

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD



“EFECTO DE *Psacalium decompositum* (A. GRAY) H. ROB. & BRET. EN LA PREVENCIÓN Y DESARROLLO DEL SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO POR FRUCTOSA EN RATAS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

P R E S E N T A

HÉCTOR MERINO AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar

ASESORES:

Dr. Manuel Jiménez Estrada

Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero

MÉXICO, D.F.

30 DE ENERO DE 2015.

El Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo con el convenio PFP-20-93.

El jurado designado por la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM (Unidades Cuajimalpa, Iztapalapa y Xochimilco),
aprobó la Tesis que presenta

Héctor Merino Aguilar

El día 30 de enero de 2015.

Sinodales:

Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar (Presidente)



Dr. Manuel Jiménez Estrada (Secretario)



Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero (Vocal)

Gil Alfonso Magos Guerrero

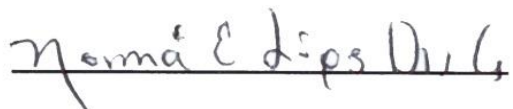


Dr. Daniel Arrieta Baez (Vocal)



Dra. Norma Edith López-Díazguerrero (Vocal)

Norma Edith López-Díazguerrero



COMITÉ TUTORIAL

Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar

Profesor Titular "C", Universidad Autónoma Metropolitana

Dr. Manuel Jiménez Estrada

Investigador de Carrera Titular "C", Instituto de Química,
Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero

Profesor Titular "A", Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México

SINODALES

Dr. Daniel Arrieta Baez

Profesor Titular "A", Instituto Politécnico Nacional

Dra. Norma Edith López-Diazguerrero

Profesor Titular "C", Universidad Autónoma Metropolitana

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 2-10 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y S-348 de farmacología del Departamento de Ciencias de la Salud,
División de Ciencias Biológicas y de la Salud,
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Índice General

-Índice General.....	i
-Contenido.....	i
-Lista de tablas y cuadros.....	v
-Lista de figuras.....	vi
-Lista de diagramas.....	vi
-Abreviaturas.....	vii
-Resumen.....	viii
-Abstract.....	x

Contenido

- Introducción.....	1
- Principales causas de la problemática.....	3
- Prevalencia del SM en México.....	4
- Antecedentes.....	6
- Generalidades del síndrome metabólico.....	6
- Patogénesis del SM.....	9
- Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa.....	11
- Fructosa y dislipidemia.....	17
- Fructosa y obesidad.....	18
- Proceso inflamatorio.....	21
- Respuesta Inflamatoria.....	23
- Fructooligosacáridos.....	27
- Características químicas y fuentes de obtención.....	27

- <i>Aplicaciones y propiedades</i>	28
- Modelos animales para el estudio del SM	33
- Clasificación botánica de <i>Psacalium decompositum</i>	35
- <i>Componentes químicos y actividad biológica de <i>P. decompositum</i></i>	37
- <i>Antecedentes del efecto hipoglucémico de <i>P. decompositum</i></i>	39
- Justificación y planteamiento del problema	42
- Hipótesis	44
- <i>Objetivo General</i>	44
- <i>Objetivos Particulares</i>	44
- Materiales y métodos	46
- <i>Material vegetal</i>	46
- <i>Obtención de los extractos de la raíz de <i>Psacalium decompositum</i></i>	46
- <i>Procedimiento para cromatografía de capa fina de alto rendimiento</i>	49
- <i>Análisis de la fracción FOS por resonancia magnética nuclear</i>	49
- <i>Animales</i>	50
- <i>Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral</i>	51
- <i>Parámetros Bioquímicos</i>	52
- <i>Cuantificación de citocinas</i>	52
- Análisis estadístico	53
- Resultados	54
- Discusión	62
- Conclusiones	77
- Perpectivas	78

- Referencias.....	79
- Anexo.....	91

Lista de tablas

- Tabla 1. Características generales de los ONDs más comunes.....	26
- Tabla 2. Frutas y vegetales productores de FOS.....	28
- Tabla 3. Usos tradicionales de <i>P. decompositum</i>	29
- Tabla 4. Efecto de la fructosa sobre el peso y parámetros bioquímicos en ratas alimentadas con fructosa por 12 semanas.....	54
- Tabla 5. Efecto de la fracción FOS sobre el peso y parámetros bioquímicos en ratas alimentadas con fructosa por 24 semanas.....	55

Lista de figuras

- Figura 1. Principales causas de mortalidad en México.....	2
- Figura 2. Prevalencias de alteraciones metabólicas en México.....	5
- Figura 3. Estructura química de los FOS.....	27
- Figura 4. Fotografía de las raíces de <i>P. decompositum</i>	34
- Figura 5. Sesquiterpenoides naturales y transformados de las raíces de <i>P. decompositum</i>	37
- Figura 6. Figura 6. Estructura de la peltalosa (U) aislada de las raíces de <i>P. peltatum</i>	40
- Figura 7. Estructura de la fructana, compuesto tipo inulina aislado de las raíces de <i>P. decompositum</i>	41
- Figura 8. Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación de los disolventes.....	47
- Figura 9. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de TNF- α	56
- Figura 10. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de IL-6 e IFN- γ	57
- Figura 11. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de MCP-1.....	58
- Figura 12: Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de IL-1 α e IL-1 β	59
- Figura 13: Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de VEGF.....	60
- Figura 14: Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de leptina.....	61

Lista de diagramas

- **Diagrama 1.** Procedimiento para la obtención de la fracción rica en FOS de las raíces de *P. decompositum*..... 48

Lista de espectros

- **Espectro 1.** Espectro de RMN ^1H de la fracción rica en FOS, Jiménez, 2011..... 91
- **Espectro 2.** Espectro de RMN ^1H de la fracción rica en FOS, 2014..... 92
- **Espectro 3.** Espectro de RMN ^1H de los FOS de *M. marítima*, Cérantola, 2004..... 93

Abreviaturas

CC	Cromatografía en Columna Abierta
CCF	Cromatografía en Capa Fina
DM	Diabetes Mellitus
SM	Síndrome Metabólico
FOS	Fructooligosacáridos
<i>m</i>	Señal Múltiple
MHz	Megahertz
ppm	Partes por Millón
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
δ	Desplazamiento Químico

Resumen

Esta investigación se centra en el estudio de las propiedades antiinflamatorias e hipolipemiantes de los fructooligosacáridos (FOS) presentes en las raíces de *Psacalium decompositum* (Gray) H.E. Rob. & Brett (Asteraceae), conocido comúnmente como "matarique", planta medicinal usada en México para el tratamiento empírico de la diabetes.

En la actualidad, la prevalencia de obesidad y trastornos metabólicos en nuestro país ha aumentado debido a cambios en el tipo de dieta. Algunos estudios han demostrado que el consumo de consumo de bebidas y otros productos endulzados con jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) podrían contribuir de manera importante en el aumento del peso corporal, grasa visceral y niveles elevados de colesterol y triglicéridos, propiciando síndrome metabólico (SM). La progresión de complicaciones fatales inherentes a este síndrome es inevitable, incluso con el uso de medicamentos. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas debe continuar y una opción es el estudio de plantas medicinales mexicanas.

Estudios previos han demostrado que los fructooligosacáridos (FOS) presentes en las raíces de *Psacalium decompositum* inducen efecto hipoglucémico en modelos animales, lo que podrían asociarse con la atenuación del proceso inflamatorio y otros trastornos metabólicos.

El presente estudio evaluó los efectos de la Fracción FOS, después de la ganancia de peso y el desarrollo de trastornos metabólicos, en ratas macho

Wistar, alimentadas durante 12 semanas con dieta al 20% de JMAF en el agua de beber y comida, antes de la administración intragástrica de la Fracción FOS (150 mg/Kg), bezafibrato (30 mg/Kg) o solución salina isotónica al 0,9% (4 ml/Kg). Las ratas tratadas con bezafibrato conservaron el peso y los parámetros metabólicos permanecieron similares a los mostrados por los animales sanos. La Fracción FOS redujo el peso corporal, colesterol, triglicéridos y los niveles de IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 β y VEGF ($p < 0,05$).

La fracción rica en FOS mostró efectos antiinflamatorios e inhibió la ganancia de peso en ratas con obesidad inducida por dieta rica en fructosa. Estos resultados indican que *P. decompositum* tiene propiedades antiinflamatorias e hipolipemiantes, además de actividad hipoglucemiante, reportada anteriormente, y podría ser utilizada como materia prima para el desarrollo de un potencial medicamento alternativo en el control de la obesidad y dislipidemias. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para determinar los posibles mecanismos de acción responsables de estos efectos.

Por último, es importante continuar con más estudios de esta y otras plantas medicinales usadas tradicionalmente, para dar validez científica a nuestra herencia ancestral medicinal y avanzar en la búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces y seguras, con la finalidad de reducir costos, principalmente en aquellas enfermedades crónico-degenerativas que requieren tratamientos prolongados.

Abstract

This investigation is focused on the study of the anti-inflammatory and hypolipidemic properties of fructooligosaccharides (FOS) present in the roots of *Psacalium decompositum* (Gray) H.E. Rob. & Brett (Asteraceae), commonly known as “Matarique”, a medicinal plant used in Mexico for diabetes mellitus empirical therapy.

At present, the prevalence of obesity and metabolic disorders has increased due to changes in the type of diet. In particular, fructose intake has increased by incremental consumption of drinks and other products sweetened with corn syrup high-fructose (HFCS). Some studies have shown that medium-term access to HFCS can cause increased body weight, body fat and high triglyceride levels, precursors to the development of metabolic syndrome (SM). The development of inherent fatal complications to this syndrome is inevitable even with the use of treatments. Therefore, the search of new therapeutic alternatives should be continued and an option is the study of the Mexican medicinal plants.

Previous studies have shown that the fructooligosaccharides (FOS) present in the roots of this plant exhibit a notable hypoglycemic effect in animal models; this might be associated to the attenuation of the inflammatory process and other metabolic disorders.

The current study examined effects of FOS-Fraction after weight gain and development of metabolic disorders in male Wistar rats fed for 12 weeks with diet 20% HFCS in drinking water and chow before administering intragastrically FOS-

Fraction (150 mg/K body weight), bezafibrate (30 mg/K body weight), and 0.9% isotonic saline solution (4 ml/K body weight). Rats treated with bezafibrate maintained weights and metabolic parameters similar to healthy animals. Rats treated with FOS-Fraction decreased body weight, cholesterol, triglycerides, and significantly reduced IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 β and VEGF levels ($p < 0.05$).

FOS fraction produces anti-inflammatory effect and an inhibitory effect on the increase in weight, in rats with fructose-induced obesity. These results suggest that *P. decompositum* has anti-inflammatory and hypolipidemic properties in addition to its previously reported hypoglycemic activity and it might be used as an alternative medication for the control of obesity. Nevertheless, it is necessary to continue with the investigation to determine the mechanisms of action responsible for those effects.

Finally, it is important to continue with the studies in traditionally used medicinal plants in order to give scientific validity to our medicinal ancestral inheritance, to advance in the search of effective therapeutic and safe alternatives, and also to be able to lower costs, mainly in those chronic-degenerative diseases that demand prolonged treatments.

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM, por permitirme ampliar mis conocimientos y crecer como ser humano.

Al CONACYT, por los recursos otorgados durante la realización de mis estudios de Doctorado, becario 210474.

A mi director de tesis, Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar, por su paciencia, orientación, sugerencias y por dejarme formar parte de su grupo de farmacología.

Al Dr. Manuel Jiménez Estrada, del Instituto de Química de la UNAM, a quien agradezco el apoyo, confianza y tiempo invertidos desde el inicio del servicio social. Para usted el mayor de mis reconocimientos.

Al Dr. Gil Alfonso Magos Guerrero del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM, por guiarme durante el desarrollo de la parte experimental. Por todos sus consejos, estoy en deuda con usted.

Al Dr. Daniel Arrieta Báez por su valiosa ayuda y tiempo otorgado en la escritura del artículo y la interpretación de los espectros de RMN.

A la Dra. Norma Edith López-Díazguerrero por formar parte del jurado de esta tesis y sobre todo por su tolerancia y la manera tan sutil de decirme las cosas.

Al Dr. Rubén Román Ramos, jefe del laboratorio de farmacología de la UAM-I, por otorgarme todas las facilidades en su laboratorio.

A la Dra. María Jesús Ferrara Guerrero, Coordinadora del Posgrado en Ciencias Biológicas y de la Salud, por su invaluable apoyo y tolerancia. Muchas Gracias.

A mi hermano del alma el Dr. Daniel A. Estrada Bárcenas, por toda la paciencia, consejos e invaluable amistad.

A mis compañeros en el Doctorado, Janeth Ventura Sobrevilla, Ana Susunaga Notario y René Hernández Bautista, ya que su compañía fructificó en muchas horas de alegría.

Al B.E. Iván Jasso y a los Doctores Julio Almanza y Gerardo Blancas, del laboratorio de farmacología de la UAM-I por su participación en el desarrollo de la parte experimental.

Al D.C.G. Abelardo Álvarez, por todo el tiempo invertido en mí, ya que me ha escuchado, terapeado y eso no es todo hasta me presto una oficina con todo y bote de basura, ha diseñado y corregido presentaciones y carteles en el último momento y no sólo a mí, sino que también he traficado con su trabajo para poder holgazanear un poco más en la investigación; “A poco no soy una basurota”.

A todos los biólogos de la heroica Facultad de Ciencias, UNAM y biólogos experimentales de la UAM-I, que han participado en mi formación personal y académica, si he omitido algún nombre, ha sido de forma accidental.

Y por ultimo, con mucha gratitud y respeto al pueblo de México, que ha financiado mis estudios gracias al pago de sus impuestos, que han sido direccionados a la Universidad Autónoma Metropolitana, así como también a nuestra máxima casa de estudios; la Universidad Nacional Autónoma de México.

*“A todos ustedes, mi eterno agradecimiento
no los defraudaré y les retribuiré con mis conocimientos”*

*El presente esfuerzo es para quién cambió mi vida,
a quién apoyaré incondicionalmente a través de ella:*

Samantha

De pronto te vi y pensé que nunca más,
iba a quedarme a despertar, lejos de ti.

Y supe que por ti, iba a robarle el cielo al mar,
y a las estrellas un collar, para ti.

Y yo que siempre presumí, de que nadie me iba a atar
y que siempre me quise a mí, sobre todo lo demás.

Y yo que siempre presumí, de mi amada soledad,
y que siempre quise huir y no perder mi libertad.

De pronto te vi y tú me miraste a mí...

David Summers - Hombres G

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad, la diabetes y las enfermedades metabólicas son los problemas de salud pública más comunes en México que provocan las principales causas de muerte, lo cual impacta en todos los ámbitos de la vida de los mexicanos. Las causas son multifactoriales y para optimizar la utilización de recursos y evitar un colapso económico y de salud pública, es necesaria la intervención en la prevención de la obesidad de manera integral.

En la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), México ocupa el segundo lugar; sólo por debajo de Estados Unidos, con mayor proporción de personas obesas; tres de cada diez personas adultas son obesas y casi siete de cada diez tienen sobrepeso. El panorama en la población infantil no es muy diferente: uno de cada tres niños tiene sobrepeso o es obeso. A nivel mundial, México ocupa el cuarto lugar en sobrepeso y obesidad para la población entre 5 y 17 años de edad (COFEMER, 2012).

Los orígenes de sobrepeso y obesidad pueden estudiarse desde varios puntos de vista: clínico, nutricional, familiar, social y económico, entre otros. Las causas y consecuencias de dicha problemática se traducen en importantes implicaciones, tanto sociales como económicas. La fuerza laboral se vuelve menos productiva como resultado de dichas afecciones y de muertes prematuras, afectando la productividad y al crecimiento económico del país; incluso se estima que para el año 2017 el gasto en salud generado por la atención de enfermedades asociadas con el exceso de peso ascenderá a 150 mil millones de pesos (COFEMER, 2012).

En la figura 1 se observa que las enfermedades no transmisibles (ENT) son las principales causas de muerte: enfermedades cardiovasculares (18%), diabetes mellitus (14%) y neoplasias (12%) (INEGI, 2013. En Línea).

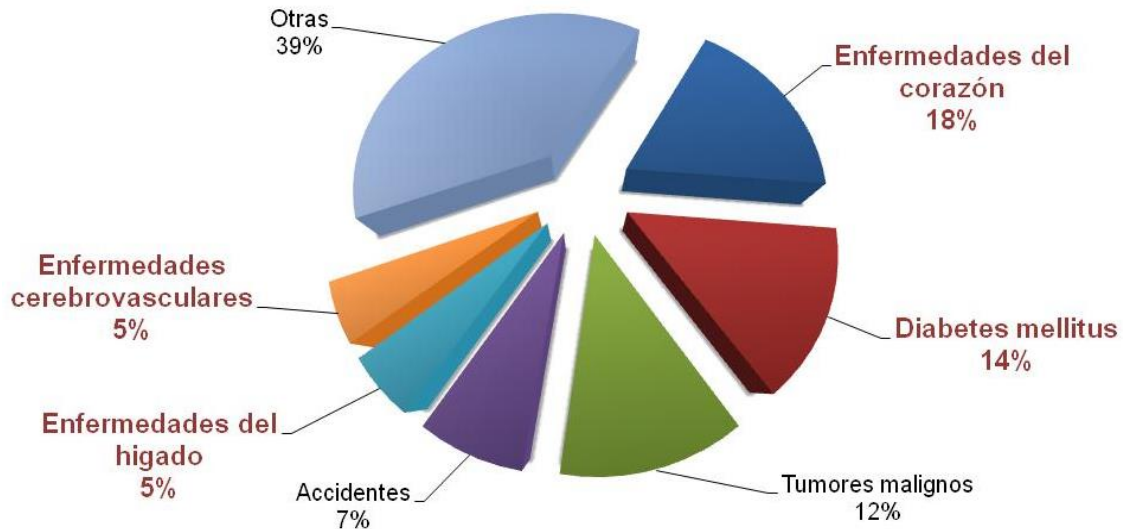


Figura 1. Principales causas de mortalidad en México (INEGI, 2011).

La mayoría de las ENT están fuertemente vinculadas con cuatro comportamientos particulares: consumo de tabaco, inactividad física, dieta poco saludable y uso nocivo de alcohol. Estos comportamientos conducen principalmente a cuatro cambios fisiológicos o alteraciones metabólicas: presión arterial elevada, sobrepeso/obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia (INEGI, 2013. En Línea).

El síndrome metabólico (SM) es un término utilizado para definir a un individuo que presenta al menos tres de las alteraciones metabólicas indicadas anteriormente, las cuales en adultos aumentan el riesgo padecer enfermedad cardiovascular y algunos tipos de cáncer (Alberti y col., 2006).

1.1 Principales causas de la problemática

Las autoridades mexicanas identifican como principales causas de obesidad y trastornos metabólicos a las siguientes:

- Desbalance: mayor ingesta calórica que consumo calórico.
- Incremento en el poder adquisitivo dirigido al menor costo de alimentos procesados por avance tecnológico.
- Patrones de consumo de los padres se trasladan a los hijos.
- Sedentarismo por el desarrollo industrial y tecnológico mundial.
- Aumento en la disponibilidad a bajo costo de alimentos procesados adicionados con altas cantidades de grasas, azúcares y sal.
- Incremento en el consumo de comida rápida y alimentos preparados fuera de casa para un sector creciente de la población.
- Disminución del tiempo disponible para la preparación de alimentos.
- Mayor exposición a publicidad sobre alimentos industrializados y productos que facilitan las tareas cotidianas.
- Mayor oferta de alimentos industrializados en general.
- Disminución de la actividad física en la población.

- Incremento en el consumo y disponibilidad de bebidas calóricas y alimentos industrializados.

Además, la Encuesta Nacional de Salud en Escolares (ENSE) 2008, señala que los alimentos y productos con mayor disponibilidad en las primarias son: 81.2% dulces, 78.8% botanas industrializadas y 77.1% tortas y sándwiches, a nivel secundaria, 87.9% son refrescos.

1.2 Prevalencia del SM en México

Los estudios clínicos realizados sobre el SM en México desafortunadamente son escasos. Se ha documentado principalmente el incremento de obesidad, diabetes tipo 2, enfermedad aterosclerótica coronaria y enfermedad cerebrovascular, que son las principales causas de muerte en nuestro país (García-García y col., 2008).

En 1993 los resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC) mostraron que la prevalencia de obesidad en adultos era de 21.5%, mientras que con datos de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 se observó que 24% de los adultos en nuestro país la padecían y, actualmente, con mediciones obtenidas por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, se encontró que alrededor de 30% de la población mayor de 20 años (mujeres, 34.5%, hombres, 24.2%) padece obesidad y la detección de diabetes ha pasado de 10.5 a 22.2%, mientras que la de hipertensión arterial pasó de 13.4 a 22.7%, casi el doble que en el año 2000 (Olaiz y col., 2006).

Por otra parte, en el año 2000 se documentó que existe una elevada prevalencia del SM en la población adulta (más de 6 millones de personas) si aplicamos los criterios propuestos por la OMS y más de 14 millones de mexicanos estarían afectados si se aplican otros criterios (González y col., 2002).

Actualmente el SM es señalado como el principal factor de riesgo para desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, cada uno de sus componentes *per se* son un factor de riesgo y por lo tanto, el riesgo total del SM representa la suma de cada uno de los factores que coexisten en el sujeto (Fig. 2). En México, la alta prevalencia de las alteraciones metabólicas presentes en el SM representa un serio problema de salud pública (Gutiérrez, 2012).

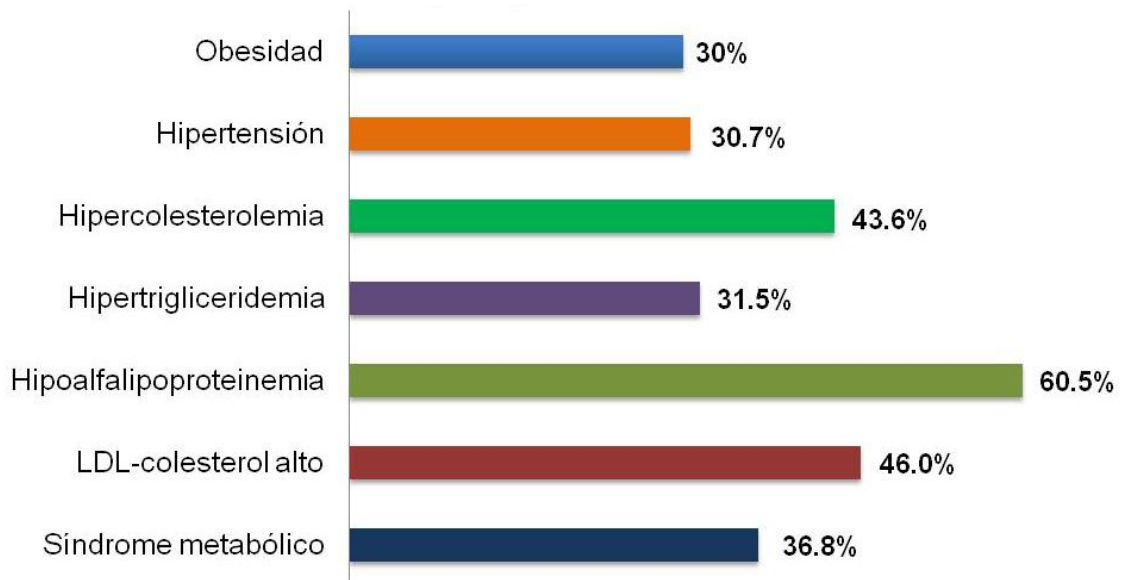


Figura 2. Prevalencias de alteraciones metabólicas en México (INEGI, 2011).

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del síndrome metabólico

El SM se define como la conjunción de varios trastornos metabólicos, como son: obesidad de distribución central (cintura), elevación de la presión arterial (HTA), disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumento de la concentración de triglicéridos (dislipidemia), además de alteración en el metabolismo de carbohidratos (hiperglucemia). Tales trastornos se consideran factores de riesgo para desarrollar enfermedades crónico degenerativas del tipo de la diabetes tipo 2 (DM2), enfermedad arterial coronaria (EAC), apoplejía, enfermedad vascular periférica (EVP) y enfermedad cardiovascular (ECV) (Isomma y col., 2001; Alberti y col., 2006; Gogia y Agarwal, 2006).

El SM no es una enfermedad nueva; fue descrita por primera vez por el médico sueco Kylin hace más de 80 años. En 1996 Vague publicó un artículo en el que destacaba el hecho de que el fenotipo de obesidad con acumulación excesiva de tejido adiposo en la parte superior del cuerpo (obesidad de tipo androide), se asocia con las alteraciones metabólicas que se observaban en la DM2 y en la ECV. Por otra parte, Avogaro y col. en 1967 documentaron la conjunción de obesidad, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensión en 6 pacientes.

En 1988, Gerald Reaven, del Centro Médico de la Universidad de Stanford, observó que la dislipidemia, la hipertensión y la hiperglucemia, aparecían simultáneamente en un mismo paciente, por lo que los llamó "Síndrome X", en el cual la resistencia a la

insulina (RI) era el mecanismo fisiopatológico básico; de ahí el término de síndrome de resistencia a la insulina. Reaven sorprendentemente no incluyó a la obesidad en el SM. Sin embargo, ésta se ha incluido en el concepto de SM en todas las definiciones posteriores (Alberti y col., 2006).

En 1998, un grupo consultor de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso el término síndrome metabólico y lo definió como la regulación alterada de la glucosa y/o RI (Alberti y Zimmet, 1998). La RI se define como la incapacidad o disminución del organismo de responder normalmente a las acciones de la insulina, ya sea sobre la captación, metabolismo y/o almacenamiento de la glucosa, para ejercer sus acciones biológicas en tejidos diana, como músculo esquelético, hígado o tejido adiposo (Tresguerres, 2005).

