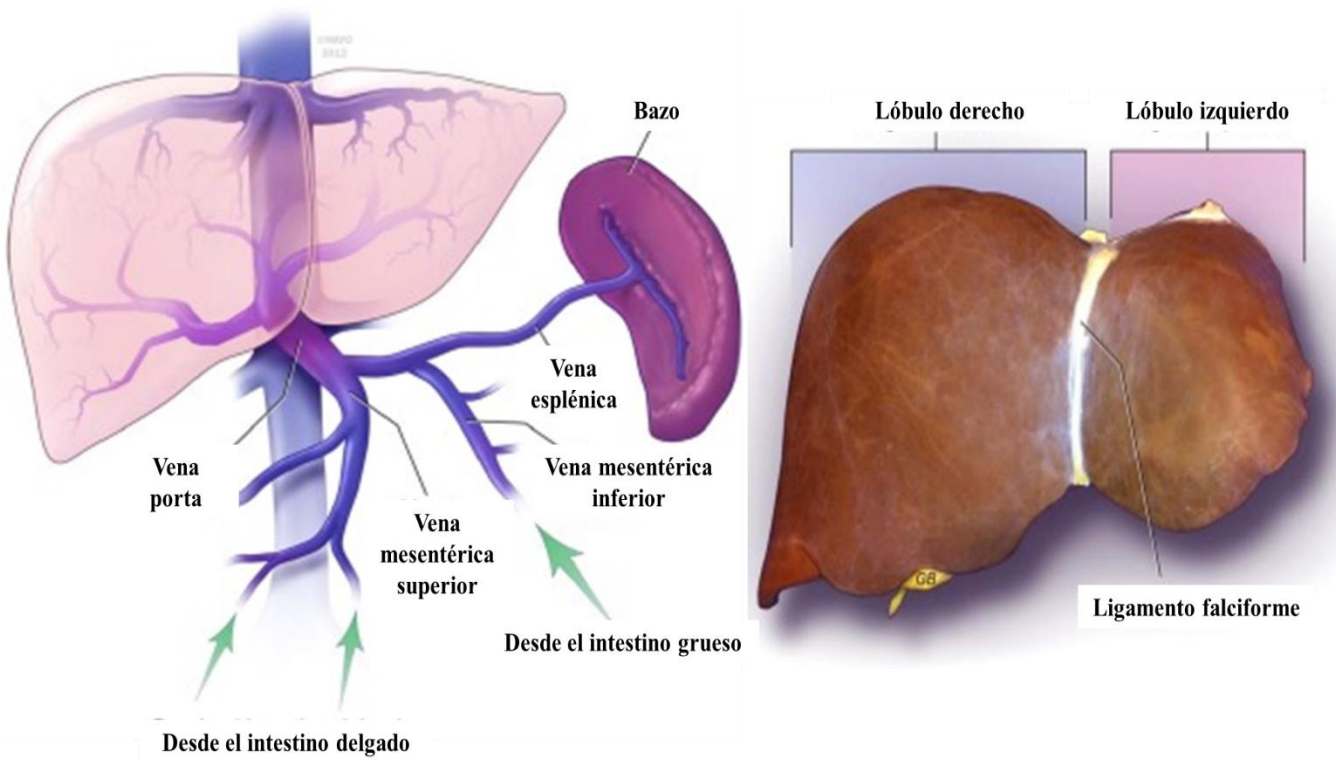
## **2.2 Hígado y obesidad**

### **2.2.1 Función hepática**

El hígado es un órgano multifuncional con una fisiología compleja (Figura 4). Tiene funciones vasculares, metabólicas (en el metabolismo de proteínas, grasas y carbohidratos, gracias a los hepatocitos que tiene la función de purificar la sangre, eliminar desechos, toxinas y almacenar nutrientes), secretoras y excretoras (Sibulesky, 2013; Manterola *et al.*, 2017). Tiene un peso aproximado de 1.4 Kg en mujeres y 1.8 Kg en hombres, es decir, aproximadamente el 2% del peso total de una persona adulta. Es de aspecto liso, flexible, de color marrón y está rodeada por la capsula de Glisson (Castaing y Veilhan 2006). El 75% de su irrigación es proporcionada por la vena porta, que tiene su origen en el bazo e intestino y el 25% por la arteria hepática, la arteria hepática puede presentar variaciones (Figura 5 A). Consta de dos lóbulos, uno derecho y otro izquierdo, los cuales están formados por 8 segmentos (Figura 5 B). Cada segmento presenta su propio pedículo portal con una rama arterial hepática, una rama de la vena porta, un conducto biliar y la rama venosa hepática que lleva el flujo de salida (Sibulesky, 2013).



**Figura 4.** Esquema de la fisiología del hígado (Manterola *et al.*, 2017).



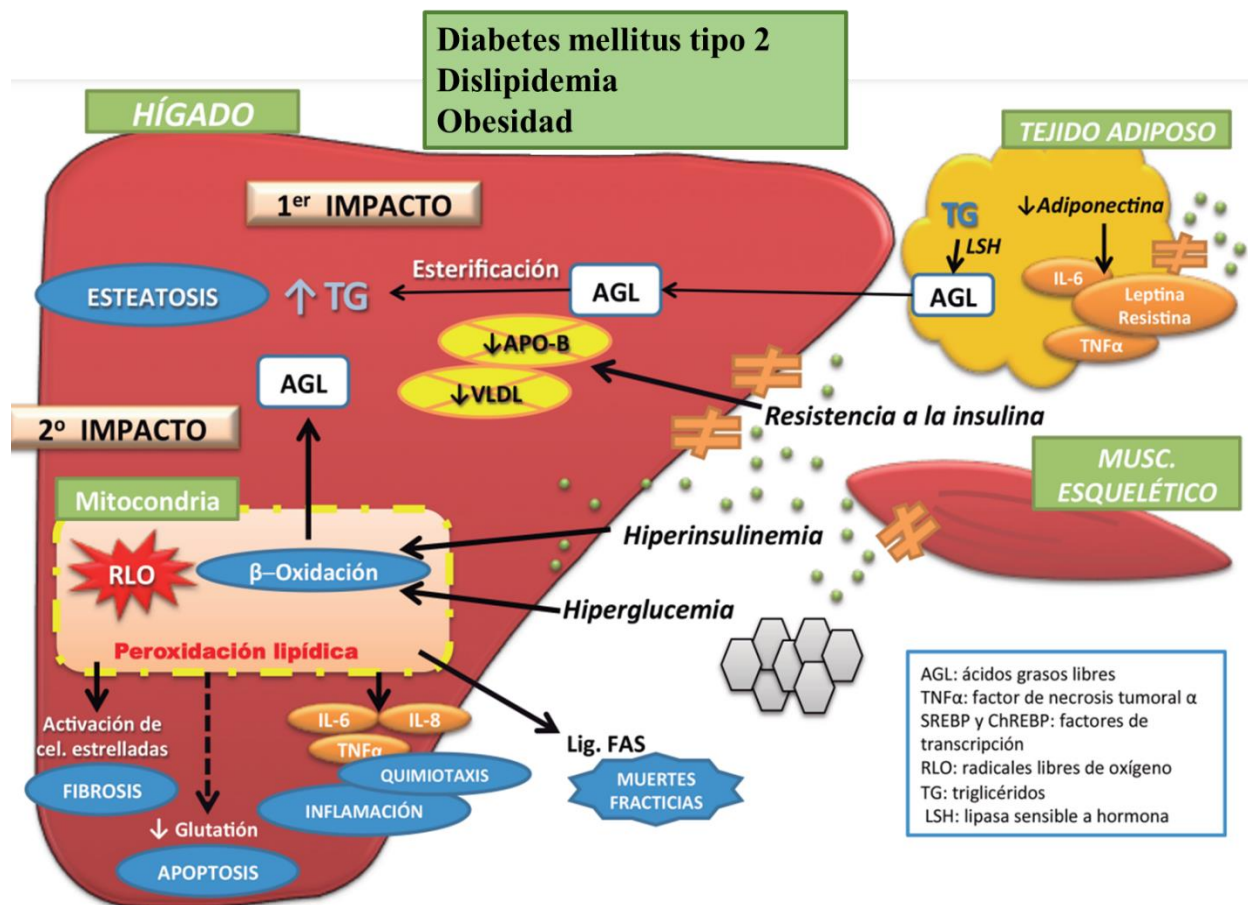
**Figura 5.** Anatomía del hígado. A) Drenaje de la vena porta. B) Anatomía morfológica del hígado (Sibulesky, 2013).

### **2.2.2 Metabolismo de lípidos en el hígado**

El hígado es el principal sitio del metabolismo de lípidos, participa en la absorción y en la síntesis *de novo* de las grasas. Las grasas dietéticas son disueltas por las sales biliares y absorbidas por el intestino, y a través de la circulación enterohepática llegan al hígado para la síntesis de quilomicrones (Nguyen *et al.*, 2008; Mulaikal y Emond, 2012). Los quilomicrones son sintetizados durante las fases posprandiales para el transporte de la grasa y es secretado hacia la linfa para su posterior liberación a nivel sanguíneo y es un activador de la enzima proteína lipasa (LPL), que participa en el metabolismo y transporte de las lipoproteínas, así como en la síntesis de ácidos grasos libres y glicerol para el almacenamiento energético (Torres-Arrieta *et al.*, 2021). El aumento de ácidos grasos libres aumentará la producción de VLDL, esto ocurre, por ejemplo, en la obesidad visceral, de resistencia a la insulina y en la diabetes mellitus (Carvajal, 2014).

### **2.2.3 Esteatosis hepática no alcohólica**

La esteatosis hepática no alcohólica es una enfermedad multifactorial. Su fisiopatología se produce por un desbalance en la adsorción y remoción de los triglicéridos en el hígado. La teoría más aceptada para tratar de explicar su etiología es la de doble impacto (Day y Oliver, 1998). El primer impacto es la resistencia a la insulina periférica causada por una acumulación de grasa en el hígado. Esto provoca un cambio metabólico que aumenta la lipólisis en el tejido adiposo y produce una mayor entrada de ácidos grasos en el hígado. Esto incrementa la reesterificación de ácidos grasos y de la lipogénesis hepática *de novo*. También surge un decremento en la oxidación de ácidos grasos y de la exportación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). El segundo impacto aparece cuando la acumulación de lípidos es tóxica y provoca una respuesta de estrés oxidativo en el hígado. Esto promueve la liberación de catepsinas lisosomales, la disfunción mitocondrial, el estrés del retículo endoplásmico y la apoptosis celular, que origina inflamación, necrosis y fibrosis (Figura 6) (Caballería-Rovira *et al.*, 2008; Martín-Domínguez *et al.*, 2013). Esto predispone el desarrollo de cirrosis y hepatocarcinoma (Cohen *et al.*, 2011).



**Figura 6.** Esquema de la patogénesis de la esteatosis hepática (Martín-Domínguez *et al.*, 2013).

### 2.3 *Ganoderma lucidum*

*Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr) P. Karst se clasifica dentro del reino Fungi, phylum Basidiomycota, clase Agaricomycetes, orden Poliporales, familia Ganodermataceae y género *Ganoderma* (Du *et al.*, 2019). En China ha sido considerado una hierba mágica, así como un símbolo de auspicio y se ha utilizado en la medicina tradicional desde hace más de 2000 años para mantener la salud y prolongar la vida. También se le denomina Lingzhi, ruizhi, Shenzhi y Xiancao, que significan buena fortuna y poder misterioso (Chen, 2004; Lin, 2019).

Su estípite, cuando está presente, mide de 2 a 30 cm de largo y es de color blanco a amarillo, y de forma eventual se torna de color café a negro. Su píleo tiene forma circular, semicircular o arriñonada, es plano y con un diámetro de 5 a 20 cm; de color amarillo, café o rojo con bordes de crecimiento de color blanco, su color varía según la cepa y condiciones ambientales (Figura 7). Su

himenio está conformado por tubos alargados que se ven como poro de color blanco (Tortella *et al.*, 2008). El basidiocarpio es suave, húmedo y correoso cuando está fresco; y duro y leñoso cuando está seco. Sus esporas son de color café a rojo, elipsoides y de extremo romo, rugosas, miden 9-12 x 5,5-8  $\mu\text{m}$ , con doble pared y con pilares entre las paredes que simulan columnas. El ciclo de vida de *G. lucidum* inicia cuando uno de los basidios libera una basidiespora y esta llega a un sitio favorable para su germinación. Posteriormente las hifas comienzan a desarrollarse y forman el micelio. Este se alimenta de la celulosa y lignina del sustrato donde crece. Produce pudrición blanca y se le considera el degradador de lignina más eficiente. Crece en bosques húmedos y tropicales con temperaturas que oscilan entre 20 °C a 28 °C (Tabares y Toro, 2013). El género *Ganoderma* tiene una amplia distribución que va desde el Amazonas hasta el sur de Norteamérica y en la mayor parte de Asia (Stamets, 1993).



**Figura 7.** Cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum*. Imagen del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados Campus Puebla.

### **2.3.1 Actividad antioxidante de *Ganoderma lucidum***

Por más de 2000 años *Ganoderma lucidum* ha sido utilizado ampliamente en la medicina tradicional en el continente asiático (Lee *et al.*, 2001). Actualmente este hongo se ha vuelto popular en países

occidentales y se han desarrollado diversos estudios sobre sus beneficios y la determinación de sus principios activos (Delzenne y Bindels, 2015). Se han hallado una gran variedad de compuestos bioactivos que lo respaldan como alimento de alto valor y con gran importancia farmacológica. Entre los compuestos presentes en este hongo se han reportado a los polisacáridos ( $\beta$ -glucanos y peptidoglucanos), triterpenoides y esteroides (Chang y Buswell, 2008). Los de mayor actividad farmacológica son los triterpenos y los polisacáridos. Dentro de sus propiedades se reporta la actividad antitumoral, inmunoestimulante, hepatoprotectora, hipoglucemiante, hipocolesterolemizante y antioxidante. Además, Meneses *et al.* (2016) reportaron que el extracto de *G. lucidum* reduce significativamente la concentración de triglicéridos, colesterol hepático y triglicérido hepáticos; ellos asocian este efecto con la reducción en la expresión de genes lipogénicos y genes implicados en el transporte inverso de colesterol, y le atribuyen este efecto a los  $\alpha$ -glucanos y  $\beta$ -glucanos.

Chang *et al.* (2015) publicaron un artículo acerca de las propiedades antiobesidad de *G. lucidum*; probaron que la administración diaria del extracto acuoso de este hongo en concentraciones de 2-8% en ratones alimentados con una dieta alta en grasa ayudaba a mejorar la obesidad y las características relacionadas con esta enfermedad, debido a la actividad antioxidante de los polisacáridos. Otro estudio reportó que los polisacáridos de este hongo tienen una alta actividad antioxidante y de eliminación de radicales libres (Subedi *et al.*, 2021). Ferreira *et al.* (2015) reportan resultados similares en condiciones *in vitro*.

También se ha encontrado que los péptidos de bajo peso molecular inhiben la peroxidación de lípidos y tienen un efecto positivo sobre la síntesis de SOD, CAT y GPX, y a su vez existe un efecto reductor de hiperlipidemia (Yue *et al.*, 2017). Lee *et al.* (2020) reportaron que *G. lucidum* disminuye la hipertrofia de adipocitos, entonces resulta eficaz en prevención de la obesidad y la resistencia a la insulina. Este resultado es similar al de Kim y Nho (2004), ellos reportaron que un compuesto extraído de *G. lucidum* redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre en una prueba con animales y sugieren que podría ser eficaz en el tratamiento de la diabetes y la obesidad.

