



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**Centro Interdisciplinario de Investigación para el
Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca**

TESIS

**“Efecto del consumo de hongos comestibles y medicinales sobre el
metabolismo lipídico, 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:

Q.F.B. Fernando Daniel Pérez Luna

Directores de Tesis

Dra. Aleyda Pérez Herrera

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, julio del 2020



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

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

Ciudad de México, 20 de julio del 2020

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

ordinaria No. 06 celebrada el día 12 del mes Junio de 2020, conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Pérez	Apellido Materno:	Luna	Nombre (s):	Fernando Daniel
-------------------	-------	-------------------	------	-------------	-----------------

Número de registro: A 1 8 0 1 4 8

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 del consumo de hongos comestibles y medicinales sobre el metabolismo lipídico, en un modelo de obesidad inducido por dieta”

Objetivo general del trabajo de tesis:

Evaluar el efecto del consumo de *Ustilago maydis* (huitlacoche), *Pleurotus ostreatus* (setas) y *Ganoderma lucidum* sobre el metabolismo de lípidos en un modelo de obesidad inducido por dieta en ratas Wistar.

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

Director: Dra. Aleyda Pérez Herrera

2° Director: 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 de Investigación Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional, unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA) y el 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.

Director(a) de Tesis

2° Director de Tesis (en su caso)

Dra. Aleyda Pérez Herrera

Aspirante

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Presidente del Colegio

Pérez Luna Fernando Daniel

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de siendo las horas del día del mes de del se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio del:

para examinar la tesis titulada:

del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Pérez	Apellido Materno:	Luna	Nombre (s):	Fernando Daniel
-------------------	-------	-------------------	------	-------------	-----------------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 11 % 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 **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:

Los miembros de la Comisión Revisora de Tesis acuerdan que la información contenida en el trabajo de la tesis arriba mencionada constituye un trabajo original y que el porcentaje de similitud señalado se debe al empleo de frases comunes, nombres científicos y variables evaluadas que también han sido tratadas en otros trabajos, los cuales han sido debidamente citados, con un máximo de 1% con la fuente de mayor similitud, que en conjunto, no representa plagio total o parcial de ningún trabajo conocido al momento.

****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:

Cumple con los requisitos establecidos en el reglamento vigente.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

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

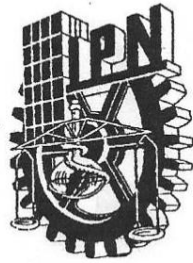
Dr. José Luis Chávez Servia
Nombre completo y firma

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutierrez
Nombre completo y firma

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez
2° Director de Tesis (en su caso)
Nombre completo y firma

Dra. Patricia Araceli Santiago García
Nombre completo y firma

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

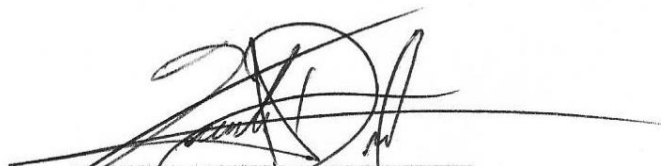


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Sta. Cruz Xoxocotlán, Oax., el día 20 del mes Julio del año 2020, el (la) que suscribe Fernando Daniel Pérez Luna alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A180148, adscrito al Centro de Investigación Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional, unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA), manifiesta que es autor (a) 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 del consumo de hongos comestibles y medicinales sobre el metabolismo lipídico, 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 expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección fernandoluna953@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Fernando Daniel Pérez Luna

Agradecimientos

Al instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA), por todos los recursos y facilidades brindadas para la continuación de mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante el tiempo de realización de este posgrado.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, por todo el apoyo material y humano aportado en la realización de este proyecto.

A mis directoras de tesis Dra. Aleyda Pérez Herrera y Dra. María Eugenia Meneses Álvarez por su amistad, consejos y guía.

A mis asesores y revisores de tesis, Dr. José Luis Chávez Servia, Dra. Patricia Araceli Santiago García y Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez por sus comentarios y recomendaciones.

A mis padres por ser mis primeros mentores, por su apoyo incondicional y por todo el cariño que me dan.

A mi hermana por motivarme y alegrar cada uno de los días de mi vida.

Y a todas las personas que participaron e hicieron posible este proyecto directa o indirectamente, profesores, compañeros y amigos muchas gracias por su compañía, apoyo y enseñanzas.

CONTENIDO

RESUMEN.....	IX
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Obesidad	4
2.1.1 Contexto Mundial	9
2.1.2 Contexto Nacional.....	10
2.1.3 Costos económicos y sociales de la obesidad en México.....	11
2.1.4 Obesidad y sus principales enfermedades asociadas	12
2.2 Metabolismo de lípidos.....	14
2.2.1 Metabolismo de los lípidos exógenos.	14
2.2.2 Metabolismo de los lípidos endógenos	16
2.2.3 Transporte reverso del colesterol.....	18
2.2.4 Obesidad, hígado graso y aterosclerosis.....	20
2.2.5 Las estatinas como fármacos para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular	24
2.2.6 Genes implicados en el metabolismo lipídico	26
2.3 Efecto de los hongos comestibles y medicinales en el metabolismo de lípidos ...	28
2.3.1 Nutrigenómica.....	28
2.3.2 Propiedades bioactivas del huitlacoche (<i>Ustilago maydis</i>).....	29
2.3.3 Propiedades bioactivas de las setas (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	30
2.3.4 Propiedades bioactivas de <i>Ganoderma lucidum</i>	32
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
IV. JUSTIFICACIÓN	37
V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	39
5.1 Hipótesis	39
5.2 Objetivo general	39
5.3 Objetivos específicos	39
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
6.1 Diseño experimental.....	40
6.1.1 Animales	40
6.1.2 Dietas.....	40

6.1.3 Análisis composicional de las muestras de hongos usadas en la elaboración de las dietas experimentales.....	42
6.1.4 Bioética en el manejo de animales de laboratorio.....	42
6.2 Determinación de la curva de crecimiento e ingesta de los animales de experimentación.....	43
6.3 Análisis de composición corporal.....	43
6.4 Determinaciones bioquímicas séricas.....	43
6.5 Prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	44
6.6 Determinación de la actividad antioxidante total sérica.....	44
6.7 Determinación del gasto energético y coeficiente respiratorio.....	45
6.8 Histología de hígado.....	47
6.9 Análisis de expresión génica.....	50
6.9.1 Extracción de RNA.....	50
6.9.2 Cuantificación relativa por PCR en tiempo real.....	51
6.10 Análisis estadístico.....	52
VII. RESULTADOS.....	53
7.1 Composición bromatológica de las muestras de hongos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales.....	53
7.2 Curva de ganancia de peso en ratas wistar.....	53
7.3 Ingesta calórica.....	55
7.4 Composición corporal.....	56
7.5 Parámetros bioquímicos en suero de los grupos experimentales.....	59
7.5.1 Perfil de lípidos.....	59
7.5.2 Glucosa.....	61
7.5.3 Perfil hepático.....	62
7.5.4 Evaluación de la función renal.....	63
7.6 Prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	66
7.7 Evaluación de la actividad antioxidante total sérica.....	66
7.8 Evaluación del gasto calórico y coeficiente respiratorio.....	68
7.8.1 Coeficiente de intercambio respiratorio (RER).....	68
7.8.2 Volumen de oxígeno consumido (VO ₂).....	70
7.9 Histología de hígado.....	72
7.10 Expresión génica.....	75

7.10.1 Extracción de RNA.....	75
7.10.2 Expresión relativa.....	75
VIII.DISCUSIÓN	79
IX. CONCLUSIÓN	88
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

Índice de Tablas

Tabla 1. Interpretación del estado físico para hombres en base al porcentaje de grasa corporal agrupados por rango de edad	7
Tabla 2. Interpretación del estado físico para mujeres en base al porcentaje de grasa corporal agrupados por rango de edad	8
Tabla 3. Genes relacionados en el metabolismo lipídico.....	26
Tabla 4. Formulación de las dietas AIN-93M y HFD.....	41
Tabla 5. Análisis químico proximal de los hongos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales.....	53
Tabla 6. Concentraciones y pureza del RNA aislado de hígado.....	75

Índice de figuras

Figura 1. Principales interacciones en el metabolismo de lípidos.....	24
Figura 2. Peso y Ganancia de peso	54
Figura 3. Ingesta calórica por día.	55
Figura 4. Composición corporal.....	58
Figura 5. Perfil lipídico.	60
Figura 6. Concentración promedio de glucosa sérica.....	61
Figura 7. Perfil hepático.....	63
Figura 8. Evaluación renal.	65
Figura 9. Curva de tolerancia a la glucosa	66
Figura 10. Capacidad antioxidante total sérica.....	67
Figura 11. Determinación del coeficiente respiratorio.....	69
Figura 12. Determinación del volumen de oxígeno consumido (VO ₂)	71
Figura 13. Histología de hígado.....	74
Figura 14. Cuantificación de la expresión génica relativa.....	78

RESUMEN

La obesidad es una patología considerada una crisis de salud mundial altamente vinculada con la alteración del metabolismo lipídico. Se evaluó el efecto de la adición a la dieta de hongos comestibles y medicinal: *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, sobre el metabolismo de lípidos en un modelo animal de obesidad. Se utilizaron ratas Wistar, las cuales fueron alimentadas con una dieta alta en grasa saturada (HFD) (45% kcal de grasa) y sacarosa en el agua (10%). Los grupos de tratamiento fueron: **Control**: dieta AIN-93G; **HF+S**: dieta HFD + sacarosa en el agua (10%) + 0.25% colesterol; **HF+S+At**: dieta igual a HF+S + atorvastatina (0.3 g/kg dieta); **HF+S+Um**: dieta igual a HF+S + 10% *U. maydis*; **HF+S+Po**: dieta igual a HF+S + 10% *P. ostreatus*; **HF+S+Gl**: dieta igual a HF+S + 10% *G. lucidum*. Se evaluó el efecto de las diferentes especies de hongos en el incremento de peso, composición corporal, parámetros bioquímicos, actividad antioxidante y gasto energético. Adicionalmente se analizó la expresión de los genes: HMGCR, LDLR, ABCG5, FASN y PPARA en hígado. Se encontró que los grupos HF+S+Um, HF+S+Po y HF+S+Gl vieron reducidos el incremento de peso, el porcentaje de grasa corporal, los niveles séricos de TG, CT y LDL-c de manera significativa con $p < 0.0001$ respecto a HF+S. Además, los grupos HF+S+Um y HF+S+Gl redujeron la esteatosis hepática provocada por la dieta alta en grasa y en el caso de HF+S+Po la previno totalmente. Finalmente, la expresión de los genes LDLR, ABCG5, FASN y PPARA, aumentó con la suplementación en la dieta de cualquiera de los hongos y con el fármaco atorvastatina en comparación al grupo HF+S. El presente estudio demostró que los hongos comestibles son alimentos funcionales que, al ser incluidos en la dieta, previenen las alteraciones provocadas por la obesidad como el incremento de grasa corporal, dislipidemias, disminución de la actividad antioxidante

sérica total, disminución de la flexibilidad metabólica y el desarrollo de esteatosis hepática, dando la pauta al desarrollo de estudios de intervención para demostrar los beneficios de la inclusión de este grupo de alimentos en humanos. **Palabras Clave:** *U. maydis*, *P. ostreatus*, *G. lucidum*, alimento funcional, lípidos.

I. INTRODUCCIÓN

Los procesos que rodean el metabolismo de lípidos en nuestro organismo es un tema muy amplio que con el trabajo de muchos investigadores se ha ido dilucidando poco a poco y que, a pesar de los grandes avances en este sentido, aún quedan muchas preguntas por responder. Hace no mucho tiempo, el exceso de peso era considerado un símbolo de riqueza y bienestar económico (1). Después se tomó conciencia que esto era un problema de salud y se desarrollaron los conceptos de sobrepeso y obesidad (2), pero se limitó el marco del problema a los países industrializados o desarrollados. Con el avance de modelos económicos y sociales que fomentaban la occidentalización de la mayoría de los países, nuestro país al igual que en muchos otros, a pesar de ser considerada una nación en vías de desarrollo, empezó a tener a la obesidad como un problema de salud pública. Es entonces cuando las organizaciones de salud se dieron cuenta que el problema ya no era exclusivo de países ricos, y que la obesidad frecuentemente se presenta en los deciles más pobres de la población. En los últimos años, los países industrializados de ingresos medios y bajos han experimentado un cambio notorio en los estilos de vida de sus poblaciones. La adopción de costumbres occidentales ha contribuido a desarrollar entornos obesogénicos con sus respectivas consecuencias negativas para la salud humana. La obesidad es considerada el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 (DM2) y las enfermedades cardiovasculares (ECV) y algunos tipos de cáncer (3). Las ECV son consideradas la primera causa de muerte tanto a nivel mundial como en México, llegando a alcanzar cifras de muertes en el mundo de 17.9 millones de personas en 2016,

y en México representan el 20% del total de muertes en los adultos. Las causas de muerte incluyen enfermedad isquémica del corazón, enfermedades cerebrovasculares, hipertensivas, entre otras (4,5). Atendiendo al surgimiento de estos padecimientos, comenzaron a desarrollarse tratamientos farmacológicos para reducir su morbilidad y mortandad. Entre los más exitosos hasta la actualidad, están las estatinas, que tienen una amplia gama de efectos benéficos en los pacientes con obesidad o dislipidemias, tales como, reducción en los niveles plasmáticos de CT, LDL-c y TG, mejora de la capacidad antioxidante y de la función endotelial, reducción de la agregación plaquetaria y migración de los macrófagos a la íntima, entre otros (6). Sin embargo, las estatinas a pesar de tener todos estos efectos benéficos también tienen efectos secundarios no deseados, especialmente cuando son consumidas por largos periodos de tiempo, entre los más destacables están disfunción renal y hepática, hipotiroidismo e infecciones severas (6). Por lo tanto, abordar el problema de la obesidad sin atender las causas constituye un error.

Actualmente se pone un gran énfasis en la composición de las dietas, destacando la dieta mediterránea, que incluye diversos alimentos que han demostrado tener efectos benéficos en nuestra salud. Aquí es donde entran en escena los alimentos funcionales, que son definidos como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contienen componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de quien los consume (7). Actualmente existe un auge sorprendente de estos alimentos, debido entre otras cosas, a un mayor interés de las personas por su salud, al reconocimiento de los efectos benéficos de estos alimentos por parte de organizaciones de salud y a que los gobiernos están prestando

mas atención a este rubro por su potencial económico como parte de las estrategias de prevención en salud pública.

En la última década, se ha establecido que el uso de alimentos funcionales tiene efectos positivos en el tratamiento de enfermedades asociadas a la obesidad, así como se ha demostrado el efecto de sus compuestos bioactivos en la prevención de las alteraciones metabólicas presentes en esta patología y en el desarrollo de dislipidemias y de ECV (8). Un grupo de alimentos a los que se han atribuido propiedades funcionales y medicinales importantes son los hongos comestibles. Estas propiedades funcionales se deben al contenido de compuestos bioactivos como lo son lectinas, polisacáridos de alto peso molecular (β -glucanos), heteroglucanos, proteoglucanos, polisacaropéptidos, glucoproteínas, terpenoides y proteínas fúngicas inmunomoduladoras (9).

Con el presente proyecto, se pretende conocer el efecto del consumo de tres especies de hongos, *Ustilago maydis* (huitlacoche), *Pleurotus ostreatus* (setas) y *Ganoderma lucidum*, en un modelo animal de obesidad, para describir los mecanismos moleculares de su efecto en rutas metabólicas asociadas a esta patología, como son el estudio de expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos y desarrollo de dislipidemias. A futuro, se podrá aplicar el conocimiento en estudios clínicos y poblacionales. Además, se realizará la difusión del conocimiento generado sobre los beneficios de la inclusión de estas especies de hongos comestibles y medicinales en una dieta saludable, y con ello contribuir a la prevención de enfermedades de importancia nacional como son la obesidad y sus problemas relacionados.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Obesidad

La obesidad es un problema de salud que ha acompañado a la humanidad desde hace algunas décadas, y no han sido pocos los problemas a la hora de definirla y más aún a la hora de escoger parámetros para medir esta condición. Quizás la forma más simple de su definición es la dada por la Organización Mundial para la Salud (OMS), la cual delimita al sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (10). En cuanto a las herramientas para medirla, esta misma organización utiliza el índice de masa corporal (IMC), el cual es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla y se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2). De acuerdo con el National Heart, Lung, and Blood Institute de Estados Unidos y la OMS, usando el IMC se puede estratificar a la población general en los siguientes rubros (11):

- Bajo peso ($\text{IMC} < 18.5 \text{ kg}/\text{m}^2$).
- Normo peso ($\text{IMC} 18.5\text{-}24.9 \text{ kg}/\text{m}^2$).
- Sobrepeso ($\text{IMC} 25.0\text{-}29.9 \text{ kg}/\text{m}^2$).
- Obesidad ($\text{IMC} 30.0\text{-}39.9 \text{ kg}/\text{m}^2$).
- Obesidad extrema ($\text{IMC} > 40 \text{ kg}/\text{m}^2$)

Debido a que esta clasificación se utiliza para todas las personas adultas independientemente de su sexo y edad, el IMC es considerado por la OMS como el indicador más ventajoso para el diagnóstico de sobrepeso y obesidad en la población (10,12). No obstante, una de las principales críticas que se le hace al IMC, es que tiene una correlación poco precisa con el porcentaje de grasa corporal, y si recordamos la

definición de obesidad como un exceso de acumulación de grasa que resulta perjudicial para la salud, el IMC al no medir directamente este porcentaje de grasa ni ser una buena aproximación de este, crea una imagen distorsionada del estado de salud de las personas y subestima la probabilidad que tienen de sufrir los efectos de las comorbilidades asociadas a la obesidad (13,14). Además, se sabe que dependiendo de la zona donde se acumule la grasa en nuestro cuerpo tendrá distintos efectos en la salud. La grasa que se acumula en la parte del abdomen, es el tejido adiposo al que se le ha relacionado más con la resistencia a la insulina, también se le relaciona con los cambios en el tamaño de las partículas de las lipoproteínas de baja densidad LDL y con un descenso en las concentraciones de las lipoproteínas de alta densidad HDL (15). Debido a esto, se han propuesto más indicadores para medir la obesidad y la distribución de grasa en el cuerpo y definir de manera más precisa el riesgo de sufrir cualquiera de las comorbilidades asociadas, tales como la enfermedad cardiovascular, diabetes, trastornos en el aparato locomotor y algunos cánceres (12–14). Uno de estos indicadores es la medición de la circunferencia abdominal o de la cintura, la cual según el *National Heart, Lung and Blood Institute*, en su informe *Adult treatment Panel III*, propone clasificar con obesidad central a los varones cuando su cintura es igual o mayor a 102 cm, y a las mujeres cuando su cintura es igual o mayor a 88 cm (16,17). Este indicador puede ser combinado con otras mediciones para tener una mejor idea de la distribución de la grasa corporal, el índice cintura-cadera y el índice cintura-altura son ejemplos de esto, los cuales resultan de dividir la circunferencia abdominal entre el perímetro de la cadera o la altura respectivamente, en donde a mayor cociente mayor riesgo para la salud (14). Finalmente, para una clasificación mucho más exacta y precisa, se deben realizar mediciones directas

del porcentaje de la grasa corporal. Para esto, actualmente existen técnicas tales como el análisis del grosor de los pliegues cutáneos, la absorciometría de rayos x de energía dual, el análisis de bioimpedancia, la tomografía computarizada y la resonancia magnética nuclear. Actualmente no existe un consenso respecto a cuáles son los porcentajes de grasa corporal recomendados para adultos sanos, sin embargo, si se han publicado estudios proponiendo valores por rango de edades, en base al género, a la actividad física, y al origen étnico (18–20). A continuación, se presentan dos tablas que categorizan el estado físico de las personas en base al porcentaje de masa grasa a manera de guía. La primera específica para hombres y la segunda para mujeres (

Tabla 1. Interpretación del estado físico para hombres en base al porcentaje de grasa corporal agrupados por rango de edad

y Tabla 2).

Tabla 1. Interpretación del estado físico para hombres en base al porcentaje de grasa corporal agrupados por rango de edad

Estado físico	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Muy delgado	4.2-6.4	7.3-10.3	9.5-12.9	11.0-14.8	11.9-16.2	13.6-15.5
Excelente	7.9-10.5	12.4-14.9	15.0-17.5	17.0-19.4	18.1-20.2	17.5-20.1
Bueno	11.5-14.8	15.9-18.4	18.5-20.8	20.2-22.3	21.0-23.0	21.0-22.9
Razonable	15.8-18.6	19.2-21.6	21.4-23.5	23.0-24.9	23.6-25.6	23.7-25.3
Pobre (obesidad)	19.7-23.3	22.4-25.1	24.2-26.6	25.6-28.1	26.4-28.8	25.8-28.4
Muy pobre (obesidad)	24.9-33.4	26.4-34.4	27.8-35.2	29.2-36.4	29.8-36.8	29.4-37.2

Datos tomados y adaptados del American College of Sports Medicine, 2016. Guidelines for exercise testing and prescription (20).

Tabla 2. Interpretación del estado físico para mujeres en base al porcentaje de grasa corporal agrupados por rango de edad

Estado físico	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Muy delgado	11.4-14.0	11.2-13.9	12.1-15.2	13.9-16.9	13.9-17.7	11.7-16.4
Excelente	15.1-16.1	15.5-16.5	16.8-18.3	19.1-20.8	20.2-22.0	18.3-21.2
Bueno	16.8-19.0	17.5-21.0	19.5-23.7	22.3-26.7	23.3-27.5	22.5-26.6
Razonable	20.6-23.4	22.0-24.8	24.6-27.5	27.6-30.1	28.3-30.8	27.6-30.5
Pobre (obesidad)	24.2-28.2	25.8-29.6	28.4-31.9	30.8-33.9	31.5-34.4	31.0-34.0
Muy pobre (obesidad)	30.5-38.6	31.5-39.0	33.4-39.1	35.0-39.8	35.6-40.3	35.3-40.2

Datos tomados y adaptados del American College of Sports Medicine, 2016. Guidelines for exercise testing and prescription (20).

Finalmente, cabe señalar que a pesar de que el porcentaje de grasa corporal nos brinda un mejor entendimiento de los problemas asociados a la obesidad, no siempre es posible medirlo directamente, ya que requiere de equipo especializado y de personal altamente entrenado para dicha tarea, por lo que su utilización aún es limitada (20). Es por ello por

lo que actualmente se prefiere la medición indirecta de estos porcentajes y la utilización del IMC en combinación con otros indicadores para evaluar el factor de riesgo que tiene determinada persona de padecer las comorbilidades de la obesidad (14).

2.1.1 Contexto Mundial

Debido a sus altos índices de propagación en la población, a los múltiples efectos negativos que ejerce sobre la salud física y mental de las personas, y a los altos costos sociales y económicos que tiene en las naciones, la obesidad y el sobrepeso constituyen en la actualidad, uno de los principales retos de salud pública a nivel mundial (21,22). Tan solo entre los años 1975 y 2016, la prevalencia de la obesidad se triplicó a nivel mundial, y para 2016, más de 1900 millones de personas mayores de 18 años (39% de la población global) tenía exceso de peso, de los cuales, aproximadamente 650 millones clasificaban como obesos (10). En la actualidad, la obesidad se le relaciona estrechamente con la incidencia de enfermedades no transmisibles (ENT) en las personas (1). Según datos del Global Burden of Disease Study (GBD) de 2015, las muertes debido a las ENT alcanzaron la cifra de 41 millones de personas por año, lo que equivale al 71% de todas las muertes a nivel mundial. De estas 41 millones de muertes, 17.9 millones fueron atribuibles a enfermedades cardiovasculares y 1.6 millones a la diabetes mellitus tipo 2 (23).

Estas cifras no se explican solo con factores biológicos, los sistemas económicos, los medios de comunicación, el mercado laboral, la cultura, las políticas públicas de cada región y en general todo el entorno económico-social de una persona puede contribuir al desarrollo y prevalencia de esta enfermedad (1). Por esta razón, aplicar soluciones

homogéneas a nivel mundial no es algo viable y se requiere más bien de estrategias pensadas desde una perspectiva multidisciplinaria y que tomen en cuenta las diferencias a nivel regional de los entornos donde se desenvuelve cada individuo.

2.1.2 Contexto Nacional

En el presente, nuestro país experimenta un proceso de intercambio cultural acelerado por la apertura y globalización de los mercados. Esto ha hecho que nuestros hábitos en la alimentación cambien y, por ende, se den cambios en las prevalencias de la obesidad (3).

