

**Análisis de los cambios anatómicos, bioquímicos y genéticos del efecto de los
Xilooligosacáridos (XOS), como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina en un
modelo animal de dieta obesogénica en ratas Wistar**

Jennifer Melissa Giorgi Ortiz

Trabajo de Grado para optar al título de Bióloga

Director

Alberto Ángel Martín

PhD en Nutrigenómica

Codirectora

Natalia Rocío Moreno Castellanos

PhD en Biomedicina

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Biología

Bucaramanga

2022

Dedicatoria

A mis dos amados sobrinos: Elias Alejandro y Mariam Helena.

Siempre estaré para ustedes mis dos pequeñas, pero gigantes almas de lava. Lo único que les pido a cambio, por favor, es la promesa de que jamás dejarán de mirarme con esos hermosos ojos llenos de Jesús, de amor, de vida, de alegría, de fuerza, de seguridad, de tranquilidad, de esperanza, de fe, de confianza, de gratitud y de que sin importar lo que pueda pasar, todo siempre va a estar bien. Son mi lugar seguro, mi calma en la tormenta y la manera más bonita que Dios encontró para decirme que me ama, porque desde que llegaron hace 6 y 4 años a mi vida, no ha pasado un solo día en que no sienta el amor de ustedes en mi corazón y la certeza de que todo pasa para algo, y ese algo, es lo que espero aprender a descubrir caminando de la mano de ustedes SIEMPRE.

Les dedico la vida que tengo y la que me falta por vivir.

LOS AMO CON TODA MI ALMA.

Y nunca olviden que...

“...Al contrario y viceversa,

Y en la buena y en la adversa,

Del derecho y del revés,

USTEDES PRIMERO, EL MUNDO DESPUÉS ...”

Agradecimientos

A mis directores y formadores, el profesor Alberto Ángel Martín y la profesora Natalia Moreno Castellanos. Gracias por la confianza, las enseñanzas, la paciencia, los ánimos, la compañía en este arduo pero constante caminar. Gracias por transmitirme sus conocimientos y por dedicarme su tiempo para que yo pueda lograr mis objetivos, en vistas de querer lo mejor para mí y para mi futuro como persona y como profesional.

A la profesora Débora Nabarlatz por facilitarme los Xilooligosacáridos que permitieron la realización de mi tesis.

A mis compañeros del laboratorio de Metabolismo, Katherin y Elias. Gracias por ser mis Jedi y aceptarme como su Padawan, por su paciencia, por haberme acogido tan bonito en el grupo y ser parte de este importante proceso para mí. Que las sonrisas y la buena compañía nunca falten entre nosotros y que la fuerza siempre nos acompañe.

A mis compañeros de Biología, Julián, Briyith, Héctor, Silvia y Danna. Ustedes son mis Nakamas, con eso les digo todo. Gracias por ser parte de este viaje hasta el final.

A Mafe Rueda, Gabi Blanco y Marce Jaimes. Gracias el apoyo, la compañía, por la amistad y por ser parte de este importante de este logro. Realmente hacen la diferencia.

A mis amados padres, hermana, cuñado y sobrinos, Jairo Giorgi, Martha Ortiz, Lisseth Giorgi, Jorge Salazar, Elias Alejandro y Mariam Helena. Gracias por ser mi soporte. Todo lo que soy y lo que quiero ser, es por ustedes. Los amo y son mi más grande bendición.

A mi familia, por la compañía y el apoyo de todos en esta larga travesía. Nada me hará más feliz que celebrar este gran logro con ustedes ahí a mi lado.

Y finalmente, pero el más importante de todo, a Dios. Porque su voluntad es perfecta, porque confío en Él y porque todo pasó justo de la manera en cómo tenía que pasar. GRACIAS.

Tabla de contenido

1	INTRODUCCIÓN	12
2	MARCO TEÓRICO	14
2.1	Síndrome metabólico.....	14
2.2	Obesidad.....	15
2.3	Resistencia a la insulina (RI).....	19
2.4	Xilooligosacáridos.....	21
3	OBJETIVOS	24
3.1	Objetivo general	24
3.2	Objetivos específicos.....	24
4	MATERIALES Y MÉTODOS	25
4.1	Animales y dieta.....	25
4.2	Sacrificio y colecta de muestras de tejidos.....	27
4.3	Pruebas bioquímicas.....	27
4.4	Extracción de ARNm y amplificación de genes por PCR en tiempo real.....	28
4.5	Análisis estadístico.....	29
5	RESULTADOS	30
5.1	Caracterización de modelo de obesidad e insulino-resistencia	30
5.2	Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en las características anatómicas en ratas Wistar.....	33

EFFECTO DE XILOOLIGOSACÁRIDOS DE <i>SACCHARUM OFFICINARUM</i> EN OBESIDAD	5
5.2.1 Peso corporal.....	33
5.2.2 Índice de masa corporal (IMC).....	34
5.2.3 Peso de los órganos.....	36
5.3 Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en los parámetros bioquímicos del metabolismo energético y lipídico.	40
5.3.1 Glicemia.....	40
5.3.2 Perfil lipídico (Colesterol, triglicéridos, LDL y HDL).....	41
5.4 Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en los niveles de expresión de genes implicados en la obesidad y la resistencia a la insulina (<i>INSR</i> , <i>FasN</i> , <i>PPARγ</i> y <i>LPL</i>) ...	44
5.4.1 Receptor de insulina (<i>INSR</i>).....	44
5.4.2 Ácido Graso Sintasa (<i>FasN</i>).....	45
5.4.3 Receptor Gamma Activado por Proliferador de Peroxisoma (<i>PPARγ</i>).....	45
5.4.4 Lipoproteinlipasa (<i>LPL</i>).....	46
6 DISCUSIÓN.....	49
7 CONCLUSIONES.....	58
8 RECOMENDACIONES.....	59
REFERENCIAS.....	61

Lista de tablas

Tabla 1. Media y error estándar de SD y GHFD	30
Tabla 2. Parámetros bioquímicos evaluados en SD y GHFD en ratas Wistar	32
Tabla 3. Pesos de los órganos y tejidos.....	39
Tabla 4. Parámetros bioquímicos en ratas Wistar hembras y machos	43

Lista de figuras

Figura 1. Efecto de los XOS en peso e IMC..... 35

Figura 2. Expresión genética de *INSR* y *FasN* en ratas Wistar..... 47

Figura 3. Modificaciones en la expresión genética de *PPAR γ* y *LPL* en ratas Wistar..... 48

Resumen

Título: Análisis de los cambios anatómicos, bioquímicos y genéticos del efecto de los xilooligosacáridos (XOS), como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina en un modelo animal de dieta obesogénica en ratas Wistar*

Autor: Jennifer Melissa Giorgi Ortiz**

Palabras clave: Obesidad, diabetes, resistencia a la insulina, Xilooligosacáridos

Descripción: La obesidad y diabetes tipo 2 son enfermedades crónicas asociadas al consumo de dietas altas en azúcar y grasas saturadas. Por otra parte, se reporta que los xilooligosacáridos (XOS) son ingredientes alimentarios que brindan muchos beneficios para la salud y diversas aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Se identificó el efecto metabólico del consumo de XOS sobre dieta obesogénica. El estudio se realizó en ratas Wistar, 24 machos y 24 hembras, en 4 grupos experimentales: Dieta estándar (SD), estándar con xilooligosacáridos (SDX), alta en grasa y azúcar (GHFD) y alta en grasa y azúcar con xilooligosacáridos (GHFDX). El tiempo de dieta fue de 6 meses y faltando 16 días, se agregaron los XOS en la alimentación diaria (50% p/v). Tras sacrificios, se evaluó glicemia y perfil lipídico pre (antes de dieta) /post (6 meses después de dieta y tratamiento con o sin xilooligosacáridos). Se extrajeron y pesaron diferentes órganos. La amplificación de los genes (*INSR*, *FasN*, *PPAR γ* y *LPL*) se realizó por PCR-tiempo real. Se aplicó ANOVA-un factor con el test de comparaciones múltiples de Tukey. Se encontró que la dieta GHFD generó aumento de peso, mayor IMC, hiperglicemia e hiperlipidemia, aumentó la expresión de genes lipogénicos (*LPL* y *FasN*), se redujo la expresión de *INSR* (asociado con deficiencia de la señalización de insulina) y *PPAR γ* . Las dos dietas que recibieron tratamiento con XOS (SDX),

(GHFDX), disminuyeron las medidas de peso, IMC y perfil lipídico. En cuanto a la expresión génica, incrementó la expresión de *INSR* y *PPAR γ* post y una reducción de *LPL* y *FasN*. Concluimos que el consumo de XOS tiene la capacidad de modificar los efectos de obesidad y resistencia a la insulina revertiendo la hiperglicemia, hiperlipidemia, mejorando la señalización de insulina y la capacidad de acumulación de lípidos. Efectos que se ven reflejados en el peso, IMC y demás marcadores evaluados.

*Análisis de los cambios anatómicos, bioquímicos y genéticos del efecto de los xilooligosacáridos (XOS), como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina en un modelo animal de dieta obesogénica en ratas Wistar.

**Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Biología. Director: Alberto Ángel Martín. PhD en Nutrigenómica. Codirectora: Natalia Rocío Moreno Castellanos. PhD en Biomedicina.

Abstract

Title: Analysis of the anatomical, biochemical and genetic changes of the effect of Xylooligosaccharides (XOS) as a treatment for obesity and insulin resistance in an animal model of obesogenic diet in Wistar rats*

Authors: Jennifer Melissa Giorgi Ortiz**

Keywords: Obesity, diabetes, insulin resistance, Xylooligosaccharides.

Description: Obesity and type 2 diabetes are chronic diseases associated with the consumption of diets high in sugar and saturated fats. On the other hand, xylooligosaccharides (XOS) are reported to be food ingredients that provide many health benefits and various applications in the food and pharmaceutical industry. The metabolic effect of XOS consumption on an obesogenic diet was identified. The study was performed on Wistar rats, 24 males and 24 females, in 4 experimental groups: standard diet (SD), standard with xylooligosaccharides (SDX), high fat and sugar (GHFD) and high fat and sugar with xylooligosaccharides (GHFDX). The diet time was 6 months and with 16 days remaining, XOS was added to the daily feed (50% w/v). After sacrifices, glycemia and lipid profile were evaluated pre (before diet) /post (6 months after diet and treatment with or without xylooligosaccharides). Different organs were extracted and weighed. Gene amplification (*INSR*, *FasN*, *PPAR γ* and *LPL*) was performed by PCR-real time. ANOVA-one factor with Tukey's multiple comparisons test was applied. It was found that the GHFD diet had weight gain, higher BMI, hyperglycemia and hyperlipidemia, increased expression of lipogenic genes (*LPL* and *FasN*), and decreased expression of *INSR* (associated with insulin signaling deficiency) and *PPAR γ* . The two diets that received treatment with XOS (SDX), (GHFDX), decreased measures

of weight, BMI and lipid profile. In terms of gene expression, there was an increase in *INSR* and *PPAR γ* expression post and a reduction in *LPL* and *FasN*. We conclude that XOS consumption has the ability to modify the effects of obesity and insulin resistance by reversing hyperglycemia, and hyperlipidemia, improving insulin signaling and lipid accumulation capacity. These effects are reflected in weight, BMI, and the other markers evaluated.

*Analysis of the anatomical, biochemical and genetic changes of the effect of xylooligosaccharides (XOS) as a treatment for obesity and insulin resistance in an animal model of obesogenic diet in Wistar rats.

**Faculty of Sciences, School of Biology, Biology. Director: Alberto Ángel Martín. PhD in Nutrigenomics. Co-director: Natalia Rocío Moreno Castellanos. PhD in Biomedicine.

1 INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico es un conjunto de signos clínicos derivados de la obesidad y la resistencia a la insulina (RI), que se asocian a un riesgo aumentado de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (Lahsen, 2014). La obesidad, como parte de este síndrome, se define como un exceso crónico de adiposidad corporal que genera deterioro en las funciones metabólicas y ha registrado ser un problema grave de salud pública, iniciando desde los primeros años de vida, y desencadenando en la edad adulta múltiples problemas de salud (Alegría *et al.*, 2008). Por otra parte, la RI se caracteriza por una capacidad disminuida o nula de la insulina de llevar a cabo sus funciones fisiológicas normales y suele preceder a situaciones claramente patológicas como la diabetes mellitus tipo 2. Según la Organización Mundial de la Salud, el número de personas afectadas en el mundo por esta enfermedad aumentaría desde los 135 millones en 1999 a los 299 millones en el 2025. Y estas predicciones parecen aumentar ya que, según la Federación Internacional de Diabetes, las cifras evolucionarían de los 246 millones en 2007 a los 380 millones en el 2025 (Ros y Medina, 2011).

De esta manera la diabetes mellitus tipo 2, asociada al desarrollo de la RI y a la obesidad aumentan la problemática de salud global (Du *et al.*, 2013); y los factores que lo exacerban son: la edad, los condicionantes genéticos y un estilo de vida inadecuado, en el que se incluye la inactividad física y el consumo de alimentos hipercalóricos y ricos en grasas saturadas, carbohidratos simples y sal (Alegría *et al.*, 2008).

Por otra parte, las bases genéticas relacionadas con el desarrollo de la diabetes tipo 2 y obesidad y los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) han tenido éxito al identificar

genes involucrados en este tipo de enfermedades metabólicas (Ros y Medina, 2011), como lo son el receptor de insulina (*INSR*), el ácido graso sintasa (*FasN*), el receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (*PPAR γ*) y la lipoproteinlipasa (*LPL*), todos con funciones primordiales en la regulación de la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los lípidos y proteínas. Esto hace evidente que los estudios no solo dirijan su atención a la caracterización de vías de señalización de la insulina *in vitro*, sino también al desarrollo de modelos *in vivo* para poder establecer cualquier correlación fisiológica al estudio de otros factores extrínsecos que afectan a las diversas moléculas en la cascada de señalización de la insulina y que podrían estar implicados en el desarrollo de la resistencia a la insulina y obesidad (Ros & Medina, 2011).

En otro orden de ideas, los Xilooligosacáridos (XOS), son oligosacáridos no digeridos por los humanos porque el cuerpo carece de las enzimas necesarias para hidrolizarlos, razón por la cual, no se degradan en el estómago llegando intactos al intestino grueso; y esto hace que sea clasificado como un alimento dietético bajo en calorías y apto para el consumo de personas con diabetes (Carvalho *et al.*, 2012; Choque Delgado *et al.*, 2011; Nabarlatz *et al.*, 2007; Rivero-Urgell & Santamaria-Orleans, 2001; Vázquez *et al.*, 2000). Entre los principales beneficios que aportan a la salud el consumo en la dieta de los xilooligosacáridos está la mejora de la función intestinal, la absorción del calcio y el metabolismo de los lípidos y la protección contra las enfermedades cardiovasculares, aparte de ayudar a mejorar el sistema inmunológico con los efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Aachary & Prapulla, 2009). La realización de esta investigación es de gran relevancia ya que no hay estudios que evalúen la acción de los XOS extraídos de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en un modelo de obesidad y RI.

De acuerdo con lo anterior, el objetivo de este proyecto de investigación fue evaluar el efecto de los xilooligosacáridos (XOS) provenientes de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina mediante el análisis de los cambios anatómicos, bioquímicos y genéticos en respuesta de una dieta obesogénica aplicada en un modelo animal de ratas Wistar.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Síndrome metabólico

Al síndrome metabólico (SM) se le conoce como un conjunto de signos clínicos considerados como precursores de enfermedades cardiovasculares asociados a la obesidad, hipertensión y diabetes tipo 2. Las causas del síndrome metabólico están dadas fundamentalmente por la RI y la obesidad. Esta es una evidencia sustentada por varios estudios prospectivos (Pajuelo *et al.*, 2007), dentro de ellos se tiene *The Cardiovascular Risk in Young Finns Study*, que fue uno de los primeros grupos en estudiar los factores que predicen el síndrome metabólico durante la infancia (Pajuelo *et al.*, 2007). Zheng *et al.*, (2020) en su artículo “*Improvement on metabolic syndrome in high fat diet-induced obese mice through modulation of gut microbiota by sangguayin decoction*” también establece que el síndrome metabólico se caracteriza por la obesidad, la hiperglucemia, la dislipidemia, el estrés oxidativo y la consiguiente RI. Y Lahsen (2014), en su artículo “*Síndrome metabólico y diabetes*” plantea al síndrome metabólico como consecuencia de la RI y sus distintas manifestaciones dadas en gran parte por el aumento de peso y la obesidad.