En 1998 la OMS publicó los siguientes criterios para diagnosticar a un paciente con SM (Alberti y Zimmet, 1998):

- Glucemia en ayunas \geq a 110 mg/dL o 2 horas post-carga \geq a 140 mg/dl
- Hipertensión arterial: presión arterial \geq a 140/90 mm Hg
- Resistencia a la insulina: insulina en ayunas $10 \geq \mu\text{UI/ml}$
- Dislipidemia: triglicéridos \geq a 150 mg/dL y/o colesterol HDL $<$ de 40 mg/dL
- Obesidad: índice cintura/cadera $>$ a 90 cm en hombres y 85 cm en mujeres y/o IMC $>$ a 30 kg/m^2
- Microalbuminuria: excreción urinaria de albúmina \geq a $20 \mu\text{g/min}$.

Esta misma organización señala que para el diagnóstico del SM es indispensable la presencia de RI y al menos dos de los siguientes factores: hipertensión arterial, dislipidemia, obesidad o microalbuminuria. Es importante señalar que la

microalbuminuria es, para la OMS, un importante pronosticador de riesgo cardiovascular (Alberti y Zimmet, 1998).

A partir de entonces el SM constituye el conjunto de enfermedades más estudiadas en todo el mundo y hasta el momento existen diversas organizaciones que han emitido sus propias definiciones.

Considerando que la definición de la OMS puede ser muy compleja para su aplicación en múltiples contextos, se han propuesto diversas definiciones alternativas. Las más aceptadas han sido las elaboradas por el Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR) y por el Programa Nacional de Educación para el Colesterol/Panel de Tratamiento del Adulto III (NCEP ATPIII) (Grundy y col., 2005; Zimmet y col., 2005).

El EGIR desarrolló una versión modificada basada en las concentraciones de insulina en ayunas, mantiene a la RI como el principal determinante etiológico del SM, por lo tanto, los pacientes diabéticos fueron excluidos, dado que la disfunción de las células β hace que la estimación de la sensibilidad a la insulina carezca de fiabilidad. La definición del EGIR también introdujo el perímetro de la cintura: 94 cm en hombres y 80 cm en mujeres (EGIR, 2002). El NCEP ATPIII identifica seis componentes del SM relacionados con la ECV (Grundy y col., 2005; Zimmet y col., 2005):

- Obesidad abdominal
- Dislipidemia aterogénica
- Presión sanguínea alta
- Resistencia a la Insulina - intolerancia a la glucosa

- Estado proinflamatorio
- Estado protrombótico

2.2 Patogénesis del SM

Desde el punto de vista fisiopatológico está bien establecida la asociación entre obesidad–SM. El tejido adiposo es un sitio de inflamación activa, produce cantidades excesivas de ácidos grasos libres, citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 6 (IL-6), resistina y la proteína C reactiva (PCR), cumpliendo un papel importante en su patogénesis; estos indicadores bioquímicos están asociados a la RI, DM2, dislipidemia, disfunción endotelial y aterosclerosis (Zachary y Bloomgarden, 2003; Recasens y col., 2004).

Por otra parte, el SM también se caracteriza por elevados niveles de radicales libres que condicionan a estrés oxidativo. Éste se define como el exceso de formación y/o la insuficiencia de eliminación de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. El aumento de estas especies reactivas deprime los mecanismos de defensa antioxidante, tanto enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa) como no enzimáticos (glutatión en su forma reducida o GSH) (Maritim y col., 2003).

Estudios *in vitro* e *in vivo* indican que las citocinas proinflamatorias (TNF α , IL-6 y resistina) contribuyen al desarrollo de RI, ya que éstas se encuentran incrementadas en los pacientes con SM, mientras que otras citocinas, como la adiponectina e interleucina 10 (IL-10), dos citocinas antiinflamatorias, se encuentran disminuidas (Fortis y col., 2012). Cabe destacar que el proceso inflamatorio, conjuntamente con el estrés oxidativo se han asociado con el desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares en el SM (Zachary y Bloomgarden, 2003; Recasens y col., 2004).

Con respecto a la RI, ésta condiciona a hiperinsulinemia e hiperglucemia crónicas, incrementándose el funcionamiento de la cadena respiratoria, la autooxidación de la glucosa y la activación de los receptores para productos finales de glucosilación (RAGE) por los productos de glucosilación avanzada (Díaz y col., 2004), mecanismos que causan la formación de superóxido, mismo que produce las complicaciones vasculares debido a que reacciona rápidamente con el óxido nítrico, formando peroxinitrito e inhibiendo a la óxido de nitrógeno sintetasa endotelial, afectando así la función del óxido nítrico como vasodilatador. El peroxinitrito y todos los radicales libres, por su elevado poder oxidante, afectan membranas celulares y lipoproteínas, generándose compuestos aldehídicos (malondialdehído, MDA) que juegan un rol central en la patogénesis de la lesión aterosclerótica (Griendling y Fitz, 2003; Taniyama y col., 2003).

Si bien no se conoce claramente su etiología, el SM se considera multifactorial ya que, además de los factores genéticos y los asociados al estilo de vida (sobrealimentación y ausencia de actividad física), intervienen factores étnicos, geográficos e intrínsecos de la persona, tales como la edad e incluso los antecedentes perinatales (Groop y col., 2001, Zarate y Saucedo, 2006).

2.3 Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa

La fructosa fue introducida como un sustituto del azúcar de mesa a mediados de los años 70, principalmente para la elaboración de productos alimenticios dirigidos específicamente al tratamiento nutricional del paciente diabético. Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido que el consumo de cantidades de fructosa que aporten un 25% o más de la ingesta diaria de calorías, puede ocasionar desórdenes en el metabolismo de los lípidos y síntomas gastrointestinales (Basciano y col., 2005; Havel, 2005). Estos mismos autores reportan que una persona puede consumir de 16-20 gramos de fructosa por día, proveniente de las frutas frescas, sin embargo, el uso de fructosa como aditivo o edulcorante ha llegado a incrementar el consumo de 85-100 gramos diarios.

La sacarosa es hidrolizada a nivel intestinal por la enzima sacarasa en los monosacáridos constituyentes: fructosa y glucosa. La fructosa libre, consumida como tal o como producto de la hidrólisis enzimática de la sacarosa, es absorbida principalmente en el duodeno y el yeyuno. Al igual que otros monosacáridos, la fructosa es absorbida por difusión facilitada a nivel de yeyuno, a través de una

proteína transportadora denominada GLUT 5, en un proceso no dependiente de sodio (Schorin, 2005).

Durante el consumo excesivo y sostenido de fructosa, la tasa de absorción aumenta, lo que sugiere una adaptación fisiológica ante el incremento en la ingesta dietética. Una vez absorbida, la fructosa es transportada al hígado, donde es fosforilada por la enzima fructocinasa a fructosa 1 fosfato, que se convierte en gliceraldehido 3 fosfato o dihidroxiacetona fosfato. Estas triosas fosfato podrán entrar en la vía glicolítica hasta formar piruvato y oxidarse posteriormente a acetil CoA (Cui y col., 2005; Havel, 2005).

En el hígado el acetil CoA proporciona carbonos para la síntesis de ácidos grasos, triglicéridos y colesterol. Es por esta razón que al consumir grandes cantidades de fructosa se estimulan las vías glicolíticas y lipogénicas en la célula hepática, lo cual se ve favorecido por el hecho de que, contrario a la glucosa, la molécula de fructosa entra a la vía glicolítica sin pasar por el punto de regulación: la reacción catalizada por la fosfofructocinasa. Esta enzima es inhibida alostéricamente por el citrato y el ATP, regulando, por lo tanto, la subsecuente producción de triglicéridos (Elliott y col., 2002; Bray y col., 2004; Cui y col., 2005).

Como se mencionó anteriormente, la molécula de Acetil CoA provee los carbonos necesarios para la síntesis de novo de ácidos grasos de cadena larga, que posteriormente son esterificados para formar triglicéridos. En animales de experimentación, como ratones, perros y primates, es conocido que dietas altas en

energía a partir de fructosa o sacarosa inducen a la hiperlipidemia e hipertensión, lo cual eventualmente se asociaría con aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares (Basciano y col., 2005; Havel, 2005).

En el estudio realizado por Teff y colaboradores (2004) se observó que en mujeres jóvenes que ingirieron bebidas endulzadas con fructosa, la concentración plasmática de triglicéridos incrementó más rápidamente y alcanzó una mayor concentración, que en aquellas que recibieron bebidas endulzadas con glucosa.

Existen reportes de que durante el consumo de fructosa se incrementa la síntesis de apolipoproteína B, que antecede al aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lo cual, eventualmente, podría provocar un aumento de los triglicéridos. Se sabe que cambios en las VLDL están asociados con cambios en otras lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL), pequeñas y densas, lo que podría relacionarse con el desarrollo de aterosclerosis (Havel, 2005).

De igual manera, se ha propuesto que el aumento en la concentración sanguínea de triglicéridos, como consecuencia del consumo de altas cantidades de fructosa, se debe no sólo a una mayor secreción de lipoproteínas de muy baja densidad, sino también a un menor aclaramiento de estas partículas por parte de las células de los tejidos periféricos, debido probablemente a una menor actividad enzimática de la lipoproteín lipasa (Havel, 2005; Bantle, 2006).

Por otro lado, en el estudio realizado por Kelley y Azhar (2005) se propone que el aumento en los triglicéridos sanguíneos puede deberse al efecto sobre la acción del receptor PPAR α observado en animales de laboratorio, luego del consumo elevado de fructosa. La activación de este receptor estimula la expresión de genes relacionados con la oxidación de ácidos grasos y el metabolismo de las lipoproteínas. Los resultados del estudio demostraron que la fructosa puede disminuir la expresión hepática del receptor PPAR α y los niveles de ARN mensajero de este receptor.

En otro estudio realizado por estos mismos autores se observó que las dietas altas en fructosa podrían estar alterando el metabolismo de los lípidos a través de la producción de citocinas proinflamatorias y que estos efectos podrían ser revertidos con la administración de inhibidores de las enzimas que participan en la síntesis de dichas proteínas (Kelley y col., 2004).

No todos los estudios en los que se somete a individuos sanos al consumo excesivo de fructosa demuestran un efecto sobre los triglicéridos sanguíneos. Bantle y colaboradores, por ejemplo, observaron resultados similares a los anteriores en varones, pero no en mujeres y no lograron demostrar cambios significativos en las concentraciones sanguíneas de colesterol (Bantle, 2006).

Pequeñas o moderadas cantidades de fructosa parecen no tener impacto en el control glucémico del paciente con diabetes tipo 2. Sin embargo, como se ha mencionado, el consumo excesivo podría empeorar problemas de hipertrigliceridemia y/o sobrepeso (Gross y col., 2004)

Los estudios realizados en pacientes diabéticos y sanos han demostrado que la fructosa produce un leve incremento de la glucemia y de la insulinemia postprandial, en comparación con otros carbohidratos. No obstante, la recomendación del uso de este edulcorante por parte de pacientes diabéticos sigue siendo controversial, dado que el consumo excesivo de fructosa está asociado al aumento del peso corporal y con la disminución de insulina y leptina, lo cual reduce la sensibilidad a la insulina (Bizeau y Pagliassotti, 2005; Bantle, 2006).

En roedores, las dietas altas en sacarosa y fructosa disminuyen la sensibilidad a la insulina, sin descartar otros factores dietéticos. También se ha observado en otros estudios con animales de laboratorio, que estas dietas incrementan el consumo total de energía, el peso corporal y la adiposidad (Daly, 2003; Jürgens y col., 2005)

Recientemente se demostró la relación directamente proporcional de la ingesta de fructosa y las principales manifestaciones clínicas del síndrome metabólico, en ratas que estuvieron bebiendo jarabe de maíz de alta fructosa a niveles muy por debajo de los usados en los refrescos embotellados, todas desarrollaron obesidad, aún cuando otras ratas fueron alimentadas con una dieta con exceso de grasas no se observó tan claramente la excesiva ganancia de peso (Bocarsly y col., 2010; Glendinning y col., 2010). Las ratas fueron divididas en dos grupos, con la misma dieta, un grupo recibió agua endulzada con fructosa, el otro grupo bebió agua endulzada con azúcar de caña o sacarosa. La concentración de fructosa fue la mitad de la usada en la mayoría de los refrescos disponibles en EE.UU. (Glendinning y col., 2010).

El segundo experimento se concentró en los efectos de largo plazo del consumo de la fructosa. Duró seis meses; aquí se compararon también dos grupos con la misma dieta: a uno se le dio únicamente agua para beber y al otro agua endulzada con fructosa (Bocarsly y col., 2010).

Todas las ratas que consumieron fructosa, desarrollaron características similares a lo que en humanos conocemos como síndrome metabólico, en el cual se combinan una anómala ganancia de peso, aumento de triglicéridos en sangre, incremento de grasa en diferentes partes del cuerpo, principalmente en la región abdominal (Glendinning y col., 2010)

La prevalencia de la obesidad se ha incrementado de forma paralela al consumo de fructosa. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto de la fructosa sobre la secreción de reguladores endocrinos del balance energético, como insulina, ghrelina y leptina (Bantle, 2006).

Teff y colaboradores (2004) reportaron que sujetos recibieron comidas en las cuales el 30% de las calorías eran aportadas por una bebida endulzada, ya fuera glucosa o fructosa, se presentaron diferentes respuestas metabólicas y hormonales. La respuesta glucémica de insulina fue un 66% y un 65% menor, respectivamente, en los sujetos que ingirieron la bebida con fructosa en comparación con los que ingirieron glucosa.

Bantle (2006) propone que al producirse un menor efecto insulinémico, la ingesta excesiva de fructosa podría a la vez aumentar el apetito y, por lo tanto, la ingesta de alimentos. La insulina estimula la liberación de leptina por parte del adipocito y dado que la leptina ejerce un efecto anorexígeno en el hipotálamo, los niveles inferiores de insulina y leptina, luego de la ingesta de fructosa, podrían ejercer un menor efecto inhibidor del apetito que la ingesta de otros carbohidratos.

2.4 Fructosa y dislipidemia

Los mecanismos por los cuales la fructosa induce dislipidemia han sido parcialmente elucidados. Se ha señalado que la fructosa, proporciona grandes cantidades de triosas-fosfato hepáticas que pueden ser precursores para la síntesis de ácidos grasos, que al no ser reguladas por el estado energético celular, pueden dar paso a un estado celular altamente lipogénico; de hecho se ha observado en varios estudios que la síntesis hepática de novo del glicerol y las partes acilo-graso de los triglicéridos son estimulados después de la ingestión de una dosis de fructosa.

También se ha señalado que este azúcar aumenta la actividad de la piruvato deshidrogenasa (PHD) debido a que inhibe la fosfoinositol-3-cinasa (PDK), activa la transcripción de los elementos de unión a proteína sensibles a carbohidratos (ChREBP) e induce la expresión del factor de transcripción SREBP-1c (mediada por PGC1b y XBP1s), el cual a su vez puede aumentar la presencia de la esteroil-coA desaturasa-1 (SCD-1), enzima que cataliza la conversión de ácidos grasos saturados a ácidos grasos monoinsaturados como el oleil-CoA, con lo que promueve la

expresión de enzimas lipogénicas como la sintasa de ácidos grasos (FAS) y la acetil-CoA carboxilasa (Samuel, 2011).

2.5 Fructosa y obesidad

La obesidad presentada por el consumo de grandes cantidades de fructosa está relacionada al hecho de que la fructosa promueve un estado lipogénico en la célula, aumentando la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos libres (AGL). Es un padecimiento crónico complejo de etiología multifactorial que se desarrolla por un desequilibrio entre la energía ingerida y la energía gastada, es decir, una acumulación anormal o excesiva de energía en forma de grasa en el tejido adiposo (TA) (Mendivil y Sierra, 2004). El exceso de energía se almacena en los adipocitos, los cuales aumentan en tamaño y/o en número. Este desequilibrio es el resultado de la combinación de varios factores fisiológicos, psicológicos, metabólicos, genéticos, socioeconómicos, culturales y emocionales (Palou y col., 2004). Lo anterior se traduce en un incremento en el peso corporal, que es diferente para cada persona y grupo social (Díaz, 2005).

Con la aparición de la obesidad se presentan alteraciones en la respuesta inmunitaria ya que se genera un proceso inflamatorio que suele ser crónico y de bajo grado de intensidad, el cual también está presente con otras enfermedades degenerativas asociadas, tales como diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia, enfermedades cardíacas, etc. Esta condición crónica de inflamación se ha relacionado también con la generación de resistencia a la insulina (Kindt, 2007).

Para combatir infecciones, el organismo depende de su capacidad innata para reparar daños y almacenar energía hasta que se requiera. Los sistemas metabólico e inmune, íntimamente ligados, aunque interdependientes, interaccionan a través de hormonas, citocinas, proteínas de señalización, factores de transcripción y lípidos (Khovidhunkit y col., 2004).

En este sentido, el soporte metabólico juega un papel muy importante, ya que puede modificar la capacidad inmunitaria del organismo para combatir infecciones en la respuesta inflamatoria. A su vez, la respuesta inflamatoria modifica el metabolismo del organismo, favoreciendo o suprimiendo algunas vías, como en el caso de la vía de señalización de insulina. La combinación de la respuesta inmune con un balance metabólico adecuado es benéfica para el mantenimiento de un buen estado de salud. Sin embargo, puede convertirse en deletérea bajo condiciones de alteración metabólica, como en la obesidad (Wellen y Hotamisligil., 2005).

Existen evidencias que apoyan la asociación entre el metabolismo y la inmunidad; el mantener un peso saludable conduce a un equilibrio inmunitario; por el contrario, la desnutrición se favorece la inmunosupresión, mientras que en la obesidad se genera una inflamación crónica (Khovidhunkit y col., 2004).

El desarrollo de enfermedades metabólicas y sus complicaciones confluyen en la existencia de un estado proinflamatorio crónico, en el cual las alteraciones metabólicas son elementos que interactúan con el sistema inmunológico y alteran así diferentes vías antiinflamatorias, antitrombóticas y antiapoptóticas. La compresión de

estos procesos permitiría un mejor acercamiento terapéutico al paciente y potenciará el desarrollo de nuevos objetivos de tratamiento (González, 2011).

A partir de la obesidad se presenta un fenómeno de inflamación de bajo grado en el que participan una red de células y moléculas del sistema inmune inato, el más antiguo y conservado filogenéticamente (González, 2011). Además de ser la primera línea de defensa contra infecciones por microorganismos, daños físicos o químicos, este sistema cuenta con un grupo especializado de células, como macrófagos y células dendríticas, cuya función primordial es reconocer ligandos endógenos y exógenos; estos últimos son patrones moleculares altamente conservados de agentes patógenos.

El reconocimiento se lleva a cabo a través de receptores codificados en la línea germinal. Los más estudiados son los de tipo Toll (TLR's), que involucran una familia de más de 10 proteínas transmembranales. Los TLR's juegan un papel importante en el reconocimiento específico de componentes microbianos de patógenos, entre ellos bacterias, hongos, virus y protozoarios (Pickup, 2004).

Los TLR's activan rutas de señalización comunes que culminan con la translocación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF- κ B), el cual es una proteína clave en la cascada inflamatoria. El proceso inflamatorio es promovido entonces por los TLR's a través de la producción de citocinas como el TNF- α , IL-6, e IL1- β . Aunque los TLR's se expresan en su mayoría en células del linaje hematopoyético, un creciente número de estudios reporta su expresión en otros tipos celulares, como el tejido

adiposo, y en particular, en los adipocitos (Murakami y col., 2007; Vitseva y col., 2008).

Así mismo existe una desregulación en el tejido adiposo, órgano endocrino que secreta adipocinas, algunas de las cuales tienen un papel en la generación del estado proinflamatorio. La leptina tiene una función fundamental en la conexión entre el estado nutricional y la respuesta inmune, tanto innata como adaptativa. La leptina modula la activación y proliferación de linfocitos T, tiene efectos antiapoptóticos en el linfocito T, activa a los polimorfonucleares, promueve la quimiotaxis de los neutrófilos, potencia la producción de citocinas como las IL-2, IL-12 e INF- γ , estimula la respuesta Th1 al inhibir a IL-10 e IL-4, y estimula la proliferación de monocitos para que produzcan IL-6 y TNF α , todo lo cual estimula el ambiente proinflamatorio (Fernández, 2010).

2.6 Proceso inflamatorio

La inflamación es el proceso de la respuesta a una lesión tisular, sin importar la causa y precede a la curación del tejido. Es una reacción del organismo la cual se caracteriza por la presencia de dolor, hinchazón, enrojecimiento y calentamiento en la zona afectada (Goodman y Gilman, 2007; Abbas y col., 2008).

La inflamación puede ser aguda, por ejemplo en respuesta a daño tisular o puede ser crónica, provocando consecuencias patológicas. La inflamación aguda en respuesta a una herida que destruye el parénquima y afecta a los vasos sanguíneos, activa el sistema de coagulación, el cual comienza a promover la permeabilidad vascular, la

adhesión y reclutamiento de leucocitos. La activación de las plaquetas también produce factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el cual activa a fibroblastos y actúa como atrayente para leucocitos. La infiltración de leucocitos, primero neutrófilos y después macrófagos, permite la eliminación de células muertas y residuos. Estas células secretan quimiocinas y citocinas como TNF α e IL-1, que regula positivamente la expresión de moléculas de adhesión para aumentar el reclutamiento de células del sistema inmune e induce la producción de factores de crecimiento y proteasas por los macrófagos. La liberación de proteasas incluyendo metaloproteasas permite la degradación de matriz extracelular y permite la remodelación del tejido (Chen y Nuñez, 2010).

La remodelación del tejido es acompañada por la regeneración del parénquima y de la capa epitelial con la resolución del proceso de curación. La inflamación crónica, que ocurre cuando un agente no es eliminado o contenido adecuadamente, generalmente es perjudicial para el organismo ya que la producción sostenida de especies reactivas de oxígeno (ROS), proteasas y factores de crecimiento resultan en la destrucción de tejido, proliferación de fibroblastos, acumulación aberrante de colágeno y fibrosis (Chen y Nuñez, 2010).

2.7 Respuesta Inflamatoria

Recientemente se ha reportado que la inflamación puede activarse en un contexto metabólico alterado (niveles elevados de glucosa, exceso de lípidos como el palmitato y la ceramida, cristales de colesterol, polipéptido amiloide insular y especies reactivas de oxígeno), siendo un factor confluyente en distintas enfermedades aparentemente no relacionadas, como gota, obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer y la enfermedad de Alzheimer, entre otras (Sun y col., 2012).

Evidencia clínica y experimental vincula a algunas citocinas (IL-1 β e IL-8) con el desarrollo de alteraciones metabólicas. Acciones proinflamatorias de IL-1 β se relacionan con el desarrollo de diabetes tipo 1 y 2. Mientras que IL-8 tiene efectos tóxicos en células β pancreáticas, también está involucrada en el deterioro por glucotoxicidad en diabetes tipo 2. Estos dos procesos provocan la deficiencia en la producción/secreción de insulina (Donath y col., 2008).

Por otra parte se ha demostrado que en individuos obesos se incrementa la expresión de IL-18 en tejido adiposo y la secreción en adipocitos es tres veces mayor comparado con los controles. Contrastantemente, ratones modificados genéticamente deficientes en IL-18, desarrollan hiperfagia, obesidad y resistencia a insulina, los cuales son revertidos mediante la administración de IL-18 recombinante. Sin embargo los mecanismos moleculares que controlan la producción de IL-1 β e IL-18 durante el desarrollo de la obesidad y resistencia a insulina aun no se conocen detalladamente (Donath y col., 2008).

El daño celular relacionado con la inflamación actúa sobre las membranas celulares, dentro del área inflamada se acumulan células del sistema inmune como leucocitos, macrófagos y linfocitos. Los leucocitos destruyen el tejido dañado y emiten señales a los macrófagos quienes ingieren y digieren las sustancias extrañas y el tejido muerto. La inflamación es normalmente un proceso reparador, seguido por una respuesta compensatoria antiinflamatoria. En ocasiones, por falta de mecanismos compensatorios, esta reacción inflamatoria puede resultar exagerada y mantenerse por periodos prolongados, volviéndose una inflamación crónica, dando lugar a cambios patológicos (Abbas y col., 2008).

Los factores genéticos y ambientales (estilo de vida) están apropiadamente caracterizados en el desarrollo del sobrepeso, obesidad y alteraciones metabólicas. Sin embargo, ambos no explican la totalidad de la alta prevalencia de estas patologías y de los desórdenes metabólicos. En este aspecto, la microbiota intestinal ha sido propuesta como un nuevo factor que contribuye en el desarrollo de aumento de peso, resistencia a insulina, alteraciones del metabolismo de glucosa y otros riesgos cardiometabólicos.

La microbiota intestinal es esencial en la obtención de energía “extra” procedente de la dieta, en la producción de vitaminas y otros componentes nutricionales esenciales. Regula muchos aspectos de la inmunidad (innata y adquirida) y protege al hospedador de la invasión de patógenos e inflamación crónica. Algunos investigadores relacionan los desequilibrios en la microbiota intestinal con la

susceptibilidad a infecciones, desórdenes inmunológicos, obesidad y resistencia a insulina. Datos experimentales apuntan al uso de prebióticos y probióticos como elementos esenciales en la terapia de estas patologías, mejorando el equilibrio de la microbiota, disminuyendo la sensación de hambre, disminuyendo la adiposidad central, mejorando el perfil lipídico y la integridad de la mucosa intestinal con descenso del proceso inflamatorio (Diamant y col., 2011).

Los prebióticos son ingredientes no digeribles que benefician al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o de un limitado número de bacterias residentes del colon (bifidobacterias y lactobacilos), estimulando su crecimiento y volviéndolas activas metabólicamente, confiriendo beneficios en el bienestar y la salud del huésped (Gibson y Roberfroid, 1995).