Desde que se realizó la primera Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en el año 2006 hasta la última levantada en 2018, las mujeres mayores de 20 años con sobrepeso y obesidad pasó de 71.9% a 76.8%, y en los hombres del mismo rango de edad y periodo de tiempo pasó de 66.7% a 73% (24,25). Lo anterior significa que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en ambos sexos pasó de 69.3% a 75.2%. Respecto a la población infantil y adolescente para ambos sexos, los números también son alarmantes, pues según datos de estas mismas encuestas, la prevalencia del sobrepeso u obesidad pasó de 31.9% a 38.4% en la población de 12 a 19 años y de 26% a 35.6% en la población de 5 a 11 años.

En cuanto a la protección social en materia de salud el porcentaje de la población que declaró tener algún tipo de seguridad en este rubro pasó de 51.5% en 2006 a 80.9% para 2018 (24,26). Datos de la ENSANUT de 2018 señalan que 56.6% de la población se atiende en los servicios públicos, lo cual, si lo analizamos junto con los porcentajes de población que padecen sobrepeso u obesidad, representa un problema en la financiación

de los institutos de salud pública y en las economías familiares para atender las comorbilidades de estos padecimientos. Debido a lo anterior, es necesaria la educación de la población en materia de nutrición y el desarrollo de políticas públicas en materia de prevención de la obesidad (12,27,28).

2.1.3 Costos económicos y sociales de la obesidad en México

La obesidad representa una merma sostenida en la economía y una reducción de la productividad laboral de quien la padece. El exceso de peso provoca efectos negativos en la salud biológica de las personas, pero también daña la salud mental de estas con trastornos como la depresión, provocando que las personas destinen un porcentaje alto de su gasto familiar en el tratamiento de estos trastornos físicos y mentales, generando empobrecimiento (12).

Aunque no existen muchos estudios científicos en donde se conjunte el costo de todas las comorbilidades de la obesidad, existen trabajos que estiman el costo de los principales males asociados. En un estudio realizado por Baeza-Cruz y colaboradores, se estimó que el costo económico promedio anual por caso de la hipercolesterolemia asciende a \$258,761.37 pesos mexicanos, lo que, extrapolado a un número de 445,075 casos diagnosticados en 2016, representó un impacto económico para el sistema de salud de \$115,168,331,355.11 pesos mexicanos (29). Respecto al gasto público en salud que representa la diabetes, el estudio llevado a cabo por Macías-Sánchez y Villareal-Páez, lo estimaron en 17,900 millones de pesos para 2015 (30). Proyecciones realizadas en 2015 por la unidad de análisis económico de la Secretaría de Salud, estimaron que para 2023

los costos directos e indirectos alcanzarán la cifra de 272, 434 millones de pesos, cifra probablemente muy conservadora.

Por otro lado, estimaciones realizadas por la OCDE, señalan que una política de prevención generaría un costo aproximado de 12 dólares estadounidenses per cápita en México (31,32). Lo anterior representaría un gasto aproximado de 25,131 millones de pesos mexicanos en 2015, que constituye solo una pequeña fracción de los gastos ya analizados. Lo anterior deja en claro que las acciones y programas gubernamentales, deben estar orientadas hacia una política de la prevención para lograr la sostenibilidad económica del sistema de salud (12,31,33).

2.1.4 Obesidad y sus principales enfermedades asociadas

Las principales enfermedades asociadas con la obesidad son regularmente de carácter crónico-degenerativas, entre ellas tenemos a las siguientes: diabetes mellitus tipo 2 (DM2), enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD por sus siglas en inglés), hipertensión, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, demencia, osteoartritis, apnea obstructiva del sueño y varios tipos de cáncer, reduciendo consecuentemente, la calidad y esperanza de vida (1,3).

Entre estas enfermedades o trastornos, destaca la DM2 y la ECV. La DM2 es la más frecuente en adultos, aunque ha ido incrementando su prevalencia en jóvenes y niños (21,34). Esta enfermedad produce niveles altos de glucosa en sangre, debido a un desorden metabólico que le impide la correcta utilización de la insulina, ya sea por resistencia de los tejidos a esta hormona o por una insuficiencia en su producción por parte de los islotes pancreáticos (34). En cuanto a los mecanismos mediante los cuales

se produce esta relación, estudios sugieren que el aumento de tamaño del tejido adiposo produce una disminución del flujo sanguíneo derivando en una hipoxia local, por lo que se crean condiciones que estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , inhibiéndose la producción de IRS-1 y PPAR- γ , moléculas que mejoran la sensibilidad de las células a la insulina (2).

También se ha señalado que la distribución de la grasa corporal concentrada en la parte abdominal (el cual es medible a través del índice cintura/cadera) es un factor estrechamente relacionado con la resistencia a la insulina al tiempo que es considerado un factor de riesgo para desarrollar ECV (3,35,36). De hecho, la American Heart Association, agregó a la obesidad como uno de los principales factores de riesgo para ECV desde 1998 (22). Algunas de las razones por las que la obesidad está tan relacionada con padecimientos cardiovasculares, es que, como ya se ha dicho, la obesidad involucra un aumento de la acumulación de tejido adiposo, por lo que el volumen de sangre también aumenta, forzando a un mayor trabajo al corazón, generando hipertensión y a su vez disfunción diastólica ventricular izquierda (37). Adicionalmente, la obesidad está relacionada con el aumento de los niveles de colesterol en sangre, lo que provoca hipercolesterolemia, condición muy ligada al desarrollo de ateromas, que son engrosamientos focales asimétricos de la capa más interna de la arteria, formados de células, elementos de tejido conectivo, lípidos y residuos, causando isquemias en la parte en que se producen y pudiéndose desprender en forma de émbolo, llegando a tapan el flujo sanguíneo de cualquier arteria del cuerpo, que en los peores casos deriva en un infarto agudo de miocardio o un infarto cerebral (38).

2.2 Metabolismo de lípidos

Entender los procesos por los cuales nuestro organismo metaboliza los lípidos, es crucial para resolver los problemas asociados a la obesidad, como lo son las enfermedades cardiovasculares (39). No obstante, a pesar de los avances en el campo de la fisiología de la nutrición, aún no está bien dilucidados todos los procesos a través de los cuales ingresan y se transportan los lípidos en nuestro organismo, por lo que aún queda mucho trabajo de investigación por hacer. Una manera de entender el metabolismo lipídico es dividirlo en dos partes principales: metabolismo de lípidos exógenos y metabolismo de lípidos endógenos. Ambos procesos tienen como finalidad el transportar los lípidos desde el intestino o el hígado respectivamente a los tejidos periféricos para su conversión en energía o su almacenamiento (40).

2.2.1 Metabolismo de los lípidos exógenos.

Aquí nos referiremos al camino que siguen los lípidos que provienen de la dieta. Cuando ingerimos alimentos, nuestro organismo entra en estado postprandial, es entonces cuando se activan diferentes mecanismos para la captación de los nutrimentos y energía contenidos en la comida dependiendo de la naturaleza de esta. Este estado, es en el que se encuentra nuestro cuerpo prácticamente todo el tiempo, especialmente si consideramos que una buena parte de nuestra población mantiene una dieta occidental rica en grasas, y el tiempo que nuestro organismo tarda en postprandio debido a esto, es aproximadamente de 8 a 10 horas, el triple que si consumiéramos una dieta constituida principalmente solo de carbohidratos (41). Se sabe que después de ingerir nuestra comida, los triglicéridos son fraccionados en ácidos grasos libres y monoacilgliceroles con la ayuda de lipasas intestinales y emulsificados con ácidos biliares para formar

micelas, las cuales son absorbidas por los enterocitos (39,41). El colesterol y los esteroides vegetales son transportados hacia dentro de las células intestinales por el transportador de esterol, Niemann-Pick C1 - like 1 protein (NPC1L1). Después los ácidos grasos libres y monoacilgliceroles, son reensamblados en triglicéridos dentro de los enterocitos, ahí junto con el colesterol y otros lípidos, son transportados hacia los tejidos periféricos en estructuras llamadas quilomicrones, una de las 7 clases de lipoproteínas de nuestro cuerpo. Las lipoproteínas son partículas que sirven para el transporte de los lípidos en nuestro organismo, su núcleo hidrofóbico está formado generalmente por ésteres de colesterol y triglicéridos, rodeados por una membrana hidrofílica compuesta de fosfolípidos y apolipoproteínas. Los quilomicrones son formados en el retículo endoplásmico de las células intestinales y contienen principalmente las apolipoproteínas B-48, C, E, A-I, A-II, A-IV, además de triglicéridos y ésteres de colesterol. En este proceso de formación de quilomicrones, la proteína de transferencia de triglicéridos microsomales (MTP), resulta crucial pues incorpora los lípidos a la Apo B-48. Cabe mencionar que el colesterol y los esteroides vegetales también pueden ser transportados de vuelta al lumen intestinal por el transportador de casete de unión a ATP G5 y G8 (ABCG5 y ABCG8), o efectivamente ser convertidos en ésteres de colesterol por la Acil-CoA colesterol acil transferasa (ACAT), la cual une un ácido graso a un esterol y de ahí es incorporado al quilomicron. En general, los quilomicrones son las lipoproteínas más grandes que tiene nuestro organismo, pero su tamaño varía dependiendo de la cantidad de lípidos que es ingerida en la dieta (42). En su circulación a los tejidos periféricos, principalmente músculos y tejido adiposo, los quilomicrones van cediendo triglicéridos para su utilización en la producción de energía o su almacenamiento, este proceso está mediado por la

lipoproteinlipasa, la cual es activada por la Apo C-II, llevada en los quilomicrones, hidrolizando los triglicéridos transportados por el quilomacrón y produciendo ácidos grasos libres que pueden ser tomados por las células musculares o adipocitos adyacentes. Conforme estas estructuras van perdiendo contenido de triglicéridos, va aumentando su contenido proporcional de colesterol, y adquieren mayor proporción de Apo E, para finalmente convertirse en remanentes de quilomacrón. Estos remanentes al haber sido reducidos en tamaño por la pérdida de los triglicéridos y ésteres de colesterol que transportaban, también pierden fosfolípidos y apolipoproteínas (Apo A y C) de su superficie, los cuales son transferidos a otras lipoproteínas, principalmente lipoproteínas de alta densidad (HDL). Debido a la pérdida de Apo C-II, los remanentes de quilomacrón no pueden ser captados por la lipoproteinlipasa para seguir el proceso de hidrolización de los triglicéridos que aún quedan adentro, por lo que son captados por los hepatocitos a través de sus receptores de LDL, así son retirados de circulación, para lo cual es crucial el papel de la Apo E, la cual se ve incrementada y es la que se une a los receptores de LDL. El colesterol sobrante en los remanentes de quilomacrón es captado por el hígado y es utilizado ya sea para la formación de otra lipoproteína llamada VLDL o secretado de vuelta al intestino en forma de bilis de donde se puede eliminar del organismo a través de las heces, aunque este proceso de eliminación es mínimo, acercándose tan solo a los 1,200 mg por día (43,44).

2.2.2 Metabolismo de los lípidos endógenos

Después de todos los procesos a través de los cuales nuestro organismo pone a disposición los lípidos provenientes de la dieta a los tejidos periféricos, los TG's y ésteres de colesterol captados y producidos por las células del hígado, son transferidos a una

recién sintetizada apolipoproteína (Apo B-100), este proceso ahora endógeno, se lleva a cabo en el retículo endoplásmico (principalmente de los hepatocitos), y también es mediado por la MTP (45). La nueva lipoproteína es llamada lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), y su síntesis depende principalmente de la disponibilidad de lípidos. Estos lípidos son principalmente TG's, y como ya se dijo pueden provenir de ácidos grasos libres resultantes de la lipólisis a nivel de tejido adiposo, de remanentes de otras lipoproteínas o ser sintetizados de novo en la lipogénesis (46). La función de estas lipoproteínas es análoga a los quilomicrones, e incluso hay una función competitiva con estos, por lo que niveles altos de quilomicrones pueden inhibir el aclaramiento de las VLDL's. La remoción de triglicéridos de las VLDL por parte de la LPL en los tejidos periféricos da lugar a las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y al igual que los remanentes de quilomicrones, tienen proporcionalmente más colesterol y son enriquecidas de Apo E que les son transferidas desde las HDL, y por lo mismo, también son captadas por las células hepáticas a través de los receptores de LDL. Una característica importante de las lipoproteínas IDL, es que solo el 50% aproximadamente (aunque varía) son retiradas de circulación, lo cual permite que los triglicéridos remanentes en estas partículas sean hidrolizados por la lipasa hepática, haciendo que el contenido de triglicéridos en estas lipoproteínas sea aún más bajo, surgiendo así las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las cuales contienen principalmente, ésteres de colesterol y Apo B-100 (47). Las LDL's pueden tener dos destinos posibles, ser captadas en el hígado o en los tejidos extrahepáticos. La cantidad de receptores de LDL está dado por los niveles de colesterol dentro de los hepatocitos, a menor nivel, proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBPs) inactivas, son transportados del retículo

endoplásmico al aparato de Golgi, donde proteasas se unen y escinden las SREBPs en factores de transcripción activos. Estos SREBPs activos se mueven al núcleo donde estimulan la transcripción del receptor de LDL y otros genes, entre ellos la HMG-CoA reductasa. Si los niveles de colesterol dentro de la célula son altos, las formas inactivas de SREBPs permanecen en el retículo endoplásmico y no se estimula la síntesis de los receptores de LDL, adicionalmente, el colesterol en la célula es oxidado y los esteres de colesterol oxidados activan LXR, un receptor hormonal nuclear que es un factor de transcripción de la E3 ubiquitin ligasa, esta última, “marca” a los receptores de LDL con ubiquitina para su degradación, finalmente, PCSK9 se une a los receptores de LDL y mejora la degradación de estos últimos en los lisosomas, teniendo como efecto una menor captación de LDL plasmático (48,49).

2.2.3 Transporte reverso del colesterol

Dado que la mayoría de las células del cuerpo humano no tienen mecanismos para catabolizar el colesterol, es necesario un transporte reverso para eliminar los excesos de este. Es aquí donde aparece en escena la lipoproteína de alta densidad (HDL). El primer paso para su formación es la síntesis de su proteína estructural, la Apo A-I, sintetizada mayormente en el hígado y el intestino. Una vez secretada, la Apo A-I adquiere colesterol y fosfolípidos tomados de los hepatocitos o los enterocitos, proceso facilitado por el Transportador de casete de unión a ATP A1 (ABCA1) (50). Posteriormente, estas partículas Apo A-I aún pobres en lípidos, adquieren más lípidos de otros tejidos y de otras lipoproteínas. Células de músculo, adipocitos y otros tejidos expresan ABCA1 para facilitar el proceso. Así mismo, la lipólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos resulta en

la transferencia de apolipoproteínas a las HDL. Estas partículas de HDL recién formadas, inician un proceso de maduración en el cual continua el flujo de colesterol desde las células periféricas hacia las partículas HDL's, esta vez mediado por ABCG1, y se esterifica el colesterol obtenido con ayuda de la enzima Lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT), la cual cataliza la transferencia de un ácido graso de un fosfolípido a una partícula de colesterol libre, dando como resultado un éster de colesterol hidrofóbico, moviéndose de la superficie al núcleo de la HDL (51). Se ha reportado que los niveles de ABCA1 y ABCG1 son incrementados por la activación de LXR, el cual es un factor de transcripción activado por oxisteroles, los cuales a su vez son aumentados en presencia de niveles de colesterol intracelulares altos. Adicionalmente, los mRNA's de ABCA1 y ABCG1 son blanco de miR-33, un micro ARN que está presente en el gen SREBP2. El incremento de los niveles de colesterol celular disminuye la expresión de SREBP2, lo cual hace que disminuya la presencia de miR-33, evitando la degradación de los mRNA's de ABCA1 y ABCG1 mejorando la expresión de ABCA1 y ABCG1 y aumentando el flujo de colesterol de la célula a la HDL, al mismo tiempo que disminuye el ingreso de colesterol plasmático al disminuir la expresión de los receptores de LDL (52). El proceso inverso es llevado a cabo cuando los niveles de colesterol decrecen, manteniendo la homeostasis celular del colesterol.

Los ésteres de colesterol llevados en el núcleo de las HDL's pueden ser intercambiados por triglicéridos de partículas con Apo B, estas transferencias son mediadas por la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) para después ser metabolizado en el hígado a través de los receptores LDL (53). Si se da un exceso de estas transferencias resultan HDL's enriquecidas en triglicéridos que son metabolizadas por

lipasas hepáticas, provocando HDL's pequeñas, que liberan la Apo A-I incrementando su degradación. Adicionalmente la lipasa endotelial hidroliza los fosfolípidos de estas HDL's. El efecto neto del incremento en la actividad de las lipasas hepáticas y endoteliales en presencia de partículas HDL enriquecidas de triglicéridos es una disminución del colesterol HDL. Continuando con el metabolismo lipídico, el colesterol contenido en las HDL's es principalmente depositado en el hígado por medio de SR-BI, la cual promueve la toma selectiva de colesterol HDL, sin la internalización de la partícula de HDL, al finalizar el proceso de transferencia, una partícula más chica y vacía de colesterol HDL es formada y puesta de nuevo en circulación para captar más colesterol de los tejidos periféricos (54). Cuando la Apo A-I queda libre de lípidos o con muy poco contenido de estos, es metabolizada por los riñones y los remanentes por el hígado. Ya depositado el colesterol en el hígado, hay diferentes rutas por las cuales el colesterol puede ser eliminado. Una de ellas es que el colesterol puede ser convertido en ácidos biliares y secretado en la bilis. Alternativamente el colesterol puede ser secretado directamente en la bilis a través de ABCG5 y ABCG8 (55). Como se puede ver, el transporte reverso del colesterol juega un importante rol en la protección del organismo en contra del desarrollo de aterosclerosis, sin embargo, debe hacerse notar que los niveles de HDL no son un indicativo inapelable del grado de transporte reverso que se está llevando a cabo en la realidad, pues están implicados diversos pasos que podrían hacer variar la eficiencia del transporte reverso del colesterol (42).

2.2.4 Obesidad, hígado graso y aterosclerosis.

El exceso de grasa en el organismo, especialmente cuando se acumula en la zona abdominal, está relacionado con el desarrollo de hígado graso. Se considera un hígado

sano cuando tiene niveles de 5 a 10% de grasa, cuando se exceden estos porcentajes se considera hígado graso (2). Estudios apuntan a una correlación positiva entre la acumulación de grasa en el hígado con la resistencia a la insulina (56). Una vez que el hígado comienza a mostrar resistencia a la insulina, pierde capacidad para regular su producción de VLDL y glucosa, debido a esto, aun cuando el páncreas segregue insulina, el hígado no detiene su producción de VLDL y glucosa y no se detiene la lipólisis del tejido graso, lo que causa hiperglucemia e hipertrigliceridemia, provocando un aumento en la segregación de insulina como mecanismo compensatorio generando hiperinsulinemia (57). Lo anterior explica por qué personas con hígado graso tienen mayores niveles plasmáticos de VLDL y TG. Lo anterior induce mayor transferencia de TG de las VLDL's hacia las HDL's, lo que hace a las HDL's mejor sustrato para las lipasas hepáticas, las cuales retiran a las HDL de circulación bajando sus niveles plasmáticos. Las VDL's también transfieren TG y esteroides de colesterol a las LDL's, haciendo que las lipasas hepáticas puedan captarlas para hidrolizar sus TG, pero por su naturaleza distinta a las HDL's, no las retira de circulación, solo las vuelve más chicas y densas. El resultado final es un decremento de las HDL's (moléculas consideradas antiaterogénicas) y la transformación de las LDL's a partículas más chicas y densas (volviéndose más aterogénicas) (58–60). Aunado a esto, se sabe que la hipercolesterolemia aumenta la cantidad de radicales libres en el organismo y disminuye la actividad del óxido nítrico (NO), provocando la pérdida progresiva de la función endotelial (61). La disfunción del endotelio, con la expresión de moléculas de adhesión en su superficie, es considerado el primer paso en el desarrollo de aterosclerosis (62). Este funcionamiento anormal del endotelio atrae a leucocitos y permite el paso de lipoproteínas, especialmente LDL's hacia

adentro de la íntima. Una vez ahí, estas lipoproteínas pueden sufrir diversos cambios, entre ellos, la oxidación de sus ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's). En una primera fase, esta oxidación produce dienos conjugados en los PUFA's por acción de especies reactivas de oxígeno, y el proceso es detenido momentáneamente, gracias a la presencia de antioxidantes endógenos dentro de la lipoproteína. Una vez agotados estos antioxidantes endógenos, se produce una segunda fase de propagación, en donde se desprende otro ion (H+) por un radical peroxilo (LOO) de otro PUFA, dando como resultado hidroperóxidos lipídicos y lisofosfolípidos. Después, se produce una fase de descomposición o degradación en donde se rompen los dobles enlaces formándose aldehídos como el malonaldehído, el 4-hidroxinoneal y el hexanal, los cuales pueden reaccionar con los grupos aminos de la Apo B-100. Finalmente, esta apolipoproteína sufre una escisión oxidativa que la fragmenta (63,64). Al mismo tiempo, el colesterol presente en las lipoproteínas también puede oxidarse a oxisteroles. Todos estos procesos de oxidación generan cambios estructurales en la parte proteica de la lipoproteína, aumentando su carga negativa. Para este momento, los receptores de LDL ya no reconocen a la lipoproteína y en cambio, es reconocida por receptores Scavenger de los macrófagos presentes en la íntima (65). Las LDL's oxidadas, no son degradadas adecuadamente en los lisosomas, lo que conduce un acumulamiento excesivo de colesterol en el citoplasma, que resultaría en la lisis celular. Como medida de defensa, el macrófago esterifica las moléculas de colesterol con ácidos grasos con la ayuda de la enzima colesterol acil transferasa, de esta manera, lo disuelve junto con los triglicéridos y fosfolípidos en las vacuolas, formándose así las células espumosas y la estría grasa (65,66). La oxidación de las LDL's dependerá de múltiples factores, como lo son la

presencia de antioxidantes endógenos (superóxido dismutasa, la glutathion reductasa o la paraoxanasa) y exógenos (Vitamina C, E, betacarotenos y polifenoles), además del tamaño y densidad de las LDL's, siendo más susceptibles las partículas más pequeñas y densas (67). Con el paso del tiempo, la placa aterosclerótica incrementará de tamaño atrayendo más macrófagos, LDL's y otras moléculas, provocando poco a poco la ruptura de la pared vascular, lo que a su vez atraerá más moléculas como las plaquetas en un intento de reparar la fisura provocada por dicha placa. A lo largo de todo este proceso se presentarán diversos problemas cardiovasculares, desde la reducción de la luz arterial, hasta los más graves como el infarto agudo de miocardio o infarto cerebral generado por un evento aterotrombótico (2).