Por lo anterior, se puede concluir que dentro de las enfermedades asociadas al desarrollo de síndrome metabólico se encuentran la obesidad y la RI, las cuales son entidades clínicas

complejas y heterogéneas que pueden tener un componente genético, cuya expresión está influida por factores ambientales, sociales, culturales y económicos, entre otros. El incremento paralelo de la frecuencia de la obesidad y la resistencia a la insulina es un fenómeno mundial que aumenta los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, cáncer, entre otros, como causas principales de muerte en el mundo (García *et al.*, 2008).

2.2 Obesidad

La obesidad, definida como un incremento de la masa de tejido adiposo excesivo (Flier, 1995) que cursa con un índice de masa corporal (IMC) $>30\text{g}/\text{cm}^2$, tiene importantes consecuencias médicas adversas, en gran parte debido a su asociación con insulinoresistencia, diabetes tipo 2, hipertensión, hiperlipidemia y enfermedades cardiovasculares (Drenick *et al.*, 1980). Comprender los mecanismos que controlan el crecimiento, el desarrollo y la expresión génica del tejido adiposo puede proporcionar conocimientos novedosos que conduzcan a tratamientos alternativos para la obesidad. Dado que la obesidad puede resultar de aumento en tamaño (hipertrofia) y número (hiperplasia) de células adiposas, la regulación de la diferenciación de adipocitos es un punto de control crucial para determinar el crecimiento de la masa celular del tejido adiposo (Sears *et al.*, 1996).

Se ha demostrado que este proceso de diferenciación de preadipocitos a adipocitos maduros está controlado por miembros del receptor activado por proliferador de peroxisomas (*PPAR* γ), factor 1 dependiente de la determinación y diferenciación de adipocitos (ADD1) / SREBP1 y CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP) familias de receptores nucleares (Lin *et al.*, 1994; MacDougald *et al.*, 1995). *PPAR* γ es un activador dominante de la diferenciación de las células

grasas que actúa a través de la transactivación de genes específicos del tejido adiposo, incluidos los que codifican proteínas implicadas en el almacenamiento y metabolismo de lípidos (Tontonoz *et al.*, 1994; Sears *et al.*, 1996). La expresión forzada de PPAR γ y C/EBP α en fibroblastos (Tontonoz *et al.*, 1994) y mioblastos (Hu *et al.*, 1995) es capaz de diferenciar estas células en adipocitos ya que se expresa en niveles altos exclusivamente en tejido adiposo y es capaz de inducir adipogénesis (Tontonoz *et al.*, 1994), lo cual ha llevado a prestar mayor atención en el PPAR γ , ya que es el único factor de transcripción conocido que se expresa en altos niveles, demostrando tener la mayor actividad adipogénica entre los miembros de la familia PPAR (Vidal *et al.*, 1997; Brun *et al.*, 1996).

La lipoproteinlipasa (*LPL*), también es un importante miembro de la familia de las lipasas que desempeña un papel central en la hidrólisis de los enlaces éster de las moléculas insolubles en agua, como los triglicéridos (TG), el colesterol y los fosfolípidos. Los lípidos son insolubles en agua y, por tanto, son transportados por la circulación del organismo acompañados de proteínas, de ahí el término “lipoproteínas” (Shammari *et al.*, 2022). Existen varias clases de lipoproteínas que se clasifican en función de su densidad, incluyendo los quilomicrones, que son partículas que están formadas por un 99% de triglicéridos y, por tanto tienen una densidad muy baja. Los quilomicrones transportan los lípidos de la dieta a los tejidos periféricos y al hígado. Otras lipoproteínas son los restos de quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Shammari *et al.*, 2022).

La *LPL* se sintetiza en las células parenquimatosas de los músculos, los tejidos adiposos blancos y marrones, el músculo esquelético del corazón, las glándulas mamarias lactantes y los

macrófagos (Kirchgessner *et al.*, 1989; Shammari *et al.*, 2022) y luego se traslada al endotelio de los capilares sanguíneos cercanos. La enzima *LPL* cataliza la descomposición del núcleo rico en TG de los quilomicrones y las VLDL en ácidos grasos no esterificados (NEFA) y monoglicéridos. Los ácidos grasos son absorbidos por las células a través de los receptores de la superficie celular del intestino, como el grupo de diferenciación 36/translocasa de ácidos grasos (CD36) (Goldberg *et al.*, 2009; Shammari *et al.*, 2022).

Los ácidos grasos se utilizan para la producción de energía en los tejidos periféricos, como el músculo, y se reesterifican y almacenan en el tejido adiposo. La descomposición de los quilomicrones da lugar a restos de quilomicrones, que son descompuestos por el hígado, mientras que la descomposición de las VLDL da lugar a las IDL. La *LPL* también es importante para facilitar la eliminación de IDL y VLDL a través de la proteína relacionada con el receptor de LDL en el hígado (LDLR). También se ha demostrado que la *LPL* afecta al metabolismo de las HDL (Lewis *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2010; Shammari *et al.*, 2022).

Se ha sugerido que la *LPL* disfuncional podría afectar a la homeostasis de los lípidos a través de una variedad de mecanismos metabólicos y de transporte (Merkel *et al.*, 2002; Shammari *et al.*, 2022), y su inactividad se asocia con anormalidades fenotípicas. La deficiencia o la baja actividad de la *LPL* influye en el desarrollo de la hipertrigliceridemia (HTG), que puede conducir a una alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio, lo que provoca cambios funcionales en la perfusión miocárdica (Schneider *et al.*, 2002; Shammari *et al.*, 2022). De hecho, una ausencia completa de actividad de la *LPL* con una acumulación masiva de quilomicrones en el plasma puede dar lugar a la deficiencia familiar de *LPL*, un raro trastorno autosómico recesivo

caracterizado por dolor abdominal, pancreatitis aguda, hepatoesplenomegalia y xantomas cutáneos eruptivos (Burnett *et al.*, 2017; Shammari *et al.*, 2022). La gravedad de los síntomas depende del nivel de quilomicrones. Además, la deficiencia de *LPL* homocigota se ha relacionado con una HTG grave y con una marcada reducción de los niveles de colesterol de alta y baja densidad (Klos & Kullo, 2007; Shammari *et al.*, 2022).

Ahora bien, aparte de la acción del *PPAR* γ y *LPL* en la obesidad, se encuentra la sintasa de ácidos grasos (*FasN*), la cual puede desempeñar un papel en la regulación del corporal y el desarrollo de la obesidad como factores clave en el anabolismo lipídico (Mobbs *et al.*, 2002; Diraison *et al.*, 2002). Varios estudios evidencian que la inhibición de *FasN* en roedores induce una profunda pérdida de peso y una reducción de la ingesta de alimentos, lo que sugiere que *FasN* puede estar involucrado en la obesidad a través de la regulación del comportamiento alimentario y la homeostasis energética (Mobbs *et al.*, 2002; Loftus *et al.*, 2000; Shimokawa *et al.*, 2002; Kumar *et al.*, 2002). Es necesario aclarar si estos efectos también juegan un papel en la obesidad humana, especialmente porque se ha demostrado que la capacidad lipogénica del tejido adiposo y la expresión de *FasN* son menores en humanos que en roedores (Letexier *et al.*, 2003).

En los seres humanos, la proteína *FasN* se produce a niveles elevados en el hígado, los pulmones y el tejido adiposo intraabdominal (Semenkovich *et al.*, 1995) por lo cual, en conjunto, estos estudios demuestran que *FasN* es un gen candidato para la fisiopatología de la obesidad humana y sus alteraciones metabólicas relacionadas (Berndt *et al.*, 2007).

2.3 Resistencia a la insulina (RI)

Por otro lado, la RI y sus distintas manifestaciones pueden ser explicadas en gran parte por el aumento en el sobrepeso y la obesidad, pero cabe resaltar que, la asociación entre obesidad y resistencia a la insulina no es totalmente directa, por lo que no es frecuente el poder detectar marcadores de resistencia a la insulina en individuos de peso normal, como asimismo observar marcadores de RI en individuos obesos que son metabólicamente sanos (Lahsen, 2014). Aparentemente, el nexo entre ambas condiciones es el depósito de grasa intraabdominal, independientemente de la cantidad de grasa corporal total ya que, al evaluar la captación de glucosa muscular, indicador ampliamente aceptado de RI, se podría evidenciar una relación inversa con el volumen por unidad de superficie de tejido adiposo visceral, no observándose relación con el volumen por unidad de superficie de tejido adiposo subcutáneo total. En otras palabras, es la adiposidad visceral y no la subcutánea la que se asocia con la RI (Banerji *et al.*, 1997). Sin embargo, es importante comprender la biología de estos depósitos adiposos ya que sobre eso es que radican los efectos diferenciales que tendrán sobre la salud; y en el caso del tejido adiposo subcutáneo, especialmente el abdominal, se asocia a un mayor riesgo de padecer diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Y las variaciones de este tejido, por ejemplo, el tejido adiposo subcutáneo del tronco (depósito subescapular) también contribuye al riesgo metabólico (Fried *et al.*, 2015).

Según el canal de Diabetes, “*Diabetes Channel*” de la Fundación: Red de Grupos de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria de la Salud (redGDPS), el receptor de insulina - Insulin Receptor (*INSR*) está compuesto por dos subunidades, la subunidad alfa que es el dominio externo de enlace de la hormona y la subunidad beta, que está constituida por un dominio

transmembrana y un dominio intracelular con actividad tirosina-quinasa. La unión de la insulina a este receptor produce la fosforilación del sustrato del receptor de insulina IRS-1 que inicia una vía de activación a través de la enzima fosfoinositol 3-quinasa (PI3K).

En este proceso se estimula la síntesis de proteínas y lípidos, así como el crecimiento celular y la expresión de determinados genes. Uno de ellos es el que favorece la migración del transportador intracelular de la glucosa GLUT-4. Este transportador se localiza en la bicapa lipídica de los gránulos de citoplasma que se desplazan hacia la pared celular fusionando sus membranas. De esta forma el transportador se sitúa en la membrana citoplasmática y permite la entrada de glucosa al interior de la célula donde completa así su vía metabólica. Cuando este proceso no se consigue hablamos de un fenómeno de resistencia periférica a la acción de la insulina, que es probablemente el mecanismo fisiopatológico inicial de la diabetes mellitus tipo 2. Esta interferencia se puede producir en distintos niveles. En primer lugar, a nivel pre-receptor se pueden producir fenómenos que dificulten la unión de la insulina con su receptor, como alguna mutación de la insulina o una barrera vascular. A nivel de receptor, distintas alteraciones como las mutaciones de su estructura, su menor síntesis o mayor degradación, o las alteraciones de su actividad pueden impedir una correcta secuencia de acontecimientos en el proceso. A nivel del post-receptor pueden producirse alteraciones en distintos niveles de la cascada de la fosforilación. A nivel del transportador GLUT-4 también pueden existir alteraciones tanto en su movilidad, como en su actividad que dificulten la entrada de glucosa. A nivel post-transportador los defectos de la vía del metabolismo de la glucosa también pueden ser responsables de un incorrecto funcionamiento del sistema. Por último, se han descrito otras alteraciones de distintas entidades ajenas a la unidad anatómica insulina receptor y célula periférica, como la presencia del factor de

necrosis tumoral alpha, que puede interferir a distintos niveles en el proceso. La lipotoxicidad caracterizada por unos niveles elevados de ácidos grasos libres también contribuye a la resistencia periférica a la acción de la insulina (redGDPS, 2017).

Entonces, de acuerdo con lo explicado anteriormente respecto al factor *PPAR* γ , el gen *LPL*, *FasN* y el receptor de insulina (*INSR*), y entendiendo la importancia que tienen en los procesos metabólicos, encontrar un compuesto que pueda interactuar con todos para de esta forma hallar un posible tratamiento que pueda ayudar en la disminución de la obesidad y los niveles de glucosa en la sangre se convierte en un reto. Y aquí entran los extractos conocidos como los xilooligosacáridos.

2.4 Xilooligosacáridos

La biomasa lignocelulósica, como el bagazo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), es una materia prima barata, abundante y renovable que puede emplearse para producción sostenible de biocombustible, bioenergía y varias biomoléculas de valor añadido (Damasio *et al.*, 2013; Gonçalves *et al.*, 2012; Jayapal *et al.*, 2013; Ávila *et al.*, 2020). Dada la naturaleza lignocelulósica de la biomasa vegetal, esta se puede fraccionar en celulosa, hemicelulosa y lignina, que pueden ser como bloques de carbono para la producción de bioproductos (Agrupis & Maekawa, 1999; Zilliox & Debeire, 1998; Ávila *et al.*, 2020). El xilano es el principal componente de la fracción hemicelulósica de la biomasa vegetal; por tanto, la biomasa lignocelulósica podría ser un material de partida apropiado para la xilosa, xilitol y xilooligosacáridos. No se han publicado estudios sobre la acción de estos XOS extraídos de la caña de azúcar en la obesidad y RI, razón por la cual, la realización de este estudio fue muy relevante.

Los XOS son oligómeros de xilosa, polímeros de cadena corta formados por unidades de monosacáridos enlazadas a través de enlaces glucosídicos α y/o β . Se consideran dentro de la categoría de los XOS los compuestos con cadenas comprendidas entre 2 y 10 unidades de xilosa, aunque a veces se contemplan fragmentos de hasta 40 monómeros (Carvalho *et al.*, 2013; Aachary & Prapulla, 2011). Los XOS no son digeridos por los humanos porque el cuerpo humano carece de las enzimas necesarias para hidrolizar los enlaces β , por lo que se consideran prebióticos y fibra soluble porque no se degradan en el estómago y llegan intactos al intestino grueso. Esta propiedad permite que los XOS se utilicen como edulcorantes dietéticos para alimentos dietéticos bajos en calorías y para el consumo de personas con diabetes (Carvalho *et al.*, 2013). Estos componentes pueden estar presentes en alimentos o como productos industriales agregados (Nabarlatz *et al.*, 2007; Vázquez *et al.*, 2000). La adición de XOS a los alimentos agrega propiedades fisiológicas beneficiosas para el cuerpo, incluida la mejora de la función intestinal, la absorción de calcio y el metabolismo de los lípidos, la prevención de la caries dental, la protección contra enfermedades cardiovasculares y la reducción del riesgo de cáncer de colon debido a la formación de ácidos grasos de cadena (Grootaert *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009).

Los XOS ofrecen beneficios para la salud debido al metabolismo selectivo promovido por las bifidobacterias, aumentando la producción de ácidos grasos volátiles. Por tal motivo, se han utilizado en la industria farmacéutica y en muchos productos alimenticios. Tienen un sabor aceptable como ingredientes alimentarios y son aditivos hipocalóricos no cariogénicos que pueden utilizarse en dietas de adelgazamiento (Vázquez *et al.*, 2000). Pero ahora la idea principal es conocer cuál sería la influencia de los XOS como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina mediante el análisis de las características anatómicas, bioquímicas y genéticas en

respuesta de una dieta obesogénica sobre los genes anteriormente mencionados (*PPAR γ* , *LPL*, *INSR* y *FasN*) ya que cumplen un papel fundamental en la absorción de lípidos, asimilación de la glucosa y acumulación de grasas dentro del organismo humano. Esto con el fin de que, si se llega a comprobar un efecto positivo en la interacción del extracto con estos factores, se podría apuntar a posibles tratamientos médicos que ayuden a disminuir el peso corporal y adiposidad visceral, controlar factores de riesgo, previniendo así, la resistencia a la insulina y la obesidad con un costo de producción bastante asequible.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de xilooligosacáridos (XOS) como tratamiento de la obesidad y resistencia a la insulina mediante el análisis de los cambios anatómicos, bioquímicos y genéticos en respuesta de una dieta obesogénica en un modelo animal de ratas Wistar.

3.2 Objetivos específicos

Establecer un modelo animal patológico en ratas Wistar que presenten obesidad y resistencia a la insulina mediante una dieta obesogénica caracterizada por grasas y carbohidratos simples.

Evaluar en ratas Wistar obesas e insulino resistentes el efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en las características anatómicas (peso, longitud y circunferencia abdominal).

