

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



UANL

**EFFECTO DE UNA GALLETA DE AVENA ENRIQUECIDA CON HARINA DE
FRIJOL BIOTRANSFORMADA POR *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL ESTADO
NUTRICIONAL E INFLAMATORIOS EN RATONES CD1 MACHO CON
ALTERACIÓN METABÓLICA**

POR

XIOMARA CARDONA SANTILLÁN

**Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN NUTRICIÓN**

Monterrey, N.L, México

Marzo, 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**EFFECTO DE UNA GALLETA DE AVENA ENRIQUECIDA CON HARINA DE
FRIJOL BIOTRANSFORMADA POR *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL ESTADO
NUTRICIONAL E INFLAMATORIOS EN RATONES CD1 MACHO CON
ALTERACIÓN METABÓLICA**

POR

LN. XIOMARA CARDONA SANTILLÁN

DIRECTOR DE TESIS

DR. HERIBERTO CASTRO GARCÍA

CODIRECTORA DE TESIS

DRA. EDITH ESPINOSA PÁEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN NUTRICIÓN**

Monterrey, N.L, México

Marzo, 2026

**EFFECTO DE UNA GALLETA DE AVENA ENRIQUECIDA CON HARINA DE
FRIJOL BIOTRANSFORMADA POR *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL ESTADO
NUTRICIONAL E INFLAMATORIOS EN RATONES CD1 MACHO CON
ALTERACIÓN METABÓLICA**

POR

XIOMARA CARDONA SANTILLÁN

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

APROBACIÓN DEL COMITÉ DE TESIS

Dr. Heriberto Castro García

Director de Tesis

Dra. Edith Espinosa Páez

Codirectora de Tesis

Dra. Vania Urías Orona

Miembro de La Comisión de Tesis

Dra. En C. Blanca Edelia González

Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

**EFFECTO DE UNA GALLETA DE AVENA ENRIQUECIDA CON HARINA DE
FRIJOL BIOTRANSFORMADA POR *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL ESTADO
NUTRICIONAL E INFLAMATORIOS EN RATONES CD1 MACHO CON
ALTERACIÓN METABÓLICA**

Este trabajo fue desarrollado en colaboración con la Universidad de Monterrey (UDEM), en el Laboratorio de Bromatología, bajo la supervisión y codirección de la Dra. Edith Espinosa Páez, así como la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), en el Laboratorio de Electrofisiología bajo la supervisión del Dr. Juan José Acevedo Fernández. La dirección general del proyecto estuvo a cargo del Dr. Heriberto Castro García.

Dr. Heriberto Castro García

Director

Edith Espinosa Páez

Codirector

AGRADECIMIENTOS

Durante este trabajo hubo muchas personas a mi alrededor hacia las que siento la necesidad de incluir por diversas razones. A mis padres por apoyarme durante estos dos años y me dieron la oportunidad de estudiar la licenciatura para poder estar aquí. A mis hermanos, que me inspiran a ser mejor para que ellos también puedan aspirar a algo en el futuro. A la Dra. Edith, por haberme permitido trabajar en un proyecto que ella inició y puso tanto tiempo y esfuerzo, darme consejos profesionales, personales, motivación y mucha información respecto a la elaboración de la galleta utilizada en el periodo experimental. Paulina, que me acompañó durante mi estancia de investigación y fue la mejor compañera de cuarto que podría pedir, me apoyó con la elaboración de la galleta y compartimos muchas experiencias intentando sobrevivir a un pequeño paso de la “vida independiente”. Mis compañeras de generación Brenda, Nancy, Paulina y Alejandra que se mantuvieron unidas durante todo el proceso, aunque llegamos a un punto donde vernos era difícil por nuestros proyectos, nunca nos dimos la espalda y convivir entre todas siempre fue agradable. Procuraron por mí, me escucharon y pudimos vivir experiencias quizá comunes pero inolvidables como generación. A mis profesores, desde licenciatura, que me inspiraron a conocer más, a estudiar más, a intentar más de lo que vimos en clase. A mis compañeros de laboratorio en Cuernavaca Luis, Vanesa, Roberto y André, que me acogieron en un momento en el que mi compañera Pau y yo nos hacíamos compañía mutua durante el verano cuando el resto de los estudiantes descansaban. Vanesa siempre me recordó expresar mis emociones y frustraciones, Roberto me consoló en el momento más estresante de trabajo experimental, Luis con quien tuve conversaciones por horas sobre el posgrado y la vida. Al Dr. Acevedo, que siempre nos habló claramente, nos cuestionó, aunque fuera duro escucharlo, nos hizo pensar sobre nuestras decisiones y autonomía en nuestros proyectos. A la Maestra Elly, que siempre procuro por nosotros en el laboratorio, compartió sus anécdotas y nos motivó a seguir adelante. A mis compañeras de casa, Montse y Dulce, que me ayudaron a olvidar el estrés (a veces a recordarlo también) y a divertirme cuando no estaba en el laboratorio. Gerardo, que aunque no sea alguien que frecuente mucho en la

actualidad, fue quien me generó curiosidad para considerar la posibilidad de integrarme en el mundo de la investigación. A mi mejor amiga Tanya, por apoyarme hasta ahora y a pesar de las dificultades de ser adultas, sigue deseando que mi carrera profesional y académica sea exitosa. Mi amigo Yussef, que siempre me recordó que tengo que ver la vida de manera optimista y con quien nunca se me acaba la conversación. A todas las personas que aceptaron a 'Bibro', y al mismo Bibro por haberme consolado y darme motivación para volver a casa y abrazarlo. Eder, por haberme apoyado en las locuras de explorar un poco más el mundo y siempre alentarme a ser más social y romper mis propias barreras. A mis amigos que me esperaron con los brazos abiertos en Japón (Ryu, Taro, Megumi, Shiori, Hideki, Tsukasa), porque me ayudaron a empujar mis límites personales más allá de nuestros hobbies. Y finalmente, a mi director de tesis, el Dr. Heriberto, que me acompañó durante estos dos años incluso durante mi estancia, se volvió alguien que, en vez de alterarme ante los problemas, me ayudó a tranquilizarme y buscar una solución. Porque no solo me compartió conocimiento, sino que también me ayudó a crecer como persona, como docente, como estudiante. Considero que si no está harto de que hablé tanto, pude conseguir un colega, un amigo y un mentor. Una persona que me trató de manera humana y lo mínimo que puedo ofrecer de vuelta es comprenderlo como lo que somos, humanos. Quien nunca dudo en darme respuestas (mentira, una pregunta no me la respondió) y que espero haya podido liberar un poco de su estrés del día a día. Demostró en sus ideas y acciones lo que otras personas hicieron por él, y trata de reproducirlo con sus tesis y alumnos. Quisiera seguir esa línea, y tomar todo lo positivo que aprendí para el futuro. Muchas gracias a todos.

CONTENIDO

RESUMEN	14
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	18
2. ANTECEDENTES	20
2.1. Alimentos funcionales	20
2.1.1 Características	20
2.1.2 Clasificación	21
2.1.3 Propiedades antiinflamatorias	22
2.2. Matrices alimentarias	24
2.2.1 Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	24
2.2.2 Propiedades nutricionales y nutraceuticas del frijol	25
2.2.3 Avena (<i>Avena sativa</i>)	26
2.2.4 Propiedades nutricionales y nutraceuticas de la avena	27
2.3. Proceso de fermentación sólida	27
2.4. <i>Pleurotus ostreatus</i>	29
2.4.1 Propiedades nutraceuticas del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
2.5 Modelo animal y análisis del estado inflamatorio	30
2.5.1. Dietas obesogénicas	31
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	32
4. JUSTIFICACIÓN	32
5. HIPÓTESIS	34
6. OBJETIVOS	34
6.1. Objetivo general	34
6.2. Objetivos específicos	34

7. METODOLOGÍA.....	34
7.1 Producción de la galleta.....	34
7.1.1 Inoculo.....	35
7.1.2 Preparación de formulaciones.....	36
7.1.3 Análisis químico proximal.....	37
7.2 Diseño experimental del modelo <i>in vivo</i>	38
7.3 Dietas.....	39
7.3.1 Dieta control	39
7.3.2 Dieta hipercalórica.....	39
7.3.3 Dieta de suplementación: galleta biotransformada.....	40
7.4 Cálculo de consumo de alimento.....	41
7.5 Ratones crías macho.....	41
7.6 Tamaño muestral.....	44
7.7 Análisis de muestras.....	45
7.7.1 Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)	45
7.7.1.1 Preparación de las muestras.....	45
7.7.2 Factor de Necrosis Tumoral Alfa	46
7.7.2.1 Preparación de reactivos.....	46
7.7.2.2 Protocolo de ensayo.....	48
7.7.3 Interleucina 6	48
7.7.3.1 Preparación de reactivos.....	49
7.7.3.2 Protocolo de ensayo.....	49
7.7.4 Interleucina 10	50
7.7.4.1 Preparación de reactivos.....	50
7.7.4.2 Protocolo del ensayo.....	51

7.8 Análisis estadístico	51
7.9 Bioética	51
7.10 Bioseguridad	52
8. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	53
9. Resultados	55
2.1. Fase 1	55
2.1.1. Cambios relacionados con la dieta en el aumento de peso e ingesta..	55
2.1.2. Cambios relacionados a la dieta en parámetros bioquímicos	57
2.2. Fase 2	59
2.2.1 Cambios en el peso y la ingesta relacionados a la suplementación.....	59
2.2.2 Cambios relacionados a la suplementación en parámetros bioquímicos	66
2.2.3 Cambios relacionados con la suplementación en tejidos	69
2.2.4 Cambios en parámetros inflamatorios	72
2.2.5 Correlación entre el peso y los niveles de glucosa	75
2.2.5 Correlación entre los niveles de TNF- α y de glucosa	76
2.2.6 Correlación entre los niveles de IL-10 e IL-6	77
10. Discusión	79
10.1 Peso e ingesta	79
10.2 Metabolismo de glucosa	82
10.3 Metabolismo de lípidos	82
10.4 Tejidos	83
10.4 Marcadores de inflamación	86
11. Conclusiones	89
10. REFERENCIAS	91

LISTA DE ABREVIATURAS

IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral α
HIP	Dieta hipercalórica
STD	Dieta estándar
HIPSTD	Dieta hipercalórica-estándar
B	Galleta biotransformada
SB	Galleta sin biotransformar
SG	Sin galleta

LISTA DE TABLAS

NÚMERO	TÍTULO	PÁGINA
1.	Enfermedades que tienen un componente inflamatorio crónico	23
2.	Clasificación del frijol común	25
3.	Clasificación de la avena	26
4.	Ingredientes base para la elaboración de las galletas biotransformadas y sin biotransformar	37
5.	Métodos requeridos para el análisis químico proximal de la galleta biotransformada con <i>Pleurotus ostreatus</i>	37
6.	Composición energética de las dietas para el modelo experimental por cada 100 gramos	39
7.	Tabla de operacionalización de variables	57
8.	Consumo total de macronutrientes durante la fase 1.	54
9.	Composición de la ingesta en los grupos Estándar	63
10.	Composición de la ingesta en los grupos Hipercalóricos	63
11.	Composición de la ingesta en los grupos Hipercalórico-estándar	64
12.	Comparación del consumo de dieta y galletas durante la fase 2 en los grupos suplementados	65

LISTA DE FIGURAS

NÚMERO	TÍTULO	PÁGINA
1.	Esquema de obtención de harinas fermentadas con <i>Pleurotus ostreatus</i>	36
2.	Representación gráfica del diseño experimental	43
3.	Evolución del peso durante la Fase 1	55
4.	Evolución de la ingesta durante la Fase 1	56
5.	Niveles de glucosa durante la Fase 1	57
6.	Prueba de tolerancia oral a la glucosa durante la Fase 1 (semana 4)	58
7.	Triglicéridos circulantes durante la Fase 1	59
8.	Evolución del peso por grupo durante la Fase 2	60
9.	Evolución de la ingesta por grupo durante la Fase 2	61
10.	Niveles de glucosa por grupo durante la Fase 2	66
11.	Prueba de tolerancia a la glucosa por grupo durante la Fase 2	67
12.	Evolución de los triglicéridos por grupo durante la Fase 2	68
13.	Relación hígado/peso corporal durante la Fase 2	69
14.	Comparación del tejido hepático por grupos suplementados durante la Fase 2	70
15.	Relación tejido adiposo/peso corporal durante la Fase 2	71
16.	Relación intestino/peso corporal durante la Fase 2	72
17.	Niveles de IL-6 por grupo	73
18.	Niveles de TNF- α por grupo	74
19.	Niveles de IL-10 por grupo	75
20.	Correlación entre los niveles de glucosa al minuto 15 en la prueba de tolerancia oral a la glucosa y el peso durante la semana 20	76
21.	Correlación entre los niveles de glucosa al minuto 15 en la prueba de tolerancia oral a la glucosa y los niveles de TNF- α	77
22.	Correlación entre los niveles de IL-6 e IL-10	78

DEFINICIONES

Alimento funcional: alimento de consumo habitual que proporciona beneficios adicionales a la salud además de los nutrientes básicos como los hidratos de carbono, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales.

Bioaccesibilidad: cantidad de nutrientes o componente activo que se encuentra disponible en el tracto digestivo para su posterior absorción.

Biotransformación: proceso en el que microorganismos no patógenos se desarrollan en base a un sustrato modificando las propiedades, el alimento original por medio de la secreción de diversas enzimas lipolíticas, proteolíticas y amilolíticas

Dieta tipo cafetería: dieta utilizada en modelos animales para la inducción de obesidad que simula el patrón dietético no saludable con alimentos altos en grasa y azúcares de los humanos.

Ensayo de Inmunoadsorción Ligado a Enzima (ELISA): técnica de análisis en la que se emplea un anticuerpo ligado a una enzima que pueda unirse a un sustrato de interés para generar un producto detectable por medio de una reacción colorimétrica.

Factor de Necrosis Tumoral Alfa: citocina del sistema inmune que interviene en la estimulación de la fase aguda de la respuesta inflamatoria.

Biotransformación: un tipo de proceso de fermentación en el que microorganismos (generalmente hongos y bacterias) descomponen los compuestos de un sustrato de interés. Durante la fermentación es posible mejorar las características de un alimento debido a la formación de compuestos bioactivos y bioaccesibilidad de nutrientes.

Grelina: hormona producida principalmente en el estómago y se encarga de regular el apetito, induciendo el hambre en el individuo.

Interleucina 6: hormona que participa en la respuesta inflamatoria que en tejido adiposo se relacionan con el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina.

Interleucina 10: hormona antiinflamatoria encargada de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias y la regulación de macrófagos M2 en tejido adiposo, que contribuyen a la disminución de la respuesta inflamatoria y las alteraciones del metabolismo de lípidos en tejido adiposo.

Leptina: hormona producida principalmente en el tejido adiposo y disminuye el apetito. Durante la obesidad, puede existir una resistencia a esta hormona.

Micelio: etapa de desarrollo de los hongos pluricelulares conformada por una masa de hifas ramificadas. Etapa vegetativa del hongo antes de la fructificación.

Nutracéutico: compuestos encontrados en los alimentos que proporcionan funciones a nivel biológico, pueden ser lípidos, carbohidratos, lipoproteínas, vitaminas, minerales, isoprenoides, aminoácidos, polifenoles, entre otros.

***Pleurotus ostreatus*:** variedad de hongo comestible de la *Pleurotaceae*, también llamado “oreja blanca” en México, con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

Ratones CD-1: ratones exogámicos y con amplia diversidad genética utilizados para el estudio de toxicología, inmunología, farmacología y metabolismo. Su diversidad genética los hace un buen modelo de estudio ya que es similar a la variabilidad encontrada en poblaciones humanas.

RESUMEN

Introducción: el sobrepeso y la obesidad son unos de los principales problemas de salud a nivel mundial, con una prevalencia de 75.2% de la población adulta en México. El desarrollo de obesidad provoca alteraciones a nivel metabólico que pueden favorecer la inflamación de bajo grado a nivel sistémico. En los últimos años, se ha favorecido el consumo de alimentos funcionales formulados considerando el contenido de componentes bioactivos.

Objetivo: evaluar el efecto del consumo de una galleta de avena y harina de frijol biotransformada por el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre el estado nutricional e inflamatorio de ratones CD-1 macho con alteración metabólica.

Material y métodos: Se utilizaron 45 ratones CD-1 macho de 4 semanas que se dividieron en 9 grupos de 5 ratones cada uno. El estudio se dividió en dos fases principales: 1) fase de inducción de la alteración metabólica, administrando una dieta hipercalórica o estándar por un periodo de 12 semanas; 2) Fase de suplementación, en la que se administraron 2 variedades de galleta (con harina de frijol biotransformada y sin biotransformar) además de la dieta base por un periodo de 8 semanas.

Resultados: durante la primera fase, los niveles de peso, ingesta, glucosa y triglicéridos presentaron niveles similares. La principal diferencia significativa se presentó en el consumo de macronutrientes con un consumo mayor de energía ($p < 0.04$), proteínas ($p < 0.001$) y lípidos ($p < 0.001$). Durante la fase dos se presentaron fluctuaciones de peso principalmente en los grupos Hipercalóricos (SB vs B, $p < 0.01$) y en los grupos Hipercalóricos-estándar (SB vs SG $p < 0.01$). En la ingesta se observó un aumento en el consumo de proteínas y lípidos en los grupos Estándar (sem 12 $p = 0.001$, sem 16 $p = 0.001$) e Hipercalóricos (sem 12, $p = 0.001$, sem 16, $p < 0.001$, sem 20 $p < 0.05$). También se observó una preferencia por el consumo de las galletas biotransformadas y sin biotransformar durante la penúltima semana del estudio (sem 18, $p = 0.001$). En la relación hígado/peso corporal se observaron diferencias significativas al comparar HIPER SG contra HIPER B ($p = 0.46$) e HIPER SB ($p =$

0.49). En el tejido adiposo se pudieron observar diferencias en el grupo STD SG respecto al grupo STD B ($p = 0.019$). Por otra parte, se encontró una reducción en el grupo HIPSTD SG en comparación con el grupo HIPSTD SB ($p = 0.01$). En cuanto a las citocinas pro y antiinflamatorias la IL-6 mostro diferencias en los grupos Hipercalórico-estándar el grupo SB presentó niveles significativamente más altos en comparación con los grupos B y SG ($p < 0.005$), similar a los observado en los niveles de IL-10 con una diferencia entre el grupo HIPSTD SG respecto al grupo HIPSTD SB ($p = 0.031$). Así mismo se encontraron correlaciones entre los niveles de glucosa durante el minuto 15 y el peso de la semana 20 ($r = 0.602$, $p = 0.018$), los niveles de TNF- α y glucosa ($r = -0.910$, $p < 0.001$) y los niveles de IL-6 e IL-10 ($r = -0.681$, $p = 0.044$).

Conclusiones: El consumo de la galleta biotransformada por *Pleurotus ostreatus*, especialmente cuando se combina con una transición de dieta hipercalórica a estándar, favorece significativamente la reversión de alteraciones metabólicas, principalmente en los niveles de IL-6. Asimismo, en modelos que mantienen una alimentación saludable, la suplementación ejerce un papel preventivo clave al mitigar la acumulación de tejido adiposo y el incremento del volumen hepático.

ABSTRACT

Introduction: Overweight and obesity are major global health issues, with a prevalence of 75.2% among the adult population in Mexico. The development of obesity leads to metabolic alterations that can promote systemic low-grade inflammation. In recent years, the consumption of functional foods formulated with bioactive components has been encouraged.

Objective: To evaluate the effect of consuming an oat and bean flour cookie biotransformed by the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* on the nutritional and inflammatory status of male CD-1 mice with metabolic alterations.

Material and Methods: Forty-five 4-week-old male CD-1 mice were used, divided into 9 groups of 5 mice each. The study consisted of two main phases: 1) a metabolic alteration induction phase, administering either a hypercaloric or a standard diet for 12 weeks; 2) a supplementation phase, where two cookie varieties (with biotransformed and non-biotransformed bean flour) were administered alongside the base diet for 8 weeks.

Results: During the first phase, weight, food intake, glucose, and triglyceride levels remained similar. The main significant difference was observed in macronutrient intake, with higher consumption of energy ($p < 0.04$), proteins ($p < 0.001$), and lipids ($p < 0.001$). During phase two, weight fluctuations occurred mainly in the Hypercaloric groups (SB vs B, $p < 0.01$) and the Hypercaloric-Standard groups (SB vs SG, $p < 0.01$). Regarding food intake, an increase in protein and lipid consumption was observed in the Standard (week 12 $p = 0.001$, week 16 $p = 0.001$) and Hypercaloric groups (week 12, $p = 0.001$; week 16, $p < 0.001$; week 20 $p < 0.05$). A preference for both biotransformed and non-biotransformed cookies was noted during the penultimate week of the study (week 18, $p = 0.001$). In the liver-to-body weight ratio, significant differences were found when comparing HIPER SG against HIPER B ($p = 0.46$) and HIPER SB ($p = 0.49$). In adipose tissue, differences were observed in the STD SG group compared to the STD B group ($p = 0.019$). Furthermore, a reduction was found

in the HIPSTD SG group compared to the HIPSTD SB group ($p=0.01$). Regarding pro- and anti-inflammatory cytokines, IL-6 showed differences in the Hypercaloric-Standard groups; the SB group presented significantly higher levels compared to the B and SG groups ($p<0.005$), similar to observations in IL-10 levels, with a difference between the HIPSTD SG and HIPSTD SB groups ($p=0.031$). Additionally, correlations were found between glucose levels at minute 15 and weight at week 20 ($r=0.602$, $p=0.018$), TNF- α and glucose levels ($r=-0.910$, $p<0.001$), and IL-6 and IL-10 levels ($r=-0.681$, $p=0.044$).

Conclusions: The consumption of the cookie biotransformed by *Pleurotus ostreatus*, especially when combined with a transition from a hypercaloric to a standard diet, significantly favors the reversal of metabolic alterations, particularly in IL-6 levels. Likewise, in models maintaining a healthy diet, supplementation plays a key preventive role by mitigating adipose tissue accumulation and the increase in liver volume.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es definida como una acumulación de grasa corporal que puede ser perjudicial para la salud. A lo largo de las últimas dos décadas, las cifras de incidencia se han triplicado, de modo que para el 2019 se contaba con 1900 millones de adultos con sobrepeso y 650 millones con obesidad, por lo que se considera una epidemia a nivel mundial (World Health Organization, 2021). En México, la prevalencia de obesidad representa un 36.9% de la población adulta (Instituto Nacional de Salud Pública, 2023). La obesidad predispone al desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión y enfermedades cardiovasculares, que representan las principales causas de muerte actualmente a nivel global.

Al ser influenciada por la alimentación, según la Organización Mundial de la Salud es posible asociar una dieta alta en grasas y azúcares como un factor de riesgo para el desarrollo de la obesidad, por medio de alteraciones metabólicas que pueden elevar el estrés oxidativo, deterioro celular e inflamación. Al consumir este tipo de dietas, diversos marcadores bioquímicos relacionados con la inflamación como algunas citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) se ven alterados debido a la pérdida de la capacidad reguladora del tejido adiposo. En este contexto, la incorporación de alimentos funcionales ha cobrado relevancia debido a su potencial para aportar beneficios adicionales a la salud más allá de su valor nutricional básico. Se caracterizan por la presencia de compuestos bioactivos capaces de ejercer efectos fisiológicos a nivel metabólico. Adicionalmente, estos alimentos pueden ser sometidos a procesos tecnológicos que permiten incrementar la biodisponibilidad y el aprovechamiento de sus nutrientes y compuestos activos. Entre estos procesos, la fermentación ha sido objeto de particular interés, ya que los alimentos fermentados por microorganismos pueden contener una mayor cantidad de compuestos antioxidantes en comparación con sus variantes no fermentadas. Entre estos alimentos podemos encontrar cereales y leguminosas, como la quinoa, la cebada, la avena y variedades de frijol y garbanzo. La biotransformación, se obtiene por medio del uso de microorganismos no patógenos que se desarrollan en base a

un sustrato modificando las propiedades, el alimento original por medio de la secreción de diversas enzimas lipolíticas, proteolíticas y amilolíticas (Guengerich *et al.*, 2023).. Además, auxilia en la hidrólisis de macronutrientes, aumentando el contenido de fibra soluble por medio de la producción de almidones resistentes (Badia-Olmos *et al.*, 2024). Dentro de los efectos positivos asociados a su consumo, se encuentran la disminución de la inflamación, especialmente durante estrés metabólico, auxiliando en la regulación de las citocinas proinflamatorias que mantienen el ciclo. Espinosa-Páez reportó un aumento en la actividad de compuestos fenólicos y polifenoles por el uso del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante la elaboración de una galleta, cuyos ingredientes han sido fermentados por el microorganismo (Espinoza-Páez *et al.*, 2021). Otro estudio, han encontrado una correlación con su capacidad para reducir el estrés e inflamación encontrados en tejido adiposo de Ratón CD-1 (González-Ibáñez *et al.*, 2023). Aunque se cuenta con investigaciones que han respaldado el potencial del uso de leguminosas fermentadas para la elaboración de alimentos funcionales, por su capacidad para mejorar sus propiedades nutricionales (Badia-Olmos *et al.*, 2024), aún existe la necesidad de comprobar la magnitud del efecto en un organismo vivo. Por lo tanto, se ha propuesto el uso de modelos animales como una alternativa para evaluar marcadores de inflamación, que también se expresan a nivel clínico. Entre ellos, se encuentran la interleucina-6 (IL-6), secretada principalmente por células del tejido adiposo, teniendo un efecto modulador en el peso corporal, y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que disminuye la señalización intracelular de receptores de insulina en adipocitos (Ferrer, 2013).

Por lo tanto, este proyecto busca evaluar el efecto a nivel biológico del consumo de alimentos fermentados sobre marcadores de inflamación circulantes, peso e ingesta en un modelo de alteración metabólica, el cual se pueda simular el comportamiento dietético humano.

2. ANTECEDENTES

2.1. Alimentos funcionales

Desde tiempos antiguos, el ser humano ha tratado de comprender los beneficios obtenidos a través de diversos alimentos para la preservación de la salud. Estos comprenden el aporte de efectos benéficos en el estado de salud, patologías específicas o prevención de estas. El término alimento funcional se originó en 1980 en busca de una mejora en la calidad nutricional y de vida de la población (Hernández-García *et al.*, 2020). Siendo descritos por el ILSI (Internationa Life Science Institute) como todo alimento que contiene diversos componentes biológicamente activos, y que aportan un efecto sobre una o más funciones del organismo, además del valor energético y nutricional particular del alimento o grupo al que pertenece (Ashwell *et al.*, 2002). Estos deberán ser integrados o conformar parte de la dieta convencional y tener un consumo frecuente, separándolos de los nutracéuticos, que son las partes bioactivas de los alimentos en forma de extractos, preparados, comprimidos o cápsulas que se acercan más a un medicamento o suplemento (Méndez *et al.*, 2020). El estudio de este tipo de alimentos se incrementa por sus posibles beneficios para la salud y tratamiento de enfermedades, especialmente crónicas degenerativas, una creciente preocupación por la prevención de estas y mayor comprensión del binomio alimento-salud (Beltrán, 2016).