Por lo tanto, un prebiótico debe ser capaz de alterar la biota intestinal del huésped hacia una biota más saludable (Collins y Gibson 1999). Dada la naturaleza de la fermentación por lactobacilos o bifidobacterias, es poco probable que existan prebióticos de origen proteínico o lipídico. Por ello, Cummings y Macfarlane (2002) propusieron una definición alterna delimitando a los prebióticos como “un grupo de carbohidratos de cadena corta no digeribles por enzimas humanas ni animales y con un grado de polimerización que va de dos a sesenta”.

Como prebióticos se han clasificado los oligosacáridos no digeribles (ONDs), dentro de los que se encuentran la inulina, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), soya-oligosacáridos (SOS), xilooligosacáridos (XOS),

pirodextrinas e isomaltooligosacáridos (IMO). La Tabla 1 presenta características generales de estos ONDs.

Tabla 1. Características generales de los ONDs más comunes (Collins y Gibson, 1999).

Nombre	Composición	Método de Manufactura	Grado de polimerización
Inulina	$\beta(2-1)$ fructanos	Extraído de la raíz de achicoria	11-65
FOS	$\beta(2-1)$ fructanos	Transfructosilación de sacarosa ó hidrólisis de inulina de achicoria.	2-10 3-5
GOS	Oligo-galactosa (85%) con glucosa y lactosa	Producido por la β -galactosidasa usando lactosa como sustrato	2-5
SOS	Mezcla de rafinosa (fructosa-galactosa-glucosa) y estaquiosa (fructosa-galactosa-galactosa-glucosa)	Se extrae de la harina de soya	3-4
XOS	Xilosas unidas por enlaces $\beta(1-4)$	Hidrólisis enzimática del xilano	2-4
Pirodextrinas	Mezcla de glucosa y oligosacáridos	Pirolisis del almidón de papa o maíz	Varios
IMO	$\alpha(1-4)$ glucosas y ramificaciones $\alpha(1-6)$ de glucosa	Transgalactosilación de maltosa	2-8

2.8 Fructooligosacáridos

2.8.1 Características químicas y fuentes de obtención

Los fructooligosacáridos (FOS) o fructanos, son oligopolímeros formados por la unión de una cadena β -2,1 de D-fructosa (F) a una unidad de D-glucosa (G) (Fig.3). Entre los principales FOS encontramos a la 1-kestosa (GF2), nistosa (GF3) y 1- β -fructofuranosilnistosa (GF4) (Yun, 1996; Roberfroid 1997; Sangeetha y col., 2005).

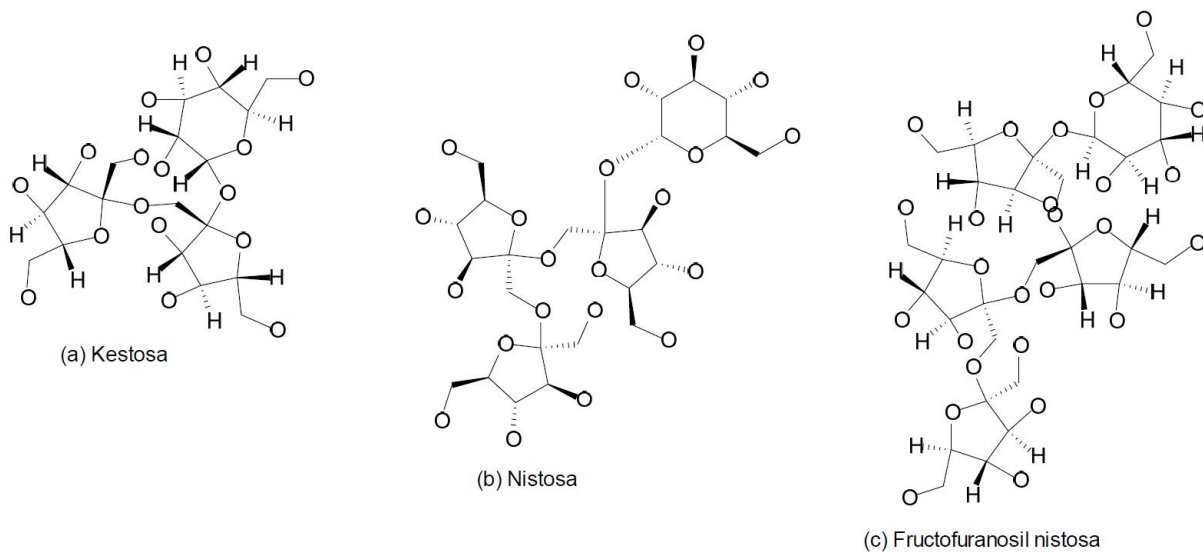


Figura 3. Estructura química de los FOS: (a) 1-kestosa, (b) nistosa, (c) 1- β -fructofuranosilnistosa (Guio y col., 2009).

Los FOS son producidos por la enzima fructosiltransferasa en bacterias, hongos y plantas (Sangeetha y col., 2005). En plantas mono y dicotiledóneas como *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* y *Compositae*, son sintetizados como mecanismo de almacenamiento de carbohidratos en órganos como bulbos, raíces y tallos. De igual forma, los FOS también están disponibles en alimentos vegetales (Roberfroid y Delzenne 1998), como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Frutas y vegetales productores de FOS (Yun, 1996)

Fuente	Nombre	Contenido FOS (mg/g)
Frutas	Kiwi	0.1
	Manzana roja	0.6
	Banano	6.0
	Zarzamora	1.2
	Toronja	1.1
	Naranja	2.8
	Melocotón	3.5
	Pera	0.8
	Ciruela	2.0
	Frambuesa	1.5
	Sandía	3.0
	Vegetales	Espárragos
Judía		0.1
Remolacha		0.1
Zanahoria		2.2
Apio		0.6
Berenjena		0.6
Ajo		10.3
Jengibre		0.1
Alcachofa Jerusalén		286.2
Cebolla		47.7
Guisante		8.4
Tomate		0.1
Patata		0.8

2.8.2 Aplicaciones y propiedades

Los FOS son empleados en la industria alimentaria y farmacéutica como prebióticos y edulcorantes (Sangeetha y col., 2005). Varias investigaciones *in vivo* e *in vitro*, han evaluado su potencial efecto tóxico, genotóxico y carcinogénico, demostrando que éstos no presentan ningún efecto adverso sobre la salud humana. Sin embargo, el único efecto notado después del consumo de grandes cantidades diarias (44 g en hombres, 49 g en mujeres o 5% de la dieta total diaria en ratas) es la producción de deposiciones blandas y diarrea, efecto característico de los oligosacáridos de baja digestión (Roberfroid y Delzenne 1998; Sangeetha y col., 2005).

Debido a la evidencia histórica sobre su uso y a estudios realizados por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos, los FOS son clasificados como GRAS (Generally Recognized as Safe), garantizando que son seguros en las condiciones de uso propuestas (Yun, 1996).

Debido a la configuración β del segundo carbón anomérico de la fructosa, los FOS son resistentes a la hidrólisis realizada por enzimas digestivas como α -glucosidasa, maltasa, isomaltasa y sacarasa, específicas para enlaces α -glicosídicos. La baja digestión de los fructanos en el tracto digestivo humano, hace que estos sean eliminados por la orina en un 97%, razón por la cual son considerados como ingredientes alimenticios de bajo aporte calórico ($1,5 \text{ Kcal g}^{-1}$) (Roberfroid y Delzenne 1998).

La proporción de FOS que es metabolizada depende del proceso de fermentación llevado a cabo por las bifidobacterias presentes en el tracto digestivo. Estos son utilizados selectivamente por *L. acidophilus*, *B. bifidus* y *S. faecium* para mantener su adherencia, viabilidad y crecimiento; de forma recíproca, no son metabolizados por bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia pseudotuberculosis*, entre otras (Roberfroid y Delzenne, 1998).

La fermentación de esta clase de carbohidratos se realiza en la última porción del intestino grueso donde existe la mayor colonización bacteriana y culmina en la producción de lactato y ácidos carboxílicos de cadena corta, principalmente ácido acético, propiónico y butírico, a lo que se atribuye el descenso en el pH fecal que favorece la absorción de calcio y magnesio (Roberfroid y Delzenne 1998).

A nivel clínico, se han reportado efectos sobre la regulación de glucemia y metabolismo de triglicéridos originado por la ingesta de FOS. Estos efectos se explican, respectivamente, mediante las siguientes hipótesis: (1) influencia en la absorción de macronutrientes, especialmente carbohidratos que disminuye el vaciado gástrico y/o el tiempo de tránsito en el intestino delgado y (2) modificación del metabolismo hepático de la glucosa reduciendo la gluconeogénesis hepática; y modulación de la lipogénesis (1) o incremento en la concentración de propionato en el intestino grueso, siendo éste un inhibidor de la síntesis de ácidos grasos (2) (Roberfroid y Delzenne 1998).

El tracto gastrointestinal (TGI) representa un ecosistema complejo y la interacción con su población bacteriana es un tema de gran interés actual. Un epitelio intestinal sano, en asociación a una biota intestinal óptima, proporciona una barrera vital contra la penetración de microorganismos patógenos, antígenos y compuestos dañinos provenientes de la luz intestinal; así como la restauración de la misma, estimulación del sistema inmune, mantenimiento de la mucosa, producción de nutrimentos y estimulación de la motilidad intestinal (Honzapfel y Schillinger, 2002).

El TGI de un adulto humano promedio está colonizado por aproximadamente 1×10^{14} células microbianas (Eckburg y col., 2005) y es éste enorme potencial metabólico lo que sugiere un extraordinario efecto regulatorio en las funciones corporales, especialmente en el colon donde se encuentran en mayor concentración, superior a 5×10^{11} bacterias por gramo. La diversidad de la biota intestinal está determinada, entre otros factores, por la dieta, aspectos genéticos, el segmento específico del TGI y el estado fisiológico del huésped (Saad y col., 2013).

Algunos grupos de bacterias residentes en el colon como las bifidobacterias, los lactobacilos y las eubacterias son estimuladas selectivamente por los prebióticos. Es importante que los prebióticos alcancen la región del intestino llamada “ciego” para ser fermentados y utilizados por bifidobacterias y lactobacilos o bien, inhiban varias cepas bacterianas patogénicas para el hombre (*Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacterium*, *Salmonella enteritidis* o *S. typhimurium*, principalmente) (Saad y col., 2013).

Considerando que la intolerancia a los prebióticos se alcanza al ingerir altas dosis de los mismos, debido al potencial osmótico y/o una fermentación excesiva, en ocasiones se presentan efectos indeseables: mayor cantidad de flatulencias, inflamación y dolor abdominal e incluso diarrea (Honzapfel y Schillinger, 2002).

Sin embargo, a dosis sugeridas, el beneficio fundamental de los prebióticos es indirecto pues, como se ha mencionado, alimentan selectivamente a uno o más microorganismos que modifican la biota intestinal. Son estas modificaciones en la biota intestinal –y no los prebióticos por sí mismos- las que producen efectos reconocidos como tratamiento de desórdenes intestinales, influencia favorable en la digestión y absorción de glucosa, prevención de cáncer y disminución de colesterol sérico, entre otros (Honzapfel y Schillinger, 2002).

2.9 Modelos animales para el estudio del SM

Un modelo animal se define como: “un organismo vivo con una enfermedad heredada o adquirida, de forma natural o provocada por procesos patológicos, equivalente a la misma situación que se da en el humano. No se debe esperar que los modelos animales sean ideales ni universalmente adecuados para todos los aspectos de la enfermedad”. Debe recordarse que los modelos animales se emplean para probar nuevas hipótesis, revelar mecanismos patológicos básicos y desarrollar nuevos tratamientos; sin embargo la extrapolación de los resultados de los experimentos con animales a tratamientos efectivos en ensayos clínicos en seres humanos no es una tarea sencilla (Mittray col., 2008).

Para estudiar el SM se han realizado experimentos en diversos animales (gatos, perros, monos, cerdos, caballos) siendo ratas y ratones los más utilizados, por los bajos costos; además de que su manipulación genética es relativamente sencilla y pueden combinarse variables genéticas y ambientales como la dieta y ejercicios. (Mittray col., 2008)

Los modelos pueden separarse en dos grupos: modelos genéticos y modelos ambientales. Ratas Zucker, ratas Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) y las ratas Goto-Kakizaki son los modelos genéticos usualmente empleados, en los modelos ambientales existe la modificación a la dieta, incrementando la cantidad de grasa en alimento o los carbohidratos (sacarosa o fructosa) en el agua de beber y/o alimento (Mittray col., 2008).

Actualmente el tratamiento o control farmacológico del SM se dirige a las manifestaciones clínicas que lo caracterizan; fármacos antidiabéticos, antihiperlipidémicos, antihipertensivos y antiobesidad son la base de su manejo, sin embargo, no han resultado completamente exitosos. Por tal motivo, la utilización de plantas medicinales ofrece una alternativa viable para tratar las manifestaciones clínicas de este síndrome de una manera integral.

Psacalium decompositum (Fig. 4) es una planta herbácea que junto con *P. peltatum* H.B.K. (Cass), *P. sinuatum* (Cerv.) Rob. & Brettell y *Acourtia thurberi* (Gray) Reveal & King conforman el complejo “matarique”, debido a que comparten características en común, como el nombre, características morfológicas, aromáticas o por su empleo “tradicional” (Bye, 1995).



Figura 4: Fotografía de las raíces del matarique

2.9.1 Clasificación botánica de *Psacalium decompositum*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Psacalium*

Especie: *Psacalium decompositum* (A. Gray) H. Robinson & Brettell

Nombre vulgar: Matarique o Matariqui, Pitcáwi en tarahumara

Sinonimias *Cacalia decomposita* A. Gray, *Mesadenia decomposita* (A. Gray)

Standley; *Odontotrichum decompositum* (A. Gray) Rydberg.

Planta silvestre terrestre, habita principalmente en la Sierra Madre Occidental y en el centro del país en un clima semiseco, entre los 1950 y los 2050 metros sobre el nivel del mar, se distribuye en zonas montañosas; entre 30 cm a 1.6 metros de altura. Posee un rizoma fibroso grueso, los tallos son casi leñosos, densamente pilosos o hirsutos en la base con pelos café (Linares y Bye, 1987).

La inflorescencia posee de 10 a 24 flores, con pedúnculos de hasta 2 cm de largo. Las flores son hermafroditas, corola simpétala, de color crema a café, 5 estambres. Los aquenios son elipsoides de 3 a 6 mm de largo, vilano de cerdas color blanco. Posee un rizoma fibroso grueso (Linares y Bye, 1987). Este género y en general la familia de las Asteraceae se caracterizan por sintetizar una gran cantidad de metabolitos secundarios, los cuales son importantes en aspectos de quimiotaxonomía, no solamente a nivel familia sino inclusive a nivel genérico o de especie, ya que se puede establecer relación estructural y biogénica.

El té hecho con la raíz se emplea contra la malaria, la fiebre, tumores, úlceras, dolores del corazón y enfermedades renales (Tabla 3). Las raíces machacadas se usan para tratar las mordidas de serpientes, así como para el dolor de dientes, colocando un pedazo de raíz en la pieza con caries (INI, 1994).

Tabla 3. Usos tradicionales de *P. decompositum* (Martínez, 1959 e INI, 1994).

Padecimiento	Modo de empleo	Parte de la planta empleada
Diabetes	Infusión	Raíces
Reumatismo	Infusión y maceración	Planta completa
Estreñimiento	Infusión	Planta completa
Neuralgias	Infusión	Hoja, Tallo y Flor
Cicatrización de heridas	Maceración	Tallo y Hojas

2.9.2 Componentes químicos y actividad biológica de *P. decompositum*

En los estudios dirigidos para determinar los constituyentes químicos de las raíces de *P. decompositum* han sido examinados numerosos extractos. Del extracto hexánico se han aislado y caracterizado más de diez componentes, siendo cacalol, cacalona, maturina, maturinona y maturona los sesquiterpenoides (Figura 5) más abundantes en ella (Romo y Joseph-Nathan, 1964, Correa y Romo, 1966)

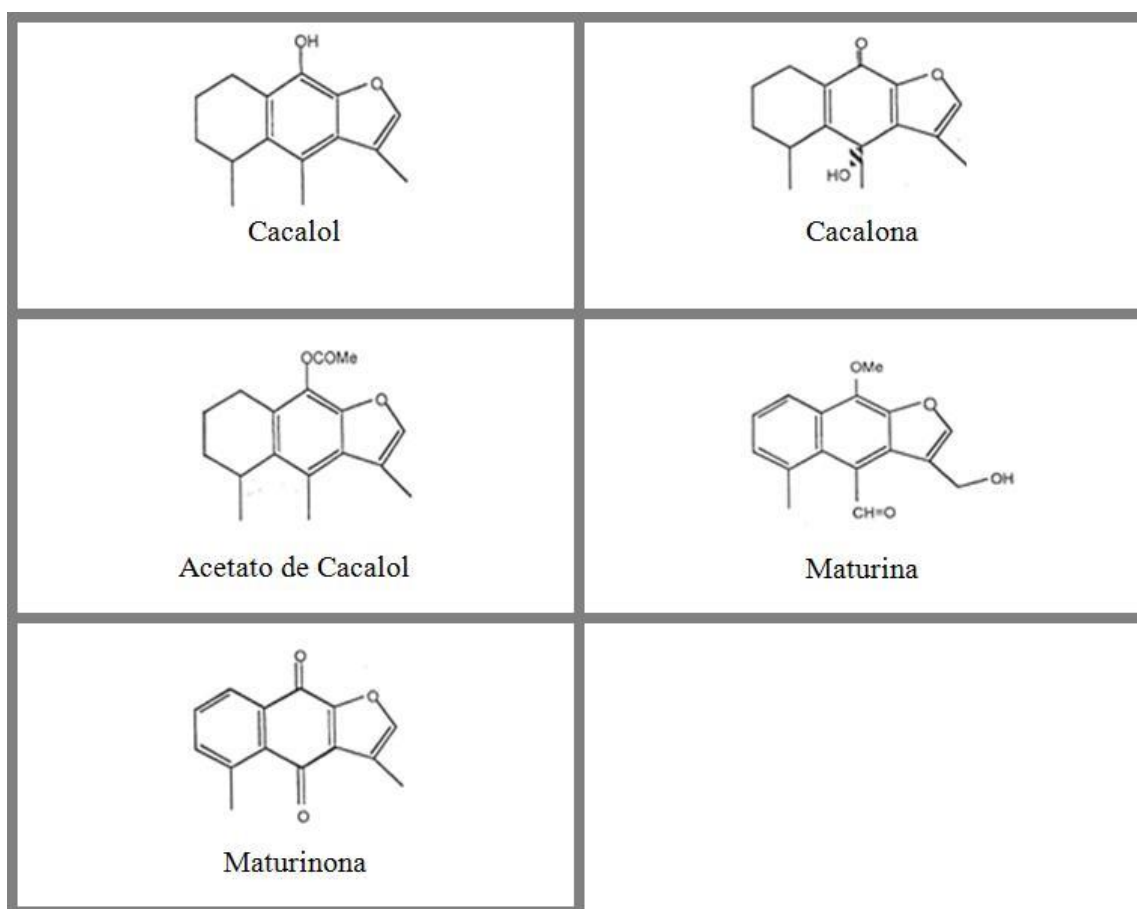


Figura 5. Sesquiterpenoides naturales y transformados de las raíces de *P. decompositum* (Romo y Joseph-Nathan, 1964; Correa and Romo, 1966)

A principios de la década de los 90, Jiménez-Estrada publicó los primeros trabajos sobre la acción biológica de los componentes de la raíz de *P. decompositum*, en los cuales reconoció a la sustancia denominada cacalol como una de las más activas.

Otros estudios con *P. decompositum* han conducido al aislamiento y estudios estructurales de eremofilanos, los cuales tienen efectos en el crecimiento y desarrollo de *Amaranthus hypocondriacus* y *Echinochloa crusgalli* (Anaya y col., 1996).

El extracto acuoso de las raíces presentó actividad contra hongos fitopatógenos, principalmente en contra el crecimiento de *Alternaria*, *Pythium*, *Fusarium* y *Helminthosporium*, siendo un herbicida y fungicida selectivo natural (Anaya y col., 1996).

También se ha probado la actividad antimicrobiana de los extractos metanólico, hexánico y de acetato de etilo de la raíz por el método de antibiograma, encontrándose que los extractos tienen efectos sobre bacterias como: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Jiménez y col., 1992).

Jiménez-Estrada y colaboradores en 1992 demostraron que el cacalol, compuesto más abundante del extracto hexánico de la raíz, posee actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*.

2.9.3 Antecedentes del efecto hipoglucémico de *P. decompositum*

En 1997 Alarcón y colaboradores comprobaron que las decocciones acuosas de las raíces de *Psacalium decompositum* (Gray) H.E. Robins. & Brettell, *Psacalium peltatum* H.B.K. (Cass) y *Acourtia thurberi* (Gray) Reveal & King producen efecto hipoglucémico cuando se administran a ratones normoglucémicos y a conejos con hiperglucemia temporal, lo que sustenta el uso de estas tres especies del complejo matarique en el tratamiento de la diabetes.

Inman y colaboradores (1998) describieron propiedades hipoglucemiantes de la epicacalona, cacalona, cacalol y dimaturina; éstos redujeron significativamente los niveles de glucosa en plasma de ratones genéticamente obesos y diabéticos C57BL-6J ob/ob.

Sin embargo, Alarcón y col. en el año 2000^a y 2000^b señalan que al inyectar intraperitonealmente el producto transformado del cacalol (acetato de cacalol) y los sesquiterpenos mayoritarios de la raíz (cacalol, cacalona y maturina) en ratones sanos y con diabetes experimental no se observó efecto hipoglucémico. Los mismos investigadores indican que el extracto acuoso y las fracciones polares de éste, administrados por vía intraperitoneal, reducen significativamente los niveles de glucosa sanguínea de manera dosis-dependiente en ratones normales y con diabetes inducida con alloxana.

Cabe mencionar también los resultados obtenidos con el compuesto peltalosa (Figura 6), un glúcido con actividad hipoglucemiante del tipo ulopiranososa que fue aislado del extracto acuoso de las raíces de *P. peltatum* por Contreras y col. en el 2005; éste mostró efecto a una dosis de 100 mg/kg, equivalente al de una dosis de 50 mg/kg de tolbutamida o 0.1 U.I./kg de insulina en ratones diabéticos por la administración de alloxana.

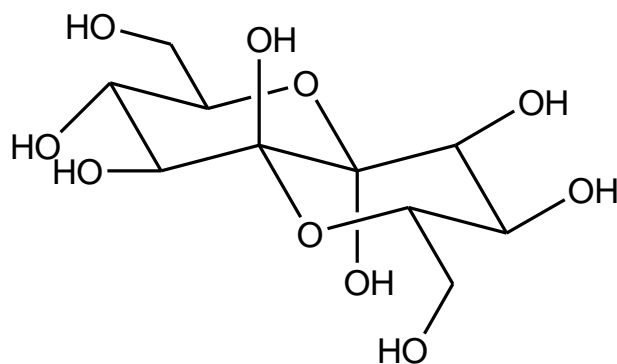


Figura 6. Estructura de la peltalosa (U) aislada de las raíces de *P. peltatum* (Contreras, 2005)

Del extracto hexánico, los sesquiterpenos cacalol y cacalona mostraron actividad antiinflamatoria en una relación dosis-dependiente en modelos de inflamación inducida por acetato de 12-O-tetradecanoil forbol (TPA) y carragenina. La cacalona mostró actividad más prominente (Jiménez y col., 2006).

En 2011 Jiménez y col. reportaron que la fracción acuosa *P. decompositum* contiene polisacáridos de tipo fructano (con 7 unidades de fructosa y una glucosa) con efecto hipoglucémico en ratones sanos y con diabetes inducida por alloxana (Figura 7).

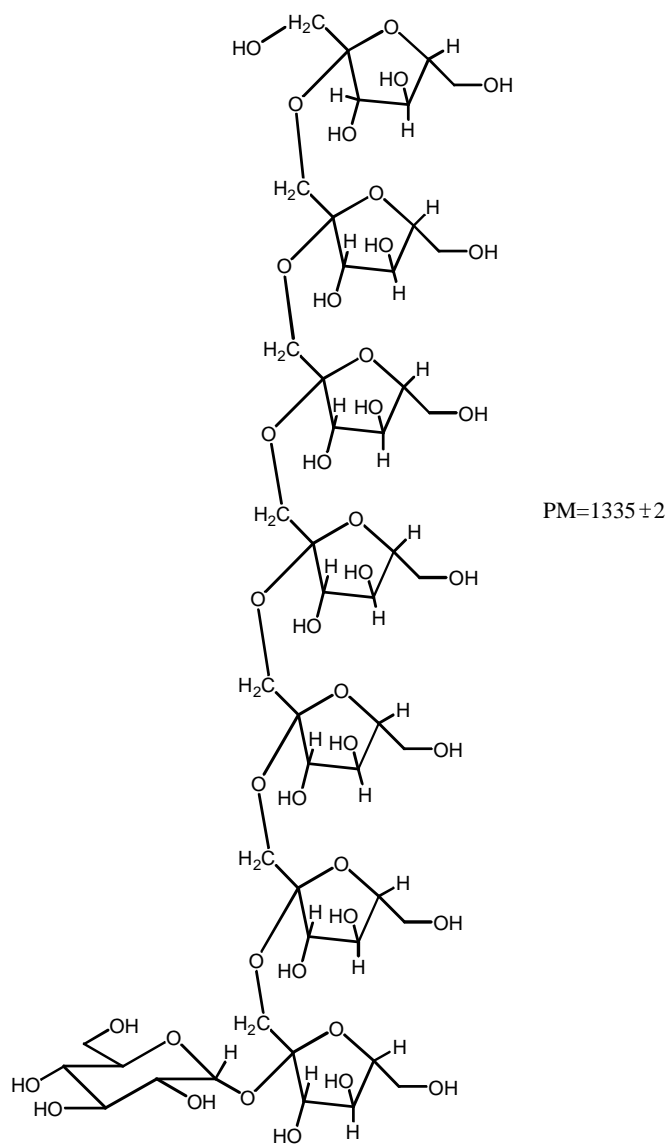


Figura 7. Estructura de la fructana, compuesto tipo inulina aislado de las raíces de *P. decompositum* (Jiménez, 2011)

Mientras que las propiedades hipoglucemiantes de las raíces de *P. decompositum* han sido ampliamente estudiadas, las potenciales propiedades antiinflamatorias e hipolipemiantes de la fracción con fructooligosacáridos aún no se han investigado.