Evaluar en ratas Wistar obesas e insulino resistentes el efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre los cambios en los parámetros bioquímicos del metabolismo energético y lipídico (glucosa, colesterol total y HDL, triglicéridos).

Evaluar en ratas Wistar obesas e insulino resistentes el efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en los niveles de expresión de genes implicados en la obesidad y la resistencia a la insulina (*INSR*, *FasN*, *PPAR γ* y *LPL*) mediante medidas de expresión por PCR en tiempo real.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Animales y dieta

Para llevar a cabo este proyecto se utilizaron un total de 48 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) tipo Wistar WI IOPS AF/Han, divididas en 24 machos y 24 hembras con el fin de evaluar el efecto del sexo en los tratamientos experimentales. Los animales que se emplearon para la experimentación fueron suministrados y mantenidos dentro del Bioterio Central ubicado en la Facultad de Salud, de la Universidad Industrial de Santander, en condiciones de luz y temperatura controladas (períodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con comida *ad libitum*). Recién nacidas las ratas, se dejaron bajo el cuidado de la madre por 21 días, terminado ese periodo de tiempo, se dividieron por cajas según la dieta y el tratamiento que recibieron.

Recién separadas las ratas por grupos de tratamientos (6 ratas por cada uno) se comenzaron a alimentar inmediatamente, por un periodo de 6 meses, con la dieta según lo correspondiente a su grupo designado. Los grupos experimentales fueron estipulados de la siguiente forma:

- **Tratamiento No. 1:** Dieta estándar sin xilooligosacáridos (SD)
- **Tratamiento No. 2:** Dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX)
- **Tratamiento No. 3:** Dieta alta en grasa y glucosa sin xilooligosacáridos (GHFD)
- **Tratamiento No. 4:** Dieta alta en grasa y glucosa con xilooligosacáridos (GHFDX)

Los tratamientos 1 y 2 corresponden a la dieta estándar sin (SD, n=6; 3.00 kcal/g) y con xilooligosacáridos (SDX, n=6). La dieta estándar tenía el siguiente contenido nutricional: 12% de proteína, 2.5% de grasa, 8.0% de fibra y 50% de carbohidratos, junto con consumo de agua *ad libitum*. Los tratamientos 3 y 4, corresponden a la dieta alta en grasa y azúcar sin (GHFD, n=6; 3.72 kcal/g) y con xilooligosacáridos (GHFDX, n=6), dieta obesogénica e insulino resistente con

la siguiente composición nutricional: 5.6% de proteína, 1.6% de grasa, 1.2 % de fibra y 82% de carbohidratos.

Los xilooligosacáridos se les fueron dados a las ratas 16 antes de terminados los 6 meses, con una concentración al 50% p/v. Completado ese tiempo, se les tomaron los siguientes datos anatómicos: circunferencia de abdomen, longitud (medida de cabeza a cola) y peso usando una balanza digital (OHAUS), esto con el fin de calcular el índice de masa corporal (IMC) (ecuación 1).

$$\text{Ecuación 1} \quad \text{IMC} = \frac{\text{Peso (g)}}{(\text{Longitud})^2 (\text{cm}^2)}$$

Seguido a esto, se les realizó un corte en la punta de la cola para hacer extracción de sangre. Esta muestra se centrifugó a 2700 rpm por 10 minutos y el plasma obtenido fue conservado para realizar posteriormente las respectivas pruebas bioquímicas para hallar la concentración de glicemia en sangre (ecuación 2) y el perfil lipídico: colesterol, triglicéridos, y lipoproteína de alta densidad (HDL). Estas muestras fueron marcadas como “muestras pre-tratamiento”.

Desde ese momento y por los siguientes 16 días (antes de finalizar las dietas de seis meses) el tratamiento con xilooligosacáridos se les suministró a las ratas por medio de una sonda orogástrica, la cual se les introducía por la boca directamente hasta el estómago. Durante este periodo de tratamiento, se les llevó control de peso diario y observación de comportamiento, si hay o no pérdida de pelo y/o signos de estrés. Por esta razón, aunque hubo grupos de ratas elegidos para recibir xilooligosacáridos y otros que no; a las que no se les dio de este extracto, sí se les proporcionó exactamente la misma cantidad únicamente de agua (1 mL) por sonda, para efectuar el mismo procedimiento experimental con todas, y así evitar posibles errores experimentales. Una vez terminados los 16 días de tratamiento se llevó a cabo el sacrificio de los animales.

4.2 Sacrificio y colecta de muestras de tejidos

El sacrificio fue realizado por decapitación con guillotina terminados los 6 meses. Pero antes de realizarlo, nuevamente se le tomaron medidas de peso, longitud y circunferencia del abdomen a la rata, ya que estos fueron los datos anatómicos post-tratamiento. Una vez sacrificadas, se obtuvo de cada rata la muestra de sangre post-tratamiento y se extrajeron los siguientes tejidos y órganos: hígado, páncreas, tejido adiposo visceral, tejido adiposo marrón, tejido adiposo subcutáneo y músculo esquelético. Estos tejidos se pesaron y posteriormente se conservaron a -20°C junto con la muestra de plasma post, que al igual que la pre-tratamiento, se obtuvo centrifugando la sangre recolectada después de realizado el sacrificio, a 2700 rpm por 10 minutos.

4.3 Pruebas bioquímicas

Las pruebas de glucosa, colesterol, triglicéridos y HDL en sangre fueron realizadas en muestras pre y post dietas y tratamiento con el kit de pruebas colorimétricas (Wiener Lab). Las absorbancias fueron halladas usando un espectrofotómetro (BioTek Synergy H1 Microplate Reader). Se realizaron los cálculos de las absorbancias obtenidas para obtener la concentración de glicemia (Ecuación 2), Colesterol total (Ecuación 3), Triglicéridos (Ecuación 4) y HDL (Ecuación 5).

$$\text{Ecuación 2} \quad \text{Glicemia} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia de la solución estándar}} \times [\text{Patrón}^*]$$

***Tomando como concentración de la solución patrón 100 mg/dL**

Ecuación 3

$$\text{Colesterol total} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia de la solución estándar}} \times [\text{Patrón}^*]$$

***Tomando como concentración de la solución patrón 200 mg/dL**

$$\text{Ecuación 4} \quad \text{Triglicéridos} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia de la solución estándar}} \times [\text{Patrón}^*]$$

***Tomando como concentración de la solución patrón 200 mg/dL**

$$\text{Ecuación 5} \quad \text{HDL} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia de la solución estándar}} \times [\text{Patrón}^*]$$

***Tomando como concentración de la solución patrón 240 mg/dL**

La concentración de colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) fue calculada usando la ecuación 6.

$$\text{Ecuación 6} \quad \text{LDL} = \text{Colesterol total} - \text{HDL} - \left(\frac{\text{Triglicéridos}}{5} \right)$$

4.4 Extracción de ARNm y amplificación de genes por PCR en tiempo real.

De las muestras de tejidos extraídos, se eligió el tejido adiposo subcutáneo para realizar la respectiva extracción de ARNm y posterior amplificación de los genes *PPAR γ* , *FasN*, *INSR* y *LPL* por el protocolo de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR).

La extracción de ARN se llevó a cabo por medio del protocolo de extracción con TRIzol (Ambion). Seguidamente, el ARN extraído de la muestra fue cuantificado en NanoDrop (Thermo Scientific) y una vez conocida la concentración, fueron realizados los respectivos cálculos para llevar a cabo el protocolo de purificación de las muestras por medio del tratamiento con DNase I (Promega) para luego realizar la retrotranscripción (RT) utilizando la transcriptasa inversa M-MLV (Invitrogen), siguiendo las instrucciones del fabricante. Terminado este paso, nuevamente se cuantificó la muestra y se dejó con un volumen final de 20 μ L.

Los genes seleccionados para amplificación por PCR-tiempo real (Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR System) fueron: el receptor de insulina (*INSR*), el ácido graso sintasa (*Fasn*), el receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (*PPAR γ*) y la lipoproteinlipasa (*LPL*). Los primers y sonda fueron diseñados usando Biosearch Technologies Software (AMLTDA), usando Forward (F) y Reverse (R) para *INSR*: F: GCGGTGAAGACGGTCAATG, R: TGACAGGTGAAGCCCTTCATG; *FASN*, F: GCTGCCGTGTCCTTCTACTAC, R: GGTACTTGGCCTTGGGTTTATAC; *PPARG*, F: GAACCCAGAGTCTGCTGATCTG, R: TCAGCGGGAAGGACTTTATGTATG y finalmente para *LPL*, F: GGCTCTGCCTGAGTTGTAGAAAG, R: TCTTGGCTCTGACCTTGTTGA. Los análisis cuantitativos de los datos fueron realizados con el Software Gen 5.

4.5 Análisis estadístico

Primero se comprobó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk y una vez corroborado este dato, todos los resultados fueron analizados usando la prueba paramétrica ANOVA de un factor, seguida de la prueba post hoc de Tukey para múltiples variables. Los resultados fueron expresados en promedio \pm error estándar (SEM). Se consideraron valores significativos aquellos que tenían una significancia de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS/Windows versión 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE.UU.) y GraphPad Prism Software v7.0 (La Jolla, CA, EE.UU.).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterización de modelo de obesidad e insulino-resistencia

Con el fin de generar un modelo de obesidad e insulino resistencia se evaluaron dos tipos de dietas: dieta estándar (SD) y dieta obesogénica alta en grasa y glucosa (GHFD). En la tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos de peso, índice de masa corporal (IMC). En la tabla 2, se pueden evidenciar los resultados obtenidos de parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL) separados por sexo (machos y hembras) de las muestras pre (basales) y post (6 meses después de tratamiento con la dieta).

Tabla 1. Media y error estándar de SD y GHFD

MEDIDAS	SEXO	SD		GHFD	
		PRE	POST	PRE	POST
PESO	MACHOS	374.2 ± 15.05	407.8 ± 11.97	332.6 ± 6.079*	491 ± 8.983 ^{+++;####}
	HEMBRAS	256.9 ± 6.117	277.8 ± 8.238	267.3 ± 6.699	342.1 ± 8.534 ^{++++;####}
IMC	MACHOS	0.209 ± 0.007	0.2324 ± 0.006	0.218 ± 0.002	0.360 ± 0.042 ^{++++;####}
	HEMBRAS	0.174 ± 0.003	0.178 ± 0.0036	0.186 ± 0.001	0.225 ± 0.013 ^{++++;###}

Nota: Peso corporal e índice de masa corporal antes (pre) y después (post) de la dieta estándar (SD) y la dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) en ratas macho y ratas hembra. ANOVA de un factor, $p < 0,05$, prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

vs. SD*, vs. SDX[#]; vs. GHFD⁺

SD: Dieta estándar; **GHFD:** Dieta alta en grasa y glucosa

Con estos resultados se evidencia que la dieta GHFD genera un incremento significativo en el peso e IMC en comparación con la dieta SD tanto en hembras ($p=0.000014$, $p=0.000004$, respectivamente) como en machos ($p=0.0008$, $p<0.000001$, respectivamente). Con estos resultados se demuestra que la dieta GHFD induce una ganancia de peso exacerbada en comparación con el SD, generando un estado de obesidad en los animales tratados con la dieta GHFD.

Por otra parte, en la tabla 2 se muestran los parámetros bioquímicos evaluados en ambas dietas (glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL).

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas, el primer resultado significativo que se observa es el de la glicemia. El GHFD-post presenta diferencias significativas respecto al SD-post, tanto en machos ($p=0.000769$) como en hembras ($p=0.0167$). También se evidencian diferencias significativas al comparar el estado basal (pre) y tras el tratamiento (post) GHFD tanto en machos ($p=0.000045$) como en hembras ($p=0.0008$). En la dieta SD al comparar su estado basal con el efecto de la dieta, no se evidencian cambios significativos.

Seguido a este resultado, tenemos el del colesterol, en donde también se identifican diferencias significativas al comparar los tratamientos GHFD-post respecto a SD-post en machos ($p<0.000001$) y en hembras ($p=0.004787$). Al evaluar el efecto del tratamiento entre el estado basal (pre) y el efecto de la dieta GHFD se hallaron diferencias significativas en machos y hembras ($p=0.000002$ y $p=0.003631$, respectivamente). SD no indujo ningún cambio tras la dieta en comparación con el estado basal.

En cuanto a los triglicéridos, sólo se evidencian diferencias significativas entre GHFD-post y SD-post en hembras ($p=0.001186$). Lo que demuestra, que los triglicéridos se ven afectados dependiendo del sexo de los animales. Al comparar el efecto de la dieta GHFD (post) respecto al

estado basal (pre), se identificaron diferencias significativas en machos ($p=0.001419$) y hembras ($p=0.00315$).

Para el colesterol HDL y LDL, no se evidenciaron cambios significativos.

Tabla 2. *Parámetros bioquímicos evaluados en SD y GHFD en ratas Wistar*

SEXO	Parámetros bioquímicos	SD		GHFD	
		PRE	POST	PRE	POST
MACHOS	<i>GLI</i>	207.6 ± 5.724	206.4 ± 19.57	188.6 ± 13.92	278 ± 12.01 ^{+++;####}
	<i>COL</i>	56.6 ± 6.313	57.2 ± 2.2	62.33 ± 1.333	119 ± 9.407 ^{++++;####}
	<i>TG</i>	52.25 ± 13.69	64.25 ± 1.377	46.67 ± 3.159	91.4 ± 9.511 ^{##}
	<i>HDL</i>	361.6 ± 31.88	341.6 ± 38.8	401 ± 16.07	338.4 ± 9.118
	<i>LDL</i>	273 ± 42.07	246 ± 40.51	330.3 ± 15.07	228.5 ± 17.77
HEMBRAS	<i>GLI</i>	236.9 ± 15.72	222.2 ± 8.417	209.6 ± 19.97	321 ± 30.35 ^{+;###}
	<i>COL</i>	32.67 ± 2.963	32.67 ± 0.8819	32 ± 3.055	56.86 ± 4.533 ^{++;##}
	<i>TG</i>	72.75 ± 1.493	72.2 ± 9.484	74.25 ± 2.394	125.3 ± 8.293 ^{++;##}
	<i>HDL</i>	455.7 ± 15.94	469.5 ± 14.2	465 ± 4.933	481 ± 5.292
	<i>LDL</i>	427.7 ± 13.91	417 ± 18.01	408 ± 3.606	419.7 ± 6.692

Nota: Pruebas bioquímicas antes (pre) y después (post) de la dieta estándar (SD) y la dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) en ratas macho y ratas hembra. ANOVA de un factor, $p < 0,05$, prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$)

vs. SD* (pre); vs. SD⁺ (post); vs. GHFD[#]

GLI: Glicemia; **COL:** Colesterol; **TG:** Triglicéridos

SD: Dieta estándar; **GHFD:** Dieta alta en grasa y glucosa

Con estos resultados obtenidos, se confirman los efectos de la dieta GHFD asociados a IMC, en donde efectivamente se evidencia que la dieta alta en grasa con glucosa (GHFD) es la que

presenta alteraciones más evidentes tanto anatómica, como metabólicamente en las ratas induciendo un estado de obesidad en comparación con las ratas SD. Este estado de obesidad se soporta a su vez, por los parámetros de colesterol y triglicéridos, sin embargo, es importante resaltar que el sexo del animal influye en el efecto más severo de la dieta en el parámetro de los triglicéridos. También se evidencia que tras la dieta con GHFD se induce un estado de hiperglicemia que se da independientemente del sexo del animal, manifestación clínica asociada con la insulino resistencia (Fried *et al.*, 2015).

En este sentido, se obtuvo un modelo de obesidad con hiperglicemia e hipercolesterolemia para su uso en los ensayos posteriores.