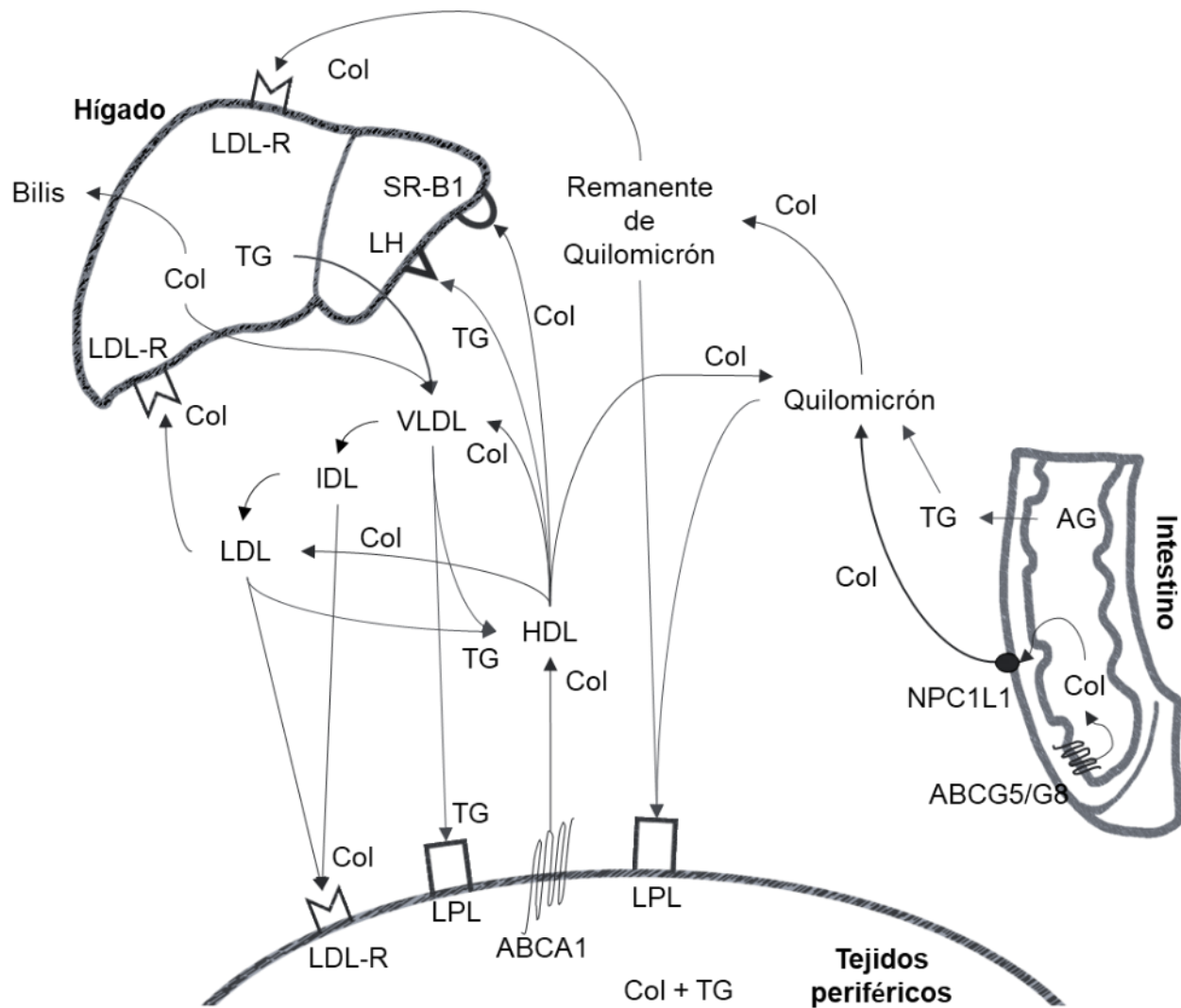


Figura 1. Principales interacciones en el metabolismo de lípidos. Fuente: Feingold KR & Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins (2000) (42).

2.2.5 Las estatinas como fármacos para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular

Actualmente, las estatinas son de los fármacos más usados en el tratamiento de hipercolesterolemia. Esto se debe a que son altamente efectivos en reducir los niveles en plasma del colesterol total y colesterol LDL, disminuyendo e incluso revirtiendo los daños ateromatosos (68). Las estatinas son poderosos inhibidores de la HMG-CoA reductasa, una enzima clave en la síntesis del colesterol endógeno, ya que esta enzima

convierte el β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMGCoA), en ácido mevalónico un precursor del colesterol (69). Esta inhibición de las estatinas es del tipo competitiva, ya que ocupan una parte del sitio de unión de la enzima HMG-CoA con su sustrato impidiendo la unión entre ellos (70). Debido a esta inhibición, los niveles de colesterol dentro de la célula descienden y provoca la activación de la proteasa que libera las SREBP's del retículo endoplásmico, permitiendo su traslocación en el núcleo celular, donde inducen un aumento en la expresión del receptor LDL (71,72). Consecuentemente, aumenta la captación de las LDL's y de sus precursoras, las IDL's y VDL's, haciendo que los niveles plasmáticos de los triglicéridos también desciendan (6). Debido a que el ácido mevalónico no solo es precursor del colesterol, sino también de varias moléculas isoprenoides, el efecto de las estatinas es pleiotrópico. Entre estos otros beneficios de las estatinas, está la inhibición de la adhesión de moléculas hidrofóbicas (grupos prenilo) a proteínas relacionadas con el estrés oxidativo y procesos inflamatorios, tales como las proteínas unidoras de GTP y proteínas G triméricas, provocando una acumulación de estas en sus formas inactivas en el citoplasma celular (73). Las proteínas unidoras de GTP, están acopladas a los receptores de citoquinas, mientras que la unión de leucocitos al endotelio es mediada por la proteína G, en suma, esto genera una menor respuesta inflamatoria y disminuye el proceso ateromatoso. Otra proteína inhibida por este mecanismo es la P21 Rac, la cual está implicada en la generación de superóxidos (6), la importancia de esto yace en que los super óxidos son radicales libres que pueden reaccionar con diversas moléculas del organismo, en este caso facilitando la oxidación de los ácidos grasos de las LDL's. Es ampliamente conocido que la presencia de LDL's oxidadas es un paso importante en la conformación de la placa de ateroma (62). Aunado a esto, las estatinas

inducen el aumento en la activación transcripcional del gen eNOS y la activación postraducciona de la proteína, aumentando la síntesis de óxido nítrico (NO), y mejorando la función endotelial. Como anotación final, se sabe que las estatinas como la atorvastatina también reducen el número de macrófagos en la íntima, la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y la activación de NFκB, todos factores que favorecen el proceso inflamatorio y aterosclerótico (6).

2.2.6 Genes implicados en el metabolismo lipídico

En todos los procesos descritos anteriormente, actúan diversos genes que dependiendo de las condiciones ambientales de la célula se ven sobreexpresados o inhibidos. Algunos favorecen el anabolismo de los lípidos como es el caso del HMGCR que promueve la síntesis de colesterol endógeno, mientras que otros genes promueven su catabolismo como LDLR, al promover la endocitosis celular de las partículas LDL's transportadoras de colesterol (74). También existen otros genes que tienen funciones difíciles de establecer como pro-lípidos o viceversa, pues pueden provocar ambos procesos anabólicos o catabólicos, como es el caso de FASN (75). A continuación, se presenta una tabla con los genes que se consideraron para su estudio y una breve descripción de sus funciones en el metabolismo lipídico.

Tabla 3. Genes relacionados en el metabolismo lipídico.

Símbolo oficial	Otros nombres	Nombre completo y descripción
<i>HMGCR</i>	LDLCQ3	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. Es un gen de codificación proteica. Su proteína asociada es la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa, la enzima que sintetiza el ácido mevalónico a partir del HMG CoA. Este es considerado como el paso limitante en la síntesis de colesterol, por lo que esta proteína es diana de fármacos

Símbolo oficial	Otros nombres	Nombre completo y descripción
		hipocolesterolémicos como las estatinas. Su expresión es inhibida por la internalización y degradación de LDL's a través de los receptores LDL.
FASN	FAS; OA-519; SDR27X1	(Ácido graso sintasa). La enzima codificada por este gen tiene varias funciones. Pero su función principal es catalizar la síntesis de palmitato a partir de acetil CoA y malonil CoA en presencia de NADPH. El ácido palmítico es el principal ácido graso saturado presente en el cuerpo humano.
LDLR	FH; FHC; FHCL1; LDLCQ2	(Receptor de lipoproteínas de baja densidad). Este gen codifica una proteína de superficie celular que actúa como receptor para la endocitosis de ligandos específicos como los de la LDL's. Estas lipoproteínas son degradadas en los lisosomas y provoca la inhibición de la HMG CoA reductasa, al tiempo que estimula la síntesis de ésteres de colesterol.
ABCG5	STSL; STSL2	(Casete de unión a ATP subfamilia G miembro 5). Gen codificante de proteína, la cual es parte de la superfamilia de transportadores de casete de unión a ATP (ABC). Estas proteínas están envueltas en proceso de transporte de moléculas a través de las membranas extracelulares o intracelulares. La proteína codificada por este gen funciona como un transportador que limita la absorción intestinal y promueve la excreción biliar de esteroides. Es expresada específicamente en hígado, intestino y colon.
PPARA	PPAR; NR1C1; hPPAR; PPARalpha	(Receptor del proliferador activado de peroxisoma alfa). Este gen codificante de proteína es un factor de transcripción y uno de los principales reguladores del metabolismo de lípidos en el hígado. Su nombre proviene de que promueve un aumento en el tamaño y número de peroxisoma. PPARA en su forma activa promueve el incremento en la expresión de genes implicados en el transporte, enlace y activación de ácidos grasos y la β oxidación de ácidos grasos en el peroxisoma y mitocondria.

Datos obtenidos de Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation, 2016. Nucleic Acids Res. (76).

2.3 Efecto de los hongos comestibles y medicinales en el metabolismo de lípidos

2.3.1 Nutrigenómica

Para entender cómo es que algunos alimentos pueden producir diversos efectos en nuestro organismo, es necesario conocer al menos de forma breve el concepto de nutrigenómica, la cual es una rama de la genómica nutricional, que estudia los mecanismos por los cuales algunas moléculas contenidas en los alimentos (o un conjunto de ellas), actúan como señales químicas para alterar la expresión del genoma de una persona, y de esta manera modificar la síntesis o conformación de las proteínas cambiando el funcionamiento de diversas rutas metabólicas (77). El proceso mediante el cual las células extraen la información contenida en las moléculas del ADN a través de la producción de moléculas de ácido ribonucleico (ARN), que posteriormente sirven como molde para la síntesis de proteínas en los mecanismos de transcripción y traducción, se le conoce como expresión génica (78,79).

En este sentido, un grupo de alimentos a los que se han atribuido propiedades funcionales importantes son los hongos comestibles y medicinales. Los hongos comestibles son una fuente importante de proteína (21.7-23.9%), niacina, magnesio, fosforo, zinc, y potasio. ya que una porción de 56 g de hongos proporciona más del 20% de la IDR (Ingestión Diaria Recomendada). Además, tienen un bajo contenido de grasas (3.2%) y contienen hidratos de carbono complejos, por lo que son una buena fuente de fibra soluble e insoluble y contienen un bajo índice glucémico. Las propiedades

funcionales de los hongos comestibles y medicinales se deben al contenido de compuestos bioactivos como son lectinas, polisacáridos de alto peso molecular (β -glucanos), heteroglucanos, proteoglucanos, polisacaropéptidos, glucoproteínas, terpenoides y proteínas fúngicas inmunomoduladoras (9). Estudios clínicos realizados en otros países, han demostrado que los hongos comestibles tienen una actividad antihiper glucemiante, además de que el substituir el consumo de carne por hongos comestibles durante un año en sujetos con obesidad, lleva a la mejora del perfil metabólico, incluyendo una reducción de peso, disminución de grasa corporal, disminución de circunferencia de cintura y normalización de presión arterial (80).

2.3.2 Propiedades bioactivas del huitlacoche (*Ustilago maydis*)

El hongo *Ustilago maydis*, también es conocido en México como el carbón del maíz común (*Zea mays*), huitlacoche, Caviar Azteca o trufa mexicana (81,82); es un patógeno que infecta específicamente a dos plantas, el maíz (*Zea mays*) y el teozintle (*Zea mayis ssp. parviglumis*), que da como resultado una enfermedad que se caracteriza por la formación de grandes tumores o agallas que se desarrollan en las mazorcas que han sido infectadas por este basidiomiceto (82). El consumo del huitlacoche se ha registrado desde la época prehispánica en la parte central de México (81,82). Actualmente, es una enfermedad tolerada y en ocasiones hasta promovida por los mismos productores de maíz de la región Centro-Sur de México, pues es consumido y vendido en algunos mercados regionales y enlatado por algunas empresas de alimentos. Su venta representa importantes ingresos económicos, pues su precio supera por mucho el precio del maíz en grano (82).

Varios estudios han revelado que el huitlacoche tiene un valor nutricional importante, entre los nutrimentos que aporta, cabe destacar el alto contenido en fibra (16-23.5 g/100g), proteínas (9.7-12.4 g/100g), y en aminoácidos esenciales, como la lisina, un aminoácido que es comúnmente deficiente en el maíz (83). Por otra parte, se han realizado estudios de contenido de glucanos totales, los cuáles indican que el huitlacoche puede tener un efecto prebiótico importante debido a que contiene 32.57% de β -glucanos y 9.86% de α -glucanos. La importancia diversificada en la salud de los β -glucanos de origen fúngico y vegetal ha sido ampliamente revisada. Las funciones de inmunomodulación, antidiabéticas, anticancerígenas y antiobesidad de este componente de la pared celular micelial se han validado en innumerables ensayos *in vitro*, *in vivo* y clínicos (81,84). Cabe recalcar que estos estudios han sido realizados utilizando otras especies de hongos comestibles y medicinales, y, puesto que en el huitlacoche han sido hallados estos compuestos, se cree que el consumo de este último puede tener los mismos efectos positivos, sin embargo, la literatura específica de la relación del huitlacoche y su efecto en la salud es laxa o inexistente.

También se ha informado de altos contenidos en ácido oleico y linoleico en el Huitlacoche (81). En el estudio de Maryam S. Farvid y colaboradores, la correlación directa entre un mayor consumo de ácido linoleico en la dieta y un menor riesgo de enfermedad coronaria está bien fundamentada (85).

2.3.3 Propiedades bioactivas de las setas (*Pleurotus ostreatus*)

Estudios han señalado que las setas contienen diversas propiedades benéficas para la salud, entre las más importantes podemos señalar efecto hipoglucémico, hipolipídico y

más específicamente un efecto hipocolesterolémico (86). La composición química de las setas es similar a otros hongos comestibles, conteniendo entre un 80-90% de humedad, por lo que de 100g de setas frescas se obtiene 10 g de producto seco, de los cuales 2.5 g corresponden a proteínas y cerca de 5 g a polisacáridos (87). Entre los componentes más relevantes de este hongo se encuentra la lovastatina, el cual es un principio activo que se usa en la actualidad para el manejo de la hipercolesterolemia, ya que tiene actividad inhibitoria en la HMG-CoA reductasa, que como ya se ha mencionado, es la enzima que regula el paso limitante en la producción de colesterol endógeno (87).

Otro de los compuestos importantes reportados en esta especie de hongo comestible es el ergosterol, un esteroide común no solo en *Pleurotus ostreatus*, sino también en otras especies de hongos (88,89), que según estudios, puede tener efectos hipocolesterolémicos, a través de dos mecanismos principales: el primero es obstaculizando la correcta absorción del colesterol exógeno en el intestino, al desplazar la molécula del colesterol en las micelas que se van formando en la digestión; y el segundo, es promoviendo la excreción del colesterol a través de la regulación de la expresión de genes relacionados con el metabolismo del colesterol en hígado (SREBP-2, LDL-R y CYP7A1)(88).

En el estudio realizado por Dong y colaboradores, se encontró que el consumo de polisacáridos de *Pleurotus ostreatus* aumentaba la actividad de adiponectina (la cual es una hormona que aumenta la sensibilidad a la insulina), incrementaba los niveles de colesterol HDL y disminuía los niveles de colesterol LDL, al tiempo que aumentaba notablemente la actividad de enzimas antioxidantes, dando un efecto hepatoprotector

(86). En otro estudio, Alam y colaboradores, demostraron que ratas que fueron alimentadas con una dieta hipercolesterolémica y con 5% de *Pleurotus ostreatus* en polvo añadido, vieron reducidos sus niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos 37% y 45% respectivamente en comparación con un grupo control hipercolesterolémico sin consumo de este mismo hongo, así mismo, el consumo de este hongo también redujo el peso corporal y aumentó la excreción fecal del colesterol en las ratas. Lo anterior se produjo sin afectar los niveles de bilirrubina, creatinina y nitrógeno ureico en plasma, descartando con esto efectos adversos en el hígado o riñones (90). En el estudio, el equipo de Alam propone dos mecanismos de acción para tratar de explicar los efectos observados. El primero consiste en la inhibición de la actividad de la HMG-CoA reductasa por parte de la Mevinolina, molécula encontrada ampliamente en este hongo y otros, disminuyendo la producción de colesterol endógeno. La mevinolina o más ampliamente conocida como Lovastatina, es un potente inhibidor competitivo de la HMG-CoA. De hecho, esta molécula es usada como uno de los principales fármacos para disminuir el colesterol en las personas. El segundo mecanismo de acción que proponen es que sustancias de los cuerpos fructíferos del hongo solubles en agua, tales como β -3-D-glucano, forman un gel que se une a los ácidos biliares, inhibiendo la formación de las micelas de bilis-colesterol, inhabilitando a su vez la reabsorción del colesterol (90). En el caso de estudios clínicos los resultados en la salud varían por lo que se necesita más investigación al respecto, aunque si cabe recalcar que en ningún estudio se encontró algún efecto adverso (87).

2.3.4 Propiedades bioactivas de *Ganoderma lucidum*

El *Ganoderma lucidum*, es un hongo que ha sido estudiado por múltiples equipos de investigación alrededor del mundo. Se ha documentado su actividad hipoglicemiante e

hipolipídica, aunque los mecanismos mediante los cuales ejerce estos efectos aún no han sido despejados totalmente. Estudios señalan que *G. lucidum* contiene compuestos como los β -glucanos que inhiben la síntesis de triglicéridos, que interfieren en la adecuada absorción de lípidos en la dieta y que modifican la microbiota, lo que, a su vez, modifica los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, así como los de glucosa (91). También se ha comprobado que el consumo de extractos de este hongo modifica la expresión génica de genes proinflamatorios y relacionados en la producción de lípidos endógenos (41,91).

Otro de los efectos benéficos de este hongo es en la composición de la microbiota intestinal de los individuos y que través de esta modulación ejerce sus efectos hipolipídicos. En un estudio realizado en ratones C57BL/6 por Chang y colaboradores, se demostró que el consumo de extractos acuosos de *Ganoderma lucidum* mientras se les administraba una dieta alta en grasa, redujo el peso corporal, la inflamación, la endotoxemia y la resistencia a la insulina de los ratones en comparación a un grupo que solo consumía una dieta alta en grasa, además de modificar la composición de la microbiota intestinal (91). Estos resultados fueron dependientes de la dosis de extracto de *G. lucidum*, de tal manera que, a mayor dosis mayor efecto y se propone como mecanismo de acción, que la microbiota induce la regulación en la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico, de carbohidratos y moléculas antioxidantes en el organismo de los ratones. Además, demostraron que al hacer trasplantes de la microbiota de ratones que habían consumido el extracto de *Ganoderma lucidum* a ratones obesos que no lo consumían, se revertía el daño ocasionado por las comorbilidades asociadas a la obesidad. En este mismo estudio, para tratar de identificar

los compuestos responsables de los cambios observados, dividieron el extracto acuoso de *Ganoderma lucidum*, en base a su peso molecular, descubriendo que la fracción del extracto con un peso molecular mayor a 300 kDa, era la principal responsable de los efectos benéficos en la microbiota de los ratones y sus efectos positivos en su salud. Esto hizo pensar al equipo de investigación, que los efectos benéficos de *Ganoderma lucidum*, se deben a los polisacáridos de alto peso molecular, actuando como un potente prebiótico (91). Por otra parte, Meneses *et al* (92), concluyeron, de manera consistente con el estudio anterior, que el consumo de los extractos de una especie mexicana de *Ganoderma lucidum* tienen efectos hipocolesterolemiantes y prebióticos en un modelo animal de hipercolesterolemia. En el estudio, se observó que los extractos disminuyeron la expresión de genes lipogénicos (SREBP-1, FASN, ACACA) y modificaron la expresión de genes asociados al transporte reverso de colesterol (ABCG5, ABCG8, ABCA1, CYP7). La síntesis endógena de colesterol se vio disminuida, al reducir la expresión del gen HMG-CoA y la modificación en los genes LDL-r y SREBP-2. Se observó una disminución en la concentración de colesterol y triglicéridos tanto en plasma como en tejido hepático, de una manera similar a un grupo al que se le administro en la dieta el fármaco simvastatina. Debido a que *G. lucidum* es una buena fuente de β -glucanos, se señala que esto hizo que el grupo que consumió los extractos de *G. lucidum* disminuyera la disbiosis intestinal ocasionada por el estado de hipercolesterolemia, favoreciendo la abundancia de especies benéficas como *Lactobacillus reuteri*, que se ha asociado a una actividad hipolipemiente (92), apuntando nuevamente a que gran parte de estos resultados benéficos, son inducidos por la microbiota. Finalmente en estudios clínicos,

también se ha observado que la suplementación en la dieta con *Ganoderma lucidum* mejora los parámetros lipídicos en pacientes con hiperlipidemia e hipertensión (93).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Nuestro país se encuentra en una crisis de salud causada por una elevada incidencia del sobrepeso y obesidad, 7 de cada 10 adultos (75.2% del total de la población adulta) presentan exceso de peso, lo que representa 91 millones de personas aproximadamente (26,28). Nuestro sistema de salud se encuentra saturado y no da cobertura al total de la población afectada, por lo que se hace necesario adoptar estrategias nuevas para afrontar el problema. En 2016 se estimó que las ECV representaron el 20% del total de muertes en adultos. Las causas de muerte incluyen enfermedad isquémica del corazón, enfermedades cerebrovasculares, hipertensivas, entre otras (INEGI, 2016). Debido a que este es un problema multifactorial, en donde inciden agentes sociales, económicos y por supuestos fisiológicos, se hace necesaria la implementación de soluciones interdisciplinarias, de esta manera se hace patente la importancia de tomar en cuenta los recursos naturales con los que cuenta nuestro país, de tal forma que la solución sea cercana a la población para que esta pueda ser adoptada con facilidad. Es por ello que nuestro interés está en investigar tres hongos de variedades mexicanas a las que comúnmente se les ha asociado con tener efectos hipocolesterolémicos y antiateroscleróticos en sus contrapartes de otros países según el caso: *Ustilago maydis*, *Pleorotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*.

Algunos de los planteamientos son: ¿Cuál es el efecto del consumo de estos hongos sobre la prevención de obesidad y el metabolismo lipídico en ratas Wistar? ¿Cuál es la relación entre su composición y los efectos encontrados? ¿Pueden realmente ser considerados como alimentos funcionales? ¿Representan una alternativa a los tratamientos con estatinas?

IV. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la información científica que trate sobre la relación de los hongos comestibles y medicinales mexicanos, con el metabolismo lipídico es escasa. Quizá esto se debe en parte a que la investigación realizada en nuestro país referente a los hongos se ha centrado más en desarrollar métodos de cultivo y conservación para su comercialización, que en los efectos de estos en el metabolismo y de sus posibles propiedades funcionales. Esto hace necesario realizar estudios bajo el método científico que confirmen o descarten su uso terapéutico y preventivo en enfermedades relacionadas con dislipidemias. Siendo más específicos, existen muy pocos estudios de nutrigenómica y propuestas de mecanismos de acción de los efectos de los hongos mexicanos en la obesidad y el metabolismo de lípidos, y en el caso de *Ustilago maydis*, al ser prácticamente consumido solo en México, la información es más escasa. Con este estudio se pretende promover el consumo de los hongos mexicanos, parte de la dieta tradicional mexicana, mediante evidencia científica que soporte sus beneficios a la salud.

En primer lugar, tenemos a *Ustilago maydis*, comúnmente llamado huitlacoche, el cual es un hongo consumido desde tiempos inmemoriales en México. El hecho de que este hongo haya sido incluso considerado como plaga en países desarrollados, destaca lo subestimado que ha sido este recurso y el gran potencial que guarda su investigación y explotación, ya que, al mismo tiempo es considerado como un gran manjar en nuestro país, convirtiéndolo no solo en una posible fuente de salud, sino como un motor económico para las regiones donde se cultiva. Así mismo, el consumo del hongo *Pleurotus ostreatus*, también conocido como Setas, es muy frecuente entre la población mexicana, por lo que constituye otro gran recurso por explotar. Es bien sabido su gran

valor nutricional y sus efectos hipolipídicos entre la población, por lo que es un candidato formidable para ser considerado como un alimento funcional con la evidencia científica que lo soporte; por último, el hongo medicinal *Ganoderma lucidum*, ha sido objeto de diversos estudios que están demostrando su efecto benéfico en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, solo que la mayoría de los estudios, se han hecho en variedades del hongo cultivadas en Asia. Actualmente en nuestro país, existen productos comerciales a base de *Ganoderma lucidum*, atribuyéndoles diversos efectos benéficos para la salud al ser consumidos regularmente. Lo anterior sin especificar las condiciones de cultivo, ni análisis bromatológicos al respecto, por lo que se hace patente la necesidad de soportar dichos beneficios con estudios hechos en variedades mexicanas. Al realizar este trabajo se espera generar un punto de referencia para medir el efecto de los hongos comestibles y medicinales mexicanos sobre las dislipidemias, y comprobar si pueden fungir como alimentos funcionales que mejoren la salud de las personas con sobrepeso u obesidad al interferir en el metabolismo lipídico.