3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SM es uno de los mayores retos en la Salud Pública y una de las principales causas de mortalidad mundial, ya que no sólo predispone al desarrollo de desórdenes metabólicos (hígado graso no alcohólico, obesidad, DM2, hipertensión, dislipidemia, disfunción endotelial y aterosclerosis) sino que también es un factor desencadenante de la enfermedad cardiovascular catastrófica e incapacitante.

Principalmente se observa en poblaciones en desarrollo, en donde se consumen dietas ricas en carbohidratos y lípidos (principalmente por el consumo de bebidas y alimentos procesados endulzados con sacarosa y jarabe de maíz alto en fructosa) aunado a poca actividad física y con gran predisposición genética, como en nuestro país; con cambios tan importantes en el estilo de vida, los marcadores y factores de riesgo son cada vez más evidentes (obesidad, sedentarismo, tabaquismo, relación cintura/cadera, índice de masa corporal).

El promedio de consumo de fructosa en adolescentes y adultos es de 40 g/día, de los cuales 13 g provienen de fuentes naturales y 27 g de alimentos o bebidas adicionadas con fructosa. Es interesante señalar que dos refrescos de 355 mL pueden aportar 50 g de fructosa (200 kcal), que contribuyen a sobrepasar los requerimientos energéticos de una persona adulta (Elliott y col., 2002).

La prevalencia del SM en México ha aumentado en forma alarmante, dos de cada tres mexicanos padecen obesidad y/o sobrepeso. La preocupación radica

fundamentalmente en el aumento de enfermedad coronaria, infarto al miocardio y accidente vascular cerebral.

El tratamiento terapéutico del paciente con SM comprende el empleo de diferentes antidiabéticos, antihipertensivos, antihiperlipidémicos, etc., que permiten controlar las manifestaciones clínicas y en el mejor de los casos, disminuir el riesgo de las complicaciones cardiovasculares asociadas al SM.

Sin embargo, aún no existe en la clínica un fármaco eficaz y seguro que por sí solo prevenga o modifique al SM. La posibilidad de encontrar un nuevo fármaco con efectos favorables en más de una de las manifestaciones clínicas asociadas al SM permitiría iniciar el desarrollo de un nuevo medicamento cuya versatilidad farmacológica permitiría abordar este problema de salud de manera integral.

En la presente investigación se emplearán ratas alimentadas con fructosa para inducir SM (Ferreira de Moura, 2009) y establecer si un compuesto aislado de la raíz de *P. decompositum* que, además de ser hipoglucemiante, tenga propiedades antiinflamatorias e hipolipemiantes, lo cual permitiría prevenir o modificar las manifestaciones clínicas de dicho síndrome.

4. HIPÓTESIS

La administración repetida por vía intragástrica de los compuestos hipoglucemiantes (fructooligosacáridos) obtenidos del extracto acuoso de la raíz de *Psacalium decompositum*, en ratas con SM inducido por fructosa, modificará el establecimiento y/o desarrollo de las manifestaciones clínicas de dicho síndrome.

4.1 Objetivo General

Evaluar el potencial antiinflamatorio e hipolipemiante de un compuesto polisacárido obtenido de las raíces de *P. decompositum* y determinar si modifica el desarrollo del SM inducido por la administración de fructosa en ratas.

4.2 Objetivos Particulares

1. Obtener cantidades suficientes del polisacárido de las raíces de *P. decompositum* y comprobar su estructura química por medio de técnicas espectrométricas y espectroscópicas (CC y RMN).
2. Establecer parámetros de SM por la administración de fructosa (agua y alimento) a través de la cuantificación de los niveles séricos de glucosa, colesterol, triglicéridos, peso corporal e índice Lee.
3. Determinar el efecto del polisacárido obtenido de las raíces de *P. decompositum* sobre los niveles séricos de glucosa, colesterol, triglicéridos y peso corporal, después de establecerse el SM.

4. Determinar el efecto del polisacárido obtenido de las raíces de *P. decompositum* sobre los niveles de la transaminasa glutámico pirúvica (GPT) y la transaminasa glutámico oxalacética (GOT).

5. Determinar el efecto del polisacárido de las raíces de *P. decompositum* sobre los niveles de 8 citocinas proinflamatorias vinculadas con la obesidad (IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 α , IL-1 β , VEGF, TNF- α y leptina).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos planteados en esta tesis, la estrategia experimental se planeó en dos etapas: estudios fitoquímicos y pruebas de actividad biológica con *P. decompositum* en ratas.

5.1 Material vegetal

Las raíces de la planta fueron proporcionadas por el Dr. Robert Bye Boettler del Instituto de Biología, UNAM, colectadas en la localidad de Norogachi, ubicada en el municipio de Guachochi, Chih., siendo sus coordenadas geográficas 27°16'25" latitud norte, 107°07'56" longitud oeste y una altitud de 2,131 m.s.n.m.

La identificación taxonómica de la planta fue determinada empleando claves taxonómicas y comparándola con ejemplares localizados en el herbario de Plantas Medicinales del Instituto Mexicano del Seguro Social (Herbario IMSSM, No. 11489).

5.2 Obtención de los extractos de la raíz de *Psacalium decompositum*

La raíz de *P. decompositum* (1.980 K) seca y fragmentada se maceró a temperatura ambiente con hexano (11 L/24 h /4 veces) con el fin de extraer los compuestos menos polares. Posteriormente, al material vegetal residual se le agregó agua a temperatura ambiente (11 L/24 h/5 veces). El agua se dejó evaporar a la temperatura del laboratorio en recipientes de superficie amplia, con la ayuda de ventiladores diseñados en el laboratorio (Figura 8) durante una semana, evitando calentar el extracto. A continuación el extracto seco se raspó con un bisturí, obteniendo un

residuo sólido amorfo, con una coloración café oscura y con un olor que no se pudo precisar. El rendimiento del extracto hexánico fue de 0.06% (12 g) y del extracto acuoso fue del 21.5% (427 g).

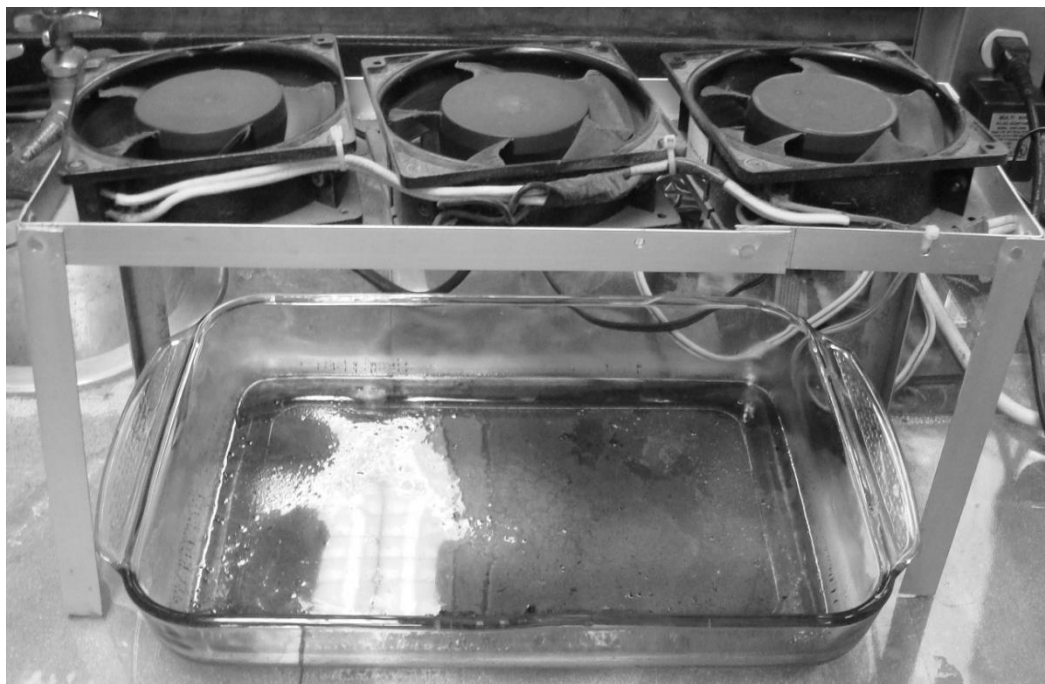


Figura 8. Dispositivo diseñado en el laboratorio para acelerar la evaporación de los disolventes.

Los extractos resultantes se maceraron con MeOH (500 ml/1 h/10 veces), con el propósito de extraer los compuestos de baja y/o mediana polaridad y dejar en la parte soluble en agua sólo los compuestos polares y de ahí obtener la fracción rica en polisacáridos (FOS) de acuerdo con el siguiente esquema:

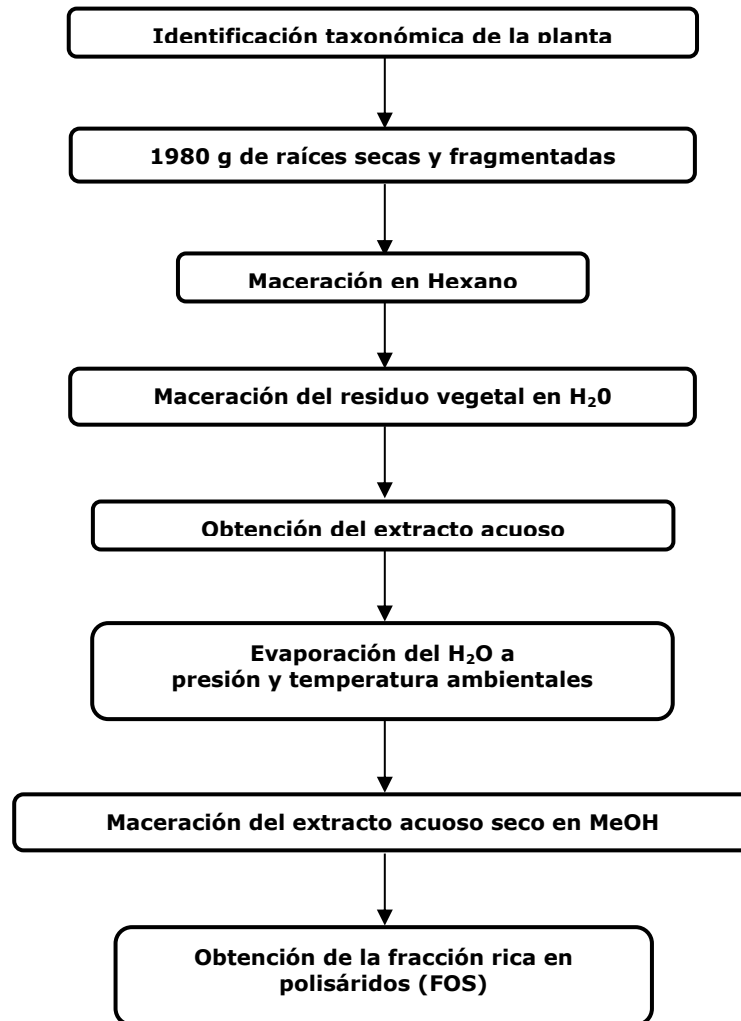


Diagrama 1. Procedimiento para la obtención de la fracción rica en FOS de las raíces de *P. decompositum*.

5.3 Procedimiento para cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC)

Todas las fracciones se aplicaron sobre placas de gel 0.2 mm nano-sílice 60 de HPTLC. Las placas se eluyeron a una distancia de 90 mm con una mezcla de ácido acético agua cloroformo-*n*-butanol-metanol- 5,5: 11,0: 5,0: 1,5: 2,0 (v/v) como fase móvil a temperatura ambiente (alrededor de 25 °C). Las placas reveladas se rociaron con solución de ácido anilina-difenilamina-fosfórico y se calentaron a 130 °C durante 10 min o se rociaron con una solución de alfa-naftol (10%) y, calentándose a 105 °C durante 10 min, las bandas de color se formaron claramente.

5.4 Análisis de la fracción FOS por resonancia magnética nuclear (RMN)

La fracción FOS (10 mg) se disolvió en D₂O (óxido de deuterio) y se analizaron en un espectrómetro Varian Gemini operando a 500 MHz para ¹H. Los desplazamientos químicos se indican en unidades δ (ppm) y se compararon con los descritos anteriormente (Jimenez, 2011). Anexo

Fracción FOS: ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 5.48 ppm (*J* = 3.3 Hz), 4.26 (1H, d, *J* = 8.2) and at 4.12 (1H t, *J* = 8.7, *J* = 8.2), 3.86 (H5, s), 3.76 (H6a, m) and 3.83 (H6b, bs), 3.82 (1H, dg, *J* = 10 Hz), 3.71 ppm (1H, dg, *J* = 10 Hz), 3.56 (1H), 3.84 (1H, m), 3.76 ppm (1H, m). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 93.23 (C-1), 104.05 (C-2), 81.92 (CH-5), 77.90 (CH-3), 75.20 (CH-4), 62.87 (CH2-6), 61.80 (CH2-1).

5.5 Animales

El manejo de animales de laboratorio siguió las reglas para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Regla Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999, revisada en 2001) y la guía internacional para el cuidado y uso de animales de laboratorio NRC 2002. Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por los comités locales de ética en experimentación animal (UAM y FM-UNAM). Veinticuatro ratas Wistar macho se obtuvieron del bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana. Ratas de 12 semanas y 200-250 g de peso corporal se mantuvieron en sus condiciones habituales, con humedad controlada (55%) a 21 ± 1 °C de temperatura con 12/12 h de ciclo luz-oscuridad.

El alimento empleado fue Teklad Global 18% de proteína (dieta específica para roedores, Harlan Laboratories) conteniendo un porcentaje de proteínas (18,6%), hidratos de carbono (44,2%) y grasa (6,2%). La dieta con jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) fue del 20% en alimento y agua potable (Fórmula 55, v/v en agua potable).

Las ratas inicialmente se dividieron en dos grupos, 6 para el grupo normal y 18 para el grupo tratado con fructosa (Fru); se mantuvieron durante 12 semanas bajo las siguientes condiciones: el grupo normal con alimento y agua habituales y el segundo grupo se mantuvo con 20% de fructosa en alimento y agua.

Al final de este periodo, el grupo normal se mantuvo bajo las mismas condiciones, mientras que el segundo grupo se dividió en tres: grupo Fru, tratado únicamente con solución salina isotónica S.S.I. (4 ml/kg/día, control negativo); grupo Fru + Beza, tratado con bezafibrato (30 mg/kg/día, control positivo) y el grupo Fru + FOS, administrado con la fracción FOS (150 mg/kg/día). Todos los tratamientos se administraron por vía intragástrica y las dosis se determinaron con base en estudios previos de la fracción FOS (Jiménez, 2011).

Los grupos Fru, Fru + Beza y Fru + FOS se mantuvieron en las condiciones iniciales de dieta; todos los tratamientos fueron administrados durante otras 12 semanas. Se midió el peso y el índice Lee (índice de obesidad utilizado en roedores, calculándose como la raíz cúbica del peso corporal (g) x 10/longitud naso-anal (mm)); los animales con valores iguales o inferiores a 0.30 fueron clasificados como normales, mientras que animales con valores superiores a 0.30 se les consideró obesos. Dichos parámetros metabólicos se midieron mensualmente. Los grupos se mantuvieron en jaulas con cuatro animales en cada una.

5.6 Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral (PTGO)

Se cuantificó la glucemia en los días 30, 60 y 90 en animales en ayunas (12 h) a partir de muestras de sangre extraídas de la vena de la cola. Al final del experimento, se realizó la PTGO en todos los grupos. La glucosa se administró en el estómago a través de una cánula a una dosis de 2 g/kg de peso corporal (disuelta en agua) y los niveles de glucosa se midieron a los 0, 30, 60, 90 y 120 min utilizando un glucómetro

Accutrend Sensor (Roche). La PTGO en ratas no diabéticas se realizó de acuerdo con el modelo de Tai (el área total bajo la curva se calculó dividiendo el área bajo la curva entre dos valores designados en el eje de las X en rectángulos y triángulos). La suma total de estas áreas individuales representó el área total bajo la curva (Tai, 1994).

5.7 Parámetros Bioquímicos

La cuantificación de colesterol total (Chol), triglicéridos (TG), transaminasa glutámico-pirúvica (GPT) y transaminasa glutámico-oxalacética (GOT) se realizó con un sistema Reflotron (Bayer), empleando muestras de sangre extraídas de la vena de la cola en los días 30, 60 y 90 en animales en ayunas (12 h). Las mediciones de peso corporal y niveles circulantes de colesterol, triglicéridos, glucosa y transaminasas hepáticas se realizaron a lo largo de todo el estudio, mientras que los biomarcadores de inflamación sólo se cuantificaron al final del tratamiento.

5.8 Cuantificación de citocinas

Los niveles de citocinas en suero se cuantificaron siguiendo el protocolo del fabricante del kit comercial ELISA (Signosis) especial para ratas, con el fin de obtener el perfil de 8 citocinas (IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 α , IL-1 β , VEGF, TNF- α y leptina) relacionadas con la obesidad. Al final de la prueba (día 90 de tratamiento), se obtuvieron muestras de sangre por punción cardiaca de animales anestesiados con pentobarbital. Las muestras se corrieron sin repetición.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresan con la media \pm el error estándar de la media (E.E.M.); para determinar diferencias estadísticas en cada tiempo de registro se compararon las medias de los grupos tratados y del grupo control a través de un análisis de varianza (ANOVA). Para determinar qué medias de los grupos tratados con la fracción FOS fueron estadísticamente significativas con respecto a la media del grupo control, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey. El análisis de citocinas se basó en el porcentaje del grupo normal. Los valores de *P* iguales o menores a 0.05 fueron considerados significativos. Todas las pruebas estadísticas se calcularon utilizando NCSS 2000 (software NCSS, Kaysville, UT, EE.UU.).

7. RESULTADOS

De acuerdo con la Tabla 4, después de 12 semanas de tratamiento, se observaron incrementos en peso corporal, índice Lee, triglicéridos y niveles de GPT ($p < 0,05$); los demás parámetros se mantuvieron estables en comparación con el grupo normal.

Tabla 4. Efecto de la fructosa sobre el peso y parámetros bioquímicos en ratas alimentadas con fructosa por 12 semanas.

	Normal	Fru
Peso corporal (g)	307.8 ± 5.6	378.5 ± 10.2 *
Índice de Lee	0.28 ± 0.001	0.30 ± 0.002 *
Glucemia en ayunas (mg/dL)	101.8 ± 2.5	94.6 ± 4.1
ABC de la prueba de tolerancia a la glucosa (mg/dL/120 min)	16,800 ± 984 (140 mg/dL)	18,000 ± 696 (150 mg/dL)
Colesterol total (mg/dL)	100 ± 0.0	100 ± 0.0
Trigliceridos (mg/dL)	70 ± 0.00	189 ± 21.8 *
GPT (UI/L)	5.08 ± 2.6	19.3 ± 8.0 *
GOT (UI/L)	10.6 ± 2.8	12.3 ± 8.5

Media ± E.E.M. (n = 24). * Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal ($p < 0,05$); ABC: área bajo la curva; Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas sin tratamiento alimentadas con fructosa.

La Tabla 5 muestra los resultados con la fracción FOS. Es visible un incremento en el peso corporal, colesterol, triglicéridos, GOT, GPT y glucosa en la prueba de tolerancia de glucosa a los 120 min en animales con dieta rica en fructosa, en comparación con los animales con dieta normal. Los grupos tratados con bezafibrato y la fracción FOS mostraron diferencias en peso corporal, índice Lee, colesterol y niveles de triglicéridos en comparación con los animales tratados con solución salina isotónica. No mostraron diferencias en relación con los animales de dieta normal. La glucemia en animales en ayunas no se alteró después de la dieta rica en fructosa en cualquiera de los grupos experimentales en comparación con los animales con dieta normal y no se observó reducción en el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa

de los animales tratados con bezafibrato y FOS a los 120 min. Se observaron resultados similares con GOT y GPT.

Tabla 5. Efecto de la fracción FOS sobre el peso y parámetros bioquímicos en ratas alimentadas con fructosa por 24 semanas.

	Normal	Fru	Fru + Beza	Fru + FOS
Peso corporal (g)	490 ± 27.8	610 ± 9.1 *	463 ± 46.0 &	472 ± 15.8 &
Índice de Lee	0.295 ± 0.003	0.33 ± 0.000 *	0.303 ± 0.002 &	0.303 ± 0.002 &
Glucemia en ayunas (mg/dL)	96 ± 2.4	106.7 ± 2.9	100.7 ± 2.8	99 ± 2.6
ABC de la prueba de tolerancia a la glucosa (mg/dL/120 min)	16,560 ± 612	19,920 ± 1128 *	18,000 ± 984	18,360 ± 816
Colesterol total (mg/dL)	106 ± 4.0	128.5 ± 1.5 *	101.7 ± 1.7 &	102.7 ± 2.7 &
Triglicéridos (mg/dL)	79.5 ± 7.6	205.2 ± 34.4 *	82.5 ± 11.8 &	95.5 ± 19.6 &
GPT (UI/L)	3.6 ± 0.8	30.2 ± 3.4 *	18.8 ± 7.9	12 ± 5.0
GOT (UI/L)	3.2 ± 0.5	38.7 ± 5.1*	22.7 ± 10.2	15.7 ± 7.3

Media ± E.E.M. (n = 6). * Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; & estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con Fructosa (p <0,05); ABC: área bajo la curva; Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas sin tratamiento alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

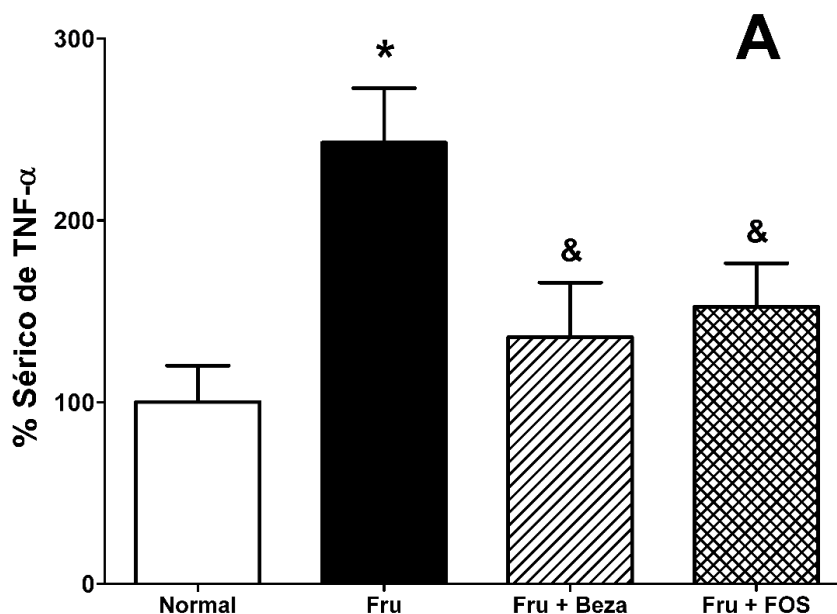


Figura 9. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de TNF- α ; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; & Estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

Las figuras (9-14) muestran el efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de citocinas y una hormona relacionadas con el proceso inflamatorio, estrechamente asociadas con la obesidad. En el caso de TNF- α se incrementó en los animales con una dieta rica en fructosa con respecto al grupo normal (242.65%). Por otro lado, los tratamientos con bezafibrato y la fracción FOS disminuyeron (55.95% y 62.78%, respectivamente); esta citocina mostró valores cercanos a los observados en el grupo normal, en comparación con el grupo alimentado con dieta rica en fructosa (Figura 9).