5.2 Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en las características anatómicas en ratas Wistar

5.2.1 *Peso corporal*

El peso corporal (pre y post) fue una de las variables que se evaluó en machos y hembras. Ya comprobado que la dieta GHFD sí induce obesidad, hiperglicemia e hipercolesterolemia, ahora se dará paso a probar las dietas con tratamiento de xilooligosacáridos. Como se puede ver en la figura 1a (machos) y 1b (hembras), GHFD-post induce un incremento de peso significativo en comparación con el estado basal del animal (GHFD-pre) (machos $p=0.000003$ y hembras $p=0.000002$). Al comparar los efectos de las dietas post, se evidencia que GHFD-post tiene diferencias significativas con SD-post (machos $p=0.0152$ y hembras $p<0.000001$), SDX-post (machos $p=0.000039$, hembras $p<0.000001$) y GHFDX-post (machos $p=0.0014$ y hembras $p=0.00021$). Con este resultado se puede evidenciar claramente que la dieta alta en grasa y glucosa

(GHFD) sin XOS en las ratas macho y hembras genera obesidad y que el tratamiento con XOS genera resistencia a la ganancia de peso cuando se consume una dieta GHFD, lo que sugiere que los XOS a pesar de mantener una dieta alta en grasa y glucosa, evitan que el aumento de peso sea crónico y evita el desarrollo de obesidad. En las dietas estándar no hubo cambios significativos. Sin embargo, es importante mencionar que al comparar los efectos de los XOS en el SD en hembras, se evidencia incluso una reducción significativa de peso entre SD-post y XSD-post ($p=0.00559$), en machos no hay cambios significativos en cuánto a la reducción, se mantuvo un peso constante. Sin embargo, en ningún caso se presentó ganancia de peso en post-XSD, lo que sugiere que los XOS incluso tras consumo de una dieta SD, previenen la ganancia de peso.

5.2.2 *Índice de masa corporal (IMC)*

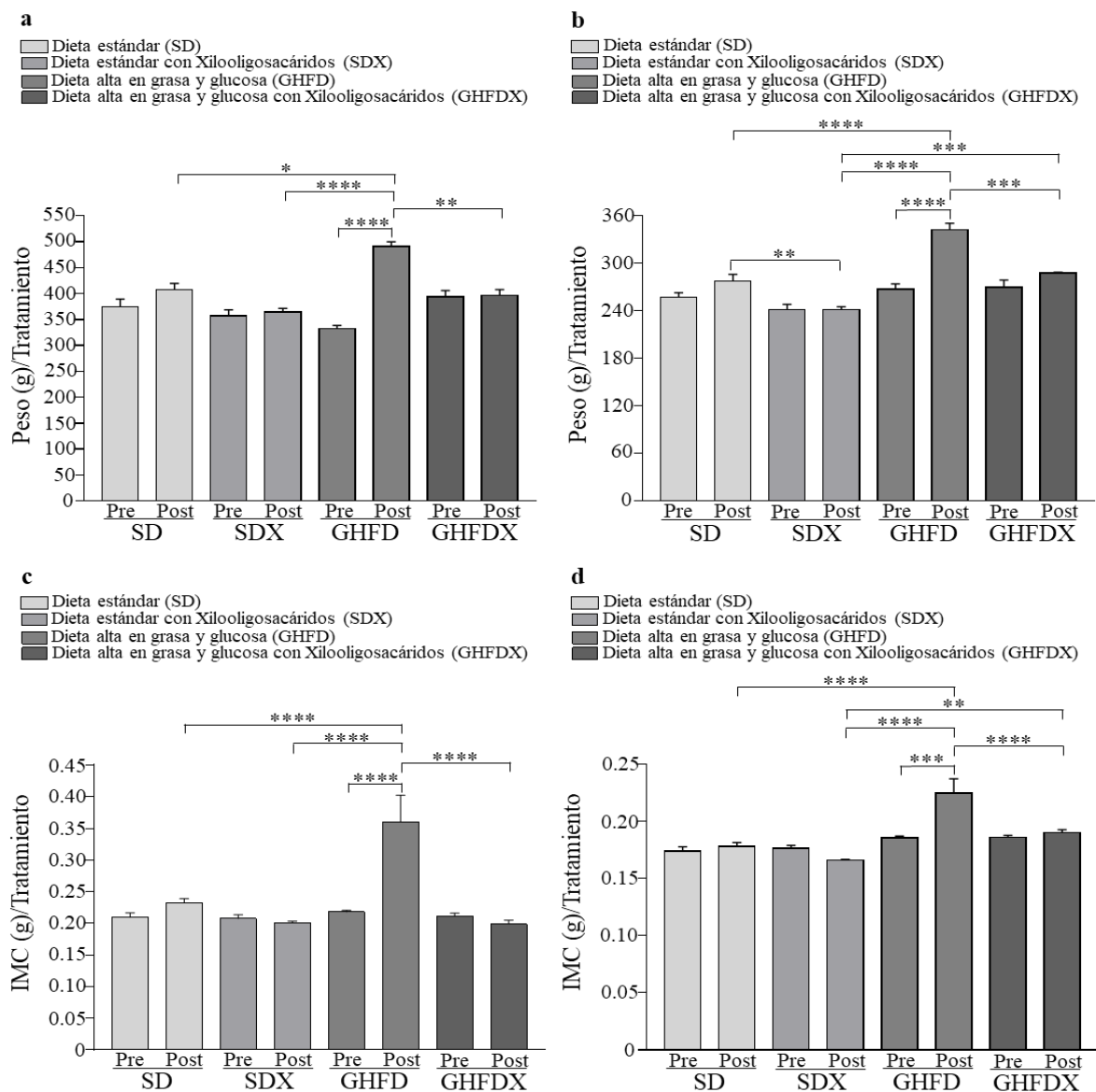
Uno de los parámetros que generalmente se mide teniendo en cuenta los datos de los pesos y las longitudes hocico - cola (en ratas) o altura (en humanos) es el índice de masa corporal (IMC). En un modelo *in vivo*, en este caso de rata, este dato es relevante ya que con su resultado se puede establecer con más certeza el estado de obesidad. En la figura 1c y 1d, para machos y hembras respectivamente, nuevamente se comprueba que el valor post del tratamiento GHFD es el que más muestra diferencias significativas respecto a los valores post de los otros tratamientos SD (machos $p<0.000001$ y hembras $p<0.000001$) y SDX (machos $p<0.000001$ y hembras $p<0.000001$). También hay una diferencia significativa entre post-GHFD y post GHFDX en machos y hembras ($p<0.000001$).

El IMC al ser un resultado que se calcula a partir del peso y la longitud o altura (para este caso la longitud), se refuerza el objetivo de comprobar que efectivamente los XOS tienen un efecto favorable en la anatomía de la rata, evitando la obesidad o generando una resistencia al desarrollo

de ella. Al revisar el efecto de los XOS en SD, tras el tratamiento con XOS y SD, se evidencia que no hubo ganancia de peso.

Todos los resultados mencionados previamente de peso e IMC, demuestran que los XOS independientemente del tipo de dieta que se tenga, tienen un efecto favorable para el metabolismo evitando la ganancia de peso. Sin embargo, es importante resaltar que la resistencia a la ganancia de peso y a estados de obesidad es más marcado cuando se consume una dieta GHFD y XOS.

Figura 1. Efecto de los XOS en peso e IMC



Nota: Peso corporal antes (pre) y después (post) de diferentes tipos de dietas en (a) ratas macho y (b) ratas hembra. Índice de masa corporal antes y después de diferentes tipos de dietas en (c) ratas macho y (d) ratas hembra. La dieta estándar (SD) y la dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX) fueron las dietas para los modelos normal y normal/tratamiento, respectivamente. Mientras que: la Dieta Alta en Grasa con Glucosa (GHFD) y la Dieta Alta en Grasa con Glucosa y con xilooligosacáridos (GHFDX) fueron las dietas para los modelos diabético/obesogénico y diabético/obesogénico con tratamiento. ANOVA de un factor, $p < 0,05$, prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

5.2.3 *Peso de los órganos*

Cada uno de los órganos y tejidos extraídos tras sacrificio se pesaron para poder evaluar los cambios presentados en el peso de los mismos respecto a las dietas con y sin el tratamiento de XOS. Entonces, como se puede observar en la Tabla 3, tanto los órganos de los machos, como los órganos de las hembras tratados con GHFD tuvieron resultados significativos en el peso de los órganos. Específicamente, en el hígado, al comparar GHFD respecto a GHFDX se evidencia una disminución significativa del peso del órgano en machos y hembras ($p < 0.000001$) tras tratamiento con XOS. Adicionalmente, GHFD también presenta un mayor peso significativo del hígado en comparación con la SD ($p < 0.000001$) y con SDX ($p < 0.000001$). Por su parte, al comparar el peso del hígado de SDX respecto a GHFDX hay una reducción significativa en SDX en ambos sexos (machos $p = 0.00164$ y hembras $p < 0.000001$)

Respecto al páncreas, en machos y hembras la dieta que presenta un mayor peso del órgano de manera significativa es GHFD en comparación con SD (machos y hembras $p < 0.000001$), GHFDX (machos $p = 0.000002$ y hembras $p = 0.000533$), SDX (machos $p < 0.000001$ y hembras $p = 0.000003$). Sumado a esto, GHFDX en hembras presentó valores de peso aún superiores

respecto a SD ($p=0.004029$) y SDX ($p=0.03142$). En la tabla 2 se pueden comprobar estos resultados ya que al observar la diferencia de pesos que existe entre la dieta sin XOS (SD y GHFD) y las dos que sí tienen XOS (SDX y GHFDX), efectivamente es evidente que el tamaño del páncreas en las dietas con XOS era menor de manera significativa respecto a los pesos tras dieta obesogénica lo que sugiere un efecto positivo de los XOS en el peso del órgano del páncreas. Adicionalmente es importante resaltar que el aumento crónico del peso de páncreas como se evidencia en GHFD podría estar asociado con una posible insulino resistencia (Petersen & Shulman, 2018; McLaughlin *et al.*, 2014), la cuál podría verse, al menos en parte, revertida por los XOS debido a la reducción del peso del órgano tras éste tratamiento en animales obesos.

En cuanto al tejido adiposo visceral (TAV) y el tejido adiposo subcutáneo (TAS), los resultados fueron similares en ambos tejidos adiposos en machos y hembras. Es decir, en machos, la SD tenía menor peso de TAS y TAV en comparación con GHFD (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p<0.000001$) y GHFDX (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p=0.008883$) y no se evidenciaron cambios significativos respecto a SDX. Por otra parte, SDX tenía un peso inferior significativo respecto a GHFD (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p<0.000001$) y GHFDX (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p=0.000078$). Por su parte al evaluar el efecto de los XOS en estado de obesidad, se evidencia un peso inferior significativo en GHFDX respecto a GHFD (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p<0.000001$), lo que demuestra un efecto favorable de los XOS en el peso de los tejidos TAV y TAS.

En hembras, el tratamiento SD en el TAV tenía un peso inferior significativo en comparación con GHFD ($p<0.000001$). En cuanto a TAS, SD tuvo un menor peso significativo respecto a GHFD ($p<0.000001$) y GHFDX ($p=0.00019$). Por otra parte, SDX mostró reducción de peso significativo en los tejidos adiposos respecto a GHFD (TAV: $p<0.000001$; TAS: $p<0.000001$)

y GHFDX (TAV: $p=0.00116$; TAS: $p=0.000005$) y finalmente, GHFD tenía un peso de tejidos adiposos superior a GHFDX (TAV: $p=0.00225$; TAS: $p<0.000001$).

En el tejido adiposo marrón, en los machos, se evidencia diferencias significativas con un mayor peso de la SD en comparación con GHFD ($p=0.0042$), mientras que en hembras SD tuvo un peso mayor significativo en el tejido adiposo marrón respecto a GHFD y GHFX ($p<0.000001$ y $p=0.000399$, respectivamente). En cuanto a SDX, se encontró un peso superior del tejido adiposo marrón respecto a GHFD (machos $p=0.0004$ y hembras $p<0.000001$) y GHFDX (machos $p=0.0037$ y hembras $p<0.000001$) en ambos sexos. En cuanto a GHFD, encontramos que la dieta que induce obesidad hay menor peso en comparación con GHFDX en machos ($p=0.0389$) y hembras ($p=0.000225$). Nuestros resultados demuestran que los XOS favorecen la generación e incremento de peso de tejido adiposo marrón.

Finalmente, en relación con el músculo esquelético, en machos y hembras el músculo esquelético tuvo un mayor peso significativo en SD en comparación con GHFD (machos $p=0.0053$ y hembras $p<0.000001$) y menor peso significativo en comparación con SDX en hembras ($p<0.000001$) y una tendencia a la reducción en machos ($p=0.0799$). Mientras que en las hembras, SDX presentó un mayor peso significativo en comparación con GHFDX ($p<0.000001$). Y GHFDX presentó un mayor peso significativo en comparación con GHFD ($p<0.000001$).

Con estos resultados se puede sugerir que efectivamente una dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) afecta de manera directa y evidente tanto el peso e índice de masa corporal (como ya previamente se demostró con la figura 1) como el peso de los órganos y tejidos, especialmente el hígado, páncreas y la acumulación del TAV y TAS, pero al momento de añadir los XOS a esta dieta y comparar los valores finales de cada una, se evidencia una mejora notable a pesar del tipo

de alimentación, muy similar a la estándar, lo cual, también sugiere que los XOS favorecen el metabolismo de los lípidos y mejoran la actividad de la insulina evidenciado en reducción del peso del páncreas.

Tabla 3. Pesos de los órganos y tejidos

	Órgano	SD	SDX	GHFD	GHFDX
MACHOS	<i>Hígado</i>	11.05 ± 0.2508	10.52 ± 0.378	15.82 ± 0.3145****;####	12.09 ± 0.1892##;++++
	<i>Pancreas</i>	0.7177 ± 0.0145	0.658 ± 0.0086	0.9678 ± 0.0358****;####	0.734 ± 0.0294++++
	<i>TAV^a</i>	3.97 ± 0.1791	3.126 ± 0.1815	19.94 ± 1.516****;####	12.58 ± 0.8707****;####;++++
	<i>TAM^b</i>	1.553 ± 0.0284	1.873 ± 0.0338	0.6167 ± 0.0983**;###	1.119 ± 0.1227##;+
	<i>TAS^c</i>	7.053 ± 0.5887	5.032 ± 0.2874	26.34 ± 3.323****;####	12.19 ± 0.8538**;####;++++
	Músculo esquelético	0.895 ± 0.015	1.062 ± 0.0938	0.7467 ± 0.0120**	0.9114 ± 0.0299
HEMBRAS	<i>Hígado</i>	8.387 ± 0.1653	7.751 ± 0.1501*	10.87 ± 0.2027****;####	8.911 ± 0.1358####;++++
	<i>Pancreas</i>	0.5682 ± 0.01536	0.5788 ± 0.0114	0.7667 ± 0.0219****;####	0.6382 ± 0.0132**;#;+++
	<i>TAV^a</i>	5.384 ± 0.4442	3.753 ± 0.2135	12.23 ± 1.906****;####	7.67 ± 0.5498##;++
	<i>TAM^b</i>	1.075 ± 0.0272	1.56 ± 0.0856****	0.565 ± 0.045****;####	0.8879 ± 0.0379****;####;++++
	<i>TAS^c</i>	4.044 ± 0.2487	3.731 ± 0.1369	12.77 ± 2.012****;####	6.167 ± 0.321***;####;++++
	Músculo esquelético	0.6112 ± 0.0071	0.7425 ± 0.0210****	0.482 ± 0.0183****;####	0.6155 ± 0.0107####;++++

Nota: Pesos de los órganos y tejidos de la dieta estándar (SD), dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX), dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) y dieta alta en grasa y glucosa con xilooligosacáridos (GHFDX) en ratas macho y ratas hembra. ANOVA de un factor, $p < 0.05$

junto con la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

vs. SD*, vs. SDX#, vs. GHFD⁺

^aTAV: Tejido Adiposo Visceral; ^bTAM: Tejido Adiposo Marrón; ^cTAS: Tejido Adiposo Subcutáneo

SD: Dieta estándar; SDX: Dieta estándar con Xilooligosacáridos; GHFD: Dieta alta en grasa y glucosa; GHFDX: Dieta alta en grasa y glucosa con Xilooligosacáridos.

5.3 Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en los parámetros bioquímicos del metabolismo energético y lipídico.