V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5.1 Hipótesis

La suplementación con los hongos *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, tendrá un efecto positivo en el metabolismo lipídico, disminuyendo los parámetros sanguíneos de lípidos y modificando la expresión de genes asociados al metabolismo lipídico en hígado en un modelo animal de obesidad.

5.2 Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo de *Ustilago maydis* (huitlacoche), *Pleurotus ostreatus* (setas) y *Ganoderma lucidum* sobre el metabolismo de lípidos en un modelo de obesidad inducido por dieta en ratas Wistar.

5.3 Objetivos específicos

1. Analizar el efecto del consumo de *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* sobre la ingesta, el incremento de peso y composición corporal en ratas Wistar.
2. Estudiar el efecto del consumo de *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* sobre parámetros del suero sanguíneo (glucosa, triglicéridos, HDL-c, LDL-c, colesterol total, insulina, transaminasas, urea, creatinina, albúmina) de ratas Wistar.
3. Determinar el efecto del consumo de *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* en el VO₂ y coeficiente RER de ratas Wistar.
4. Conocer el efecto del consumo de *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* sobre la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico (HMGCR, LDLR, FAS, ABCG5 y PPARA) en ratas Wistar.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño experimental

6.1.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho del bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) de entre 6-7 semanas de edad con un peso promedio de 250 g. Las ratas se mantuvieron en cajas de plástico con aserrín estéril como sustrato, a una temperatura promedio de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa de 45-55% y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Se separaron en 6 grupos de forma aleatoria y se alimentaron *ad libitum* con el tratamiento correspondiente durante 6 meses. La dieta control se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la American Institute Nutrition (AIN-93), mientras que los animales a los que se les indujo obesidad se les alimentó con una dieta alta en grasa, a base de manteca de cerdo y sacarosa al 10% en el agua de bebida. Dichos animales se mantuvieron en cajas de plástico con cubiertas de acero inoxidable y fondo de aserrín estéril. Para la ingesta de agua se utilizaron botellas de vidrio con tapones de polietileno y tubos de bebedero de metal.

6.1.2 Dietas

Las dietas se formularon siguiendo las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición. El Instituto Americano de Nutrición formó un comité ad hoc para determinar las normas dietéticas que deben seguir los estudios nutricionales con roedores. Así, a partir de la necesidad de una formulación de dietas con las medidas nutricionalmente adecuadas surgió la dieta control AIN-93, que es utilizada para estandarizar los estudios entre laboratorios, existiendo dos variantes: una para la etapa de crecimiento (AIN93G) y otra para el resto del ciclo de vida de los roedores (AIN93M). Esta última variante es la

que se utilizó como dieta control para el desarrollo de este estudio. La dieta alta en grasa (HFD) por otro lado fue enriquecida con 14% de manteca de cerdo y con 4% de aceite de soya. La constitución de las dietas usadas en este estudio se detalla a continuación:

Grupo Control: dieta AIN-93M

Grupo HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa

Grupo HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa

Grupo HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa

Grupo HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa

Grupo HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa

Tabla 4. Formulación de las dietas AIN-93M y HFD

Ingrediente	AIN-93M (g/Kg)	HFD (g/Kg)
Cistina	1.8	3
Colina	2.5	7.8
Vitaminas	10	10
Celulosa	50	50
Minerales	35	35
Aceite de soya	40	70
Almidón	465.7	239
Dextrina	155	102.7

Ingrediente	AIN-93M (g/Kg)	HFD (g/Kg)
Sacarosa	100	77.8
Caseína	140	240
Manteca de cerdo	0	170
Colesterol	0	2.5

Los datos para la dieta AIN-93G fueron tomados de las especificaciones señaladas por Reeves, 1997 (94), y la dieta HFD es una adaptación de la dieta usada por Sánchez-Tapia y colaboradores, 2017 (95). Las dietas HFD con la adición de *U. maydis*, *P. ostreatus* y *G. lucidum* fueron ajustadas para tener la misma composición en hidratos de carbono y proteínas que la dieta HFD.

6.1.3 Análisis composicional de las muestras de hongos usadas en la elaboración de las dietas experimentales

Para la determinación de la composición bromatológica de las muestras de los hongos utilizados, se empaquetaron 100 g de muestra deshidratada de cada hongo por separado en bolsas herméticas, y se enviaron al laboratorio de Química y Análisis de Alimentos del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Universidad Autónoma de México para su análisis con métodos certificados.

6.1.4 Bioética en el manejo de animales de laboratorio

Para la realización del presente proyecto, el protocolo fue sometido a la revisión del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del INCMNSZ, aprobándolo con el folio: FNU-1937-19/19-1.

6.2 Determinación de la curva de crecimiento e ingesta de los animales de experimentación

Se registraron los pesos de las ratas dos veces a la semana para realizar la curva de crecimiento y calcular la ganancia de peso. La ingesta de alimento en gramos de los animales se registró diariamente y el volumen (ml) de agua simple (grupo control) o adicionada con el 10% de sacarosa (grupos HFD), se midió dos veces a la semana utilizando una báscula modelo LEQ 10/20 (Torrey, Nuevo León, México). A partir de estos datos se calculó la ingesta calórica, considerando la composición de la dieta, y que cada gramo de carbohidratos o proteína equivale a 4 Kcal, mientras que un gramo de grasa representa 9 Kcal.

6.3 Análisis de composición corporal

Se evaluó cada 30 días la composición corporal de los animales (masa magra y masa grasa) por medio de un analizador de composición corporal EchoMRI™ 4-in-1-500 (Echo MRI, Houston, EE. UU.), el cual utiliza tecnología de resonancia magnética cuantitativa (QMR). El procedimiento no requiere de consideraciones especiales y se procede a registrar de manera mensual el porcentaje de grasa corporal, masa magra, contenido de agua libre y total de cada una de las unidades experimentales.

6.4 Determinaciones bioquímicas séricas

Después del término del estudio (6 meses), se realizó la eutanasia de los animales, en la cual se utilizó un agente inhalatorio (sevoflurano al 3%). Para su administración, se procedió a introducir a las ratas en una cámara con el anestésico. El agente seleccionado es un poderoso anestésico en roedores que no produce estrés ni convulsiones previas a

la inconsciencia. En cualquier caso, la muerte fue confirmada. Las muestras de sangre de los roedores se obtuvieron durante la eutanasia vía la vena porta, utilizando tubos con tapa roja específicos para química sanguínea, posteriormente, se centrifugaron a una velocidad de 3000 rpm por 10 minutos y se separó el suero o plasma, el cual se almacenó a una temperatura de - 80° hasta su análisis.

Las concentraciones en suero de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL, glucosa, creatinina, albúmina, proteína C reactiva, transaminasas (ALT, AST), se midió por métodos enzimáticos utilizando un equipo Cobas c111 de la marca Roche (Hoffmann-La Roche, Basilea, Suiza).

6.5 Prueba de tolerancia oral a la glucosa

Para realizar esta prueba las ratas se dejaron en ayuno por 12 horas durante la noche. Se realizó un pequeño corte en la cola de cada uno de los animales para tomar una muestra de sangre y cuantificar el nivel basal de glucosa. Posteriormente las pruebas de tolerancia oral a la glucosa se realizaron con soluciones individuales a una concentración de 2 g de glucosa por kg de peso de cada animal, las cuales fueron administradas intraperitonealmente. Se cuantificó la glucosa sanguínea a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos posteriores a la administración. Con los valores de los niveles de glucosa se determinó el área bajo la curva por el método de los trapezoides.

6.6 Determinación de la actividad antioxidante total sérica

Para la medición de este parámetro se utilizó el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, conocido por sus siglas en inglés como ORAC. Este método utiliza una molécula llamada fluoresceína, la cual emite una fluorescencia que puede ser medida

mediante un fluorímetro. Dicha molécula al entrar en contacto con agentes oxidantes como los radicales libres, sufre una degradación oxidativa y pierde fluorescencia. Si consideramos que la presencia de antioxidantes en el área circundante evita esta oxidación, podemos determinar la capacidad antioxidante de una sustancia al mezclarla con fluoresceína y un agente oxidante como 2,2'-azobis (2-metilpropionamida) (AAPH) monitoreando la pérdida de fluorescencia a través de un tiempo determinado. Finalmente, para obtener resultados cuantitativos, es necesario realizar una curva estándar con un antioxidante de referencia como el Trolox (análogo de la vitamina E), y extrapolar los valores obtenidos de nuestras muestras usando la ecuación de regresión lineal resultante.

La realización de este ensayo en particular se describe a continuación. Se preparó un buffer de fosfatos a una concentración de 75 mM y un pH de 7.4. Luego, empleando este buffer de fosfatos como diluyente, se preparó el AAPH a 153 mM y se hicieron diluciones seriadas de fluoresceína hasta llegar a una concentración 40 nM. Luego, en cada pozo de una placa negra de 96 pozos (marca Corning Costar), se agregó 25 μ L de muestra de suero, 150 μ L de fluoresceína y 25 μ L de AAPH. Finalmente se programó el espectrofluorómetro Biotek Sinergy HT (Biotek, Winooski, VA, Estados Unidos), para una lectura de la fluorescencia a longitudes de onda de 485 nm y de emisión de 520 nm durante 90 min.

6.7 Determinación del gasto energético y coeficiente respiratorio

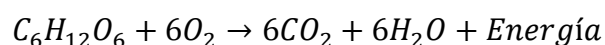
El consumo de oxígeno (VO_2) puede traducirse en gasto energético, ya que a mayor consumo de energía mayores respuestas cardiorrespiratorias. El gasto energético, la

producción de dióxido de carbono (VCO_2), y el coeficiente de intercambio respiratorio (RER) se determinaron a través de calorimetría indirecta, mediante el uso del equipo Oxymax-CLAMBS Lab Animal Monitoring System (Columbus Instruments, Columbus, OH, EUA). Se colocaron a los animales en jaulas individuales cerradas herméticamente y conectadas a un sistema de flujo de aire con 12 horas de aclimatación, se evaluaron los parámetros durante el período de ayuno y postprandial, repitiendo la medición cada 22 minutos. El RER fue calculado como la relación entre el VCO_2 respecto a VO_2 .

$$RER = \frac{VCO_2}{VO_2}$$

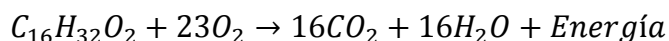
Con este parámetro se determinó el sustrato que los animales estaban oxidando como fuente primaria para poder evaluar el proceso de flexibilidad metabólica:

- Carbohidrato (glucosa)



$$RER = \frac{6CO_2}{6O_2} = 1.00$$

- Lípidos (ácido palmítico)



$$RER = \frac{16CO_2}{23O_2} = 0.70$$

De lo anterior, podemos inferir que coeficientes respiratorios más cercanos a 1.00 indicarían la utilización principalmente de carbohidratos y valores más cercanos a 0.70

de lípidos. Por lo que, en condiciones normales de flexibilidad metabólica, se esperaría que en estado de ayuno, cuando el organismo hace uso de sus reservas energéticas (las cuales son principalmente lípidos), los valores de RER sean cercanos a 0.70 y en estado postprandial (ya con glucosa presente en el organismo proveniente de los alimentos) a 1.00.

6.8 Histología de hígado

Se tomaron muestras de tejido hepático y se fijaron en formol-fosfato, para después incluirlos en bloques de parafina. Para ello las muestras se deshidrataron en baños sucesivos de soluciones con concentración creciente de alcohol etílico de la siguiente manera:

- 1) Etanol al 50%, 40 min.
- 2) Etanol al 60%, 40 min.
- 3) Etanol al 70%, 40 min.
- 4) Etanol al 80%, 40 min.
- 5) Etanol al 96%, 40 min.
- 6) Etanol al 100%, 40 min.

Una vez que las muestras se embebieron totalmente en alcohol etílico absoluto, se procedió a la diafanización ya que la parafina no es soluble en alcohol. La diafanización de los tejidos deshidratados se debe a que estas sustancias poseen un alto índice de refracción y al interactuar con el tejido lo vuelve transparente. El procedimiento de diafanización de las muestras se realizó haciendo baños de la siguiente manera:

- 1) Etanol 50% - Xilol 50%, 40 min.

- 2) Xilol 100%, 40 min.
- 3) Xilol 100%, 40 min.
- 4) Xilol 100%, 40 min.

Para poder realizar los cortes, las muestras se incluyeron en parafina. La inclusión de parafina se efectuó sumergiendo las muestras en tres baños de parafina a 65° por 40 minutos cada uno, después de embeber las muestras completamente en parafina, las muestras se dejaron secar por un día. Posteriormente las muestras fueron incluidas en bloques de parafina, para ello fueron cambiadas de los casetes de plástico a moldes de metal, cuidando de orientar adecuadamente las muestras al momento de incluir para facilitar los cortes. Durante la inclusión el molde elegido se llenó con parafina caliente pura; con una pinza calentada se tomó una pieza de tejido y se orientó al interior del molde, una vez que la parafina empezó a solidificarse los moldes se dejaron enfriar de inmediato para que la parafina se solidificara de manera homogénea. Una vez obtenidos los bloques de parafina, se realizaron cortes con un grosor de 4 micras para tejido hepático de manera seriada. Las secciones se extendieron en un baño maría y se recogieron adhiriéndolos a un portaobjetos. Sobre dichas laminillas se realizaron tinciones de hematoxilina-eosina que finalmente se montaron y observaron al microscopio (Leica DM750 Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania), los cortes se fotografiaron con una cámara digital (Leica DMC2900 Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania), y se procesaron con el software de imágenes Leica LAS Core V4.5 (Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania).

Adicionalmente se realizaron tinciones de rojo oleoso a otras muestras de tejido hepático. Para ello, se hicieron cortes de tejido fresco a las cuales se les añadió medio de inclusión para muestras de tejido congelado marca Sakura®, de tal manera de cubrir todo el tejido y posteriormente fue puesto a congelación a -24°C , lo anterior para asegurar una temperatura de corte óptima. Una vez congeladas las muestras, se realizaron cortes de 3 micras de grosor con ayuda de un criostato Leica CM3050 S (Leica Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania), los cuales fueron fijados en portaobjetos cargados positivamente. Una vez puestos los cortes en portaobjetos, se procedió a realizar el siguiente procedimiento: Previo a la tinción, cada muestra se lavó en agua destilada en baños cortos para quitar impurezas, después se sumergieron en el colorante de rojo oleoso por 10 minutos para teñir los lípidos presentes, se lavaron de nuevo con agua y se procedió a sumergirlo en Hematoxilina de Harris por 2 minutos, en esta ocasión para teñir la membrana nuclear, después se volvió a lavar con agua una vez más y se sumergieron en carbonato de litio en 5 baños breves, y finalmente se lavaron con agua otra vez. Los cortes ya teñidos se protegieron con un cubreobjetos utilizando un medio de montaje acuoso. Los cortes montados, al igual que en la técnica de tinción de hematoxilina-eosina, se observaron al microscopio (Leica DM750 Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania), se fotografiaron con una cámara digital (Leica DMC2900, Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania), y se procesaron con el software de imágenes Leica LAS Core V4.5 (Microsystems Inc., Wetzlar, Alemania).

6.9 Análisis de expresión génica

6.9.1 Extracción de RNA

Se extrajo el RNA_{total} de las muestras de hígado de las ratas utilizando el reactivo TRIzol de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen, Carlsbad, CA). Se colocaron 250 mg de tejido en un tubo para homogeneizar en un Tissue Lyser (Quiagen, Hilden, Alemania) con 1 ml de trizol y un balín, se dejó que se mezclara e incubara por 5 min a temperatura ambiente, se centrifugó a 14,000 rpm por 10 min a 4°C, se extrajo la fase superior y se adicionaron 200 µl de cloroformo, se sometió a vortex y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm por 15 minutos a 4°C y se transferieron 500 µl de sobrenadante a un nuevo tubo, se adicionaron 500 µl de isopropanol, se homogeneizó y se dejó por 4 horas a 4°C para su precipitación. Posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm por 15 min a 4°C y se desechó el sobrenadante por inversión. Para lavar el producto se agregó 1 ml de etanol frío al 75% y se sometió a vortex para despegar la pastilla formada. Se centrifugó a 14 000 rpm por 10 min a 4°C y se eliminó el etanol por inversión. Se dejó el tubo abierto aproximadamente 30 min a temperatura ambiente para evaporar el etanol y se resuspendió el producto (RNA) en 100 µl de agua estéril libre de nucleasas y se cuantificó usando el espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware, EE. UU.) evaluando pureza por el ratio 260/280 nm y contaminación por solvente con el ratio 260/230 nm. Para evaluar la integridad del RNA se analizó 5 µl de RNA por electroforesis capilar de acuerdo con el protocolo para QIAxcel Advanced System. Hilden, Alemania.

6.9.2 Cuantificación relativa por PCR en tiempo real

La determinación de los niveles de expresión de mRNA de los genes involucrados en el metabolismo de lípidos en hígado: HMGCR, FASN, LDLR, ABCG5 Y PPARA se realizó por PCR cuantitativo en tiempo real. A partir de 3000 ng de RNA se sintetizó el cDNA utilizando la enzima transcriptasa inversa M-MLV y oligo (dT) 12-18 cebador (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.) en un MyCycler cycler térmica (BIO-RAD) durante 60 min a 42 ° C y 5 min a 95 ° C. La amplificación por PCR se realizó en un termociclador Roche LightCycler 480 II (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania) utilizando las sondas TaqMan® Rn 00565598_m1 (HMGCR), Rn 00569117_m1 (FASN), Rn 00598438_m1 (LDLR), Rn01499073_m1 (ABCG5) y Rn 0566193_m1 (PPARA) (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.).

Se realizaron rangos dinámicos para estandarizar la concentración de cDNA óptima. La fluorescencia se detectó en el equipo LightCycler® 480 Instrument (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania, Operator's Manual Software Version 1.5).

El nivel de expresión para cada gen se determinó por triplicado en placas de 96 pozos ópticos LightCycler® 480 Multiwell Plates 96/384 clear (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania), utilizando a beta actina como gen constitutivo, sonda Taqman® Rn00667869_m1 (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.). El esquema de amplificación de PCR utilizado fue una fase de incubación de 95°C durante 10 segundos por 1 ciclo, amplificación a 95°C durante 35 segundos por 55 ciclos seguido por una fase

de enfriamiento de un ciclo de 1 minuto a 40°C. Se realizó el cálculo de la $\Delta\Delta CT$ para estimar el valor de la expresión de cada gen de interés.

6.10 Análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de todas las variables para conocer la distribución utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Se realizaron pruebas de ANOVA de una vía para detectar diferencias entre grupos. En los casos en que se encontraron diferencias significativas se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de media por el método de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos los análisis y gráficos se realizaron con el software GraphPad Prism v6.0c (GraphPad, California, EE. UU.).

VII. RESULTADOS

7.1 Composición bromatológica de las muestras de hongos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales

A continuación, se muestra el análisis químico proximal reportado por el Laboratorio de Química y Análisis de Alimentos del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Universidad Autónoma de México.

Tabla 5. Análisis químico proximal de los hongos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales.

Muestras	<i>Ganoderma lucidum</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Ustilago maydis</i>
Componente	Resultado (por cada 100g de muestra)		
Humedad (g)	12.05	8.89	7.83
Cenizas (g)	1.12	4.23	4.29
Grasa (g) (extracto etéreo)	5.14	2.94	3.15
Proteína (g)	11.76	26.96	11.39
Fibra dietética (g)	55.41	24.52	13.07
Carbohidratos digeribles totales (g)	14.52	32.56	60.27

La tabla muestra los resultados que son promedio de 3 repeticiones con un coeficiente de variación menor al 5%.

7.2 Curva de ganancia de peso en ratas Wistar.

Los pesos recolectados de las ratas Wistar durante los 6 meses de tratamiento, se muestran en la Figura 2A. Se observa claramente que el grupo con mayor peso promedio

fue HF+S, y consecuentemente, este grupo de ratas también produjo la mayor ganancia de peso (468.83 g), 45.34% más que el control, con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$). Mientras que los grupos con Atorvastatina (HF+S+At), *Ustilago maydis* (HF+S+Um) y *Ganoderma lucidum* (HF+S+Gl) a pesar de que consumieron una dieta alta en grasa y carbohidratos tuvieron una ganancia de peso final de 379.86, 375.86 y 374.71 g respectivamente, valores significativamente menores al grupo HF+S, y sin diferencia significativa del grupo control (Figura 2B). De manera interesante, el grupo que consumió *Pleurotus ostreatus* con una dieta alta en grasa (HF+S+Po) además de tener una ganancia de peso menor (320.71 g) que el grupo HF+S de manera significativa, también incrementó menor peso que el grupo Control (322.57 g), (Figura 2B).

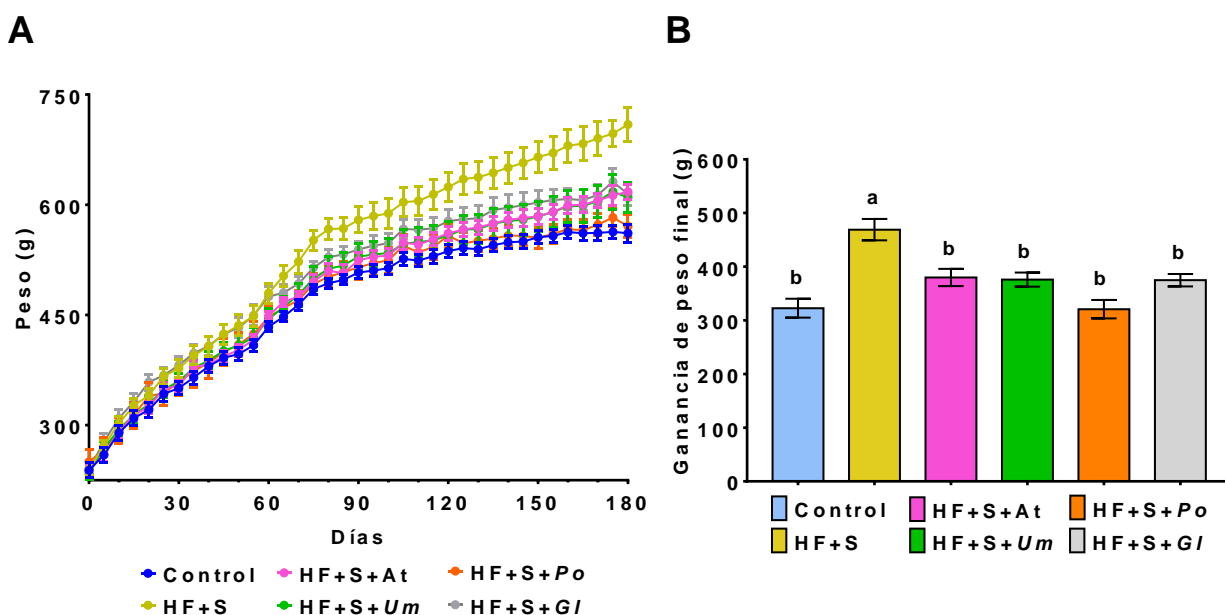


Figura 2. Peso y Ganancia de peso de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A)

Evolución del peso de los grupos experimentales durante 6 meses de tratamiento. B) Ganancia de peso final de los grupos experimentales al término de los 6 meses de tratamiento. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (a>b), $p < 0.0001$; n=7

7.3 Ingesta calórica

Respecto al consumo de las dietas, se encontró que las ratas del grupo Control tuvieron la menor ingesta calórica, siendo diferentes estadísticamente de los demás grupos a excepción de HF+S. Como se puede observar en la Figura 3, los grupos que tuvieron una ingesta estadísticamente mayor no fueron los grupos que ganaron más peso corporal. Interesantemente, los grupos Control y HF+S+Um no se diferencian estadísticamente de las ratas del grupo HF+S, pero si se diferenciaron en la ganancia del peso, siendo que el resto de los grupos reportaron ingestas mayores respecto a dicha tríada, lo que descarta que esta variable haya jugado un papel significativo en las variaciones del peso, y que se deba más bien, al tipo de fuente de energía suministrado.

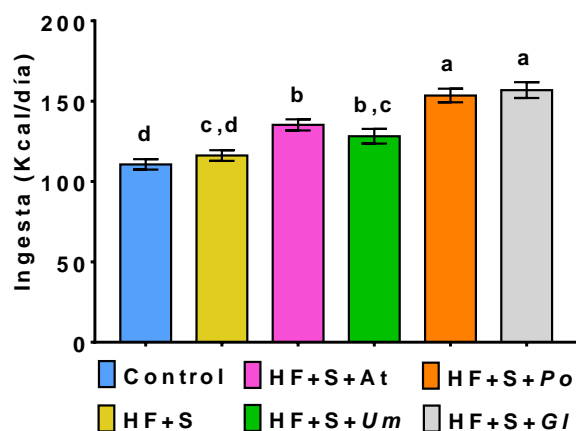


Figura 3. Ingesta calórica por día de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago*

maydis + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (a>b), $p < 0.0001$; n=7.