Estas propiedades pueden variar de acuerdo con la cantidad de compuestos bioactivos en el hongo. Su disponibilidad depende de la cepa, sustrato y condiciones ambientales. En un estudio comparativo entre una cepa silvestre del Himalaya y uno de cultivo *in vitro*, se determinó un mayor



barrido de radicales en *G. lucidum* silvestre, demostrando su potencial para el desarrollo nutraceútico por ser una fuente de antioxidantes naturales (Mohsin *et al.*, 2011).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En México, la obesidad es uno de los principales problemas de salud pública. De acuerdo con la Secretaría de Salud, se estima que siete de cada 10 mexicanos padecen esta enfermedad. Además, es un factor de riesgo para el desarrollo de otras enfermedades como la esteatosis hepática no alcohólica. Además, en 2019, se registraron más de 260 mil muertes a causa de la obesidad. Aunado a los riesgos a la salud, la obesidad también genera gastos médicos elevados para tratar esta enfermedad. Entonces es importante tomar medidas necesarias para abordar este problema. En este sentido, durante los últimos años ha surgido el interés sobre los compuestos bioactivos que derivan de hongos medicinales como *G. lucidum* para tratar diversas enfermedades. Existe evidencia acerca del papel que estos compuestos desempeñan en la modulación de procesos de estrés oxidativo en la obesidad a través de mecanismos moleculares, sin embargo, la mayoría de los trabajos que existen, son de especies extranjeras. Por tal motivo, es necesario realizar estudios acerca del efecto antioxidante de la cepa mexicana de *G. lucidum*.

### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La dieta proporciona los nutrientes básicos para las necesidades metabólicas y también puede contribuir a una mejor salud. Por ello se tiene interés por el estudio de ciertos compuestos que han sido reportados como benéficos, como es el caso de los hongos medicinales y específicamente de *G. lucidum*. Sin embargo, los estudios acerca del efecto antioxidante de extractos hidroalcohólicos de este hongo son escasos. Debido a que es un recurso valioso por sus efectos positivos sobre múltiples enfermedades se tiene interés por realizar una investigación que contribuya a la importancia de su uso para combatir el estrés oxidativo en la obesidad.

### **V. HIPÓTESIS**

#### **5.1 Hipótesis nula**

Los extractos hidroalcohólicos de *Ganoderma lucidum* no incrementarán la expresión de genes y proteínas antioxidantes en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.

## **5.2 Hipótesis alterna**

Los extractos hidroalcohólicos de *Ganoderma lucidum* incrementaran la expresión de genes y proteínas antioxidantes en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de los extractos de *Ganoderma lucidum* sobre la expresión de genes y proteínas antioxidantes en tejido hepático de ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta.

### **6.2 Objetivos específicos**

1. Conocer el efecto del consumo de los extractos de *G. lucidum* sobre la ingesta calórica y peso corporal de ratones en cada uno de los tratamientos.
2. Evaluar el efecto de los extractos de *G. lucidum* sobre las mediciones bioquímicas séricas de colesterol total, LDL-c, triglicéridos, glucosa, actividad antioxidante y transaminasas de ratones C57BL/6.
3. Analizar el depósito de lípidos en tejido hepático de ratones C57BL/6.
4. Determinar la expresión de genes y proteínas antioxidantes en tejido hepático de ratones C57BL/6.

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

El protocolo experimental de este proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética del Colegio de Postgraduados Campus Puebla, con el registro CIB-CB-HCFM-002.

### **7.1 Animales de laboratorio**

Se emplearon 56 ratones macho de la cepa C57BL/6 obtenidos del bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) con una edad aproximada de 6 semanas. Los animales se mantuvieron en cajas habitación individuales con sustrato de aserrín estéril en el bioterio del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Se alimentaron *ad libitum* con el tratamiento correspondiente. Se mantuvieron durante todo el experimento en condiciones controladas de temperatura de  $22 \pm 2$  °C y una humedad relativa de 45-55%, con un periodo de

luz-oscuridad de 12/12 h, iniciando a las 7:00 A.M. Posteriormente, se distribuyeron aleatoriamente en los tratamientos experimentales con una n= 8.

## **7.2 Elaboración del extracto hidroalcohólico de *Ganoderma lucidum***

Se utilizó la cepa CP-145, que fue aislada de basidiocarpos silvestres colectados en el estado de Morelos, México. Esta cepa se encuentra en la colección de la plataforma de investigación científica, tecnológica y de innovación P-ICTI-1 Recursos Genéticos del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Posgraduados *Campus* Puebla. Se realizó un cultivo in vitro de micelio en cajas de agar con extracto de malta a una temperatura de incubación de 24°C-26°C. La semilla se obtuvo a partir de granos de trigo estériles con 60%-70% de humedad, inoculados con la cepa CP-145 e incubados a 24°-26°C hasta alcanzar una colonización micelial total. Se inoculó aserrín de encino esterilizado, almacenado en bolsas de polipropileno (47x13.5 cm) con microfiltro de 0.5 micrones e incubadas bajo condiciones controladas de humedad relativa, temperatura, luz y aireación. El sustrato testigo consistió en aserrín de encino con una humedad de 70%-80%, mientras que el sustrato de cultivo tratado consistió en aserrín de encino con AAS (10 mM Sigma-Aldrich EE.UU.). Los basidiocarpos se cortaron en rebanadas y se deshidrataron a 40°C por 5 días en un secador de aire forzado, se almacenaron en bolsas de polipropileno y se almacenaron a -80°C (Martínez-Carrera *et al.*, 2016 y Meneses *et al.*, 2016).

El extracto hidroalcohólico se obtuvo de acuerdo a las especificaciones de la patente registrada de Martínez-Carrera *et al.* (MX322035-B, julio 8, 2014). Se elaboraron sobres con 10 g de *G. lucidum* molido, cultivados sustrato testigo y sustrato con AAS. Se maceraron por 24 h, se prensaron y filtraron. La concentración del macerado se obtuvo en el Rotavapor® R-220 Pro (BÜCHI Labortechnik Switzerland, Alemania) con vacío a 33 y 81 mbars durante 2 h y 30 min hasta obtener una concentración de 250 mg/mL. Se realizó una esterilización por el sistema Sterifil (Merck-Millipore).

## **7.3 Composición bromatológica de *Ganoderma lucidum***

La composición bromatológica de *G. lucidum* fue determinada en el laboratorio del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Composición química y análisis de extractos de basidiomas maduros de *Ganoderma lucidum* mexicano, cultivados sobre aserrín de Quercus (G11) y aserrín de Quercus más AAS (10 mM; G12).

<b>Análisis</b>	<b>G11</b>	<b>G12</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>	<b>Técnica</b>
<b>Proteínas totales</b>	0.365	0.315	%	AOAC. 1995. No. 991.20	Método Kjeldahl
<b>Carbohidratos por diferencia<sup>a</sup></b>	0.58	0.58	%	Merrill & Watt. 1973	-
<b>Glucosa</b>	0.1	0.1	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica
<b>Azúcares totales</b>	0.1	0.1	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica
<b>Calorías<sup>a</sup></b>	4	4	/100 g	Methods of Analysis for Nutritional Labelling, AOAC International. 1993	-
<b>Fibra dietética total</b>	0.15	0.1	%	AOAC. 2003. No. 985.29	Análisis gravimétrico
<b>Glucanos totales</b>	15.96	17.01	% w/w	AOAC. No. 995.16	Método colorimétrico
<b><math>\alpha</math>-glucanos</b>	14.19	15.14	% w/w	AOAC. No. 995.16	Método colorimétrico
<b><math>\beta</math>-glucanos</b>	1.77	1.87	% w/w	AOAC. No. 995.16	Método colorimétrico
<b>Polifenoles totales</b>	2.185	1.858	mg GAE/g	Folin Ciocalteu assay	Método colorimétrico
<b>Especies reactivas</b>	350,811.50	376,117.06	$\mu$ mol of Trolox Equivalent/g	Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay	Ensayo de fluorescencia
<b>Grasas</b>	0.01	0.01	%	AOAC. 2000. 989.05	Análisis gravimétrico
<b>Ceniza</b>	0.1	0.1	%	AOAC. 2000. No. 942.05	Análisis gravimétrico
<b>Vitaminaa B1 (tiamina)</b>	0.03	0.025	mg/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Vitamina B1	Ensayo microbiológico
<b>Vitaminaa B2 (riboflavina)</b>	0.04	0.035	mg/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Vitamina B2	Ensayo microbiológico
<b>Vitaminaa B3 (niacina)</b>	0.47	0.42	mg/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Vitamina B3	Ensayo microbiológico
<b>Vitaminaa B6 (piridoxina)</b>	0.01	0.01	mg/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Vitamina B6	Ensayo microbiológico
<b>Vitaminaa B12 (cianocobalamina)</b>	0.05	0.045	$\mu$ g/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Vitamina B12	Ensayo microbiológico
<b>Vitaminaa D</b>	<2.0	<2.0	IU/100 g	AOAC. 2009. No. 982.29	HPLC
<b>Calcio</b>	1.15	1.1	mg/100 g	AOAC. 2005. No. 974.14	Espectrometría de absorción atómica
<b>Cobre</b>	120	115	Ppb	Method CFAN/ORS/DBC/CHCB. FDA 2011	ICP-MS
<b>Hierro</b>	200	335	Ppb	Method CFAN/ORS/DBC/CHCB. FDA 2011	ICP-MS
<b>Magnesio</b>	2.35	2.25	mg/100 g	AOAC. 2005. No. 974.14	Espectrometría de absorción atómica

<b>Manganeso</b>	120	135	Ppb	Method CFAN/ORS/DBC/CHCB. FDA 2011	ICP-MS
<b>Poporos</b>	10.5	12.5	mg/100 g	AOAC. 2007. No. 970.39	Spectrophotometric method
<b>Potasio</b>	36.5	32.5	mg/100 g	AOAC. 2005. No. 974.14	Espectrometría de absorción atómica
<b>Selenio</b>	<100	<100	Ppb	Method CFAN/ORS/DBC/CHCB. FDA 2011	ICP-MS
<b>Sodio</b>	1.9	1.85	mg/100 g	AOAC. 2005. No. 974.14	Espectrometría de absorción atómica
<b>Zinc</b>	450	405	Ppb	Method CFAN/ORS/DBC/CHCB. FDA 2011	ICP-MS
<b>Perfil de ácidos orgánicos:</b>					
<b>Ácido acético</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido butírico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido cítrico</b>	0.0065	0.006	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido fumárico</b>	0.002	0.002	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido glucónico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido láctico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido málico</b>	0.0175	0.015	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido oxálico</b>	0.003	0.003	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido propiónico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido quínico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido succínico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Ácido tartárico</b>	<0.001	<0.001	%	AOAC. 2000. No. 986.13	HPLC
<b>Fibra cruda</b>	0	0	%	AOAC. 1990. No. 962.09	Análisis gravimétrico
<b>Fructosa</b>	0	0	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica
<b>Lactosa</b>	0	0	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica
<b>Maltosa</b>	0	0	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica

<b>Sacarosa</b>	0	0	%	AOAC. 1995. No. 996.04	Cromatografía iónica
<b>Vitamina A</b>	0	0	IU/100 g	AOAC. 2001. No. 292.13	HPLC
<b>Vitamina B9 (ácido fólico)</b>	0	0	µg/100 g	R-Biopharm. 2011. VitaFast Folic Ácido	Ensayo microbiológico
<b>Vitamina C</b>	0	0	mg/100 g	Brause <i>et al.</i> 2003	HPLC
<b>Vitamina E</b>	0	0	mg/100 g	AOAC. 2000.No. 992.03	HPLC
<b>Retinol</b>	0	0	IU/100 g	AOAC. 2002. No. 938.04/2001.13	HPLC
<b>Omega-3 total</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Grasa monosaturada total</b>	n/a	n/a	g/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Grasa poliinsaturada total</b>	n/a	n/a	g/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Grasa saturada total</b>	n/a	n/a	g/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Grasas trans totales</b>	n/a	n/a	g/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Alfa linolénico (ALA)</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Docosahexaenoico (DHA)</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Docosapentaenoico</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Docosatrienoico</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Eicosapentaenoico (w-3) (EPA)</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica
<b>Eicosatrienoico (11,14,17)</b>	n/a	n/a	mg/100 g muestra	AOCS. 2002. No. Ce 1f-96	Cromatografía iónica

AOAC = Métodos oficiales de análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales, EE. UU.

AOCS = Métodos oficiales de análisis de la Sociedad Estadounidense de Químicos del Aceite, EE. UU.

HPLC = Cromatografía líquida de alta resolución.

ICP-MS = Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente.

a Datos calculados basados en estándares específicos.

n/a = No disponible.

## 7.4 Composición de dietas

La dieta control (CTRL) se realizó de acuerdo con las normas dietéticas que la American Institute Nutrition propone para estudios nutricionales en roedores. La American Institute Nutrition formuló la dieta CTRL AIN-93 para estandarizar las medidas nutricionales adecuadas que se utilizan en los estudios de laboratorio. Existen dos tipos: la dieta AIN-93G que se emplea en la etapa de crecimiento y la dieta AIN-93M para las etapas restantes. Para este estudio se empleó la AIN-93 G (AIN, 1997; AIN, 1980; Reeves *et al.*, 1993). Por otro lado, la dieta alta en grasa (HFD) fue enriquecida con 30% de manteca de cerdo, 6% aceite de soya y 6 % con aceite de coco (Cuadro 3). Además, se administró agua azucarada con 50 g de fructosa y sacarosa (con una proporción de 55/45 respectivamente) por litro de agua. Estas modificaciones se realizaron a partir de la dieta AIN-93 (Liu *et al.*, 2015; Kothari *et al.*, 2017). Además, se administraron dos extractos hidroalcohólicos de *G. lucidum* a partir de la cepa CP-145 de la colección del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados, Campus Puebla de acuerdo con la patente de Martínez-Carrera *et al.* (MX322035-B, Julio 8, 2014) a partir de dos condiciones de crecimiento, en la primera no se adicionó AAS (ácido acetilsalicílico) (*Gl* 1) en el sustrato y en la segunda se adicionó AAS en el sustrato (*Gl* 2). El extracto *Gl* 1 representó el 1% la dieta diaria de ratones, se administró al tratamiento 3 (para evaluar su efecto como tratamiento preventivo) y al tratamiento 5 (para evaluar su efecto como tratamiento curativo), mientras que el extracto *Gl* 2 se administró al tratamiento 4 (para evaluar su efecto como tratamiento preventivo) y al tratamiento 6 (para evaluar su efecto como tratamiento curativo). A partir de la formulación de las dietas se elaboraron galletas para ser consumidas *ad libitum* por los ratones de los distintos tratamientos.



**Cuadro 3.** Formulación de las dietas AIN-93 y HFD.

<b>Ingredientes</b>	<b>AIN-93 (g/kg)</b>	<b>HFD (g/Kg)</b>
L-cistina	3	3
Colina	2.5	2.5
Vitaminas	10	10
Celulosa	50	50
Minerales	35	35
Aceite de soya	70	35
Aceite de coco	0	35
Almidón	397.5	239.03
Dextrina	132	102.67
Sacarosa	100	77.78
Caseína	200	240
Manteca de cerdo	0	170

A continuación, se describe cada uno de los tratamientos:

CTRL: dieta AIN-93.