2.1.1 Características

Los alimentos funcionales no presentan un riesgo a la salud por medio de su consumo, cuentan con propiedades beneficiosas para el organismo y sus efectos deberán ser demostrables por medio de las cantidades obtenidas a partir de la dieta (Méndez *et al.*, 2020). Estos alimentos son similares a los consumidos normalmente por la población; sin embargo, el contenido de compuestos bioactivos como polifenoles, carotenoides y fitoesteroles mayor a los de otros alimentos o productos de su mismo grupo, además, se ha visto que poseen un alto potencial en la protección de la salud. Estos alimentos pueden ser naturalmente funcionales,

contener compuestos añadidos en su fórmula o procesamiento, o incluso, la sustracción de componentes dañinos (Valenzuela *et al.*, 2014).

2.1.2 Clasificación

Aunque tradicionalmente el valor de un alimento funcional reside en su perfil químico y nutricional más que en su grado de procesamiento (Sedo *et al.*, 2001), la oferta actual se divide significativamente entre fuentes naturales y procesadas. Mientras que los alimentos naturales (como el pescado o el aguacate) cumplen su función mediante compuestos presentes en la composición básica del alimento. En los alimentos procesados se emplean técnicas de modificación de componentes para incorporar o mejorar el contenido de antioxidantes, prebióticos y probióticos. (Beltrán *et al.*, 2016).

A lo largo de los años, se ha cuestionado la diferencia entre alimento funcional y un nutracéutico, radicando principalmente en que el alimento funcional es un componente o contiene un alimento básico de la dieta, mientras que un nutracéutico se enfoca en el compuesto bioactivo que se extrae de un alimento para obtener sus beneficios, de forma similar a un fármaco. (Meléndez-Sosa *et al.*, 2020).

También resulta clave distinguir los alimentos según el nivel de evidencia que los respalda. En este sentido, se considera sustentado cuando cuenta con investigaciones suficientes que avalen sus propiedades naturales. Esto se logra por medio de análisis de digestibilidad *in vitro*, ensayos *in vivo* en diferentes modelos o por medio de ensayos clínicos. (Martirosyan & Ekblad, 2022).

2.1.3 Propiedades antiinflamatorias

Los alimentos funcionales, contienen diversos compuestos que se han relacionado con la prevención de enfermedades crónicas, con efectos antioxidantes o antiinflamatorios que pueden ser proveídos por sustancias como los flavonoides, y los carotenoides. Estos compuestos, son metabolitos secundarios provenientes principalmente de organismos vegetales, y tienen diversas funciones como la pigmentación (antocianinas) o actuar como un sistema de defensa ante microorganismos (Marcía-Fuentes *et al.*, 2025). Actualmente, se piensa que los compuestos fenólicos tienen la capacidad de suprimir mediadores proinflamatorios, como el Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- α), que a su vez, aumenta los niveles de Factor Nuclear κ B (NF- κ B) o la Interleucina-6 (IL-6). Las interleucinas, también se ven afectadas por el consumo de flavonoides, los cuales conforman el 50% de los compuestos fenólicos en las leguminosas (Rochín-Medina *et al.*, 2022). Al añadir estos componentes a la dieta los niveles de interleucinas en circulación se pueden ver disminuidos (Rahman *et al.*, 2022). Otras de sus características funcionales es que su consumo contribuye a la regulación del apetito, disminución de lipogénesis, prevención de oxidación de ácidos grasos, inhibición de la adipogénesis y apoptosis en tejido adiposo (Wang *et al.*, 2014).

Además, el consumo de compuestos fenólicos como los flavonoides y antocianinas se han relacionado con un aumento de citocinas antiinflamatorias, como la Interleucina 10 (IL-10). Un estudio la ha correlacionado negativamente con mayor resistencia a la insulina, ganancia de peso y alteraciones en el metabolismo de lípidos y la respuesta inmune al llevar una dieta alta en grasa. Mientras que los niveles elevados normalizan la respuesta inflamatoria sistémica. Durante el proceso de obesidad, este biomarcador se ve disminuido, junto a la elevación de los niveles de citocinas proinflamatorias, causando un desbalance y contribuyendo a la inflamación crónica (Gotoh, 2012; Kondo, 2018).

Diversos padecimientos (Tabla 1) están fuertemente asociados con una inflamación sistémica crónica, entre ellos la obesidad, por lo que recientemente, ha habido un pico de interés por comprender las propiedades antiinflamatorias de los compuestos fenólicos, especialmente de los obtenidos por medio de los alimentos funcionales.

Tabla 1. Patologías que tienen un componente inflamatorio crónico.

<i>Patología</i>	<i>Marcadores alterados por la inflamación</i>
<i>Obesidad</i>	<i>IL-6, TNF-a, Insulina en ayunas, triglicéridos,</i>
<i>Síndrome metabólico</i>	<i>adiponectina, insulina en ayunas, triglicéridos,</i>
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	<i>VLDL*, HDL-c*, Ácido úrico.</i>
<i>Hipertensión arterial y aterosclerosis</i>	<i>LDL, triglicéridos, homocisteína.</i>
<i>Insuficiencia cardíaca</i>	<i>IL-6, TNF-a, troponinas.</i>

Adaptado de Wang et al., 2024

Algunos compuestos que otorgan características a los alimentos funcionales son sustancias que se caracterizan por presentar varios grupos fenólicos por molécula. Debido a que son metabolitos secundarios de las plantas, es posible encontrarlos en fuentes de origen vegetal, principalmente plantas silvestres, cereales y leguminosas (Nurzyńska-Wierdak *et al.*, 2023). Se clasifican en dos grupos principales: los flavonoides y los no flavonoides.

Los flavonoides son la clasificación más abundante, y entre ellos es posible encontrar la rutina, quercetina, hesperidina y eridocitina. Provenientes de la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina) y de ácidos cinámicos (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas y liginanos) (Bravo, *et al.* 2009). Estas sustancias son capaces de modular el funcionamiento de diversos mecanismos anti-obesidad, entre ellos la supresión del apetito, modulación del metabolismo de lípidos, diferenciación de adipocitos, estimulación de uso de las reservas energéticas, reducción de estrés oxidativo y mejoras en la composición de la microbiota. Al suprimir enzimas esenciales para la digestión de carbohidratos y lípidos como la amilasa, la glucosidasa o la lipasa, se disminuye su absorción. La amilasa es una enzima que se secreta tanto en páncreas como en las glándulas salivales, actúa sobre los enlaces glucosídicos α -1-4 presentes en el almidón. Si el mecanismo de la enzima se ve comprometido, se dificulta la obtención de maltosa y oligosacáridos para su posterior hidrólisis (Nyambe *et al.*, 2015b).

Los no flavonoides se conforman principalmente por ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos. Estos compuestos se han visto involucrados en la modulación de la respuesta inflamatoria, ya que se trata de moléculas que son capaces de captar electrones libres y estabilizar moléculas inestables presentes durante un estado de estrés oxidativo. Además, poseen la capacidad de interrumpir la expresión del actor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B), factor de transcripción encargado de generar de citocinas proinflamatorias como el TNF- α (Covas *et al.*, 2006).

2.2. Matrices alimentarias

2.2.1 Frijol (*Phaseolus vulgaris*)

El frijol es uno de los alimentos principales en la dieta mexicana, con la especie *Phaseolus vulgaris* como una de las más consumidas con un 95% comparado a otras especies de frijol cultivado (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas, 2016) (Tabla 2). La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural reporta un consumo per cápita de hasta 10 kg de este alimento al año, mientras que su producción se encontró en más de un millón doscientos mil toneladas durante el 2021 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021). Conforman un elemento fundamental de la cultura culinaria, representando un alimento accesible y que acompaña platillos ampliamente consumidos por la población junto con el maíz y el chile (Fidecomiso de Riesgo Compartido, 2017).

Tabla 2. Clasificación del frijol común.

Categoría taxonómica	Nombre científico
Familia	Leguminosae
Sub-familia	Papilionoidene
Género	Phaseolus
Especie	<i>Phaseolous vulgaris</i>

Adaptada de: (Ulloa *et al.*, 2011)

2.2.2 Propiedades nutricionales y nutracéuticas del frijol

Los frijoles aportan carbohidratos complejos, alto nivel de proteínas, vitaminas, principalmente del complejo B y minerales como el fósforo, potasio, magnesio y calcio (Fernández y Sánchez, 2017). Se han identificado algunos compuestos fenólicos como las antocianinas, flavonoides y taninos, que le otorgan el color característico a la leguminosa y tienen efectos antioxidantes y antiinflamatorios en el organismo, por lo que este alimento ha sido usado en diferentes lugares del mundo como remedio medicinal a lo largo del tiempo (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017). El consumo de este alimento también se puede relacionar con una disminución del riesgo a desarrollar sobrepeso y obesidad, así como regulación en la secreción de colecistoquinina y péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), hormonas involucradas en el control del apetito y saciedad, por medio de la unión deficiente de fitohemaglutinina en el intestino delgado y grueso (Carai *et al.*, 2009). Algunos compuestos fenólicos relacionados con la prevención del desarrollo de la obesidad son las catequinas, el ácido clorogénico, ácido gálico, ácido p-cumárico, quercetina, resveratrol o rutina (Hsu y Yen, 2008), de los cuales, varios pueden ser encontrados en el frijol. Se ha demostrado que el frijol fermentado, contiene una mayor cantidad de polifenoles en comparación a muestras de frijol crudo y cocido, por lo que la fermentación es una herramienta viable para mejorar las propiedades funcionales de este alimento. Esto se observa en ventaja con otros tipos de procesos como la fermentación en estado líquido, y se puede atribuir a la producción de β -Glucosidasas que hidroliza los enlace glicosídicos- β de los compuestos fenólicos,

obteniendo las agliconas de los fenoles glucosilados, los cuales pueden tener efectos antiobesidad (Limón *et al.*, 2015).

2.2.3 Avena (*Avena sativa*)

La avena es un cereal rico en fibra, beta-glucanos, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos como las avenatramidas (Singh *et al.*, 2013) (Tabla 3). Se trata de un cultivo anual de alrededor de 1.5 metros de alto, de hojas verdes planas y alargadas, no articulables y cuyo producto principal es el grano cosechado durante su etapa de madurez. Un kilogramo de este cultivo es capaz de producir hasta 30,000 semillas (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2017). Su producción anual en México es de hasta 100 mil toneladas anuales, mientras que el consumo per cápita fue de hasta de 2.1 kg a lo largo del año 2022 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015). Se encuentra entre los principales cereales consumidos en el país junto al trigo, la cebada, el arroz, el centeno y el maíz. Puede ser utilizada para elaborar productos de panificación y cereales para el desayuno e incluso bebidas como el atole. El aprovechamiento de sus componentes dependerá del procesamiento y partes del grano usadas. Comparado a otros cereales, la avena presenta un bajo contenido de carbohidratos y alta proporción de lípidos y proteínas (Zhou *et al.*, 1998).

Tabla 3. Clasificación de la avena.

Categoría taxonómica	Nombre científico
Familia	<i>Poaceae</i>
Sub-familia	<i>Pooideae</i>
Género	<i>Avena</i>
Especie	<i>Avena sativa</i>

Adaptada de: (National Center for Biotechnology Information, 2024)

2.2.4 Propiedades nutricionales y nutracéuticas de la avena

Uno de los principales compuestos bioactivos encontrados en la avena son los β -glucanos, polisacáridos encontrados en granos de cereales y hongos conformados por D-glucosas unidas por enlaces glucosídicos tipo beta (López y Vivanco, 2015). Esto se debe principalmente a que alrededor de un 60 a 72% de la testa y el endospermo del grano, contienen altos niveles de fibra dietética como la celulosa, hemicelulosa, la lignina y β -glucanos. Estudios han demostrado que la bioactividad de la fibra dietética sobre glucosa a nivel sanguíneo y colesterol encontrada en la avena, es atribuible a su alto nivel de enlaces (1 \rightarrow 3) y (1 \rightarrow 4), viscosidad y peso molecular. Procesos como el horneado, hervido y extrusión incrementan la solubilidad de los β -glucanos y la viscosidad, incrementando su efecto en la salud (Zhang *et al.*, 2011). Esta característica hace a la avena una materia prima de interés para la elaboración de productos de panificación. Durante un estado de inflamación metabólica, como en el caso de la obesidad, algunos parámetros pueden ser regulados por el consumo de la fibra dietética encontrada en la avena. Entre ellos se encuentran su capacidad para incrementar la viscosidad del bolo alimenticio, lo cual retrasa el tiempo de vaciado gástrico y absorción de glucosa y colesterol (Escudero y González, 2006).

2.3. Proceso de fermentación sólida

La fermentación en estado sólido es un proceso de conversión biológica en sustratos que tienen un bajo contenido de humedad (inferior a 12%) por medio de utilización de microorganismos (Nigam y Singh, 1994). Es un método que posee un bajo costo de energía y requerimientos, ya que los procesos de separación son más efectivos y accesibles que en la fermentación en estado líquido (Barrios-González *et al.*, 1993). Este tipo de fermentación representa un método accesible para el aprovechamiento de productos y subproductos de cereales para la elaboración de alimentos funcionales. Para este proceso, es posible utilizar diversas variedades de hongos, entre ellos podemos encontrar los de la familia *Pleurotus*, como *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus pulmonaris* y *Pleurotus ostreatus*. *Pleurotus eryngii* presenta más afinidad a la fermentación de cebada y trigo, *Pleurotus pulmonaris* al arroz, cáscara

de frutas y Jamaica (Bermúdez, 2002) (González, 2001), mientras que la evidencia sugiere que *Pleurotus ostreatus* puede fermentar maíz, cebada, arroz, cascarilla de café, sorgo, quinoa, mijo, lino y arveja (Romero-Arenas, 2018). Un estudio realizado por Sánchez-García en 2022, sugiere que *Pleurotus ostreatus* posee una buena afinidad por las leguminosas, y permite reducir sus niveles de antinutrientes y aumentar su calidad proteica y compuestos antioxidantes en comparación con leguminosas sin fermentar. Un ensayo realizado por Mora-Uzeta (2020), encontró que la fermentación de semillas de frijol tepari con el hongo *Rhizopus microsporus* utilizando fermentación en estado sólido, tuvo un efecto positivo en el aumento del contenido total de proteína y compuestos bioactivos en el alimento respecto a variedades sin fermentar de frijol crudo y cocido. La fermentación de este hongo sobre frijol rojo también ha reportado mejoras en el contenido de antioxidantes totales y disminución de antinutrientes que impidan su absorción (Knez *et al.*, 2023). Así mismo, el proceso de fermentación puede incrementar el contenido de isoflavonas en el frijol, como la daidzeína y la genisteína en el frijol, efecto posterior a la fermentación por microorganismos (Cichońska *et al.*, 2024). Otros autores, reportaron que, la quinoa con diferentes cepas de hongos utilizando esta técnica, generaron un efecto sobre los niveles de proteínas totales, y azúcares reductores, presentando niveles más altos en el alimento fermentado respecto a la variedad sin fermentar. Así mismo, se observó una reducción de los almidones solubles y la grasa cruda (Xu *et al.*, 2019). Por otra parte, existe evidencia de organismos de la familia *Pleurotus*, siendo de utilidad para la fermentación de cereales, y su potencial uso para el enriquecimiento de harinas y productos de panificación (Stoffel *et al.*, 2019). Un estudio realizado en Tailandia en 2023, indicó que la biotransformación con micelio de *Pleurotus ostreatus*, mejora las características del arroz, mejorando la disponibilidad de los aminoácidos y ácidos grasos en el cereal, así como de compuestos bioactivos como el γ -aminobutírico (GABA) respecto al cereal sin biotransformar, sugiriendo el uso de cereales biotransformados como un ingrediente clave en la formulación de alimentos funcionales (Nacha *et al.*, 2023). Los efectos de este organismo son atribuibles a su acción sobre los sustratos, ya que genera enzimas que degradan y transforman los componentes encontrados en las matrices

alimentarias, mejorando su bioaccesibilidad y perfil. En los últimos años, se ha hecho un esfuerzo por incorporar esta técnica como forma de enriquecer alimentos con perfil nutricional deficiente, como las pastas, galletas, embutidos o bizcochos por medio de la acción de diversos microorganismos. Los principales cambios presentándose en niveles de proteína, perfil de aminoácidos y disponibilidad de compuestos bioactivos (Soto *et al*, 2021).

2.4. *Pleurotus ostreatus*

También conocido como “hongo ostra”, es uno de los hongos de mayor consumo, producción alrededor del mundo (Malarvizhi, 2019). Es miembro de la familia *Pleurotus* que posee una amplia capacidad para colonizar sustratos de distintas naturalezas. Algunas ventajas del cultivo de este hongo comprenden su rápido crecimiento en un amplio rango de temperaturas (de 10 °C a 30 °C), así como de pH (6-8) (Choudhary, 2015). Secreta enzimas capaces de degradar biomasa lignocelulósica, principalmente encontrada en residuos de productos vegetales (Lallawmsanga, 2019). Su cultivo es sencillo y no requiere de gran infraestructura (Contretras, 2012), además, se ha visto que puede colonizar un sustrato sin necesidad de compostarlo (Choudhary, 2015). Este hongo tiene un uso potencial como alimento funcional, ya que por su naturaleza carece de colesterol, es bajo en calorías, carbohidratos, grasa y sodio. Además de contener riboflavina, selenio, potasio, niacina, alto contenido proteico con aminoácidos esenciales y fibra (Sahoo, 2022). El cuerpo fructífero contiene alrededor de 100 compuestos bioactivos entre ellos ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos, taninos y polifenoles (Assemie y Abaya, 2022). Existen estudios que reportan el uso de este hongo en forma de micelio para el enriquecimiento de alimentos. La etapa de micelio es una fase vegetativa del hongo, que consiste en una red de hifas que se encarga de nutrirse de un sustrato en preparación al desarrollo del cuerpo fructífero. A pesar de que el proceso se detuvo antes de la aparición del cuerpo fructífero, los resultados a nivel nutricional fueron apreciables con una mayor cantidad de proteína total y digestibilidad, disminución de taninos y cambios en el perfil de aminoácidos. En un estudio realizado por Espinosa-Páez, se

probaron diversas harinas fermentadas y sin fermentar de frijol y avena. Ensayos posteriores utilizaron variedades de estas harinas para la elaboración de galletas, utilizando frijol y avena fermentados y sin fermentar con la cepa CS155 de *Pleurotus ostreatus*. Este producto mantuvo las características previamente mencionadas en las harinas, incluso después de pasar por un proceso térmico como el horneado. Por lo cual, el hongo podría ser utilizado para mejorar las propiedades de diversos sustratos de consumo habitual, y su forma de micelio permite su integración en alimentos con un menor cambio organoléptico, por lo tanto, mayor aceptabilidad (Espinosa-Páez *et al.*, 2017; Espinosa-Páez, 2021).

2.4.1 Propiedades nutracéuticas del hongo *Pleurotus ostreatus*

Uno de los principales compuestos encontrados en *Pleurotus ostreatus*, son los β -glucanos, los cuales también se encuentran en el frijol y la avena. Es un tipo de fibra soluble, de consumo accesible, que ha sido asociado con una disminución de la resistencia a la insulina, dislipidemia, hipertensión y modulación de la obesidad y sus procesos inflamatorios (Khouri, 2012). Su estructura es un polímero construido a base de D-glucosa unidas por enlaces tipo β -glicosídicos (Zeković *et al.*, 2005). Estudios reportan un efecto en la saciedad al consumir β -glucanos (2.5 g). Efecto que puede cambiar dependiendo del tamaño molecular y la solubilidad del compuesto, su disponibilidad, si se encuentra aislado o forma parte de un alimento (Lyly, 2010).

2.5 Modelo animal y análisis del estado inflamatorio

Para poder comprender la función en la salud de los alimentos funcionales, se requiere de un modelo biológico para poder analizar sus efectos después del proceso de digestión. Si bien, es posible realizar digestión *in vitro*, este tipo de pruebas genera como resultado la presencia de determinados nutrientes, no su biodisponibilidad. Los estudios experimentales relacionados con la obesidad, requieren de un modelo en el que se pueda llevar a cabo la intervención deseada, en este caso, dietética y la evaluación de diversos biomarcadores, que debido a la escala pueden resultar difíciles en humanos (Mandarim-de-Lacerda *et al.*, 2021).

En base a esto, los modelos biológicos representan una alternativa viable para poder analizar procesos fisiológicos similares a los del ser humano. Ya que los humanos y organismos modelo como la cepa de ratón CD-1 comparten procesos metabólicos e inmunológicos, suelen ser utilizados para el estudio de fenómenos que son muy complejos de manera clínica. Este modelo, al ser controlable y de fácil manipulación, se ha convertido en una de las principales alternativas para el estudio de respuestas inmunológicas frente a enfermedades como la obesidad. Del mismo modo, se trata de un tipo de ratón accesible y manejable en México (Sollano-Mendieta, 2023).

2.5.1. Dietas obesogénicas

Para estudiar la obesidad, es necesario replicar el estado de estrés metabólico que se produce durante su desarrollo. Para esto, se puede hacer uso de dietas capaces de inducir obesidad en modelos biológicos. Las dietas altas en energía y grasa son las más utilizadas para la inducción de obesidad en modelos biológicos, ya que estos factores son unos de los principales en el desarrollo de la enfermedad. Administrando de un 40% a un 60% del valor calórico total en forma de grasa. El consumo de tal proporción de lípidos es capaz de incrementar la secreción de leptina y aumento del tejido adiposo (Moura e Días, 2021). Según un estudio una dieta alta en grasa tiende a aumentar procesos metabólicos relacionados con la obesidad de manera más efectiva que la dieta alta en azúcares simples. Si bien, una dieta alta en azúcares es capaz de desencadenar una respuesta metabólica similar, la eficacia tiende a ser menor, un factor importante para la inducción de obesidad (Matías *et al.*, 2018). El tipo de grasa administrada por medio de este tipo de dietas también tiene un efecto sobre la inducción de la obesidad, siendo las dietas ricas en grasas saturadas las que aceleran este proceso (Bortolin, 2018). Este tipo de dietas, en conjunto, presentan una similitud con el tipo de dieta relacionada con el desarrollo de obesidad en humanos, siendo altas en hidratos de carbono, grasas (especialmente de tipo saturado) y azúcares simples. Otro estudio encontró que una dieta hipercalórica e hiperlipídica provoca un estado de estrés metabólico similar al apreciable en la obesidad humana, en el que los ratones

macho presentaron mayor incremento de peso, consumo de alimento, hiperglucemia y resistencia a la insulina que las hembras (Sollano-Mendieta *et al.*, 2023).

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto del consumo de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada por *Pleurotus ostreatus*, sobre el estado nutricional e inflamatorios en ratones CD1 macho con alteración metabólica?

4. JUSTIFICACIÓN

Los alimentos procesados son consumidos por una gran parte de la población, principalmente en países desarrollados y subdesarrollados por su variedad, practicidad y accesibilidad. Según datos de la ENSANUT (2021), en México 23.1% de la energía alimentaria corresponde al consumo de productos procesados. Este tipo de alimentos se caracterizan por su alto contenido de grasas saturadas, azúcares, sodio y carbohidratos refinados. Debido a su alto consumo y características, son uno de los factores para el desarrollo de obesidad hoy en día, ya que, secciones de la población los prefieren en comparación a alimentos frescos. A lo largo de los años, se han buscado alternativas, de manera que se puedan presentar alimentos prácticos y saludables a la población, que otorguen efectos positivos en la salud de quienes los consumen. Para esto, se hace uso de los alimentos funcionales, que se definen como un alimento de consumo frecuente que tiene un efecto beneficioso sobre la salud. Para el desarrollo de los alimentos funcionales, se pueden utilizar diversas técnicas y procesos, desde integrar alimentos e ingredientes que tengan una cantidad elevada de compuestos bioactivos, como su modificación por medio de procesos alimentarios. Uno de estos procesos es la fermentación, en la que un microorganismo crece a partir de un sustrato y degrada sus azúcares. Este proceso hidroliza los compuestos encontrados en los alimentos y los hace más asimilables. Se puede llevar a cabo por diversos microorganismos como hongos, levaduras o bacterias. La fermentación sólida con hongos es una técnica por la cual se promueve la bioconversión de

sustratos para obtener metabolitos bioactivos que puedan tener un efecto en la salud. Estudios previos, han demostrado que la fermentación con hongos tiene la capacidad de aumentar la bioaccesibilidad de algunos de sus nutrientes y compuestos como proteínas y aminoácidos, lípidos, fenoles, flavonoides y betaglucanos. Estos cambios son observables incluso después de exposición a altas temperaturas en procesos de cocción como el horneado. *Pleurotus ostreatus*, es un hongo comestible de uso frecuente, que puede ser utilizado para la fermentación en estado sólido. Existe evidencia que sugiere que la fermentación de alimentos con *Pleurotus ostreatus*, principalmente en leguminosas como el frijol, la quinoa o las lentejas puede mejorar su valor nutritivo. Esto debido a que el hongo utiliza parte de los nutrientes del sustrato para desarrollarse. Esto lleva a la degradación de los compuestos, lo cual tiene la capacidad de aumentar la digestibilidad, así como un incremento de la cantidad de polifenoles totales (Asensio-Grau, 2020; Sánchez-García, 2022). Con base a los resultados mostrados por Espinosa-Páez (2021) acerca del análisis proximal, propiedades funcionales y aceptabilidad de la galleta enriquecida con harina de frijol biotransformada con *Pleurotus ostreatus*, se buscó evaluar el efecto del alimento funcional a nivel biológico, ya que no existen estudios que hayan evaluado este parámetro. La inflamación sistémica es uno de los efectos de la obesidad sobre el metabolismo, por lo tanto, la evaluación del consumo de esta galleta podría generar un mayor conocimiento acerca del comportamiento de diversos marcadores de inflamación circulantes, en tejidos y cambios en la composición corporal debido a las características funcionales de la galleta, como la mejora en el perfil de aminoácidos, contenido de compuestos antioxidantes y fibra provenientes de sus ingredientes (avenantramidas, beta-glucano, cianidinas, ácido fítico). Este nuevo conocimiento evaluado en un modelo animal busca expandir la información acerca del efecto y propiedades atribuibles de la fermentación con el hongo *Pleurotus ostreatus* sobre materias alimentarias como el frijol y la avena en forma de alimento funcional.

5. HIPÓTESIS

El consumo de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada por *Pleurotus ostreatus* regula positivamente el estado nutricional y normaliza los niveles de marcadores inflamatorios en ratones CD1 macho con alteración metabólica.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada por *Pleurotus ostreatus*, sobre el estado nutricional e inflamatorios en ratones CD1 macho con alteración metabólica.

6.2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del consumo de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada por *Pleurotus ostreatus* sobre el estado nutricional en ratones CD1 macho con alteración metabólica.
2. Analizar el efecto del consumo de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada por *Pleurotus ostreatus* sobre el estado inflamatorio en ratones CD1 macho con alteración metabólica.

7. METODOLOGÍA

7.1 Producción de la galleta

Para la realización de este proyecto y el cumplimiento de los objetivos se requirió de la manipulación de dos matrices alimentarias (*Avena sativa* y *Phaseolus vulgaris*). Se inició con la reactivación de la cepa e inoculación de *Pleurotus ostreatus* en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad de Monterrey. En la figura 1, se muestra un diagrama para la obtención de las harinas y el resto de las actividades relacionados con la obtención de la galleta se describen a continuación:

7.1.1 Inoculo

El frijol y la avena pasaron por un proceso de selección, en el cual se descartaron granos que pudieran presentar signos de deterioro o daño. Después los granos se lavaron para eliminar impurezas. Se colocaron 155g de cada muestra (frijol y avena por separado) en frascos de conserva con 100 mL de agua para el proceso de esterilización en autoclave a 121°C por 45 min.