7.4 Composición corporal

De las mediciones obtenidas por medio de resonancia magnética cuantitativa, realizadas a las ratas Wistar de los diferentes grupos experimentales cada 30 días, durante los 6 meses de tratamiento (Figura 4), se encontró que el grupo con mayor masa grasa final fue HF+S (31.88%), seguido en orden decreciente por HF+S+At (25.27%), HF+S+Um (25.09%), HF+S+Gl (25.45%), control (20.93%) y HF+S+Po (18.49%), por lo que el grupo HF+S tuvo un 10.95% más de masa grasa corporal final respecto al grupo control siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$). Por otro lado, los grupos que consumieron una dieta HF+S+At y HF+S+Um tuvieron ganancias de masa grasa similares respecto al control, y menores que el grupo HF+S, siendo diferentes estadísticamente a este último. Las ratas que consumieron la dieta HF+S+Gl se diferenciaron estadísticamente con relación al grupo que consumió la dieta HF+S, siendo menores sus porcentajes de masa grasa final. Es de recalcar que este grupo HF+S+Gl, no tuvo diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control ni respecto al grupo HF+S+Po. Finalmente, destaca que en el caso del grupo HF+S+Po, el porcentaje de masa grasa final fue 13.38% menor que el grupo HF+S, la mayor diferencia entre grupos, superando incluso la del grupo control aunque no de manera significativa y diferenciándose estadísticamente también de los grupos HF+S+At y HF+S+Um (Figura 4C).

Para el caso de la masa magra este efecto fue inversamente proporcional a lo observado en la masa grasa (Figura 4A y Figura 4B), siendo el grupo que consumió una dieta HF+S el que reportó menor porcentaje de masa magra final, un 10.38% menos que el grupo control, siendo estadísticamente diferente del resto de los grupos. Como ya se dijo, de manera análoga los grupos Control, HF+S+Po y HF+S+Gl, que fueron los grupos que menor porcentaje de masa grasa tuvieron, también fueron los que registraron mayor masa magra final (72.87%, 73.32% y 71.84% respectivamente), solo que en este caso sin diferencia estadística respecto al control (Figura 4D), lo cual es un excelente resultado, pues habla de que con el consumo de hongos hay una reducción significativa de masa grasa, manteniendo a la vez el porcentaje de masa magra que se tendría con una dieta balanceada como la del grupo control.

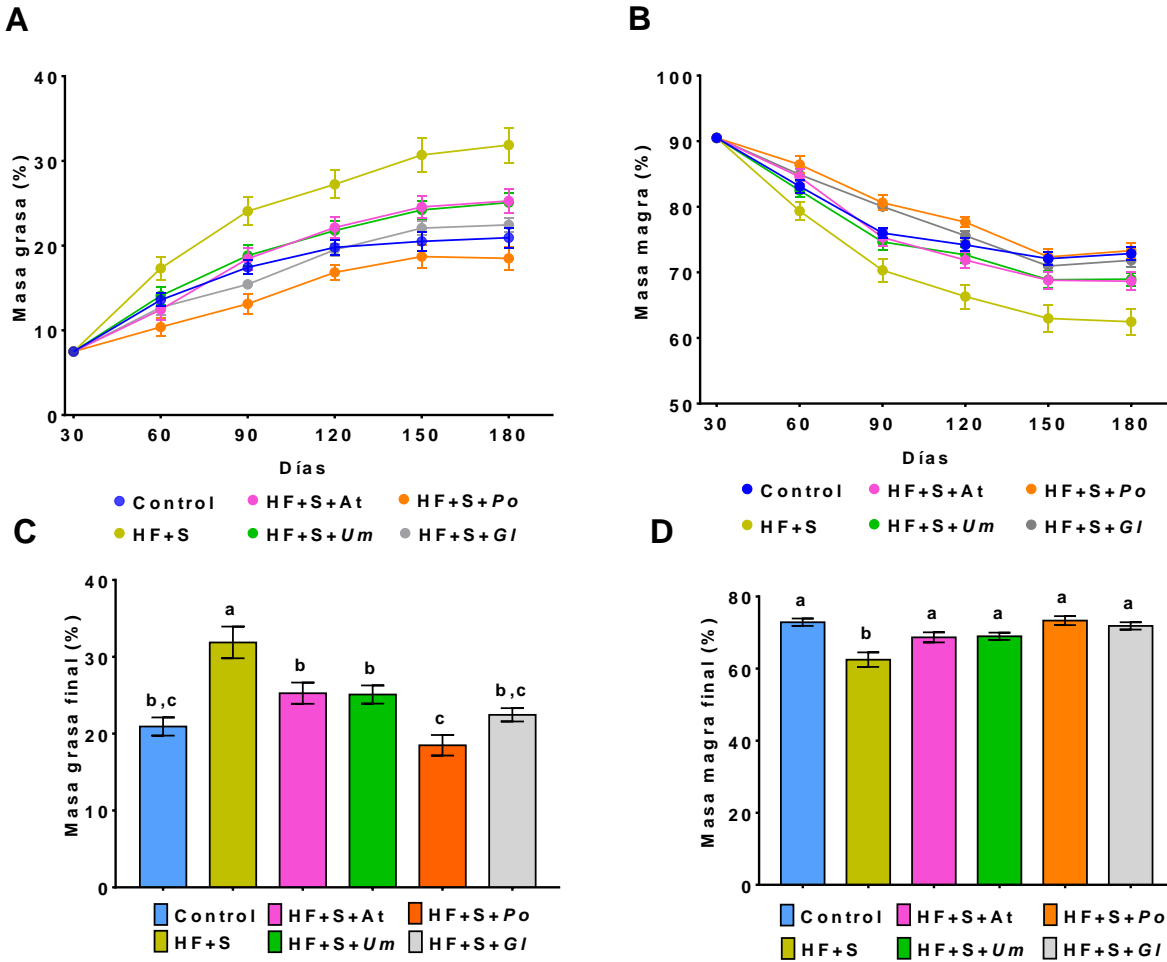


Figura 4. Composición corporal de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Evolución del porcentaje de masa grasa durante 6 meses de tratamiento. B) Evolución del porcentaje de masa magra durante 6 meses de tratamiento. C) Porcentaje final de masa grasa. D) Porcentaje final de masa magra. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a > b$), $p < 0.0001$; $n = 7$.

7.5 Parámetros bioquímicos en suero de los grupos experimentales

7.5.1 Perfil de lípidos

Para evaluar el perfil de lípidos se cuantificó la concentración de CT, LDL-c, TG y HDL-c en el suero de las ratas Wistar con los diferentes tratamientos (Figura 5). De estas mediciones se obtuvo que el grupo que consumió una dieta HF+S presentó mayores concentraciones de CT, 155.38% más con respecto al grupo control. De manera interesante los grupos que consumieron las dietas HF+S+At, HF+S+Um, HF+S+Po y HF+S+Gl a pesar de tener la dieta alta en grasa y sacarosa no produjeron un aumento significativo de CT con respecto al grupo control, distinguiéndose estadísticamente el grupo HF+S+Po respecto al grupo HF+S+At, reduciendo aún más el nivel de CT. Respecto a LDL-c, una vez más, el grupo HF+S fue el que tuvo los valores más altos (91.92mg/dL), siendo estadísticamente diferente del resto de los grupos ($p < 0.0001$). Lo anterior podría sugerir que el efecto de los hongos analizados en este estudio tiene un papel muy importante en el metabolismo de lípidos, principalmente en el metabolismo de CT y LDL-c, parámetros considerados como moléculas aterogénicas.

En lo que se refiere a las concentraciones de TG, se encontró que el grupo que consumió la dieta HF+S produjo un aumento del 55.11% (36.81 mg/dL) con respecto al grupo control, encontrando diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$). De manera interesante sólo el grupo que consumió la dieta con HF+S+Um produjo una disminución del 24.98% (16.68 mg/dL) con respecto al grupo control con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0163$). Para HDL-c no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales, siendo el grupo HF+S+Um y HF+S+Po

superiores al grupo control y HF+S. Por otro lado, los grupos HF+S+At y HF+S+GI resultaron con valores inferiores para HDL-c respecto a dichos grupos (Figura 5C).

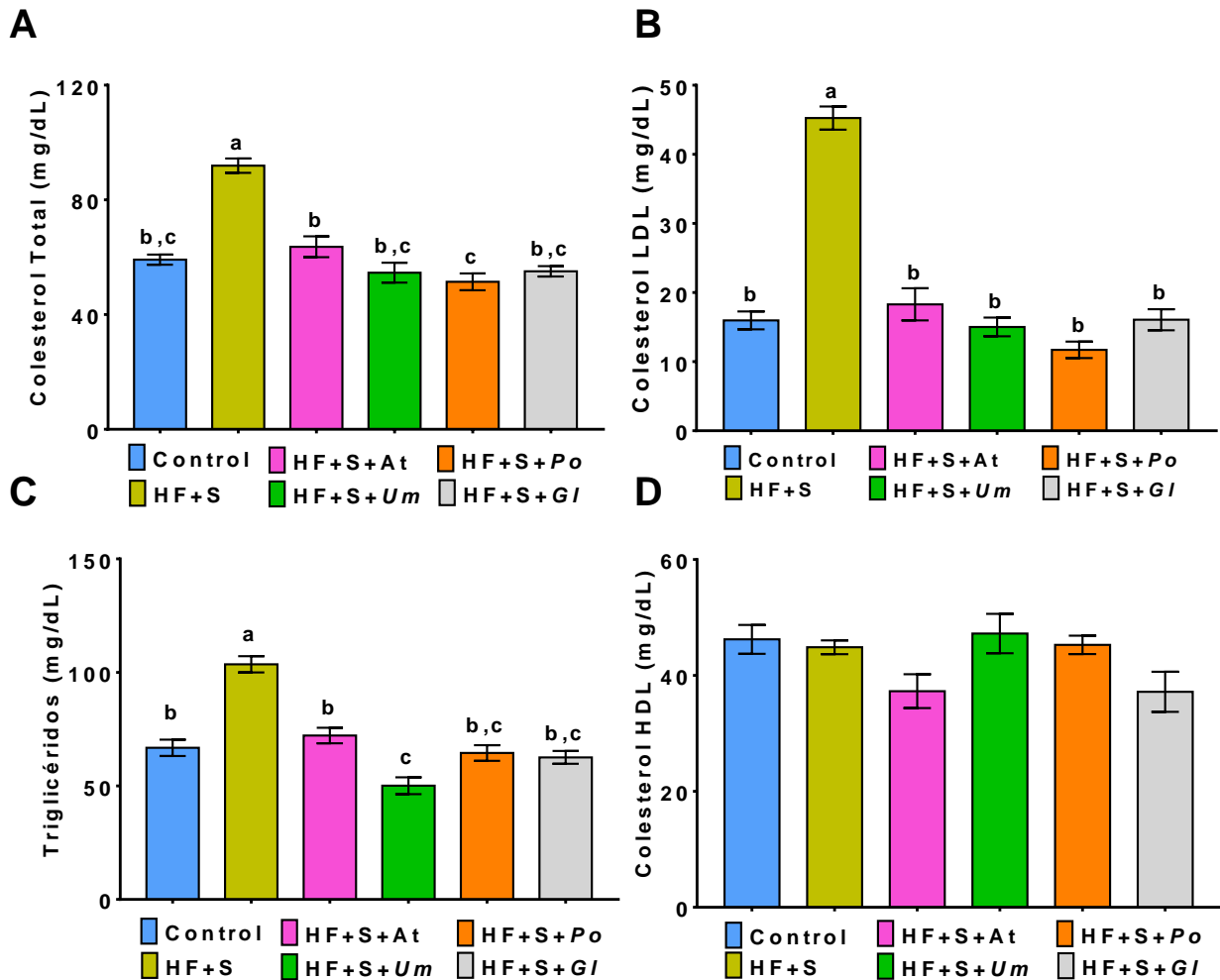


Figura 5. Perfil lipídico de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+GI: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Concentraciones promedio de triglicéridos en suero. B) Concentraciones promedio de colesterol total sérico. C) Concentraciones promedio de colesterol HDL sérico. D) Concentraciones promedio de colesterol LDL sérico. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (a>b), $p < 0.0001$; $n = 7$.

7.5.2 Glucosa

Con respecto a las mediciones de glucosa sérica (Figura 6) se observó que el grupo que consumió una dieta HF+S tuvo mayores niveles de glucosa sérica, un 14.71% más (26.9 mg/dL) con respecto al grupo control, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.0870$). Los grupos con adición en la dieta de atorvastatina, *Ustilago maydis* y *Pleurotus ostreatus*, a pesar de tener una dieta alta en grasa mostraron valores más bajos de glucosa que el grupo HF+S, sin embargo, no fueron significativos estadísticamente. No obstante, el grupo HF+S+GI, si se diferenció estadísticamente ($p=0.0220$) del grupo HF+S, con un diferencia entre grupos de 32.6 mg/dL, siendo el grupo con la adición de *Ganoderma lucidum* el de menor concentración de glucosa sérica incluso que el grupo control.

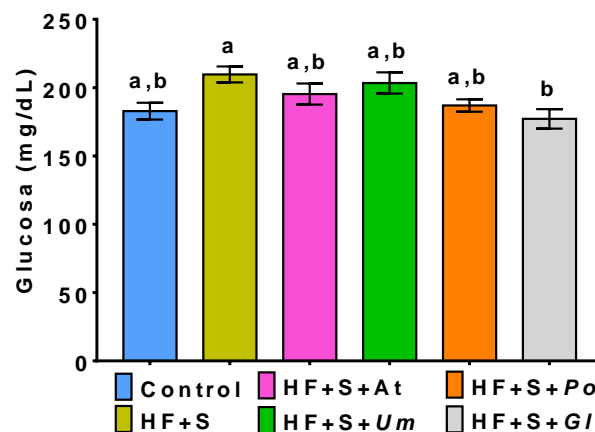


Figura 6. Concentración promedio de glucosa sérica de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+GI: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a>b$), $p=0.0131$; $n=7$.

7.5.3 Perfil hepático

Para evaluar si los tratamientos indujeron algún daño al hígado se determinaron las concentraciones de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) (Figura 7). Para el caso de las dos enzimas AST y ALT se encontró que el grupo que consumió una dieta HF+S presentaron mayores concentraciones de manera significativa (38.67% y 46.45% respectivamente) con relación al grupo control. Es de resaltar que, aunque los grupos experimentales con la adición de los hongos y la atorvastatina también consumieron una dieta alta en grasa y sacarosa, no produjeron un incremento en AST y ALT con respecto al grupo control. De manera interesante, los grupos HF+S+At, HF+S+Um y HF+S+Po disminuyeron de manera estadísticamente significativa los niveles séricos de AST en un 22.08%, 21.28% y 38.58% respecto al grupo control ($p=0.0228$, $p=0.0308$ y $p<0.0001$), consecuentemente, los grupos HF+S+At, HF+S+Um, HF+S+Po y HF+S+Gl tuvieron menores valores ($p<0.0001$) de AST en comparación con el grupo HF+S (39.70%, 43.23%, 43.81% y 55.71% respectivamente).

Con respecto a los valores de la enzima ALT, se observó un efecto similar siendo estadísticamente iguales los grupos que consumieron algún tipo de hongo o atorvastatina en la dieta respecto al grupo control. Es de destacar que HF+S+At, HF+S+Um, HF+S+Po y HF+S+Gl, fueron 47.40%, 46.17%, 38.85% y 23.41% menores respecto al grupo HF+S, siendo esto estadísticamente significativo ($p<0.0001$).

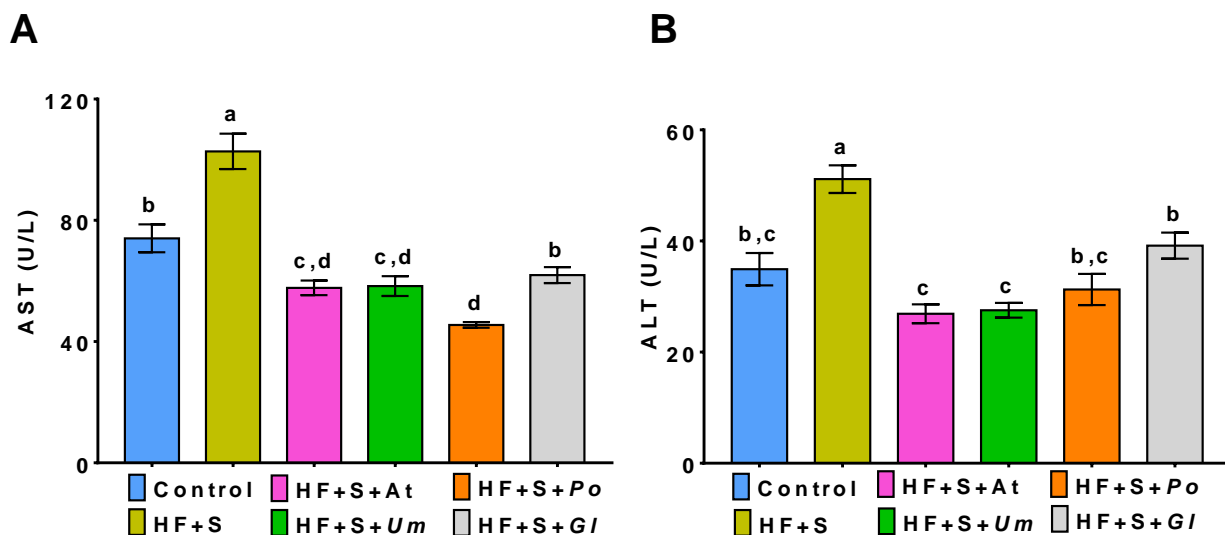


Figura 7. Perfil hepático de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Concentraciones promedio de la enzima aspartato aminotransferasa (AST). B) Concentraciones promedio de alanina aminotransferasa (ALT). Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (a>b), $p < 0.0001$; n=7.

7.5.4 Evaluación de la función renal

Para evaluar si los tratamientos producían algún daño renal, se cuantificaron los niveles de albúmina, creatinina y urea (Figura 8). En el caso de la Albúmina solo hubo diferencia estadística entre los grupos HF+S y HF+S+Gl ($p=0.0165$), donde el grupo que consumió el hongo *Ganoderma lucidum* registró 7.19 g/L en suero más que el grupo HF+S, siendo este último el que registra el menor nivel de todos los grupos del estudio, lo que sugiere posible daño renal o hepático. En lo que respecta a las concentraciones de creatinina no

se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales. Referente a las concentraciones de urea, el grupo HF+S fue el que registro el valor más elevado (4.04mmol/L), y HF+S+Um el grupo con el valor más bajo (81.47 mmol/L). Se observó una disminución del 22.57% del grupo que consumió una dieta HF+S+Um y de 18.53% del grupo HF+S+Po con respecto al grupo control, sin embargo, estos niveles plasmáticos de urea junto con los demás grupos no alcanzan a ser estadísticamente diferentes del control. Al realizar las comparaciones entre los grupos HF+S+Um y HF+S+Po respecto al grupo HF+S, se encontraron diferencias significativas con $p < 0.0001$, siendo los niveles plasmáticos de urea en HF+S+Um y HF+S+Po, 35.06% y 31.67% más bajos que HF+S. En todos los casos, se observó una tendencia en disminuir los niveles plasmáticos de urea en los grupos que tenían un hongo o el fármaco atorvastatina en la dieta, a pesar de su alto consumo en grasa. Los resultados anteriores indican que consumir en la dieta alguno de los diferentes hongos analizados en este estudio no induce un daño renal o hepático, incluso, nuestros resultados muestran cierta tendencia de producir una reversión del daño que se produce al tener una dieta alta en grasa y carbohidratos.

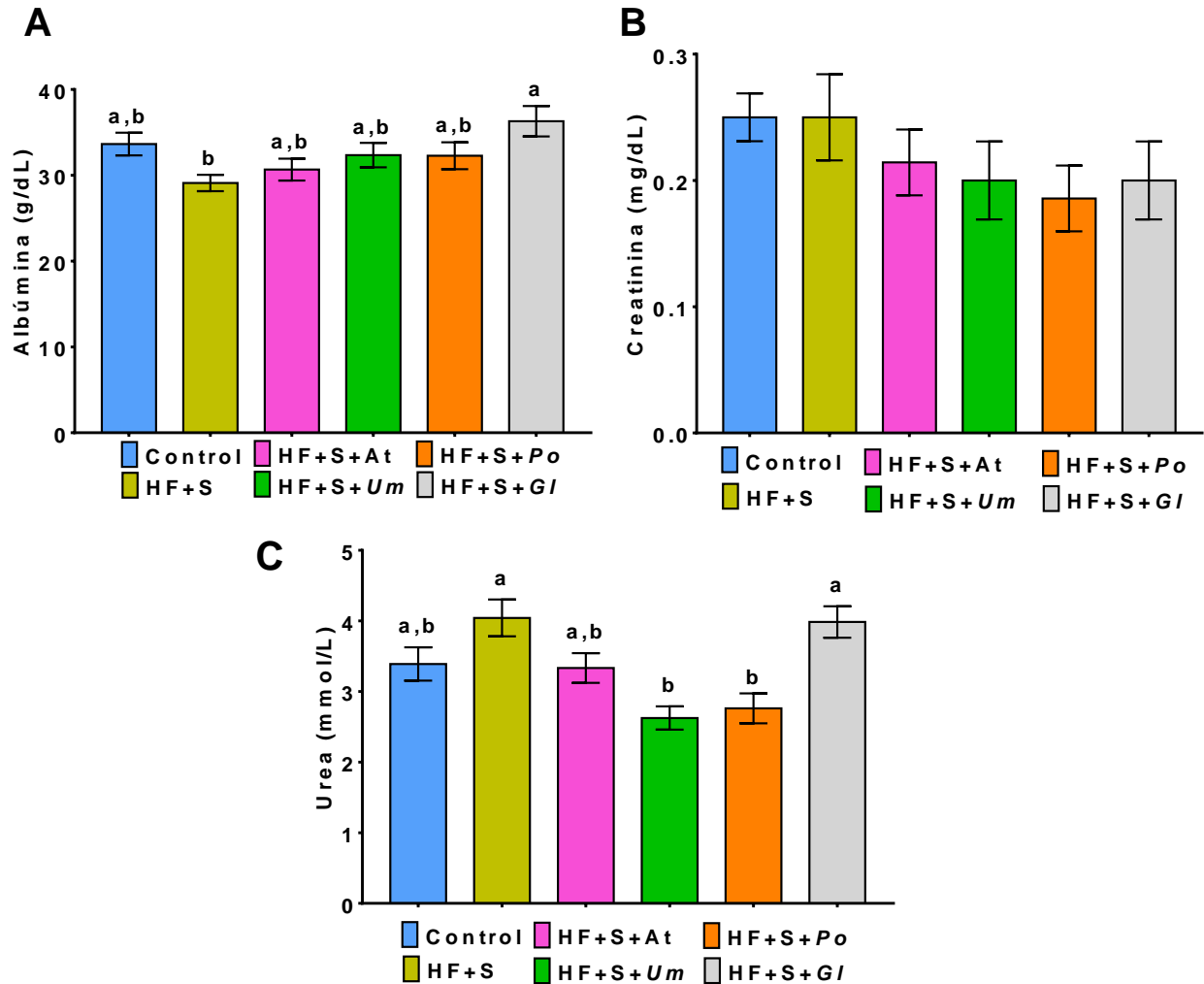


Figura 8. Evaluación renal de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Concentraciones promedio de albúmina ($p=0.0265$). B) Concentraciones promedio de creatinina. C) Concentraciones promedio de urea ($p<0.0001$). Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a>b$); $n=7$.

7.6 Prueba de tolerancia oral a la glucosa

Transcurridos 6 meses, se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa y se determinó el área bajo la curva (ABC) para cada grupo experimental (Figura 9). No existieron diferencias significativas entre grupos.