HFSD: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%).

HFSD+G/1: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* 1 (1% de la dieta total) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%).

HFSD+G/2: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* 2 (1% de la dieta total) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%).

HFSD+G/1 TX: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%) administrada durante 13 semanas, posteriormente se adicionó extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* 1 (1% de la dieta total) durante las 4 semanas siguientes.

HFSD+G/2 TX: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%)

administrada durante 13 semanas, posteriormente se adicionó extracto hidroalcohólico de *G. lucidum* 2 (1% de la dieta total) durante las 4 semanas siguientes.

HFSD+MET TX: dieta alta en grasa con 42% de Kcal a partir de grasa (aceite de coco hidrogenado, aceite de soya y manteca de cerdo) + agua con 50 g/L de fructosa (55%) y sacarosa (45%) administrada durante 13 semanas, posteriormente se adicionó metformina en una concentración de 250 mg/Kg (1% de la dieta total), una vez al día (Yang *et al.*, 2018).

### **7.5 Determinación de la ingesta de alimento de los ratones de la cepa C57BL/6**

El peso de los ratones se registró una vez por semana para calcular la ganancia de peso. La ingesta de alimento y el consumo de agua se registraron todos los días. Se utilizó una balanza de precisión Ohaus modelo AX1502 (Nänikon, Heuwinkelstrasse, Suiza). A partir de estos datos se calculó la ingesta calórica tomando en cuenta la composición de la dieta y que cada gramo de carbohidratos o proteína equivale a 4 Kcal, mientras que 1 gramo de grasa representa 9 Kcal.

### **7.6 Mediciones en suero**

#### **7.6.1 Determinaciones bioquímicas séricas**

Al concluir las 17 semanas de estudio se llevó a cabo el sacrificio de los animales. Se les administró pentobarbital sódico con una dosis letal de 100-150 mg/Kg vía intraperitoneal (como norma general, el triple de la dosis anestésica). Una vez confirmada la muerte de cada animal, se procedió con la obtención de muestras de sangre a partir de los ojos, utilizando capilares específicos, a continuación, las muestras fueron centrifugadas para la obtención del plasma, posteriormente, se almacenaron a una temperatura de -80°C hasta su análisis. Las concentraciones en plasma de colesterol, glucosa, triglicéridos, ALT, AST y LDL fueron medidas en un equipo COBAS C111 analyzer (Roche Diagnostics Ltd., Switzerland).

#### **7.6.2 Determinaciones de la actividad antioxidante total sérica**

Para la obtención de este parámetro se utilizó el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés). Este método en presencia de compuestos antioxidantes mide el retraso de la disminución de la fluorescencia de la fluoresceína causada por la presencia de agentes oxidantes. La actividad antioxidante de las muestras se midió usando al Trolox como

antioxidante de referencia y al AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropano hidroclicida)), como agente oxidante. La medición se realizó en el equipo BioTek Synergy HT (Bio- Tek Instruments).

## **7.7 Mediciones en tejido hepático**

### **7.7.1 Análisis histológico del hígado.**

Las muestras de tejido hepático fueron fijadas en formalina. Previo a la inclusión en parafina, los tejidos fueron tratados de la siguiente manera:

Formol al 10%, 2 hrs.

Alcohol al 96%, 3 hrs.

Alcohol absoluto, 2 hrs.

Partes iguales de xilol absoluto, 1 h.

Xilol, 2 hrs.

A continuación, los tejidos fueron sumergidos dos veces en parafina. Posteriormente, los tejidos se incluyeron en bloques de parafina para realizar cortes de 5  $\mu\text{m}$  de grosor y se colocaron en portaobjetos.

La tinción de hematoxilina-eosina se realizó de la siguiente manera:

Xilol, 5 min

Xilol, 2 min.

Partes iguales de xilol absoluto, 10 baños.

Absoluto de xilol, 10 baños.

Alcohol al 96%, 10 baños.

Hematoxilina de Harris, 3 min.

Alcohol ácido al 1%, 1 baño.

Carbonato de litio, 1 baño.

Alcohol al 96%, 1 baño.

Eosina, 30 segundos.

Alcohol al 96%, 1 baño.

Alcohol absoluto, 1 baño.

Xilol absoluto (2 baños),

Xilol (3 baños).

Los tejidos fueron montados para su observación en el microscopio (Leica DMLS, Wetzlar, Alemania), se tomaron fotografías con una cámara digital (Leica DFC295, Wetzlar, Alemania) y las fotografías fueron procesadas con el software LAS V4.9 para la evaluación de la arquitectura hepática.

### **7.7.2 Expresión génica**

El tejido hepático se depositó en tubos eppendorf con 1 balón y 1 ml de trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se homogeneizó en el Tissue Lyser (Quiagen, Hilden, Alemania), se añadieron 200 µL de cloroformo, se agitó manualmente durante 30 segundos y se incubó durante 3 min a 16 °C, se centrifugó a 14,000 rpm por 15 min a 4°C, se recuperó la fase superior (ARN), se agregaron 500 µL de isopropanol, se agitó con vortex por 30 segundos, se dejó incubar por 15 min a 16 °C, se centrifugó a 14,000 rpm por 15 min a 4°C, se recuperó el pellet, se agregó 1 ml de etanol frío al 75%, se centrifugó a 14 000 rpm por 10 min a 4°C, se decantó el etanol por inversión, se resuspendió el pellet con 300 µL de H<sub>2</sub>O libre de ARNasas, se calentó a 55 °C por 5 min. Se calculó la concentración y pureza del ARN empleando el espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware, EE. UU.). La cuantificación se realizó midiendo la longitud de onda a 260 nm y para la determinación de la pureza de ARN se midió la absorbancia a 280 nm.

La síntesis de ADNc se obtuvo agregando un mix con buffer 5X, Oligo DT, DNTP, DTT, inhibidor y Rt a 6000 ng de ARNm. La amplificación por PCR se realizó en el termociclador Roche LightCycle 96 Instrument (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) y se realizaron rangos dinámicos para verificar la concentración óptima de ADNc. La determinación de los niveles de expresión génica se realizó por la técnica de PCR en tiempo real a partir de 1.4 µl de ADNc empleando sondas Taqman® para los genes CAT (Mm00437992\_m1), SOD1 (Mm01344233\_g1), SOD2 (Mm01313000\_m1) y GPX1 (Mm00656767\_g1) (ThermoFisher

Scientific, Massachusetts, EE. UU.). La expresión de cada gen se realizó por triplicado y el gen constitutivo que se utilizó fue la beta-2-microglobulina (B2M). Se utilizó el método delta delta CT para obtener el valor de la expresión de cada gen estudiado.

### **7.7.3 Western-Blot**

El tejido hepático se depositó en tubos eppendorf y se añadió 150 µL de buffer RIPA activado, se agitaron durante 30 min a 4 °C y se centrifugaron a 15000 rpm por 15 min a 4°C. Se colectó el sobrenadante, se transfirió a tubos nuevos y se agitó con vortex. A continuación, en placas de 96 pozos se agregaron 5 µL de proteínas, se agregaron 25 µL de reactivo A y 200 µL de reactivo B. Se incubó durante 15 min a 16 °C y en oscuridad. La concentración de proteína se determinó en el lector de placas Bio Rad.

Posteriormente las muestras fueron separadas en geles de poliacrilamida. Luego fueron transferidas a membranas de PVDF en metanol 100% para activarlas, Ponceau S y agua desionizada. Las membranas fueron bloqueadas con albumina al 2% durante 1 h a 37°C y fueron incubadas toda la noche con los anticuerpos CAT, SOD2 y NRF2. Posteriormente se agitaron durante 1 h a 16 °C realizar 3 lavados con TBS. Se agregó el anticuerpo secundario de conejo a una dilución de 1:2000 y se incubó durante 40 min a 37 °C. Después se eliminó el exceso de anticuerpo secundario. Las proteínas se identificaron mediante quimioluminiscencia ChemiDoc® MP Imaging System (Bio-Rad, CA, EE. UU.). La cuantificación de las señales se realizó con el software ImageJ. Los resultados se expresaron en unidades arbitrarias de densitometría (uad).

### **7.8 Análisis estadístico**

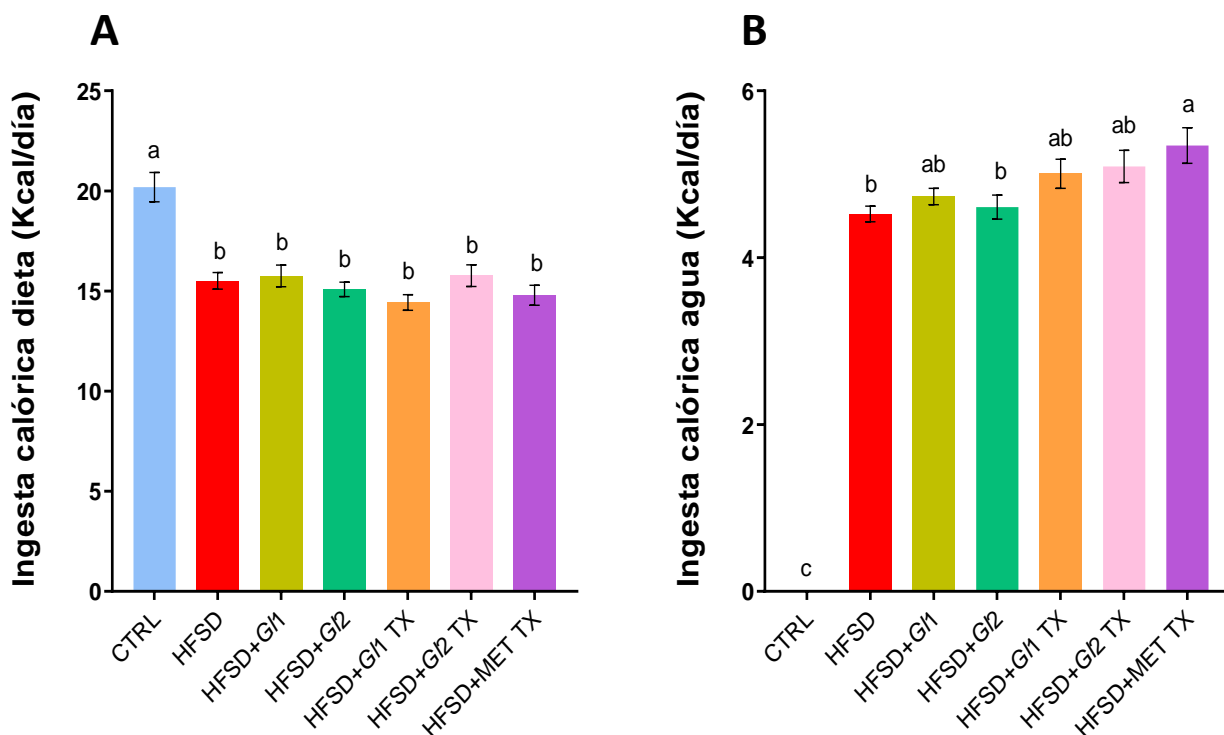
Las diferencias estadísticas entre los tratamientos de estudio se determinaron a partir de un análisis de varianza de una vía, donde se encontraron diferencias estadísticas se aplicó la prueba de Tukey. Se consideró una diferencia estadística significativa cuando el valor de  $p < 0.05$ . Se utilizó el software estadístico GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU).

## **VIII. RESULTADOS**

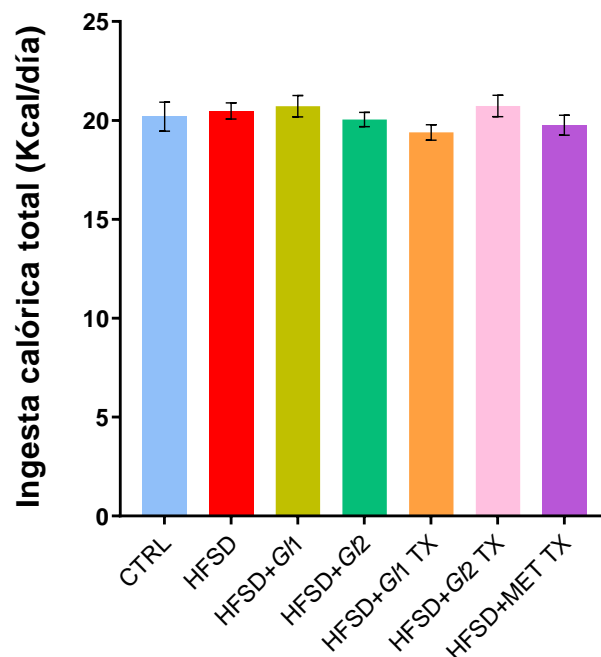
### **8.1 Efecto del consumo del extracto de *G. lucidum* sobre la ingesta calórica ratones C57BL/6**

Los resultados de ingesta calórica de dietas de ratones C57BL/6 mostraron una ingesta mayor en el tratamiento CTRL y una diferencia estadísticamente significativa con el resto de los

tratamientos. Esto pudo deberse a la palatabilidad de la dieta AIN-93 (Gráfica 1 A). Los resultados de ingesta calórica de agua de ratones C57BL/6 mostraron una ingesta mayor en el tratamiento HFSD+MET TX y una diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento CTRL, HFSD y HFSD+*Gl2*. Por su parte, HFSD y HFSD+*Gl2* no mostraron diferencias significativas con el resto de los tratamientos; sin embargo, todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes del tratamiento CTRL que fue administrado con agua simple, por lo tanto, no tuvo una ingesta calórica (Gráfica 1 B). Para la ingesta calórica total se sumaron los aportes calóricos de dieta y agua, los resultados no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre ninguno de los tratamientos (Gráfica 2), que de acuerdo con lo anterior pudo deberse al aporte calórico del agua azucarada a la ingesta calórica de las dietas.



**Gráfica 1.** Ingesta calórica de dieta y agua de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+*Gl1*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *Gl1* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+*Gl2*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *Gl2* de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+*Gl1* TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *Gl1* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+*Gl2*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *Gl2* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. A) Ingesta calórica de dieta de ratones C57BL/6. B) Ingesta calórica de agua de ratones C57BL/6. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

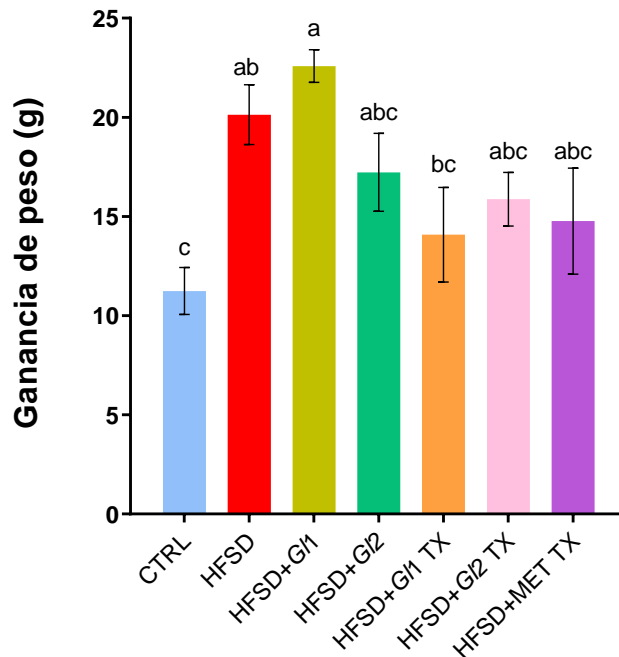


**Gráfica 2.** Ingesta calórica total de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

### 8.1.1 Efecto del consumo del extracto de *G. lucidum* sobre el peso corporal de ratones C57BL/6

El peso final menos el peso inicial de los ratones de la cepa C57BL/6 permitió obtener la ganancia de peso promedio de cada tratamiento. El tratamiento con mayor peso promedio fue el tratamiento HFSD+G11 y fue estadísticamente diferente a los tratamientos CTRL y HFSD+G11 TX. El tratamiento HFSD fue el segundo con mayor peso promedio y fue estadísticamente diferente del tratamiento CTRL. A pesar de que los tratamientos adicionados con los extractos de *G. lucidum* y metformina no presentaron diferencias estadísticamente significativas del tratamiento HFSD, se logró observar una tendencia a la disminución de ganancia de peso, puesto que tampoco fueron estadísticamente diferentes del tratamiento CTRL (Gráfica 3).