5.3.1 Glicemia

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos en parámetros bioquímicos tales como, Glicemia, Colesterol, Triglicéridos, LDL y HDL en muestras basales (pre) y post (tras la dieta con o sin tratamiento de XOS). El efecto de la dieta obesogénica GHFD-post presenta niveles de glicemia superiores de manera significativa respecto a su estado basal (GHFD-pre) (machos $p=0.000045$ y hembras $p=0.0008$) y a SD-post (machos $p=0.0006$ y hembras $p=0.0167$), SDX-post (machos $p=0.0004$ y hembras $p=0.0088$) y GHFDX-post (machos $p=0.0443$ y hembras $p=0.0035$) en machos y hembras. Es importante resaltar que XOS induce una reducción de la glicemia en estados de obesidad respecto a la dieta obesogénica (GHFD vs. GHFDX) tanto en machos ($p=0.0443$) como en hembras ($p=0.0035$). Permitiendo sugerir que los XOS son posibles protectores de un aumento acelerado en los niveles de glicemia en un estado de obesidad. Adicionalmente, la dieta SDX tuvo parámetros de glicemia inferiores a la dieta SD. Lo cual

sustenta que los XOS reducen la glicemia frente a dietas estándar como dietas obesogénicas evitando la hiperglicemia.

5.3.2 Perfil lipídico (Colesterol, triglicéridos, LDL y HDL)

El colesterol tuvo niveles superiores en GHFD respecto a su estado basal (machos $p < 0.000001$ y hembras $p = 0.00363$) y respecto a las demás dietas SD (machos $p < 0.000001$ y hembras $p = 0.00479$), SDX (machos $p < 0.000001$ y hembras $p = 0.00045$) y GHFDX (machos $p < 0.000001$ y hembras $p = 0.00275$). Por otra parte, al evaluar el efecto de los XOS en dieta GHFD, se evidencia una reducción del colesterol significativa en machos ($p < 0.000001$) y hembras ($p = 0.00363$) llegando incluso a parámetros normales similares a la dieta estándar. Al comparar SDX con SD, no se evidencian cambios significativos. Sin embargo, se hace evidente una tendencia a la reducción de los niveles de colesterol en SDX.

En cuanto a los triglicéridos, GHFD presenta niveles superiores significativos en machos ($p = 0.001419$) y hembras ($p = 0.00315$) respecto al estado basal de la misma dieta GHFD-pre. Al comparar los efectos de los XOS en dieta obesogénica, se evidencia una reducción de triglicéridos en GHFDX-post respecto a GHFD significativa (machos $p = 0.000076$ y hembras $p = 0.000015$). Con éste resultado se puede afirmar que el tratamiento con XOS en animales obesos es favorable, especialmente en lo relacionado al metabolismo de los lípidos. Por otra parte, en hembras disminuyen los valores de triglicéridos de manera significativa en SDX respecto a SD ($p = 0.00338$) y a GHFD ($p = 0.00119$). El efecto de la misma dieta SDX respecto a su basal también muestra una reducción significativa de los triglicéridos ($p = 0.01399$) así como GHFDX-post también presenta reducción de triglicéridos respecto a su estado basal GHFDX-pre ($p = 0.01484$). Estos resultados indican que, aquellos grupos experimentales que recibieron XOS, mostraron diferencias significativas dentro del mismo grupo, ya que estos valores obtenidos disminuyeron notablemente

después de suministrado el tratamiento en ambos tipos de dietas, tanto la estándar como la alta en grasa y glucosa.

En el LDL de machos únicamente hubo diferencias significativas entre GHFD-post respecto a sí mismo en estado basal ($p=0.0351$) y con GHFDX-post ($p=0.0351$), mientras que en hembras, las diferencias significativas se presentaron con SDX en relación a pre-SDX ($p<0.000001$), SD-post ($p=0.000001$), GHFD-post ($p<0.000001$) y GHFDX-post ($p<0.000001$).

Finalmente, para el HDL, en machos no se presentó ninguna diferencia significativa. En hembras, al igual que con el colesterol LDL, las diferencias significativas se presentaron entre el tratamiento post-SDX respecto a su valor pre ($p<0.000001$) y a los demás post: SD ($p<0.000001$), GHFD ($p<0.000001$) y GHFDX ($p<0.000001$).

Estos resultados demuestran que los XOS son un compuesto dietario efectivo para acelerar el metabolismo de los lípidos y azúcares, mostrando niveles favorables de glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL y HDL.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos en ratas Wistar hembras y machos

Sexo	Parámetros bioquímicos	SD		SDX		GHFD		GHFDX	
		PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
MACHOS	GLI	207.6 ± 5.72	206.4 ± 19.57	230.9 ± 7.38	202.8 ± 5.57	188.6 ± 13.92	278 ± 12.01** *,###,++++	198.5 ± 12.44	233.7 ± 4.98 ⁺
	COL	56.6 ± 6.31	57.2 ± 2.2	52.6 ± 1.50	49.33 ± 2.19	62.33 ± 1.33	119 ± 9.41**** ;###,++++	56.43 ± 3.41	49 ± 3.70****
	TG	52.25 ± 13.69	64.25 ± 1.38	62.2 ± 1.74	63.5 ± 7.9	46.67 ± 3.16	91.4 ± 9.51**	64.6 ± 6.70	41.11 ± 6.22****
	LDL	273 ± 42.07	246 ± 40.51	359.4 ± 21.52	321 ± 37.11	330.3 ± 15.07	228 ± 17.77 ⁺	378 ± 19.04	322.5 ± 34.96 ⁺
	HDL	361.6 ± 31.88	341.6 ± 38.8	424.7 ± 17.16	357.5 ± 22.62	401 ± 16.07	338.4 ± 9.12	392 ± 23.48	424.4 ± 20.28
HEMBRAS	GLI	236.9 ± 15.72	222.2 ± 8.42	210 ± 6.64	208 ± 5.76	209.6 ± 19.97	321 ± 30.35*; #,+++	227.5 ± 10.07	198.5 ± 8.99**
	COL	32.67 ± 2.96	32.67 ± 0.88	30.75 ± 3.04	27 ± 1.53	32 ± 3.06	56.86 ± 4.53**; ###,++	35.33 ± 5.36	31.33 ± 2.73**
	TG	72.75 ± 1.49	72.2 ± 9.48	65.8 ± 5.01	23.67 ± 5.49**; #	74.25 ± 2.39	125.3 ± 8.29**; ###,++	88.2 ± 10.61	49.75 ± 5.41****
	LDL	427.7 ± 13.91	417 ± 18.01	413.8 ± 9.44	289 ± 3.51****; ###,##	408 ± 3.61	419.7 ± 6.69####	427.3 ± 3.67	416.7 ± 4.70####
	HDL	455.7 ± 15.94	469.5 ± 14.2	458 ± 7.67	319.1 ± 2.53****; ###,##	465 ± 4.93	481 ± 5.29####	467.8 ± 5.51	475.5 ± 5.89####

Nota: Pruebas bioquímicas antes (pre) y después (post) de la dieta estándar (SD), dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX), dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) y dieta alta en grasa y glucosa con xilooligosacáridos (GHFDX) en ratas macho y ratas hembra. ANOVA de un factor, $p < 0.05$ junto con la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

vs. SD*, vs. SDX[#]; vs. GHFD⁺

GLI: Glicemia; **COL:** Colesterol; **TG:** Triglicéridos

SD: Dieta estándar; *SDX*: Dieta estándar con Xilooligosacáridos; *GHFD*: Dieta alta en grasa y glucosa; *GHFDX*: Dieta alta en grasa y glucosa con Xilooligosacáridos.

5.4 Efecto de los xilooligosacáridos (XOS) sobre cambios en los niveles de expresión de genes implicados en la obesidad y la resistencia a la insulina (*INSR*, *FasN*, *PPAR γ* y *LPL*)

Para este apartado de la tesis nos enfocaremos en la expresión génica de *INSR*, *FasN*, *PPAR γ* y *LPL* antes y después de los tratamientos con y sin xilooligosacáridos.

5.4.1 Receptor de insulina (*INSR*)

En la figura 2 se evidencian los resultados de expresión génica de *INSR* para machos (2a) y hembras (2b). La dieta GHFD-post tiene una reducción significativa respecto a SD-post en machos ($p=0.0017$) y hembras ($p=0.000055$). Lo que indica que la dieta GHFD induce reducción en los niveles del receptor de insulina y por tanto esto se asocia con la hiperglicemia presentada en éste modelo, demostrando alteración en la señalización de insulina a nivel génico. Por otra parte, *INSR* tuvo su máxima expresión con el tratamiento GHFDX, el cual, en relación con los otros tres tratamientos, SD, SDX y GHFD tuvo valores altamente significativos ($p<0.000001$, $p<0.000001$, $p<0.000001$) respectivamente.

Esto podría indicar que la acción de los XOS en una dieta alta en grasa y glucosa, incrementa la expresión del gen *INSR* promoviendo la señalización de insulina. En las dietas estándar se expresó, más no fueron valores significativos los valores de expresión de *INSR*. Resultados similares fueron identificados en las hembras, donde también el tratamiento que tuvo

la mayor expresión de *INSR* fue GHFDX, en relación a SD ($p=0.00044$), SDX ($p=0.00025$) y GHFD ($p=0.00027$).

5.4.2 *Ácido Graso Sintasa (FasN)*

En la figura 2c para machos y 2d para hembras, se puede observar que la dieta con más expresión de *FasN* fue la alta en grasa y glucosa (GHFD). Comparada con los demás tratamientos SD, SDX y GHFDX los valores son altamente significativos, todos con un valor de p en común ($p<0.000001$). Los XOS tienen un efecto sobre la expresión de *FasN* reduciendo su expresión de manera considerable cuando se tiene dieta obesogénica.

5.4.3 *Receptor Gamma Activado por Proliferador de Peroxisoma (PPAR γ)*

De acuerdo con lo que se puede observar en la figura 3a para machos, se muestra la expresión de *PPAR γ* en todos los 4 tratamientos. Las diferencias significativas están al comparar GHFDX con SD ($p<0.000001$), SDX ($p<0.000001$) y GHFD ($p<0.000001$).

Teniendo una máxima expresión de *PPAR γ* tras el tratamiento con GHFDX. En cuanto a la expresión de *PPAR γ* en hembras (figura 3b), SD presentó la máxima expresión respecto a SDX ($p=0.00540$) y GHFD ($p=0.000006$). Por otra parte, *PPAR γ* también tuvo elevada expresión en el tratamiento GHFD con XOS, mostrando diferencias significativas respecto a SDX ($p=0.01021$) y GHFD ($p=0.00001$).

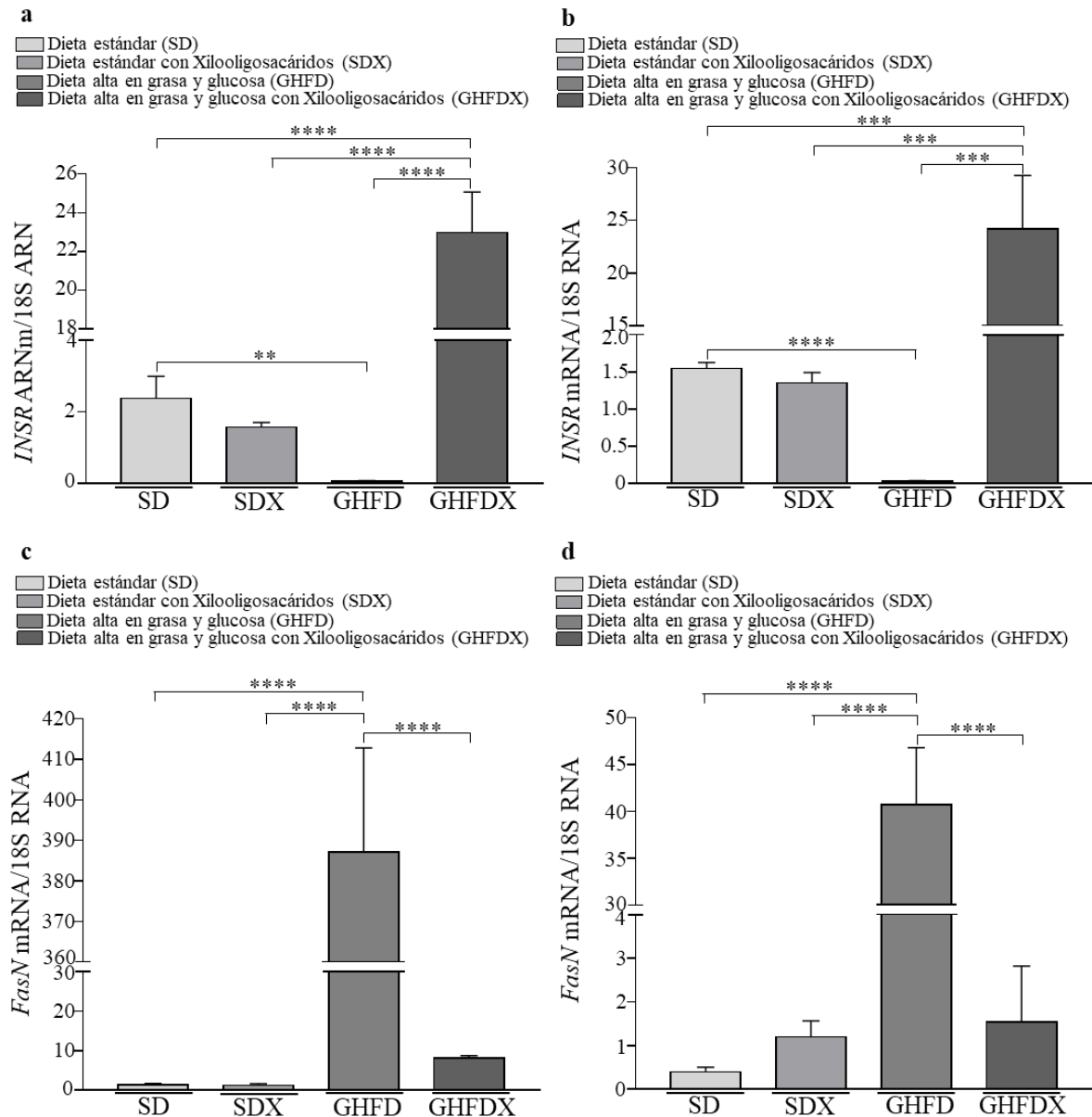
Finalmente, *PPAR γ* en SDX tuvo diferencias significativas respecto a GHFD ($p=0.00184$). Lo cual sugiere que los XOS aumentan la expresión de *PPAR γ* en una dieta alta en grasa y glucosa e incluso llega a valores similares a la dieta estándar.

5.4.4 *Lipoproteinlipasa (LPL)*

En la figura 3c para machos y 3d para hembras, se puede observar que la dieta con más expresión de *LPL* fue GHFD comparada con los demás tratamientos SD, SDX y GHFDX los valores son altamente significativos, todos con un valor de p en común ($p < 0.000001$) en ambos sexos.

Estos resultados se pueden asociar precisamente a los obtenidos en la tabla 4 de los parámetros bioquímicos, ya que, evidentemente el hecho de que tanto los niveles de glicemia como los del perfil lipídico disminuyeran post tratamiento con XOS, en ambas dietas, la obesogénica y la estándar, da a entender que tienen efecto en las rutas metabólicas de manera favorable, aumentando la expresión de los genes que ayudan en el metabolismo de las grasas y azúcares (*INSR* y *PPAR γ*) y disminuyendo la expresión de los que favorecen la acumulación de lípidos difíciles de sintetizar en el cuerpo (*FasN* y *LPL*).