Según el protocolo planteado por Espinosa-Páez, la galleta biotransformada solo requiere inoculación del frijol negro, por lo cual, solo la avena pasó directamente a molienda en un procesador de alimentos (HC150B, Hamilton Beach Brands Holding Company) y posteriormente por un método de deshidratación en horno (Natural Convection Oven DX602, Yamato Scientific Co., Ltd.) a 70°C hasta obtener un 6% de humedad.

Se utilizó una cepa de *Pleurotus ostreatus* (CS155) la cual se inoculó en medio YMG (extracto de levadura al 0.4%, extracto de malta al 0.1%, extracto de glucosa al 0.4%) en agitación a 150 rpm a temperatura ambiente por 2 semanas. Posteriormente se añadieron 8 mL (2.6 mg de biomasa) del caldo del inóculo) a los frascos esterilizados que contenían frijol negro y posteriormente incubados por 2 semanas a temperatura ambiente. Finalmente, los granos de frijol se molieron en un procesador de alimentos y se deshidrataron en condiciones idénticas a la avena sin biotransformar (Espinosa-Páez, 2017). El esquema del protocolo se puede apreciar en la figura 1.

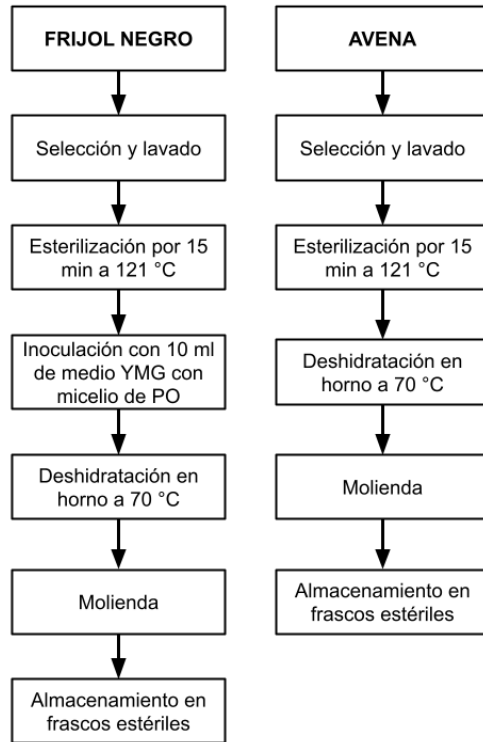


Figura 1. Esquema de obtención de harinas fermentadas con *Pleurotus ostreatus*.

7.1.2 Preparación de formulaciones

Para la elaboración de la galleta, se utilizaron la formulación descrita por Espinosa Páez en 2021, con una proporción de harina de 50:50 de avena y de frijol negro fermentado. Debido a que para este proyecto se requiere de una galleta sin biotransformar (producto control), se consideró una galleta con una proporción 50:50 equivalente con harina de avena y harina de frijol negro sin fermentar. Una vez obtenidas, se añadieron ingredientes característicos del producto horneado como mantequilla, huevo, cocoa, edulcorante, polvo para hornear y canela, las proporciones se pueden observar en la tabla 5 (Espinosa-Páez, 2021).

Tabla 4. Ingredientes base para la elaboración de las galletas biotransformadas y sin biotransformar.

Ingrediente	%
Harina	30
Mantequilla	22
Huevo	20
Cocoa	14
Azúcar	7
Endulzante (sucralosa)	4
Polvo para hornear	2
Canela	1

Adaptado de: Espinosa-Páez, 2021.

7.1.3 Análisis químico proximal

Para el análisis proximal de la galleta se utilizaron los métodos oficiales de la Association of Analytical Communities (AOAC) y se resumen en la tabla 4.

Tabla 5. Métodos requeridos para el análisis químico proximal de la galleta biotransformada con *Pleurotus ostreatus*.

Determinación	Método	Código
Proteína	Kjeldahl	930.29
Grasa	Goldfish	920.36C
Cenizas	Por calcinación	14.006
Fibra dietética	Enzimático-gravimétrico	985.29
Carbohidratos	Cálculo por diferencia	962.09
Contenido de taninos	Espectrofotométrico	952.03
Perfil de aminoácidos	Cromatografía gas-líquido	982.30 E (a,b,c)
	Espectrofotometría de masas	982.30

Adaptada de: (Espinosa-Páez, 2018)

7.2 Diseño experimental del modelo *in vivo*

Para la realización de este proyecto y cumplimiento de los objetivos general y específicos se utilizó un modelo animal de ratones CD1 para evaluar el efecto fisiológico y antiinflamatorio de una galleta de avena enriquecida con harina de frijol biotransformada con *Pleurotus ostreatus*. En la figura 2 se muestra el diagrama de flujo general del diseño experimental. Este proyecto ha sido financiado por la Universidad de Monterrey a través la Gerencia de Investigación y Proyectos, gestionado por la Dra. Edith Espinosa Páez. El responsable técnico fue el Dr. Heriberto Castro García de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El desarrollo experimental del proyecto se realizó en colaboración con la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en el Laboratorio 13 de Electrofisiología, bajo la supervisión del Dr. Juan José Acevedo Fernández.

El diseño experimental se dividió en dos etapas:

- **Etapla 1.** Manejo del modelo animal (ratones CD-1) para inducción de alteración metabólica (resistencia a la insulina, aumento de la grasa visceral, dislipidemia, alteraciones en el metabolismo de la glucosa) y suplementación con galleta biotransformada con *Pleurotus ostreatus*. Esta etapa consta de dos fases: 1) Fase de intervención dietética, en la que se expuso a los ratones a una dieta estándar o una dieta hipercalórica por un periodo de 12 semanas para inducir alteración metabólica y 2) Fase de suplementación con galletas, en la que además de la dieta base, hipercalórica o estándar, se suministró suplementación *ad libitum* de galletas biotransformadas y sin biotransformar por *Pleurotus ostreatus*.
- **Etapla 2.** Obtención y procesamiento de muestras de sangre por ensayos de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA). Análisis de marcadores como glucosa en ayuno, curva de tolerancia a la glucosa, triglicéridos, IL-6, IL-10 y TNF- α .

7.3 Dietas

El protocolo consistió en dos tipos de dieta base: hipercalórica y estándar. Durante la etapa de suplementación se cuantificó el consumo de dieta base y de galleta correspondientes al grupo. El consumo total de alimento y agua se midieron en periodos de 24 h, registrando los remanentes que se encuentren en las jaulas.

7.3.1 Dieta control

La dieta control utilizada fue la Rodent Lab Chow Diet 5001 de la compañía LabDiet. Su composición se describe en la tabla 6.

7.3.2 Dieta hipercalórica

La dieta hipercalórica se elaboró a partir del alimento estándar Rodent Lab Chow Diet 5001, con azúcar refinada y mantequilla en proporción 2:1:1. Se procesaron los pellets con un molino para obtener una forma pulverizada, posteriormente, se mezcló con el azúcar y la mantequilla derretida. Se utilizaron moldes a presión para comprimir el alimento y se hornearon a 180°C por 1 hora para eliminar el exceso de humedad y solidificar la masa obtenida. El contenido de las dietas y suplementación utilizados se puede observar en la tabla 6.

Tabla 6. Composición energética de las dietas para el modelo experimental por cada 100 gramos.

Dieta	Dietas base		Suplementación	
	STD	HIP	Galleta B	Galleta SB
Kcal/g	4.75	7.35	4.87	5.5
Hidratos de carbono (%)	58	40	56	50
Proteína (%)	28	8	17	20
Lípidos (%)	14	52	27	30
Fibra (g)	5.3	5.3	9	6.41

Kcal = kilocaloria, g = gramo, mg = miligramo, STD = dieta estándar; HIP = dieta hipercalórica; B= biotransformada, SB = sin biotransformar.

7.3.3 Dieta de suplementación: galleta biotransformada

La producción de las harinas fermentadas con *Pleurotus ostreatus*, así como la elaboración de la galleta, se llevaron a cabo en las instalaciones de la Universidad de Monterrey. El fundamento experimental se basa en dos proyectos previos realizados por Espinosa-Páez en 2017 y 2021, en los cuales se analizaron variedades de matrices fermentadas para la elaboración de harinas y posteriormente formulación de una galleta con potencial nutracéutico. La galleta para este proyecto se seleccionó en base a los resultados que mostraron el frijol negro fermentado con *Pleurotus ostreatus* y avena sin fermentar. Esta formulación reportó la mayor cantidad de actividad antioxidante durante el análisis proximal. Además, posee avenantramidas, betaglucano, cianidina, los cuales se han relacionado con la regulación del peso corporal, metabolismo de lípidos y efecto antiinflamatorio, por lo que se podría considerar la opción más viable para analizar su efecto antiinflamatorio. Además, la biotransformación con el hongo mejoró el perfil de aminoácidos de la galleta, otorgando una mayor calidad a su proteína, así como la disminución de taninos, que pueden interactuar con otros nutrientes, entre ellos las proteínas y prevenir su absorción y aprovechamiento (Espinosa-Páez, 2017, 2021)

Los modelos animales consumieron galletas elaboradas a partir de la fermentación de frijol y avena para consumo *ad libitum*. Ya que la galleta no cubre las necesidades nutricionales totales de los animales, se complementaron con dieta estándar o hipercalórica. En los grupos suplementados se administró la dieta y la galleta en una proporción de 50:50 y se registró el consumo de manera independiente. La composición calórica de la galleta se describe en la tabla 6.

7.4 Cálculo de consumo de alimento

Para el cálculo del alimento requerido, se consideró la curva de crecimiento de los ratones a utilizados. Basado en los resultados de los estudios de Gao (2015) y Guerra-Cantera (2023), el peso promedio de un ratón de 6 semanas es de aproximadamente 20 gramos, y el peso máximo durante una intervención de al menos 8 semanas con una dieta alta en grasa es de 40 gramos. En base a lo anterior, se utilizó el peso máximo como referencia de consumo. Ensayos previos por Breslin (2010), señalan que un ratón es capaz de consumir alrededor de 8.4 gramos de alimento por día. Tomando en cuenta una intervención con duración de 8 semanas, el consumo total de un solo animal es de 537.6 g de alimento, cada uno de los grupos a estudiar constará de 8 ratones por grupo, por lo que el consumo total por grupo es de 4300 gramos de alimento. Para los dos grupos de intervención, se requirieron 8.6 kg de galletas elaboradas a partir de harina de frijol biotransformada con *Pleurotus ostreatus*. Para el grupo control, se utilizaron 8.6 kg de galletas sin el proceso de fermentación.

7.5 Ratones crías macho

Se utilizaron 45 crías de ratón CD-1 macho de 3 semanas de edad. El diseño experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Electrofisiología y Bioevaluación Farmacológica a cargo del Dr. Juan José Acevedo Fernández y en colaboración con la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. La primera semana del periodo experimental correspondió a una semana de adaptación, manteniendo a los ratones en jaulas a 20~22°C y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas (periodo de luz de 8:00 a 20:00). El resumen del protocolo se puede observar en la figura 2 Posterior a la semana de adaptación, los ratones se separaron en 9 grupos de 5 ratones cada uno: dieta estándar + galleta sin biotransformar, dieta estándar + galleta biotransformada, dieta estándar sin galleta, dieta hipercalórica + galleta sin biotransformar, dieta hipercalórica + galleta biotransformada, dieta hipercalórica sin galleta, dieta hipercalórica-estándar + galleta sin biotransformar, dieta hipercalórica-estándar + galleta biotransformada, dieta hipercalórica-estándar + sin galleta.

La intervención consistió en dos fases: la fase de inducción de alteración metabólica y la fase de suplementación. Durante la fase de inducción de alteración metabólica, los grupos de dieta hipercalórica recibieron intervención dietética para el aumento de peso y alteración de parámetros bioquímicos por un periodo de 12 semanas. Una vez concluida esta etapa, a los grupos se les administro 50% de dieta base (estándar, hipercalórica, hipercalórica-estándar) y 50% de suplementación (galleta biotransformada, galleta sin biotransformar) por 8 semanas más.

Las variedades de galleta que se utilizaron se describen a continuación:

1. Galleta de harina de avena y harina de frijol biotransformado.
2. Galleta de harina de avena y harina de frijol sin biotransformar.

Durante la semana de adaptación de los modelos animales, fue posible observar su comportamiento, identificar enfermedades, posibles heridas u otros factores que puedan descartar ejemplares para la intervención. Durante este periodo todos los grupos de ratones recibieron dieta estándar por igual. La ingesta se registró diariamente para determinar el consumo promedio mediante balanza analítica (Reznor LLC, Missouri, USA) (Fuentes Paredes, 2008).

En la fase 1 con una duración de 12 semanas, los grupos control fueron alimentados con la dieta Rodent Lab Chow Diet 5001, de la compañía LabDiet, mientras que los grupos con alteración metabólica recibieron una dieta hipercalórica (tabla 6). El peso de los ratones se registró 3 veces por semana y al inicio de la administración de la dieta control y cafetería se tomaron muestras de sangre para determinar los niveles de glucosa por punción de la cola y se analizó por medio de tiras reactivas con glucómetro en estado de ayuno. Para el pesaje de los animales, se utilizó una balanza analítica, colocando el ejemplar sobre la balanza, con un contenedor para restringir parcialmente el movimiento y la toma de mediciones se realizó a partir de las 10 am.

La segunda fase de 8 semanas, consistió en una suplementación con la galleta enriquecida con harina de frijol biotransformada con *Pleurotus ostreatus*. Solo los grupos HIPSTD tuvieron un cambio de dieta (hipercalórica -> Estándar), el resto de

los grupos preservaron la dieta llevada durante la fase 1 (Hipercalórica -> Hipercalórica, Estándar -> Estándar). Los grupos control recibieron suplementación con una galleta de harina de frijol sin biotransformar, mientras que los grupos suplementados recibieron la variedad elaborada a partir de harinas biotransformadas. También hubo grupos a los que no se les administró ninguna variedad de galleta y solo se evaluó el efecto de la dieta. Al inicio de este periodo, se tomó otra muestra de sangre, así como registro de niveles de glucosa en el ratón. Al alcanzar las 20 semanas del periodo experimental, los ratones se sacrificaron por decapitación, para recolectar la sangre en tubos separadores de suero y se centrifugaron a 1,000 g por 15 min para obtención de suero y plasma que se utilizó para análisis de biomarcadores proinflamatorios. Una vez obtenido el suero, las muestras se almacenaron a -70°C. Así mismo, se recuperó el tejido adiposo inguinal, mesentérico, retroperitoneal, hígado e intestino, se determinó su peso utilizando una balanza analítica (Reznor LLC, Missouri, USA) y se almacenaron en formaldehído al 4% en refrigeración a 4°C.

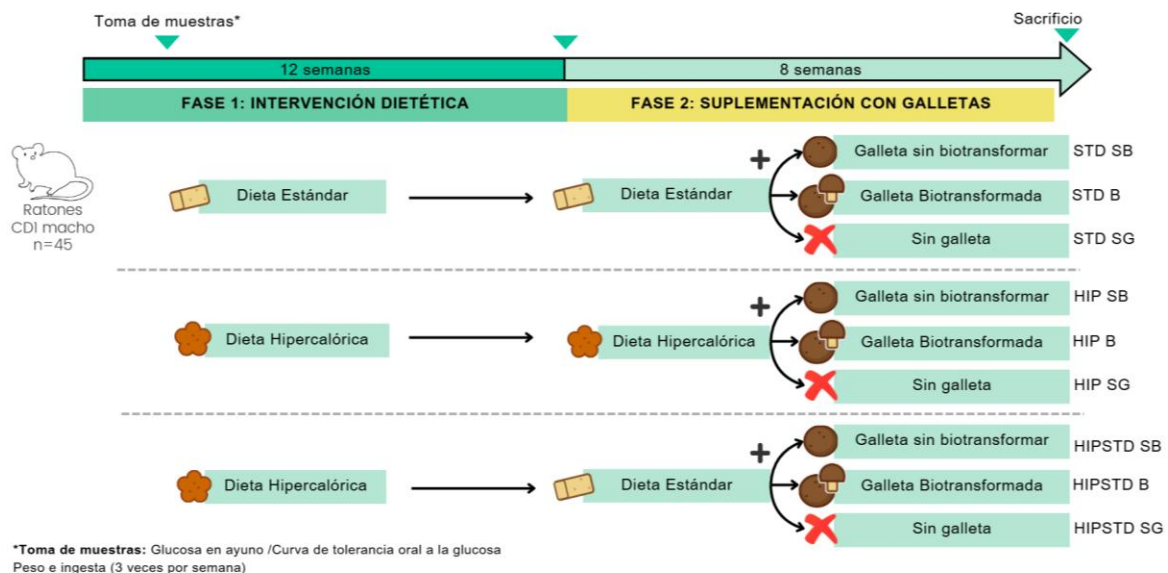


Figura 2. Representación gráfica del diseño experimental. 20 ratones CD-1 se distribuirán de manera aleatoria en 9 grupos de 5 animales cada uno. Dividido en 2 etapas: 1) intervención dietética (12 semanas) y 2) suplementación (8 semanas).

Durante el protocolo, los ratones que presentaron estrés extremo y/o persistente, signos de infección, lesiones, comportamiento inusual, pérdida de peso o datos incompletos fueron eliminados del estudio.

7.6 Tamaño muestral

El tamaño de muestra se determinó inicialmente con base en antecedentes experimentales de consumo de alimento y curvas de crecimiento en ratones CD-1, así como en la viabilidad logística del proyecto. Se utilizaron 45 ratones CD-1 macho, distribuidos aleatoriamente en nueve grupos de cinco animales cada uno, de acuerdo con el diseño de dos fases (inducción de alteración metabólica y suplementación con galletas biotransformadas o sin biotransformar). Esta distribución se apoyó en estudios previos que reportan pesos corporales, tasas de consumo y respuesta metabólica comparables en modelos de obesidad y suplementación dietética, asegurando la factibilidad del manejo, la disponibilidad de alimento y el cumplimiento de las normas de bienestar animal.

Para fortalecer la justificación estadística del número de animales utilizado, se realizó un análisis de sensibilidad posterior al experimento siguiendo las recomendaciones de Zhang y Hartmann (2023). Este enfoque permite estimar el tamaño de efecto mínimo detectable con la muestra disponible. En un diseño de dos muestras con varianzas homogéneas, el tamaño de muestra y el tamaño de efecto están relacionados mediante la expresión:

$$n \approx \left(\frac{Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}}{d} \right)^2 \times 2$$

donde $Z_{1-\alpha/2}$ corresponde al valor crítico de la distribución normal estándar para el nivel de significancia bilateral (α), $Z_{1-\beta}$ corresponde al valor crítico asociado a la potencia estadística deseada ($1-\beta$), y d representa el tamaño de efecto de Cohen (diferencia de medias dividida entre la desviación estándar agrupada).

Cuando el número de animales es fijo, como en este estudio, la misma relación puede utilizarse para estimar el tamaño de efecto mínimo detectable, despejando la fórmula anterior:

$$d_{min} \approx (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta}) \sqrt{\frac{2}{n}}$$

Aplicando un nivel de significancia bilateral de 0.05, una potencia estadística de 80 % y un tamaño de muestra de cinco animales por grupo, el cálculo arroja un tamaño de efecto mínimo detectable aproximado de $d \approx 1.77$, lo que corresponde a diferencias grandes entre las medias de los grupos. En caso de aplicar una corrección estricta por comparaciones múltiples (por ejemplo, Bonferroni), el umbral de detección aumenta a valores cercanos a $d \approx 2.6$, lo que implica la necesidad de diferencias de magnitud muy grande para ser identificadas con la misma potencia. Finalmente, la diferencia absoluta mínima detectable en cada variable se puede expresar como el producto entre el tamaño de efecto mínimo y la desviación estándar agrupada observada en el estudio, de acuerdo con la ecuación:

$$\Delta_{min} \approx d_{min} \times SD_{pooled}$$

Este análisis confirma que el diseño adoptado es apropiado para identificar efectos de magnitud moderada a grande en los parámetros primarios de interés, asegurando la transparencia metodológica y evitando el uso de un número mayor de animales sin justificación científica.

7.7 Análisis de muestras

7.7.1 Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA)

Esta prueba permite identificar antígenos en muestras biológicas con resultados cuantitativos. La modalidad tipo sándwich se basa en el uso de dos anticuerpos dirigidos a un antígeno diana. Las placas de trabajo se recubren con un antígeno policlonal inicial, para luego incorporar las diluciones de las muestras y añadir un segundo antígeno de detección (Alhajj, 2023).

7.7.1.1 Preparación de las muestras

Las muestras de sangre se recuperaron en tubos sin aditivos para suero. Posteriormente, se centrifugarán por 15 min a 1000 g dentro de los 30 min previos a la recolección. Una vez centrifugadas, se alicuotaron y se almacenaron a -70°C hasta su uso.

7.7.2 Factor de Necrosis Tumoral Alfa

Para el análisis del Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) se utilizó el kit Invitrogen TNF alpha Mouse ELISA Kit de Alta Sensibilidad (Thermo Fisher Scientific). Basado en un estudio realizado por Ore (2020), en el que los valores promedio de TNF- α en ratones alimentados con dieta alta en grasa rondan los 58 pg/mL en una intervención de 4 semanas, mientras que, con una dieta estándar, se encuentran cerca de los 35 pg/mL en plasma. El anticuerpo conjugado utilizado en esta reacción para la detección de antígenos fue la Estreptavidina-HRP (Horseradish Peroxidase, Peroxidasa del rábano), proteína de unión a biotina con la enzima de peroxidasa del rábano picante.

7.7.2.1 Preparación de reactivos

Se utilizaron: buffer de lavado, buffer de ensayo 1x, conjugado de biotina, solución de Estreptavidina-HRP, soluciones de amplificación I y II, estándar de TNF- α y la solución estándar. Para el buffer de lavado, se diluyeron 50 mL del concentrado de buffer de lavado en 950 mL de agua destilada. Se mezcló gentilmente para evitar la formación de burbujas. El buffer de lavado es estable por 30 días previo a su preparación manteniéndose a temperaturas de 2-25 °C. El buffer de ensayo se preparó diluyendo 5 mL en 95 mL de agua destilada. El conjugado de Biotina se preparó 30 min previos a su uso, se diluyó en una proporción 1:100, agregando 0.03 mL de conjugado de biotina con 2.97 mL de buffer de ensayo en un tubo estéril por cada 6 columnas de la placa. La solución de Estreptavidina-HRP se preparó 30 min antes de su uso por medio de una dilución 1:100 en buffer de ensayo, agregando 0.06 mL de Estreptavidina-HRP en 5.94 mL de buffer ensayo en un tubo estéril por cada 6 columnas de la placa. La solución estándar de TNF- α se reconstruyó, añadiendo el diluyente calibrador y dejando reposar por 15 min. Para la solución estándar, se utilizaron 6 tubos de dilución (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13 pg/mL). En todos los tubos, se añadieron 150 μ L de diluyente de calibración. Del tubo de solución de TNF- α previamente reconstituida, se tomarán 150 μ L y se mezclaron suavemente con la pipeta. Con una puntilla nueva, se tomaron 150 μ L

de la dilución y se añadieron a la siguiente. El último tubo solo contenía diluyente de calibración. Para la preparación de las soluciones de amplificación I y II se diluyeron en buffer de ensayo (1x) de acuerdo con las instrucciones del certificado de análisis del kit.

7.7.2.2 Protocolo de ensayo

Las columnas se lavaron con 400 µL de buffer de lavado, dejando la solución por 10 segundos, se repitió el proceso y se decantó el contenido. Se agregaron 50 µL de diluyente de muestras en los pocillos. Posteriormente, se incorporaron 50 µL de las diluciones de la solución estándar y 50 µL de las muestras. Se adicionaron 50 µL de conjugado de biotina en todos los pocillos utilizados. Se selló la placa y se envió a incubación a temperatura ambiente (18~25 °C) por 2 horas en agitación. Una vez concluida la incubación, se decantó el contenido y se lavaron las placas 6 veces con el buffer de lavado. Se agregaron 100 µL de Estreptavidina-HRP, se selló la placa y se incubaron a temperatura ambiente (18~25 °C) por 1 h en agitación. Se lavó con buffer de lavado 6 veces. Después de preparar la solución de amplificación I, se agregaron 100 µL de la solución de amplificación I, cubriendo la placa e incubando a temperatura ambiente por 15 minutos en agitación. Finalmente se lavó con buffer de lavado 6 veces. Posterior a la preparación de la solución de amplificación II, se agregaron 100 µL de la solución de amplificación I, se cubrió la placa e incubó a temperatura ambiente por 30 minutos en agitación y se lavó con buffer de lavado 6 veces. Para poder analizar la reacción enzimática, se añadieron 100 µL de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) y se dejó incubar las placas a temperatura ambiente por 10 minutos, evitando la exposición a la luz intensa y directa. La reacción se detuvo con 100 µL de solución de parada, para leer la absorbancia a 450 nm inmediatamente.

7.7.3 Interleucina 6

Para el análisis de Interleucina 6 (IL-6) se utilizó el kit Invitrogen Mouse IL-6 ELISA kit (Thermo Fisher Scientific). Un estudio de intervención en modelo murino con dieta alta en grasa de 16 semanas reportó niveles de entre 60 a 35 pg/mL en suero de IL-6. El kit seleccionado tuvo un rango de sensibilidad de 7.8 a 500 pg/mL (Xu *et al.*, 2014).

7.7.3.1 Preparación de reactivos

Previo al ensayo, se prepararon los reactivos necesarios: el buffer de lavado, la solución estándar, y la solución de Estreptavidina-Peroxidasa del rábano (HRP). La solución de Estreptavidina-HRP se preparó 15 minutos antes de utilizarse. Para la solución de lavado, se diluyeron 16 mL de buffer de lavado concentrado (16x) en 385 mL de agua destilada. La solución estándar se reconstruyó y se dejó reposar por 10 minutos. Se diluyeron 50 µL de estándar reconstituido en 950 µL de buffer de dilución (500 pg/dL). Se realizaron diluciones de 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8 pg/dL y un blanco. En cada uno de los tubos de dilución, se agregaron 300 µL de buffer de dilución. Se tomaron 300 µL del tubo de 500 pg/mL, mezclaron bien y se transfirieron 300 µL al tubo de 250 pg/mL. Se repitió el proceso con los tubos subsecuentes. El blanco únicamente contiene 300 µL de buffer de dilución. Para la preparación de la solución de estreptavidina-HRP, se diluyeron 10 µL de solución de estreptavidina-HRP (100x) en 1 mL de diluyente de estreptavidina-HRP por cada 8 pocillos a utilizar de la placa.