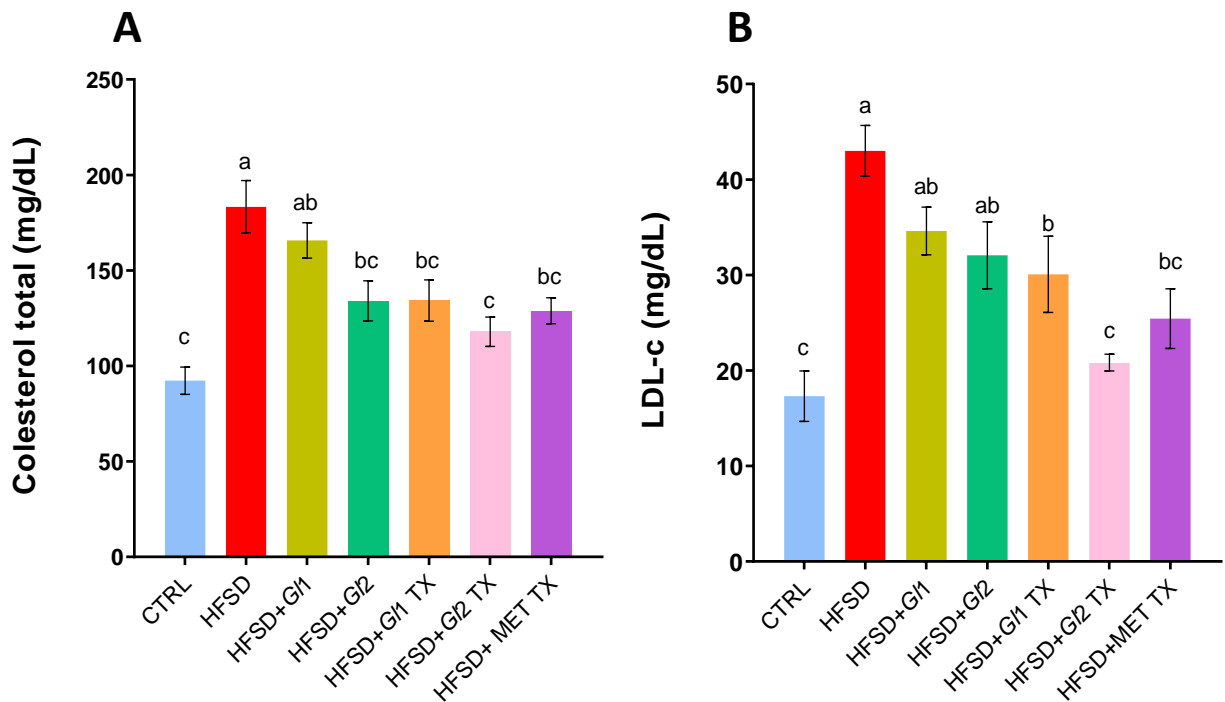
**Grafica 3.** Ganancia de peso de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-2 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media ± SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

## 8.2 Mediciones bioquímicas séricas

### 8.2.1 Perfil lipídico (colesterol total, LDL-c, triglicéridos)

Las mediciones del perfil lipídico mostraron que el tratamiento HFSD presentó mayores concentraciones de colesterol total y fue estadísticamente diferente del resto de los tratamientos a excepción del tratamiento HFSD+G11, que también fue diferente del resto de los tratamientos y se pudo observar una tendencia a su disminución en los niveles de colesterol total en suero. Por su parte, los tratamientos CTRL, HFSD+G12, HFSD+G11 TX, HFSD+G12 TX y HFSD+MET TX no fueron diferentes entre sí (Gráfica 4 A).

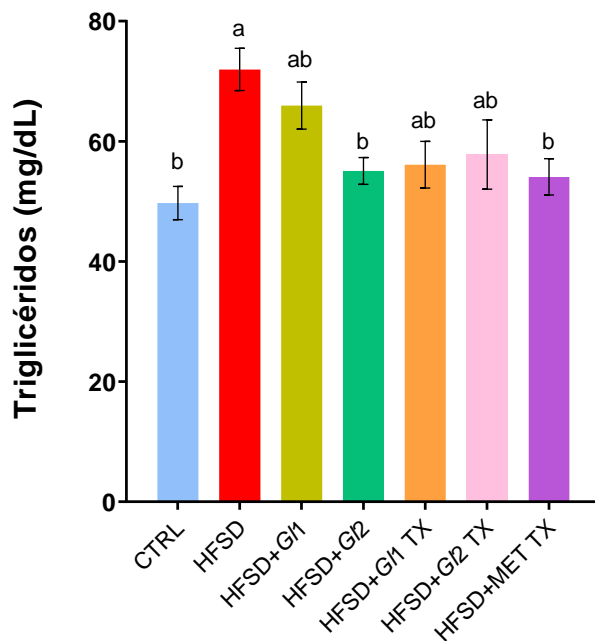
En relación con los resultados de LDL- c (Gráfica 4 B) el tratamiento HFSD mostró mayores concentraciones y diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos CTRL, HFSD+*G11*, HFSD+*G12* TX y HFSD+MET TX. Por su parte, el tratamiento CTRL no fue estadísticamente diferente de los tratamientos HFSD+*G12* TX y HFSD+MET TX, pero sí de los demás tratamientos adicionados con los extractos de *G. lucidum*, sin embargo, puede observarse una tendencia a su disminución comparado con el tratamiento HFSD.



**Gráfica 4.** Concentraciones de colesterol en suero de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+*G11*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G11* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+*G12*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1-2* de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+*G11* TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1-1* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+*G12*: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G12* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. A) Concentraciones de colesterol total. B) Concentraciones de colesterol LDL. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n=8$ .

En cuanto a los triglicéridos (Gráfica 5) el tratamiento HFSD fue el que presentó mayor concentración de triglicéridos y tuvo diferencias estadísticamente significativas con los

tratamientos CTRL, HFSD+G12 y HFSD+MET TX. Los tratamientos HFSD+G11, HFSD+G11 TX y HFSD+G12 TX no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí ni con el resto de los tratamientos.

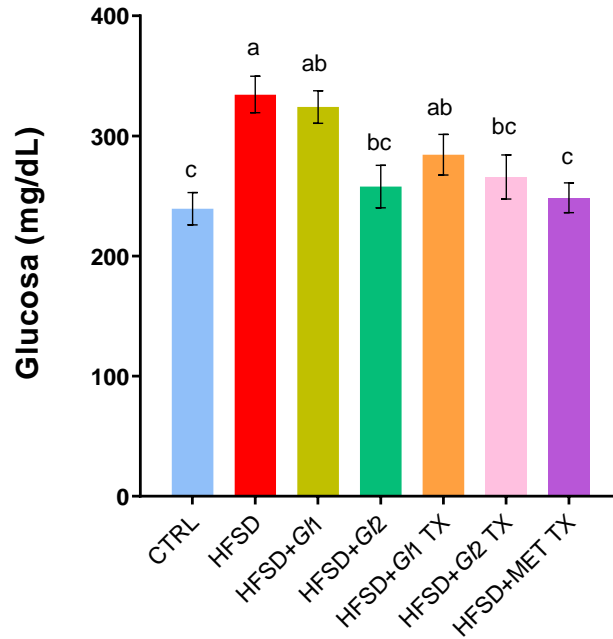


**Grafica 5.** Concentración de triglicéridos en suero de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-2 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n=8$ .

### 8.2.2 Glucosa

Los resultados de glucosa (Gráfica 6) mostraron que el tratamiento HFSD presentó una mayor concentración y una diferencia estadísticamente significativa de los tratamientos CTRL, HFSD+G12, HFSD+G12 TX y HFSD+MET TX. El tratamiento HFSD+G11 no fue estadísticamente diferentes del tratamiento HFSD, pero se puede observar una tendencia a su disminución de los niveles de glucosa en plasma. El tratamiento CTRL presentó la menor concentración de glucosa y no presentó diferencia estadísticamente significativa de los

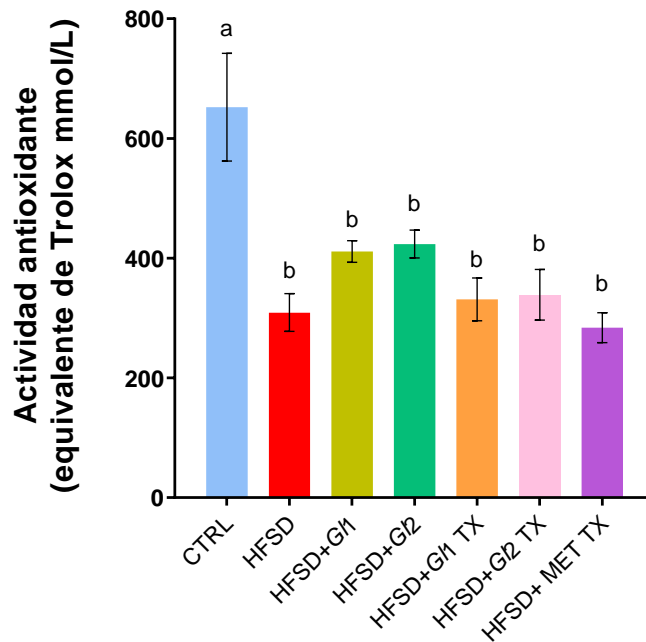
tratamientos HFSD+*G1*2, HFSD+*G1*2 TX y HFSD+MET TX; esto sugiere que el extracto *G1* 2 podría presentar un efecto similar a la del fármaco metformina que controla los niveles de glucosa en sangre.



**Grafica 6.** Concentraciones de glucosa en suero de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+*G1*1: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1*1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+*G1*2: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1*-2 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+*G1*1 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1*-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+*G1*2: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1*2 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

### 8.2.3 Actividad antioxidante total sérica

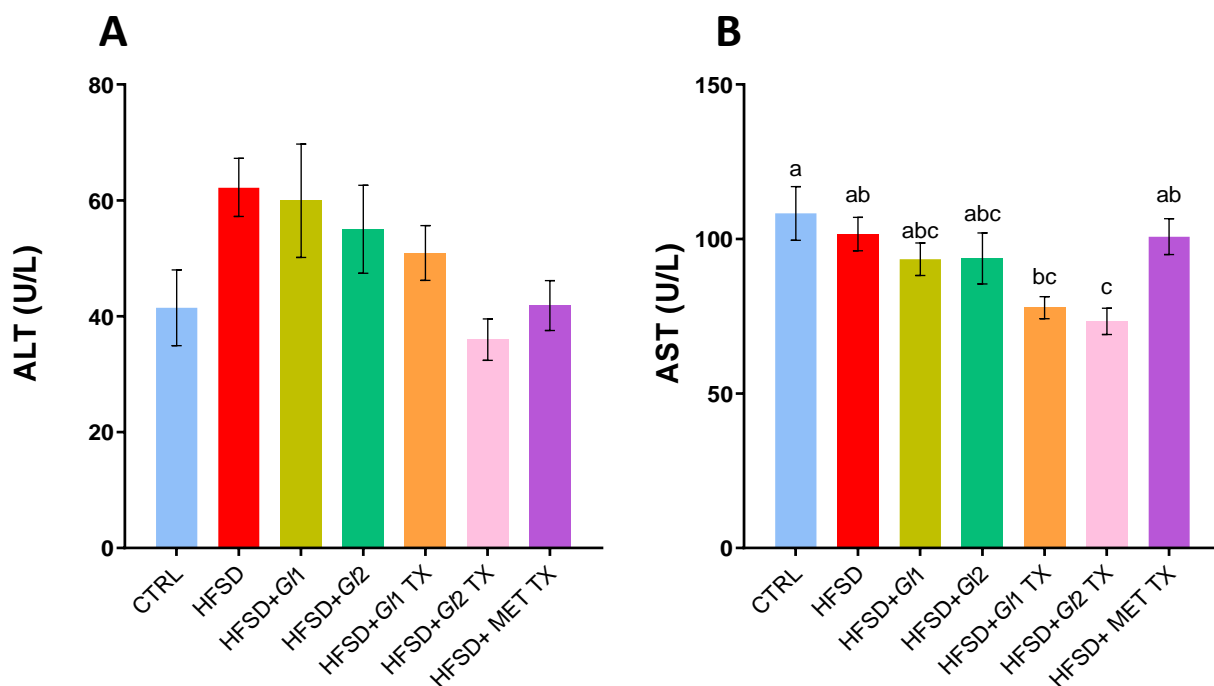
La actividad antioxidante mostró una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento CTRL y el resto de los tratamientos, sin embargo, se observa una tendencia al aumento de la actividad antioxidante en los tratamientos con *G. lucidum* (Gráfica 7).



**Grafica 7.** Actividad antioxidante en suero de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

#### 8.2.4 Transaminasas (ALT y AST)

El perfil hepático se midió a través de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). ALT no reveló diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los tratamientos, pero se observó una concentración mayor en el tratamiento HFSD y una menor concentración en los demás tratamientos, especialmente en HFSD+G12 TX (Gráfica 8 A). Los resultados AST mostraron una mayor concentración en el tratamiento CTRL y con diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos HFSD+G11 TX y HFSD+G12 TX, que tuvieron las concentraciones más bajas. Los tratamientos HFSD+G11 y HFSD+G12 presentaron tendencia a su disminución, además no tuvieron diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos con las concentraciones más bajas (Grafica 8 B).

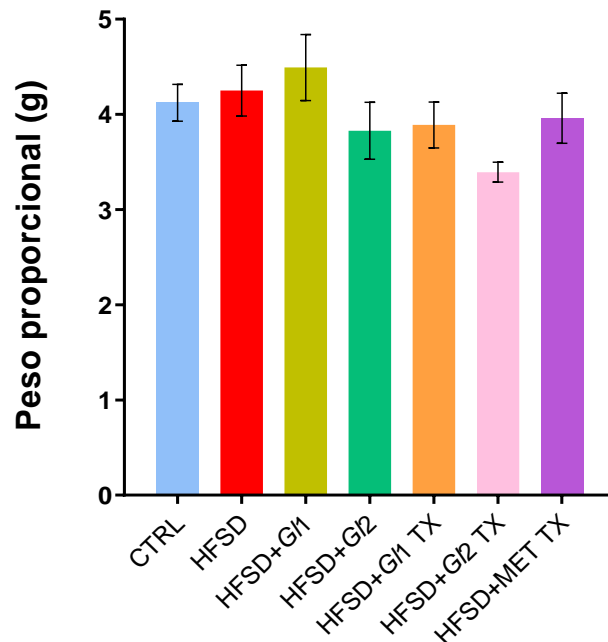


**Gráfica 8.** Transaminasas en suero de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-2 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

### 8.3 Depósito de lípidos en tejido hepático de ratones C57BL/6

#### 8.3.1 Peso proporcional del hígado

Para el estudio del depósito de lípidos en tejido hepático primero se analizó el peso proporcional del hígado y posteriormente se realizaron histologías. En el peso proporcional del hígado no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los tratamientos, sin embargo, se observó una tendencia a la disminución del peso proporcional del hígado en los tratamientos con *G. lucidum*, especialmente en HFSD+G12 TX (Gráfica 9).