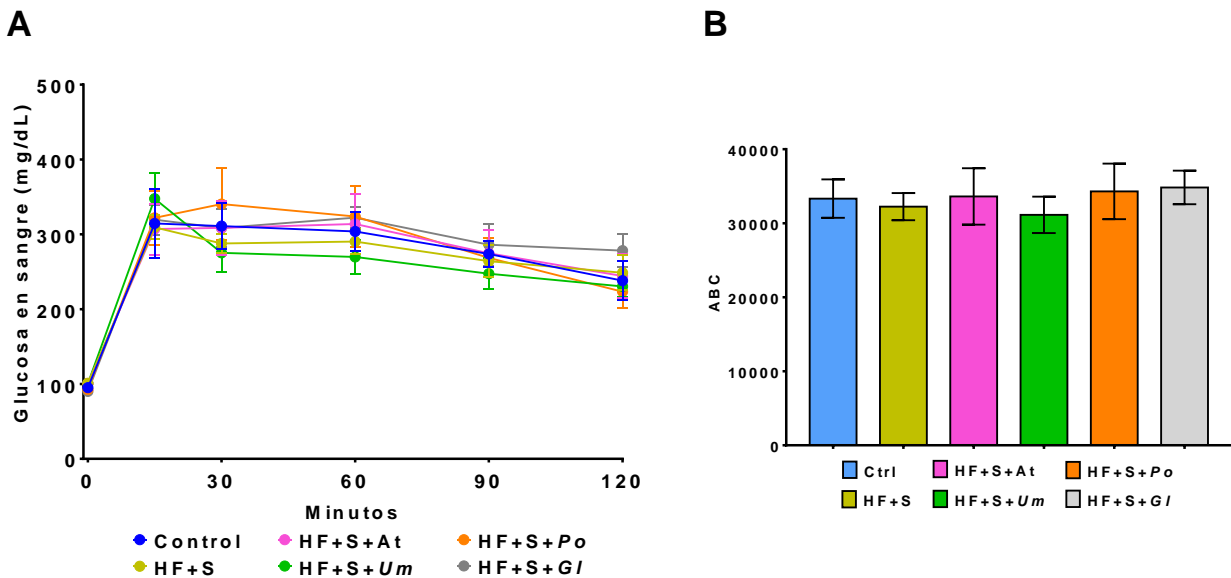


Figura 9. Curva de tolerancia a la glucosa de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Determinación de la curva de tolerancia a la glucosa. B) Áreas bajo la curva de las curvas de tolerancia a la glucosa, después de 6 meses de intervención dietaria. Los valores representan la media \pm SEM; n=7.

7.7 Evaluación de la actividad antioxidante total sérica

Se determinó la capacidad antioxidante total sérica de las muestras de las ratas, usando el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, que por sus siglas en inglés se conoce como ORAC. Se observó que los grupos HF+S+Um y HF+S+Gl,

tuvieron valores de actividad antioxidante total 104.16% y 100.72% más en comparación que el grupo HF+S, siendo diferentes estadísticamente ($p < 0.0001$). No solo eso, estos grupos (HF+S+Um y HF+S+G), tuvieron valores superiores que el grupo control, diferenciándose estadísticamente para $p < 0.0001$ (Figura 10). Nuestros resultados sugieren que una parte importante los antioxidantes presentes en los hongos pasan a estar biodisponibles en plasma. Esto es especialmente importante ya que los antioxidantes evitan la formación de partículas LDL oxidadas, partículas relacionadas con la obesidad y altamente aterogénicas.

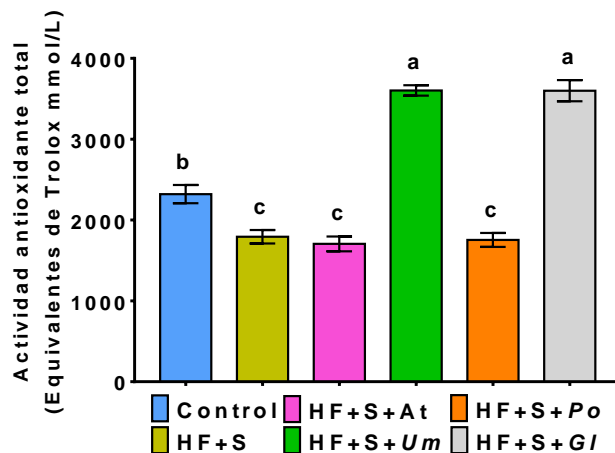


Figura 10. Capacidad antioxidante total sérica de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+G: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a > b$), $p < 0.0001$; $n = 7$.

7.8 Evaluación del gasto calórico y coeficiente respiratorio

7.8.1 Coeficiente de intercambio respiratorio (RER)

Después de la intervención dietaria por 6 meses, se procedió a determinar el coeficiente de intercambio respiratorio (RER), por medio de calorimetría indirecta determinando el volumen de oxígeno (VO_2) y el dióxido de carbono producido (CO_2). En la Figura 11A se muestran los resultados del RER, siendo el área sombreada el periodo correspondiente a la noche o el período de postprandio, ya que es bien sabido que las ratas, tienen mayor actividad en la noche, por lo que se procede a alimentarlas en este horario que es cuando la ingesta de alimento es mayor naturalmente. Durante el periodo de ayuno se observó que el grupo control tuvo un coeficiente de intercambio respiratorio (RER) promedio de 0.8065, mientras que el grupo HF+S tiene un RER promedio de 0.7711, esto coincide con la literatura, ya que en periodos de ayuno se espera un RER cercano a 0.7 – 0.8, debido a que los animales se encuentran oxidando proteínas y ácidos grasos, mientras que en el periodo de postprandio, se espera que este coeficiente tenga valores cercanos a 1.0, indicando un cambio en el sustrato usado para obtener energía, que correspondería a carbohidratos. Normalmente en animales sanos, el cambio debería ser en cuestión de unos cuantos minutos, sin embargo, si los animales ya presentan alguna inflexibilidad metabólica, este coeficiente no cambiará rápidamente a pesar de que los animales estén consumiendo carbohidratos. En el presente estudio, se encontró que el grupo HF+S fue el que tuvo menor flexibilidad metabólica. Interesantemente, los grupos HF+S+At, HF+S+Po y HF+S+Gl, se diferenciaron estadísticamente del grupo HF+S en la fase de post-prandio ($p=0.0148$, $p=0.0020$ y $p=0.0475$ respectivamente), más aun, se encontró que estos grupos son iguales estadísticamente que el control en ambas fases del

metabolismo (ver Figura 11). Lo anterior a pesar de que las ratas de estos grupos recibían una dieta rica en carbohidratos, lípidos y colesterol como el grupo HF+S. En el caso del grupo HF+S+Um, se observó un valor de RER más alto que HF+S en la fase de post-prandio, pero sin ser significativo.

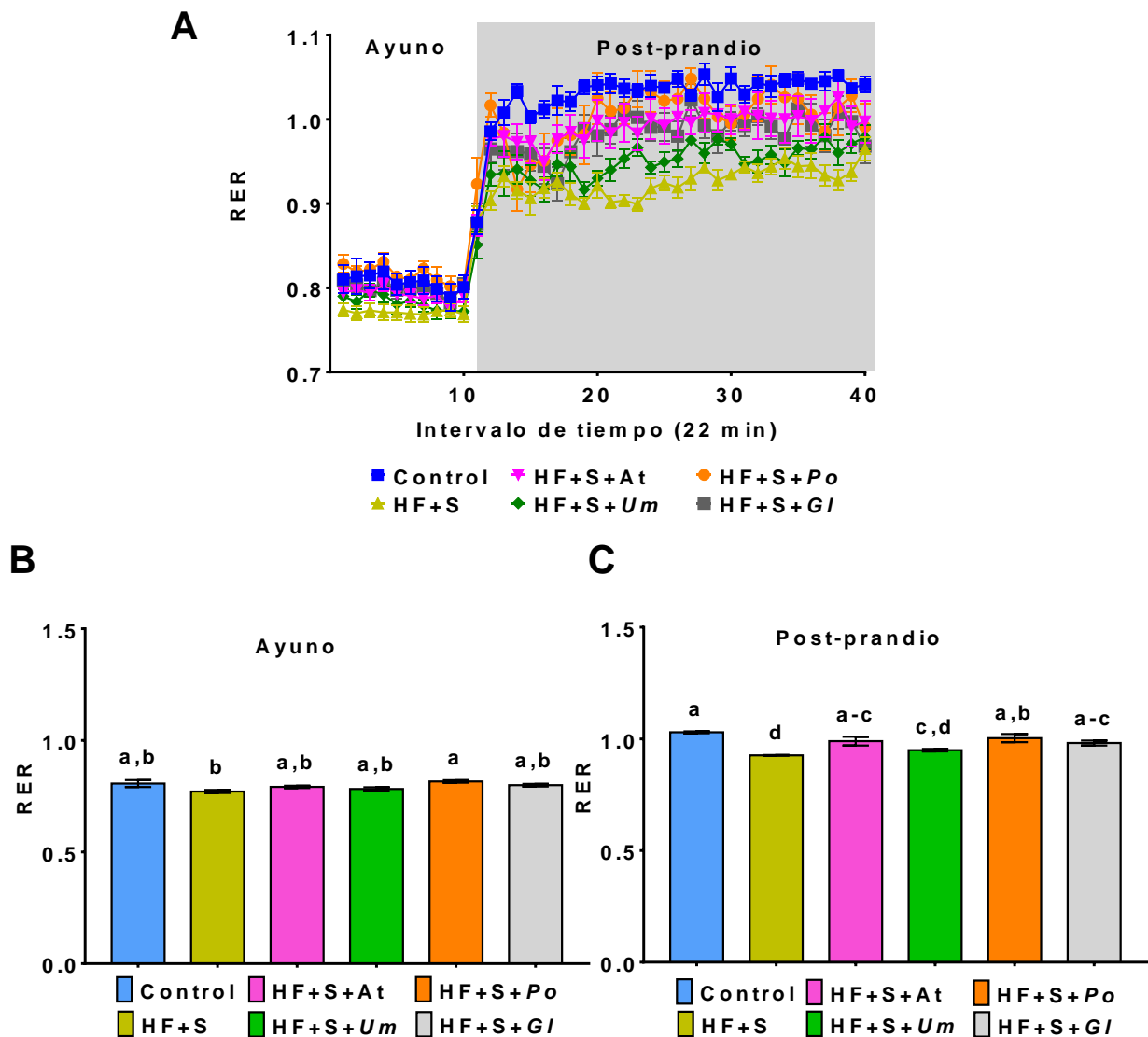


Figura 11. Determinación del coeficiente respiratorio de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleorotus*

ostreatus + 10% sacarosa; HF+S+G: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Evolución del RER a lo largo de un día dividido en períodos de 22 minutos, siendo la parte clara correspondiente al periodo de ayuno y la sombreada correspondiente al post-prandio. B) RER promedio en la fase metabólica de ayuno ($p=0.0132$). C) RER promedio en la fase metabólica de post-prandio ($p<0.0001$). Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a>b$); $n=7$.

7.8.2 Volumen de oxígeno consumido (VO_2)

Como ya se mencionó, para el cálculo del coeficiente respiratorio (RER), hubo que determinar primero el volumen de oxígeno (VO_2), y se observó que los promedios más bajos en la fase nocturna (post-prandio) correspondieron al grupo HF+S. En la fase diurna o de ayuno, solo el grupo HF+S, se diferenció estadísticamente del grupo HF+S+Po con $p=0.0130$, en el resto de los grupos no se encontraron diferencias. En la fase nocturna, que es cuando las ratas son más activas y consumen su alimento, se observó que el consumo de oxígeno aumentó en todos los grupos, sin embargo, este aumento no fue muy marcado para el grupo HF+S, pronunciándose las diferencias entre los grupos, y volviéndose estadísticamente significativas entre HF+S+Po contra Control y HF+S+Um, y resulta especialmente interesante el reporte de diferencias estadísticas del grupo HF+S respecto a HF+S+At, HF+S+Po y HF+S+Gl (ver Figura 12). Los resultados anteriores sugieren que el consumo de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, así como del fármaco atorvastatina, incrementa el gasto calórico de las ratas. Este hallazgo aunado a lo observado en el apartado del RER, indica que el consumo de los hongos en la dieta mejoró el metabolismo de los grupos implicados.

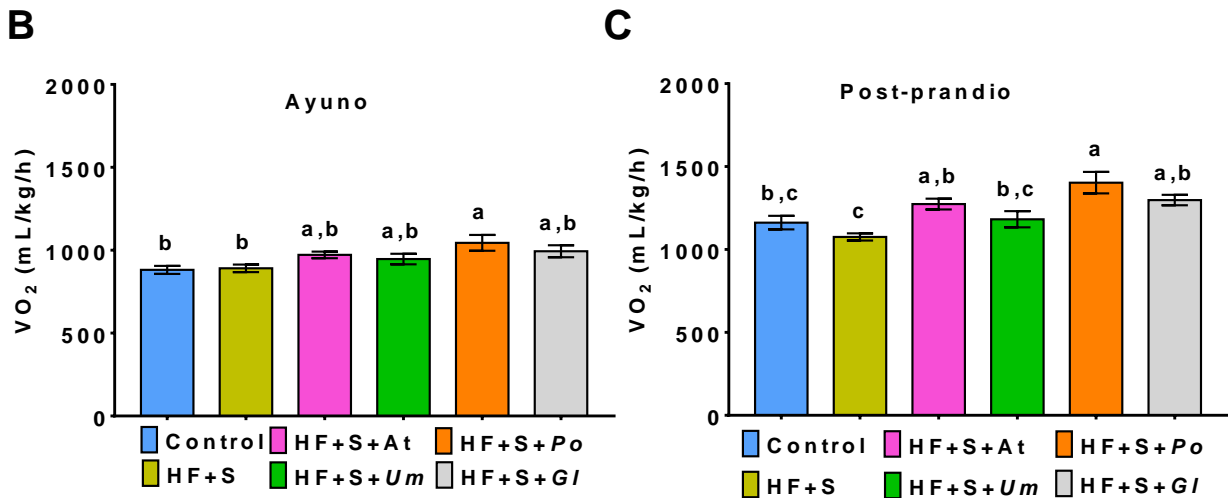
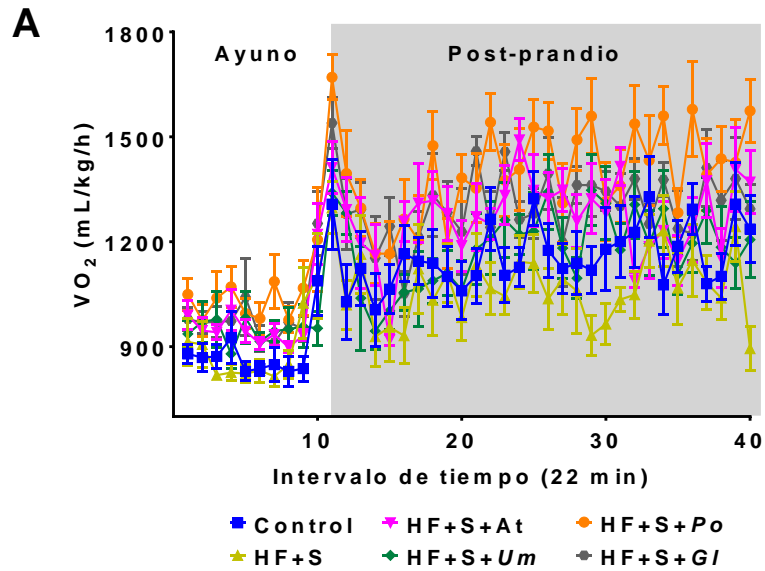
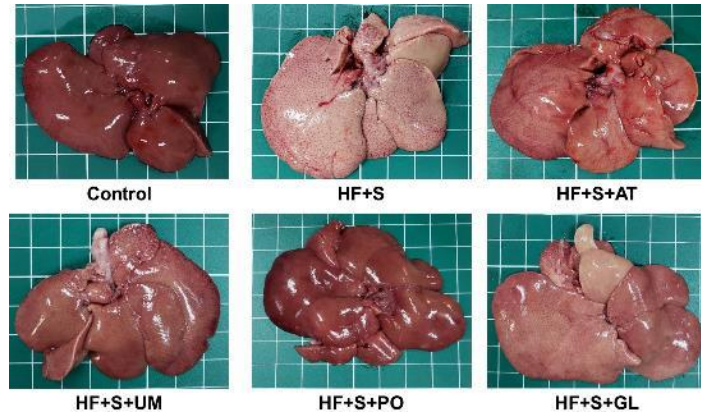


Figura 12. Determinación del volumen de oxígeno consumido (VO_2) de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Evolución del VO_2 a lo largo de un día dividido en períodos de 22 minutos, siendo la parte clara correspondiente al periodo de ayuno y la sombreada correspondiente al post-prandio. B) VO_2 promedio en la fase metabólica de ayuno ($p=0.0087$). C) VO_2 promedio en la fase metabólica de post-prandio ($p<0.0001$). Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a>b$); $n=7$.

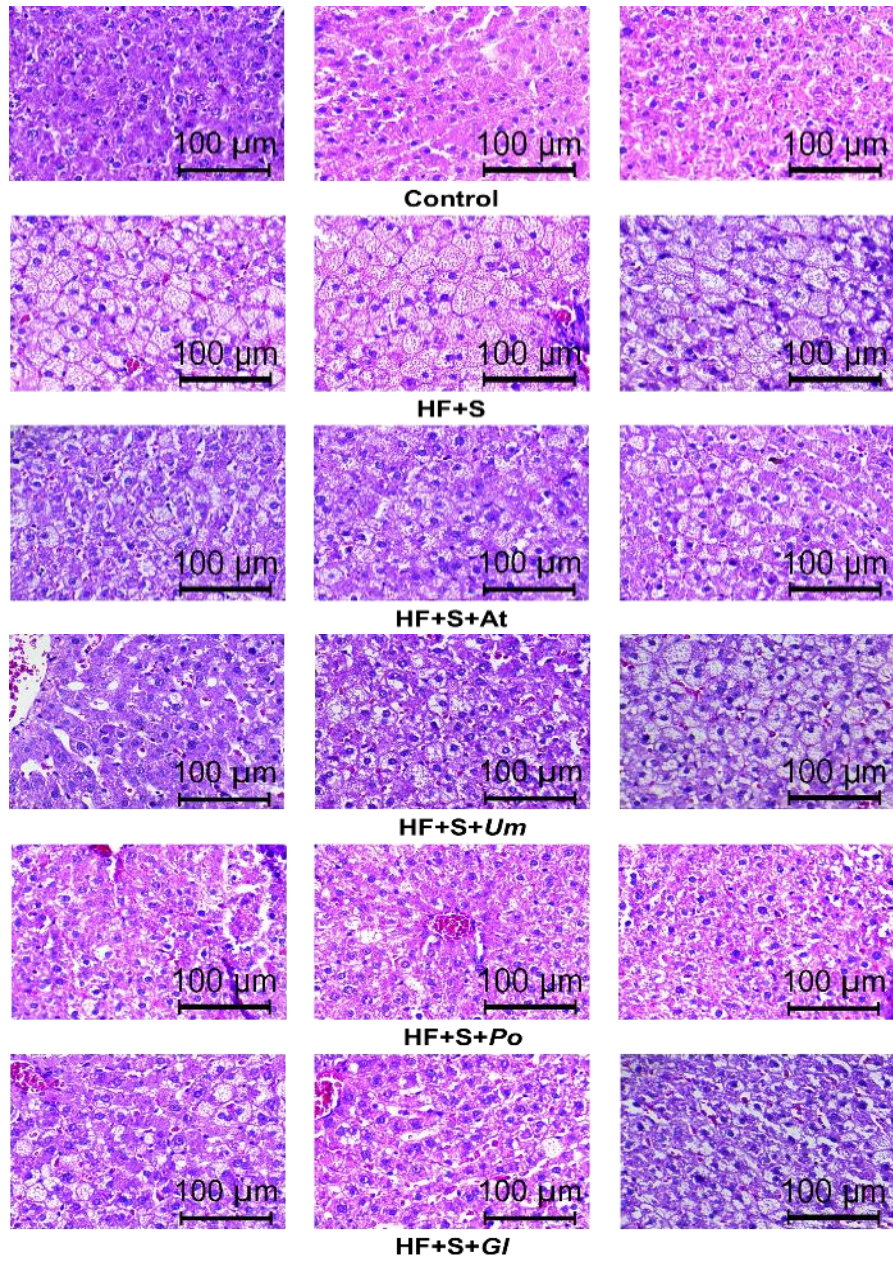
7.9 Histología de hígado

Cuando se realizó la extracción de hígado de las unidades experimentales, se notó una diferencia visible entre los grupos como se puede observar en las fotografías hechas al hígado inmediatamente después de la eutanasia (ver Figura 13A), en el caso del grupo Control se puede observar una coloración roja intensa, muy parecida al caso del grupo HF+S+Po. En contraste, se puede observar esteatosis en los hígados de las ratas HF+S y una coloración más blanquecina. En los casos de los Grupos HF+S+At, HF+S+Um y HF+S+Gl, se puede observar esteatosis moderada. Una vez hechas las tinciones hematoxilina-eosina, se observaron las muestras bajo microscopio y se encontraron diferencias y similitudes en el estado celular, dependiendo de los grupos en cuestión. En la Figura 13B, se observan a los hepatocitos sanos y sin esteatosis del grupo control, y si estos se comparan con los hepatocitos de las ratas del grupo HF+S+Po, el parecido entre ellos es muy grande a pesar de que HF+S+Po tenía una dieta alta en grasa y carbohidratos. Esto es muy interesante porque se puede inferir que el consumo de *Pleurotus ostreatus* puede evitar la esteatosis hepática. Por otra parte, también se realizaron tinciones de rojo oleoso para observar la concentración de lípidos en los hepatocitos (Figura 13C), encontrándose la mayor concentración de lípidos en los hepatocitos del grupo HF+S, y hallando similitudes entre los grupos Control, HF+S+Po y HF+S+Um. Por otro lado, los grupos HF+S+At y HF+S+Gl resultaron similares entre sí, siendo evidentemente menores en concentración de lípidos respecto al grupo HF+S, apoyando los resultados hallados en la tinción HE y en los perfiles plasmáticos de TG y CT.

A



B



C

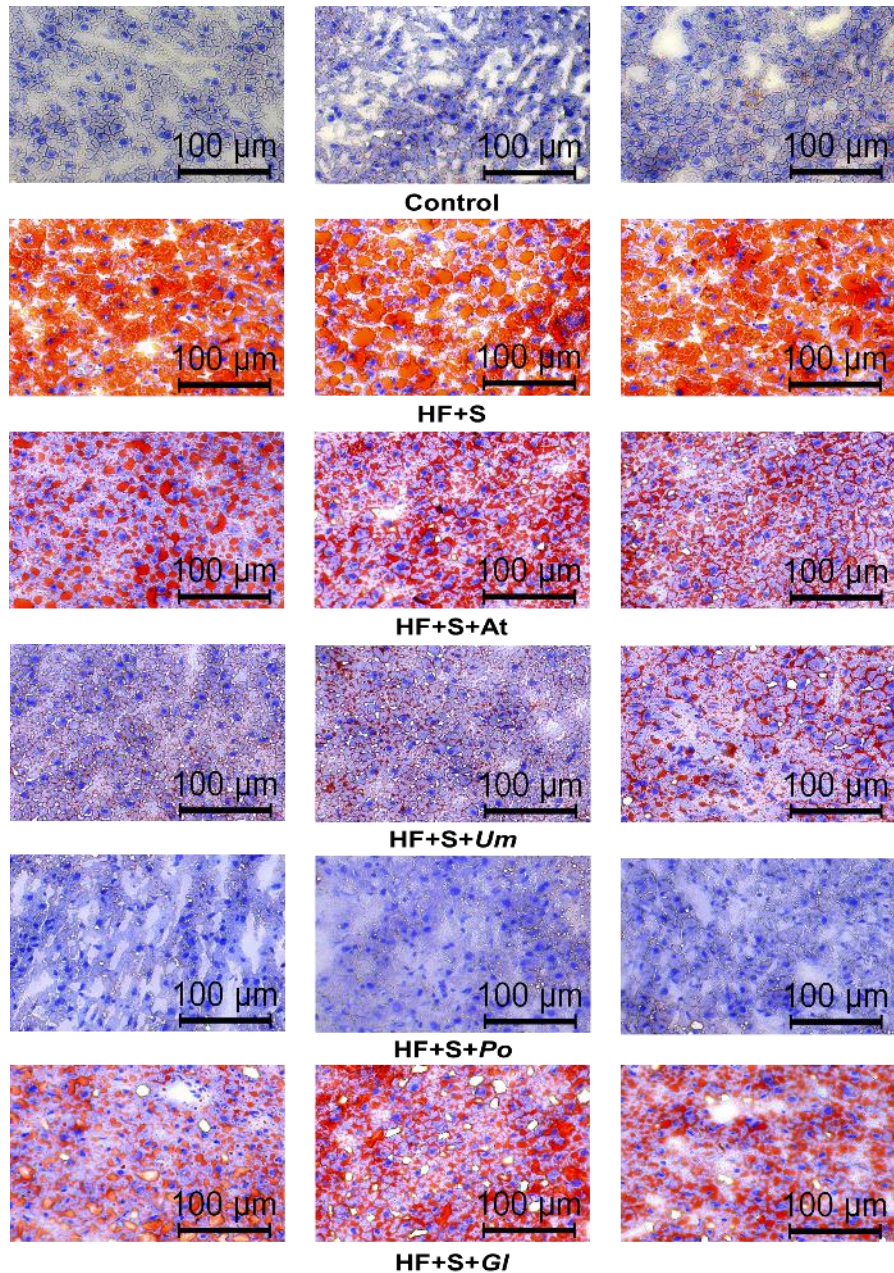


Figura 13. Histología de hígado de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Fotografías de hígado después de la eutanasia B) y C) Cortes histológicos de hígado con un aumento de 20x; donde B) Tinción de Hematoxilina-eosina y C) Tinción de Rojo Oleoso.