7.7.3.2 Protocolo de ensayo

Una vez preparados los reactivos, en las placas de 96 pocillos, se añadieron 100 µL de la dilución estándar y de las muestras en los pocillos correspondientes. Las muestras se diluyeron en proporción 1/2 (50 µL de muestra en 50 µL de buffer de dilución). Se cubrió la placa y se incubó por 120 minutos a temperatura ambiente. Se decantó la solución y las placas se lavaron 3 veces con buffer de lavado (1x). Se añadieron 100 µL del reactivo de conjugado de IL-6-Biotina, se selló la placa y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. Se decantó la solución y se lavó 3 veces con buffer de lavado (1x). Se agregaron 100 µL de la solución de Estreptavidina-HRP, se selló la placa y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. Se decantó la solución y se lavó 3 veces con buffer de lavado (1x). Para visualizar la reacción enzimática, se añadieron 100 µL de sustrato TMB para incubar por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Una vez concluido el tiempo de incubación, se añadieron 100 µL de solución de parada, la lectura de las muestras se realizó a 450 nm.

7.7.4 Interleucina 10

Para el análisis de Interleucina 10 (IL-10) se utilizó el kit Invitrogen IL-10 Mouse ELISA Kit (Thermo Fisher Scientific). Según De Almeida-Souza *et al.* (2018), el promedio de IL-10 en suero en ratones expuestos a una dieta alta en grasa por 56 días es de 19.8 pg/mL. Otro estudio de Hong *et al.* (2009), reportó un valor promedio de 10 pg/mL en ratones. Estos valores se encuentran dentro del rango del ensayo, de 5 pg/mL a 1,000 pg/mL.

7.7.4.1 Preparación de reactivos

Previo al ensayo, se prepararon los reagentes necesarios: buffer de lavado, buffer de ensayo, conjugado de biotina, Estreptavidina-HRP, estándar de IL-10 de ratón y la solución estándar. Para la solución de lavado, se diluyeron 50 mL de buffer de lavado concentrado (25x) en 1000 mL de agua destilada. La solución de ensayo se preparó añadiendo 5 mL de concentrado de buffer de ensayo (20x) en 95 mL de agua destilada. El conjugado de Biotina se preparó 30 minutos previos a su uso, se diluyó en una proporción 1:100, agregando 0.03 mL de conjugado de biotina con 2.97 mL de buffer de ensayo en un tubo estéril por cada 6 columnas de la placa. La solución de Estreptavidina-HRP también se preparó 30 minutos antes de su uso por medio de una dilución 1:100 en buffer de ensayo, agregando 0.06 mL de Estreptavidina-HRP en 5.94 mL de buffer ensayo en un tubo estéril por cada 6 columnas de la placa. La solución estándar de IL-10 se reconstruyó, añadiendo agua destilada hasta el volumen que indica el frasco, se mezcló suavemente para homogeneizar y dejando reposar por 15 minutos. Para la solución estándar, se utilizaron 6 tubos de dilución (1250, 625, 313, 156, 78, 39 pg/mL). En todos los tubos, se añadieron 225 µL de diluyente de muestra. Del tubo de solución de IL-10 previamente reconstituida, se tomaron 225 µL y se mezclaron suavemente con la pipeta. Con una puntilla nueva, tomar 225 µL de la dilución y añadirla a la siguiente. El último tubo solo contenía diluyente de muestra.

7.7.4.2 Protocolo del ensayo

Las columnas por utilizar se lavaron con 400 μ L de buffer de lavado, dejando la solución por 10 segundos, repitiendo el proceso y decantando el contenido. Se agregaron 100 μ L de diluyente de muestras en los pocillos. Posteriormente, se incorporaron 100 μ L de las diluciones de la solución estándar y 50 μ L de las muestras con 50 μ L de diluyente de muestras. En los pocillos se agregaron 50 μ L de conjugado de biotina. Se cubrió la placa adecuadamente y se incubaron a temperatura ambiente (18~25 °C) por dos horas en agitación. Se decantó el contenido y se lavó 3 veces con el buffer de lavado. Se añadieron 100 μ L de TMB en todos los pocillos. Se selló la placa y se incubaron a temperatura ambiente (18~25 °C) por 10 minutos. Una vez concluido el tiempo de incubación, se añadieron 100 μ L de solución de parada, la lectura de las muestras se realizó inmediatamente a 450 nm.

7.8 Análisis estadístico

Los resultados se reportaron como media \pm error estándar (EEM). Para el peso y la ingesta de los ratones, se realizó un ANOVA de medidas repetidas y para analizar el efecto de la suplementación con una galleta biotransformada por fermentación con *Pleurotus ostreatus* se hizo uso de la prueba ANOVA de dos factores para permitir la comparación entre grupos. Para poder estudiar las diferencias entre grupos, se utilizó la prueba pos-hoc de Tukey. Para la ingesta se utilizó una prueba *t* de *Student* para analizar las diferencias entre los grupos estándar e hipercalóricos. Un valor de $p < 0.05$ será considerado como estadísticamente significativo. En caso de presentar valores no normales se utilizaron las pruebas de Friedman (ingesta y peso), U de Mann-Whitney (Tolerancia oral a la glucosa, fase 2) y Kruskal-Wallis (suplementación) como alternativas no paramétricas.

7.9 Bioética

Este proyecto se apegó estrictamente a la NOM-062-ZOO-1999 sobre especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, así como a las guías ARRIVE 2.0 (Animal Research: Reporting of In

Vivo Experiments) y a los principios internacionales de Reemplazar, Reducir y Refinar (3R). Durante la fase experimental, se garantizó el alojamiento en condiciones controladas (temperatura 20–22 °C, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, agua y alimento ad libitum) y la reducción de estrés mediante manipulación cuidadosa y periodos de adaptación previos. Se implementaron métodos humanitarios de eutanasia (decapitación rápida por personal capacitado) conforme a la NOM-062-ZOO-1999 y las guías de la American Veterinary Medical Association (AVMA) para la eutanasia de animales de laboratorio.

7.10 Bioseguridad

Durante la ejecución del protocolo se considera indispensable el uso de guantes, bata de laboratorio, cubreocas, lentes protectores y protección de calzado.

Según la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, los desechos biológicos contaminados con sangre se deberán almacenar en bolsas RPBI (Residuos Peligrosos Biológico-infecciosos), cerrados adecuadamente, evitando llenar las bolsas a más del 80% de su capacidad, una vez almacenadas no podrán ser abiertas ni vaciadas. Se mantendrán en congelación y en zonas adecuadas para desechos para su posterior incineración. Durante el proyecto no se hará uso de isótopos radiactivos o dispositivos de radiación ionizante. Debido a la manipulación de un organismo vivo, existe la posibilidad de que sean huéspedes de microorganismos patógenos, por lo que se tomaron las medidas preventivas de barrera antes mencionadas.

8. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 7. Tabla de operacionalización de variables.

Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Unidad de medición	Método
Dieta control	Independiente cuantitativa	Dieta de mantenimiento para roedores. Ideal para cualquier etapa del ciclo de vida.	g	Medición con balanza analítica
Dieta hipercalórica	Control Independiente cuantitativa	Dieta modelo de uso en experimentación que busca simular la dieta occidental y es utilizada para la inducción de obesidad.	g	Medición con balanza analítica
Galleta de frijol y avena fermentados con <i>Pleurotus ostreatus</i>	Independiente cuantitativa	Galleta elaborada a partir de harina de frijol biotransformada con <i>Pleurotus ostreatus</i> .	g	Medición con balanza analítica
Galleta de frijol y avena sin biotransformar	Control Independiente cuantitativa	Galleta elaborada de frijol y avena sin biotransformación con la finalidad de actuar como control.	g	Medición con balanza analítica
Glucosa	Dependiente	Niveles de glucosa en sangre	mg/dL	Glucómetro o y tiras reactivas
TNF- α	Dependiente	Catequina involucrada en la respuesta inflamatoria sistémica. Es posible relacionarla con la alteración de la función endocrina de los adipocitos.	pg/mL	Lector de absorbancia de microplacas
IL-6	Dependiente	Interleucina que puede tener un efecto en el metabolismo mediante mecanismos reguladores de la expresión de genes en tejido adiposo, liberación de triglicéridos, regulación de la lipoproteína, lipasa y sensibilidad a la insulina.	pg/mL	Lector de absorbancia de microplacas
IL-10	Dependiente	Interleucina antiinflamatoria	pg/mL	Lector de

		encargada de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias.		absorbancia de microplacas
Peso	Dependiente	Parámetro que se utiliza	g	Balanza analítica

9. Resultados

2.1. Fase 1

2.1.1. Cambios relacionados con la dieta en el aumento de peso e ingesta

Los ratones fueron asignados a un grupo con dieta hipercalórica o estándar. Respecto a la evolución del peso, no se observó diferencia significativa entre los grupos con dieta Hipercalórica (HIP) y estándar (STD) durante las semanas 1, 4, 8 y 12 (Figura 3).

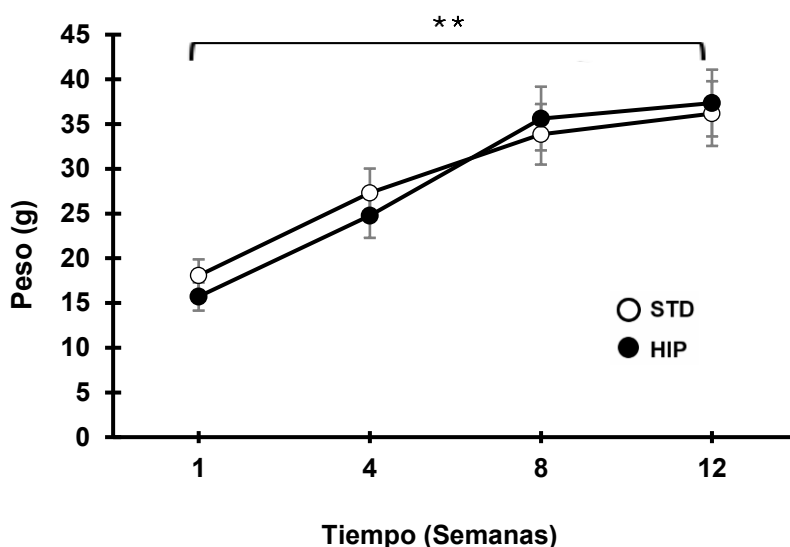


Figura 3. Evolución del peso durante la Fase 1. Los resultados se expresan como media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de medidas repetidas y prueba *post-hoc* de Tukey (Grupos: STD (n=15); HIP (n=25)). ** $p < 0.001$.

Al comparar el punto inicial (semana 1) y punto final (semana 12), se encontró ganancia de peso 2,48 g ($p < 0,001$) en el grupo STD y de 3,45 g ($p < 0,001$) en el grupo HIP. Sin embargo en las mediciones intermedias de las semanas no se observaron diferencias significativas. Durante las semanas 8 y 12, se observó una estabilización del peso, lo cual es consistente con los resultados observados en el consumo de alimento, probablemente debido a la regularización de la ingesta (Figura 4).

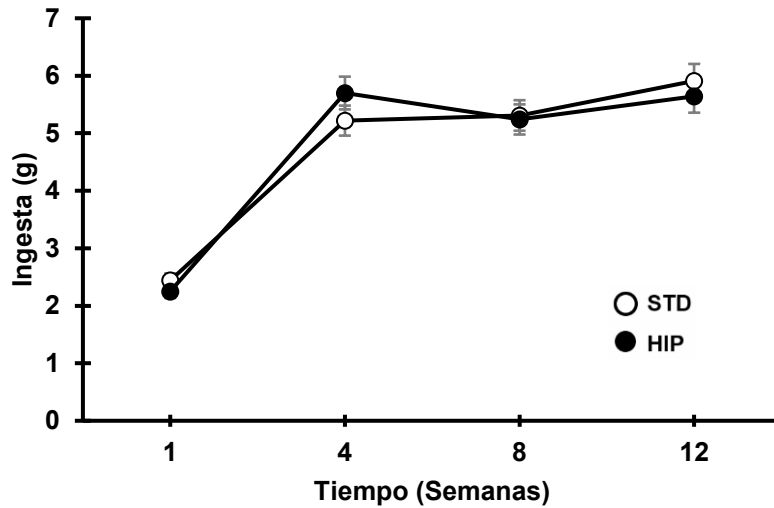


Figura 4. Evolución de la ingesta durante la Fase 1. Los resultados se expresan como media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de medidas repetidas y prueba *post-hoc* de Tukey (Grupos: STD (n=15); HIP (n=25))

Aunque no hubo diferencia significativa en la ingesta de alimentos (Figura 4), se pudo mostrar una diferencia en los niveles de proteína y lípidos ($p < 0.001$, $p < 0.02$) durante la primera fase, así como cambios en los niveles de energía durante las semanas 1 ($p < 0.04$) y 4 ($p < 0.001$) entre los grupos HIP y STD. Como se pudo analizar, las principales diferencias se encontraron en la distribución de macronutrientes. En el grupo STD, se apreció un aumento en la ingesta de carbohidratos y proteínas durante la semana 1 en comparación con el grupo HIP (HC $p < 0.01$, PT $p < 0.001$, LP $p < 0.001$). Desde la semana 4 hasta la semana 12, únicamente los niveles de proteína y lípidos permanecieron elevados (proteína, $p = 0.001$, lípidos, $p < 0.001$). Por otro lado, el grupo HIP mostró niveles más altos de energía y lípidos desde la semana 1 hasta la semana 4 (Semana 1: energía, STD 11.57 vs HIP 16.54, lípidos, STD 0.34 vs HIP 1.17; Semana 4: energía, STD 24.81 vs HIP 41.84, lípidos, STD 0.73 vs HIP 2.96), mientras que únicamente los niveles de lípidos permanecieron elevados en las semanas 8 y 12 (Tabla 8).

Tabla 8. Consumo total de macronutrientes durante la fase 1. Los resultados se expresan como media \pm SEM. Se utilizó la prueba *t-Student* para el análisis estadístico de los grupos desde la semana 1 a la 12. Kcal = Kilocalorías, HC = Hidratos de carbono, PT = Proteínas, LP = Lípidos. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$. (Grupos: STD (n=15); HIP (n=25))

Semana	Grupo	Ingesta (g)	Kcal	HC (g)	PT (g)	LP (g)	Fibra (g)
1	STD	2.44 \pm 0.098	11.57 \pm 0.52	1.41 \pm 0.225	0.68 \pm 0.031	0.34 \pm 0.051	0.13 \pm 0.024
	HIP	2.25 \pm 0.117	16.54 \pm 0.66	0.90 \pm 0.213	0.18 \pm 0.008	1.17 \pm 0.028	0.12 \pm 0.015
	<i>p</i>	0.037	0.04*	0.01*	0.001**	0.001**	0.80
4	STD	5.22 \pm 0.102	24.81 \pm 0.98	3.03 \pm 0.051	1.46 \pm 0.027	0.73 \pm 0.025	0.27 \pm 0.026
	HIP	5.70 \pm 0.141	41.89 \pm 1.02	2.28 \pm 0.056	0.46 \pm 0.011	2.96 \pm 0.074	0.30 \pm 0.031
	<i>p</i>	0.10	0.001**	0.46	0.001**	0.001**	0.10
8	STD	5.31 \pm 0.102	25.23 \pm 1.20	3.08 \pm 0.109	1.49 \pm 0.021	0.74 \pm 0.143	0.28 \pm 0.028
	HIP	5.24 \pm 0.274	38.49 \pm 1.09	2.09 \pm 0.051	0.42 \pm 0.027	2.72 \pm 0.025	0.28 \pm 0.037
	<i>p</i>	0.95	0.18	0.09	0.001**	0.02*	0.95
12	STD	5.91 \pm 0.126	28.07 \pm 1.30	3.43 \pm 0.062	1.65 \pm 0.033	0.83 \pm 0.030	0.31 \pm 0.021
	HIP	5.64 \pm 0.333	41.49 \pm 1.46	2.26 \pm 0.132	0.45 \pm 0.026	2.94 \pm 0.174	0.30 \pm 0.046
	<i>p</i>	0.77	0.07	0.02*	0.001**	0.001**	0.77

2.1.2. Cambios relacionados a la dieta en parámetros bioquímicos

Se realizaron dos tomas de los niveles de glucosa durante la fase 1: Semana 4 y 12. No se encontraron cambios significativos entre los grupos HIP y STD (Figura 5).

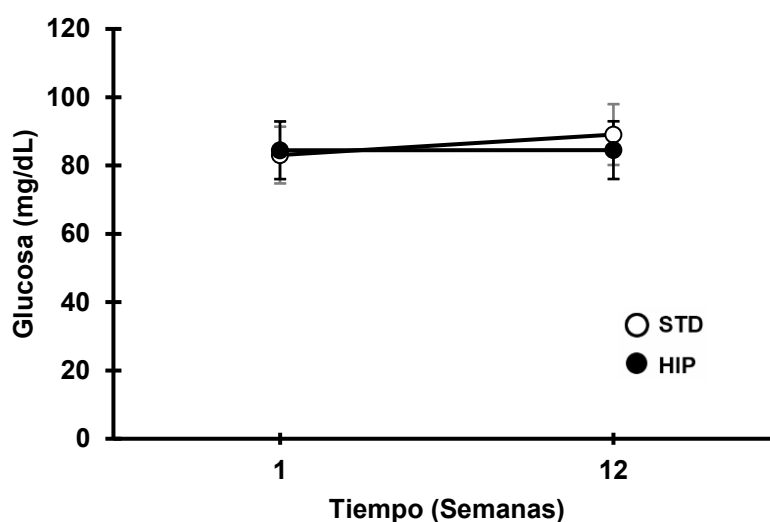


Figura 5. Niveles de glucosa durante la Fase 1. Los resultados se expresan como media \pm EEM. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de medidas repetidas y prueba post-hoc de Tukey (Grupos: STD, n=15; HIP, n=25).

No se observaron cambios significativos en los niveles de tolerancia oral a la glucosa entre los grupos que recibieron una dieta hipercalórica y aquellos con dieta estándar durante la semana 4. Sin embargo, el análisis por tiempos de toma, del minuto 1 al minuto 15, se observó un aumento en los niveles de glucosa en ambos grupos ($p < 0.001$), el grupo HIP alcanzó niveles ligeramente más altos que el grupo STD, como era de esperar, dado que el minuto 15 suele corresponder al pico de respuesta de glucosa. Del minuto 15 al minuto 30, los niveles se mantuvieron relativamente estables, para luego disminuir hasta el minuto 120. Durante este período, los niveles de glucosa se reestablecieron en niveles similares al del minuto 1 (STD 89 mg/dL, HIP 92.63 mg/dL) (Figura 6).

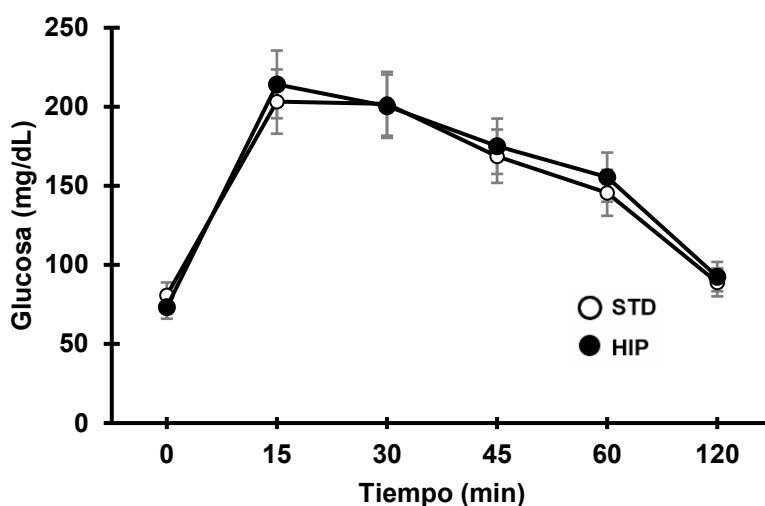


Figura 6. Prueba de tolerancia oral a la glucosa durante la Fase 1 (semana 4). Los valores se presentan como media \pm EEM. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba *t de Student* para los puntos de tiempo de 30 y 45 minutos, y la prueba U de Mann-Whitney para los puntos de tiempo de 0, 15, 60 y 120 minutos, de acuerdo con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0.05$). (Grupos: STD, n=15; HIP, n=25).

No se observaron diferencias significativas en los niveles triglicéridos circulantes durante las semanas 4 y 12. En la semana 4, el grupo HIP mostró niveles de triglicéridos similares a los del grupo STD ($p = 0.297$). Esta tendencia se mantuvo hasta la semana 12, en la que ambos grupos alcanzaron niveles de triglicéridos similares ($p = 0.836$). Estas tendencias no fueron estadísticamente significativas (Figura 7).

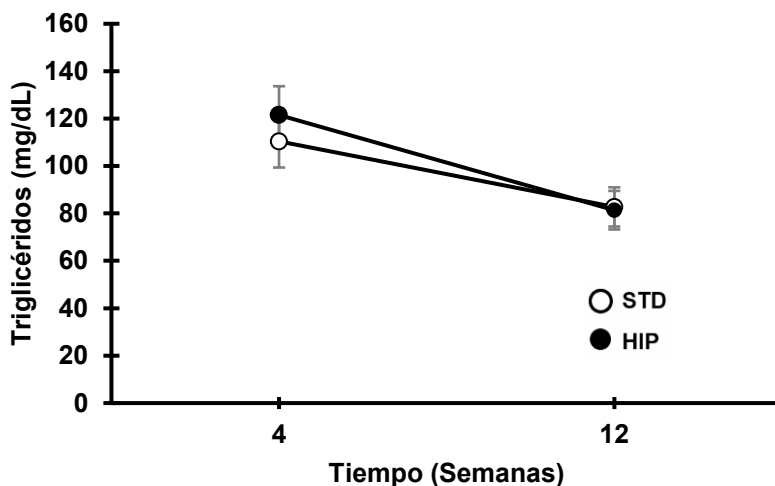


Figura 7. Triglicéridos circulantes durante la Fase 1. Los resultados se expresan como media \pm EEM. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de medidas repetidas y prueba post-hoc de Tukey (Grupos: STD, $n=15$; HIP, $n=25$).

2.2. Fase 2

2.2.1 Cambios en el peso y la ingesta relacionados a la suplementación

Los ratones se dividieron y analizaron en nueve grupos ($n = 5$ por grupo): dieta estándar + galleta no biotransformada (STD SB), dieta estándar + galleta biotransformada (STD B) y dieta estándar + sin galleta (STD SG), dieta hipercalórica + galleta no biotransformada (HIP SB), dieta hipercalórica + galleta biotransformada (HIP B), dieta hipercalórica + sin galleta (HIP SG), dieta hipercalórica-estándar + galleta no biotransformada (HIPSTD SB), dieta hipercalórica-estándar + galleta biotransformada (HIPSTD B), dieta hipercalórica-estándar + sin galleta (HIPSTD SG).

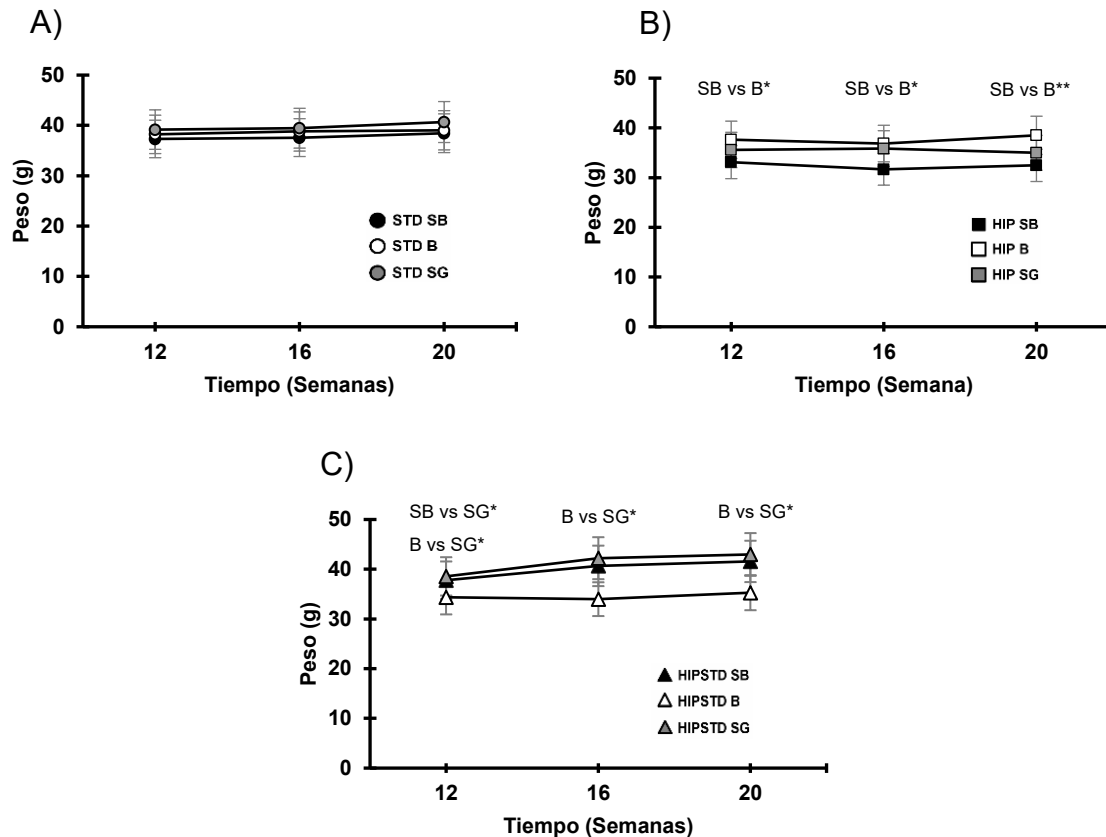


Figura 8. Evolución del peso por grupo. A) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, n = 5/grupo), B) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, n = 5/grupo), C) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, n = 5/grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$.

En los grupos STD, no se observaron diferencias significativas durante las semanas 12 a la 20. En los grupos HIP, aunque no se reportaron diferencias significativas en las semanas 12 y 16, el grupo SB presentó un peso corporal menor en comparación con el grupo B (semana 12: $p = 0.046$, semana 16: $p = 0.005$, semana 20: $p < 0.004$). Solo en la semana 20 se observó una diferencia significativa entre los grupos B y SB ($p < 0.004$). En los grupos HIPSTD, el grupo B mostró un peso corporal menor que los grupos SB y SG en la semana 12, mientras que en las semanas 16 y 20 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (semana 12: $p = 0.033$, semana 16: $p = 0.093$, semana 20: $p = 0.464$). Sin embargo, se observó una

diferencia entre los grupos B y SG en las semanas 12, 16 y 20 ($p = 0.041, 0.006$ y 0.011 , respectivamente) (Figura 8).