**Grafica 9.** Peso proporcional del hígado de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-2 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

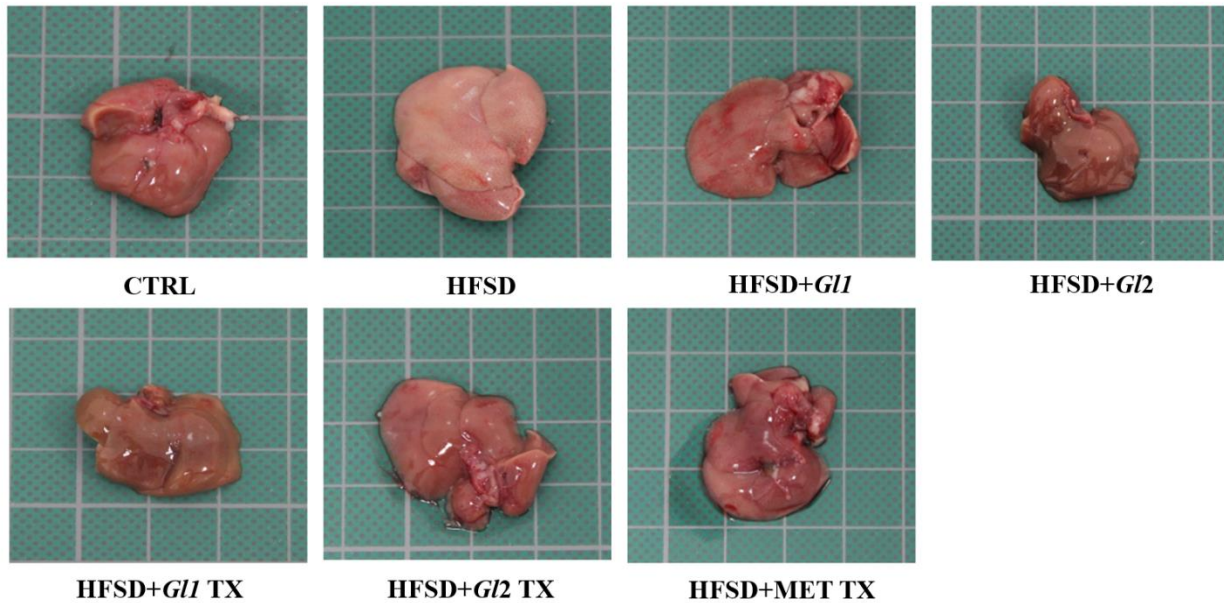
### 8.3.2 Histología de hígado

Durante la eutanasia, al realizar la extracción del hígado se pudieron ver diferencias de este tejido entre los tratamientos, el tratamiento CTRL presentó una coloración rojo-intensa similar a los tejidos de los demás tratamientos adicionados con los extractos de *G1* lo que indica que hubo una menor acumulación de lípidos. De manera contraria, el tratamiento HFSD presentó una coloración rosácea lo que indica esteatosis (Figura 8 A).

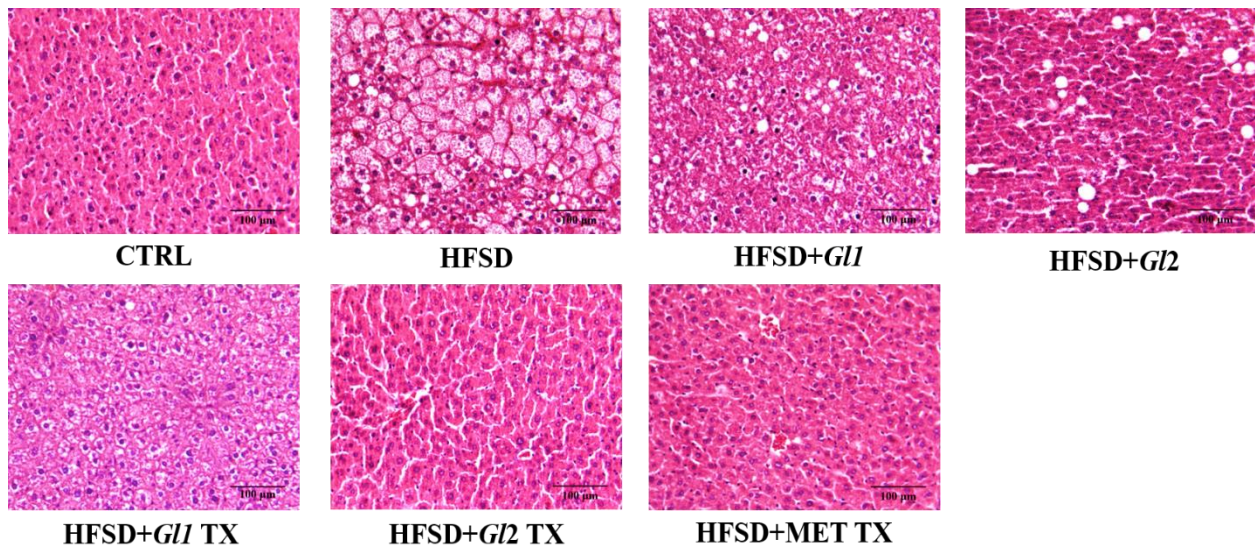
Para corroborar el resultado anterior, se analizaron los tejidos al microscopio y se observó que el tratamiento HFSD presentaba esteatosis. En el caso de los tratamientos HFSD+G11 y HFSD+G11 TX se observó una notoria disminución de la acumulación de lípidos (Figura 8 B).



**A**



**B**



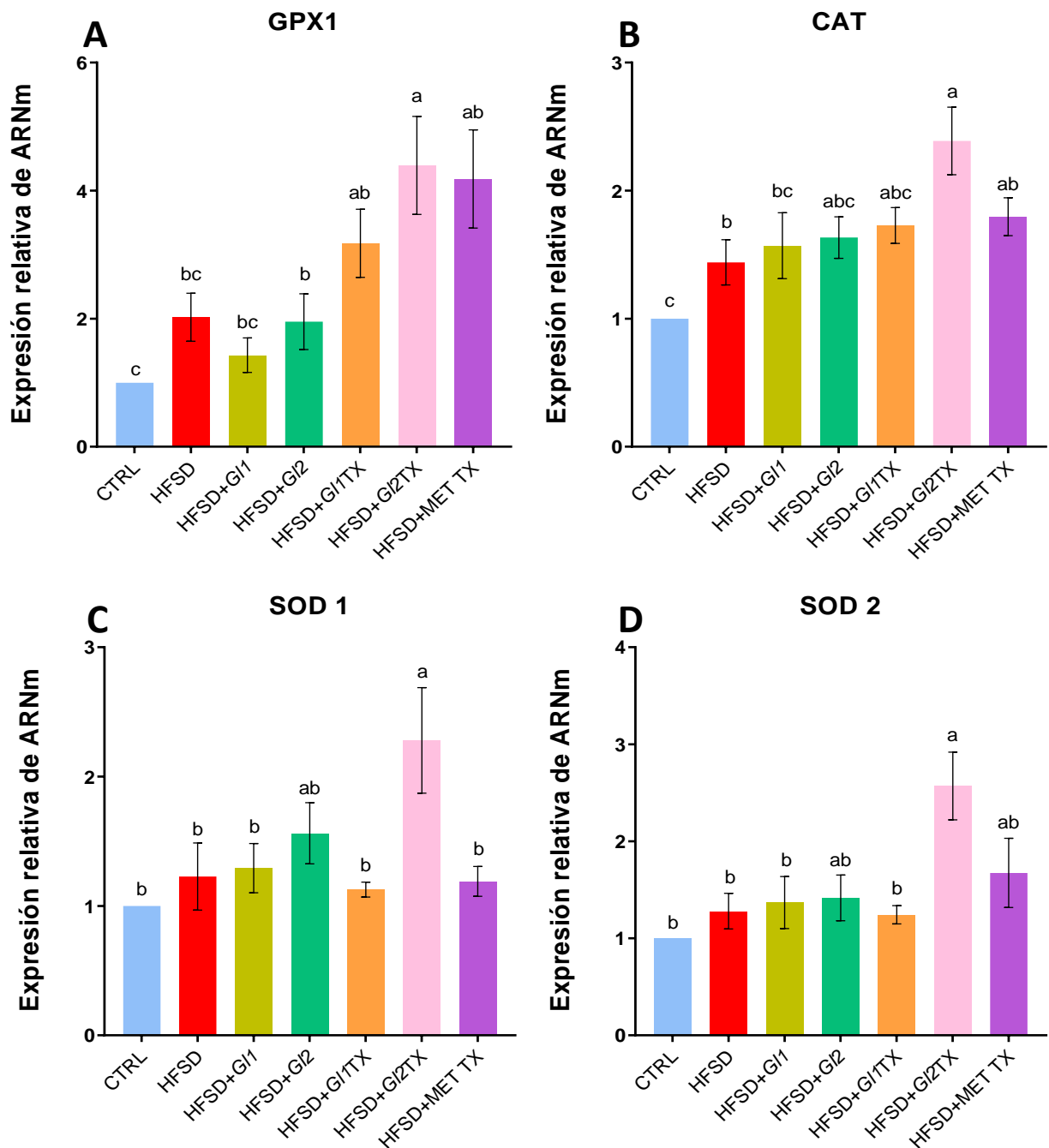
**Figura 8.** Histologías de hígados de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G11* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1-2* de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G1-1* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G12* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. A) Fotografías de hígado después de la eutanasia. B) Cortes histológicos de hígado con tinción Hematoxilina-eosina con un aumento de 20X.



## **8.4 Determinación de la expresión génica y proteínas antioxidantes en tejido hepático de ratones C57BL/6**

### **8.4.1 Determinación de la expresión de genes antioxidantes**

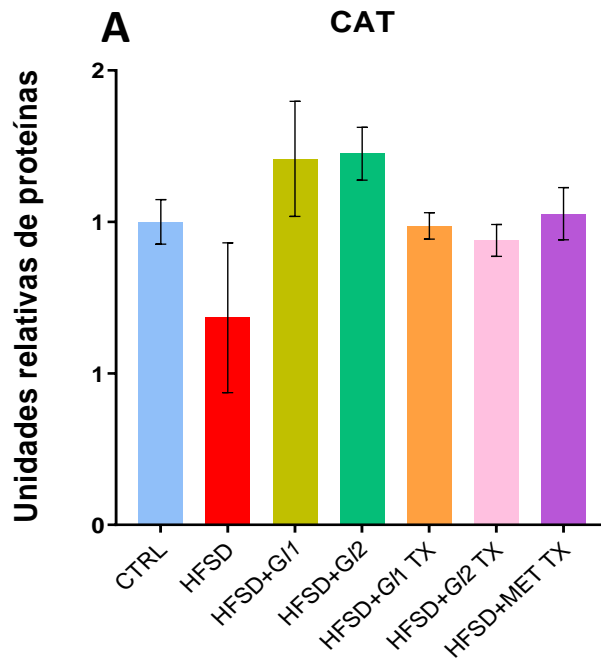
Los genes antioxidantes analizados fueron GPX1, CAT, SOD1 y SOD2 (Gráfica 10). La expresión relativa de GPX1 mostró una mayor expresión en el tratamiento HFSD+*G/2* TX y es estadísticamente diferente de todos los tratamientos a excepción de HFSD+*G/1* TX y HFSD+MET TX (gráfica 10 A). La expresión relativa de CAT mostró una mayor expresión en el tratamiento HFSD+*G/2* TX y es estadísticamente diferente de los tratamientos HFSD, CTRL, HFSD+*G/1* y HFSD+*G/2*, pero no se encontró diferencias con HFSD+*G/1* TX y HFSD+MET TX (Gráfica 10 B). La expresión relativa de SOD1 mostró una mayor expresión en el tratamiento HFSD+*G/2* TX y es estadísticamente diferente del resto de los tratamientos a excepción del tratamiento HFSD+*G/1* (Gráfica 10 C). La expresión relativa de SOD2 mostró una mayor expresión en el tratamiento HFSD+*G/2* TX tuvo una mayor expresión y es estadísticamente diferente de todos los tratamientos a excepción de HFSD+*G/2* y HFSD+MET TX (Gráfica 10 D).

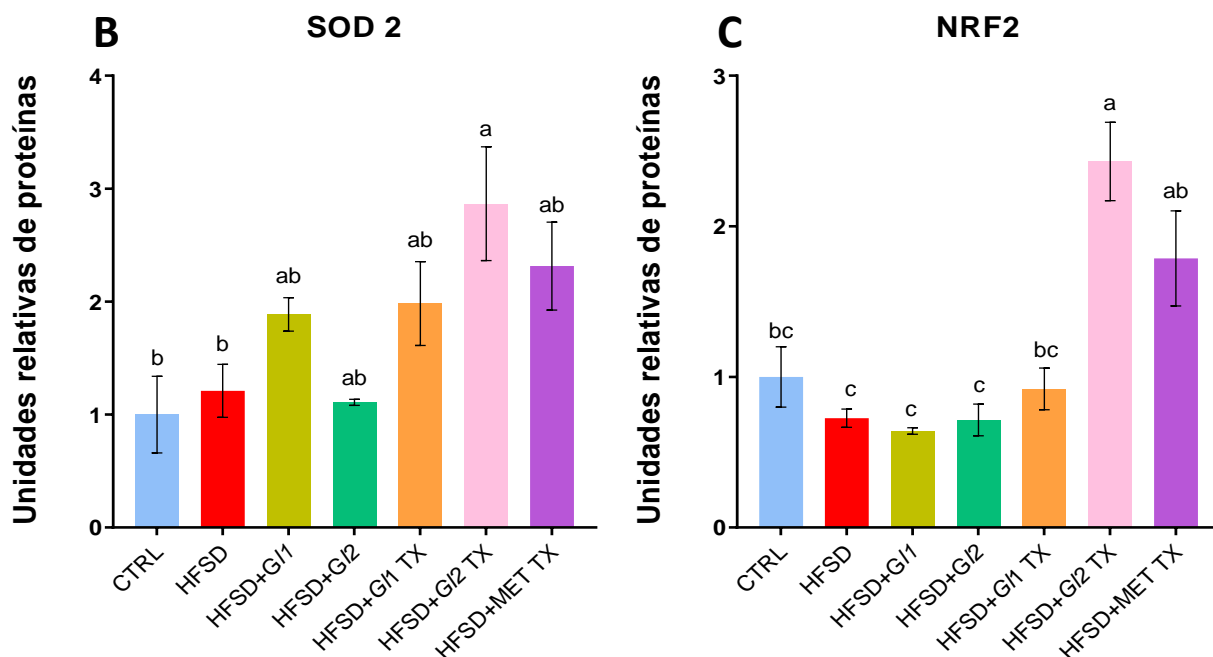


**Grafica 10.** Expresión génica relativa de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G11 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G1-1 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto G12 de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. A) Expresión génica relativa de GPX1. B) Expresión génica relativa de CAT. C) Expresión génica relativa de SOD 1. D) Expresión génica relativa de SOD 2. Los valores representan la media ± SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