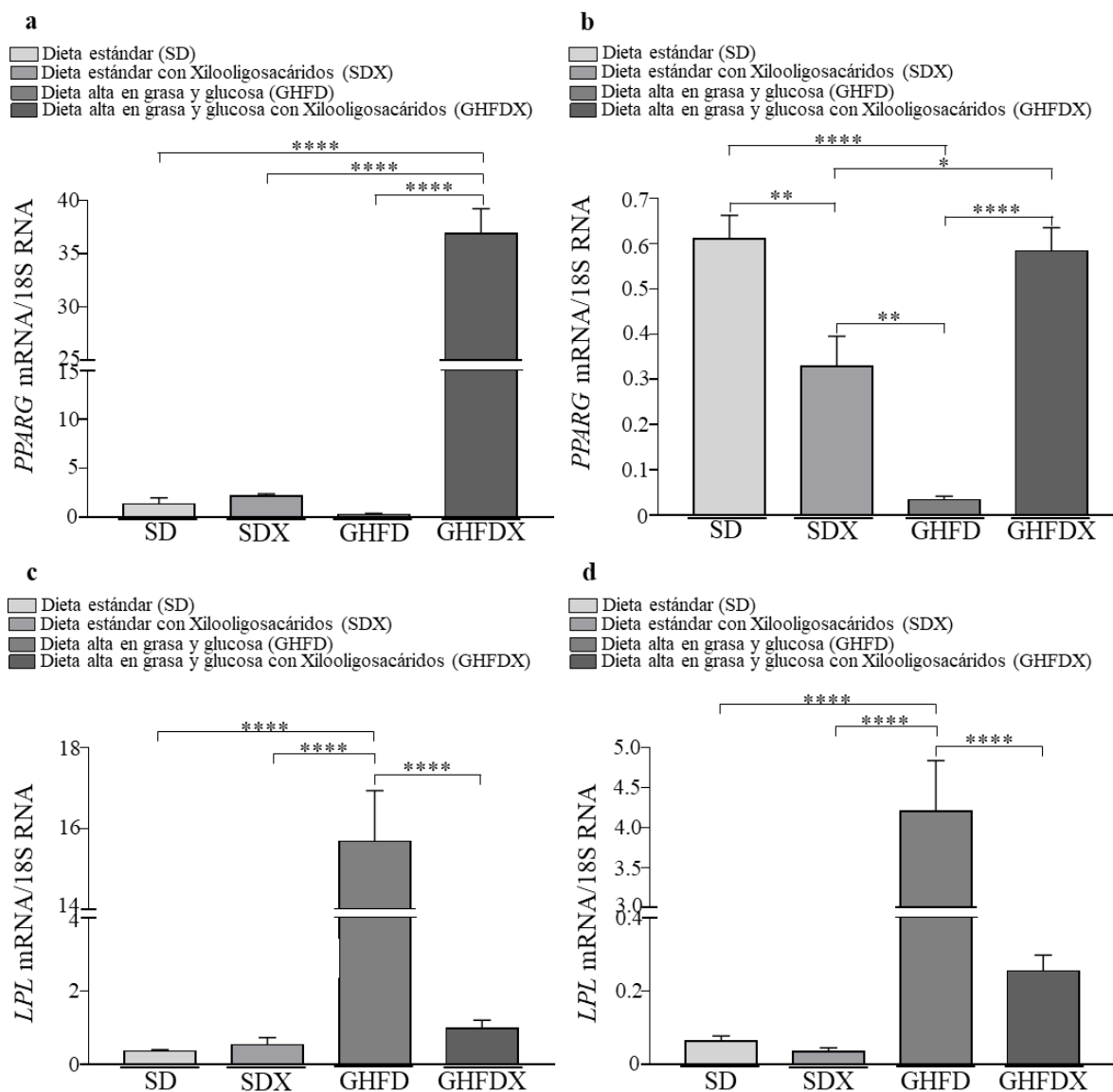
Situación completamente contraria a los dos grupos que no recibieron XOS (SD y GHFD). Ya que la expresión de *INSR* y *PPAR γ* fue increíblemente baja, en comparación con las expresiones de *FasN* y *LPL*.

Figura 2. Expresión genética de *INSR* y *FasN* en ratas Wistar

Nota: *INSR* antes (pre) y después (post) de diferentes tipos de dietas con y sin xilooligosacáridos en (a) ratas macho y (b) ratas hembra. *FasN* antes (pre) y después (post) de diferentes tipos de dietas con y sin xilooligosacáridos en (c) ratas macho y (d) ratas hembra. La dieta estándar (SD) y la dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX) fueron las dietas para los modelos normal y normal/tratamiento, respectivamente. Mientras que: la dieta alta en grasa con glucosa (GHFD) y la dieta alta en grasa con glucosa y con xilooligosacáridos (GHFDX) fueron las dietas para los

modelos diabético/obesogénico y diabético/obesogénico con tratamiento. ANOVA de un factor, $p < 0,05$, prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

Figura 3. Modificaciones en la expresión genética de *PPAR γ* y *LPL* en ratas Wistar



Nota: Modificaciones en la expresión genética de *PPAR γ* y *LPL* en ratas Wistar. *PPAR γ* antes y después de diferentes tipos de dietas con y sin xilooligosacáridos en (a) ratas macho y (b) ratas

hembra. *LPL* antes y después de diferentes tipos de dietas con y sin xilooligosacáridos en (c) ratas macho y (d) ratas hembra. La dieta estándar (SD) y la dieta estándar con xilooligosacáridos (SDX) fueron las dietas para los modelos normal y normal/tratamiento, respectivamente. Mientras que: la dieta alta en grasa con glucosa (GHFD) y la dieta alta en grasa con glucosa y con xilooligosacáridos (GHFDX) fueron las dietas para los modelos diabético/obesogénico y diabético/obesogénico con tratamiento. ANOVA de un factor, $p < 0,05$, prueba de Tukey para comparaciones múltiples. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

6 DISCUSIÓN

El síndrome metabólico es un conjunto de signos clínicos relacionados con hipertensión, obesidad y resistencia a la insulina que promueve directamente el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (Gallagher *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2020). Por su parte, la obesidad es inducida por hábitos dietéticos y estilos de vida poco saludables, principalmente por el consumo de alimentos ultraprocesados y dietas con altos contenidos de grasas saturadas, carbohidratos simples y sal en exceso (Zheng *et al.*, 2020). Por este motivo, realizar estudios metabólicos en modelos *in vivo* donde se pongan a prueba extractos naturales como posibles tratamientos para la obesidad y la diabetes tipo 2, son innovadores y bastante prometedores. Por esta razón se llevaron a cabo varios objetivos específicos derivados de uno general, en donde lo más importante era dar respuesta a la pregunta planteada: “¿Son los xilooligosacáridos provenientes de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), un tratamiento efectivo para modificar las características anatómicas, bioquímicas y genéticas, relacionadas con el desarrollo de la obesidad y resistencia a la insulina en ratas Wistar?”.

De acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla 1) se comprobó que la dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) fue la que presentó un mayor aumento tanto en el peso como en el IMC, que puede suponerse fue consecuencia del aumento en el tejido adiposo como establecimiento de la obesidad (García *et al.*, 2012) e hiperglicemia; y tanto la adiposidad total como la distribución de la grasa, influyen en el aumento acelerado del peso (Fried *et al.*, 2015). Esto se debe a que en el tejido adiposo visceral (TAV) y el tejido adiposo subcutáneo (TAS), se encuentran los preadipocitos, que tras la estimulación adecuada, van a derivar en adipocitos maduros (Esteve, 2013). En la tabla 3 se muestran los pesos de algunos órganos y tejidos, en donde se pudo ver claramente que el TAV y el TAS son los que más presentaron ganancia de peso a lo largo del tiempo, hasta acabar la dieta GHFD; pero algo importante por resaltar es que el TAV pesa menos que el TAS, y de acuerdo a lo planteado por Fried *et al.*, (2015), esta diferencia podría ser explicada debido a que los depósitos de adipocitos dentro de cada uno de los tejidos varían en su capacidad de expansión por hiperplasia o hipertrofia, lo cual, para el caso del TAV, esta se daría por hipertrofia, mientras que para el TAS se daría por hiperplasia, y es justo ahí donde se confirma el hecho de que el aumento de peso se pudo dar precisamente porque los preadipocitos procedentes del tejido subcutáneo muestran mayor capacidad de proliferación y diferenciación (Esteve, 2014), aumentando el tamaño del tejido rápidamente y por ende, el peso del animal en general.

Ese tipo de obesidad causada bien sea por la hipertrofia o por la hiperplasia de preadipocitos en los tejidos blancos, se da, según Akiyama *et al.*, (1996) y de acuerdo a muchos estudios realizados en ratas normales, cuando se les ofrece una dieta alta en grasa *ad libitum* (Hill *et al.*, 1983; Rebuffé-Scrive & DePodesta, 1955; Li *et al.*, 2022) y sugiere que los niveles altos de grasa en la dieta aumentan la ingesta de energía, el contenido de grasa corporal y la resistencia a la insulina. Esto se debe principalmente a que, los carbohidratos son uno de los nutrientes

esenciales que actúan como principal fuente de energía a corto plazo en el metabolismo, es decir que son más sencillos de metabolizar en comparación con las grasas; pero sumados a la dieta alta en grasa *ad libitum* que se le dio a las ratas, y teniendo ellas un estilo de vida sedentario, las pone en condiciones de alto consumo de energía pero baja actividad física, aumentando así la tendencia al almacenamiento de energía, al sobrepeso y finalmente a la obesidad (Pellizzon & Ricci, 2018). Lo cual se comprueba con los datos de la tabla 1 al observar el significativo aumento de peso que tuvieron las ratas del grupo que recibió la dieta GHFD.

Un resultado similar obtuvo Ghibaudi *et al.*, (2002), cuando evaluaron el efecto crónico de las grasas alimentarias con diferentes contenidos de grasa (10, 32 y 45%) sobre la adiposidad corporal y el metabolismo en ratas. Demostraron que la ingesta de energía, el aumento de peso, la grasa, la glucosa plasmática, el colesterol, los triglicéridos, los ácidos grasos libres, la leptina y los niveles de insulina aumentaban de forma dependiente de la dosis con el aumento de grasa en la dieta. Tal como lo muestra nuestra tabla 2 de resultados, en donde los niveles de glicemia, colesterol, triglicéridos y LDL post-GHFD son más altos que los valores de la dieta SD. Es decir, con esta dieta, ya se tienen ratas obesas e hiperglicémicas, ya que hay pruebas sustanciales que demuestran una fuerte asociación entre la ingesta elevada de carbohidratos y la resistencia a la insulina (Kuo, 2013; Cromwell *et al.*, 2000; Pellizzon & Ricci, 2018) y con esto, los investigadores afirman que este método de combinar un alto nivel carbohidratos con un alto nivel de grasas en los modelos animales, imita mejor el estado de la enfermedad en los seres humanos para inducir el daño metabólico (Almeida-Suhett *et al.*, 2019; Rutten & Groot, 1992; Dalby *et al.*, 2017; Pellizzon & Ricci, 2018).

Este resultado también puede ser respaldado con lo visto en la figura 3c y 3d, en donde, efectivamente la condición alta en grasa y glucosa (GHFD) para machos y hembras no presentó

una expresión significativa de *PPAR γ* , cuando ya se ha demostrado que *PPAR γ* es necesario para la diferenciación de los adipocitos y también para el mantenimiento de la diferenciación. Cuando se silencia *PPAR γ* , se induce a pérdida de lípidos y disminución de la expresión de los marcadores de adipocitos maduros (Rosen & McDouglad, 2006; Esteve, 2013). En pocas palabras, se requiere *PPAR γ* para la adipogénesis (Zuo *et al.*, 2006; Esteve, 2013). Mientras que el gen que sí estaba sobreexpresado fue el *LPL*, este a pesar de que desempeña un papel fundamental en la hidrolización de los enlaces éster de las moléculas insolubles en agua, como los triglicéridos, el colesterol y los fosfolípidos; estos ácidos grasos se utilizan para la producción de energía en los tejidos periféricos, como el músculo, y se reesterifican y almacenan en el tejido adiposo; pero, si no hay un gasto energético, lo que harán estos ácidos grasos será acumularse ya que *LPL* continuará catalizando la descomposición de triglicéridos presentes en lipoproteínas como los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), afectando el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y en sí, a la homeostasis de los lípidos a través de diversos mecanismos metabólicos y de transporte (Lewis & Rader, 2005; Tang *et al.*, 2010; Merkel *et al.*, 2002; Al-Shammari *et al.*, 2022).

Y de igual forma, en la figura 3a y 3b, la baja expresión de *INSR* se ve asociada a alteración de la señalización de insulina y a la alta expresión de *LPL*, ya que la insulina es fundamental para controlar los niveles plasmáticos de ácidos grasos no esterificados (NEFA), razón por la cuál, la supresión de la lipólisis es una función fisiológica muy importante de la insulina, ya que esta es la hormona antilipolítica más potente (Petersen & Shulman, 2018). Entonces claramente la baja expresión de *INSR* y la alta de *LPL* indican que muy posiblemente la lipólisis de triglicéridos en los adipocitos no podrá ser controlada debido a que la insulina se ve notablemente afectada en individuos con obesidad desarrollada, aumentando los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres

(FFA) y glicerol y perjudicando la acción de la insulina tanto en el hígado como en el músculo (Atzmon *et al.*, 2002), llevando de esta forma a que el hígado también sufra daño hepático, ya que según Miquilena y García (2009), el grado de obesidad influye en la acumulación de grasa en el hígado y algunos estudios epidemiológicos han indicado que el aumento de las concentraciones séricas de las enzimas hepáticas, es un indicador sensible de esteatosis hepática (Bellentani *et al.*, 2000; Omagari *et al.*, 2002). Lo anterior se evidencia con la tabla 3, en donde el peso del hígado, tanto en machos como en hembras, es mayor para la dieta GHFD en comparación con el peso de la SD.

Ahora bien, continuando con la expresión génica, también la figura 2 nos muestra en 2c y 2d la alta expresión en machos y hembras de *FasN*. Como enzima central en la lipogénesis, el gen que codifica la sintasa de ácidos grasos fue identificado como candidato para determinar la grasa corporal y se encuentra vinculado a las alteraciones metabólicas de la ingesta excesiva de energía, incluyendo la hiperinsulinemia, la dislipidemia y la alteración del perfil de adipocinas en con el aumento de la masa de la grasa corporal (Berndt *et al.*, 2007). La sobreexpresión de *FasN* en el tejido adiposo está relacionada con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (Berndt, 2007; Wang *et al.*, 2022).

Todos estos resultados están estrechamente relacionados, tanto el peso corporal, el IMC, como los resultados de los parámetros bioquímicos, los pesos de los órganos y tejidos y las expresiones génicas, brindando evidencia clara del estado de obesidad e hiperglicemia (posible, más no comprobada insulinoresistencia) de las ratas en el modelo GHFD.

Ahora bien, ya comprobados los efectos de la dieta alta en grasa y glucosa en el metabolismo y cómo influye en el aumento de peso, en comparación con la dieta estándar; daremos

entrada a las otras dos dietas, pero estas con tratamiento de XOS. Se conoce que los materiales de lignocelulosa, como lo es el bagazo, son usados para generar electricidad en la industria del azúcar y etanol para procesos energéticos (Carvalho *et al.*, 2020). Pero estos residuos no son completamente utilizados y la principal limitación de estos materiales son los fuertes enlaces químicos entre la celulosa, lignina y arabinoxilano en la célula vegetal, dificultando la hidrólisis. Por eso la búsqueda de un pretratamiento químico y enzimático es necesario para romper estos enlaces, volviéndose monosacáridos, como, por ejemplo, glucosa y xilosa; y oligosacáridos, como los xilooligosacáridos. Estos XOS no son degradados por el estómago, llegando intactos al intestino y esto le proporciona al organismo beneficios como la protección contra enfermedades cardiovasculares, la reducción del cáncer de colón debido a la formación de ácidos grasos de cadena corta, entre otros (Carvalho *et al.*, 2020).

Sabiendo esto, la idea es comparar los resultados que se obtuvieron de las dietas con XOS, buscando la forma de explicar qué efecto pudieron tener estos XOS en el metabolismo glicémico y lipídico de las ratas. Y para esto discutimos los resultados obtenidos en la figura 1, en donde 1a y 1b hacen referencia al peso pre y post tratamiento para cada una de las cuatro condiciones en machos y hembras, respectivamente; y la 1c y 1d es igual que la anterior solo que no con la medida del peso sino la del índice de masa corporal (IMC).

Estos resultados mostraron que aquellas dietas en las que se añadieron los XOS disminuyeron en peso y en IMC. Li *et al.*, (2022) en su estudio con ratones, plantea que los xilooligosacáridos pueden ayudar a atenuar trastornos metabólicos previniendo la obesidad inducida por una dieta alta en grasas, modulando la microbiota intestinal en el ciego y posteriormente ayudando a disminuir la acumulación de grasa. Estos resultados también los obtuvo Li *et al.*, 2015 y Finegold *et al.*, 2014, en sus estudios con humanos, en donde demostraron que

los XOS aumentaban los recuentos de *Bifidobacterium in vivo*, sugiriendo que la suplementación de una dieta con XOS, puede ser útil en el tratamiento de la obesidad.