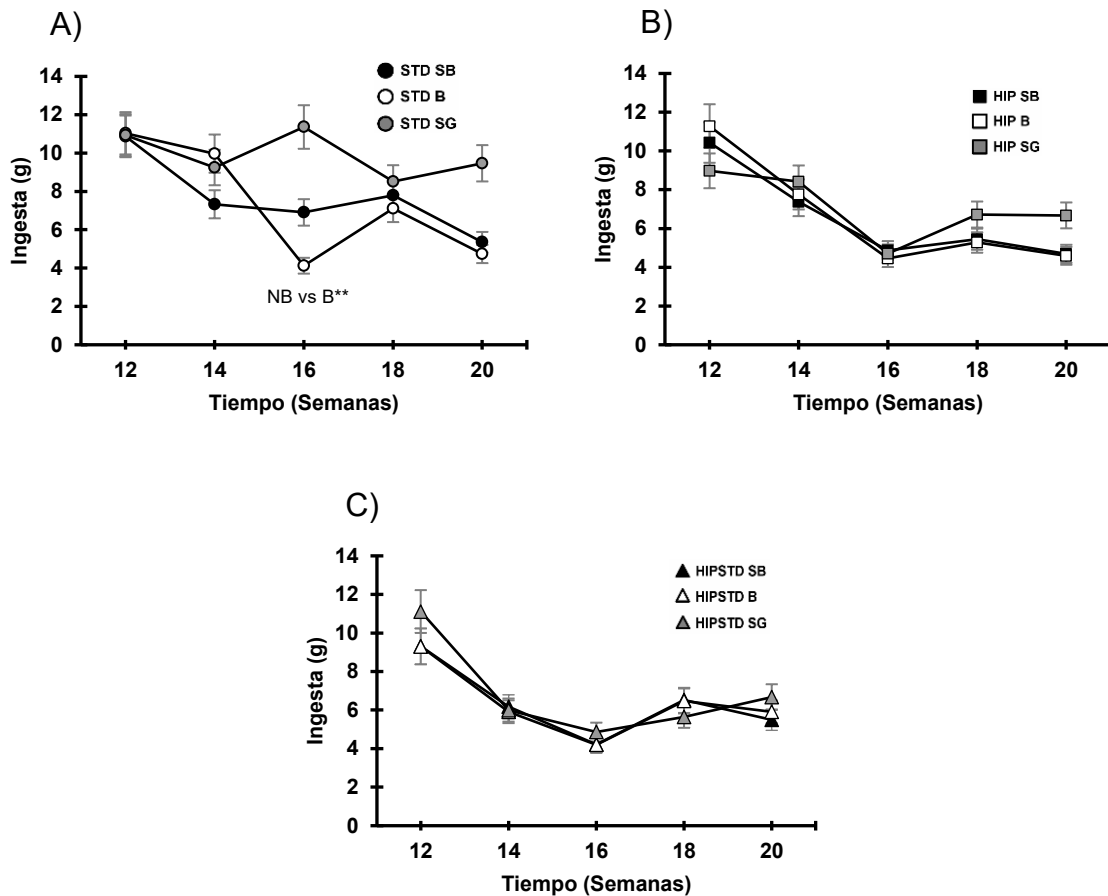


Figura 9. Evolución de la ingesta por grupo. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5$ /grupo.

En los grupos con dieta estándar, el grupo no biotransformado mostró una diferencia significativa en comparación con el grupo biotransformado en la semana 16 ($p < 0.001$). Este grupo también presentó una ingesta mayor y equilibrada de la galleta no biotransformada y de la dieta estándar. El grupo hipercalórico no biotransformado mostró una mayor ingesta de macronutrientes (carbohidratos, proteínas y lípidos) en la semana 16 ($p = 0.007$), mientras que el grupo biotransformado presentó un

aumento en la ingesta de lípidos en la semana 20 ($p = 0.007$), en concordancia con la reducción en la ingesta de la galleta biotransformada observada en la semana anterior (Figuras 8, 9 y Tabla 9).

Tabla 9. Composición de la ingesta en los grupos Estándar. Presentada por semana y tipo de suplementación. Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. Kcal = Kilocalorias, HC = Hidratos de Carbono, PT = Proteínas, LP = Lípidos, ac = SB vs SG, bc = B vs SG, ab = SB vs B. n = 5/grupo. ** p<0.001

Semana	Grupo	Ingesta (g)	Kcal	HC (g)	PT (g)	LP (g)
12	SB	10.872	52.323 ^{ac}	5.384 ^{ac}	2.856 ^{ac}	2.63
	B	11.033	53.093 ^{bc}	5.464 ^{bc}	2.898 ^{bc}	2.669 ^{bc}
	SG	10.94	51.965 ^c	5.418 ^c	2.874 ^c	2.646 ^c
	<i>p</i>	0.890	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}
16	SB	6.905 ^{a b}	33.26 ^{ab}	3.42 ^{ab}	1.814	1.67
	B	4.124 ^{cb}	19.883 ^{bac}	2.042 ^{ba}	1.084 ^{bc}	1.098 ^{bc}
	SG	11.36 ^b	53.96 ^{cb}	5.626 ^{cb}	2.984 ^c	2.748 ^c
	<i>p</i>	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}
20	SB	5.351	25.804	2.65	1.406	1.295
	B	4.734	22.841	2.344	1.244	1.146
	SG	9.468	44.973	4.688	2.488	2.29
	<i>p</i>	0.441	0.430	0.421	0.414	0.470

Tabla 10. Composición de la ingesta en los grupos Hipercalóricos. Presentada por semana y tipo de suplementación. Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. Kcal = Kilocalorias, HC = Hidratos de Carbono, PT = Proteínas, LP = Lípidos, ac = SB vs SG, bc = B vs SG, ab = SB vs B. n = 5/grupo. ** p<0.001, * p<0.05

Semana	Grupo	Ingesta (g)	Kcal	HC (g)	PT (g)	LP (g)
12	SB	10.434 ^{ac}	63.645 ^{ab}	4.15 ^{ac}	0.811 ^{ac}	5.465 ^{ac}
	B	11.284 ^{bc}	68.067 ^{ba}	4.488 ^{bc}	0.877 ^{bc}	5.911 ^{bc}
	SG	8.976 ^c	65.974	3.57 ^c	0.698 ^c	4.702 ^c
	<i>p</i>	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.001 ^{**}	<0.01 ^{**}
16	SB	4.864	27.904	1.934 ^{ab}	0.378 ^{ab}	2.548 ^{ab}
	B	4.458	25.636	1.772 ^{ba}	0.346 ^{ba}	2.335 ^{ba}
	SG	4.706	34.589	1.872	0.366	2.464
	<i>p</i>	0.707	0.007	0.007 [*]	0.007 [*]	0.007 [*]
20	SB	4.69 ^{ac}	27.28 ^{ac}	1.865 ^{ac}	0.364 ^{ab}	2.457 ^{ab}
	B	4.587 ^{bc}	27.862 ^{bc}	1.825 ^{bc}	0.356 ^{bc}	2.402 ^{bc}
	SG	6.676 ^c	49.069 ^c	2.726 ^c	0.532 ^c	3.59 ^c
	<i>p</i>	0.007 [*]	0.007 [*]	0.006 [*]	0.007 [*]	0.007 [*]

Tabla 11. Composición de la ingesta en los grupos Hiperenergético-estándar. Presentada por semana y tipo de suplementación. Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. Kcal = Kilocalorias, HC = Hidratos de Carbono, PT = Proteínas, LP = Lípidos, ac = SB vs SG, bc = B vs SG, ab = SB vs B. n = 5/grupo. * $p > 0.05$

Semana	Grupo	Ingesta (g)	Kcal	HC (g)	PT (g)	LP (g)
12	SB	9.309	44.869 ^{ac}	3.702 ^{ac}	0.723 ^{ac}	4.876 ^{ac}
	B	9.301	44.84 ^{bc}	3.699 ^{bc}	0.723 ^{bc}	4.871 ^{bc}
	SG	11.112	52.782 ^c	4.42 ^c	0.864 ^c	5.82 ^c
	<i>p</i>	0.114	0.015*	0.017*	0.017*	0.017*
16	SB	4.216	20.403	1.676	0.327	2.209
	B	4.196	20.269	1.669	0.326	2.198
	SG	4.86	23.668	1.933	0.378	2.546
	<i>p</i>	0.701	0.687	0.689	0.693	0.697
20	SB	5.498	26.5	2.187	0.427	2.88
	B	5.906	28.433	2.349	0.459	3.094
	SG	6.672	32.48	2.689	0.525	3.542
	<i>p</i>	0.507	0.486	0.508	0.544	0.503

Tabla 12. Comparación del consumo de dieta y galletas durante la fase 2 en los grupos suplementados. Presentado por semana y por grupo suplementado. Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media (EEM). Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey. $n = 5$ por grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$.

	Semana 12			Semana 14			Semana 16			Semana 18			Semana 20		
	Dieta	Galleta	<i>p</i>	Dieta	Galleta	<i>p</i>	Dieta	Galleta	<i>p</i>	Dieta	Galleta	<i>p</i>	Dieta	Galleta	<i>p</i>
	(g)	(g)		(g)	(g)		(g)	(g)		(g)	(g)		(g)	(g)	
STD SB			0.885	4.55	4.74	0.87	3.06	3.85	0.24	2.08	5.06	<0.001**	2.13	3.22	0.02*
STD B			0.915	3.15	6.49	0.92	1.67	2.45	0.25	3.25	5.04	<0.001**	1.78	2.95	0.01*
HIP SB	5.17	5.26	0.776	7.35	4.61	0.11	1.70	3.16	<0.001**	2.04	3.65	<0.001**	1.79	2.90	0.02*
HIP B	5.29	6.00	0.13	7.43	4.39	0.29	1.58	2.88	<0.004**	1.94	3.18	0.01*	2.23	2.36	0.83
HIPSTD															
SB	3.89	5.42	0.318	2.33	5.05	<0.001**	1.07	3.14	<0.001**	1.72	4.70	<0.001**	2.29	3.21	0.11
6	3.80	5.50	0.145	3.53	2.39	<0.001**	1.38	2.81	<0.001**	0.41	5.99	<0.001**	2.74	3.16	0.88

En el grupo STD, se pudo observar un mayor consumo de galletas biotransformada y sin biotransformar durante la semana 18 (STD SB $p < 0.0001$, STD B $p < 0.001$) y la semana 20 (STD B $p = 0.02$, STD SB $p = 0.01$). En los grupos HIP, durante la semana 16 (HIP SB $p < 0.001$, HIP B $p < 0.004$) hubo un mayor consumo de galleta biotransformada y sin biotransformar, durante la semana 18 se mantuvo esta tendencia (HIP SB $p < 0.001$, HIP B $p = 0.01$) y durante la semana 20 únicamente el grupo que consumió galleta sin biotransformar tuvo un consumo mayor respecto a la dieta base (HIP SB $p = 0.02$). En los grupos HIPSTD, durante la semana 14 (HIPSTD SB $p < 0.001$, HIPSTD B $p < 0.001$) se encontró preferencia por las galletas biotransformadas y sin biotransformar, esto se mantuvo durante las semanas 16 (HIPSTD SB $p < 0.001$, HIPSTD B $p < 0.001$) y 18 (HIPSTD SB $p < 0.001$, HIPSTD B $p < 0.001$).

2.2.2 Cambios relacionados a la suplementación en parámetros bioquímicos

Los niveles de glucosa no variaron significativamente entre los grupos durante las semanas 12 y 20. En los grupos STD, durante la semana 12, el grupo SB presentó niveles de glucosa más altos en comparación con el grupo B ($p = 0.022$), tendencia que persistió hasta la semana 20, aunque sin significancia estadística ($p = 0.928$). En los grupos HIP, no se observaron cambios significativos. Por otra parte, en los animales del grupo HIPSTD, se observó una diferencia entre los grupos SB y SG ($p = 0.040$), finalmente, cabe destacar que esta diferencia desaparece para la semana 20 ($p = 0.456$) (Figura 10).

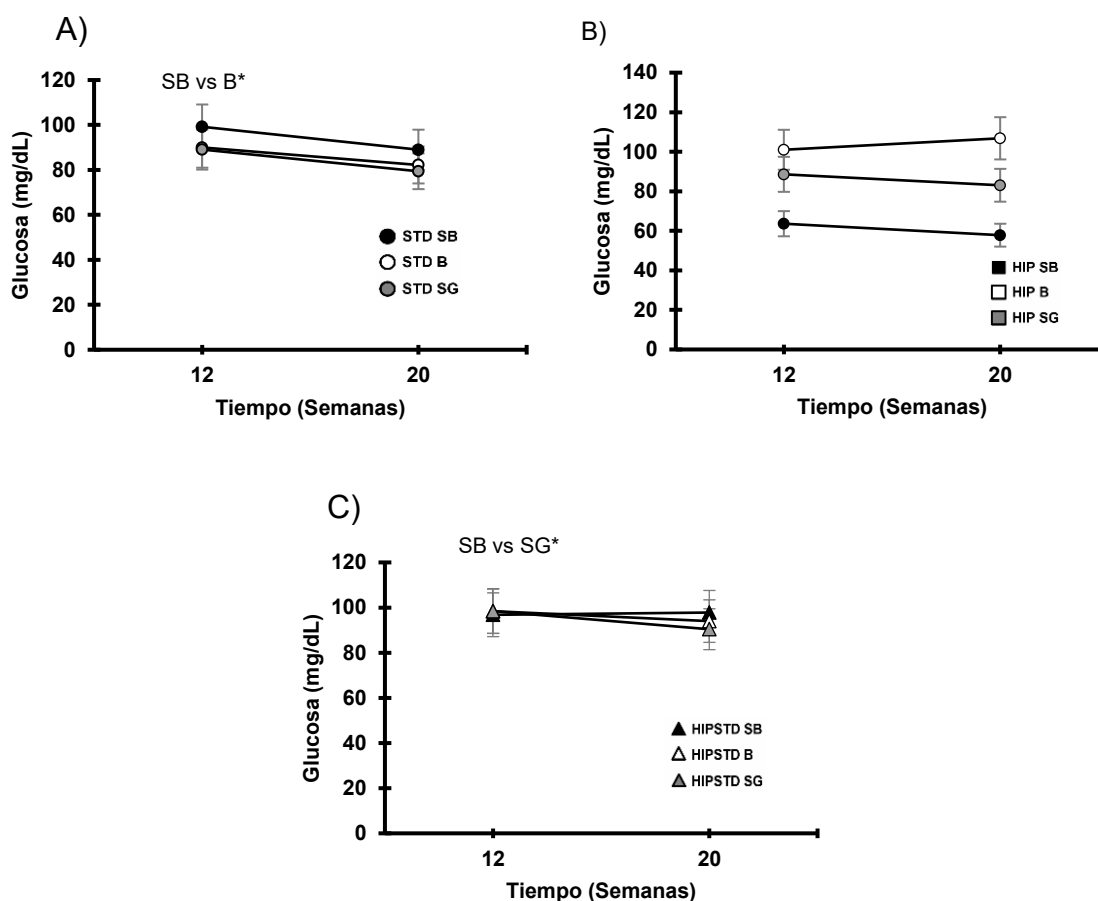


Figura 10. Niveles de glucosa por grupo. Fase 2 (semanas 12 y 20). a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se

analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5/\text{grupo}$.
 $*p < 0.05$.

Respecto a la prueba de tolerancia oral a la glucosa, los grupos STD e HIP no mostraron una diferencia significativa durante la totalidad de prueba (min 0 al min120). Por otra parte, en los grupos HIPSTD, se observó una diferencia significativa en el minuto 15, donde el grupo SB mostró niveles de glucosa más altos que los grupos SG y B ($p < 0.05, 0.022$). En el minuto 30, el grupo SB mantuvo niveles más altos únicamente en comparación con el grupo SG ($p = 0.002$) (Figura 11).

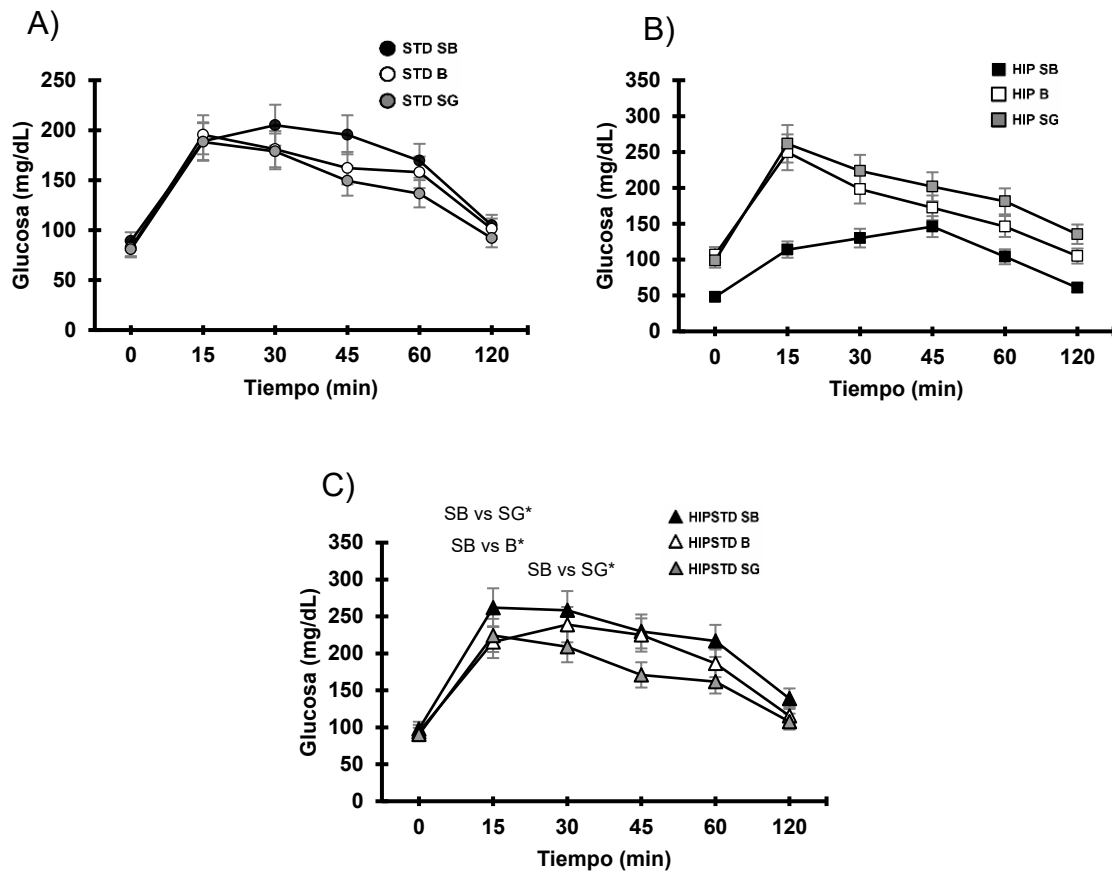


Figura 11. Prueba de tolerancia a la glucosa por grupo. Fase 2 (semana 20). a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n = 5/\text{grupo}$), b) Grupos con dieta

hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5/\text{grupo}$), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5/\text{grupo}$). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5/\text{grupo}$. * $p < 0.05$.

Referente a los niveles de triglicéridos circulantes no difirieron significativamente entre los grupos durante las semanas 12 y 20 en los tres tipos de intervención dietética (STD, HIP e HIPSTD) (Figura 12).

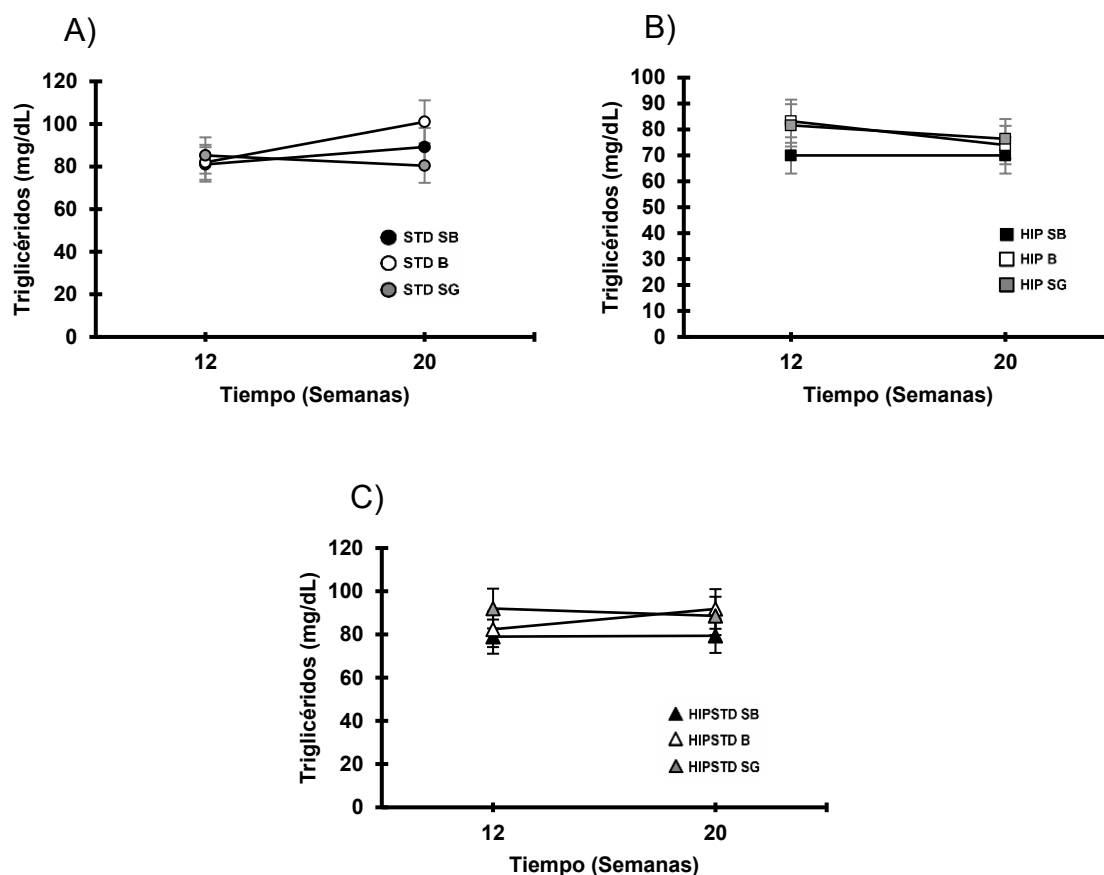


Figura 12. Evolución de los triglicéridos por grupo. Fase 2 (semanas 12 y 20). A) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n= 5/\text{grupo}$), B) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5/\text{grupo}$), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5/\text{grupo}$). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5/\text{grupo}$.

2.2.3 Cambios relacionados con la suplementación en tejidos

En los grupos STD, se observaron diferencias significativas entre el grupo STD B y STD SG ($p = 0.010$), por otra parte, los grupos HIPER, presentaron dos efectos significativos al comparar HIPER SG contra HIPER B ($p = 0.46$) e HIPER SB ($p = 0.49$) (Figura 13).

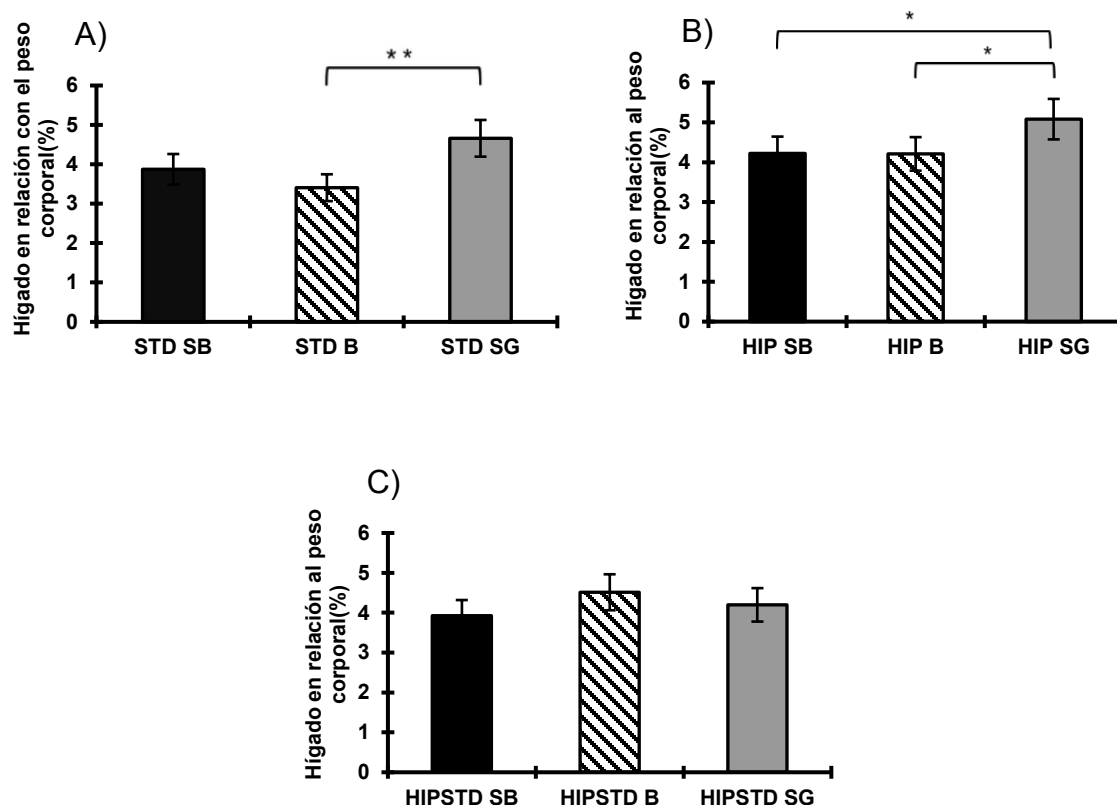


Figura 13. Relación hígado/peso corporal. A) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), B) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo), C) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n = 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5$ /grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$.

Nuestro estudio incluyó fotografías de tejido hepático de ratones pertenecientes a los grupos suplementados. Los hígados de los grupos STD B y SB presentaron un

aspecto uniforme y saludable. En contraste, los hígados de los grupos HIP mostraron alteraciones en la textura de la superficie y en la uniformidad del color. Dentro de los grupos HIPSTD (C,F), el grupo HIPSTD B (C) presentó una mejora macroscópica en el tejido hepático en comparación con el grupo SB (F) (Figura 14).

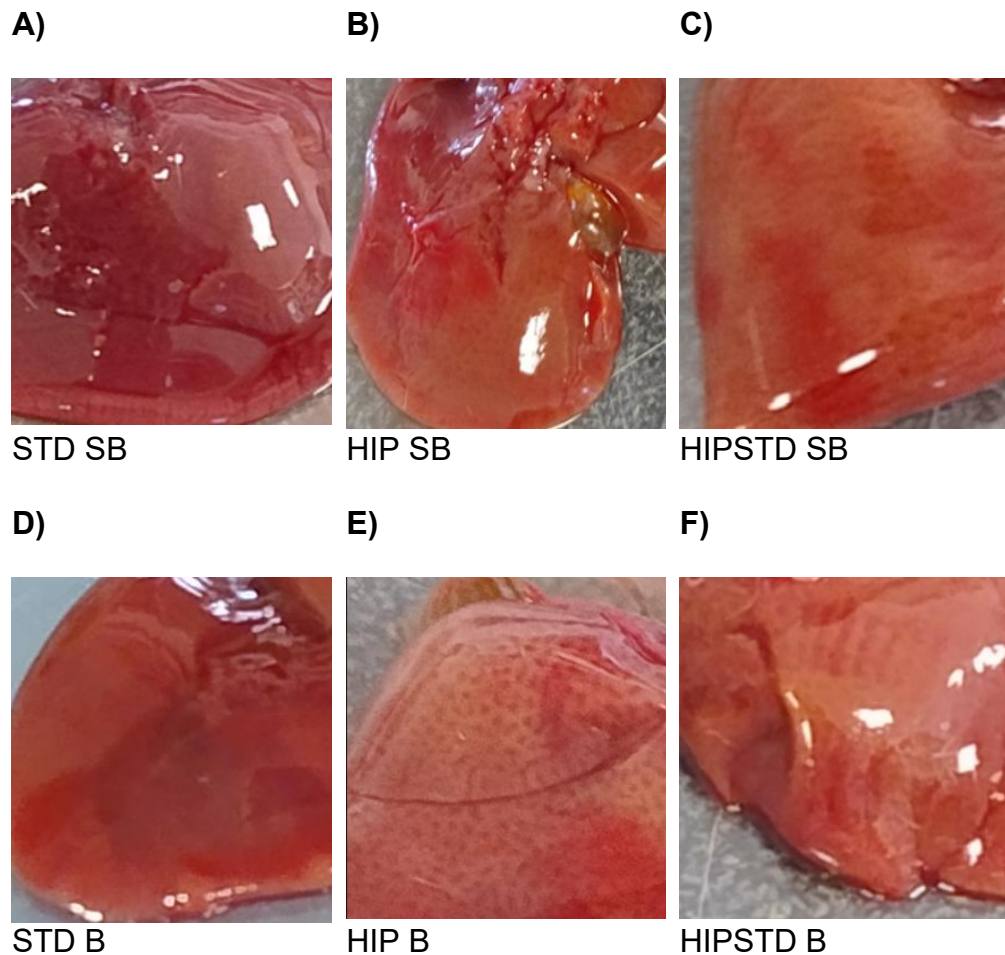


Figura 14. Comparación del tejido hepático por grupos suplementados. STD = estándar, HIP = hipercalórica, HIPSTD = hipercalórica estándar, SB = sin biotransformar, B = biotransformada.