### 8.4.2 Determinación de la expresión de proteínas antioxidantes

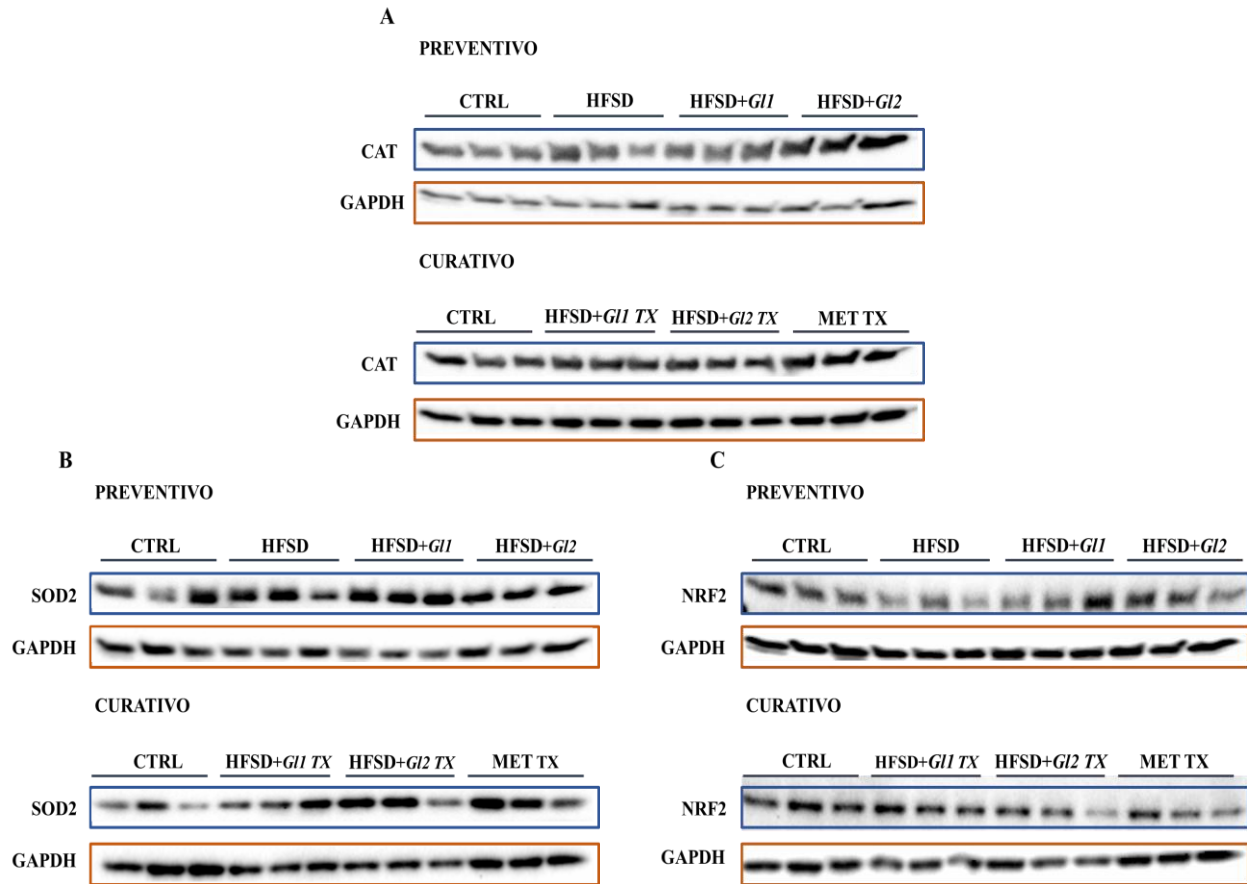
Los genes antioxidantes analizados fueron CAT, SOD 2 y NRF2 (Gráfica 11). Las unidades relativas de CAT no mostraron ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, sin embargo, es visible una tendencia a su aumento en los tratamientos adicionados con *G. lucidum*, metformina y el tratamiento CTRL; y una tendencia a su disminución en el tratamiento HFSD (Gráfica 11 A). Las unidades relativas de SOD 2 mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre HFSD+*G/2* TX y los tratamientos HFSD y CTRL, pero estos tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas con lo demás tratamientos (Gráfica 11 B). Las unidades relativas de NRF2 mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos HFSD y los tratamientos HFSD+*G/2* TX y HFSD+MET TX, y fueron estos dos tratamientos los de mayor expresión. El tratamiento HFSD mostró una diferencia estadísticamente significativa con los tratamientos CTRL, HFSD+*G/1*, HFSD+*G/2* y HFSD+*G/1* TX, sin embargo, se observa una tendencia al aumento de la expresión de NRF2 en estos tratamientos (Gráfica 11 C).





**Gráfica 11.** Unidades relativas de proteínas de ratones C57BL/6. CTRL: dieta AIN-93; HFSD: dieta alta en grasas y azúcares. HFSD+G11: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G11* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G12* de *G. lucidum* (1% de su dieta), tratamiento preventivo; HFSD+G11 TX: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G11* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+G12: dieta alta en grasas y azúcares + extracto *G12* de *Ganoderma lucidum* (1% de su dieta), tratamiento curativo a partir de la semana 13. HFSD+MET TX: dieta alta en grasas y azúcares + metformina (0.1% de su dieta), a partir de la semana 13. A) Unidades relativas de CAT. B) Unidades relativas de SOD 2. C) Unidades relativas de NRF2. Los valores representan la media  $\pm$  SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ );  $n = 8$ .

Las imágenes de Western Blot de la proteína CAT muestran una mayor expresión en los tratamientos HFSD+G12 y HFSD+MET TX (Figura 9 A). Las imágenes de Western blot de la proteína SOD 2 muestran una mayor expresión en los tratamientos HFSD+G11, HFSD+G12 TX y HFSD+MET TX (Figura 9 B). Las imágenes de Western blot de la proteína NRF2 muestran una mayor expresión HFSD+G12 y HFSD+MET TX (Figura 9 C).



**Figura 9.** Imágenes de Western Blot de ratones C57BL/6. A) CAT. B) SOD 2. C) NRF2.

## IX. DISCUSIÓN

La obesidad es una enfermedad multifactorial, sin embargo, una dieta alta en grasa influye de manera importante en el desarrollo de esta enfermedad. Una dieta con un alto contenido de antioxidantes ayuda a reducir los procesos del estrés oxidativo y por lo tanto el sobrepeso, la obesidad; y sus comorbilidades asociadas pueden prevenirse (Domingues *et al.*, 2019).

En la presente investigación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los resultados de ingesta calórica. A pesar de esto, los tratamientos adicionados con los extractos hidroalcohólicos de *G. lucidum* (a excepción del tratamiento HFSD+G11) no presentaron diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento CTRL en los resultados

de ganancia de peso. El tratamiento HFSD+*G11* TX, fue el que menor incremento de peso mostró, y de manera significativa en comparación con los tratamientos HFSD y HFSD+*G11*. En un trabajo similar realizado por Chang *et al.* (2015), se encontró que el extracto acuoso de *G. lucidum* disminuyó la ganancia de peso en ratones debido a sus propiedades prebióticas, regulando la disbiosis inducida por una dieta alta en grasa, así como también mantiene la integridad intestinal y reduce la endotoxemia metabólica.

Los niveles de CT y LDL-c de los tratamientos con *G. lucidum* y metformina mostraron una menor concentración y fueron estadísticamente diferentes del tratamiento HFSD (a excepción del tratamiento HFSD+*G11* en LDL-c). Los niveles de TG mostraron una disminución los tratamientos con los extractos de *G. lucidum* y metformina, sin diferencias estadísticamente significativas con CTRL. De manera similar a este trabajo, Romero-Córdoba *et al.* (2020) reportaron una disminución de los niveles de LDL-c y TG en sangre de ratones alimentados con una dieta alta en grasa y extracto de *G. lucidum*, por la activación del metabolismo de lípidos y los mecanismos de los receptores X hepáticos (LXR). De igual manera, Meneses *et al.* (2016) reportó que *G. lucidum* puede mejorar la hiperlipidemia a través de la modulación de LDLR y leptina. Además, la cinasa activada por AMP (AMPK) eleva la oxidación de ácidos grasos hepáticos y la cetogénesis, la inhibición de la síntesis de colesterol, la lipogénesis y la síntesis de TG. *G. lucidum* ha mostrado tener un efecto inductor en la fosforilación de AMPK y ACC en hepatocitos y adipocitos. La activación de AMPK inhibe la acetil-CoA carboxilasa (ACC) que disminuye la producción de malonil-CoA, importante precursor de la síntesis de ácidos grasos e inhibidor de la oxidación de ácidos grasos mediante la carnitina palmitoiltransferasa-1 en el hígado. Además, regula la acumulación de lípidos hepáticos inducida por ácidos grasos libres. Por lo tanto, se sugiere que puede regular el metabolismo de los lípidos activando enzimas lipolíticas en hepatocitos y en adipocitos (Jung *et al.*, 2018).

Los resultados de los niveles de glucosa mostraron que los tratamientos CTRL, HFSD+*G12*, HFSD+*G12* TX y HFSD+MET TX presentaron diferencias estadísticamente significativas con el tratamiento con HFSD. Huang *et al.*, 2021 demostraron que ratones con diabetes inducida mostraban una disminución en los niveles de glucosa en plasma en los tratamientos con *G. lucidum*. Ellos mencionan que este resultado se asocia a la modulación de la digestión y el metabolismo de carbohidratos. Se ha reportado que el efecto hipoglucemiante de los polisacáridos

presentes en este hongo se relacionan con la supresión de enzimas importantes en la gluconeogénesis y/o glucogenólisis (Xiao *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015). Estos resultados sugieren que los tratamientos con el extracto *G12* podrían tener un mayor efecto benéfico en la regulación de los niveles de glucosa en sangre de manera similar a la metformina. La metformina aumenta los niveles AMPK, dando inicio a la translocación del transportador GLT-4, que aumenta la captación muscular de la glucosa. También disminuye la producción de glucosa en el hígado y disminuye parámetros inflamatorios en RI. Además, la metformina se ha relacionado con la baja de peso en pacientes con DM y prediabetes, debido a que las glitazonas (rosiglitazona y pioglitazona) son agonistas de los receptores nucleares de PPAR-  $\gamma$  e incrementan la expresión de genes involucrados en el metabolismo de glucosa y lípidos; y promueven la maduración de adipocitos, reduciendo los viscerales e incrementando los periféricos, posteriormente ocurre una disminución de ácidos grasos libres (Pollak, 2016).

En cuanto a la actividad antioxidante en suero el tratamiento CTRL mostró diferencias estadísticamente significativas con todos los tratamientos, sin embargo, se pudo observar una tendencia en el aumento de la capacidad antioxidante en los tratamientos adicionados con *G.lucidum*, especialmente en los tratamientos HFSD+*G11* y HFSD+*G12*. Estos tratamientos fueron tratamientos curativos, es decir, se administraron durante toda la investigación para simular una dieta con consumo recurrente de *G. lucidum*. Los resultados muestran una actividad antioxidante, que potencialmente podría regular la homeostasis oxidativa debido a compuestos bioactivos como polifenoles, polisacáridos, vitaminas, carotenoides y minerales (Kozarski *et al.*, 2015). Liu *et al.* (2010) demostraron que los polisacáridos de *G. lucidum* tienen una importante actividad antioxidante al captar radicales libres. Por su parte, Hapuarachchi *et al.* (2016) reportaron que los polisacáridos de *G. lucidum* presentan una mayor actividad antioxidante.

En los resultados de transaminasas, la ALT mostró una mayor concentración en el tratamiento HFSD. La AST mostró mayor concentración en el HFSD+MET TX. Susilo *et al.* (2019) reportaron que la administración de *G. lucidum* disminuyó los niveles de ALT y AST. También, Pan *et al.* (2021) reportaron una mejora en los niveles de ALT en ratones suministrados con *G. lucidum*, incluso en comparación con metformina. Esto indica que *G. lucidum* tiene una actividad hepatoprotectora significativa, que probablemente se deba a su actividad antioxidante.

El peso proporcional del hígado fue menor en el tratamiento HFSD+*G/2* TX, y aunque el tratamiento HFSD+*G/1* fue el mayor, no presentó diferencia con el tratamiento control. Si bien, no hubo diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos adicionados con los extractos de *G. lucidum*, se pudo observar una tendencia de la disminución del peso proporcional de este tejido Jung *et al.* (2018) demostraron que *G. lucidum* redujo el peso del hígado. Las histologías de hígado mostraron que el tratamiento HFSD presentaba esteatosis, mientras que en los tratamientos HFSD+*G/1* y HFSD+*G/1* TX se observó una esteatosis moderada, en contraste con los demás tratamientos adicionados con *G. lucidum* en los que se pueden observar una presencia menor de lípidos. Estos resultados concuerdan con los resultados de perfil lipídico. Los TG acumulados en los hepatocitos se liberan como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). VLDL es un precursor de LDL, con propiedades aterogénicas. La producción en exceso de VLDL en el hígado favorece la hiperlipidemia (Venkatesan *et al.*, 1993). En el presente estudio, *G. lucidum* redujo los niveles de TG y LDL en ratones alimentados con HFSD. Por lo tanto, los resultados obtenidos muestran que *G. lucidum* puede mejorar el perfil de lípidos y disminuir el desarrollo de esteatosis hepática no alcohólica. Un estudio de tomografías computarizada de grasa simple mostró que la infiltración de grasa en el hígado está estrechamente relacionada con la cantidad de grasa abdominal. El exceso de grasa en los tejidos adiposos puede aumentar los ácidos grasos libres circulantes y provocar esteatosis hepática. Estos resultados indican que el efecto antiesteatósico de *G. lucidum* se debe en parte a la reducción de la masa grasa intraperitoneal (Jang *et al.*, 2011).

En cuanto a los resultados de expresión de genes antioxidantes fueron mayores en los tratamientos con *G. lucidum*. Los resultados de Western Blot coinciden con los resultados de expresión génica, mostrando una mayor expresión de proteínas en los tratamientos con *G. lucidum* y metformina. Se ha observado que cuando la obesidad persiste durante mucho tiempo, los antioxidantes pueden agotarse y la actividad enzimática de SOD y CAT disminuyen. La actividad de SOD y GPX en personas con obesidad tienen una expresión menor en comparación con la de personas sanas (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011). La administración de *G. lucidum* aumenta la N-acetilcisteinamida y el piruvato en el hígado, que son secuestradores de ERO; así como los niveles de betaína, que puede mejorar la actividad antioxidante regulando al alza la expresión de SOD y CAT. Esto es importante porque SOD elimina radicales libres, además, junto con CAT forman un efecto sinérgico de eliminación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Cao *et al.*, 2022). Shi *et al.* (2013) reportaron que la



actividad antioxidante de la *G. lucidum* se debe al suministro de H por parte de los polisacáridos, que al combinarse con radicales libres forman radicales estables y mejoran la actividad de CAT, GSH y SOD. De manera similar, Wu. (2018) verificó una mayor expresión de SOD y GPX en los tratamientos con *G. lucidum* atribuida a la actividad antioxidante de sus polisacáridos. En el caso de los tratamientos HFSD+G11 y HFSD+G12 en los que GPX1 se vio disminuido puede deberse a la reducción en el nivel de GSH por una mayor degradación inducida por ERO, por su reacción con el aumento de peroxidación lipídica o por su disminución de síntesis; GSH es una molécula no proteica muy abundante en los tejidos, con una alta defensa contra ERO y es sustrato para GPX (Townsend *et al.*, 2003). Además de que la administración de *G. lucidum* aumente la expresión de CAT, SOD y GPX, también promueve el nivel de expresión de NRF2 y su gen HO-1 (hemoxigenasa-1) (Li *et al.*, 2020). El factor 2 está relacionado con NRF2 que es un regulador importante en la homeostasis redox y defensa antioxidante en las células, a su vez, regula la expresión de antioxidantes y enzimas de desintoxicación de fase II mediante elementos de respuesta antioxidante (Xu *et al.*, 2022). Además, se ha reportado que la obesidad puede inducir estrés oxidativo sistémico y dar inicio al desarrollo de otras patologías, pues se ha demostrado que una dieta rica en grasas y carbohidratos induce un aumento significativo del estrés oxidativo en personas con obesidad. A su vez, el estrés oxidativo se asocia con una mayor producción de adipocinas, que influyen al desarrollo del síndrome metabólico (SM). La sensibilidad de la PCR y otros biomarcadores de daño oxidativo es mayor en personas con obesidad y está directamente relacionada con el IMC, la oxidación de LDL y los niveles de TG; en contraste, los marcadores de defensa antioxidante son más bajos según la cantidad de grasa corporal y la obesidad visceral (Fernández-Sánchez *et al.*, 2011).