En el estudio de Long *et al.*, 2019, también realizado en ratones demostraron que, además de una disminución de la masa de la grasa, se dio una disminución significativa de la leptina circulante en aquellos ratones que recibieron una dosis alta de XOS (7%) en comparación con los alimentados con carbohidratos refinados y concentración baja de fibra soluble. Con estos resultados se puede sugerir que la disminución del peso post tratamiento con XOS se dio por la mejora en la microbiota intestinal, ya que, es bien sabido que los XOS poseen un alto potencial prebiótico. En este estudio no se realizó análisis de la microbiota, pero queda como una potencial oportunidad de realizarlo para corroborar lo descrito en numerosos artículos sobre este tema. Lo cual, de primera mano, comparando estos resultados con los obtenidos de solo las dietas en la primera parte, ya se nota la acción de los xilooligosacáridos como posibles moléculas útiles en el tratamiento de la obesidad e hiperglicemia.

Continuando con el análisis de los resultados, la tabla 3 muestra los pesos de los órganos extraídos de cada una de las ratas, pero estos resultados, en realidad, están estrechamente relacionados con los de la tabla 4, los resultados (pre-dieta/tratamiento con el post-dieta/tratamiento) de la concentración de cada uno de los parámetros bioquímicos allí evaluados. Ya anteriormente se explicó cómo una dieta alta en grasa y glucosa, afecta el metabolismo con los altos niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL y bajos niveles de HDL; ya que a partir de la obesidad es de donde se desencadenan los problemas de hiperglicemia, insulinoresistencia, diabetes tipo 2, etc., y los pesos de los tejidos TAV y TAS son grandes indicadores de que efectivamente existe daño, ya que en condiciones fisiológicas normales, la homeostasis lipídica requiere de la existencia de interacciones metabólicas coordinadas entre el hígado, el músculo y el

tejido adiposo en general, ejercidas en gran medida por la acción reguladora de la insulina secretada por el páncreas; y el hígado, dado su importante papel en el metabolismo de los lípidos, no debe verse afectado por la acción de los genes que lo podrían perjudicar si se llegasen a sobre expresar más de lo normal, como es el caso de *FasN* y *LPL*. Ya anteriormente se demostró con la figura 2 y 3, que cuando había daño metabólico inducido por obesidad e hiperglicemia, la expresión de los genes *FasN* y *LPL* aumentaba, mientras que la de *INSR* y *PPAR γ* disminuía. Ahora con la acción de los XOS en la dieta, se puede ver claramente un cambio en esas expresiones, ya que contrario a la GHFD sin XOS, ahora la expresión de *FasN* y *LPL* disminuyen, mientras que la de *INSR* y *PPAR γ* aumentan.

Esto se puede respaldar con el estudio realizado por Li *et al.*, 2022, en donde demostraron que los XOS poseen una variedad de actividades fisiológicas, incluida la actividad anti obesidad (Li *et al.*, 2015; Kamphus *et al.*, 2019). Esto puede deberse a que suplementar los alimentos con XOS, disminuyó la acumulación de grasa al suprimir la expresión de los genes relacionados con la adipogénesis, alterando principalmente la microbiota intestinal (Wolnerhanssen *et al.*, 2019; Verhoef *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2022). Y básicamente, eso fue lo que se demostró, ya que las dietas que recibieron tratamiento con XOS, en todos los resultados obtenidos, desde el peso, hasta las expresiones de los genes, tuvieron un cambio evidente. El peso en la dieta GHFD con XOS disminuyó, al igual que el IMC. En los parámetros bioquímicos redujo notablemente el contenido de lípidos en suero y mejoró la tolerancia a la glucosa, esto debido a que la sacarosa puede ser fácilmente absorbida en el tracto intestinal lo que resulta en la mayoría de los resultados post-GHFD vistos en la tabla 4. En cuanto al peso de los tejidos adiposos blancos (TAV y TAS) disminuyeron en peso, mientras que el tejido marrón, aumentó; lo cual es bastante favorable, ya que el tejido adiposo marrón tiene la función fisiológica de metabolizar los ácidos grasos disipando

la energía en forma de calor. Y esta función específica del TAM está sustentada por la elevada proporción en sus mitocondrias que permiten acoplar la cadena respiratoria a la ATP sintetasa, permitiendo de esta forma la producción de calor. Cuando los tejidos blancos y el tejido marrón se encuentran en equilibrio, contribuyen al balance energético del organismo (Esteve, 2013). Vimos que el hígado en la GHFD aumentó considerablemente su tamaño (tabla 3) porque la lesión hepática es el principal factor relacionado con la obesidad (Polyzos *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2022); luego de suministrado el tratamiento con XOS, el hígado en ambos grupos (machos y hembras) disminuyó en peso. Este resultado se corrobora con el que tuvo Hong *et al.*, (2017). Ellos informaron que el hígado en roedores obesos mostraba acumulación de numerosas gotas de grasa en comparación con el grupo normal, causando como consecuencia esteatosis hepática, mientras que los que suplementaron con XOS mostraron en sus análisis un efecto hepatoprotector significativo (Li *et al.*, 2022).

En la expresión génica, aumentó los niveles de expresión de *INSR* y *PPAR γ* , mientras que los de *FasN* y *LPL* disminuyeron. Se ha informado que la suplementación dietética con XOS, reduce la expresión de los genes implicados en la adipogénesis y la síntesis de ácidos grasos (Li *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022). Por lo tanto, estos cambios en la expresión génica podrían ser responsables de la reducción observada en los pesos de los tejidos adiposos y del cuerpo, y de la recuperación de la lesión hepática (Li *et al.*, 2022).

Cabe resaltar que, contrastando principalmente los resultados del perfil lipídico de las hembras (Triglicéridos y LDL) junto con la expresión génica de *PPAR γ* con el de los machos, hubo diferencia en el comportamiento de los resultados muy evidentes, lo cual se podría pensar que estas variaciones se deben según Heine *et al.*, (2000) al receptor de estrógeno- α (ER α). Aunque el mecanismo por el cual es estrógeno regula los tejidos adiposos blancos aún no están claros, los

efectos de este en la síntesis de lípidos pueden estar implicados, muy probablemente debido a las variaciones a lo largo del ciclo estral en las ratas hembra.

Finalmente, esta investigación no sólo proporciona resultados favorables acerca de la posibilidad de complementar una dieta bien sea alta en grasas y glucosa, o una dieta normal y equilibrada en nutrientes con los XOS, mejorando la regulación de la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los lípidos; sino que también abre puertas a más investigaciones sobre el efecto de este oligosacárido sobre la salud metabólica.

7 CONCLUSIONES

Se estableció que la dieta alta en grasa y glucosa (GHFD) en ratas Wistar machos y hembras, presentó el modelo esperado de obesidad, aumentando los valores de las características anatómicas relacionadas al peso, al IMC, a los órganos y tejidos extraídos, junto con los parámetros bioquímicos de glicemia, colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y LDL, y disminuyendo las expresiones de los genes *INSR*, *PPAR γ* , así como aumentando las de los genes *FasN* y *LPL*.

En machos, la SDX no presentó cambios significativos en comparación con la SD para ninguno de los parámetros evaluados (anatómicos, bioquímicos y genéticos), contrario a lo obtenido en hembras, donde se evidenciaron diferencias significativas en el peso, el TAM, en el músculo esquelético e hígado y en la expresión de *PPAR γ* ; sugiriendo que en una dieta equilibrada en grasas y carbohidratos (dieta estándar), la acción de los XOS inducen cambios significativos en las hembras mientras que en los machos se conservan parámetros normales.

La acción de los XOS en machos y hembras se hizo evidente en la dieta GHFDX, disminuyendo de manera considerable la gran mayoría de parámetros evaluados, en comparación con lo obtenido en la dieta GHFD sin XOS; indicando que los XOS extraídos de la caña de azúcar sirven como posible tratamiento para contrarrestar el estado de obesidad e hiperglicemia.

Finalmente, esta investigación no sólo proporciona resultados favorables acerca de la posibilidad de complementar una dieta bien sea alta en grasas y glucosa, o una dieta normal y equilibrada en nutrientes con los XOS, mejorando la regulación de la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de los lípidos y proteínas; sino que también abre puertas a más investigaciones sobre el efecto de este oligosacáridos sobre la salud metabólica.

8 RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar una segunda fase en dónde se evalúe el efecto de los XOS provenientes de *Saccharum officinarum* sobre el microbioma en modelo animal.

Realizar estudios histológicos que permitan realizar una mayor aproximación sobre los daños en páncreas e hígado inducidos por dieta y la reversión de daño tras tratamiento con XOS.

Incluir en próximas caracterizaciones del modelo de obesidad evaluación de otros parámetros bioquímicos como hemoglobina glicosilada e Insulina.

Realizar aproximaciones de dietas y su efecto metabólico empleando sólo ratas machos debido al efecto que se presenta en las ratas hembras influido por factores hormonales.

Considerar una fase de estudio clínico para evaluar el efecto de los XOS en personas sanas y sujetos obesos con/sin insulino resistencia.

REFERENCIAS

Aachary, A. A., & Prapulla, S. G. (2009). *Value addition to corncob: Production and characterization of xylo-oligosaccharides from alkali pretreated lignin-saccharide complex using Aspergillus oryzae MTCC 5154*. *Bioresource Technology*, 100, 991–995.

Acosta García, Edgar & Carías, Diamela & Valery, María & Naddaf, Gloria & Dominguez, Zury. (2012). *Exceso de peso, resistencia a la insulina y dislipidemia en adolescentes*. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 46. 365-73.

Agrupis, S. C., & Maekawa, E. (1999). *Industrial utilization of tobacco stalks (1) preliminary evaluation for biomass resources*. *Holzforsch*, 53, 29–32. <https://doi.org/10.1515/HF.1999.005>.

Akiyama, T., Tachibana, I., Shirohara, H., Watanabe, N., & Otsuki, M. (1996). *High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat*. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 31(1-3), 27–35. doi:10.1016/0168-8227(96)01205-3.

Alegría Ezquerro, E., Castellano Vázquez, J. M., & Alegría Barrero, A. (2008). *Obesidad, síndrome metabólico y diabetes: implicaciones cardiovasculares y actuación terapéutica*. *Revista Española de Cardiología*, 61(7), 752–764. doi:10.1157/13123996.

Almeida-Suhett, C.P., Scott, J.M., Graham, A., Chen, Y., Deuster, P.A. (2019). *Control diet in a high-fat diet study in mice: Regular chow and purified low-fat diet have similar effects on phenotypic, metabolic, and behavioral outcomes*. Nutr Neurosci. Jan;22(1):19-28. doi: 10.1080/1028415X.2017.1349359. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28721750.

Al-Shammari, R.T., Al-Serri, A.E., Barhoush, S.A., Al-Bustan, S.A. (2022). *Identification and Characterization of Variants in Intron 6 of the LPL Gene Locus among a Sample of the Kuwaiti Population*. Genes; 13(4):664. <https://doi.org/10.3390/genes13040664>.

Atzmon, G., Yang, X.M., Muzumdar, R., Ma, X.H., Gabriely, I., Barzilai, N. (2002). *Differential gene expression between visceral and subcutaneous fat depots*. Horm Metab Res. Nov-Dec;34(11-12):622-8. doi: 10.1055/s-2002-38250. PMID: 12660871.

Ávila, P. F., Paulo, J., Cairo, L. F., Damasio, A., Forte, M. B. S., & Goldbeck, R. (2020). *Xylooligosaccharides production from a sugarcane biomass mixture: Effects of commercial enzyme combinations on bagasse / straw hydrolysis pretreated using different strategies*. Food Research International, 128, 108702. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108702>.

Banerji, M. A., Lebowitz, J., Chaiken, R.L., Gordon, D, Kral, J. G., Lebovitz, H. E. (1997). *Relationship of Visceral Adipose Tissue and Glucose Disposal is Independent of Sex in Black NIDDM Subjects*. Am J Physiol, 273, E425-E432. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1997.273.2.E425>.

Bellentani, S., Saccoccio, G., Masutti, F., Crocè, L.S., Brandi, G., Sasso, F., Cristanini, G., Tiribelli, C. (2000). *Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy*. *Ann Intern Med.* Jan 18;132(2):112-7. doi: 10.7326/0003-4819-132-2-200001180-00004. PMID: 10644271.

Berndt, J., Kovacs, P., Ruschke, K., Klötting, N., Fasshauer, M., Schön, M. R., Körner, A., Stumvoll, M., Blüher, M. (2007). *Fatty acid synthase gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes*. *Diabetología*, 50, 1472-1480. DOI 10.1007/s00125-007-0689-x.

Burnett, J.R.; Hooper, A.J.; Hegele, R.A. (2017). *Familial Lipoprotein Lipase Deficiency*. In *Gene Reviews®*; Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Eds.; University of Washington: Seattle, WA, USA; pp. 1993–2021. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1308>.

Brun, R. P., Tontonoz, P., Forman, B. M., Ellis, R., Chen, J., Evans, R. M., Spiegelman, B. M. (1996). *Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms*. *Genes & Dev.* 10, 974–984.

Carvalho, A. F. A., Neto, P. de O., da Silva, D. F., & Pastore, G. M. (2013). *Xylooligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis*. *Food Research International*, 51(1), 75–85. doi:10.1016/j.foodres.2012.11.021.

Choque Delgado, G. T., Tamashiro, W. M. S. C., Junior, M. R. M., Moreno, Y. M. F., & Pastore, G. M. (2011). *The putative effects of prebiotics as immunomodulatory agents*. Food Research International, 40, 3167–3173.

Cromwell, G.L., Cline, T.R., Crenshaw, J.D., Crenshaw, T.D., Easter, R.A., Ewan, R.C., Hamilton, C.R., Hill, G.M., Lewis, A.J., Mahan, D.C., Nelssen, J.L., Pettigrew, J.E., Veum, T.L., Yen, J.T. (2000). *Variability among sources and laboratories in analyses of wheat middlings*. NCR-42 Committee on Swine Nutrition. J Anim Sci. Oct;78(10):2652-8. doi: 10.2527/2000.78102652x. PMID: 11048931.

Dalby, M.J., Ross, A.W., Walker, A.W., Morgan, P.J. (2017). *Dietary Uncoupling of Gut Microbiota and Energy Harvesting from Obesity and Glucose Tolerance in Mice*. Cell Rep. Nov 7;21(6):1521-1533. doi: 10.1016/j.celrep.2017.10.056. PMID: 29117558; PMCID: PMC5695904.

Damásio, A. R. L., Braga, C. M. P., Brenelli, L. V., Citadini, A. P., Mandelli, F., Cota, J., Squina, F. M. (2013). *Biomass-to-bio-products application of feruloyl esterase from Aspergillus clavatus*. Applied Microbiology and Biotechnology, 97, 6759–6767. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4548-4>.

Diraison, F., Dusserre, E., Vidal, H., Sothier, M., Beylot, M. (2002). *Increased hepatic lipogenesis but decreased expression of lipogenic gene in adipose tissue in human obesity*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 282, 46–51. DOI: 10.1152/ajpendo.2002.282.1.E46.

Drenick, E. J., Bale, G. S., and Seltzer, F. (1980). *Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men*. J. Am. Med. Assoc, 243, 443–445. doi: 10.1001/jama.1980.03300310031018.

Du, F., Virtue, A., Wang, H. et al. (2013). *Metabolomic analyses for atherosclerosis, diabetes, and obesity*. Biomark Res 1, 17. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-1-17>.

Esteve Ràfols, M. (2014). *Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional*. *Endocrinología y Nutrición*, 61(2), 100–112. doi:10.1016/j.endonu.2013.03.011.

Finegold, S.M., Li, Z., Summanen, P.H., Downes, J., Thames, G., Corbett, K., Dowd S., Krak, M., Heber, D. (2014). *Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota*. Food Funct. Mar;5(3):436-45. doi: 10.1039/c3fo60348b. PMID: 24513849.

Flier, J.S. (1995). *The adipocyte: storage depot or node on the energy information superhighway*. Cell, 80, 15–18. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90445-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90445-x).

Fried, S.K., Lee, M.J., Karastergiou, K. (2015). *Shaping fat distribution: New insights into the molecular determinants of depot- and sex-dependent adipose biology*. Obesity (Silver Spring). Jul;23(7):1345-52. doi: 10.1002/oby.21133. Epub 2015 Jun 7. PMID: 26054752; PMCID: PMC4687449.