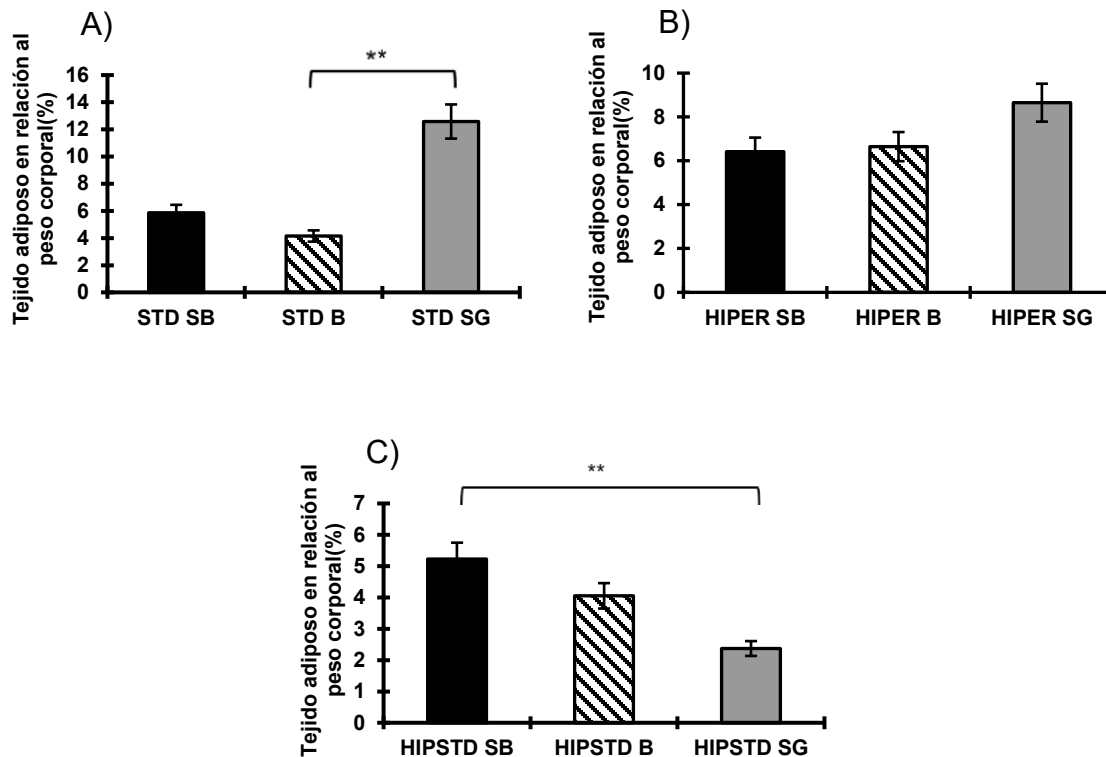


Figura 15. Relación tejido adiposo/peso corporal. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5$ /grupo. $**p < 0.005$.

Se observaron diferencias significativas en el porcentaje de tejido adiposo en relación con el peso corporal de los modelos. En este sentido, se encontró un mayor porcentaje de este tejido en el grupo STD SG respecto al grupo STD B ($p = 0.019$). Por otra parte, se encontró una reducción en el grupo HIPSTD SG en comparación con el grupo HIPSTD SB ($p = 0.01$) (Figura 15).

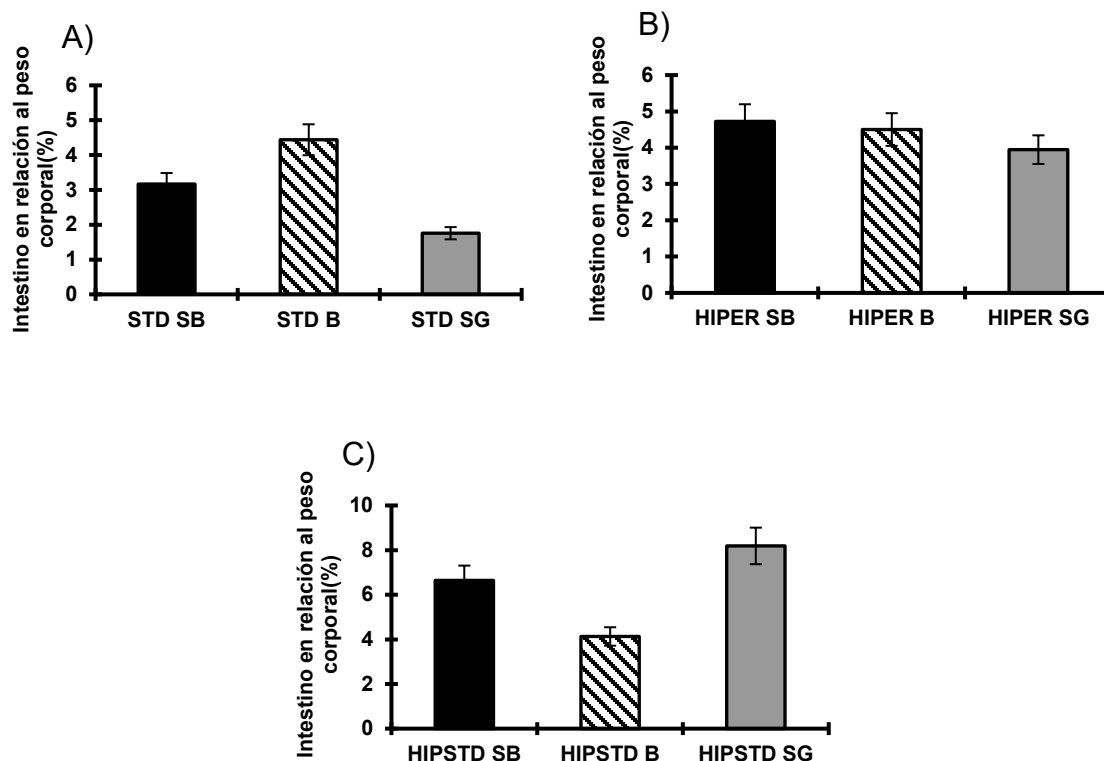


Figura 16. Relación intestino/peso corporal. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 5$ /grupo.

No se observaron diferencias significativas en los tres tipos de intervención dietética (STD, HIP e HIPSTD) sobre el porcentaje de intestino en relación al peso corporal de los modelos. Sin embargo, cabe resaltar que el peso promedio del órgano en el grupo HIP fue de 4.390 g, similar al del grupo STD B (4.438 g) (Figura 16).

2.2.4 Cambios en parámetros inflamatorios

Se determinaron los niveles de IL-6 en los diferentes grupos experimentales. Los grupos STD, no presentaron diferencias significativas. En los grupos HIP, los grupos suplementados (SB, B) mostraron niveles más bajos de IL-6 en comparación con el grupo SG ($p < 0.05$). En los grupos HIPSTD, que pasaron de dieta estándar a

hipercalórica, el grupo SB presentó niveles significativamente más altos en comparación con los grupos B y SG ($p < 0.005$) (Figura 17).

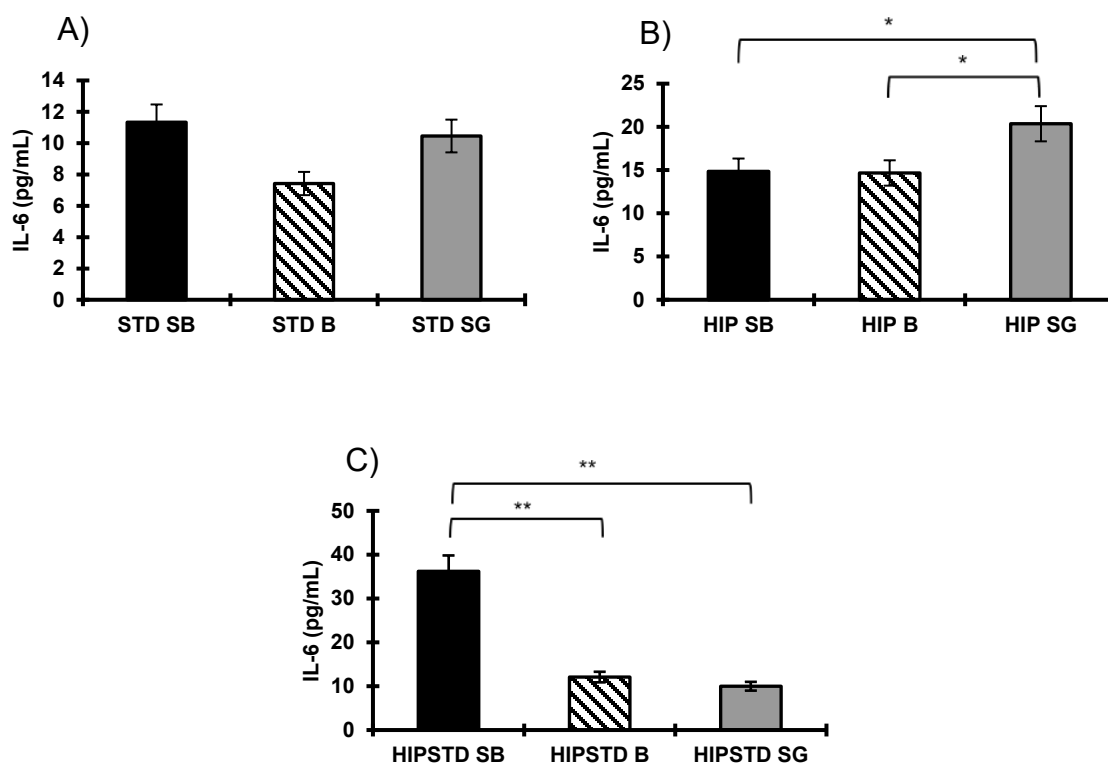


Figura 17. Niveles de IL-6 por grupo. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. $n = 3$ /grupo. $p < 0.05$; $p = 0.005$.

Otro marcador proinflamatorio analizado fue TNF- α . Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en este marcador sobre los tres tipos de intervención dietética (STD, HIP e HIPSTD) (Figura 18).

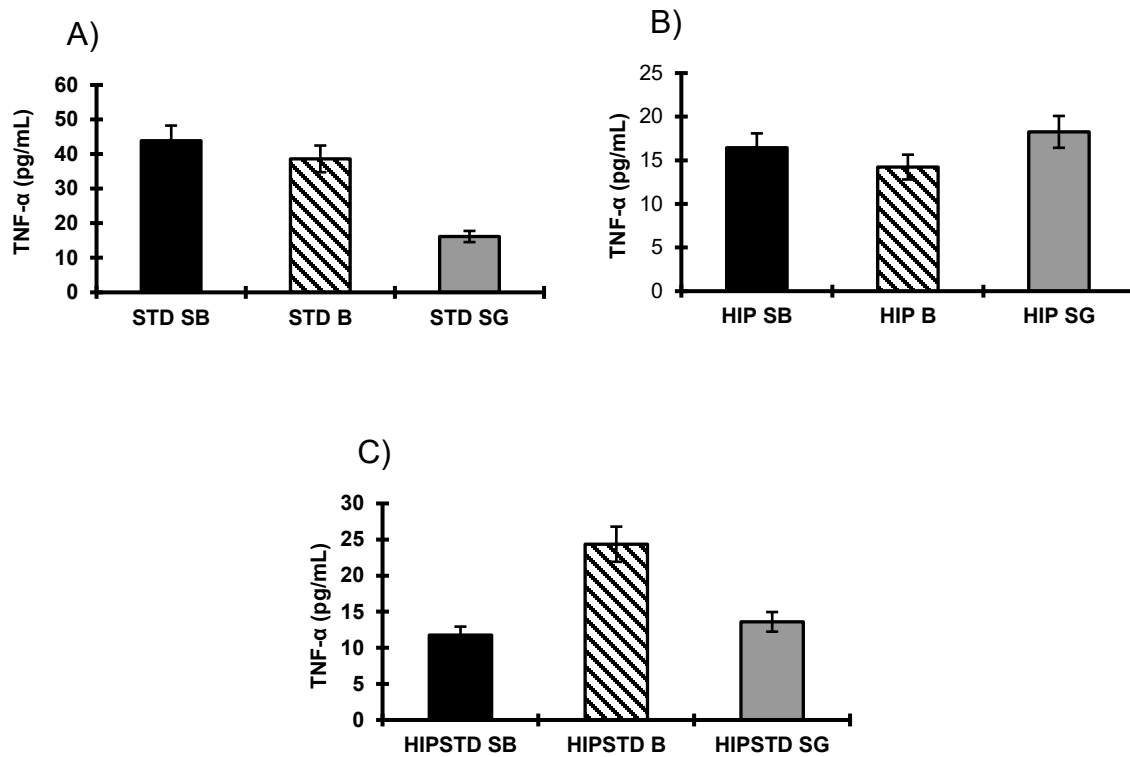


Figura 18. Niveles de TNF- α por grupo. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG, $n= 5$ /grupo). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. $n = 3$ /grupo. $p < 0.05$; $p = 0.005$.

Finalmente, se evaluaron los niveles de IL-10. En los grupos STD e HIP, no se observaron diferencias significativas. Por otra parte, se encontraron mayores niveles de dicho marcador en el grupo HIPSTD SG respecto al grupo HIPSTD SB ($p = 0.031$) (Figura 19).

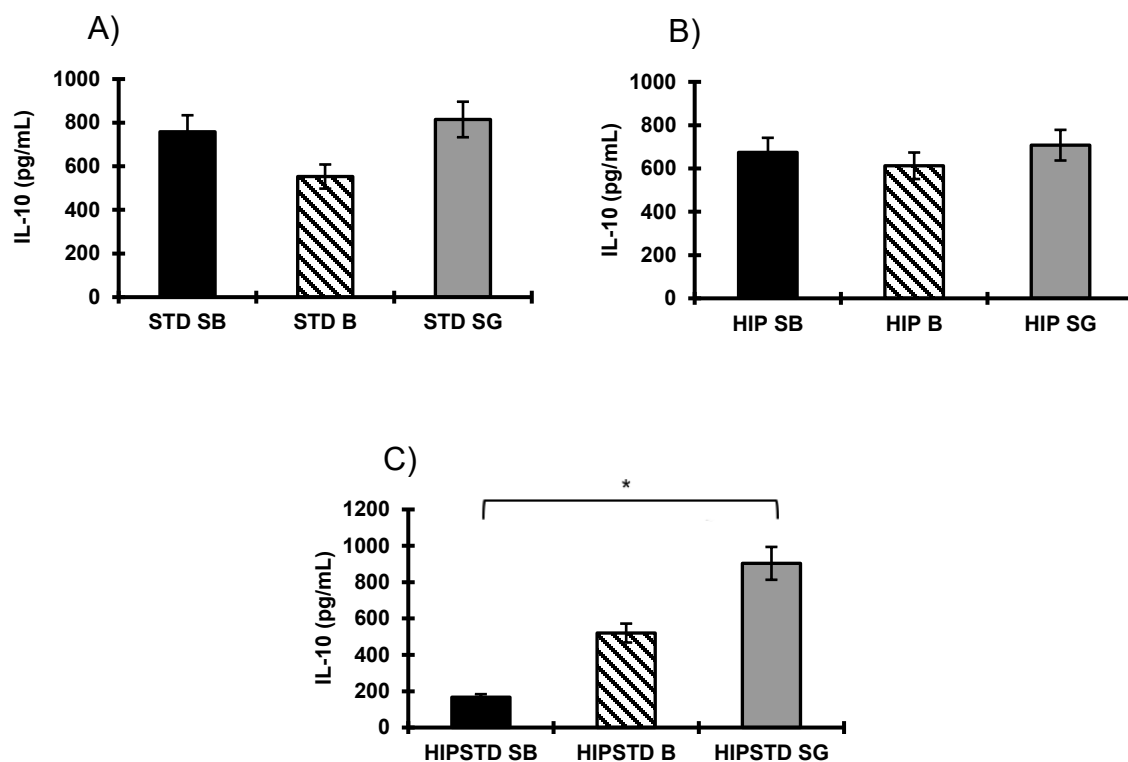


Figura 19. Niveles de IL-10 por grupo. a) Grupos con dieta estándar (SB, B, SG), b) Grupos con dieta hipercalórica (SB, B, SG), c) Grupos con dieta hipercalórica-estándar (SB, B, SG). Los datos se expresan como media \pm EEM. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. $n = 3/\text{grupo}$. $p < 0.05$.

2.2.5 Correlación entre el peso y los niveles de glucosa

Se observó una correlación positiva entre los niveles de glucosa al minuto 15 de la prueba de tolerancia oral a la glucosa y el peso corporal durante la última semana de la intervención. Esta relación indicó que niveles más altos

de glucosa se asociaron con un mayor peso corporal ($r = 0.602$, $p = 0.018$) (Figura 20).

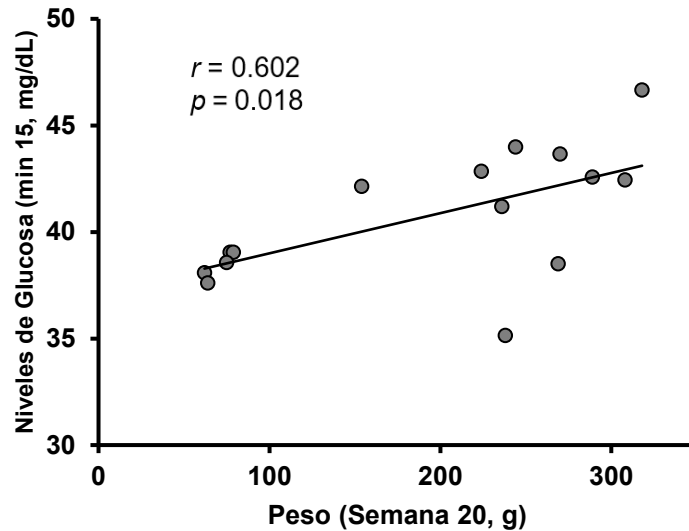


Figura 20. Correlación entre los niveles de glucosa al minuto 15 en la prueba de tolerancia oral a la glucosa y el peso durante la semana 20. El análisis se realizó mediante la prueba de Pearson.

2.2.5 Correlación entre los niveles de TNF- α y de glucosa

Además, nos interesó evaluar correlaciones entre diferentes variables. En ese sentido, se observó una correlación negativa entre los niveles de glucosa al minuto 15 de la prueba de tolerancia oral a la glucosa y los niveles de TNF- α . Niveles más bajos de glucosa se asociaron con un aumento en los niveles de la citocina TNF- α ($r = -0.910$, $p < 0.001$) (Figura 21).

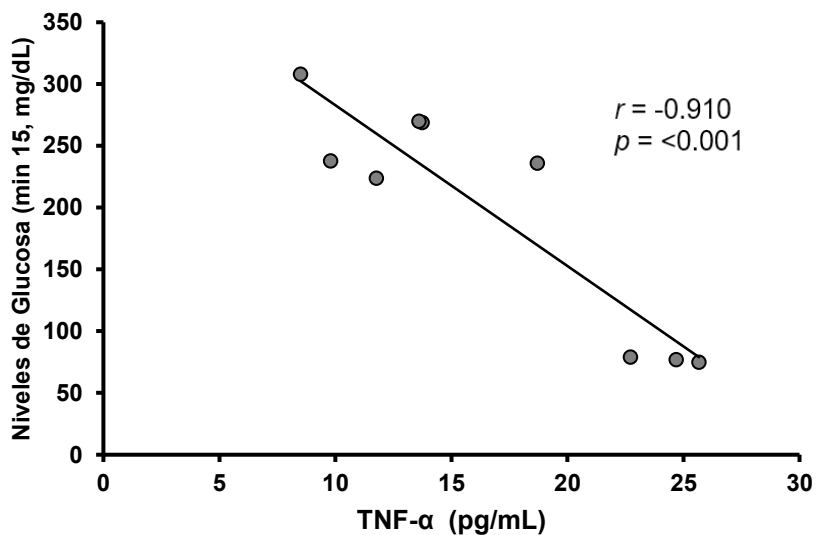


Figura 21. Correlación entre los niveles de glucosa al minuto 15 en la prueba de tolerancia oral a la glucosa y los niveles de TNF- α . El análisis se realizó mediante la prueba de Pearson.

2.2.6 Correlación entre los niveles de IL-10 e IL-6

Finalmente, se observó una correlación negativa entre los niveles de IL-6 e IL-10, de tal manera que una disminución en la IL-6 circulante estuvo acompañada por un aumento en IL-10 ($r = -0.681$, $p = 0.044$) (Figura 22).

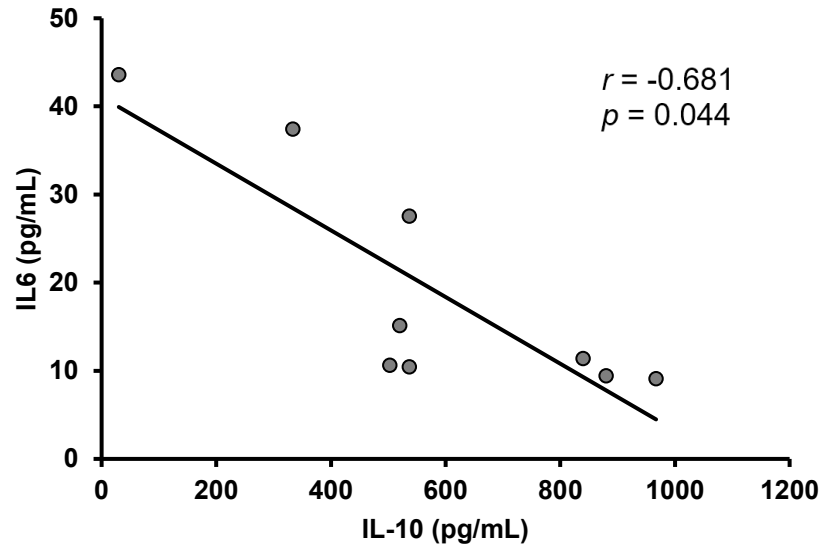


Figura 22. Correlación entre los niveles de IL-6 e IL-10. El análisis se realizó mediante la prueba de Pearson.

10. Discusión

La inflamación sistémica crónica es una condición frecuentemente asociada con alteraciones metabólicas inducidas por factores dietéticos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos del consumo de una galleta enriquecida con harina biotransformada por *Pleurotus ostreatus* sobre parámetros nutricionales, tisulares e inflamatorios en ratones con alteración metabólica inducida por una dieta hipercalórica y alta en grasa. Nuestra hipótesis fue que el consumo de esta galleta suplementada podría ejercer un efecto modulador sobre marcadores nutricionales, bioquímicos e inflamatorios post-suplementación en este modelo.

10.1 Peso e ingesta

Durante estados de disfunción metabólica, el peso corporal y la ingesta de alimentos son algunos de los parámetros más sensibles, dado que la composición dietética influye directamente en la densidad y distribución de nutrientes. Las alteraciones en los patrones de ingesta, especialmente aquellas caracterizadas por altas proporciones de azúcares y grasas, pueden alterar el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, contribuyendo directamente a la fluctuación de peso de los ejemplares (Dewhurst-Trigg et al., 2020).

La ausencia de diferencias significativas en el peso corporal durante la Fase 1 puede explicarse por la composición específica de macronutrientes de la dieta hipercalórica. En un estudio de Solano-Mendieta (Sollano-Mendieta et al., 2023), Ratones CD-1 alimentados con una dieta hipercalórica durante 10 semanas mostraron un mayor aumento de peso respecto al grupo control con dieta estándar. En el experimento de Sollano, el peso máximo registrado alcanzó los 48 g, mientras que en el presente estudio el peso corporal máximo fue de 42 g. Esta discrepancia puede atribuirse a diferencias en la composición de la dieta: la formulación de Solano-Mendieta contenía 48.5% de carbohidratos y 4.5% de grasas, mientras que en el estudio actual se empleó una dieta con 40% de carbohidratos y 52% de grasas. Además, Guimarães et al. (2020) reportaron que las dietas altas en carbohidratos fueron más efectivas que las dietas altas en grasas para inducir alteraciones metabólicas en ratones. Otro estudio observó que el uso de grasas de origen animal, como la manteca de cerdo, en dietas altas en grasas resultó en un mayor aumento

de peso en ratones C57BL/6J después de 10 semanas de intervención, en comparación con dietas basadas principalmente en lípidos de origen vegetal. Los ratones de ese grupo alcanzaron los 33 g para la semana 8, lo cual es consistente con los hallazgos presentes en los grupos con dieta hipercalórica de este estudio (Catta-Preta et al., 2011).

Sin embargo, durante la Fase 2 se observaron alteraciones en varios parámetros, incluyendo el peso corporal, tolerancia oral a la glucosa, acumulación de tejido adiposo, relación hígado-peso corporal y los niveles de IL-6. Estos cambios podrían atribuirse a los patrones acumulativos de ingesta y a la composición dietética establecida durante la Fase 1. Específicamente, el grupo con dieta estándar mantuvo una ingesta consistentemente alta de proteínas desde el inicio hasta el final de la fase 1, mientras que el grupo hipercalórico presentó un aumento continuo en el consumo de grasas. Estas observaciones reflejan los perfiles contrastantes de macronutrientes de las dietas estándar e hipercalórica: alto en proteínas versus alto en grasas, respectivamente.

A pesar de la similitud en el peso corporal total entre los grupos, el grupo HIP B presentó un incremento superior al grupo SB. Este fenómeno podría atribuirse a una mayor ingesta de alimento hacia la semana 20, impulsada por una marcada preferencia hacia la dieta hipercalórica, aumentando su ingesta total de lípidos.

La ausencia de cambios en la ingesta, especialmente en los ratones con dieta hipercalórica, podría atribuirse a la sobreexpresión de genes relacionados con la saciedad (por ejemplo, *Lepr*, *Lep*, *POMC*) bajo condiciones de sobrealimentación, fenómeno comúnmente observado en modelos murinos, pero no en humanos (Cai et al., 2023). También se ha documentado que la supresión de estos genes aumenta la susceptibilidad a dietas hipercalóricas en ratones (Challis et al., 2004).