El hecho de que se observó un efecto benéfico mayor con el extracto de *G.l 2* podría deberse a que las variaciones de las características nutricionales dependen del sustrato empleado (Nieto y Chegwin 2010). Esto se debe al proceso de biotransformación por parte de su sistema de enzimas al biodegradar el sustrato (Nieto y Chegwin, 2010). En este caso, el sustrato de crecimiento enriquecido con AAS promueve la síntesis de polisacáridos,  $\beta$ -metil glucopiranosido, DL-arabinitol y ribitol, en comparación con el extracto convencional (Castañeda-Antonio *et al.*, 2019). En este sentido, se ha mencionado que el efecto de *G. lucidum* está directamente relacionada con la concentración de polisacáridos (Chen *et al.*, 2009; Wu, 2018; Susilo *et al.*, 2019).

## **X. CONCLUSIONES**

Los extractos de *G. lucidum* tienen un efecto benéfico sobre el sobre peso corporal y la ingesta calórica de ratones alimentados con dieta alta en grasa.

Se demostró el efecto benéfico de los extractos de *G. lucidum* sobre las mediciones bioquímicas séricas de CT, LDL-C, triglicéridos, glucosa actividad antioxidantes y transaminasas.

Los extractos de *G. lucidum* reducen el depósito de lípidos en tejido hepático.

Los resultados del presente estudio indican que una dieta alta en grasa y azúcares produce efectos negativos en el organismo y que el consumo de los extractos de *G. lucidum* podrían atenuar y/o mejorar esos efectos a través de mecanismos moleculares que involucran una regulación al alta en la expresión de genes y proteínas antioxidantes gracias a la presencia de compuestos bioactivos con actividad antioxidante.

## **XI. BIBLIOGRAFÍA**

Acharya, K., Ghosh, S., & Dutta, A. K. (2016). Pharmacognostic standardization based on physicochemical and molecular parameters of a medicinal mushroom *Schizophyllum commune*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 16: 259-266.

Ajay Handa, Sahajal Dhooria, Inderpaul Singh Sehgal, & Ritesh Agarwal. (2018). Primary cavitory sarcoidosis: A case report, systematic review, and proposal of new diagnostic criteria. *Lung India*. 35(1): 41-46.

Aguilera-Méndez, A. (2018). Esteatosis hepática no alcohólica: una enfermedad silenciosa. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 56(6): 544-549.

American Institute of Nutrition. (1977). Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* 107: 1340-1348.

American Institute of Nutrition. (1980). Second report of the ad hoc committee for experimental animals. *J. Nutr.* 107:1726.

Bastarrachea, R. A., López-Alvarenga, J. C., Bolado-García, V. E., Téllez-Mendoza, J., Laviada-Molinad, H. & Comuzziea, A. G. (2007). Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gaceta Médica de México*. 143 (6): 505-512.

Boonsong, S., Klaypradit, W. & Wilaipun, P. (2016). Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. *Agriculture and Natural Resources*. 50: 89-97.

Caballería, L., Torán, P., Antonia, M., & Llorens, A. (2008). Esteatosis hepática no alcohólica. Puesta al día. *Atención Primaria*. Elsevier. 40(8): 419-24.

Cachofeiro, V. (2009). Alteraciones del colesterol y enfermedad cardiovascular. En López- Farré, A. & Macaya Migue, C. (Eds). *Libro de la salud cardiovascular del Hospital Clínico de San Carlos y de la Fundación BBVA*. Fundación BBVA. 131-139.

Cao, Y.-J.; Huang, Z.-R.; You, S.-Z.; Guo, W. L.; Zhang, F.; Liu, B.; Lv, X.-C.; Lin, Z.-X.; Liu, P.-H. (2022). The Protective Effects of Ganoderic Acids from *Ganoderma lucidum* Fruiting Body on Alcoholic Liver Injury and Intestinal Microflora Disturbance in Mice with Excessive Alcohol Intake. *Foods*. 11:949.

Carvajal, C. (2014). Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. *Medicina Legal de Costa Rica*. 31 (2): 1-8.

Carvajal-Carvajal, R. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*. 36 (1): 91-100.

Castañeda-Antonio, M.D.; Martínez-Carrera, D.C.; Rivera-Tapia, J.A.; Portillo-Reyes, R.; Morales-Almora, P.; Sobal-Cruz, M.; Macías-López, A.; Leal-Lara, H. (2019). Detection of polysaccharides in *Ganoderma lucidum* extracts. *Nova Sci*. 10:247-257.

Castaing, D., & Veilhan, L.-A. (2006). Anatomía del hígado y de las vías biliares. *EMC-Técnicas Quirúrgicas - Aparato Digestivo*. 22 (4): 1-12.

Chang S. T. & Buswell, J. A. (2008). Safety, quality control and regulational aspects relating to mushroom nutraceuticals. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. 188-95.

Chang, C. J., Lin, C. S., Lu, C. C., Martel, J., Ko, Y. F., Ojcius, D. M., Tseng, S. F., Wu, T. R., Chen, Y. Y. M., Young, J. D., & Lai, H. C. (2015). *Ganoderma lucidum* reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Nature Communications*. 6:7489

Chen, A. W. (2004) Growing *Ganoderma* mushrooms. En: Oyster mushroom cultivation. Mushroom growers' handbook 1. MushWorld, Seoul. 236-247.

Chen Y, Shen Z, Chen X, (2009). Modulatory effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on serum antioxidant enzymes activities in ovarian cancer rats, *Carbohydrate Polymers*. 78(2):258-262,

Chen, V. C. H; Liu, Y. C; Chao, S. H; McIntyre, R. S.; Cha, D. S.; Lee, Y; Weng, J.C. (2018). Brain structural networks and connectomes: the brain–obesity interface and its impact on mental health. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 14: 3199-3208.

Cheng, K., Song, Z., Zhang, H., Li, S., Wang, C., Zhang, L., & Wang, T. (2019). The therapeutic effects of resveratrol on hepatic steatosis in high-fat diet-induced obese mice by improving oxidative stress, inflammation and lipid-related gene transcriptional expression. *Medical Molecular Morphology*. 52 (4):187-197.

Chen M, Xiao D, Liu W, Song Y, Zou B, Li L, Li P, Cai Y, Liu D, Liao Q, Xie Z. (2019). Intake of *Ganoderma lucidum* polysaccharides reverses the disturbed gut microbiota and metabolism in type 2 diabetic rats. *Int J Biol Macromol*. 15(155):890-902.

Cohen, J. C., Horton, J. D. & Hobbs, H. H. (2011). Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*.332(6037):1519-23.

Córdova-Pluma, V. H., Vega-López, C. A., Ortega-Chavarría, M, J., Mellado-Orellana, R. (2020). Obesidad y diabetes, enfermedades interconectadas. *Med Int Méx*. 36 (1):77-82.

Da Costa L. A., Badawi, A. & El.Sohemy, A. (2012). Nutrigenética y modulación del estrés oxidativo. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 3: 27-36.

De Lorenzo, A., Gratteri, S., Gualtieri, P., Cammarano, A., Bertucci, P., Di Renzo, L. (2019). Why primary obesity is a disease? *Journal of Translational Medicine*. 17 (1).

Delzenne, N. M., & Bindels, L. B. (2015). Gut microbiota: ¿*Ganoderma lucidum*, a new prebiotic agent to treat obesity? *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 12(10):553-4.

Day, C. P. & Oliver, F. W. J. (1998). Hepatic steatosis: Innocent bystander or guilty party? *Hepatology*. 27 (6): 1463-1466.

Desharnais, L., Walsh, L. A., & Quail, D. F. (2022). Exploiting the obesity-associated immune microenvironment for cancer therapeutics. *Pharmacology and Therapeutics*. 229:107923.

Domingues, C.C., Kundu, N., Kropotova, Y. Ahmadi, N. & Sen, S. (2019). Antioxidant-upregulated mesenchymal stem cells reduce inflammation and improve fatty liver disease in diet-induced obesity. *Stem Cell Res Ther* 10: 280.

Du, Z., Dong CH., Wang K. & Yao YJ. (2019) Classification, Biological Characteristics and Cultivations of *Ganoderma*. In: Lin Z., Yang B. (eds) *Ganoderma and Health*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1181:15-58.

Chung-Hsiung Huang, Wei-Kang Lin, Shun-Hsien Chang & Guo-Jane Tsai. (2021) Evaluation of the hypoglycaemic and antioxidant effects of submerged *Ganoderma lucidum* cultures in type 2 diabetic rats, *Mycology*, 12:2, 82-93.

Eastwood, D.C., Floudas, D., Dinder, M., Majcherczyk, A., Schneider, P., Aerts, A., Asiegbu, F. O, Baker, S. E., Baryy, K., Bendiksby, M., Blumentritt, M., Coutinho, P. M., Cullen, D., De Vries, R. P., Gathman, A., Goodell, B., Henrissat, B. H., Ihrmark, K., Kauserud, H., Kohler, A., Labutti, K., Lapidus, A., Lavin, J. L., Lee, y. H., Lindquist, E., Lilly, W., Lucas, S., Morin, E., Murat, C., Oguiza, J. A., Park, J., Pisabarro, A. G., Riley, R., Rosling, A., Salamov, A., Schmidt, O., Schmutz, J., Skrede, I., Stenlid, J., Wiebenga, A., Xie, X., Kues, U., Hibbett, D. S., Hoffmeister, D., Hogberg, N., Martin, F., Grigoriev, I. V. & Watkinson, S. C. (2011). The plant cell wall-decomposing machinery underlies the functional diversity of forest fungi. *Science*. 333:762-765.

Esqueda, M., Coronado M., Gutiérrez A., Valenzuela R., Chacón S., Gilbertson R.L., Herrera T., Lizárraga M., Moreno G., Pérez-Silva E. & Van Devender T.R. (2010). Hongos. En: Molina-Freaner E., Van Devender T.R. Diversidad Biológica de Sonora. Universidad Nacional Autónoma de México/Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México D.F.

Farreras-Rozman. (2013). Medicina Interna. Metabolismo y nutrición. Endocrinología. 17 ed. Barcelona: Elsevier.

Fenster, C. P., Weinsier, R. L., Darley-USmar, V. M., & Patel, R. P. (2002). Obesity, aerobic exercise, and vascular disease: The role of oxidant stress. *Obesity Research*. 10(9): 964-968.

Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, A., Esquivel-Chirino, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Rivera, G., Valadez-Vega, C. & Morales-González, J. A. (2011). Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. 12: 3117-3132.

Ferreira, I. C. F. R., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R. P., Vasconcelos, M. H. & Sokovic, M. (2015). Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*. 114: 38-55.

Friedman, M. (2016). Mushroom polysaccharides: Chemistry and antiobesity, antidiabetes, anticancer, and antibiotic properties in cells, rodents, and humans. *Foods*. 5: 80.

Frigolet, M. E. & Gutiérrez-Aguilar. (2020). Los colores del tejido adiposo. *Gaceta Médica de México*. 156: 143.150.

Fu, B., Wang, N., Tan, H. Y., Li, S., Cheung, F., & Feng, Y. (2018). Multi-component herbal products in the prevention and treatment of chemotherapy-associated toxicity and side effects: A review on experimental and clinical evidences. *Frontiers in Pharmacology*. 9:1-15.

Gálvez-Marical, A., Peña-Montes, C. 2015. Revaloración de la dieta tradicional mexicana: una visión interdisciplinaria. *Revista digital universitaria*. 16(5).

Ganesan, K. & Baojun, X. (2018). Anti-Obesity Effects of Medicinal and Edible Mushrooms. *Molecules*. 23: 2880.

González-Muniesa, P., Martínez-González, M., Hu, F., Després, J., Matsuzawa, Y, Loos, R., Moreno, L. A., Bray, G. A., & Martínez, A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*. 3(17034).

Guyton, A. C & Hall, J. E. 2006. The Liver as an Organ. In Elsevier Saunders (ed.) *Textbook of Medical Physiology*. 11th edition. Philadelphia, Pennsylvania. 859-864.

Guzmán, G. (1998a). Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos en México (Ensayo sobre el inventario fúngico del país). In *La diversidad biológica de Iberoamérica II*, G. Halffter (ed.). *Acta Zoológica Mexicana, nueva serie vol. Especial*, CYTED e Instituto de Ecología, Xalapa. 111-175.

Guzmán, G. (1998b). Inventorying the fungi of Mexico. *Biodiversity and Conservation* 7: 369-384.

Hoyt, C. L., Burnette, J. L. & Auster-Gussman, L. (2014). “Obesity Is a Disease”: Examining the Self-Regulatory Impact of This Public-Health Message. *Association for Psychological Science*. 25(4): 997-1002.

Herranz-López, M.; Barrajón-Catalán, E.; Segura-Carretero, A.; Menendez, J.A.; Joven, J.; Micol, V. (2015). Lemon verbena (*Lippia citriodora*) polyphenols alleviate obesity-related disturbances in hypertrophic adipocytes through AMPK-dependent mechanisms. *Phytomedicine*. 22: 605-614.

Hapuarachchi, K., Wen, T., Jeewon, R., y Wu, X. (2016). *Ganoderma lucidum* are the beneficial medical properties substantiated? *Mycosphere Essays*. 15: 687-715.

Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). (2018). México: Instituto Nacional de Salud Pública.

Jana, P., & Acharya, K. (2020). Mushroom: A New Resource for Anti-Angiogenic Therapeutics. *Food Reviews International*. 88-109.

Jang S, Lee CH, Choi KM, Lee J, Choi JW, Kim KA, Park CM. (2011). Correlation of fatty liver and abdominal fat distribution using a simple fat computed tomography protocol. *World J Gastroenterol*. 17(28):3335-41

Jung S, Son H, Hwang CE, Cho KM, Park SW, Kim HJ. (2018). *Ganoderma lucidum* Ameliorates Non-Alcoholic Steatosis by Upregulating Energy Metabolizing Enzymes in the Liver. *J Clin Med.* 7(6):152.

Kelly, T., Yang, W., Chen, C. S., Reynold, K. & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity* 32 (9):1431-1437.