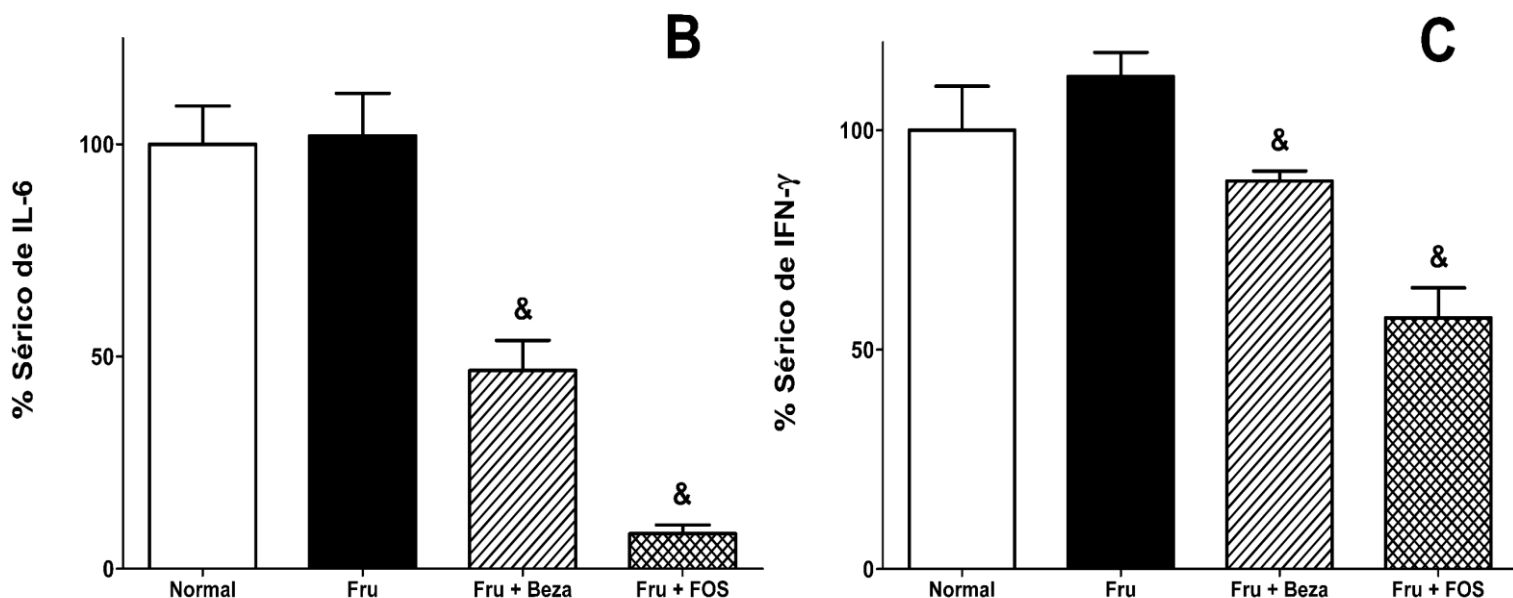


Figura 10. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de IL-6 e IFN- γ ; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; &Estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

No se observaron diferencias significativas en IL-6 e IFN- γ entre los grupos alimentados con dieta rica en fructosa y los grupos normales; sin embargo, los grupos tratados con la fracción FOS mostraron una evidente disminución de estas citocinas. (8.08% y 50.99%, respectivamente) y bezafibrato (45.75% y 78.76%, respectivamente)

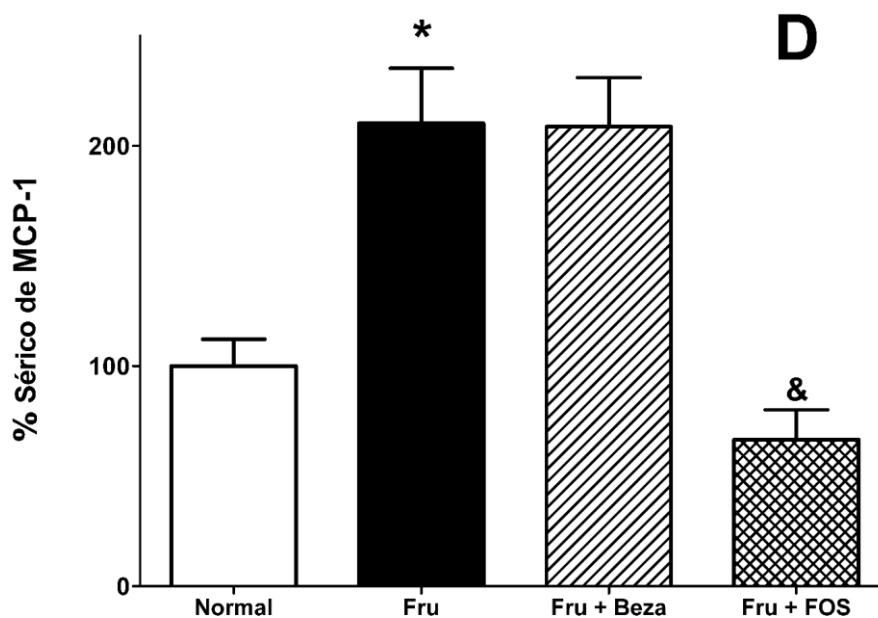


Figura 11. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de MCP-1; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; &Estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

MCP-1 mostró un aumento significativo en los animales tratados con fructosa en comparación con el grupo normal (210.22%); Con esta citocina, solamente la fracción FOS redujo claramente los niveles en sangre de este marcador (31.64%) en comparación con el grupo Fru. El grupo tratado con bezafibrato no afectó el porcentaje sérico de MCP-1.

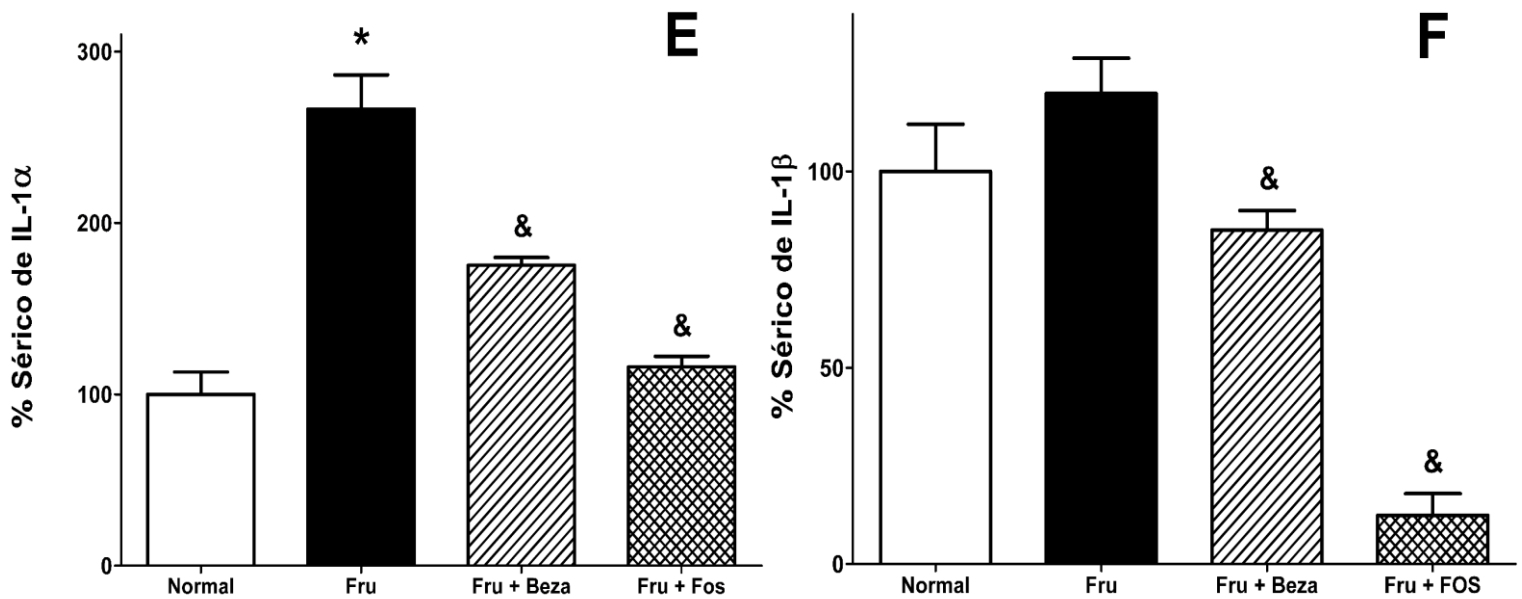


Figura 12. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de IL-1 α e IL-1 β ; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; &Estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

De acuerdo con la figura 12, IL-1 α se incrementó considerablemente en el grupo con dieta rica en fructosa (266.48%) en relación al grupo normal; para los grupos que recibieron bezafibrato y fracción FOS, los niveles de IL-1 α fueron menores que los observados en el grupo Fru (65.79% y 43.53% menos, respectivamente). IL-1 β mostró aumento en los animales que recibieron fructosa en comparación con los animales normales, mientras que los niveles de esta citocina disminuyeron en los animales tratados con bezafibrato (70.93%), el mayor efecto se observó en la descenso que produjo la fracción FOS (10.36%, F).

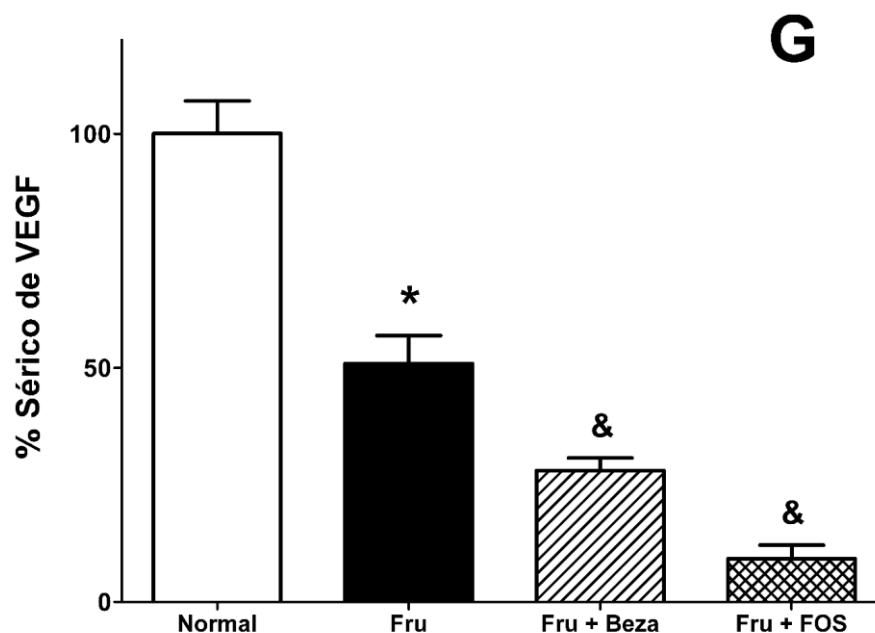


Figura 13. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de VEGF; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; &Estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

VEGF evidenció un efecto interesante en sus niveles, disminuyó en el grupo Fru (50.88%), en comparación con el grupo normal; en los grupos tratados con bezafibrato y la fracción FOS los niveles disminuyeron (45.86% y 81.92%, respectivamente), con respecto al grupo tratado con dieta rica en fructosa.

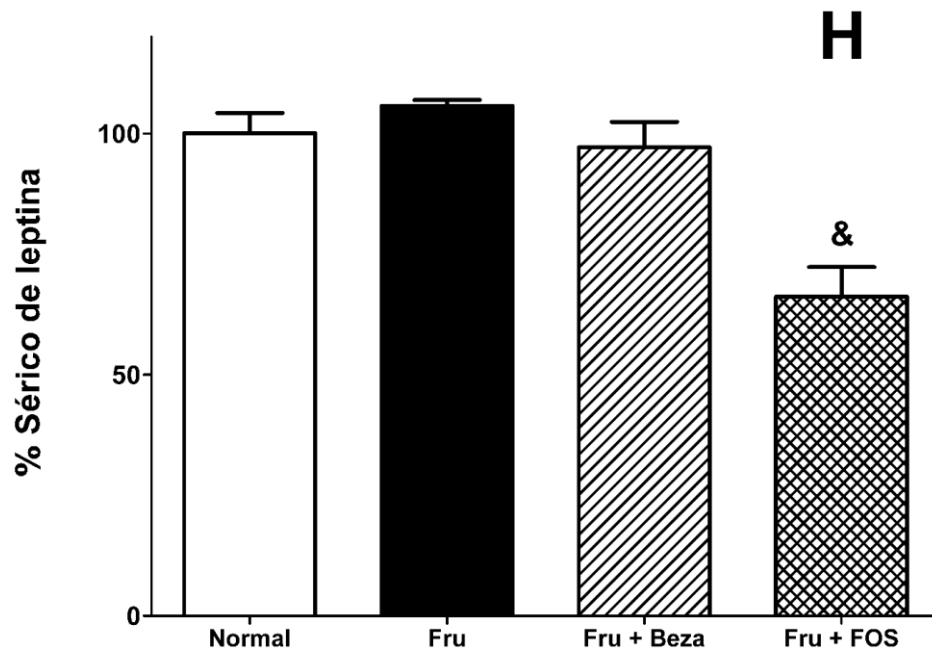


Figura 14. Efecto de la fracción FOS en los niveles séricos de leptina; media \pm E.E.M. (n=6). *Estadísticamente significativo comparado con el grupo normal; &estadísticamente significativo comparado con el grupo tratado con fructosa ($p < 0,05$). Normal: ratas sanas sin tratamiento; FRU: ratas alimentadas con fructosa; Fru + Beza: ratas obesas tratadas con bezafibrato; Fru + FOS: ratas obesas tratadas con la fracción FOS.

Por último, los niveles séricos de leptina no se vieron afectados en los grupos con dieta rica en fructosa ni en el tratado con bezafibrato. Sin embargo, la fracción FOS originó una reducción significativa de esta hormona en comparación con el grupo control tratado con fructosa (62.59%).

8. DISCUSIÓN

El extracto acuoso de *P. decompositum* fue elegido por su empleo en la medicina tradicional mexicana. De los extractos acuosos se aisló un compuesto tipo inulina y se reportó como el compuesto responsable de la actividad hipoglucémica (Jiménez, 2011). Una vez que se obtuvo la fracción FOS y se caracterizó, este material se evaluó en ratas Wistar macho para valorar el potencial de la fracción FOS en el proceso inflamatorio y dislipidemia. El presente estudio proporciona información acerca de las actividades antiinflamatorias e hipolipemiantes de esta especie.

La fracción FOS no afectó los niveles de glucosa en ninguno de los grupos tratados en las pruebas de glucemia. No existen diferencias significativas entre los grupos tratados con bezafibrato y la fracción FOS para ratas con 12 y 24 semanas respecto a la prueba de tolerancia a la glucosa. Para el grupo tratado con solución salina isotónica hubo diferencias significativas en comparación con el grupo normal a los 120 min. Por otro lado, los grupos tratados con bezafibrato y fracción FOS no mostraron ninguna diferencia a 120 min, en comparación con el grupo Fru. En otros estudios, la fructosa se ha empleado al 60% en alimentos, lo que conduce a trastornos metabólicos en menor tiempo, desarrollando intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia. En este estudio, se utilizó una dosis mucho menor que la reportada para el efecto hipoglucémico (Ramesh y Saralakumari, 2012).

El consumo de alimentos implica la ingesta de calorías, lo que sin duda se relaciona directamente con el incremento de peso. Aunque las mediciones se realizaron al inicio del experimento, las condiciones en las que se mantuvieron los animales durante el experimento (4 ratas/caja), no permiten precisar adecuadamente la cantidad (g) de alimento consumido por día por animal. Sin embargo, este aspecto debe ser considerado en otros estudios con la fracción FOS para determinar el impacto de la ingesta de alimento/calorías en el aumento de peso.

Estudios recientes confirman cambios en el perfil de lípidos plasmáticos, sin incremento aparente de peso después de 10 semanas de acceso intermitente a una solución de fructosa al 12.5% (Figlewicz, 2009). Otros efectos adversos desarrollados por el aumento en la ingesta de fructosa incluyen efectos negativos sobre las funciones cardiovasculares y renales (Lindqvist, 2008; Abdullah y col., 2009; Bocarsly, 2010).

El alto consumo de fructosa se encuentra ligado al desarrollo de signos del síndrome metabólico en ratas Wistar adultas (Alzamendi y col., 2009). La acumulación de altos niveles de triglicéridos y grasa observados en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa en el presente estudio explica el aumento de peso corporal. El aumento de grasa corporal conduce a cambios crónicos en la leptina y en la sensibilidad a la insulina, a través de la pérdida de las señales de saciedad hormonales (Elliot, 2002; Strader y De Moura, 2009).

Podemos especular que la fracción FOS, igual que otros mecanismos de fibra en la dieta, generan cambios en la viscosidad intestinal, absorción de nutrientes, velocidad de paso, producción de ácidos grasos de cadena corta y producción de hormonas intestinales (Kusminski, 2007).

La mayoría de los beneficios otorgados al consumo de prebióticos se encuentran asociados a la optimización de la función y metabolismo del colon, como el incremento en el peso de la materia fecal, la reducción en el pH del intestino, la disminución de productos nitrogenados finales y modulación del sistema inmune (Saad y col., 2013). De igual forma, se sugiere que las modificaciones de la biota intestinal por la ingestión de prebióticos interactúan con la respuesta inmunológica del intestino y por su asociación con el tejido linfoide, proveen efectos protectores sistémicos (principalmente respiratorios y en piel) más allá de sólo proteger el sistema gastrointestinal (Wang, 2009). Aunque no existe información suficiente sobre cómo los microorganismos del hospedero reconocen a los prebióticos ingeridos en el proceso de la expresión moduladora del sistema inmune, se propone que las respuestas inmunes innatas son activadas mediante su interacción con fracciones de los oligosacáridos (Saad y col., 2013).

Entre los innumerables tratamientos para reducir los triglicéridos séricos por medio de la modificación de hábitos alimentarios, se encuentra la ingestión terapéutica de prebióticos. Los efectos hipotrigliceridémicos de fructooligosacáridos, almidones resistentes e inulina han sido descritos recientemente por Delzenne y col. (2002) en animales y posteriormente en humanos (Delzenne y col., 2005).

El hígado juega un papel primordial en la homeostasis de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos, ya que es el encargado de la síntesis y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). En modelos animales se ha comprobado que tras la ingesta de prebióticos existe una disminución en la capacidad del hígado para la síntesis de lípidos (principalmente VLDL), ocasionada por una reducción en la actividad en todas las enzimas lipogénicas (acetil-CoA sintetasa, enzima málica, ATP citratoliasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), hasta en 50% (Delzenne y col., 2002). La baja tasa lipogénica del hígado, posterior al consumo de prebióticos, especialmente de oligofructosa, sugiere que su administración podría disminuir la expresión genética de las enzimas lipogénicas (Delzenne y Kok, 2001). Los resultados en humanos son menos contundentes, en estudios clínicos realizados se propone a la inulina como el prebiótico con más efecto en comparación a la oligofructosa (Saad y col., 2013).

Los efectos de la administración de prebióticos en la síntesis de lípidos y la concentración de insulina y glucosa plasmática postprandial, en animales, ha sido descrita ampliamente desde los años noventa. La administración de almidones resistentes a la digestión demostró una disminución significativa en la concentración de triacilglicéridos en sangre, descenso en la actividad enzimática asociada a lípidos y disminución en la insulina sérica después de la ingesta de alimentos (Takase y col., 1994).

Respecto a la investigación en humanos, los efectos aún no están del todo elucidados. Sin embargo, se considera que la suplementación de prebióticos genera los siguientes efectos: 1) retardo en el vaciamiento gástrico al comparar los índices glucémicos después de diferentes dietas, 2) reducción de la hidrólisis del almidón en el duodeno y 3) incremento en las concentraciones plasmáticas del péptido intestinal (péptido similar al glucagón 1 y péptido YY). Todos ellos podrían contribuir, en parte, a los cambios en la sensación de apetito y en las respuestas de la glucosa posterior a la ingesta de alimentos (Cani y col., 2009).

La posible relación entre el incremento en la concentración de péptidos intestinales y la pérdida de peso corporal ha sido poco estudiada en humanos, limitándose a evaluar los efectos en la saciedad. Por otro lado, se ha estudiado el efecto de los prebióticos como moduladores del metabolismo y del peso corporal tras la reducción de un proceso inflamatorio inducido por la dieta. Las dietas altas en grasa producen un estado llamado endotoxemia (presencia de endotoxinas en el torrente sanguíneo) el cual se promueve cuando disminuyen las proporciones de bifidobacterias a causa de un aumento de lipopolisacáridos en el intestino, acompañada de resistencia a la insulina y aumento de peso corporal. La suplementación con FOS ha demostrado disminuir la endotoxemia, restaurando el nivel óptimo de bifidobacterias y consecuentemente mejorando la tolerancia a la glucosa, incrementando la saciedad, reduciendo la producción de glucosa y disminuyendo el peso corporal en humanos (Kootte y col., 2012).

En 2011 Komiyama y col. presentaron resultados de un estudio sobre el uso de prebióticos, entre ellos un alimento de cebada germinada y su efecto en la biota intestinal. Concluyeron que los prebióticos son un complemento útil en el tratamiento de colitis ulcerativa tan bueno como el tratamiento con antibióticos.

El perfil inflamatorio de las ratas tratadas con una dieta rica en fructosa exhibe citocinas proinflamatorias incrementadas, sugiriendo que este modelo comparte similitudes con el síndrome metabólico en seres humanos, tales como obesidad, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (Astolphi y col., 2013). Varios informes han demostrado un aumento de TNF- α , IL-6, resistina y la expresión de leptina en obesidad, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico (Veličković 2013).

Se ha reportado a TNF- α como el mediador proinflamatorio más importante en la inflamación metabólica. Esta citocina está sobreexpresada en el tejido adiposo de roedores en modelos de obesidad (Senn, 2003). Por lo tanto, la sobreproducción de TNF- α es una característica importante de la obesidad e inflamación metabólica, lo que contribuye significativamente a la resistencia a la insulina. Por otra parte IL-6 es considerada como el origen de la resistencia a la insulina en músculo esquelético e hígado, debido a defectos en la fosforilación del sustrato receptor a insulina, disminuyendo la gluconeogénesis e incrementando la glucogenólisis (Tataranni, 2005; Kim, 2009; Pahan, 2006).

Por lo tanto, la reducción de TNF- α e IL-6 mediante el tratamiento con la fracción FOS puede ser interpretada como consecuencia de su potencial efecto antiinflamatorio.

IFN- γ también se considera otra citocina proinflamatoria potente secretada por linfocitos activados y es capaz de inhibir al receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR- γ), un importante factor nuclear de transcripción de citocinas anti-inflamatorias (Ranjbaran, 2007; Guerre-Millo, 2004). La fracción FOS podría ser capaz de aumentar la expresión de PPAR- γ y disminuir la de IFN- γ ; esto explicaría la reducción de las citocinas pro-inflamatorias. La activación de estas citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-18 e IFN- γ) genera inflamación crónica debido a cambios en el equilibrio entre la producción de citocinas pro-inflamatorias y antiinflamatorias, como IL-10 y adiponectina (Hernández, 2004; Esposito, 2006).

En esta investigación, las ratas tratadas con fructosa mostraron aumento en los niveles de TNF- α , MCP-1 e IL-1 α en suero. Por otro lado, los niveles en suero del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por Vascular Endothelial Growth Factor) mostraron disminución. Todas las demás citocinas mostraron valores similares a los del grupo normal. Las ratas tratadas con fructosa revelaron un incremento en los niveles de TNF- α , observado también en pacientes humanos con diabetes tipo 2 y obesidad. También se reportado una relación directa entre niveles elevados de TNF- α e hiperinsulinemia (Medina, 2002; Maachi, 2004).

El porcentaje de IL-6 en suero fue ligeramente superior en ratas tratadas con fructosa que en las ratas normales. En ratas administradas con fructosa, la contribución del tejido graso en los niveles séricos de IL-6 es baja (adipocitos producen del 10% al 30% del total circulante) y lo demás es secretado por otros tipos celulares (células inmunes, fibroblastos, células endoteliales y células musculares estriadas). La inflamación crónica en el tejido graso implica la infiltración de macrófagos, produciéndose varios tipos de adipocinas (leptina, TNF- α , IL-6, adiponectina y resistina, etc.) que contribuyen a la resistencia a la insulina en animales obesos (Bastard, 2002; Rabe, 2008).

En el caso de la Leptina se ha reportado que actúa principalmente a nivel del sistema nervioso central regulando la ingesta de alimentos y el gasto energético, existiendo una relación entre la leptina y el estado inflamatorio de bajo grado en la obesidad, sugiriendo que la leptina podría ejercer efectos biológicos periféricos como una función estructural de citocinas. En varios trabajos publicados se ha reportado del aumento en la respuesta inflamatoria asociada con la presencia de obesidad e hiperleptinemia, sin que la leptina sea capaz de regular la producción de TNF- α y la activación por macrófagos (Halle, 2003; Martin, 2008). Por lo tanto, los bajos niveles de leptina observados en este trabajo explicarían el efecto antiinflamatorio ocasionado por la fracción de FOS en las ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa.

Diversas evidencias han demostrado que la activación crónica de las vías proinflamatorias intracelulares en células diana a la insulina puede conducir a la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad. A nivel molecular, los mecanismos por los cuales se genera la resistencia pueden ser múltiples y variar de un individuo a otro. Los más comunes son los ácidos grasos libres y sus metabolitos, TNF- α , IL-6, IL-1 β , el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) y las hormonas secretadas por el tejido adiposo, como la resistina (Kim, 2009; Rabe, 2008).

Sin embargo, sería muy valioso saber si fracción FOS afecta a los niveles de insulina; con el fin de entender el posible mecanismo de la actividad hipoglucemiante reportada anteriormente; en este estudio, alteraciones en la insulina por la fracción FOS no se midieron. Por lo tanto, la medición de esta hormona en nuevos estudios con la fracción de FOS serán considerados.

Los FOS inducen profundos cambios metabólicos en la composición y modulación de microbiota intestinal, generando mecanismos antiinflamatorios y efectos inmunomoduladores. Actualmente existen muchos estudios que relacionan el papel de la microbiota intestinal con el desarrollo de desórdenes metabólicos (Malaguarnera, 2012).

Existe una relación recíproca entre el hospedador y su microbiota intestinal. Las modificaciones en la alimentación producen cambios en el número de bacterias, en la proporción de ciertos filotipos (*Firmicutes* y *Bacteroidetes*) y en la transcripción de sus genes, jugando un papel importante en desarrollo de factores asociados al SM. La alteración en los patrones alimentarios, como la edad y la genética, no sólo afectan al equilibrio energético sino que tienen mayor impacto en la modificación de la microbiota intestinal y en la expresión de genes de la misma. Los componentes bacterianos y sus metabolitos, están relacionados con el desarrollo de enfermedades metabólicas (Fernández, 2013).