7.10 Expresión génica

7.10.1 Extracción de RNA

Se obtuvo RNA del hígado a partir del uso de Trizol. En la *tabla 1* se muestra las concentraciones promedio de RNA obtenido por grupo experimental y las relaciones 260/280 y 260/230 que indican que las muestras tuvieron un alto grado de pureza y pueden ser empleadas para la medición de la expresión de genes mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).

Tabla 6. Concentraciones y pureza del RNA aislado de hígado

Grupo	[ng/μl]	260/280	260/230
Control	1665.02	1.96	1.97
HF+S	1631.99	1.96	1.96
HF+S+At	1898.18	1.98	2.09
HF+S+Um	1666.14	1.95	2.01
HF+S+Po	2140.66	1.97	2.06
HF+S+Gl	1657.29	1.97	2.10

Una vez obtenido el RNA del hígado se procedió a generar el cDNA a una concentración de 3000 ng/μl mediante el uso de la técnica de retrotranscripción.

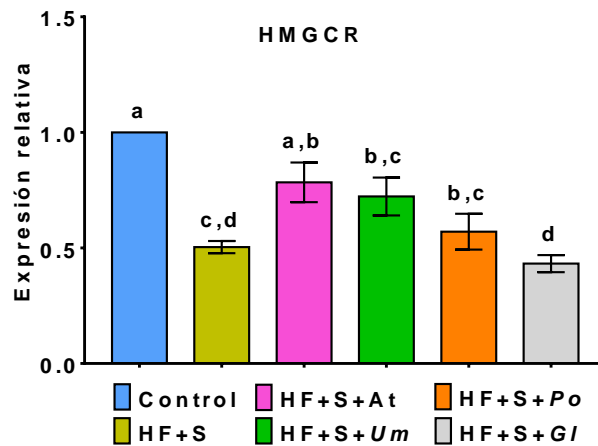
7.10.2 Expresión relativa

En la Figura 14, se puede observar el comportamiento en la expresión de todos los genes estudiados en los grupos de ratas Wistar con diferentes dietas. En el caso de HMGCR se observó que todos los grupos con una dieta alta en grasa y carbohidratos tuvieron

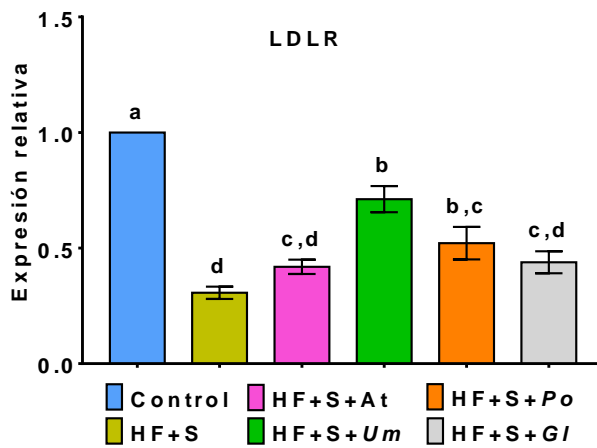
reducida la expresión de este gen, a pesar de que lo reportado en artículos previos nos hacía esperar resultados diferentes, esto se puede deber a que también se sabe que la expresión de HMGCR se ve inhibida por niveles altos de colesterol intracelulares como parte de los múltiples mecanismos de homeostasis que tiene la célula para regular dichos niveles (96). En este sentido, el grupo HF+S, tuvo una expresión reducida para HMGCR, y se observó una tendencia en el aumento de la expresión de este gen en función de la presencia de alguno de los hongos en la dieta o el fármaco atorvastatina, pero sin llegar a igualar o superar al grupo control (Figura 14A). En la expresión de LDLR, se observó una tendencia en los grupos con algún hongo en la dieta o atorvastatina de aumentar la expresión respecto a HF+S, lo cual indica un aumento en la captación de lipoproteínas por parte del hígado para su redistribución por el organismo o eliminación a través de las sales biliares. Respecto a ABCG5, se observó que los grupos HF+S+At y HF+S+Gl, aumentaron la expresión de este gen en comparación del grupo HF+S, indicando un posible aumento en la eliminación de colesterol a través de los transportadores transmembranales de colesterol de los enterocitos, que a su vez tenían aumentada la expresión de LDLR. En el caso del gen FASN, se observó que hubo un aumento en su expresión en los grupos HF+S+At, HF+S+Um y HF+S+Po en comparación del grupo HF+S. No obstante, su expresión está disminuida respecto al grupo control, quizás debido a que este mismo gen está implicado con la síntesis de TG's de novo y promueve su almacenamiento en la célula, y al estar en un ambiente con exceso de lípidos, la célula en un intento de regular sus niveles de TG's, disminuye la expresión de este gen. Finalmente, para el caso de PPARA (gen que está implicado en los procesos de catálisis de AG a través de la β -oxidación), se observó que en todos los grupos con una dieta alta

en grasa y carbohidratos hubo un aumento en su expresión, principalmente en los grupos con atorvastatina o alguna de las tres especies de hongo. Esto está en concordancia con los resultados de la expresión de FASN, pues estudios recientes sugieren que FASN actúa como activador de PPARA (75).

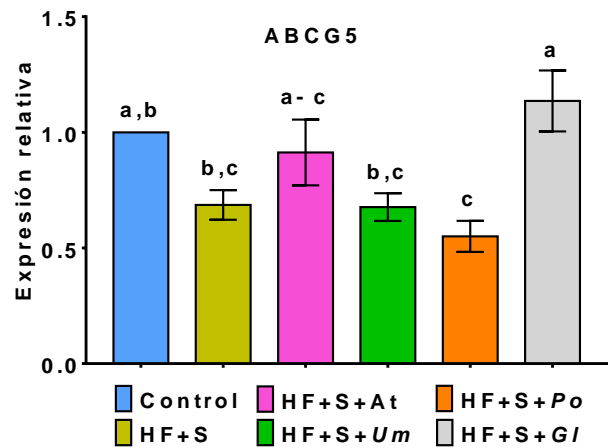
A



B



C



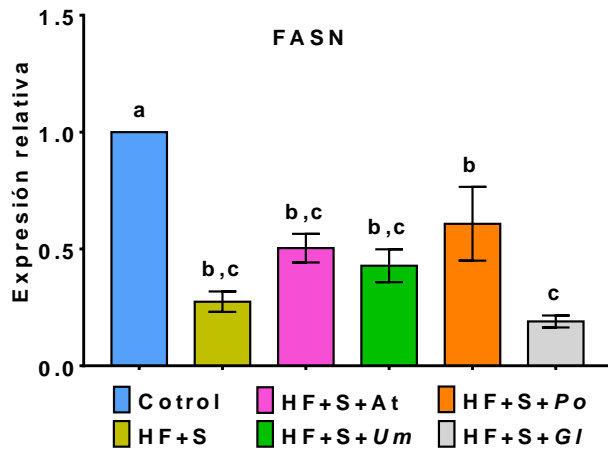
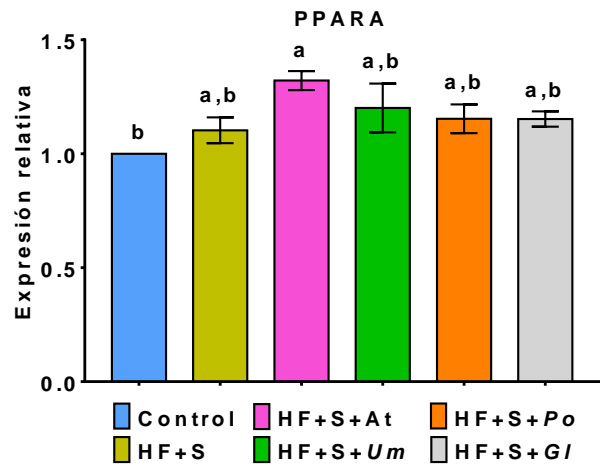
D**E**

Figura 14. Cuantificación de la expresión génica relativa de genes involucrados en el metabolismo de lípidos de ratas Wistar alimentadas con una dieta Control: dieta AIN-93M; HF+S: HFD + 0.25% de colesterol + 10% sacarosa; HF+S+At: HFD + 0.25% de colesterol + 0.3% atorvastatina + 10% sacarosa; HF+S+Um: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ustilago maydis* + 10% sacarosa; HF+S+Po: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Pleurotus ostreatus* + 10% sacarosa; HF+S+Gl: HFD + 0.25% de colesterol + 10% *Ganoderma lucidum* + 10% sacarosa. A) Expresión génica relativa de HMGCR ($p < 0.0001$). B) Expresión génica relativa de LDLR ($p < 0.0001$). C) Expresión génica relativa de ABCG5 ($p = 0.0004$). D) Expresión génica relativa de FASN ($p < 0.0001$). E) Expresión génica relativa de PPARA ($p = 0.0182$). Los valores representan la media \pm SEM. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($a > b$), $n = 7$.

VIII. DISCUSIÓN

Una disminución en la actividad física de las personas, la adopción de dietas altas en grasa y carbohidratos, mala o nula regulación en el fomento de alimentos obesogénicos y falta de educación en materia de nutrición de la población en general, derivó en un aumento acelerado en los casos de obesidad a nivel mundial. Con el tiempo, se fueron acumulando estudios que relacionaban a la obesidad con distintos problemas de salud y que poco a poco fueron desplazando a otros padecimientos como las principales causas de muerte, entre ellos, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes tipo II y algunos tipos de cánceres (97). Debido a lo anterior, existe un gran interés en el desarrollo de estrategias y tratamientos que ayuden a combatir este tipo de padecimientos. Dentro de las alternativas de solución, está el consumo de alimentos funcionales como los hongos. Numerosos estudios han demostrado ya su potencial para tratar diversos padecimientos (81,89,98), pero pocos se han hecho sobre variedades mexicanas. Esta es la razón por la que decidimos realizar este estudio, como parte de una solución integral a un problema de salud que afecta a tres de cada cuatro mexicanos, dándole al mismo tiempo, un nuevo valor a los alimentos nativos de nuestro país.

Se quiso corroborar con evidencia científica que el consumo de tres especies de hongos, *Ustílogo maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, tiene un efecto benéfico sobre el metabolismo de lípidos en hígado en un modelo de obesidad. Para lograr este modelo de obesidad, se alimentó a un grupo de ratas Wistar (HF+S), con una dieta alta en grasas, carbohidratos y colesterol durante 6 meses, emulando un ambiente obesogénico. Al final de la intervención dietaria, las ratas del grupo HF+S, tenían alterados varios parámetros que indicaban obesidad y dislipidemia. En primer lugar, el

grupo HF+S tuvo una ganancia de peso final promedio 45.34% mayor que el grupo control, y en el análisis de composición corporal, rebasaron los valores de este último grupo por 52.30%. Además, los niveles séricos para CT, LDL-c y TG fueron 55.38%, 183.52% y 55.11% más altos que el grupo control respectivamente. Todos estos valores, fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.0001$). En las histologías realizadas al hígado de las ratas, se observó claramente un proceso avanzado de esteatosis en el grupo HF+S. Finalmente, los resultados arrojados por la calorimetría indirecta muestran una reducción de la flexibilidad metabólica por parte de las ratas del grupo HF+S, por lo que queda asentada una clara alteración del metabolismo lipídico en comparación de las ratas del grupo control que tuvieron una dieta balanceada (AIN93M). Una vez mencionado los puntos anteriores y considerando que las ratas alimentadas con hongos también tuvieron una dieta rica en grasa y colesterol como la del grupo HF+S, podemos atribuir las diferencias encontradas precisamente al consumo de estos hongos.

En primer lugar, analizaremos el caso de *Pleurotus ostreatus*, al cual ya se le ha atribuido diversos efectos benéficos en organismos con obesidad (86,89,90). Dong y colaboradores, demostraron que un extracto de *Pleurotus ostreatus* administrado a ratas hipercolesterolémicas, redujo significativamente los valores séricos de CT, LDL-c y TG (86). De manera concordante con lo anterior, en el presente estudio se encontró que el grupo HF+S+Po, tuvo una disminución en la ganancia de peso final promedio de hasta 31.59% y un contenido de masa grasa promedio 13.38% menor respecto al grupo HF+S, colocando a HF+S+Po en el mismo grupo estadístico que el control. Además, indujo valores más bajos para los parámetros séricos de CT, LDL-c y TG en comparación con HF+S siendo estadísticamente significativo. Los mecanismos mediante los cuales ejerce

estos efectos no están propiamente dilucidados, pero si se han sugerido algunos. Entre ellos está la presencia del compuesto Mevinolina, un análogo de la Lovastatina, el cual es un inhibidor competitivo de la HMGCoA reductasa, enzima que controla el paso limitante en la síntesis de colesterol endógeno (90), por lo que su inhibición supone un decremento en los niveles séricos de CT y LDL-c. Por otra parte, es bien sabido que en general los hongos tienen un alto contenido de fibra (81,99), por lo que también se ha sugerido que los efectos benéficos de este hongo se deben a los polisacáridos presentes en su pared celular, que para nosotros constituye un aporte de fibra dietética, y que como se puede observar en la Tabla 5, el porcentaje presente en la variedad utilizada en este estudio es considerable (24.52%). En el estudio llevado a cabo por Dong y colaboradores, se señala que el polisacárido predominante en un extracto de *Pleurotus ostreatus* fue la Xilosa, identificando propiedades bioactivas e indicando que este polisacárido desempeñó un rol importante en la conservación de la homeostasis de los lípidos en hígado (86). La fibra dietética, al ser hidratos de carbono que no pueden ser digeridos por las células de nuestro organismo, son considerados como agentes prebióticos, lo cual deja entrever otro mecanismo de acción a través de la modulación de la microbiota, idea que ya ha sido comprobada en algunos estudios (100). Este mecanismo es especialmente interesante, pues prácticamente todos los hongos comestibles y medicinales tienen una gran cantidad de fibra dietética que contribuye a la formación de microbiota benéfica (81,91). Se sabe que una presencia aumentada de bacterias de los filos Proteobacteria y Firmicutes, y la reducción del filo Bacteroidetes está estrechamente relacionado con la obesidad y que una dieta alta en grasa y colesterol induce esta disbiosis (91,101). Actualmente no se sabe con certeza los mecanismos por medio de los

cuales la microbiota interviene en nuestro metabolismo, pero diversos autores señalan que las bacterias del filo Bacteroidetes, inducen la expresión de la fosfoproteína de membrana periférica (ZO-1) y de la ocludina, que son componentes de las uniones estrechas de los enterocitos, por lo que una disminución de Bacteroidetes aumenta la permeabilidad del intestino (91), esto aunado a un aumento de Proteobacterias, las cuales son bacterias gram negativas (varias patógenas), aumenta la filtración de lipopolisacáridos (LPS) en la circulación, causando endotoxemia metabólica, la cual, es una reacción inmune exagerada que incluye procesos inflamatorios y una mayor acumulación de lípidos en hígado que terminan por causar esteatosis (102). Otros estudios como el de Daiki Nakahara y colaboradores (103), tuvieron resultados similares en los niveles de CT y LDL-c encontrados en este estudio, atribuyéndolo también a la modulación de la microbiota intestinal. Lo anterior nos permite pensar que lo observado en las histologías de este estudio, se pudo deber en parte a la modulación de la microbiota intestinal y a la reducción de los niveles plasmáticos de CT, LDL-c y TG's reduciendo los procesos inflamatorios y de acumulación de lípidos en las células hepáticas. En nuestras histologías realizadas, claramente los grupos con algún tipo de hongo tuvieron un menor daño hepático a pesar de la dieta alta en grasa y colesterol, pues en el caso de las tinciones de hematoxilina-eosina del grupo HF+S+Po, los hepatocitos de estas ratas no presentaban hipertrofia apreciable (Figura 13B), y en las tinciones de rojo oleoso se observó una acumulación de lípidos prácticamente idéntica al control (Figura 13C). No obstante, es necesario ampliar las pruebas para determinar la relación entre las poblaciones bacterianas y corroborar esta idea. Otro de los mecanismos de acción por el cual estos polisacáridos inducen el efecto hipolipídico es a

través del aumento de ácidos biliares y la excreción fecal de grasas (90). Se ha señalado que los β -glucanos solubles, pueden formar un material viscoso que impide la correcta absorción de los lípidos como los AG de cadena larga y el colesterol (88), lo anterior se ve soportado en nuestro estudio en el hecho de que las ratas del grupo HF+S+Po registraron un mayor consumo calórico que los grupos control y HF+S, siendo además estadísticamente diferentes, permitiendo pensar que estas ratas no tenían una adecuada absorción de los lípidos provenientes de la dieta. Adicionalmente se ha reportado que sustancias como el β -1-3-D-glucano y la pectina, forman enlaces con los ácidos biliares evitando la formación de micelas con colesterol, por lo que no se absorbe en el intestino y se disminuyen sus niveles en plasma (90), hecho que también se observó en los resultados bioquímicos de este trabajo. Paralelamente, otros estudios han señalado que los β -glucanos modifican la expresión de genes lipogénicos como FASN, aumentando el efecto hipolipídico (104). En el caso de nuestro estudio, la expresión de FASN fue menor que en el grupo control, pero mayor respecto a HF+S. Como ya se dijo, aunque tradicionalmente se considera a FASN como un gen lipogénico porque está implicado en la síntesis de TG's y el almacenamiento de estos en la célula, estudios más recientes indican que también juega un papel importante como activador de PPARA, induciendo indirectamente el catabolismo y consumo de los AG y que sus efectos dependen del entorno celular (75). Quizás en este sentido, se explique por qué los valores de FASN en el grupo HF+S+Po, fueron superiores a los del grupo HF+S (aunque no existe diferencia estadística), ya que indicaría una mayor activación de PPARA y no una mayor síntesis de TG. Por otro lado, el grupo que consumió *Pleorotus ostreatus* aumentó de manera significativa la expresión de LDLR respecto al grupo HF+S, indicando una mayor

captación de los lípidos contenidos en las lipoproteínas por parte de las células del hígado (88,105), lo cual coincide con los valores bajos encontrados en plasma de CT, LDL-c y TG. Respecto a la expresión de HMGCR, hubo una inhibición en su expresión respecto al grupo control, quizás debido a que la dieta hipercolesterolémica haya activado los mecanismos de homeostasis de los hepatocitos tratando de regular el exceso de colesterol aportado por la dieta y esto se haya superpuesto a la inducción de los altos niveles de AG's de incrementar la expresión de HMGCR (96). Lo anterior también fue observado en el estudio conducido por Wen-Sen He y colaboradores, en donde también se utilizó una dieta enriquecida en grasa y colesterol, y se le adicionó un esteroide fúngico (ergosterol) para evaluar su efecto en el metabolismo lipídico de ratas (88). En resumen, nuestros resultados nos permiten pensar que *Pleurotus ostreatus*, redujo la ganancia de peso y la acumulación de lípidos en el hígado, al tiempo que mejoró el perfil lipídico y la flexibilidad metabólica de los individuos, a través de un aporte importante de fibra dietética que impidió la correcta absorción de lípidos provenientes de la dieta y del aumento en la expresión de LDLR que promovió la degradación de los lípidos en las células.

En el grupo que consumió *Ustilago maydis*, también se produjo una disminución en la ganancia de peso promedio y del porcentaje de masa grasa respecto al grupo HF+S(19.83% y 6.78% menos respectivamente). Al igual que en el caso del grupo HF+S+Po, los valores séricos de CT, LDL-c y TG disminuyeron de manera significativa respecto a HF+S. Resulta interesante ver que, el aporte de fibra dietética también fue menor que en *Pleurotus* (13.07 g por cada 100 g de polvo seco), lo que reafirma la idea de que uno de los principales agentes nutraceúticos de los hongos, lo constituye los polisacáridos de la fibra dietética, pues al verse reducidos estos en cantidad, los efectos

benéficos a la salud también se vieron atenuados. Un aspecto destacable en el consumo de *Ustilago maydis*, es el hecho de que elevó significativamente la actividad antioxidante total en plasma. Hecho relevante si recordamos que esto está directamente relacionado con la recuperación de la función endotelial tan afectada en los casos de obesidad (6). La elevación de la capacidad antioxidante sérica total y los resultados de las histologías de hígado nos hace pensar que *Ustilago maydis* reduce los procesos inflamatorios provocados por una dieta alta en grasa y colesterol a través del aporte de sustancias antioxidantes como el ácido ascórbico, glutatión y tocoferoles (106). Este grupo HF+S+Um, fue el que tuvo mayor expresión de los genes LDLR y PPARA, indicando un incremento en la actividad catabólica de los AG's y colesterol en las células hepáticas (74,107). En el estudio llevado a cabo por Wen-Sen He, también se encontró un comportamiento similar en el aumento de la expresión de LDLR y HMGCR en una dieta enriquecida en grasa y colesterol, atribuyendo los efectos al ergosterol (88). Sin embargo, es probable que los efectos benéficos de *Ustilago maydis*, se deban principalmente a una regulación en la microbiota y de genes involucrados en el metabolismo lipídico como se discutirá más adelante.

Ganoderma lucidum es de los hongos medicinales con mayor investigación realizada en cuanto a sus propiedades hipocolesterolémicas en otros países. En nuestro estudio es de destacar que *Ganoderma lucidum* tuvo mayor contenido de fibra dietética en comparación con las otras dos especies estudiadas (55.41 g por cada 100g), además, al igual que *Pleurotus ostreatus*, la ingesta calórica del grupo fue estadísticamente mayor al grupo control y el grupo HF+S, indicando que el alto contenido de fibra ayudó a la menor absorción de los lípidos presentes en la dieta. Al respecto, se ha demostrado que

la ingesta de extractos de *G. lucidum* aumentan la excreción de colesterol y ácidos biliares en heces de ratones con hipercolesterolemia, evento atribuido a los glucanos contenidos en esta especie (referencia el paper del grupo de Plos One).

La ingesta de *G. lucidum* también provocó un aumento en la capacidad antioxidante total en suero de manera similar a *Ustilago maydis*. Lo anterior guarda sentido en torno a que se ha reportado que extractos etanólicos de *G. lucidum* contienen grandes cantidades de sustancias antioxidantes como los fenoles Hesperetina y Naringenina (108). También se ha demostrado que extractos de *G. lucidum* tienen la capacidad de aumentar la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, involucradas en la eliminación de especies reactivas de oxígeno en modelos in vivo (109,110). En otros estudios, la capacidad antioxidante de este hongo medicinal ha sido atribuida a la presencia de terpenos, específicamente los ácidos ganodéricos A, B, C y D, el ácido lucidénico B y el ganodermanontriol (111). Adicionalmente, en otros trabajos de investigación, se ha reportado que extractos similares de *G. lucidum* producen una reducción en los niveles de CT y LDL-c (92,112) como los obtenidos en el presente estudio, por lo que se puede inferir que estas actividades antioxidantes de *G. lucidum* pueden desempeñar un rol importante en la mejora del perfil lipídico.