Koliaki, C., Liatis, S., & Kokkinos, A. (2019). Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. *Metabolism: Clinical and Experimental.* 92: 98-107.

Königsberg-Fainstein, M. (2007). Nrf2: la historia de un nuevo factor de Transcripción que responde a estrés Oxidativo. *UNAM. Revista de educación bioquímica.* 26 (1): 18-25.

Komshilova, K. A. & Troshina, E. A. (2018). Efficacy of liraglutide 3 mig therapy in obesity and associated diseases. *Medical Council. Scientific and Practical Peer- Reviewed Journal.* 4: 86-89

Klop, B., Elte, J. W. F., Cabezas, M. C. (2013). Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients.* 5(4): 1218-1240.

Klotz, L. O., Kröncke, K. D., Buchczyk, D. P., & Sies, H. (2003). Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr.* 133: 1448-1451.

Kothari, V., Luo, Y., Tornabene, T., O'Neill, A. M., Greene, M. W., Geetha, T., & Babu, J. R. (2017). High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.* 1863(2): 499-508.

Kozarski M, Klaus A, Jakovljevic D, Todorovic N, Vunduk J, Petrović P, Niksic M, Vrvic MM, van Griensven L. Antioxidants of Edible Mushrooms. *Molecules.* 2015 Oct 27;20(10):19489-525.

Kim, S. D. & Nho, H. J. (2004). Isolation and characterization of alpha-glucosidase inhibitor from the fungus *Ganoderma lucidum*. 42(3): 223-227.



Krisanits, B., Randise, J. F., Burton, C. E., Findlay, V. J., & Turner, D. P. (2020). Pubertal mammary development as a “susceptibility window” for breast cancer disparity. In *Advances in Cancer Research*. 146:57-82.

Lee J., Kwon H. & Jeong H. (2001). Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytother Res*. 15: 245-9.

Lewandowski, Āukasz; Kepinska, Marta; Milnerowicz, Halina. (2020). Alterations in Concentration/Activity of Superoxide Dismutases in Context of Obesity and Selected Single Nucleotide Polymorphisms in Genes: SOD1, SOD2, SOD3. *International Journal of Molecular Science*. 21(14): 5069.

Liang, Z., Yuan, Z., Li, G., Fu, F. & Shan, Y. (2018). Hypolipidemic, Antioxidant, and Antiapoptotic Effects of Polysaccharides Extracted from Reishi Mushroom, *Ganoderma lucidum* (Leysser: Fr) Karst, in Mice Fed a High-Fat Diet. *Journal of Medicinal Food*. 21:12, 1218.1227.

Li H. N., Zhao, L. L, Zhou, D. Y. & Chen D. Q. (2020). *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Ameliorates Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in db/db Mice via Targeting Nuclear Factor E2 (Erythroid-Derived 2)-Related Factor-2/Heme Oxygenase-1 (HO-1) Pathway. *Med Sci Monit*. 4(26): e921905.

Lin, Z. (2019). *Ganoderma* (Lingzhi) in Traditional Chinese Medicine and Chinese Culture. En: Lin Lin, Z., & Yang, B. (Eds.). (2019). *Ganoderma* and Health. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. doi:10.1007/978-981-13-9867-4

Liu, Z., Patil, I. Y., Jiang, T., Sancheti, H., Walsh, J. P., Stiles, B. L., Yin, F., & Cadenas, E. (2015). High-fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity. *PLoS ONE*. 10(5): 1-16.

Liu, W., Wang, H., Pang, X., Yao, W., y Gao, X. (2010). Characterization and antioxidant activity of two low-molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 46 (4): 451-457.

López-Alvarenga, J. C & González-García, L. T. (2001). Enfermedades asociadas a la - obesidad. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 9 (2): 77-85.

López-Barrera & Miljkovic, D. (2022). The link between the two epidemics provides an opportunity to remedy obesity while dealing with Covid-19. *Journal of Policy Modeling*. Elsevier. 44: 280-297.

Materola, C., del Sol, M., Ottone, N. & Otzen, T. Anatomía Quirúrgica y Radiológica del Hígado. *Fundamentos para las Resecciones Hepáticas*. *Int. J. Morphol.* 35 (4):1525-1539.

Marchesini, G., Moscatiello, S., Di Domizio, S., & Forlani, G. (2008). Obesity-associated liver disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(11 SUPPL. 1): 74-80.

Martín-Domínguez, V., González-Casas, R., Mendoza Jiménez-Ridruejo, J., García-Buey, L. & Moreno-Otero, R. (2013). Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 105 (7): 409-420.

Martínez-Abundis, E., Sánchez-Rodríguez, M. A. & Hafidi-Bentlakder M. E. (2005). Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquímica*. 30(3): 82-89.

Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, A. Tovar Palacio, N. Torres, M. E. Meneses, M. Sobal Cruz, P. Morales Almora, M. Bonilla Quintero, H. Escudero Uribe, I. Tello-Salgado, T. Bernabé-González, W. Martínez Sánchez & Y. Mayett. (2016). Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. Eds. D. Martínez-Carrera & J. Ramírez Juárez. Editorial del Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 30: 581-640.

Martínez-Sánchez, G. (2005). Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Revista Cubana de Farmacia*. 39 (3).

Martínez-Vizcaíno, V., Álvarez-Bueno, C., & Caverro-Redondo, I. (2021). Diet in the management of weight loss. *Nutrients*, 13(4): 5-6.

Meneses M.E, Martínez-Carrera D, TorresN, Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Morales P, etal. (2016). Hypocholesterolemic Properties andPrebiotic Effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 Mice. *PLoS ONE* 11(7).

Mohsin M, Negi P, Ahmed Z. (2011). Determination of the antioxidant activity and polyphenol contents of wild Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (W.Curt. Fr.) P. Karst. (Higher Basidiomycetes) from central Himalayan hills of India. *Int J Med Mushrooms*. 13(6): 535-44.

Muñoz-Sánchez, G., García-Macedo, R., Alarcón-AguilR, F. & Cruz, M. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. 141 (6): 505-512.

Mulaikal, T. A. & Emond, J. C. (2012). *Physiology and Anatomy of the Liver*. 3-20.

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). (2017). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 390: 2627-2642.

Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Bloc, J. Le, Siliart, B., & Dumon, H. (2008). Liver lipid metabolism. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 92(3): 272-83.

Nita, M. & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016:3164734

Niero-Mazon, J., Hass de Mello, A., Kozuchovski-Ferreira, G. & Tezza-Rezin. (2017). The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life Sciences*. 182: 22-28

Nieto, I. J., & Chegwin, C. (2010). Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas The influence of the substrate used

for growing edible fungi on their nutraceutical characteristics. In *Rev. Colomb. Biotecnol.* 7(1): 169-178.

Oficina de Información Científica y Tecnológica para el Congreso de la Unión (INCyTU). (2016). *Obesidad y diabetes en México. Foro Consultivo.* 2: 2-6.

Pan, R., Lou, J., & Wei, L. (2021). Significant effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharide on lipid metabolism in diabetes may be associated with the activation of the FAM3C-HSF1-CAM signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 22:820-830.

Pérez-Miguelsanz, M. J., Cabrera-Parra, W., Moreiras, V. & Garaulet, M. (2010). Distribución regional de la grasa corporal. Uso de técnicas de imagen como herramienta de diagnóstico nutricional. *Nutrición Hospitalaria.* 25(2): 207-223.

Pollak, F. (2016). Resistencia a la insulina: verdades y controversia. *Revista Médica Clínica Condes.* 27(2):171-178.

Ramírez-Alvarado, M. M. & Sánchez-Roitz, C. (2012). El factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nutrición Hospitalaria.* 27(6): 1751-1757.

Rana, K., Ghimire, P., Chimoriya, R., & Chimoriya, R. (2021). Trends in the Prevalence of Overweight and Obesity and Associated Socioeconomic and Household Environmental Factors among Women in Nepal: Findings from the Nepal Demographic and Health Surveys. *Obesities.* 1(2): 113-135.

Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *Journal of Nutrition.* 123(11): 1939-1951.

Ros-Pérez, M. & Medina-Gómez, G. (2011). Obesidad, adipogénesis y resistencia a la insulina. *Endocrinología y Nutrición.* Elsevier. 58 (7): 360-369.

Sang, T., Guo, C., Guo, D., Wu, J., Wang, Y., Wang, Y., Chen, J., Chen, C., Wu, K., Na, K., Li, K., Fang, L., Guo, C. & Wang, X. (2021). Suppression of obesity and inflammation by

polysaccharide from sporoderm-broken spore of *Ganoderma lucidum* via gut microbiota regulation. Carbohydrate Polymers. 256:117594.

Saavedra Ramírez, P. G., Vásquez Duque, G. M. & González Naranjo, L. A. (2011). Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico IATREIA. 24 (2): 157-166.

Seravalle, G., & Grassi, G. (2017). Obesity and Hypertension. Pharmacological Research. 122:1-7.

Sibulesky L. (2013). Anatomía normal del hígado. Clin Liver Dis (Hoboken). 16: 2(Suppl 4):S61Š–S63Š.

Shi M, Zhang Z, Yang Y. (2013). Antioxidant and immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP). Carbohydr Polym.95(1):200-206.

Smina, T.P., J. Mathew, K.K. Janardhanan, T.P.A. Devasagayam. (2011). Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India. Environmental Toxicology and Pharmacology. 32: 438-446.

Soumaya, K. (2013). Molecular mechanisms of insulin resistance in diabetes. In Diabetes: An old disease. 240-251.

Stamets, P. (1993). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley. 211-350.

Suárez-Carmona, W., Sánchez-Oliver, A. J. & González-Jurado, J. A. (2017). Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. Revista chilena de nutrición. 44 (3): 226-233.

Subedi, K., Bahadur-Basnet, B., Panday, R., Neupane, M. Tripathi, G. R. (2021). Optimization of Growth Conditions and Biological Activities of Nepalese *Ganoderma lucidum* Strain Philippine. Hindawi. Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences. 7.

Susilo, R. J. K., Winarni, D., Husen, S. A., Hayaza, S., Punnapayak, H., Wahyuningsih, S. P. A., Sajidah, E. S. & Darmanto, W. (2019). Hepatoprotective effect of crude

polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. 12(12):1987-1991.

Torres-Arrieta, R., Camaño-Vasquez, C., De Oro.Acevedo, J. & Mena-Romero, D. (2021). Lipoproteína Lipasa y su Participación en Enfermedades Cardiovasculares. iMedPub Journals. Archivos de Medicina. 17(2): 1-2.

Torres-Torres, M.G., Guzmán-Dávalos L. & De Mello-Gugliotta A. (2012). *Ganoderma* in Brazil: known species and new records. Mycotaxon. 121:93-132.

Tortella, G.R., Rubilar, O., Gianfreda, L., Valenzuela, E. & Diez, M. C. (2008). Enzymatic characterization of Chilean native wood-rotting fungi for potential use in the bioremediation of polluted environments with chlorophenols. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24(12): 2805-2818.

Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. (2003). The importance of glutathione in human disease. Biomed Pharmacother. 57:145-55.

Tebay, L. E, Robertson, H., Durant, S. T., Vitale, S. R., Penning, T. M., Dinkova-Kostova, A. T. & Hayes, J. D. (2015). Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. Free Radic Biol Med. 88 (Pt B):108-146.

Valdecantos, M. P., Pérez-matute, P., & Martínez, J. A. (2009). Obesidad y estrés oxidante: papel de la suplementación con antioxidantes de...: Discovery Service para UNAM. 61(2): 127-139.

Venkatesan S., Cullen P., Pacy P., Halliday D., Scott J. (1993). Stable isotopes show a direct relation between VLDL apob overproduction and serum triglyceride levels and indicate a metabolically and biochemically coherent basis for familial combined hyperlipidemia. Arterioscler. Thromb.13:1110–1118.

Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. Int J Obes (Lond). 400-418.

Wang, F., Zhou, Z., Ren, X., Wang, Y., Yang, R., Luo, J. Strappe, P. (2015). Effect of *Ganoderma lucidum* spores intervention on glucose and lipid metabolism gene expression profiles in type 2 diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*.

Whitmer, R. A.; Gustafson, D. R.; Barrett-Connor, E.; Haan, M. N.; Gunderson, E. P.; Yaffe, K. (2008). Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*. 71(14): 1057-1064.

Wu S. (2018). Hypolipidaemic and anti-lipidperoxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharide. *Int J Biol Macromol*. 118(Pt B):2001-2005.

Wunderlich F. T., P. Ströhle, A. C. Könnner, S. Gruber, S. Tovar, H. S. Brönneke, L. Juntti-Berggren, L. S. Li, N. van Rooijen, C. Libert, P. O. Berggren and J. C. Brüning. (2010). Interleukin-6 Signaling in Liver-Parenchymal Cells Suppresses Hepatic Inflammation and Improves Systemic Insulin Action. *Cell Metabolism*. 12: 237-249.

Xiao C, Wu QP, Cai W, Tan JB, Yang XB, Zhang JM. (2012). Hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in type 2 diabetic mice. *Arch Pharm Res*. 35 (10):1793–1801.

Xu, F., Li, X., Li, Q.S., Xu, X., Li, W.X. and Yu, X.L. (2022). Effect of *Ganoderma lucidum* Polysaccharide on Antioxidative Ability of Rats with Myocardial Injury Induced by Doxorubicin. *Journal of Biosciences and Medicines*.10:14-19

Yang, J., & Cao, Z. (2017). Glucose-responsive insulin release: Analysis of mechanisms, formulations, and evaluation criteria. *Journal of Controlled Release*. 263: 231-239.

Yang, Z., Chen, C, Zhao., J, Xu, W., He, Y., Yang, H & Zhou, P. (2018). Hypoglycemic mechanism of a novel proteoglycan, extracted from *Ganoderma lucidum*, in hepatocytes. *European Journal of Pharmacology*. 820: 77-85.

Yasmin, T., Rahman, M. M., Khan, F., Kabir, F., Nahar, K., Lasker, S., Islam, M. D., Hossain, M. M., Hasan, R., Rana, S. & Alam, M. A. (2021). Metformin treatment reverses high fat diet- induced non-alcoholic fatty liver diseases and dyslipidemia by stimulating multiple antioxidant and anti-inflammatory pathways. *Biochem Biophys Rep*.17(28):101168.

Yilmaz, Y. & Younossi, Z. M. (2014). Obesity-associated nonalcoholic fatty liver disease. *Clinics in Liver Disease*, 18(1): 19-31.

Yue, Y., Mingyue, S., Qianqian, S., & Jianhua J. (2017). Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*. 138: 91-101.

Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Rev Chil Nutr.* 34 (1): 17-26.

Zhou, H., Urso, C. J., & Jadeja, V. (2020). Saturated fatty Ácidos in obesity-associated inflammation. *Journal of Inflammation Research*. 13: 1-14.

Zhao, C.; Fan, J.; Liu, Y.; Guo,W.; Cao, H.; Xiao, J.;Wang, Y.; Liu, B. (2019). Hepatoprotective activity of *Ganoderma lucidum* triterpenoids in alcohol-induced liver injury in mice, an iTRAQ-based proteomic analysis. *Food Chem.* 271:148-156.

Zhang, Y., Shuang, S., Haitao, L., Xinyan, W., Lianlian, S. & Juanfei, X. (2022). Polysaccharide from *Ganoderma lucidum* alleviates cognitive impairment in a mouse model of chronic cerebral hypoperfusion by regulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Food & Function*. 13: 1941-1952