Algunos autores han señalado un aumento en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* en la microbiota intestinal como marcador de la predisposición a la obesidad y DM2. Sin embargo, otros no reportan en sus estudios diferencias significativas de esta relación entre obesos y normopesos, tanto en modelos animales como en humanos. Los cambios en los hábitos alimentarios podrían explicar hasta el 57% de la variación en la composición de la microbiota intestinal, mientras que los polimorfismos genéticos del hospedador no explicarían más del 12% de la predisposición a padecer SM. Esto indica que la dieta juega un papel importante en el cambio de poblaciones clave de la microbiota intestinal pudiendo transformar el fenotipo saludable en una entidad inductora de enfermedad o viceversa (Roberfroid y col., 2010).

Estudios llevados a cabo en ratones y humanos, demuestran que el fenotipo obeso posee una microbiota intestinal caracterizada por el incremento de su capacidad de obtener energía a partir de la dieta mediante la sobreexpresión de genes relacionados con el metabolismo fermentativo (Bäckhed y col.,2004); los mismos autores demostraron que suministrando microbiota normal a ratones previamente libres de gérmenes resulta, al final de 14 días, en un aumento de la masa grasa de un 60% y una disminución de la sensibilidad a insulina. Turnbaugh y col. (2006) reportaron que ratones alimentados con una dieta occidental (rica en grasa y azúcares) poseían una microbiota intestinal enriquecida en enzimas y rutas metabólicas relacionadas con la hidrólisis de polisacáridos de la dieta, síntesis de ácidos grasos, metabolismo de azúcares simples y proteínas del sistema fosfotransferasa (PTS).

Las células epiteliales intestinales constantemente están sometidas a estrés citotóxico, metabólico y patogénico que puede producir una rotura en la barrera intestinal, el paso de componentes microbianos y la respuesta proinflamatoria correspondiente (Harris y col., 2012).

Cani y col. (2007) indicaron que la alimentación rica en grasas aumenta el LPS (lipopolisacárido) plasmático de dos a tres veces su valor normal (de 10-50 veces menor que los niveles asociados a septicemia o infecciones) a la vez que disminuía la población de *Bifidobacterium* spp., implicada en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal.

Este incremento de LPS está relacionado con el aumento de peso corporal, aumento del tejido adiposo, incremento de la glucemia en ayunas, resistencia a insulina y un estado inflamatorio crónico: niveles elevados de (TNF- α , IL-1 e IL-6 y PAI-1 Inhibidor del activador del plasminógeno) (Shen y col., 2012).

El TNF- α liberado al torrente sanguíneo está asociado con la fosforilación y activación de la señal intracelular JNK (cinasa c-Jun N-terminal) en el músculo esquelético e inhibe la transducción de la señal en respuesta a la insulina mediante la fosforilación de la serina del IRS-1 (Receptor de sustrato de insulina). Esto conduce a una hiperinsulinemia y a un excesivo almacenamiento de lípidos en los tejidos adiposo y hepático. La activación de JNK a su vez aumenta la liberación de citocinas proinflamatorias iniciando un círculo vicioso. De manera similar los ácidos grasos libres pueden iniciar la misma secuencia de eventos mediante la activación de JNK, interfiriendo con la acción de la insulina (Shen y col., 2012).

Debido a la plasticidad de la microbiota intestinal, el uso de determinados componentes como prebióticos puede modular el ecosistema intestinal para mejorar la salud del individuo. El uso de prebióticos provee a la microbiota intestinal de una fuente de sustrato adicional para su metabolismo fermentativo, elevando la concentración de ácidos grasos de cadena corta en el intestino, los cuales se han relacionado con efectos beneficiosos para la salud del hospedador (Fernández, 2013).

En humanos no se han reportado muchos estudios acerca del efecto de los prebióticos en el metabolismo lipídico, los que hay, señalan la utilidad de los oligosacáridos (principalmente fructanos tipo inulina) para reducir el colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y triglicéridos (TGL). No están claras las dosis ni en tiempo de la aplicación de la inulina, pero se ha visto que son más eficientes dosis bajas (de 7-10 g/día) que dosis altas (15-20 g/día) para disminuir los lípidos sanguíneos (Gibson y Roberfroid, 2008).

Numerosos estudios en modelos animales han descrito el efecto de los prebióticos sobre grasa y peso corporal. El descenso observado en la masa grasa a veces no tiene un efecto significativo en la pérdida de peso corporal y ha sido observado en todos los tejidos adiposos (epididimal, visceral o subcutáneo). En estudios con roedores, alimentándose con ingredientes con efecto prebiótico, se ha visto que la reducción de la masa grasa estaba relacionada con una reducción en la ingesta.

El efecto 'sacietogénico' de los carbohidratos no digeribles resulta de una sobreproducción de péptidos anorexigénicos (péptido similar al glucagón tipo 1) y un descenso en la producción de péptidos orexigénicos (grelina) (Roberfroid y col., 2010). Delzenne y col. (2011) expusieron que la alimentación con fructanos tipo inulina disminuye el apetito, la ganancia de peso y el desarrollo de la masa grasa con un significativo aumento de la secreción en la circulación portal de péptidos anorexigénicos (GLP-1, péptido similar al glucagón tipo 1 y PYY, péptido YY).

En otros estudios, se ha visto que la alimentación de ratas con almidón resistente produce un descenso en el tamaño de los adipocitos, un descenso en la expresión de la enzima ácido graso sintasa y una reducción en la ganancia de peso relativa a la alimentación de almidón digerible lo que podría ser interesante para la prevención del aumento de peso a largo plazo. En humanos se ha visto que el consumo de fibra dietética está relacionado con una disminución del aumento de peso a largo plazo (Gibson y Roberfroid, 2008). Sin embargo, los estudios llevados a cabo aún no muestran resultados concluyentes

El tratamiento con prebióticos en ratones está relacionado con el aumento en la población de *Bifidobacterium* spp, descenso en los niveles de expresión de citocinas proinflamatorias, del tono inflamatorio y aumento en la expresión y actividad de las proteínas relacionadas con la función de la barrera intestinal (uniones estrechas ZO-1, claudinas y ocludinas) .También se reporta aumento en la secreción del péptido semejante al glucagón tipo 2 (GLP-2), factor de crecimiento intestinal con actividad antiinflamatoria que mejora la integridad de la barrera intestinal. Por otra parte el consumo de prebióticos juega un papel muy importante en el manejo de la resistencia a insulina y la prevención de DM2. La fermentación de la microbiota intestinal procedente del almidón, oligosacáridos resistentes, polisacáridos no almidón afectan al metabolismo de la glucosa (Cani y col.; Kadooka y col., 2010).

Diferentes cuestiones contribuyen al desarrollo de la obesidad y la patogénesis de sus trastornos metabólicos (genética, inflamación de bajo grado y factores ambientales). Entre ellos, la dieta es la más importante, aunque su papel en la obesidad es más complejo que la simple acumulación de grasa. En este sentido, los FOS podrían estar directamente involucrados en la inhibición de la absorción de monoglicéridos o ácidos grasos no esterificados en el intestino delgado o modificando funciones gastrointestinales relacionadas con la absorción de grasa (Nakamura, 2011).

Las mediciones de HDL y LDL serían muy útiles para evaluar el efecto hipocolesterolémico, principalmente para establecer si la disminución observada en el colesterol total del grupo tratado con la fracción FOS está correlacionada con el aumento de HDL y disminución de LDL. Sin embargo, nuestro estudio fue preliminar para determinar el potencial efecto sobre la dislipidemia. En general, la concentración de colesterol total es un factor importante para la expansión de enfermedades crónicas, entre otros riesgos; los valores de HDL y LDL, no obstante se deberán determinar en futuros estudios.

Para aclarar los mecanismos del efecto de la fracción FOS sobre la obesidad, se centrarán nuestros futuros estudios sobre la expresión génica hepática relacionada con el metabolismo de lípidos y la cuantificación de citocinas antiinflamatorias (adiponectina e IL-1, IL-2, IL-4, IL -10, IL-13) principalmente.

9. CONCLUSIONES

1. La fracción FOS obtenida a partir de la raíz de *P. decompositum* induce efecto antiinflamatorio y efecto inhibidor sobre el aumento de peso, disminuye la producción de triglicéridos y colesterol en ratas Wistar con obesidad inducida por una dieta rica en fructosa.
2. Esto podría explicarse por el hecho de que los FOS mejoran la digestión intestinal, previniendo la acumulación de grasa y evitando el aumento de citocinas inflamatorias relacionadas con la obesidad.
3. La fracción FOS puede ser un agente terapéutico valioso en la prevención de resistencia a la insulina, así como en el desarrollo y progresión de obesidad y complicaciones del síndrome metabólico.

10. PERSPECTIVAS

- Establecer la cantidad (g) de alimento consumido por día por animal, para determinar el impacto de la ingesta de alimento/calorías en el aumento de peso.
- Probar si la fracción FOS, al igual que otra dieta a base de fibra, genera cambios en la adiposidad central, proceso inflamatorio y perfil lipídico.
- Determinar cómo los microorganismos del hospedero reconocen a los prebióticos ingeridos en el proceso de la expresión moduladora del sistema inmune.
- Establecer la tasa lipogénica del hígado, posterior al consumo de prebióticos, para comprobar si la administración disminuye la expresión genética de las enzimas lipogénicas.
- Determinar si la fracción FOS afecta a los niveles de insulina; con el fin de entender el posible mecanismo de la actividad hipoglucemiante reportada anteriormente.
- Medir el colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y muy baja densidad (VLDL).
- Realizar cuantificación de citocinas antiinflamatorias (adiponectina e IL -10) principalmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

Abbas A. K., Litchman A. H., Pillai, S. (2008) Inmunología celular y molecular. 6ª edición. ELSEVIER. España. pp. 288-289.

Abdullah, M.M., Riediger, N.N., Chen, Q., Zhao, Z., Azordegan, N., Xu, Z., Fischer, G., Othman, R.A., Pierce, G.N., Tappia, P.S., Zou, J., Moghadasian, M.H. (2009) Effects of long-term consumption of a high-fructose diet on conventional cardiovascular risk factors in Sprague-Dawley rats. *Mol Cell Biochem*; 327: 247-256.

Alarcón, F., Román, R., Jiménez, M., Reyes, R., Gonzalez, B., Flores, J.L. (1997) Effects of tree Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J Ethnopharmacol*; 55: 171-177.

Alarcón Aguilar, F.J., Jimenez Estrada, M., Reyes Chilpa, R, Gonzales Paredes, B., Contreras Weber, C.C., Roman Ramos, R. (2000a). Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. *J Ethnopharmacol*; 69: 207-215.

Alarcón-Aguilar, F.J., Jiménez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R., Román-Ramos, R. (2000b). Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J Ethnopharmacol*; 72(1-2): 21-27.

Alberti K.G., Zimmet P.Z., for the WHO Consultation. (1998): Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*; 15: 539-553.

Alberti, K.G., Zimmet, P., Shaw, J. (2006) Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*; 23(5): 469-80.

Alzamendi, A., Giovambattista, A., Raschia, A., Madrid, V., Gaillard, R.C., Rebolledo, O., Gagliardino, J.J., Spinedi, E. (2009) Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. *Endocrine*; 35: 227-232.

Astolpho, R.D., Curbete, M.M., Colombo, N.H., Shirakashi, D.J., Chiba, F.Y., Prieto, A.K., Cintra, L.T., Bomfim, S.R., Ervolino, E., Sumida, D.H. (2013) Periapical lesions decrease insulin signal and cause insulin resistance. *J Endod*; 39: 648-652.

Avogaro, P., Crepaldi, G., Enzi, G., Tiengo, A. (1967) Associazione di iperlipidemia, diabete mellito e obesità di medio grado. *Acta Diabetol Lat*; 4: 36-41.

B

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., Gordon, J.I. (2004) The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Nat Acad Sci*; 101(44): 15718-15723.

Bantle, J.P. (2006). Is fructose the optimal low glycemic index sweetener? *Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme*; 11: 83-91.

Basciano, H., Federico, L., Adeli, K. (2005) Fructose, insulin resistance and metabolic dyslipidemia, *Nutrition & Metabolism*; 2(1): 5.

Bastard, J.P., Maachi, M., van Nhieu, J.T., Jardel, C., Bruckert, E., Grimaldi, A., Robert, J.J., Capeau, J., Hainque, B. (2002) Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*; 87: 2084–2089.

Bizeau, M.E., Pagliassotti, M.J. (2005) Hepatic adaptation to sucrose and fructose. *Metabolism*; 54(9): 1189-1201.

Bocarsly, M.E., Powell, E.S., Avena, N.M., Hoebel, B.G. (2010) High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol Biochem Behav*; 97: 101-106.

Bray, G. A., Nielsen, S.J., Popkin B.M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play the role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nut*; 79(4): 537-543.

Bye, R., Linares E., Estrada E. (1995): Biological diversity of medicinal plants in México. *Phytochemistry of Medicinal Plants*, Vol. 29, Chapter 4. Arnason et al. (Eds). Plenum Press, New York. pp. 61-85.

C

Cai, L., Kang YJ. (2001) Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: a brief review. *Cardiovasc Toxicol*; 1(3): 181-193.

Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A.M., Fava, F., Tuohy, K.M., Chabo, C., Waget, A., Delmée, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrières, J., Tanti, J.F., Gibson, G.R., Casteilla, L., Delzenne, N.M., Alessi, M.C., Burcelin, R. (2007) Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*; 56(7): 1761-1771.

Cani, P.D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., Guiot, Y., Everard A., Rottier, O., Geurts, L., Naslain, D., Neyrinck, A., Lambert, D.M., Muccioli, G.G., Delzenne N.M. (2009) Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*; 58(8): 1091-103.

Cani, P.D., Lecourt, E., Dewulf, E.M., Sohet, F.M., Pachikian, B.D., Naslain, D., De Backer, F., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M. (2009) Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr*; 90: 1236-1243.

Cérantola S., Kervarec N., Pichon R., Magné C., Bessieres M. A., Deslandes E. (2004) NMR characterisation of inulin-type fructooligosaccharides as the major water-soluble carbohydrates from *Matricaria maritima* (L.). *Carbohydr Res*; 339 (14): 2445-2449

Chen, G.Y., Nuñez, G. (2010) Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol*; 10(12): 826-837.

COFEMER (Comisión Federal de Mejora Regulatoria) 2012. pp. 11-13

Correa, J., Romo, J. (1966) The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of matorin, matorinin, matoron and matorinone. *Tetrahedron*; 22: 685-691

Cui, X.L., Schlesier, A.M., Fisher, E.L., Cerqueira, C., Ferraris, R.P. (2005) Fructose-induced increases in neonatal rat intestinal fructose transport involve the PI3-kinase/Akt signaling pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; 288 (6): G1310-G1320.

D

Daly, M. (2003) Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. *Am J Clin Nutr*; 78(4): 865S-872S.

De Moura, R.F., Ribeiro, C., de Oliveira, J.A., Stevanato, E., de Mello, M.A. (2009) Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br J Nutr*; 101: 1178-1184.

Delzenne, N.M., Kok, N. (2001) Effects of fructan-type prebiotics on lipid metabolism of inulin and oligofructose modulate lipid metabolism. *Am J Clin Nutr*; 73: 456-458.

Delzenne, N.M., Daubioul, C., Neyrinck, A., Lasa, M., Taper, H.S. (2002) Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals, review of biological events and future prospects. *Brit J Nutr*, 87(1): 255-259.

Delzenne, N.M., Cani, P.D., Daubioul, C., Neyrinck, A. (2005) Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *Brit J Nutr*, 93(1): S157-S166.

Delzenne, N.M., Neyrinck, A.M., Cani, P.D. (2011) Modulation of the gut microbiota by nutrients with prebiotic properties: consequences for host health in the context of obesity and metabolic síndrome. *Microb Cell Fact*, 10(1): S1-S10.

Diamant, M., Blaak, E.E., de Vos WM. (2011) Do nutrient-gut-microbiota interactions play a role in human obesity, insulin resistance and type 2 diabetes? *Obes Rev*. 12 (4): 272-81.

Díaz, M. (2005) Presente y futuro del tratamiento farmacológico de la obesidad. *Rev Argent Cardiol*; 73: 137-144.

Díaz-Flores, M, Baiza-Gutman, L.A., Ibáñez-Hernández, M.A., Pascoe-Lira, D., Guzmán-Greenfel, A.M. y Kumate-Rodríguez, J. (2004) Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac Med Mex*; 40: 438-449.

Donath, M.Y., Schumann, M. D., Faulenbach, M., Ellingsgaard, H., Perren, A., Ehse J.A. (2008) Islet Inflammation in Type 2 Diabetes From metabolic stress to therapy. *Diabetes Care*; 31(2): S161-164.

E

EGIR (The European Group for the Study of Insulin Resistance). (2002) The frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of the insulin resistance syndrome. *Diabet Metabolism ES*; 28: 364-376.

Elliott, S.S., Keim, N.L, Stern, J.S., Teff, K., Havel P.J. (2002) Fructose, weight gain, and the insulin resistance síndrome. *AM J Clin Nutr*; 76(5): 911- 922.

Esposito, K., Giugliano, D. (2006) Diet and inflammation: A link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J*; 27: 15-20.

F

Fernández-Palomares, R. (2013) Modulación de la microbiota intestinal: efecto de los prebióticos y probióticos en la prevención y tratamiento del Síndrome metabólico. Universitat Oberta de Catalunya. pp. 1-22

Fernández-Riejos, P., Najib, S., Santos-Álvarez, J., Martín-Romero, C., Pérez-Pérez, A., González-Yanes, C., Sánchez-Margalet V. (2010) Role of leptin in activation of immune cells. *Mediators Inflamm*; 2010: 1-8.

Ferreira de Moura, R., Ribeiro, C., Aparecida de Oliveira, J., Stevanato, E., Rostom de Mello M.A. (2009). Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br J Nutr*; 101: 1178-1184.

Figlewicz, D.P., Ioannou, G., Bennett-Jay, J., Kittleson, S., Savard, C., Roth, C.L. (2009) Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiol Behav*; 98: 618-624.

G

García-García, E., De la Llata-Romero, M., Kaufer-Horwitz y col. (2008) La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión. *Arch Cardiol Mex*; 78(3): 318-337.

Gibson, G.R., Roberfroid, M. (2008) Handbook of prebiotics. New York. CRC PRESS. pp. 40-60.

Glendinning, J.I., Breinager, L., Kyriallou, E., Lacuna, K., Rocha, R., Sciafani, A. (2010) Differential effects of sucrose and fructose on dietary obesity in four mouse strains. *Physiol Behav*; 101 (3): 331 – 343.

González, A., Alexanderson, E., Alvarado, R. y col. (2002) Consenso mexicano sobre el tratamiento integral del síndrome metabólico. *Med Int Mex*; 18: 12-41.

González-Chávez, A., Elizondo-Argueta, S., Gutiérrez-Reyes, G., León-Pedroza, J.I. (2011) Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad. *Cirugía y Cirujanos*; 79(2): 209-216

Goodman y Gilman. (2007) Las bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 11a edición. México. Capítulo 26.

Griendling, K.K., FitzGerald, G.A. (2003) Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation*; 108(17): 2034-2040.

Groop, L. (2001) Genetics of the metabolic syndrome. *Br J Nutr*; 83: 39-48.

Gross, L.S., Li, L., Ford, E.S., Liu, S. (2004) Increased consumption of refined carbohydrate and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment; *Am J Clin Nutr*; 79(5): 774-779.

Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C. Jr, Spertus, J.A., Costa, F. (2005) Diagnosis and management of the metabolic syndrome. *Circulation*; 112(17): 2735-2752.

Guerre-Millo, M. (2004) Adipose tissue and adipokines: For better or worse. *Diabetes Metab*; 30: 13-19.

Gutiérrez, J.P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M., Hernández-Ávila, M. (2012) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX).

H

Halle, M., Persson, P.B. (2003) Role of leptin and leptin receptor in inflammation. *Am J Physiol*; 284: R760-R762.

Havel, P. (2005) Dietary fructose: Implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev*; 63(5):133-57.

Hernández, C., González, V., Fuentes, A., Cesar, R., González, B. y García, E. (2004) Citocinas proinflamatorias en la infección de tejidos blandos de pacientes diabéticos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*; 42: 227-233.

Honzapfel, W.H., Schillinger, U. (2002) Introduction to pre- and probiotics. *Food Res Int*; 35: 109-116.

I

INI (Instituto Nacional Indigenista). (1994). "Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana". Tomo I. México.

Inman W.D., Luo, J., Jolad, S.D., King S.R., Cooper R. (1999): Antihyperglycemic sesquiterpenes from *Psacalium decompositum*. *J Nat Prod*; 62 (8): 1088-1092.

J

Jiménez-Estrada, M., Reyes-Chilpa, R., Ramirez-Apana, T., Lledias, F., Hansberg, W., Arrieta, D., Alarcon Aguilar F.J. (2006) Anti-inflammatory activity of cacalol and cacalone sesquiterpenes isolated from *Psacalium decompositum*. *J Ethnopharmacol*; 105: 34-38.

Jimenez-Estrada, M., Merino-Aguilar, H., Lopez-Fernandez, A., Rojano-Vilchis, N.A., Roman-Ramos, R., Alarcon-Aguilar, F.J. (2011) Chemical characterization and evaluation of the hypoglycemic effect of fructooligosaccharides from *Psacalium decompositum*. *J Complement Integr Med*; 8: 1413-1423.

Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T.R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., Otto, B., Nawrocki, A.R., Scherer, P.E., Spranger, J., Ristow, M., Joost, G.H., Havel, P.J., Tschöp, M.H. (2005) Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes Res*; 13 (7): 1146-1156.

K

Kadooka, Y., Sato, M., Imaizumi, K., Ogawa, A., Ikuyama, K., Akai, Y., Okano, M., Kagoshima, M., Tsuchida, T. (2010) Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*; 64(6): 636-643.

Kelley, G.L., Allan, G., Azhar, S. (2004). High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. *Endocrinology*; 145(2): 548-555.

Kelley, G.L., Azhar, S. (2005) Reversal of high dietary fructose-induced PPAR α suppression by oral administration of lipoxygenase cyclooxygenase inhibitors. *Nutr Metab (Lond)*; 2:18.

Khovidhunkit, W., Kim, M.S., Memon, R.A., Shigenaga, J.K., Moser, A.H., Feingold, K.R., Grunfeld, C. (2004) Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res*; 45: 1169–1196.

Kim, J.H., Bachmann, R.A., Chen, J. (2009) Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam Horm*; 80: 613-633.

Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne, B.A. (2007) *Kuby Immunology*. 6. New York: WH Freeman Comp. pp. 1-27

Komiyama, Y., Mitsuyama, K., Masuda, J., Yamasaki, H., Takedatsu, H., Andoh, A., Tsuruta, O., Fukuda, M., Kanauchi, O. (2011) Prebiotic treatment in experimental colitis reduces the risk of colitic cancer. *J Gastroenterol Hepatol*; 26(8): 1298-1308.

Kootte, R.S., Vrieze, A., Holleman, F., Dallinga-Thiel, G.M., Zoetendal, E.G., de Vos, W.M., Groen, A.K., Hoekstra, B.L. Strees, E.S., Nieuwdorp, M. (2012) The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*; 14: 112-120.

Kusminski, C.M., da Silva, N.F., Creely, S.J., Fisher, F.M., Harte, A.L., Baker, A.R., Kumar, S., McTernan, P.G. (2007) The in vitro effects of resistin on the innate immune signaling pathway in isolated human subcutaneous adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab*; 92: 270-276.

Kylin, E. (1923) Studien ueber das Hypertonie-Hyperglyka «mie-Hyperurika» miesyndrom. *Zentralbl Inn Med*; 44: 105-127.

L

Linares E., Bye, R. (1987) A study of four medicinal plant complexes of northern México and adjacent United States. *J Ethnopharmacol*; 19(2):153-83.

Lindqvist, A., Baelemans, A., Erlanson-Albertsson, C. (2008) Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept*; 150: 26-32.

M

Malaguarnera, M., Vacante, M., Antic, T., Giordano, M., Chisari, G., Acquaviva, R., Mastrojeni, S., Malaguarnera, G., Mistretta, A., Li Volti, G., Galvano, F. (2012) Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci*; 57: 545-553.

Maritim, A.C., Sanders, R.A, Watkins, J.B. 3rd. (2003) Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*; 17(1): 24-38.

Martin, S.S., Qasim, A., Reilly, M.P. (2008) Leptin resistance: A possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*; 52; 1201-1210.

Martínez M. (1959) Las Plantas Medicinales de México. Botas, México. Editorial Botas. México, D.F. 656 p.

Medina, E.A., Erickson, K.L., Stanhope, K.L., Havel, P.J. (2002) Evidence that tumor necrosis factor-alpha-induced hyperinsulinemia prevents decreases of circulating leptin during fasting in rats. *Metabolism*; 51: 1104-1110.

Mendivil, A.C.O. y Sierra, A.I.D. (2004) Avances en obesidad. *Rev Fac Med Univ Nac Colombia*; 52: 270-286.

Mendivil, A.C.O. y Sierra, A.I.D. (2005) Acción insulínica y Resistencia a la insulina: Aspectos moleculares. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*. 53(4): 235-243.

Mittra, S., Bansal, V.S., Bhatnagar, P.K. (2008) From a glucocentric to a lipocentric approach towards metabolic síndrome. *Drug Discov Today*; 13(5-6): 211-218

Murakami, K., Bujo, H., Unoki, H., Saito, Y. (2007) High fat intake induces a population of adipocytes to co-express TLR2 and TNF-alpha in mice with insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun*; 354(3): 727-734.

N

Nakamura, Y., Natsume, M., Yasuda, A., Ishizaka, M., Kawahata, K., Koga, J. (2011) Fructooligosaccharides suppress high-fat diet-induced fat accumulation in C57BL/6J mice. *BioFactors*, doi:10.1002/biof.147.

P

Pahan, K. (2006) Lipid-lowering drugs. *Cell Mol Life Sci*; 63: 1165-1178.