Durante la Fase 1, aunque los niveles de ingesta fueron similares entre los grupos HIP y STD, la composición de macronutrientes de los alimentos consumidos difirió significativamente, resaltando las formulaciones respectivas de las dietas. Los ratones con dieta estándar consumieron una mayor proporción de proteínas y carbohidratos, mientras que los grupos hipercalóricos reportaron un mayor consumo de lípidos. En consecuencia, un aumento de su ingesta calórica, en línea con el

perfil energético denso y rico en grasas de su dieta. Estos perfiles de ingesta probablemente contribuyeron a las alteraciones inflamatorias y metabólicas observadas durante la Fase 2.

En la Fase 2, a pesar de la ausencia de diferencias en la ingesta total de macronutrientes entre los grupos con dieta estándar e hipercalórica, se evidenció una preferencia marcada por las galletas suplementadas (tanto biotransformadas como no biotransformadas). Esto puede explicarse por similitudes organolépticas, como textura, color y dulzura, que se asemejaban al alimento hipercalórico y hacían que las galletas fueran más atractivas que el alimento estándar. Dada la exposición previa de 12 semanas a la dieta hipercalórica, esta similitud pudo haber influido en la selección alimentaria. Esta preferencia hedónica coincide con evaluaciones sensoriales humanas realizadas durante la fase de desarrollo del producto, donde ambos tipos de galletas demostraron alta aceptabilidad (Zhu et al., 2025). No obstante, los cambios en la distribución dietética también pudieron haber contribuido a los resultados inflamatorios. Se observaron niveles más altos de IL-6 en el grupo que consumió galletas no biotransformadas en comparación con los grupos que consumieron galletas biotransformadas y los que no consumieron galletas. Se encontraron diferencias paralelas en la masa de tejido adiposo. Estos resultados sugieren que la suplementación con galletas, cuando se acompaña de un cambio dietético, puede potenciar la bioactividad de *Pleurotus ostreatus* de manera más efectiva que en los grupos alimentados con dieta hipercalórica sin transición dietética. Sin embargo, no surgieron diferencias significativas entre los subgrupos biotransformados y no biotransformados. Está bien establecido que los ratones con dieta hipercalórica pueden mantener o incluso aumentar su peso a pesar de consumir volúmenes similares a los de los ratones con dieta estándar. Esto se debe a la alta eficiencia energética de las dietas ricas en grasas y a un aumento asociado en la oxidación de lípidos, lo que eventualmente promueve la deposición ectópica de grasa (por ejemplo, en hígado o músculo) y la aparición de resistencia a la insulina (Catta-Preta et al., 2011).

10.2 Metabolismo de glucosa

El metabolismo de los carbohidratos suele verse alterado bajo estrés metabólico, debido a una carga glucémica excesiva, lipotoxicidad persistente e ingesta insuficiente de fibra dietética y compuestos bioactivos (Santamarina et al., 2023).

Aunque los niveles de glucosa durante la Fase 2 se mantuvieron similares en los grupos STD e HIPSTD, de manera consistente con la Fase 1, las fluctuaciones glucémicas fueron más pronunciadas en el grupo HIPSTD, especialmente hacia la semana 20. Estos niveles se mantienen dentro del rango esperado para ratones alimentados con dietas hipercalóricas, que típicamente presentan niveles de glucosa en ayunas entre 81 y 90 mg/dL (Su et al., 2022). En este estudio, las concentraciones promedio de glucosa fueron de 84.9 mg/dL en los grupos HIP y de 98.6 mg/dL en el grupo HIP SG.

Aunque no se observaron diferencias significativas en las curvas de tolerancia a la glucosa, los niveles al minuto 15 (pico glucémico) en el grupo hipercalórico alcanzaron 261 mg/dL, valores similares a los reportados en estudios con intervenciones de 8 a 16 semanas. (Terreros et al., 2025; Sollano et al. 2023). Por ejemplo, en un estudio que utilizó extracto de *Codonopsis pilosula* como intervención dietética, los ratones expuestos a una dieta hipercalórica similar durante 8 semanas presentaron valores máximos de glucosa de 261.2 mg/dL al minuto 30 (Su et al., 2022). En el presente estudio, al minuto 30, el grupo que consumió la galleta biotransformada mostró un regreso más rápido hacia los valores basales de glucosa (198 mg/dL) en comparación con el grupo SG (223.6 mg/dL). Estos resultados reflejan las alteraciones metabólicas establecidas inducidas por la alimentación hipercalórica, el deterioro de la señalización de la insulina, la reducción en la captación periférica de glucosa y el aumento de la producción hepática de glucosa, factores que a menudo se ven exacerbados por niveles elevados de triglicéridos y ácidos grasos libres (Liu et al., 2015).

10.3 Metabolismo de lípidos

La dislipidemia frecuentemente se asocia con la obesidad, resistencia a la insulina y esteatosis hepática. Las dietas altas en aporte energético y calórico favorecen la

lipogénesis *de novo*, el almacenamiento de grasa visceral y la producción de triglicéridos a nivel hepático, así como la secreción de VLDL (Hidalgo *et al.*, 2022). En nuestro estudio, aunque la exposición durante la Fase 1 fue insuficiente para inducir alteraciones lipídicas importantes, pueden haberse producido cambios sutiles en el manejo de lípidos, especialmente bajo condiciones inflamatorias. Por ejemplo, se ha demostrado que la IL-6 afecta negativamente la lipólisis y promueve la expansión del tejido adiposo (Chalkiadaki & Guarente, 2012), como lo que se pudo observar en los grupos HIP que mostraron niveles elevados de IL-6 en relación con los grupos HIPSTD y STD (Zhang *et al.*, 2024).

10.4 Tejidos

La enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD) es una comorbilidad común de la obesidad, caracterizada por la acumulación progresiva de lípidos en los hepatocitos y la consiguiente inflamación hepática. La sobrealimentación, especialmente con dietas ricas en azúcares simples y grasas, promueve la lipogénesis hepática *de novo* y la infiltración de macrófagos, contribuyendo al daño hepático. Sin embargo, generalmente se requieren al menos 40 semanas para provocar cambios hepáticos avanzados en modelos murinos (Van Der Heijden *et al.*, 2015). Por lo tanto, aunque se observaron diferencias hepáticas macroscópicas, es probable que la progresión histopatológica aún se encuentre en etapas tempranas.

En cuanto al volumen hepático, la diferencia significativa observada en el grupo estándar biotransformado en comparación con el grupo sin suplementación con galleta podría sugerir un efecto preventivo de la galleta biotransformada en un modelo saludable. En contraste, en los grupos hipercalóricos se notaron mejoras con la suplementación independientemente del tipo de galleta. Entre estos, el grupo HIP mostró la menor diferencia entre los subgrupos biotransformado y no biotransformado, posiblemente debido a la exposición prolongada a la dieta hipercalórica, exposición ausente en los otros grupos experimentales, y a una disminución en la preferencia por la galleta biotransformada durante la fase final del estudio, lo que condujo a un aumento en el consumo del alimento hipercalórico. No obstante, la ingesta de ambos tipos de galletas aumentó durante la semana 16.

La disfunción del tejido adiposo es una característica clave de las alteraciones metabólicas inducidas por la dieta. Esta disfunción resulta principalmente de la sobrealimentación crónica, lo que provoca una alteración en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, así como un aumento en la señalización proinflamatoria. A medida que se expande la reserva de tejido adiposo, tanto su estructura como su función endocrina se ven alteradas, contribuyendo a la resistencia a la insulina y a la inflamación sistémica (Hydes *et al.*, 2021).

Un estudio previo en ratones expuestos a una dieta alta en grasas durante ocho semanas, seguida de una dieta baja en grasas durante siete semanas, mostró que la reversión dietética puede reducir la masa de grasa visceral (Rodrigues *et al.*, 2020); sin embargo, el estado inflamatorio inducido por la dieta inicial puede no revertirse completamente. En el presente estudio, los grupos biotransformados mostraron resultados positivos en el tejido adiposo en comparación con los grupos sin galleta, lo que podría indicar una recuperación metabólica parcial. No obstante, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el volumen de tejido adiposo entre estos grupos. Los niveles de IL-6 también fueron menores en el grupo estándar biotransformado que en el grupo sin galleta, respaldando la evidencia previa sobre el papel de esta citocina en la inflamación. El aumento de la adiposidad puede estar asociado con daños inflamatorios tempranos debido a la exposición a una dieta hipercalórica. Un estudio realizado en ratones C57BL/6J alimentados con una dieta alta en grasas durante 52 semanas reportó cambios en los niveles de IL-10 después de la semana 24, los cuales se atribuyeron a un incremento en la expresión de genes inflamatorios (MCP-1, F4/80, IL-10) (Van Der Heijden *et al.*, 2015b). Este patrón se observó particularmente en el grupo HIPSTD, especialmente al comparar el grupo suplementado con la galleta sin biotransformar con el grupo sin galleta. Este grupo es de especial interés, ya que la administración de galleta biotransformada o sin biotransformar pareció reducir la masa de tejido adiposo de manera más efectiva en los animales que hicieron la transición de una dieta hipercalórica-estandar comparado a las dietas que solo llevaron variantes hipercalóricas o estándar sin cambio. Este efecto se vio incrementado entre el grupo sin suplementación y el que llevó galleta sin biotransformar, este grupo también

presentó preferencia por la galleta sin biotransformar. Si bien, parte de sus efectos son atribuidos a la biotransformación, los componentes base de la galleta como la avena y el frijol también tienen propiedades beneficiosas sobre el metabolismo de lípidos debido al contenido de antioxidantes y fibra. Esto podría indicar que la mejora dietética y el consumo de alimentos funcionales también cumplen un papel importante en la regulación lipídica sobre esta citocina independientemente de la biotransformación.

Este patrón se asemeja a las adaptaciones fisiológicas típicamente observadas durante la rehabilitación nutricional en humanos, donde las mejoras dietéticas y el consumo de alimentos funcionales contribuyen a la restauración de la homeostasis. En contraste, no se observó un beneficio comparable en el grupo HIP, probablemente debido a la ingesta continua de una dieta rica en lípidos, lo que pudo haber disminuido los efectos potenciales de la suplementación.

Cabe destacar que, incluso en el grupo STD, compuesto por ratones mantenidos bajo un régimen nutricional saludable, se evidenciaron mejoras en los parámetros del tejido adiposo. Esta respuesta puede atribuirse a las propiedades bioactivas intrínsecas de los ingredientes de la galleta, incluyendo: avena (avenantramidas, β -glucanos, ácidos ferúlico y cafeico, flavonoides); frijoles negros (antocianinas, péptidos bioactivos, ácido p-cumárico); y micelio de *Pleurotus ostreatus* (β -glucanos, lectinas, ácidos grasos poliinsaturados, pleurostrina) (Y. Zhang *et al.*, 2020; Mio *et al.*, 2020). Estos compuestos se han asociado con la modulación de la microbiota intestinal, mejoras en el metabolismo de lípidos y una mejor regulación glucémica. Los cambios en el tejido adiposo asociados con dietas hipercalóricas han sido descritos previamente. En un estudio realizado en ratas propensas o resistentes a la obesidad, alimentadas con una dieta alta en grasas durante siete semanas, el análisis posterior del tejido adiposo inguinal y epidídimo reveló hipertrofia y aumento de masa en ambos fenotipos. Además, se documentaron niveles elevados de citocinas como IL-1 α , IL-1 β , IL-10, TNF- α e IL-6 (Poret *et al.*, 2017). Estos hallazgos respaldan la idea de que los cambios metabólicos e inflamatorios tempranos ocurren incluso en respuestas genéticamente divergentes al estrés hipercalórico.

No se observaron diferencias significativas en el tejido intestinal recuperado de los ratones; sin embargo, se notó una tendencia hacia un mayor peso del órgano en los grupos suplementados con la galleta biotransformada.

En un estudio realizado con ratones C57/Bl6 sometidos a resección del intestino delgado, Choi et al., (2013) observaron que una dieta alta en grasa indujo una mejora significativa en la altura de las vellosidades y la proliferación de enterocitos en un periodo de 7 días. Este efecto, que se mantuvo durante los 30 días del experimento a pesar de una ingesta de alimento similar entre los grupos, sugiere que los cambios tisulares derivan directamente de la composición dietética. Dichos hallazgos, sugieren que las dietas densas en energía, ricas en fibra o grasas promueven la reparación tisular, proceso posiblemente mediado por la expresión del receptor CD3.

De manera similar a lo reportado en la literatura, los pesos promedios en el presente estudio muestran que los grupos alimentados con la galleta biotransformada mantuvieron un peso de tejido intestinal cercano al 5% del peso corporal. Este fenómeno, detectado en los grupos STD, HIP y HIPSTD. El efecto observado podría estar relacionado con la disponibilidad de nutrientes proporcionada por la galleta biotransformada. Aunque esto se observó tanto en los grupos con galleta biotransformada como no biotransformada dentro de los conjuntos HIP, la tendencia fue más marcada a favor de la galleta biotransformada en los grupos STD.

10.4 Marcadores de inflamación

La producción de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias se ha asociado con las alteraciones metabólicas típicas de dietas poco saludables, especialmente cuando la expansión del tejido adiposo conduce a un aumento en la resistencia a la insulina y a la infiltración de macrófagos. Este efecto se amplifica cuando ocurre una acumulación de grasa visceral (Oliveira *et al.*, 2013).

En el grupo HIPSTD, se observaron diferencias en los niveles de IL-6 entre el grupo SB y los grupos B y SG. El grupo biotransformado mostró niveles de IL-6 similares al grupo sin galleta, lo que sugiere una posible reducción de esta citocina asociada con la suplementación. Aunque también se observó una reducción de IL-6 en los

grupos HIP (SB vs B), la diferencia entre los grupos SB y B no fue significativa aunque los niveles reportados fueron similares.

Si bien el mecanismo puede ser diferente, otro estudio que utilizó extracto de *P. ostreatus* en cultivos de macrófagos y esplenocitos reportó una disminución en los niveles de IL-6, probablemente mediante la inhibición de las vías de señalización NF- κ B y AP-1 (Jedinak *et al.*, 2011). De manera similar, estudios previos han demostrado que las dietas ricas en grasas saturadas de origen animal pueden aumentar los niveles de IL-6 en un período de 10 semanas, alcanzando concentraciones promedio de 17.6 pg/mL. Estos valores son comparables a los registrados en nuestro estudio para el grupo HIP SG (20.63 pg/mL) y el grupo HIPSTD SG (9.93 pg/mL). El grupo HIPSTD, tras cambiar a una dieta estándar, alcanzó niveles comparables al grupo STD SG. Se observaron reducciones en los niveles de IL-6 en los grupos HIP suplementados, independientemente de la biotransformación, en comparación con los ratones no suplementados que recibieron dieta hipercalórica (Catta-Preta *et al.*, 2011). El grupo HIPSTD B, en particular, mantuvo una alta ingesta de la galleta biotransformada durante la fase 2, especialmente a partir de la semana 16. Esto podría haber influido en la regulación de IL-6, sobre todo en los grupos que experimentaron tanto el cambio dietético como la suplementación. La combinación de estos dos factores parece potenciar el efecto regulador de la galleta, más que la suplementación por sí sola. Esto puede ser relacionado con el contenido de β -glucanos y compuestos fenólicos presentes en la galleta, que se han relacionado con la interrupción de la vía de señalización de NF- κ B y que desencadena alteraciones en la producción de IL-6 (Sido *et al.*, 2017).

En cuanto a la IL-10, no se observaron diferencias marcadas entre los grupos STD e HIP, pero sí se registró una reducción en el grupo HIPSTD. Esto podría atribuirse al cambio dietético en dicho grupo, ya que la suplementación con *P. ostreatus* en los otros grupos no afectó los niveles de IL-10. Dentro del grupo HIPSTD, surgieron diferencias entre los subgrupos suplementados y no suplementados.

Se observó una reducción de IL-10 en el grupo HIPSTD, lo cual se ha asociado con inflamación y obesidad, principalmente en el tejido adiposo. La IL-10 puede suprimir los niveles de IL-6 y TNF- α , los cuales se encontraron elevados en los grupos

HIPSTD SB y B, respectivamente. Esto sugiere una posible regulación compensatoria. Además, la IL-10 podría desempeñar un papel paradójico en el tejido adiposo, posiblemente favoreciendo la resistencia a la insulina y la termogénesis (Acosta *et al.*, 2019). En los grupos STD e HIP, la IL-6 y la IL-10 se mantuvieron elevadas, lo que podría reflejar una regulación mutua. En cambio, el grupo HIPSTD mostró variabilidad en los niveles de IL-6, reflejando las fluctuaciones de la IL-10 (Kern *et al.*, 2018). Un estudio realizado en ratas con predisposición a la obesidad se encontraron niveles disminuidos de IL-10, sugiriendo una reparación más efectiva en modelos con resistencia a la inflamación (Poret *et al.*, 2017). La inflamación persistente puede dar lugar a la hiperplasia del tejido adiposo y a la infiltración de macrófagos, siendo los macrófagos M1 responsables de la producción de citocinas proinflamatorias y los macrófagos M2 de las respuestas antiinflamatorias. La predominancia de macrófagos M1 en la obesidad favorece la inflamación crónica (De Luca & Olefsky, 2007). En este estudio, la combinación de cambio dietético y suplementación condujo a la regulación de la IL-6, especialmente al comparar los subgrupos SB y sin galleta. La elevación de la IL-6 podría haber desencadenado una reducción en la producción de IL-10. Este efecto parece más evidente en el grupo HIPSTD, donde el cambio dietético sin suplementación simultánea podría haber impulsado este patrón de respuesta, en contraste con los grupos STD y HIP.

Los niveles de TNF- α no mostraron diferencias significativas entre los grupos suplementados y no suplementados. Sin embargo, se observaron ligeros cambios en los subgrupos B y SG dentro del grupo HIPSTD. Estos resultados son consistentes con los patrones de IL-6 en el mismo grupo. La IL-10 podría haber compensado la reducción de la IL-6. En estados inflamatorios, la IL-6, la IL-10 y el TNF- α tiende a aumentar, siendo la IL-6 la que presenta las mayores fluctuaciones durante la inflamación sistémica (De Cássia Coelho Moraes De Brito *et al.*, 2016). Esta correlación se observó en el presente estudio, donde la disminución de la IL-6 coincidió con un aumento del TNF- α . Esto podría reflejar una regulación propia de la inflamación crónica. Otro estudio realizado con ratones obesos y células adiposas humanas reportó que niveles elevados de TNF- α pueden promover la producción

de IL-6, lo que posiblemente explique las tendencias de citocinas observadas en este trabajo (Al-Roub *et al.*, 2021).

Cabe destacar que el grupo HIPSTD experimentó un cambio dietético particular, pasando de una dieta alta en grasas a una dieta estándar. Esto podría haber atenuado gradualmente los efectos de la alteración metabólica previa. Una limitación de este estudio es la duración relativamente corta de la exposición hipercalórica (<26 semanas), lo que podría haber dado lugar a resultados más sutiles en comparación con intervenciones más prolongadas. No obstante, los cambios tisulares y en citocinas observados respaldan las alteraciones metabólicas e inflamatorias inducidas por dietas altas en grasas. En los grupos HIPSTD, la regulación de citocinas parece haber sido modificada por el nuevo régimen dietético, lo que podría haber influido tanto en respuestas inflamatorias positivas como negativas.

11. Conclusiones

1. No se observaron diferencias bioquímicas significativas durante la fase 1, las variaciones en la composición de la dieta podrían haber contribuido a las alteraciones metabólicas observadas en la fase 2.
2. La combinación de la suplementación con galletas biotransformadas y la transición de una dieta hipercalórica a una dieta estándar parece favorecer la reversión de las alteraciones metabólicas inducidas por la ingesta previa de una dieta hipercalórica.
3. En los grupos mantenidos con una dieta estándar, la suplementación con *Pleurotus ostreatus* podría ejercer un efecto preventivo contra la acumulación de tejido adiposo y el aumento del volumen hepático.
4. Los resultados obtenidos sugieren que, en un modelo sano, el consumo de galleta biotransformada podría desempeñar un papel preventivo frente a la acumulación de tejido adiposo.
5. A pesar de la corta duración del estudio, la suplementación con la galleta biotransformada por *Pleurotus ostreatus* demostró ser efectiva en la regulación de los niveles de IL-6 en ratones con alteración metabólica inducida por dieta

hipercalórica, efecto que se vio potenciado al combinar el cambio dietético con la galleta biotransformada.

6. El uso de alimentos funcionales representa una propuesta relevante para influir en el estado nutricional e inflamatorio, ya que no solo aportan nutrientes básicos, sino que también contribuyen a la regulación glucémica, acumulación de tejido adiposo y alteraciones de marcadores de inflamación.

10. REFERENCIAS

Acosta, J. R., Távira, B., Douagi, I., Kulyté, A., Arner, P., Rydén, M., & Laurencikiene, J. (2019). Human-Specific function of IL-10 in adipose tissue linked to insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(10), 4552–4562. <https://doi.org/10.1210/jc.2019-00341>

Alhaji, M., Zubair, M., & Farhana, A. (2023). *Enzyme-linked immunosorbent assay*. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>

Al-Roub, A., Madhoun, A. A., Akhter, N., Thomas, R., Miranda, L., Jacob, T., Al-Ozairi, E., Al-Mulla, F., Sindhu, S., & Ahmad, R. (2021). IL-1B and TNFA cooperativity in regulating IL-6 expression in adipocytes depends on CREB binding and H3K14 acetylation. *Cells*, 10(11), 3228. <https://doi.org/10.3390/cells10113228>

Asensio-Grau, A., Calvo-Lerma, J., Heredia, A., & Andrés, A. (2020). Enhancing the nutritional profile and digestibility of lentil flour by solid state fermentation with *Pleurotus ostreatus*. *Food & Function*, 11(9), 7905-7912. <https://doi.org/10.1039/d0fo01527j>

Ashwell, M. (2002). *Concepts of Functional Foods*. International Life Sciences Institute. <https://ilsi.eu/publication/concepts-of-functional-foods/>

Assemie A. and Abaya G. (2022). “The effect of edible mushroom on health and their biochemistry,” *International Journal of Microbiology*, vol. 2022, Article ID 8744788, 7 pages. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35369040/>

Badia-Olmos, C., Sánchez-García, J., Laguna, L., Zúñiga, E., Haros, C. M., Andrés, A. M., & Tarrega, A. (2024). Flours from fermented lentil and quinoa grains as ingredients with new techno-functional properties. *Food Research International*, 177, 113915. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113915>

Beltrán De Heredia, M. R. (2016). Alimentos funcionales. Farmacia Profesional. [https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-](https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681#:~:text=Existen%20varias%20definiciones%20de%20alimento,riesgo%20de%20contraer%20ciertas%20enfermedades)

X0213932416546681#:~:text=Existen%20varias%20definiciones%20de%20alimento,riesgo%20de%20contraer%20ciertas%20enfermedades

Bermúdez R, Ramos I, Donoso C, García N, Martínez C. (2002). Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus* sp. Tecnología Química 22(3):53-8. <https://koha.indo.edu.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=261956>

Bortolin, R. C., De Vargas, A. R., Gasparotto, J., Chaves, P. D. S., Schnorr, C. E., Da Boit Martinello, K., Silveira, A. K., Rabelo, T. K., Gelain, D. P., & Moreira, J. (2017). A new animal diet based on human western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. International Journal of Obesity, 42(3), 525-534. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.225>

Bravo, L. (2010). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutrition Reviews, 56(11), 317-333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>

Breslin, W. L., Strohacker, K., Carpenter, K. C., Esposito, L., & McFarlin, B. K. (2010). Weight gain in response to high-fat feeding in CD-1 male mice. Laboratory Animals, 44(3), 231-237. <https://doi.org/10.1258/la.2010.009114>

Cai, L., Xia, X., Gu, Y., Hu, L., Li, C., Ma, X., & Yin, J. (2023). Opposite effects of low-carbohydrate high-fat diet on metabolism in humans and mice. *Lipids in Health and Disease*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-023-01956-3>

Carai, M. A., Fantini, N., Loi, B., Colombo, G., Riva, A., & Morazzoni, P. (2009). Potential efficacy of preparations derived from *Phaseolus vulgaris* in the control of appetite, energy intake, and carbohydrate metabolism. *Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity*, 2, 145–153.

Catta-Preta, M., Martins, M. A., Brunini, T. M. C., Mendes-Ribeiro, A. C., Mandarim-De-Lacerda, C. A., & Aguila, M. B. (2011). Modulation of cytokines, resistin, and distribution of adipose tissue in C57BL/6 mice by different high-fat diets. *Nutrition*, 28(2), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.05.011>

Chalkiadaki, A., & Guarente, L. (2012). High-Fat diet triggers Inflammation-Induced cleavage of SIRT1 in adipose tissue to promote metabolic dysfunction. *Cell Metabolism*, 16(2), 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.07.003>

Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive Compounds from Mexican Varieties of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for Health. *Molecules*, 22(8), 1360. <https://doi.org/10.3390/molecules22081360>

Challis, B. G., Coll, A. P., Yeo, G. S. H., Pinnock, S. B., Dickson, S. L., Thresher, R. R., Dixon, J., Zahn, D., Rochford, J. J., White, A., Oliver, R. L., Millington, G., Aparicio, S. A., Colledge, W. H., Russ, A. P., Carlton, M. B., & O’Rahilly, S. (2004). Mice lacking pro-opiomelanocortin are sensitive to high-fat feeding but respond normally to the acute anorectic effects of peptide-YY 3-36. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(13), 4695–4700. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306931101>

Choi, P. M., Sun, R. C., Guo, J., Erwin, C. R., & Warner, B. W. (2013). High-Fat diet enhances villus growth during the adaptation response to massive proximal small bowel resection. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 18(2), 286–294. <https://doi.org/10.1007/s11605-013-2338-7>

Covas, M., Nyssönen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H. F., Kiesewetter, H., Gaddi, A., De la Torre, R., Mursu, J., Bäuml, H., Nascetti, S., Salonen, J. T., Fitó, M., Virtanen, J., Marrugat, J., & Group, F. T. E. S. (2006). The Effect of Polyphenols in Olive Oil on Heart Disease Risk Factors. *Annals Of Internal Medicine*, 145(5), 333-341. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-5-200609050-00006>

Choudhary, M., Devi, R., Datta, A., Kumar, A., & Jat, H. (2015). Diversity of Wild Edible Mushrooms in Indian Subcontinent and Its Neighboring Countries. *Recent Advances In Biology And Medicine*, 01, 69. <https://doi.org/10.18639/rabm.2015.01.200317>

Cichońska, P., Kostyra, E., Piotrowska, A., Ścibisz, I., Roszko, M., & Ziarno, M. (2024). Enhancing the Sensory and Nutritional Properties of Bean-based and Lentil-based Beverages through Fermentation and Germination. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 116140. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116140>

Contreras Trujano, M., & Montes de Oca, A. F. (2012). MANUAL DE CULTIVO DE HONGO SETA (*Pleurotus ostreatus*) DE FORMA ARTESANAL. UNAM. http://huertofenologico.filos.unam.mx/files/2017/05/Cultivo_de_hongo_seta.pdf

De Almeida-Souza, C., Antunes, M. M., Godoy, G., Schamber, C. R., Silva, M., & Bazotte, R. B. (2018). Interleukin-12 as a biomarker of the beneficial effects of food restriction in mice receiving high fat diet or high carbohydrate diet. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, 51(12). <https://doi.org/10.1590/1414-431x20187900>

De Cássia Coelho Moraes De Brito, R., Lucena-Silva, N., Torres, L. C., Luna, C. F., De Barros Correia, J., & Da Silva, G. a. P. (2016). The balance between the serum levels of IL-6 and IL-10 cytokines discriminates mild and severe acute pneumonia. *BMC Pulmonary Medicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12890-016-0324-z>

De Luca, C., & Olefsky, J. M. (2007). Inflammation and insulin resistance. *FEBS Letters*, 582(1), 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.11.057>

De Moura E Dias, M., Reis, S. A. D., Da Conceição, L. L., De Oliveira Sedyama, C. M. N., De Oliveira Pereira, S., De Oliveira, L. L., Pelúzio, M. D. C. G., Martínéz, J. A., & Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>

De Oliveira, C., Freitas, J., De Macedo, I. C., Scarabelot, V. L., Ströher, R., Santos, D. S., De Souza, A., Fregni, F., Caumo, W., & Da Silva Torres, I. L. (2019). Transcranial direct current stimulation (tDCS) modulates biometric and inflammatory parameters and anxiety-like behavior in obese rats. *Neuropeptides*, 73, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.09.006>

Dewhurst-Trigg, R., Woods, R. M., Hulston, C. J., & Markey, O. (2020). Impact of high-fat overfeeding on white adipose tissue and systemic metabolic and inflammatory responses. *Proceedings of the Nutrition Society*, 79(OCE2). <https://doi.org/10.1017/s0029665120003122>

Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P.. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(Supl. 2), 61-72. Recuperado en 13 de diciembre de 2023, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000500007&lng=es&tlng=es.