Fundación Red de Grupos de estudio de la Diabetes en atención Primaria de la Salud (redGDPS). (2017). *Fisiopatología de la Insulina..*
<https://www.youtube.com/watch?v=XRqtYTCmfB8>.

Gallagher, E.J., Leroith, D., Karnieli, E., (2011). *The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes.* Med Clin North Am 95(5), 855-873.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.06.001>.

García-García, E., De la Llata Romero, M., Kaufer Horwitz, M., Tusié Luna, M. T., Calzada León, R., Vázquez Velázquez, V., Barquera Cervera, S., Caballero Romo, A. J., Orozco, L., Velásquez Fernández, D., Rosas Peralta, M., Barriguete Meléndez, A., Zacarías Castillo, R., Sotelo Morales, J. (2008). *La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión.* Arch Cardiol Mex, 78, 318-337.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/acm/v78n3/v78n3a12.pdf>.

Ghibaudi, L., Cook, J., Farley, C., van Heek, M., Hwa, J.J. (2002). *Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats.* Obes Res. Sep;10(9):956-63. doi: 10.1038/oby.2002.130. PMID: 12226145.

Goldberg I.J., Eckel R.H., Abumrad N.A. (2009). *Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways.* J Lipid Res. Apr;50 Suppl(Suppl):S86-90. doi: 10.1194/jlr.R800085-JLR200. Epub 2008 Nov 24. PMID: 19033209; PMCID: PMC2674753.

Gonçalves, T. A., Damásio, A. R. L., Segato, F., Alvarez, T. M., Bragatto, J., Brenelli, L. B., Squina, F. M. (2012). *Functional characterization and synergic action of fungal xylanase and arabinofuranosidase for production of xylooligosaccharides*. *Bioresource Technology*, 119, 293–299. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.062>.

Grootaert, C., Delcour, J. A., Courtin, C. M., Broekaert, W. F., Verstraete, W., & Wiele, T. V. (2007). *Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine*. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.08.004>.

Heine, P. A., Taylor, J. A., Iwamoto, G. A., Lubahn, D. B., & Cooke, P. S. (2000). *Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(23), 12729–12734. doi:10.1073/pnas.97.23.12729.

Hill, J. O., Fried, S. K., & DiGirolamo, M. (1983). *Effects of a high-fat diet on energy intake and expenditure in rats*. *Life Sciences*, 33(2), 141–149. doi:10.1016/0024-3205(83)90406-x.

Hong S.J., Lee J.H., Kim E.J., Yang H.J., Park J.S., Hong S.K. (2017). *Anti-Obesity and Anti-Diabetic Effect of Neoagarooligosaccharides on High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice*. *Mar Drugs*. Mar 23;15(4):90. doi: 10.3390/md15040090. PMID: 28333098; PMCID: PMC5408236.

Hu, E., Tontonoz, P., Spiegelman, B. M. (1995). *Transdifferentiation of myoblasts by the adipogenic transcription factors PPAR γ and C/EBP α* . Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92, 9856–9860.

Kamphuis, J.B.J., Guiard, B., Leveque, M., Olier, M., Jouanin, I., Yvon, S., Tondereau, V., Rivière, P., Guéraud, F., Chevolleau, S., Noguer-Meireles, M.H., Martin, J.F., Debrauwer, L., Eutamène, H., Theodorou, V. (2019). *Lactose and Fructo-oligosaccharides Increase Visceral Sensitivity in Mice via Glycation Processes, Increasing Mast Cell Density in Colonic Mucosa*. Gastroenterology. 2020 Feb;158(3):652-663.e6. doi: 10.1053/j.gastro.2019.10.037. Epub Nov 9. PMID: 31711923.

Janssen, I., Katzmarzyk, P. T., & Ross, R. (2004). *Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk*. The American Journal of Clinical Nutrition, 79(3), 379–384. doi:10.1093/ajcn/79.3.379.

Jayapal, N., Samanta, A. K., Kolte, A. P., Senani, M. S., Sridhar, M., Suresh, K. P., & Sampath, K. T. (2013). *Industrial Crops and Products*, 42, 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.019>.

Kirchgessner T.G., LeBoeuf R.C., Langner C.A., Zollman S., Chang C.H., Taylor B.A., Schotz M.C., Gordon J.I., Lusis A.J. (1989). *Genetic and developmental regulation of the lipoprotein lipase gene: loci both distal and proximal to the lipoprotein lipase structural gene control enzyme expression*. J Biol Chem. Jan 25;264(3):1473-82. PMID: 2563260.

Klos, K.L.; Kullo, I.J. (2007). *Genetic Determinants of HDL: Monogenic Disorders and Contributions to Variation*. *Curr. Opin. Cardiol.*, 22, 344–351.

Kumar, M. V., Shimokawa, T., Nagy, T. R., Lane, M. D. (2002). *Differential effects of a centrally acting fatty acid synthase inhibitor in lean and obese mice*. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 1921–1925. <https://doi.org/10.1073/pnas.042683699>.

Kuo, S.-M. (2013). *The Interplay Between Fiber and the Intestinal Microbiome in the Inflammatory Response*. *Advances in Nutrition*, 4(1), 16–28. doi:10.3945/an.112.003046.

Leibel, R. L., Edens, N. K., & Fried, S. K. (1989). *Physiologic Basis for the Control of Body Fat Distribution in Humans*. *Annual Review of Nutrition*, 9(1), 417–443. doi:10.1146/annurev.nu.09.070189.002221.

Letexier, D., Pinteur, C., Large, V., Frering, V., Beylot, M. (2003). *Comparison of the expression and activity of the lipogenic pathway in human and rat adipose tissue*. *J Lipid Res*, 44, 2127–2134. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300235-JLR200>.

Lewis, G.F., Rader, D.J. (2005). *New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport*. *Circ Res*. Jun 24;96(12):1221-32. doi: 10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c. PMID: 15976321.

Li, Z., Summanen, P. H., Komoriya, T., & Finegold, S. M. (2015). *In vitro* study of the prebiotic xylooligosaccharide (XOS) on the growth of *Bifidobacterium* spp and *Lactobacillus* spp. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(8), 919–922. doi:10.3109/09637486.2015.1064869.

Lin, F. T., Lane, M. D. (1994). CCAAT/enhancer binding protein alpha is sufficient to initiate the 3T3-L1 adipocyte differentiation program. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 8757–8761. doi: 10.1073/pnas.91.19.8757.

Loftus, T. M., Jaworsky, D. E., Frehywot, G. L. et al. (2000). *Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors*. *Science*, 288, 2379–2381. DOI:10.1126/science.288.5475.2379.

Long, J., Yang, J., Henning, S. M., Woo, S. L., Hsu, M., Chan, B., ... Li, Z. (2019). *Xylooligosaccharide supplementation decreases visceral fat accumulation and modulates cecum microbiome in mice*. *Journal of Functional Foods*, 52, 138–146. doi:10.1016/j.jff.2018.10.035

MacDougald, O. A., Lane, M. D. (1995). *Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation*. *Annu. Rev. Biochem.* 64:345–373. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.002021.

Macotela, Y., Emanuelli, B., Mori, M.A., Gesta, S., Schulz, T.J., Tseng, Y.H., Kahn, C.R. (2012). *Intrinsic differences in adipocyte precursor cells from different white fat depots*. *Diabetes*.

Jul;61(7):1691-9. doi: 10.2337/db11-1753. Epub 2012 May 17. PMID: 22596050; PMCID: PMC3379665.

Mobbs, C. V., Makimura, H. (2002) *Block the FAS, lose the fat*. Nat Med, 8, 335– 336. DOI:10.1038/nm0402-335.

Merkel, M., Eckel, R.H., Goldberg, I.J. (2002). *Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation*. J Lipid Res. Dec;43(12):1997-2006. doi: 10.1194/jlr.r200015-jlr200. PMID: 12454259.

Nabarlatz, D., Ebringerová, A., & Montané, D. (2007). *Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylooligosaccharides*. Carbohydrate Polymers, 69, 20–28.

Omagari, K., Kadokawa, Y., Masuda, J., Egawa, I., Sawa, T., Hazama, H., Ohba, K., Isomoto, H., Mizuta, Y., Hayashida, K., Murase, K., Kadota, T., Murata, I., Kohno, S. (2002). *Fatty liver in non-alcoholic non-overweight Japanese adults: incidence and clinical characteristics*. J Gastroenterol Hepatol. Oct;17(10):1098-105. doi: 10.1046/j.1440-1746.2002.02846.x. PMID: 12201871.

Pajuelo, J., Bernui, I., Nolberto, V., Peña, A., Zevillanos, L. (2007). *Síndrome metabólico en adolescentes con sobrepeso y obesidad*. An Fac Med Lima, 68, 143-149. <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v68n2/a06v68n2.pdf>.

Pellizzon, M.A., Ricci, M.R. (2018). *The common use of improper control diets in diet-induced metabolic disease research confounds data interpretation: the fiber factor*. *Nutr Metab (Lond)* 15, 3. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0243-5>.

Petersen, M.C., Shulman, G.I. (2018). *Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance*. *Physiol Rev*. Oct 1;98(4):2133-2223. doi: 10.1152/physrev.00063.2017. PMID: 30067154; PMCID: PMC6170977.

Polyzos, S.A., Kountouras, J., Mantzoros, C.S. (2016). *Adipose tissue, obesity and non-alcoholic fatty liver disease*. *Minerva Endocrinol*. 2017 Jun;42(2):92-108. doi: 10.23736/S0391-1977.16.02563-3. Epub Oct 6. PMID: 27711029.

Rebuffé-Scrive, M., & DePodesta, C. (1995). *Effect of dexfenfluramine on fat mass distribution in a high-fat rat model*. *Metabolism*, 44, 28–32. doi:10.1016/0026-0495(95)90206-6.

Rivero-Urgell, M., & Santamaria-Orleans, A. (2001). *Oligosaccharides: Application in infant food*. *Early Human Development*, 65, S43–S52.

Rodolfo Lahsen, M. (2014). *Síndrome metabólico y diabetes*. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 25(1), 47–52. doi:10.1016/s0716-8640(14)70010-0.

Rosen, E.D., MacDougald, O.A. (2006). *Adipocyte differentiation from the inside out*. *Nat Rev Mol Cell Biol*. Dec;7(12):885-96. doi: 10.1038/nrm2066. PMID: 17139329.

Ros Pérez, M., & Medina-Gómez, G. (2011). *Obesidad, adipogénesis y resistencia a la insulina*. *Endocrinología y Nutrición*, 58(7), 360–369. doi:10.1016/j.endonu.2011.05.008.

Rutten, A.A., de Groot, A.P. (1992). *Comparison of cereal-based diet with purified diet by short-term feeding studies in rats, mice and hamsters, with emphasis on toxicity characteristics*. *Food Chem Toxicol*. Jul;30(7):601-10. doi: 10.1016/0278-6915(92)90194-p. PMID: 1521834.

Schneider, J.; Kreuzer, J.; Hamann, A.; Nawroth, P.P.; Dugi, K.A. (2002). *The Proline 12 Alanine Substitution in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma2 Gene Is Associated with Lower Lipoprotein Lipase Activity In Vivo*. *Diabetes*, 51, 867–870.

Sears, I., M. MacGinnitie, L. Kovacs, and R. Graves. (1996). *Differentiation dependent expression of brown adipocyte uncoupling protein gene: regulation by peroxisome proliferator activated receptor gamma*. *Mol. Cell. Biol.* 16, 3410–3419. <https://doi.org/10.1128/mcb.16.7.3410>.

Semenkovich, C. F., Coleman, T., Fiedorek, F. T. Jr. (1995). *Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping, and kinetics of decay after glucose deprivation*. *J Lipid Res* 36:1507–1521. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)39738-8](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)39738-8).

Shimokawa, T., Kumar, M. V., Lane, M.D. (2002). *Effect of a fatty acid synthase inhibitor on food intake and expression of hypothalamic neuropeptides*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 66–71. DOI: 10.1073/pnas.012606199.

Tang, W., Apostol, G., Schreiner, P.J., Jacobs, D.R. Jr., Boerwinkle, E., Fornage, M. (2010). *Associations of lipoprotein lipase gene polymorphisms with longitudinal plasma lipid trends in young adults: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study*. *Circ Cardiovasc Genet*. Apr;3(2):179-86. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.109.913426. Epub 2010 Feb 11. PMID: 20150529; PMCID: PMC3004750.

Tao, Li, T. Li, Lihan, Xu, L. Xu, Qiaojuan, Yan, Q. Yan, Jun Liu, J. Liu, & Zhengqiang Jiang, Z. Jiang. (2022). *Sucrose-free hawthorn leathers formulated with fructooligosaccharides and xylooligosaccharides ameliorate high-fat diet induced inflammation, glucose and lipid metabolism in liver of mice*. *Food science and human wellness*, 11, 1064-1075. doi: 10.1016/j.fshw.2022.03.033.

Tontonoz, P., R. Graves, A. Budavari, H. Erdjument-Bromage, M. Lui, E. Hu, P. Temps, and B. Spiegelman. (1994). *Adipocyte-specific transcription factor ARF 6 is a heterodimeric complex of two nuclear hormone receptors, PPAR γ and RXR α* . *Nucleic Acids Res*. 22, 5628–5634. <https://doi.org/10.1093/nar/22.25.5628>.

Vázquez, M. J., Alonso, J. L., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2000). *Xylooligosaccharides: Manufacture and applications*. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 387–393.

Verhoef, S.P., Meyer, D., Westerterp, K.R. (2011). *Effects of oligofructose on appetite profile, glucagon-like peptide 1 and peptide YY3-36 concentrations and energy intake*. *Br J Nutr*. Dec;106(11):1757-62. doi: 10.1017/S0007114511002194. Epub 2011 Jun 17. PMID: 21679485.

Vidal Puig, A. J., Considine, R. V., Jimenez Liñan, M., Werman, A., Pories, W. J., Caro, J. F., Flier, J. S. (1997). *Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gene Expression in Human Tissues*. The American Society for Clinical Investigation, 99, 2416-2422. <https://dx.doi.org/10.1172/JCI119424>.

Wang, J., Yuan, X., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Wang, C. (2009). *On-line separation and structural characterization of feruloylated oligosaccharide from wheat bran using HPLC–ESI-MSn*. Food Chemistry, 115, 1529–1541. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.058>.

Wölnerhanssen, B.K., Meyer-Gerspach, A.C., Beglinger, C., Islam, M.S. (2020). *Metabolic effects of the natural sweeteners xylitol and erythritol: A comprehensive review*. Crit Rev Food Sci Nutr;60(12):1986-1998. doi: 10.1080/10408398.2019.1623757. Epub 2019 Jun 16. PMID: 31204494.

Wong, S. K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Ima-Nirwana, S. (2016). *Animal models of metabolic syndrome: a review*. Nutrition & Metabolism, 13(1). doi:10.1186/s12986-016-0123-9.

Zhang, C., Wang, J., Huang, M., Liu, M., & Zhang, J. (2019). *Evaluation of growth performance and lipid metabolism in zebrafish fed fructooligosaccharide using RNA sequencing*. Aquaculture Nutrition. doi:10.1111/anu.12934.

Zheng, J., Zhang, J., Guo, Y., Cui, H., Lin, A., Hu, B., Gao, Q., Chen, Y., Liu, H. (2020). *Improvement on metabolic syndrome in high fat diet-induced obese mice through modulation of gut microbiota by sangguayin decoction*. J Ethnopharmacol. Jan 10;246:112225. doi: 10.1016/j.jep.2019.112225. Epub 2019 Sep 8. PMID: 31509781.

Zilliox, C., & Debeire, P. (1998). *Hydrolysis of wheat straw by a thermostable endoxylanase: Adsorption and kinetic studies*. Enzyme and Microbial Technology, 22, 58–63. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00105-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00105-1). P.F. Ávila, et al. Food Research International 128 (2020) 108702 10.

Zuo, Y., Qiang, L., Farmer, S.R. (2006). *Activation of CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) alpha expression by C/EBP beta during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-associated repression of HDAC1 at the C/ebp alpha gene promoter*. J Biol Chem. 2006 Mar 24;281(12):7960-7. doi: 10.1074/jbc.M510682200. Epub 2006 Jan 23. PMID: 16431920.