Palou, A., Bonet, M.L., Picó, C. y Rodríguez, A.M. (2004) Nutrigenómica y obesidad. *Rev Med Univ Navarra*; 48: 36-48.

Pickup, J.C. (2004) Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care*; 27: 813-823.

R

Rabe, K., Lehrke, M., Parhofer, K.G., Broedl, U.C. (2008) Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*; 14: 741-751.

Ramesh, B., Saralakumari, D. (2012) Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of ethanolic extract of *Commiphora mukul* gum resin in fructose-fed male Wistar rats. *J Physiol Biochem*; 68: 573-582.

Ranjbaran, H., Sokol, S.I., Gallo, A., Eid, R.E., Iakimov, A.O., D'Alessio, A., Kapoor, J.R., Akhtar, S., Howes, C.J., Aslan, M., Pfau, S., Pober, J.S., Tellides, G. (2007) An inflammatory pathway of IFN-gamma production in coronary atherosclerosis. *J Immunol*; 178: 592-604.

Reaven G. M. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*; 37: 1595-1607

Recasens, W., Ricart, J.M. y Fernández, R. (2004) Obesidad e inflamación. *Rev Med Univ Navarra* 48(2): 49-54.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M.J., Léotoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N.M., Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Meheust, A. (2010) Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br J Nutr*, 104(2):S1-63.

Romo J., Joseph-Nathan P. (1964) The constituents of *Cacalia decomposita* A. Gray. Structures of cacalol and cacalone. *Tetrahedron*; 20: 2331-2337.

S

Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P. (2013) An overview on the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Sci Technol*; 50: 1-16.

Samuel, V.T. (2011) Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*; 22(2): 60-65.

Schorin, M.D. (2005) High fructose corn syrups: Composition, consumption, and metabolism Part 1. *Nutrition Today*; 40: 248-252.

Secretaría de Salud. Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. (2000) Secretaría de Salud, México.

Senn, J.J., Klover, P.J., Nowak, I.A., Zimmers, T.A., Koniaris, L.G., Furlanetto, R.W., Mooney, R.A. (2003) Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem*; 278: 13740-13746.

Shen, J., Obin, M.S., Zhao, L. (2013) The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med*; 34(1): 39-58.

Strader, A.D., Woods, S.C. (2005) Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*; 128: 175-191.

Sun, S., Ji, Y., Kersten, S., Qi, L. (2012) Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev Nutr*, 21(32): 261-286

T

Tai, M.M. (1994) A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diabetes Care*; 17: 152-154.

Takase, S., Goda, T., Watanabe M. (1994) Monostearoylglycerol-starch complex: its digestibility and effects on glycemic and lipogenic responses. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*; 40: 23-36.

Taniyama, Y., Griendling, K.K. (2003) Reactive oxygen species in the vasculature: Molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 42(6): 1075-1081.

Tataranni, P.A., Ortega, E. (2005) A burning question: Does an adipokine-induced activation of the immune system mediate the effect of overnutrition on type 2 diabetes? *Diabetes*; 54: 917-927.

Teff, K.L., Elliot, S.S., Tschop, M., Kieffer, T.J., Rader, D., Heiman, M., Townsend, R.R., Keim N.L., D'alessio, D., Havel, P.J. (2004) Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab*; 89(6): 2963-2972.

Tresguerres J.A.F. (2005): Fisiología Humana 3ª. ed. Interamericana, McGraw-Hill. Madrid. pp. 939-1112.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., Gordon, J.I. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*; 444: 1027-1031.

V

Vague, J. (1996) Sexual differentiation, a factor affecting the forms of obesity. *Obes Res*; 4(2): 201-203.

Veličković, N., Djordjevic, A., Vasiljević, A., Bursać, B., Milutinović, D.V., Matic, G. (2013) Tissue-specific regulation of inflammation by macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoids in fructose-fed Wistar rats. *Br J Nutr*; 110: 456-465.

Vitseva, O.I., Tanriverdi, K., Tchkonja, T.T., Kirkland, J.L., McDonnell, M.E., Apovian C.M., Freedman, J., Gokce, N. (2008) Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)*; 16: 932-937.

W

Wang, Y. (2009) Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Res Int*; 42: 8-12.

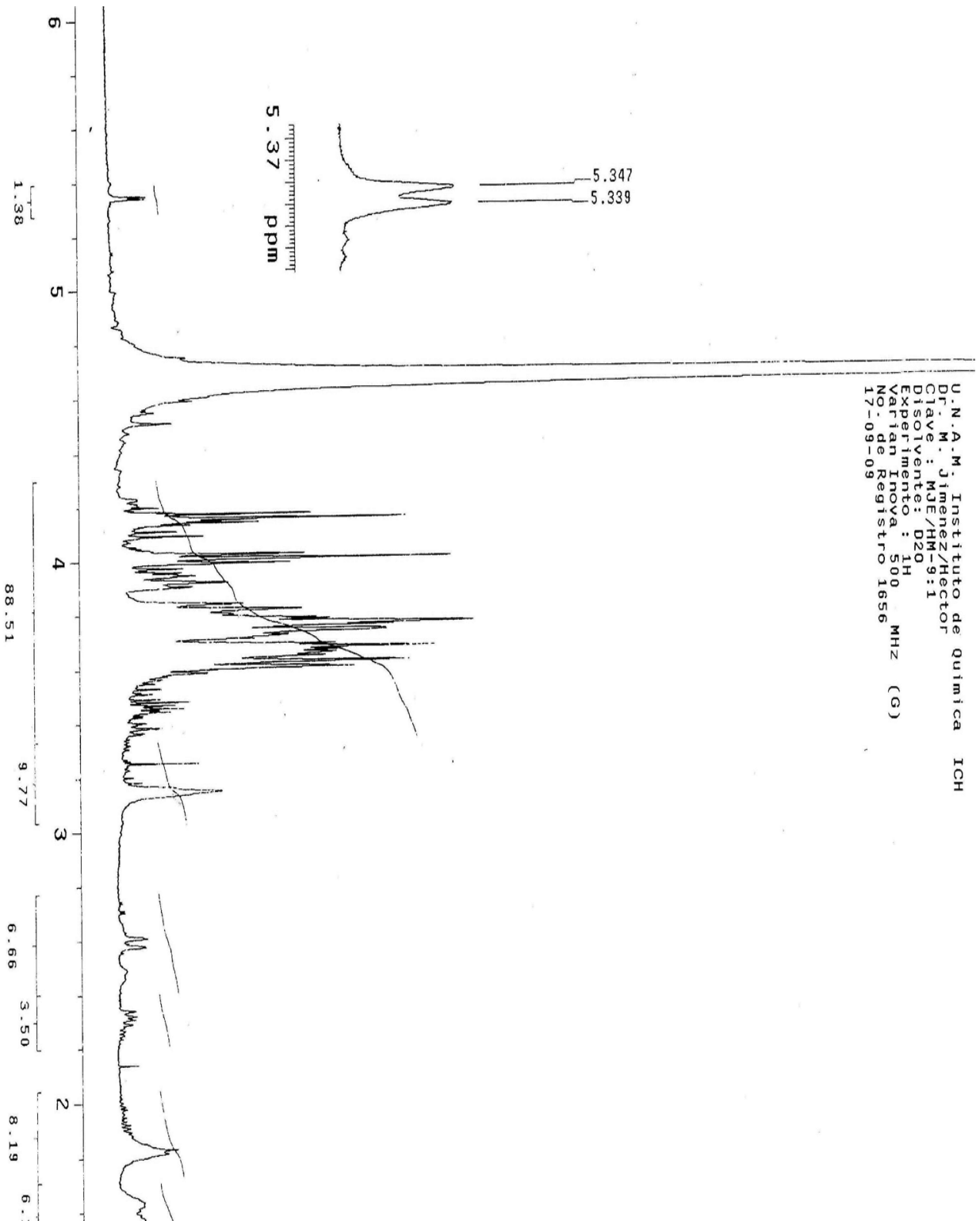
Wellen, K.E., Hotamisligil, G.S. (2005) Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Inv*; 115: 1111-1119.

Z

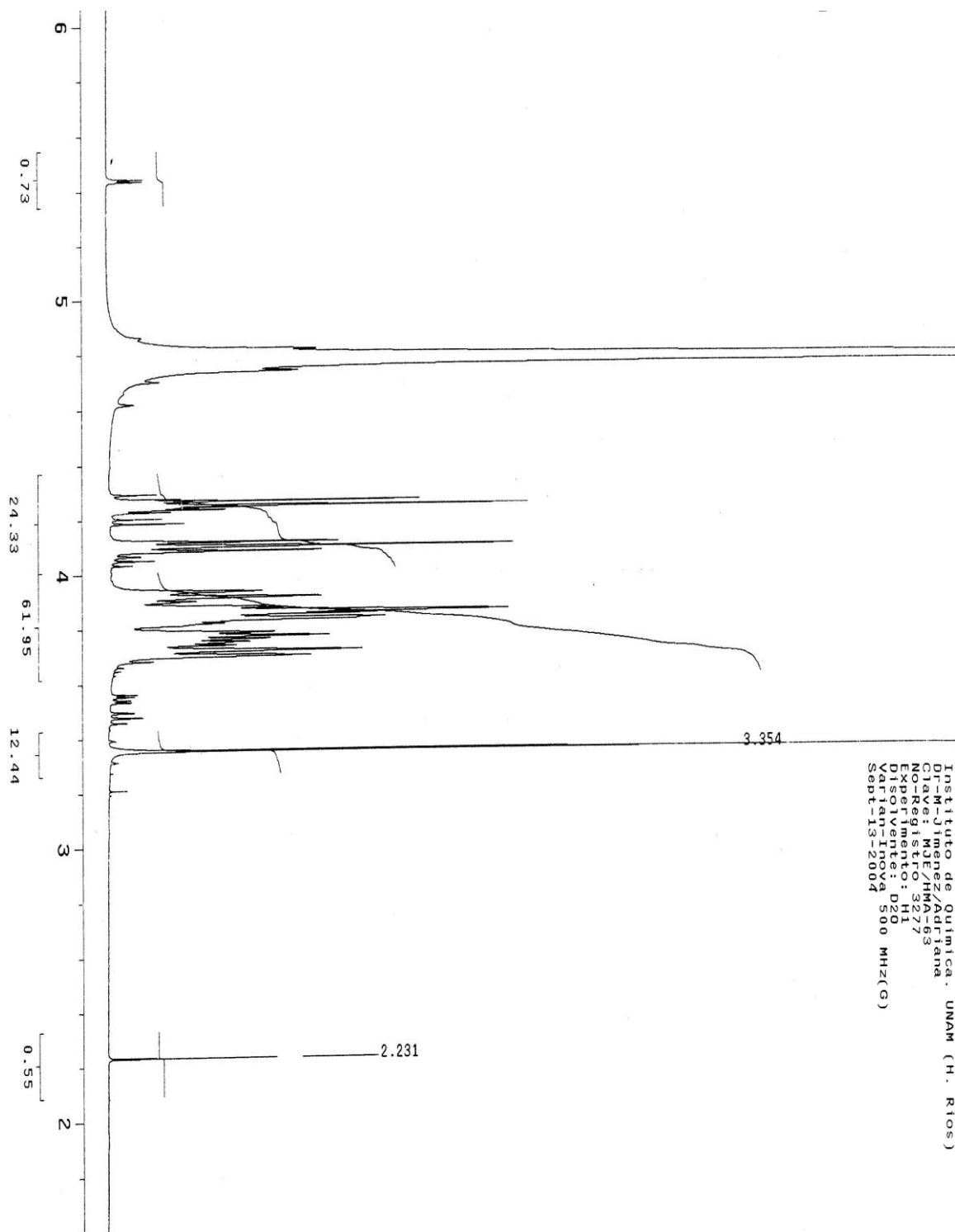
Zachary, T., Bloomgarden, M.D. (2003). Inflammation and insulin resistance. *Diabetes Care*; 26: 1619-1623.

Zimmet P., Alberti, K.G., Serrano, M. (2005) Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados. *Rev. Esp. Cardiol*; 58: 1371-137.

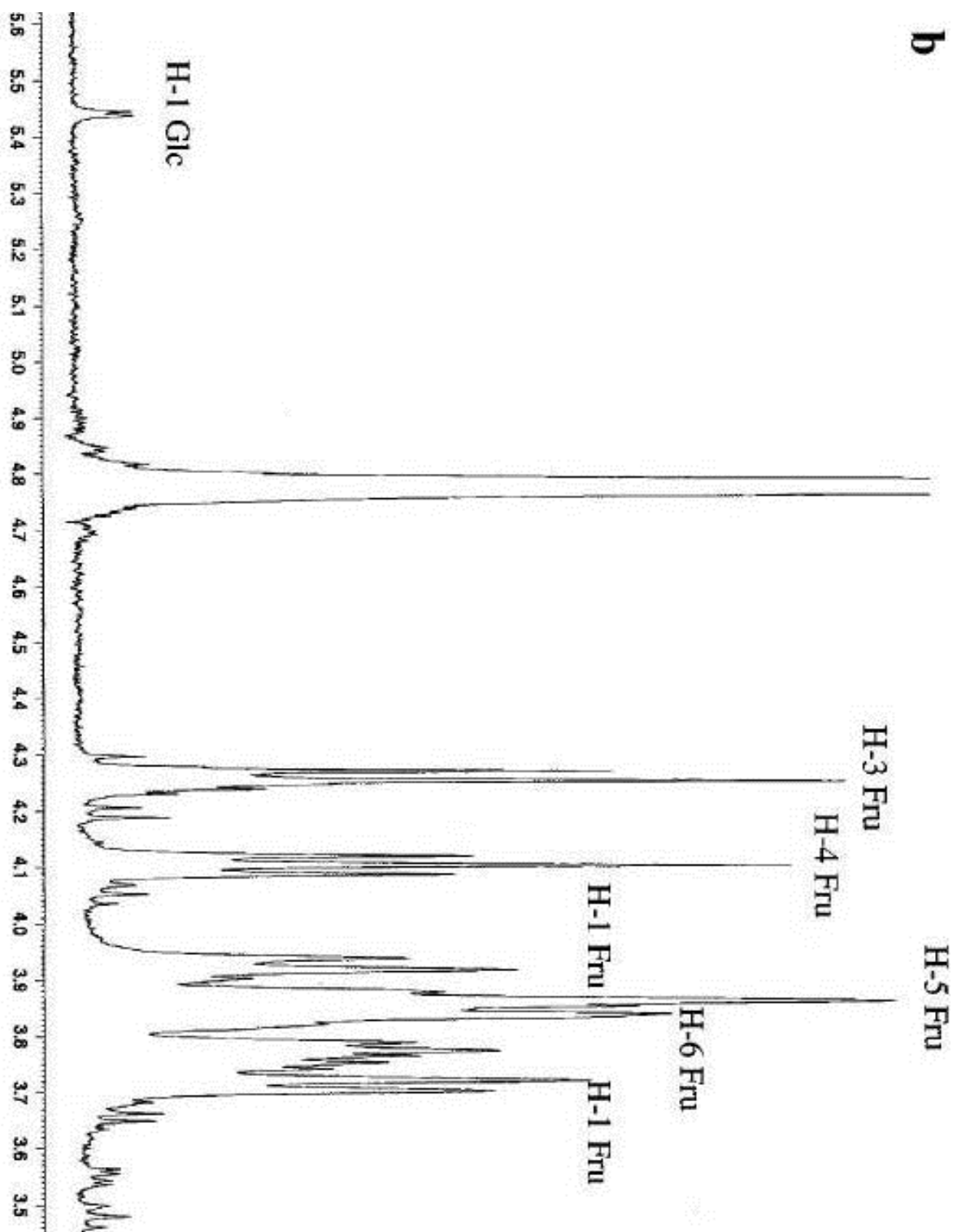
Anexo



Espectro 1. Espectro de RMN ¹H de la fracción rica en FOS, Jiménez, 2011.



Espectro 2. Espectro de RMN ^1H de la fracción rica en FOS, 2014.



Espectro 3. Espectro de RMN ^1H de los FOS de *M. marítima*, Cérantola, 2004.

Article

Effect of Fructooligosaccharides Fraction from *Psacalium decompositum* on Inflammation and Dyslipidemia in Rats with Fructose-Induced Obesity

Héctor Merino-Aguilar ¹, Daniel Arrieta-Baez ², Manuel Jiménez-Estrada ³, Gil Magos-Guerrero ⁴, René Javier Hernández-Bautista ⁵, Ana del Carmen Susunaga-Notario ⁵, Elizabeth Hernández-Pérez ⁶, Norma Edith López-Díazguerrero ⁶, Julio Cesar Almanza-Pérez ⁶, Gerardo Blancas-Flores ⁶, Rubén Román-Ramos ⁶ and Francisco Javier Alarcón-Aguilar ^{6,*}

¹ Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Apdo-Postal 55-535, México D.F. C.P. 09340, Mexico; E-Mail: hmerino@ciencias.unam.mx

² Instituto Politécnico Nacional-CNMN, Calle Luis Enrique Erro s/n, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Col. Zacatenco, México D.F. C.P. 07738, Mexico; E-Mail: danielarrieta@hotmail.com

³ Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, México D.F. C.P. 04510, Mexico; E-Mail: manueljemex@gmail.com

⁴ Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, México D.F. C.P. 04510, Mexico; E-Mail: gamagos@unam.mx

⁵ Programa de Doctorado en Biología Experimental, D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Apdo-Postal 55-535, México D.F. C.P. 09340, Mexico; E-Mails: rjhb11@yahoo.com.mx (R.J.H.-B.); qfbsus@yahoo.com.mx (A.C.S.-N.)

⁶ Departamento de Ciencias de la Salud, D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Apdo-Postal 55-535, México D.F. C.P. 09340, Mexico; E-Mails: sila@xanum.uam.mx (E.H.-P.); norm@xanum.uam.mx (N.E.L.-D.); jcap@xanum.uam.mx (J.C.A.-P.); gera@xanum.uam.mx (G.B.-F.); rrr@xanum.uam.mx (R.R.-R.)

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: aaasj2@prodigy.net.mx; Tel.: +52-55-5804-4600 (ext. 2836); Fax: +52-55-5804-4727.

Received: 20 October 2013; in revised form: 18 December 2013 / Accepted: 27 December 2013 / Published: 29 January 2014

Abstract: *Psacalium decompositum*, commonly known as “Matarique,” is a medicinal plant used in Mexico for diabetes mellitus empirical therapy. Previous studies have shown that the fructooligosaccharides (FOS) present in the roots of this plant exhibit a notable hypoglycemic effect in animal models; this effect might be associated with the attenuation

of the inflammatory process and other metabolic disorders. In this study, we examined the effects of FOS fraction administration in a fructose-fed rat model for obesity. Phytochemical chromatographic studies (high performance thin layer chromatography and nuclear magnetic resonance) were performed to verify isolation of FOS. 24 male Wistar rats were maintained for 12 weeks on a diet of 20% HFCS in drinking water and chow. Glucose, cholesterol, triglycerides and liver transaminases levels were measured monthly, after administering FOS fraction intragastrically (150 mg/kg/day for 12 weeks), while the levels of inflammatory cytokines were only quantified at the end of the treatments. Rats treated with FOS fraction decreased body weight, cholesterol, triglycerides, and significantly reduced IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 β and VEGF levels ($p < 0.05$). These results suggest that *P. decompositum* has anti-inflammatory and hypolipidemic properties that might be used as an alternative treatment for the control of obesity.

Keywords: *Psacalium decompositum*; asteraceae; fructose; obesity; dyslipidemia; inflammatory cytokines

1. Introduction

Psacalium decompositum (A. Gray) H. Rob. and Brettell (Asteraceae) is a shrub distributed in the mountains of central and northwestern Mexico and in the southwest region of the United States. The roots are sold in herbal markets and commonly called “Matarique.” A water decoction of the roots of this or other *Psacalium* species is used for the treatment of diabetes mellitus, pains, rheumatism, hepatic and renal colic, gastrointestinal ailments, neuralgia, ulcer and chill by Tarahumaran, Yaqui and Pima traditional healers in the Mexican state of Sonora [1].

The hypoglycemic properties of this plant have been extensively studied; extracts and fractions are effective in reducing glucose levels in normoglycemic and mildly diabetic mice, as well as in temporally hyperglycemic rabbits, but not in severely diabetic animals [2,3].

Jimenez-Estrada *et al.* [4] have reported that the aqueous fraction contains a carbohydrate-type fructan (inulin), which showed hypoglycemic effect in healthy and alloxan-induced diabetic mice. While the hypoglycemic properties of roots of *P. decompositum* have been extensively studied, the potential anti-inflammatory and hypolipidemic properties of the fructooligosaccharides-fraction (FOS-fraction) of *P. decompositum* have not yet been investigated.

Fructans are polysaccharides of repeating fructose units with a glucose molecule normally attached at the beginning of the polymer; different fructans are found in plants either separately or mixed and they have two different glycosidic linkages, namely β (2-1) linkages (a common feature in inulin type), β (2-6) (normally found in levans) and graminan, or both β (2-1) and β (2-6) [5,6]. Inulin is a linear polyfructan that is mainly comprised of glycosidic linkages β (2-1), whereas the formation of fructooligosaccharides (FOS) is a combination of short and intermediate inulin chains [7].

FOS are classified as indigestible oligosaccharides because of their resistance to digestion in the small intestine, which can improve immunological responses probably through regulation of gastrointestinal microflora, specifically stimulating development of *Bifidobacteria* [8]. Previous

studies have reported that FOS intake can prevent hyperlipidemia in rats [9]; effects of FOS on obesity may be due to inhibited increase in visceral adipose tissue and reduced levels of liver triglycerides and nonesterified fatty acids induced by a high-fat diet. Nevertheless, effects of FOS on obesity not yet been fully described [10].

In 2012, Malaguarnera *et al.* reported that FOS administration with *Bifidobacterium longum* reduces tumor necrosis factor type-alpha, C-reactive protein, serum aspartate aminotransferase levels, homeostasis model of assessment-insulin resistance, serum endotoxin, steatosis, and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis activity index in patients [11]. There are as of yet no reports about the effects of other similar types of fibers on the inflammatory cytokines. However, these types of fibers have been associated with other activities. A large number of studies in humans and experimental models have evidenced the efficacy of dietary fiber in regulating body weight, food intake, glucose homeostasis, insulin sensitivity and other cardiovascular disease risk factors such as serum lipid profile, hypertension and systemic inflammatory markers. Dietary fiber consists of edible parts of plants or analogous carbohydrates that resist digestion and absorption in the small intestine with complete or partial fermentation in the large intestine. It is a very complex group of substances that includes the indigestible non-starch polysaccharides, cellulose and hemicellulose, oligosaccharides, pectins, gums and waxes [12].

Diverse studies concluded that dietary fructose has a direct impact on hepatic lipid metabolism by bypassing the enzyme phosphofructokinase, the regulatory step imposed on glucose. This allows unregulated flow of fructose-derived carbons into lipogenesis, decreasing lipolysis and increasing plasma fasting and postprandial very low density lipoprotein triacylglycerols, and whole-body lipid oxidation [13].

Patients with obesity suffer from the chronic activation of certain cells in the immune system (monocytes, macrophages, and neutrophils), as well as adipocytes in fat tissue [14] resulting in an abnormal production on the levels of the next cytokines: tumor necrosis factor type-alpha (TNF- α), interleukins 1 and 6 (IL-1 α , β and IL-6), interferon-gamma (IFN- γ), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), vascular endothelial growth factor (VEGF) and leptin, which have also been implicated in the development of insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertension, lipid disorders, type 2 diabetes, cardiovascular diseases, some cancers, osteoarthritis, gallstones and mental health problems [15–17]. The combination of the immune response with an appropriate metabolic balance is beneficial for maintaining good health. However, it may become deleterious under conditions of metabolic disorders [18].

Therefore, the modulation of these molecules by *P. decompositum* might avoid the development of metabolic disorders and complications, in addition to its beneficial effects on obesity.

The aim of the present study was to determine the anti-obesity, anti-inflammatory, and hypolipidemic effects of FOS fraction of roots of *P. decompositum* by measuring metabolic parameters and inflammatory cytokines associated with obesity.

2. Experimental Section

2.1. Plant Material

Roots of *P. decompositum* were acquired from the Sonora Herbal Market in Mexico City. The vegetal material was taxonomically identified by Abigail Aguilar Contreras, M.Sc, the botanic expert of the Mexican Institute of Social Security-Herbarium at Mexico City (Herbarium IMSS-M, Voucher Specimen 11489).

2.2. Isolation of FOS-Fraction from the Roots of *P. decompositum*

The active fraction (polar fraction) was prepared with some modifications previously described by Alarcon *et al.* [19]. Plant material (1.980 kg) was ground and extracted successively three times at room temperature with hexane and water (7 L × 24 h each one). Water was subsequently removed from the extract under reduced pressure, which resulted in a residue of 427 g (yield 21.5%).

To this material, 500 mL of methanol were added and after 24 h a precipitate was obtained and then freeze-dried (FOS-fraction, 371 g). The FOS-fraction was analyzed by high performance thin layer chromatography (HPTLC, chloroform-*n*-butanol-methanol-acetic acid-water 5.5:11.0:5.0:1.5:2.0, v/v) and was subjected to column chromatography with a Sephadex LH20 column (60 g). Fractions were eluted with a mixture of methanol and water (99:1 and 95:5, v/v). A total of 110 fractions of 25 mL were collected (85 and 25 of each system, respectively) and monitored using HPTLC. Plates were sprayed with an alpha-naphthol reagent and heated at 100 °C.

The fractions were then combined on the basis of similar HPTLC profiles. The major material content isolated was located in fractions 89–91, according to their HPTLC profiles, resulting in a white amorphous solid component. The identity of this component present in the 89–91 fractions was established by nuclear magnetic resonance (¹H and ¹³C) [4].