Espinosa-Páez, E. (2018). *Obtención de una harina funcional rica en proteínas de buena calidad biológica y de alto valor nutritivo a base de cereales y leguminosas mediante fermentación con Pleurotus ostreatus*. [Tesis, Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/16687>

Espinosa-Páez, E., Alanís-Guzmán, M. G., Hernández-Luna, C. E., González, J. G. B., Amaya-Guerra, C. A., & Andrés, A. (2017). Increasing Antioxidant Activity and Protein Digestibility in *Phaseolus vulgaris* and *Avena sativa* by Fermentation with the *Pleurotus ostreatus* Fungus. *Molecules*, 22(12), 2275. <https://doi.org/10.3390/molecules22122275>

Espinosa-Páez, E., Hernández-Luna, C. E., Longoria-García, S., Martínez-Silva, P. A., Ortiz-Rodríguez, I., Villarreal-Vera, M. T., & Cantú-Saldaña, C. M. (2021). *Pleurotus ostreatus*: a potential concurrent biotransformation agent/ingredient on development of functional foods (cookies). *LWT*, 148, 111727. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111727>

Estrada-Camarena, E., López-Rubalcava, C., Ramírez-Rodríguez, G., Pulido, D. M. E., Cervantes-Anaya, N., Azpilcueta-Morales, G., Granados-Juárez, A., Vega-Rivera, N. M., Islas-Preciado, D., Treviño, S., De Gortari, P., González-Trujano, M. E., & García-Viguera, C. (2020). Aqueous extract of pomegranate enriched in ellagitannins prevents anxiety-like behavior and metabolic changes induced by cafeteria diet in an animal model of menopause. *Neurochemistry International*, 141, 104876. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104876>

Fernández Valenciano, A. F., & Sánchez Chávez, E. (2017). Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México Study of physicochemical properties and nutritional quality in different varieties of beans consumed in Mexico. *Nova Scientia*, 9(18), 133-148. <https://www.redalyc.org/pdf/2033/203350918008.pdf>

Ferrer Villahoz, B. (2013). Influencia de la citoquina Interleuquina 6 (IL-6) adipocitaria y muscular en el control del metabolismo. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Biologia Cel·lular, de Fisiologia i d'Immunologia.

Fidecomiso de Riesgo Compartido. (2017). El frijol, parte de la trilogía de alimento en el México prehispánico. SEGOB. <https://www.gob.mx/firco/articulos/el-frijol-parte-de-la-trilogia-de-alimento-en-el-mexico-prehispanico?idiom#:~:text=El%20frijol%20forma%20parte%20de,platillos%20de%20la%20gastronom%C3%ADa%20mexicana.&text=El%20frijol%20es%20una%20especie,sus%20semillas%20frescas%20o%20secas>

Fuentes Paredes, F. M., Mendoza Yanavilca, R. A., Rosales Fernández, A. L., & Cisneros Tarmeño, R. A. (2008). GUÍA DE MANEJO Y CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO: RATÓN. https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf

Gao, M., Ma, Y., & Liu, D. (2015). High-Fat Diet-Induced Adiposity, Adipose Inflammation, Hepatic Steatosis and Hyperinsulinemia in Outbred CD-1 Mice. *PLOS ONE*, 10(3), e0119784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119784>

González-Ibáñez, L., Meneses, M. E., Sánchez-Tapia, M., Pérez-Luna, D., Torres, N., Torre-Villalvazo, I., Bonilla, M., Petlacalco, B., Castillo, I., López-Barradas, A. M., Macías, A. F., Tovar, A. R., & Martínez-Carrera, D. (2023). Edible and medicinal mushrooms (*Pleurotus ostreatus*, *Ustilago maydis*, *Ganoderma lucidum*) reduce endoplasmic reticulum stress and inflammation in adipose tissue of obese wistar rats fed with a high fat plus saccharose diet. *Food & Function*, 14(11), 5048-5061. <https://doi.org/10.1039/d3fo00089c>

Gotoh, K., Inoue, M., Masaki, T., Chiba, S., Shimasaki, T., Ando, H., Fujiwara, K., Katsuragi, I., Kakuma, T., Seike, M., Sakata, T., & Yoshimatsu, H. (2012). A Novel Anti-inflammatory Role for Spleen-Derived Interleukin-10 in Obesity-Induced Inflammation in White Adipose Tissue and Liver. *Diabetes*, 61(8), 1994-2003. <https://doi.org/10.2337/db11-1688>

Guengerich, F. P. (2023). The importance of biotransformation. In *Elsevier eBooks*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-95488-4.00006-1>

Guerra-Cantera, S., Frago, L. M., Jiménez-Hernaiz, M., Collado-Pérez, R., Canelles, S., Ros, P., García-Piqueras, J., Pérez-Nadador, I., Barrios, V., Argente, J., & Chowen, J. A. (2023). The metabolic effects of resumption of a high fat diet after weight loss are sex dependent in mice. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40514-w>

Guimarães, V. H. D., De Farias Lelis, D., Oliveira, L. P., Borém, L. M. A., Guimarães, F. A. D., Farias, L. C., De Paula, A. M. B., Guimarães, A. L. S., & Santos, S. H. S. (2020). Comparative study of dietary fat: lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model. *Archives Of Physiology And Biochemistry*, 129(2), 449-459. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1835986>

Guimarães, V. H. D., De Farias Lelis, D., Oliveira, L. P., Borém, L. M. A., Guimarães, F. a. D., Farias, L. C., De Paula, A. M. B., Guimarães, A. L. S., & Santos, S. H. S. (2020). Comparative study of dietary fat: lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 129(2), 449–459. <https://doi.org/10.1080/13813455.2020.1835986>

Gutiérrez I. Y., & González A. L., (2002). Producción comercial y usos de los hongos comestibles *Pleurotus* cultivados en residuos lignocelulósicos. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220525083.pdf>

Hernández-García, B. (2020). Alimentos funcionales. *Gaceta Hidalguense de Investigación en Salud*, 8(2). <https://s-salud.hidalgo.gob.mx/contenido/informacion/gaceta/2020/G.2020-2.AlimentosFuncionales.pdf>

Hidalgo, I., Fonseca-Coronado, S., Ceballos, G., Meaney, E., & Nájera, N. (2022). Dislipidemias, hígado graso y enfermedad cardiovascular. *Cardiovascular and Metabolic Science*, 33(3), 134–139. <https://doi.org/10.35366/107628>

Hong, E., Ko, H. J., Cho, Y., Kim, H., Ma, Z., Yu, T., Friedline, R. H., Kurt-Jones, E. A., Finberg, R. W., Fischer, M. A., Granger, E. L., Norbury, C. C., Hauschka, S. D., Philbrick, W. M., Lee, C., Elias, J. A., & Kim, J. K. (2009). Interleukin-10 Prevents Diet-Induced Insulin Resistance by Attenuating Macrophage and Cytokine Response in Skeletal Muscle. *Diabetes*, 58(11), 2525-2535. <https://doi.org/10.2337/db08-1261>

Hsu, C., & Yen, G. (2008). Phenolic compounds: evidence for inhibitory effects against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(1), 53-61. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700393>

Hu, Y., Xu, J., Sheng, Y., Liu, J., Li, H., Guo, M., Xu, W., Luo, Y., Huang, K., & He, X. (2022). *Pleurotus ostreatus* ameliorates obesity by modulating the gut microbiota in obese mice induced by High-Fat diet. *Nutrients*, 14(9), 1868. <https://doi.org/10.3390/nu14091868>

Hydes, T., Alam, U., & Cuthbertson, D. J. (2021). The impact of macronutrient intake on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): too much fat, too much carbohydrate, or just too many calories? *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.640557>

INSP. (2023). Presentación de resultados de la ENSANUT 2022. Instituto Nacional De Salud Pública. <https://www.insp.mx/avisos/presentacion-de-resultados-de-la-ensanut-2022>

Jedinak, A., Dudhgaonkar, S., Wu, Q., Simon, J., & Sliva, D. (2011). Anti-inflammatory activity of edible oyster mushroom is mediated through the inhibition of NF- κ B and AP-1 signaling. *Nutrition Journal*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2891-10-52>

Kern, L., Mittenbühler, M., Vesting, A., Ostermann, A., Wunderlich, C., & Wunderlich, F. (2018). Obesity-Induced TNF α and IL-6 Signaling: The Missing Link between Obesity and Inflammation—Driven Liver and Colorectal Cancers. *Cancers*, 11(1), 24. <https://doi.org/10.3390/cancers11010024>

Khoury, D. E., Cuda, C., Luhovyy, B. L., & Anderson, G. H. (2012). Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 1-28. <https://doi.org/10.1155/2012/851362>

Knez, E., Kadac-Czapska, K., & Grembecka, M. (2023). Effect of Fermentation on the Nutritional Quality of the Selected Vegetables and Legumes and Their Health Effects. *Life*, 13(3), 655. <https://doi.org/10.3390/life13030655>

Kondo, H., Abe, I., Gotoh, K., Fukui, A., Takanari, H., Ishii, Y., Ikebe, Y., Kira, S., Oniki, T., Saito, S., Aoki, K., Tanino, T., Mitarai, K., Kawano, K., Miyoshi, M., Fujinami, M., Yoshimura, S., Ayabe, R., Okada, N., Takahashi, N. (2018). Interleukin 10 Treatment Ameliorates High-Fat Diet–Induced Inflammatory Atrial Remodeling and Fibrillation. *Circulation. Arrhythmia And Electrophysiology*, 11(5). <https://doi.org/10.1161/circep.117.006040>

Lallawmsanga, N., Leo, V. V., Passari, A. K., Muniraj, I. K., Uthandi, S., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., & Singh, B. P. (2019). Elevated levels of laccase synthesis by *Pleurotus pulmonarius* BPSM10 and its potential as a dye decolorizing agent. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 26(3), 464-468. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.10.006>

Limón, R. I., Peñas, E., Torino, M. I., Martínez-Villaluenga, C., Dueñas, M., & Frias, J. (2015). Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts. *Food Chemistry*, 172, 343–352. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.084

Liu, Y., Yang, K., Jia, Y., Shi, J., Tong, Z., Fang, D., Yang, B., Su, C., Li, R., Xiao, X., & Wang, Z. (2021). Gut microbiome alterations in high-fat-diet-fed mice are associated with antibiotic tolerance. *Nature Microbiology*, 6(7), 874-884. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00912-0>

Liu, Z., Patil, I. Y., Jiang, T., Sancheti, H., Walsh, J. P., Stiles, B. L., Yin, F., & Cadenas, E. (2015). High-Fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity. *PLoS ONE*, 10(5), e0128274. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128274>

López, X., & Vivanco, J. P. (2015). Beta glucanos, su importancia funcional y nutricional como fibra alimentaria adicionada a alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 65(1). <https://www.alanrevista.org/ediciones/2015/suplemento-1/art-101/>

Lyly, M., Ohls, N., Lähteenmäki, L., Salmenkallio-Marttila, M., Liukkonen, K., Karhunen, L., & Poutanen, K. (2010). The effect of fibre amount, energy level and viscosity of beverages containing Oat fibre supplement on perceived satiety. *Food & Nutrition Research*, 54(1), 2149. <https://doi.org/10.3402/fnr.v54i0.2149>

Mandarim-de-Lacerda, Carlos Alberto, del Sol, Mariano, Vásquez, Bélgica, & Aguila, Marcia Barbosa. (2021). Mice as an Animal Model for the Study of Adipose Tissue and Obesity. *International Journal of Morphology*, 39(6), 1521-1528. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022021000601521>

Martirosyan, D., & Ekblad, M. (2022). Functional foods classification system: exemplifying through analysis of bioactive compounds. *Functional Food Science - Online* ISSN 2767-3146, 2(4), 94. <https://doi.org/10.31989/ffs.v2i4.919>

Matias, A. M., Estevam, W. M., Coelho, P. M., Haese, D., Kobi, J. B. B. S., Lima-Leopoldo, A. P., & Leopoldo, A. S. (2018). Differential effects of high sugar, high lard

or a combination of both on nutritional, hormonal and cardiovascular metabolic profiles of rodents. *Nutrients*, 10(8), 1071. <https://doi.org/10.3390/nu1008107>

Mendez Castillo, M., Torres Zapata, A., Acuña Lara, J., & Moguel Ceballos, J. (2020). ALIMENTOS FUNCIONALES, BASES CONCEPTUALES Y SU APLICACIÓN EN EL DISEÑO DE PLANES DE ALIMENTACIÓN. *Revista Biociencias*, 15(1). <https://revistas.uax.es/index.php/biociencia/article/view/1283/1043&sa=D&source=docs&ust=1696243012526545&usg=AOvVaw1ijdt5Q3moX0Whg9v4IF3z>

Meléndez-Sosa, M. F., García-Barrales, A. M., & Ventura-García, N. A. (2020). Perspectivas e impacto en la salud del consumo de los alimentos funcionales y nutracéuticos en México. *Revista RD-ICUAP*, 6(16), 114–136.

Mio, K., Yamanaka, C., Matsuoka, T., Kobayashi, T., & Aoe, S. (2020). Effects of β -glucan Rich Barley Flour on Glucose and Lipid Metabolism in the Ileum, Liver, and Adipose Tissues of High-Fat Diet Induced-Obesity Model Male Mice Analyzed by DNA Microarray. *Nutrients*, 12(11), 3546. <https://doi.org/10.3390/nu12113546>

Mora-Uzeta, Coralia & Cuevas-Rodriguez, Edith-Oliva & Lopez-Cervantes, Jaime & Milán-Carrillo, Jorge & Gutiérrez Dorado, Roberto & Reyes Moreno, Cuauhtemoc. (2020). IMPROVEMENT NUTRITIONAL/ANTIOXIDANT PROPERTIES OF UNDERUTILIZED LEGUME TEPARY BEAN (*Phaseolus acutifolius*) BY SOLID STATE FERMENTATION MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES Y ANTIOXIDANTES DE LA LEGUMINOSA FRIJOL TÉPARI (*Phaseolus acutifolius*) SUBUTILIZADA MEDIANTE FERMENTACIÓN DE ESTADO SÓLIDO. *Agrociencia*. 53. 987-1003.

Nacha, J. ., Soodpakdee, K. ., & Chamyuang, S. (2023). Nutritional Improvement of Germinated Riceberry Rice (*Oryza sativa*) Cultivated with *Pleurotus ostreatus* Mycelium . *Trends in Sciences*, 20(9), 5574. <https://doi.org/10.48048/tis.2023.5574>

National Center for Biotechnology Information (NCBI) (2024). PubChem Taxonomy Summary for Taxonomy 4498, *Avena sativa* (oats). Retrieved April 13, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/Avena-sativa>.

Nurzyńska-Wierdak, R. (2023). Phenolic Compounds from New Natural Sources—Plant Genotype and Ontogenetic Variation. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 28(4), 1731. <https://doi.org/10.3390/molecules28041731>

Nyambe-Silavwe, H., Villa-Rodríguez, J. A., Ifie, I., Holmes, M., Aydın, E., Jensen, J., & Williamson, G. (2015b). Inhibition of human A-amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19, 723-732. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.003>

Oliveira, M. C., Menezes-Garcia, Z., Henriques, M. C. C., Soriani, F. M., Pinho, V., Faria, A. M. C., Santiago, A. F., Cara, D. C., Souza, D. G., Teixeira, M. M., & Ferreira, A. V. M. (2013). Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. *Obesity*, 21(9). <https://doi.org/10.1002/oby.20230>

Ore, A., Ugbaja, R. N., Adeogun, A. I., & Akinloye, O. (2020). An albino mouse model of nonalcoholic fatty liver disease induced using high-fat liquid “Lieber-DeCarli” diet: a preliminary investigation. *Porto Biomedical Journal*, 5(4), e071. <https://doi.org/10.1097/j.pbj.0000000000000071>

Poret, J. M., Souza-Smith, F., Marcell, S. J., Gaudet, D. A., Tzeng, T. H., Braymer, H. D., Harrison-Bernard, L. M., & Primeaux, S. D. (2017). High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. *International Journal of Obesity*, 42(3), 535–541. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.280>

Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M.,

Das, R., Emran, T. B., & Uddin, M. S. (2021). Role of phenolic compounds in human disease: Current knowledge and future Prospects. *Molecules*, 27(1), 233. <https://doi.org/10.3390/molecules27010233>

Ramírez Alvarado, María Matilde, & Sánchez Roitz, César Oscar. (2017). El factor de necrosis tumoral- α , la interleuquina-8 y la resistencia a la insulina en mujeres obesas. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 15(2), 78-85. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102017000200003&lng=es&tlng=es.

Rochín-Medina, Jesús Jaime, Mora-Rochín, Saraid, Navarro-Cortez, Ricardo Omar, Tovar-Jimenez, Xochitl, Quiñones-Reyes, Guillermo, Ayala-Luján, Jorge Luis, & Aguayo-Rojas, Jesús. (2022). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *Acta universitaria*, 31, e3059. Epub 16 de febrero de 2022. <https://doi.org/10.15174/au.2021.3059>

Rodrigues, M., Evangelista-Silva, P., Neves, N., Moreno, L., Santos, C., Rocha, K., Ottone, V., Batista-Da-Silva, B., Dias-Peixoto, M., Magalhães, F., & Esteves, E. (2020). Caloric restriction-induced weight loss with a high-fat diet does not fully recover visceral adipose tissue inflammation in previously obese C57BL/6 mice. *Applied Physiology Nutrition And Metabolism*, 45(12), 1353-1359. <https://doi.org/10.1139/apnm-2020-0220>

Rojo Amigo, A. (2014). Cálculo del tamaño muestral en procedimientos de experimentación con animales. *Animales de Laboratorio*, 62, 31-33. https://www.ub.edu/ceea/sites/all/themes/ub/documents/Calculo_del_tamano_muestral_en_procedimientos_de_experimentacion_con_animales.Valoracion_de_las_incidencias.pdf

SAGARPA. (2017). Avena forrajera mexicana. SEGOB. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256424/B_sico-Avena.pdf

Sahoo, S., Gayakwad, T., & Shahi, S. (2022). Medicinal value of edible mushrooms. *International Journal Of Health Sciences*, 8760-8767. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns2.7263>

Sánchez-García, J., Asensio-Grau, A., García-Hernández, J., Heredia, A., & Andrés, A. (2022). Nutritional and antioxidant changes in lentils and quinoa through fungal solid-state fermentation with *Pleurotus ostreatus*. *Bioresources And Bioprocessing*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00542-2>

Santamarina, A. B., Mennitti, L. V., De Souza, E. A., Mesquita, L. M. S., Noronha, I. H., Vasconcelos, J. R. C., Prado, C. M., & Pisani, L. P. (2023). A low-carbohydrate diet with different fatty acids' sources in the treatment of obesity: Impact on insulin resistance and adipogenesis. *Clinical Nutrition*, 42(12), 2381–2394. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2023.09.024>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). La avena, reina de los cereales. SEGOB. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/la-avena-reina-de-los-cereales>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021). La importancia de la producción de frijol en México. SEGOB. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-importancia-de-la-produccion-de-frijol-en-mexico#:~:text=En%202021%2C%20su%20cosecha%20en,producci%C3%B3n%20y%20Durango%20con%2010%25>

Sedó Masís, P. (2001). Alimentos funcionales: análisis general acerca de las características químico - nutricionales, desarrollo industrial y legislación alimentaria. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 10(18-19), 34-39.

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292001000100005&lng=en&tlng=es.

Singh, R., De, S., & Belkheir, A. (2013). *Avena sativa* (Oat), A Potential Nutraceutical and Therapeutic Agent: An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 126–144. doi:10.1080/10408398.2010.526725

Sollano-Mendieta, Xóchitl Cruz, Escalona-Cardoso, Gerardo Norberto, Cano-Europa, Edgar, & Paniagua-Castro, Norma. (2023). Proposal for a metabolic syndrome model in CD1 mice induced with a hypercaloric diet. *Biotechnia*, 25(1), 126-132. Epub 07 de agosto de 2023. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v25i1.1744>

Stoffel, F., De Oliveira Santana, W., Fontana, R. C., Gregolon, J. G. N., Kist, T. B. L., De Siqueira, F. G., Mendonça, S., & Camassola, M. (2019). Chemical features and bioactivity of grain flours colonized by macrofungi as a strategy for nutritional enrichment. *Food Chemistry*, 297, 124988. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124988>

Su, Q., Huo, J., Wang, Y., Zhou, Y., Luo, D., Hou, J., Zhang, Z., Long, H., Zhong, X., Xie, C., Lei, M., Liu, Y., & Wu, W. (2022). The Obesity Amelioration Effect in High-Fat-Diet Fed Mice of a Homogeneous Polysaccharide from *Codonopsis pilosula*. *Molecules*, 27(16), 5348. <https://doi.org/10.3390/molecules27165348>

Terreros, G., Munoz, F., Magdalena, M., Soto-Donoso, M., Torres, N., & D'Espessailles, A. (2025). Adipose Tissue Dysfunction Induced by High-Fat Diet Consumption Is Associated with Higher Otoacoustic Emissions Threshold in Mice C57BL/6. *Nutrients*, 17(11), 1786. <https://doi.org/10.3390/nu17111786>

Ulloa, J. A., Ulloa, P. R., Ramírez Ramírez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente*, 3(8). <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/1.pdf>

Valenzuela B, Alfonso, Valenzuela, Rodrigo, Sanhueza, Julio, & Morales I, Gladys. (2014). Functional foods, nutraceuticals and foshu: are we going to a novel food concept?. *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182014000200011>

Van Der Heijden, R. A., Sheedfar, F., Morrison, M. C., Hommelberg, P. P., Kor, D., Kloosterhuis, N. J., Gruben, N., Youssef, S. A., De Bruin, A., Hofker, M. H., Kleemann, R., Koonen, D. P., & Heeringa, P. (2015). High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging*, 7(4), 256–268. <https://doi.org/10.18632/aging.100738>

Velazco, C. S., Barajas, I. A., & De La Mora Orozco, C. (2021). Efecto de la adición de harina del hongo *Pleurotus columbinus* en la composición químico proximal y física de una pasta para la elaboración de sopas. *Revista iberoamericana de las ciencias biológicas y agropecuarias*, 10(20), 30-51. <https://doi.org/10.23913/ciba.v10i20.109>

Viera, K. R. M., & Márquez, P. L. (2020). Utilización de animales en la investigación biomédica y médica. *Revista Iberoamericana De Bioética*, 12, 01–19. <https://doi.org/10.14422/rib.i12.y2020.011>

Wang, J., Huang, Z., Jiang, Q., Roubík, H., Xu, Q., Gharsallaoui, A., Cai, M., Yang, K., & Sun, P. (2023). Fungal solid-state fermentation of crops and their by-products to obtain protein resources: The next frontier of food industry. *Trends In Food Science & Technology*, 138, 628-644. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.020>

Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R., ... Shen, C.-L. (2014). Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(1), 1–18. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.09.001

World Health Organization: WHO. (2021). Obesidad y sobrepeso. www.who.int.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Xu, J., Cao, K., Li, Y., Zou, X., Chen, C., Szeto, I. M., Dong, Z., Zhao, Y., Shi, Y., Wang, J., Liu, J., & Feng, Z. (2014). Bitter Gourd Inhibits the Development of Obesity-Associated Fatty Liver in C57BL/6 Mice Fed a High-Fat Diet. *The Journal Of Nutrition*, 144(4), 475-483. <https://doi.org/10.3945/jn.113.187450>

Xu, L. N., Guo, S., & Zhang, S. W. (2019). Effects of solid-state fermentation on the nutritional components and antioxidant properties from quinoa. *Emirates Journal Of Food And Agriculture*, 39. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i1.1898>

Zeković, D. B., Kwiatkowski, S., Vrvić, M. M., Jakovljević, D., & Moran, C. A. (2005). Natural and modified (1→3)-β-D-Glucans in health promotion and disease alleviation. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(4), 205-230. <https://doi.org/10.1080/07388550500376166>

Zhang, M., Bai, X., & Zhang, Z. (2011). Extrusion process improves the functionality of soluble dietary fiber in oat bran. *Journal of Cereal Science*, 54(1), 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.04.001>

Zhang, X., & Hartmann, P. (2023). How to calculate sample size in animal and human studies. *Frontiers In Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1215927>

Zhang, X., Wang, Q., Wang, Y., Ma, C., Zhao, Q., Yin, H., Li, L., Wang, D., Huang, Y., Zhao, Y., Shi, X., Li, X., & Huang, C. (2024). Interleukin-6 promotes visceral adipose tissue accumulation during aging via inhibiting fat lipolysis. *International Immunopharmacology*, 132, 111906. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111906>

Zhang, Y., Ni, T., Zhang, D., Liu, H., Wang, J., & Sun, B. (2020). Consumption of avenanthramides extracted from oats reduces weight gain, oxidative stress, inflammation and regulates intestinal microflora in high fat diet-induced mice. *Journal of Functional Foods*, 65, 103774. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103774>

Zhou, M., Robards, K., Glennie-Holmes, M., & Helliwell, S. (1998). Structure and pasting properties of oat starch. *Cereal Chemistry*, 75(3), 273-281. <https://doi.org/10.1094/cchem.1998.75.3.273>

Zhu, Z., Gong, R., Rodriguez, V., Quach, K. T., Chen, X., & Sternson, S. M. (2025). Hedonic eating is controlled by dopamine neurons that oppose GLP-1R satiety. *Science*, 387(6741). <https://doi.org/10.1126/science.adt0773>