En cuanto a sus posibles mecanismos de acción, a parte de la obvia intervención de la fibra dietética, se encontró que la expresión de FASN en el grupo que fue suplementados con *G. lucidum* en la dieta, fue la más baja de todos los grupos, sin embargo, PPARA tuvo una expresión similar a los grupos que ingirieron los otros dos hongos, por lo que su activación tuvo que estar mediada por otro medio. También se ha descrito el efecto

modulador de *G. lucidum* sobre HMGCR, y su efecto en la inhibición en la vía de síntesis de colesterol. Se descubrió que los esteroides oxigenados de *G. lucidum* inhiben la biosíntesis del colesterol mediante la conversión de acetato o mevalonato como precursor del colesterol. Algunos autores han sugerido que los esteroides oxigenados podrían ser reguladores endógenos de la HMG-CoA reductasa, la enzima limitante de la velocidad en la síntesis de colesterol y, en consecuencia, la biosíntesis de colesterol (113). Investigaciones señalan que el principal mecanismo de acción de este hongo en la mejora del metabolismo de lípidos es través de la modulación de la microbiota intestinal (91,92), por lo que sería necesario ampliar el estudio hacia este rubro. También se ha señalado en estudios in vivo que los polisacáridos de alto peso molecular (>300kDa) son los principales responsables de los efectos benéficos en el metabolismo lipídico (91), reportando una reducción en el aumento de peso, en los porcentajes de grasa corporal, en la reducción de los niveles de CT y LDL-c en sangre y un efecto protector en los hepatocitos reduciendo la hipertrofia y la acumulación de lípidos en vacuolas, hechos observados también en el presente estudio. Además, un aspecto muy destacable de lo encontrado en el consumo de *Ganoderma lucidum*, es el aumento en la expresión del gen ABCG5, implicado en la eliminación del colesterol a través del transporte de la molécula desde dentro de los enterocitos hacia la luz intestinal (55). Esto añade sentido en los resultados encontrados en el perfil lipídico, donde los niveles de CT y LDL-c se vieron reducidos. Resultados similares respecto al comportamiento de este gen han sido encontrados en otros estudios, donde se ha propuesto que el ácido ganodérico presente en el *Ganoderma lucidum*, funciona como ligando de LXR- α estimulando la expresión indirecta de ABCG5 (92).

Finalmente, el grupo HF+S+At, el cual sirvió como un control positivo, fue superado o al menos igualado, en varios de los parámetros evaluados del metabolismo lipídico, en comparación con el consumo de cualquiera de las tres especies de hongos, demostrando así, que pueden inducir efectos benéficos a la salud superiores a los producidos por un fármaco como la atorvastatina sin alterar parámetros como la urea, AST y ALT, que nos hicieran pensar que puedan ser tóxicos. Nuestros resultados los colocan como alimentos funcionales, que más que deber sus efectos a un solo compuesto bioactivo en particular, se recargan en el hecho de poseer varias sustancias y diversos mecanismos de acción que producen un efecto sinérgico en favor de la salud.

IX. CONCLUSIÓN

Los resultados encontrados en el presente estudio señalan que los efectos negativos del consumo de una dieta alta en grasas, carbohidratos y colesterol pueden ser disminuidos e incluso revertidos cuando se combina con el consumo de alguno de los hongos descritos. Cabe señalar que se encontraron diferencias en estos efectos dependiendo del hongo utilizado.

Se encontró que todos los grupos que contenían alguno de los hongos en la dieta y el grupo HF+S+At, lograron reducir de manera estadísticamente significativa la ganancia de peso final respecto al grupo HF+S, siendo especialmente destacable, el grupo HF+S+Po, pues tuvo una ganancia de peso casi idéntica al grupo control (322.57 y 320.71g respectivamente).

En la composición corporal, el contenido de masa grasa tuvo resultados similares al apartado anterior, pues todos los grupos redujeron de manera estadísticamente

significativa el porcentaje de masa grasa respecto al grupo HF+S, y una vez más el grupo HF+S+Po, destaca por ser el grupo con menor porcentaje de masa grasa (18.49%), incluso menos que el control (20.93%). En el contenido de masa magra, se dio el resultado inverso, siendo que todos los grupos se diferenciaron estadísticamente al grupo HF+S (todos los grupos tuvieron más masa magra que este último).

Como era de esperarse, en el perfil lipídico se encontró que la dieta HF+S, elevó los niveles plasmáticos de TG, LDL-c y CT respecto al grupo control. Interesantemente, los grupos que contenían algún hongo en la dieta y el grupo HF+S+At, tuvieron niveles plasmáticos de TG, LDL-c y CT más bajos, siendo estadísticamente diferentes del grupo HF+S. Una vez más destaca el hongo *Pleurotus ostreatus*, al ser el grupo con los niveles de CT y LDL-c más bajos (51.42 y 11.72 mg/dL). En el caso de los TG's, el grupo que consumió *Ustilago maydis*, fue el grupo con la menor concentración sérica (50.11 mg/dL).

En lo que respecta a la tolerancia a la glucosa, se encontró que el consumo de *Ganoderma lucidum* mejoró la respuesta metabólica al ser el grupo HF+S+Gl el que reportó los menores valores para el ABC.

El consumo de cualquiera de los tres tipos de hongos estudiados mejoró la función hepática de las ratas que consumían una dieta alta en grasas y carbohidratos. Esto tomando en cuenta los resultados obtenidos en el apartado de las transaminasas AST y ALT, la concentración de TG y CT en hígado y al observar las histologías realizadas al tejido hepático de las ratas.

El consumo de cualquiera de los hongos no afecta la función renal pues en ningún caso alguno de los grupos superó significativamente al grupo control.

La suplementación en la dieta con los hongos *Ustilago maydis* y *Ganoderma lucidum*, aumentó la actividad antioxidante total sérica.

Basándonos en los resultados de la calorimetría indirecta (valores de RER y VO_2), los hongos *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* y el fármaco atorvastatina, mejoran la flexibilidad metabólica de las ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y carbohidratos.

La expresión de genes asociados a una mejora en la respuesta metabólica de lípidos (LDLR, ABCG5, FASN, PPARA), aumentó con la suplementación en la dieta de cualquiera de los hongos y con el fármaco atorvastatina en comparación al grupo HF+S.

Tomando en cuenta todo lo anterior, se puede concluir que el consumo de los hongos *Ustilago maydis*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, producen efectos benéficos en la salud, disminuyendo los parámetros sanguíneos de lípidos y modificando la expresión de genes asociados al metabolismo lipídico en hígado. Por sus efectos pleiotrópicos observados en este estudio, constituyen ser buenos candidatos como alimentos funcionales, dando un valor agregado a estas cepas mexicanas.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019;15(5):288–98.
2. Serrano R. M, Ordovás JM, Gutierrez F. JA. Obesity. Primera Ed. Barcelona, España: Elsevier; 2011. 386 p.
3. Moreno-Altamirano L, García-García JJ, Soto-Estrada G, Capraro S, Limón-Cruz D. Epidemiología y determinantes sociales asociados a la obesidad y la diabetes tipo 2 en México. *Revista Médica Del Hospital General De México*. 2014;77(3):114–23.
4. World Health Organization. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva. 2018.
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Tabulados predefinidos Defunciones Generales: 14. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido [Internet]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/programas/mortalidad/>
6. Stancu C, Sima A. Statins: Mechanism of action and effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2001;5(4):378–87.
7. Alvidrez-Morales A, González-Martínez BE, Jiménez-Salas Z. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2002;
8. Brown L, Poudyal H, Panchal SK. Functional foods as potential therapeutic options for metabolic syndrome. Vol. 16, *Obesity Reviews*. 2015. p. 914–41.
9. Morales P. Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: avances y perspectivas en el siglo XXI. *Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo*; 2010. 648 p.
10. World Health Organization. Obesidad y sobrepeso [Internet]. 2020. Disponible en:

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

11. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735–52.
12. Dávila J, González J, Barrera A. Medicina social Panorama de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015;53(2):240–9.
13. Blundell JE, Dulloo AG, Salvador J, Frühbeck G. Beyond BMI - Phenotyping the obesities. *Obesity Facts*. 2014;7(5):322–8.
14. De Lorenzo A, Soldati L, Sarlo F, Calvani M, Di Lorenzo N, Di Renzo L. New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(2):681–703.
15. López-Jiménez F, Cortés-Bergoderi M. Obesidad y corazón. *Revista Española de Cardiología*. 2011;64(2):140–9.
16. Beilby J. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association. *Clin Biochem Rev*. 2004;25:195–8.
17. Lackner KJ, Peetz D. National Cholesterol Education Program. 2002.
18. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: An approach for developing guidelines based on body mass index. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;72(3):694–701.
19. Kyle UG, Schutz Y, Dupertuis YM, Pichard C. Body composition interpretation: Contributions of the fat-free mass index and the body fat mass index. *Nutrition*. 2003;19(7–8):597–604.
20. American College of Sports Medicine. *ACSM Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 2018. 501 p.

21. Han Cho N, Kirigia J, Mbanya JC, Ogurstova K, Guariguata L, Rathmann W, et al. Diabetes Atlas de la FID. Karuranga S, Fernandes J da R, Huang Y, Malanda B, editores. Vol. 8. Federación Internacional de Diabetes; 2017. 0–148 p.
22. Mitchell, N. Catenacci, V. Wyatt, HR. Hill J. Obesity: Overview of an epidemic. *Psychiatr Clin North Am.* 2011;34(4):717–32.
23. Forouzanfar MH, Afshin A, Alexander LT, Biryukov S, Brauer M, Cercy K, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet.* 2016;388(10053):1659–724.
24. Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Ávila M, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2006. 2006. 11–121 p.
25. INEGI, INSP S de S. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. *Ensanut.* 2018;1:47.
26. ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 [Internet]. Presentación de resultados. 2019. Disponible en: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
27. Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2012. p. 200.
28. Shamah-Levi T, Cuevas L, Dommarco J HM. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. (ENSANUT MC 2016). 2016.
29. Baeza-Cruz G, Peniche-Otero G, Alva-Esqueda ME, Naranjo-Muedano M, Soria-Suárez N, Morales-Flores HJ. Análisis de costo de la enfermedad, del tratamiento,

las complicaciones e intervenciones de la hipercolesterolemia en México en 2016. *Value in Health Regional Issues*. 2018;17:56–63.

30. Macias-Sanchez A, Villareal-Paez HJ. Sostenibilidad Del Gasto Público: Cobertura Y Financiamiento De Enfermedades Crónicas En México. *Ensayos Revista de Economía*. 2018;37(1):99–133.
31. Secretaría de Educacion Pública. Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria Estrategia contra el Sobrepeso y la Obesidad. 2010;1–33.
32. Obesity and the Economics of Prevention. OECD; 2010.
33. Secretaría de Salud. Acuerdo Nacional Para la Salud Alimentaria. 2010;
34. Altamirano LM, Cruz DL. Panorama general y factores asociados a la diabetes. *Rev Fac Med UNAM*. 2009;52(5):219–23.
35. Snijder MB, Visser M, Dekker JM, Seidell JC. Changes in body weight and body fat distribution as risk factors for clinical diabetes in us men. *American Journal of Epidemiology*. 2004;160(11):1133–4.
36. Koh-Banerjee P, Wang Y, Hu FB, Spiegelman D, Willett WC, Rimm EB. Changes in Body Weight and Body Fat Distribution as Risk Factors for Clinical Diabetes in US Men. *American Journal of Epidemiology*. 2004;159(12):1150–9.
37. Lavie CJ, De Schutter A, Parto P, Jahangir E, Kokkinos P, Ortega FB, et al. Obesity and Prevalence of Cardiovascular Diseases and Prognosis-The Obesity Paradox Updated. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2016;58(5):537–47.
38. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *The New England Journal of Medicine*. 2005;352:1685–95.
39. Higgins V, Adeli K. Postprandial Dyslipidemia: Pathophysiology and Cardiovascular Disease Risk Assessment. *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2017;28(3):168–84.
40. Goldberg AC. Generalidades sobre el metabolismo de los lípidos [Internet]. 2018

[citado el 19 de mayo de 2018]. Disponible en:

<https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-endocrinos-y-metabólicos/trastornos-de-los-lípidos/generalidades-sobre-el-metabolismo-de-los-lípidos>

41. Pérez Herrera A, Meneses Álvarez ME. Aportación de los ingredientes nativos de Mesoamérica en la regulación de los parámetros del Síndrome Metabólico. Segunda Ed. Universidad Autónoma de Chiapas; 2019. 29–30 p.
42. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext. South Dartmouth: MDText.com, Inc.; 2000.
43. Argüeso Armesto R, Díaz Díaz J, Díaz Peromingo J, Rodríguez González A, Castro Mao M, Diz-Lois Martínez F. Lípidos, colesterol y lipoproteínas. Galicia Clínica. 2011;72(1):7–17.
44. Bunney PE, Zink AN, Holm AA, Billington CJ, Kotz CM. Recent discoveries on absorption of dietary fat: presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes. Physiology and Behavior. 2017;176(1):139–48.
45. Hooper AJ, Burnett JR, Watts GF. Contemporary aspects of the biology and therapeutic regulation of the microsomal triglyceride transfer protein. Circulation Research. 2015;116(1):193–205.
46. Carvajal C. Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. Revisión bibliográfica. Medicina Legal de Costa Rica Edición virtual. 2014;31(2):829–37.
47. Geesje M. D-T, Remco F, Hans L. M, Maartje E. V, H. Carlijne H, Frank P, et al. The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited; new players, new insight. PubMed. 2010;
48. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. Trends in Biochemical Sciences. 2007;32(2):71–7.
49. Zhang L, Reue K, Fong LG, Young SG, Tontonoz P. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis. Arteriosclerosis, Thrombosis, and

Vascular Biology. 2012;32(11):2541–6.

50. Wang S, Smith JD. ABCA1 and nascent HDL biogenesis. *BioFactors*. 2014;40(6):547–54.
51. Ossoli A, Simonelli S, Vitali C, Franceschini G, Calabresi L. Role of LCAT in atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2016;23(2):119–27.
52. Moore KJ, J. Rayner K, Yajaira S, Fernández-Hernando C. The Role of MicroRNAs in Cholesterol Efflux and Hepatic Lipid Metabolism. *Annual Review of Nutrition*. 2011;
53. Mabuchi H, Nohara A, Inazu A. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency and CETP inhibitors. *Molecules and Cells*. 2014;37(11):777–84.
54. Trigatti BL. SR-B1 and PDZK1: Partners in HDL regulation. *Current Opinion in Lipidology*. 2017;28(2):201–8.
55. Kidambi S, Patel SB. Cholesterol and non-cholesterol sterol transporters: ABCG5, ABCG8 and NPC1L1: A review. *Xenobiotica*. 2008;38(7–8):1119–39.
56. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. Vol. 5, *Nutrients*. 2013. p. 1544–60.
57. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*. 2003;37(5):1202–19.
58. Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR, Borén J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008;28(7):1225–36.
59. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, McNeely MJ, Edwards KL, Curb JD, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. Vol. 86, *American Journal of Cardiology*. 2000. p. 412–6.

60. Stuart Gray R, Robbins DC, Wang W, Yeh JL, Fabsitz RR, Cowan LD, et al. Relation of LDL size to the insulin resistance syndrome and coronary heart disease in American Indians: The strong heart study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1997;17(11):2713–20.
61. Lluch M. Influencia de los niveles de colesterol sobre el metabolismo de la arginina y el estrés oxidativo. efectos del tratamiento con estatinas. 2008. 220 p.
62. Carvajal Carvajal C. LDL oxidada y la aterosclerosis. *Medicina Legal de Costa Rica*. 2015;32(1):161–9.
63. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation*. 1991;88(6):1785–92.
64. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*. 1992;13(4):341–90.
65. Choi S, Harkewicz R, Lee JH, Boullier A, Almazan F, Li AC, et al. Lipoprotein accumulation in macrophages via TLR4-dependent fluid phase uptake. 2009;104(12):1355–63.
66. Calmarza-Calmarza P. Lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas. *Revista Electrónica de Biomedicina*. 2008;52–60.
67. Tribble DL, Holl LG, Wood PD, Krauss RM. Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of differing density and particle size. Vol. 93, *Atherosclerosis*. 1992. p. 189–99.
68. Vaughan CJ, Gotto AM, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;35(1):1–10.
69. Brown MS, Goldstein JL. Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase , a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *Journal of lipid research*. 1980;21(44).

70. González Jiménez E, Álvarez Ferre J. Estatinas: Características y Efectos sobre el Control Lipídico en el Niño y Adolescente Obeso. *Revista Clínica de Medicina de Familia*. 2011;4(1):69–75.
71. Yokoyama C, Wang X, Briggs MR, Admon A, Wu J, Hua X, et al. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Vol. 75, Cell*. 1993. p. 187–97.
72. Bilheimer DW, Grundy SM, Brown MS, Goldstein JL. Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. 1983. *Atherosclerosis Supplements*. 2004;5(3):61–5.
73. Wagner AH, Köhler T, Rückschloss U, Just I, Hecker M. Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Vol. 20, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000. p. 61–9.
74. Lindgren V, Luskey KL, Russell DW, Francke U. Human genes involved in cholesterol metabolism: Chromosomal mapping of the loci for the low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase with cDNA probes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1985;82(24):8567–71.
75. Jensen-Urstad APL, Semenkovich CF. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: Housekeeper or messenger? *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2012;1821:747–53.
76. O'Leary NA, Wright MW, Brister JR, Ciuffo S, Haddad D, McVeigh R, et al. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic acids research*. 2016.
77. Coronado M, Vega S, León R, Gutiérrez T, Pérez J, Peláez K. *Nutrigenética aplicada: dieta personalizada y formación académica para la práctica profesional*.

78. Gibson G. The environmental contribution to gene expression profiles. *Nature Reviews Genetics*. 2008;9(8):575–82.
79. Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: Emerging patterns and implications. *Nature Reviews Genetics*. 2012;13(2):97–109.
80. Poddar KH, Ames M, Hsin-Jen C, Feeney MJ, Wang Y, Cheskin LJ. Positive effect of mushrooms substituted for meat on body weight, body composition, and health parameters. A 1-year randomized clinical trial. *Appetite*. 2013;71:379–87.
81. Patel S. Nutrition, safety, market status quo appraisal of emerging functional food corn smut (huitlacoche). *Trends in Food Science and Technology*. 2016;57:93–102.
82. Martínez-Flores A, Corrales-García JJ, Espinosa-Solares T, García-Gatica PG, Villanueva-Verduzco C. Cambios postcosecha del hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* (D. C.) Corda). *Revista Chapingo Serie horticultura*. 2008;14(3):339–46.
83. Valverde ME, Paredes-López O. Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis*). *Food Biotechnology*. 1993;7(3):207–19.
84. Couturier M, Navarro D, Olivé C, Chevret D, Haon M, Favel A, et al. Post-genomic analyses of fungal lignocellulosic biomass degradation reveal the unexpected potential of the plant pathogen *Ustilago maydis*. *BMC Genomics*. 2012;13(1).
85. Farvid MS, Ding M, Pan A, Sun Q, Chiuve SE, Steffen LM, et al. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation*. 2014;130(18):1568–78.
86. Dong Y, Zhang J, Gao Z, Zhao H, Sun G, Wang X, et al. Characterization and anti-hyperlipidemia effects of enzymatic residue polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;129:316–25.
87. Piska K, Sułkowska-Ziaja K, Muszyńska B. Edible mushroom *Pleurotus ostreatus*

(Oyster mushroom) – Its dietary significance and biological activity. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*. 2017;16(1):151–61.

88. He W Sen, Cui D, Li L, Tong LT, Rui J, Li H, et al. Cholesterol-reducing effect of ergosterol is modulated via inhibition of cholesterol absorption and promotion of cholesterol excretion. *Journal of Functional Foods*. 2019;57(December 2018):488–96.
89. Schneider I, Kressel G, Meyer A, Krings U, Berger RG, Hahn A. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. *Journal of Functional Foods*. 2011;3(1):17–24.
90. Alam N, Amin R, Khan A, Ara I, Shim MJ, Lee MW, et al. Comparative Effects of Oyster Mushrooms on Lipid Profile, Liver and Kidney Function in Hypercholesterolemic Rats. *Mycobiology*. 2009;37(1):37.
91. Chang C, Lin C, Lu C, Martel J, Ko Y, Ojcius DM, et al. *Ganoderma lucidum* reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Nature Communications*. 2015;6(May):1–17.
92. Meneses ME, Martínez-Carrera D, Torres N, Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Morales P, et al. Hypocholesterolemic Properties and Prebiotic Effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 Mice. Li Volti G, editor. *PLoS ONE*. 2016;11(7):1–20.
93. Chu TTW, Benzie IFF, Lam CWK, Fok BSP, Lee KKC, Tomlinson B. Study of potential cardioprotective effects of *Ganoderma lucidum* (Lingzhi): results of a controlled human intervention trial. *The British journal of nutrition*. 2012;107(7):1017–27.
94. Reeves PG, Suppl M. Symposium : Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet 1 , 2. *Experimental Biology*. 1997;127:838–41.
95. Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Pérez-Cruz C, Pichardo-Ontiveros E, Wang

- M, Donovan SM, et al. Nopal (*Opuntia ficus indica*) protects from metabolic endotoxemia by modifying gut microbiota in obese rats fed high fat/sucrose diet. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1–16.
96. Wu N, Sarna LK, Hwang SY, Zhu Q, Wang P, Siow YL, et al. Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2013;1832(10):1560–8.
 97. Khan AA, Gani A, Khanday FA, Masoodi FA. Biological and pharmaceutical activities of mushroom β -glucan discussed as.pdf. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre Elsevier*; 2017.
 98. Mau J-L, Lin H-C, Chen C-C. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of agricultural and food chemistry*. el 9 de octubre de 2002;50(21):6072–7.
 99. Khan AA, Gani A, Khanday FA, Masoodi FA. Biological and pharmaceutical activities of mushroom β -glucan discussed as a potential functional food ingredient. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2017;
 100. Vamanu E. Complementary Functional Strategy for Modulation of Human Gut Microbiota. *Current Pharmaceutical Design*. 2018;24(35):4144–9.
 101. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027–31.
 102. Hu X, Wang T, Liang S, Li W, Wu X, Jin F. Antibiotic-induced imbalances in gut microbiota aggravates cholesterol accumulation and liver injuries in rats fed a high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015;99(21):9111–22.
 103. Nakahara D, Nan C, Mori K, Hanayama M, Kikuchi H, Hirai S, et al. Effect of mushroom polysaccharides from *Pleurotus eryngii* on obesity and gut microbiota

- in mice fed a high-fat diet. *European Journal of Nutrition*. 2019;(0123456789).
104. Drozdowski LA, Reimer RA, Temelli F, Bell RC, Vasanthan T, Thomson ABR. β -Glucan extracts inhibit the in vitro intestinal uptake of long-chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2010;21(8):695–701.
 105. Goldstein JL, Brown MS, Anderson RG, Russell DW, Schneider WJ. Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Annual review of cell biology*. 1985;1:1–39.
 106. Carrera DM, Juarez JR (Eds). *Ciencia, Tecnologia e Innovacion en el Sistema Agroalimentario de México*. 2016. 856 p.
 107. Guillou H, Martin PGP, Pineau T. Transcriptional regulation of hepatic fatty acid metabolism. *Sub-Cellular Biochemistry*. 2008;49:3–47.
 108. Veljović S, Veljović M, Nikićević N, Despotović S, Radulović S, Nikšić M, et al. Chemical composition, antiproliferative and antioxidant activity of differently processed *Ganoderma lucidum* ethanol extracts. *Journal of Food Science and Technology*. 2017;54(5):1312–20.
 109. Ajith TA, Sudheesh NP, Roshny D, Abishek G, Janardhanan KK. Effect of *Ganoderma lucidum* on the activities of mitochondrial dehydrogenases and complex I and II of electron transport chain in the brain of aged rats. Vol. 44, *Experimental Gerontology*. 2009. p. 219–23.
 110. Smina TP, De S, Devasagayam TPA, Adhikari S, Janardhanan KK. *Ganoderma lucidum* total triterpenes prevent radiation-induced DNA damage and apoptosis in splenic lymphocytes in vitro. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2011;726(2):188–94.
 111. Cör D, Knez Ž, Hrnčič MK. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules*. 2018;23(3):1–21.

112. Pan D, Zhang D, Wu J, Chen C, Xu Z, Yang H, et al. Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Activities of a Novel Proteoglycan from *Ganoderma Lucidum* Fruiting Bodies on db/db Mice and the Possible Mechanism. Miele C, editor. PLoS ONE. el 11 de julio de 2013;8(7):e68332.
113. Hajjaj H, Macé C, Roberts M, Fay LB, Mace C, Niederberger P, et al. Effect of 26-Oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and Their Activity as Cholesterol Synthesis Inhibitors Effect of 26-Oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and Their Activity as Cholesterol Synthesis Inhibitors. PLoS ONE. 2015;13(7):3653–8.