2.3. HPTLC Procedures

All the samples were applied on 0.2 mm nano-silica gel 60 HPTLC plates. All the plates were developed to a distance of 90 mm with chloroform-*n*-butanol-methanol-acetic acid-water 5.5:11.0:5.0:1.5:2.0 (v/v) as mobile phase at room temperature (around 25 °C). The developed plates were sprayed with aniline-diphenylamine-phosphoric acid solution and heated at 130 °C for 10 min or sprayed with alpha-naphthol (10%) solution and heated at 105 °C for 10 min, to make bands colored clearly.

2.4. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Analysis of the FOS Fraction

10 mg of the FOS fraction were dissolved in D₂O and analyzed on a Varian Gemini spectrometer operating at 500 MHz (¹H) and 125 MHz (¹³C). Chemical shifts were reported in δ units (ppm) and compared with those previously described [4].

FOS fraction: ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 5.48 ppm (*J* = 3.3 Hz), 4.26 (1H, d, *J* = 8.2) and at 4.12 (1H t, *J* = 8.7, *J* = 8.2), 3.86 (H5, s), 3.76 (H6a, m) and 3.83 (H6b, bs), 3.82 (1H, dg, *J* = 10 Hz), 3.71

ppm (1H, dg, $J = 10$ Hz), 3.56 (1H), 3.84 (1H, m), 3.76 ppm (1H, m). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 93.23 (C-1), 104.05 (C-2), 81.92 (CH-5), 77.90 (CH-3), 75.20 (CH-4), 62.87 (CH₂-6), 61.80 (CH₂-1).

2.5. Animals and Diets

All the experimental protocols were approved by the Local Committees of Ethics on Animal Experimentation (UAM and FM-UNAM). Twenty-four male Wistar rats were obtained from the Laboratory Animal Center of the Metropolitan Autonomous University. The handling of the laboratory animals followed the rules for the care and use of laboratory animals of the Official Mexican Rule (NOM-062-ZOO-1999, revised in 2001) and the International Guide for Caring and Use of Laboratory Animals NRC 2002. Rats at the age of 12 weeks and 200–250 g body weight were maintained in their housing conditions with a controlled humidity (55%) at 21 ± 1 °C temperature with 12/12 h light-dark cycle.

Control diet (2018s Teklad Global 18% protein rodent diet from Harlan Laboratories) contained a percentage of proteins (18.6%), carbohydrates (44.2%) and fat (6.2%). The high-fructose corn syrup (HFCS) diet was 20% in chow and drinking water (Formula 55, v/v dissolved in purified water).

Rats were initially divided into two groups ($n = 6$ for the normal group and $n = 18$ for the fructose (Fru) group), and treated for 12 weeks under the next conditions: the normal group with regular chow and drinking water (negative control), and the second group was kept with 20% fructose in chow and drinking water. After this time, the normal group was kept under the same conditions, while the second group was divided in three groups: the Fru group treated with isotonic saline solution (4 mL/kg/day), the Fru + Beza group treated with bezafibrate (30 mg/kg/day, positive control), and the Fru + FOS group treated with FOS fraction (150 mg/kg/day); all treatments were administered intragastrically and doses were determined based on previous studies of FOS fraction [4]. Groups Fru, Fru + Beza and Fru + FOS were maintained under initial diet conditions and treatments were administrated for 12 weeks. Weight, Lee index—an obesity index used in rodents—was calculated by the cube root of body weight (g) $\times 10$ /naso-anal length (mm), for which a value equal to or lower than 0.30 was classified as normal; for values higher than 0.30, the rats were classified as obese, and metabolic parameters were measured every month. Groups were kept in multiple cages being four animals in each.

2.6. Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

At the end of experiment, OGTT were performed on 12 h-fasted rats. Glucose was administered into the stomach of the rats through a gastric catheter at the final dose of 2 g/kg body weight (dissolved in purified water), and the glucose levels were measured at 0, 30, 60, 90 and 120 min using an Accutrend Sensor glucometer (Roche). Glycaemia was quantified on days 30, 60 and 90 in fasted animals (12 h) from blood samples drawn from the tail vein. OGTT for non-diabetic rats were performed according to Tai model (the total area under a curve is computed by dividing the area under the curve between two designated values on the X-axis into rectangles and triangles. The total sum of these individual areas thus represents the total area under the curve [20]).

2.7. Biochemical Parameters

Quantification of total cholesterol (Chol), triglycerides (TG), aspartate aminotransferase (AST or GOT), and alanine aminotransferase (ALT or GPT) was performed with a Reflotron System (Bayer) using blood samples drawn from the tail vein on day 30, 60 and 90 in fasted animals (12 h). Measurements of body weight and circulating levels of cholesterol, triglycerides, glucose and liver transaminases were performed throughout the whole study, while biomarkers of inflammation were only quantified at the end of the treatments.

2.8. Cytokines Quantification

At the end of the test (day 90 after treatment), blood samples were obtained from anesthetized animals with pentobarbital by cardiac puncture for cytokine analysis. Serum cytokine levels were quantified using a commercial rat obesity ELISA strip purchased from Signosis, as described in the manufacturer's protocol in order to get the profile of 8 cytokines (IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 α , IL-1 β , VEGF, TNF- α and leptin). All samples run in single.

2.9. Statistical Analysis

Data were expressed as mean \pm S.E.M. The significance of the difference between the means of test and control studies was established by an Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's Multiple Comparison Test. Cytokine analysis was based on percentage of normal. *P* values less than 0.05 were considered to be significant. All statistics were computed using the NCSS 2000 (NCSS software, Kaysville, UT, USA).

3. Results

According to Table 1, after 12 weeks, an increasing body weight, Lee index, triglycerides and ALT levels (*p* < 0.05) were observed, while the other parameters were relatively stable compared with the normal group.

Table 1. Effect of the FOS-fraction from *P. decompositum* on final weight and biochemical parameters in male Wistar rats with 12 weeks fructose feeding.

	Normal	Fru
Body weight (g)	307.8 \pm 5.6	378.5 \pm 10.2 *
Lee index	0.28 \pm 0.001	0.30 \pm 0.002 *
Glycaemia in fasting (mg/dL)	101.8 \pm 2.5	94.6 \pm 4.1
AUC of glucose tolerance test (mg/dL/120 min)	16,800 \pm 984	18,000 \pm 696
Chol (mg/dL)	100 \pm 0.0	100 \pm 0.0
TG (mg/dL)	70 \pm 0.00	189 \pm 21.8 *
ALT (UI/L)	5.08 \pm 2.6	19.3 \pm 8.0 *
AST (UI/L)	10.6 \pm 2.8	12.3 \pm 8.5

Mean \pm SEM (*n* = 6 for Normal group and *n* = 18 for Fru group). * Statistically significant compared with the normal group; (*p* < 0.05). AUC: area under the curve. Normal: normal rats without treatment, FRU: rats treated with high fructose.

Table 2 shows the results obtained from different parameters measured to determine the effect of FOS fraction from *P. decompositum*. There was an increase in body weight, cholesterol, triglycerides, ALT, AST and elevated glucose tolerance test glucose at 120 min in animals on a diet of high-fructose compared to animals on a normal diet. The groups treated with bezafibrate and FOS fraction showed differences in body weight, Lee index, cholesterol and triglycerides levels compared with isotonic saline solution-treated animals. They did not show differences in relation to animals on a normal diet. Glycaemia in fasted animals was not altered after the high-fructose diet in any of the experimental groups compared to animals with normal diet, and no reduction was observed in the area under the curve of glucose tolerance of animals treated with bezafibrate and FOS at 120 min. Similar results were observed with ALT and AST.

Table 2. Effect of the FOS fraction from *P. decompositum* on final weight and biochemical parameters in male Wistar rats with 12 weeks of treatment

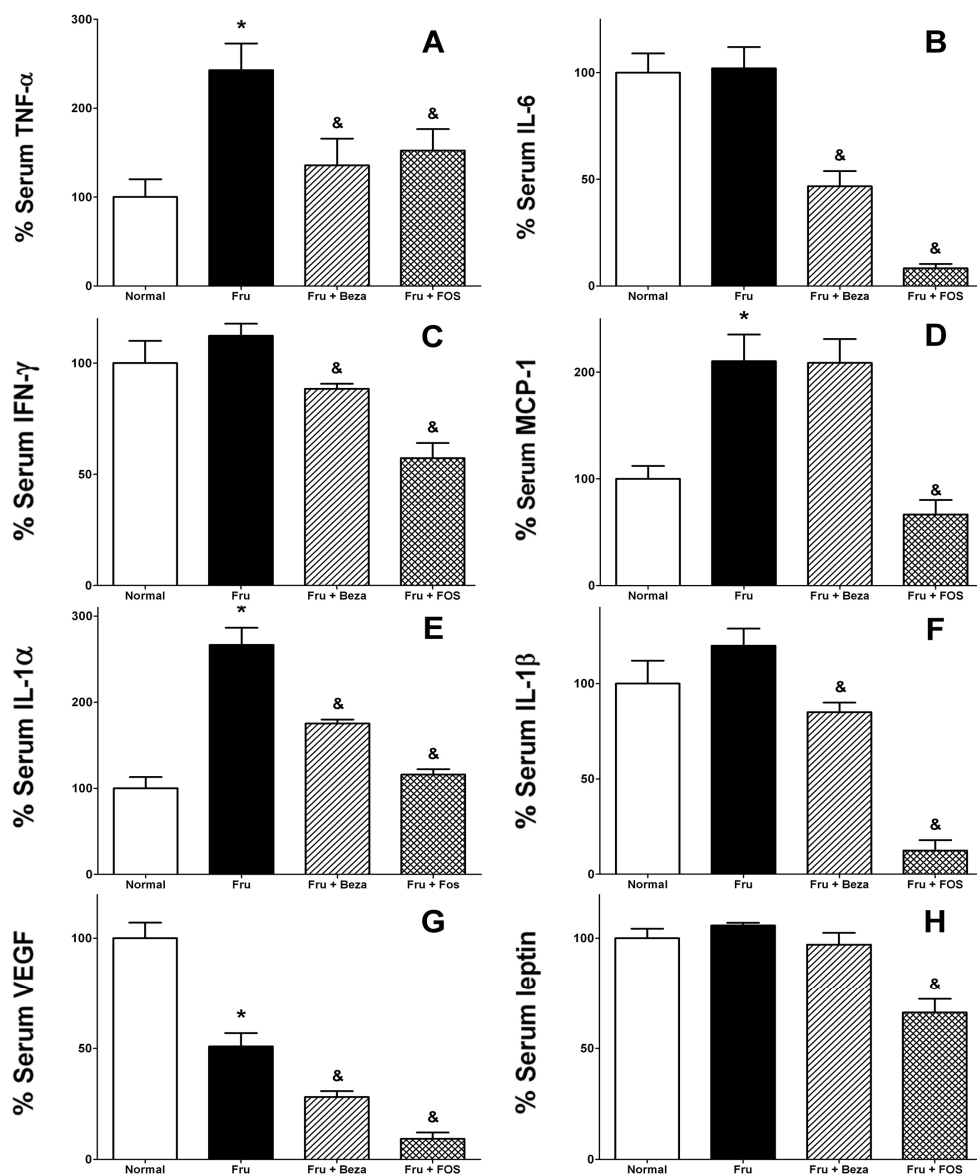
	Normal	Fru	Fru + Beza	Fru + FOS
Final body weight (g)	490 ± 27.8	610 ± 9.1 *	463 ± 46.0 &	472 ± 15.8 &
Lee index	0.295 ± 0.003	0.33 ± 0.000 *	0.303 ± 0.002 &	0.303 ± 0.002 &
Glycaemia in fasting (mg/dL)	96 ± 2.4	106.7 ± 2.9	100.7 ± 2.8	99 ± 2.6
AUC of glucose tolerance test mg/dL/120 min	16,560 ± 612	19,920 ± 1128 *	18,000 ± 984	18,360 ± 816
Chol (mg/dL)	106 ± 4.0	128.5 ± 1.5 *	101.7 ± 1.7 &	102.7 ± 2.7 &
TG (mg/dL)	79.5 ± 7.6	205.2 ± 34.4 *	82.5 ± 11.8 &	95.5 ± 19.6 &
ALT (UI/L)	3.6 ± 0.8	30.2 ± 3.4 *	18.8 ± 7.9	12 ± 5.0
AST (UI/L)	3.2 ± 0.5	38.7 ± 5.1 *	22.7 ± 10.2	15.7 ± 7.3

Mean ± SEM ($n = 6$). * Statistically significant compared with the normal group; & statistically significant compared to the group treated with Fru ($p < 0.05$); AUC: area under the curve; Normal: normal rats without treatment; FRU: rats treated with high fructose; Fru + Beza: obese rats treated with bezafibrate; Fru + FOS: obese rats treated with FOS.

Figure 1 shows the effect of FOS fraction on the serum levels of eight different obesity-related cytokines, which are closely associated to the inflammatory process. There was an increase of TNF- α in animals with a rich-fructose diet with respect to the normal group (242.65%, Figure 1A). On the other hand, treatment with bezafibrate and FOS fraction showed a decrease (55.95% and 62.78%, respectively) of this cytokine compared to the group with rich-fructose diet, and these values were close to those observed in the normal group (Figure 1A). No difference was observed in IL-6 and IFN- γ between rich-fructose diet and normal control groups, but those treated with FOS fraction (8.08% and 50.99%, Figure 1B and 1C, respectively) and bezafibrate (45.75% and 78.76%, Figure 1B and 1C, respectively) showed a clear decrease in these cytokines. MCP-1 showed an increase in fructose-treated animals compared to the normal group (210.22%, Figure 1D), and for this cytokine, only FOS fraction reduced notoriously blood levels of this marker (31.64%) compared to the Fru group. According to figure 1E, IL-1 α was considerably increased in the rich-fructose diet-treated group (266.48%) with respect to the normal group; for groups that received bezafibrate and FOS fraction, the IL-1 α level was not as high as that observed in the Fru group (65.79% and 43.53% less respectively). IL-1 β showed an increase in animals that received fructose compared to normal animals, while a

decrease of this cytokine was produced in animals treated with bezafibrate (70.93%). However, a bigger effect was observed with FOS fraction (10.36%, Figure 1F).

Figure 1. Effect of daily administration of FOS fraction from *P. decompositum* on inflammatory cytokines in male Wistar rats with 24 weeks fructose feeding (A) TNF- α ; (B) IL-6; (C) IFN- γ ; (D) MCP-1; (E) IL-1 α ; (F) IL-1 β ; (G) VEGF; (H) leptin, Mean \pm S.E.M. (n = 6). * Statistically significant compared with the normal group; & statistically significant compared to the group treated with Fru ($p < 0.05$). Normal: normal rats without treatment; FRU: rats treated with high fructose; Fru + Beza: obese rats treated with bezafibrate; Fru + FOS: obese rats treated with FOS.



An interesting effect was observed in the VEGF cytokine. Levels of VEGF were decreased in Fru, Fru + Beza and Fru + FOS groups, compared with the normal group (50.88%). Groups treated with bezafibrate and FOS fraction showed a greater effect than the group treated with only fructose (55.14% and 18.08%, Figure 1G). Finally, leptin levels were not affected by fructose alone or

bezafibrate. However, FOS caused a reduction ($p < 0.05$) of this hormone compared with fructose-treated control group (62.59%, Figure 1H).

4. Discussion

The water extract of *P. decompositum* was chosen due to the use thereof as treatment of folk medicine in Mexico. From the aqueous layer compounds, a carbohydrate type compound has been isolated and reported as the principal compound responsible for the hypoglycemic activity [4]. Once the FOS fraction was obtained and characterized, this material was evaluated in male Wistar rats to evaluate the potential of FOS fraction on process inflammatory and dyslipidemia effect observed in rats with fructose-induced obesity. Such a study is expected to provide more information in the field of the use of this plant in the anti-inflammatory and hypolipidemic activities.

FOS fraction administration did not affect glucose levels in any of the treated groups in glycaemia test. Additionally, there was no difference in groups treated with bezafibrate and FOS fraction for 12 and 24 weeks with respect to tolerance test glucose. For the isotonic saline solution-treated group there was a significant difference compared to the normal group at 120 min. On the other hand, bezafibrate and FOS fraction groups showed no difference at 120 min, compared with the group Fru. In other studies, fructose has been mainly used around 60% on food, which leads to metabolic disorders in less time, developing intolerance to the glucose and hyperinsulinemia. In this study, we used a lower dose than that reported for the hypoglycemic effect.

Food consumption indicates caloric intake, which undoubtedly is directly related to weight gain. Although these measurements were made at the beginning of the experiment, the conditions throughout the experiment in which animals were kept (4 rats/box), did not allow to determine the suitable amount (g) of food consumed per day per animal. However, this aspect should be considered in further studies with the FOS fraction to determine the impact of food intake in weight gain.

Recent studies confirm changes in plasma lipid profile, with no apparent weight gain after 10 weeks of intermittent access to fructose solution 12.5% [21]. Body fat gain can lead to chronic changes in leptin and insulin sensitivity, through the loss of hormonal satiety signals [22–24]. Other adverse effects developed by the increased intake of fructose include negative effects on cardiovascular and renal functions [25–27]. Finally, high fructose intake is in producing signs of metabolic syndrome in adult Wistar rats [28]. The accumulation of fat and high triglyceride levels observed in rats fed with a rich-fructose diet in the present study explains the increase in body weight. FOS fraction, as other dietary fiber mechanisms on metabolic health, is speculated to be a result of changes in intestinal viscosity, nutrient absorption, rate of passage, production of short chain fatty acids and production of gut hormones [29].

We examined the inflammatory process in response to the excess of fat tissue in HFCS-treated rats. The inflammatory profile of the HFCS-treated rats exhibited by pro-inflammatory cytokines, suggests that this rat model is accessible and shares some similarities with the metabolic syndrome in human beings, such as obesity, impaired glucose tolerance, hyperinsulinaemia and insulin resistance. Several reports have shown increased TNF- α , IL-6, resistin and leptin expression in obesity, type 2 diabetes, cardiovascular disease and metabolic syndrome [30,31].

Among numerous cytokines, TNF- α was identified as the most important pro-inflammatory mediator in metabolic inflammation, as this cytokine is overexpressed in the adipose tissue of rodent models of obesity [32]. Therefore, the overproduction of TNF- α is an important feature of obesity and metabolic inflammation, contributing significantly to insulin resistance. Another pro-inflammatory cytokine, IL-6, is considered to cause insulin resistance in skeletal muscles and liver due to defects in phosphorylation of insulin receptor substrate, causing a decrease in gluconeogenesis and an increase in glycogenolysis [33–35]. Therefore, the reduction of TNF- α and IL-6 (two pro-inflammatory cytokines) by FOS fraction treatment can be interpreted as a consequence of its beneficial anti-inflammatory effect.

IFN- γ is also considered a potent pro-inflammatory cytokine that is secreted by activated lymphocytes and is capable of inhibiting the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR- γ), an important transcription nuclear factor of anti-inflammatory cytokines [36,37]. The FOS fraction could be capable of increasing the expression of PPAR- γ and decrease IFN- γ ; this would explain the reduction of pro-inflammatory cytokines. Activation of these pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-18 and IFN- γ) generates a chronic inflammation due to a shift in the balance between production of pro-inflammatory cytokines and the production of anti-inflammatory cytokines, such as IL-10 and adiponectin [38,39].

In this research, the HFCS-treated rats displayed large increased TNF- α , MCP-1 and IL-1 α serum levels. On the other hand, serum protein levels of VEGF showed a decrease. All other cytokines showed similar values to the normal group. The HFCS-treated rats have higher TNF- α , observed in obese and type 2 diabetes patients [40]. Also, a direct relationship between elevation of TNF- α and hyperinsulinemia has been reported [41]. IL-6 protein levels were slightly higher in HFCS rats than in normal rats. In HFCS rats, the contribution of fat tissues to serum IL-6 levels is low, as IL-6 is also secreted from numerous other cell types, including immune cells, fibroblasts, endothelial cells and striated muscle cells [42]. Adipocytes contribute with 10%–30% of total circulating IL-6 and other cells produce the rest. Chronic inflammation in fat tissues encompasses macrophage infiltration, which produces several adipokines that contribute to the insulin resistance in obese animals [43].

Leptin receptors belong to the cytokine class I receptor family, and several published works have reported that there is an increased inflammatory response associated with the presence of hyperleptinemia without obesity and that leptin is able to control TNF- α production and activation by macrophages [44,45]. Thus, the low leptin levels observed in this work explain the anti-inflammatory effect caused by FOS fraction in the rich-fructose-fed rats.

Several evidences have shown that chronic activation of intracellular pro-inflammatory pathways within insulin target cells can lead to obesity-related insulin resistance. At the molecular level, the mechanisms by which resistance is generated can be multiple and vary from one individual to another. The most common are free fatty acids and their metabolites, TNF- α , IL-6, IL-1 β , macrophage migration inhibitory factor (MIF) and hormones secreted by adipose tissue such as resistin [34,43].

Although it would be quite valuable to know if FOS fraction affects insulin levels in order to understand the possible mechanism of hypoglycemic action, in this study, the response to insulin by FOS fraction did not measure. Therefore, the measurement of this hormone in new studies with FOS fraction should be considered.

FOS induces profound metabolic changes by modulating the composition and the activity of the intestinal microbiota, generating anti-inflammatory mechanisms, and immunomodulatory effects.

These changes may be the result of reduced hepatic exposure to intestinal products that promote the release of TNF- α from adipose and hepatic tissue macrophages [11].

Different issues contribute to obesity and the pathogenesis of its metabolic disorders, such as genetic, inflammatory, and environmental factors. Among them, diet is the most important one, even though its role in obesity is more complex than a simple fat accumulation. In this regard, FOS could be directly involved in the inhibition of the monoglycerides or nonesterified fatty acids uptake in the small intestine, or modifying gastrointestinal functions related to fat absorption [10].

Measurements of HDL and LDL would be helpful to evaluate hypocholesterolemic effect, mainly to establish whether the decrease observed in total cholesterol observed in the group treated with FOS fraction correlated with increased HDL and decreased LDL. However, our study is preliminary to determine the potential effect on dyslipidemia. In general, concentration of total cholesterol is an important factor for expansion by chronic diseases such as obesity and hypertension, among other risks; HDL and LDL values should nonetheless be determined in further studies.

To clarify the mechanism of the effects of FOS on obesity, our future studies will be focused on hepatic lipid metabolism-related gene expression and quantification of anti-inflammatory cytokines such as adiponectin and IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 mainly.

5. Conclusions

According to our results, FOS fraction obtained from the root of *P. decompositum* produces anti-inflammatory effect and an inhibitory effect on the increase in weight, production of triglycerides and cholesterol in obesity fructose-induced in Wistar rats. This could be explained by the fact that FOS improves intestinal digestion, prevents accumulation of fat, and avoids the increase of inflammatory cytokines linked to obesity. The FOS fraction may be a valuable therapeutic agent in preventing insulin resistance, as well as the development and progression of obesity and metabolic syndrome complications.

Acknowledgments

This work was supported by CONACyT (210474) fellowship to Hector Merino Aguilar as part of his doctoral research in biological sciences. The authors acknowledge to Rocio Ortiz, Biol. Edgar Ivan Jasso Villagomez and Biol. Wendoline Rosiles Alanis from the Metropolitan Autonomous University for their assistance in the realization of this research. They also are thankful to Carlos Melo Diaz for his collaboration in the revision of the English version and edition of this paper.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no competing interests.

References

1. Mendoza-Cruz, M.; Castro-Lara, D.; Mera-Ovando, L.M.; Chávez-Torrijos, E.K.; Bye-Boettler, R. *Plantas Medicinales Utilizadas por los Rarámuri de la Sierra Tarahumra, Chihuahua, Publicación de Difusión Núm. 1*; Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México: Distrito Federal, Mexico, 2009; pp. 18–20.

2. Alarcon-Aguilar, F.J.; Roman-Ramos, R.; Jimenez-Estrada, M.; Reyes-Chilpa, R.; Gonzalez-Paredes, B.; Flores-Saenz, J.L. Effect of three Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, *55*, 171–177.
3. Alarcon-Aguilar, F.J.; Jimenez-Estrada, M.; Reyes-Chilpa, R.; Gonzalez-Paredes, B.; Contreras, C.C.; Roman-Ramos, R. Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *69*, 207–215.
4. Jimenez-Estrada, M.; Merino-Aguilar, H.; Lopez-Fernandez, A.; Rojano-Vilchis, N.A.; Roman-Ramos, R.; Alarcon-Aguilar, F.J. Chemical characterization and evaluation of the hypoglycemic effect of fructooligosaccharides from *Psacalium decompositum*. *J. Complement. Integr. Med.* **2011**, *8*, 1413–1423.
5. De Roover, J.; Vandenbranden, K.; van Laere, A.; van den Ende, W. Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose: sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of chicory seedlings (*Chicorium intybus* L.). *Planta* **2000**, *210*, 808–814.
6. Vereyken, I.J.; Chupin, V.; Demel, R.A.; Smeekens, S.C.M.; de Kruijff, B. Fructans insert between the headgroups of phospholipids. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1510*, 307–320.
7. L’homme, C.L.; Puigserver, A.; Biagini, A. Effect of food processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. *Food Chem.* **2003**, *82*, 533–537.
8. Yasuda, A.; Inoue, K.; Sanbongi, C.; Yanagisawa, R.; Ichinose, T.; Tanaka, M.; Yoshikawa, T.; Takano, H. Dietary supplementation with fructooligosaccharides attenuates allergic peritonitis in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2012**, *422*, 546–550.
9. Kaume, L.; Gilbert, W.; Gadang, V.; Devareddy, L. Dietary supplementation of fructooligosaccharides reduces hepatic steatosis associated with insulin resistance in obese Zucker rats. *J. Funct. Foods Health Dis.* **2011**, *1*, 199–213.
10. Nakamura, Y.; Natsume, M.; Yasuda, A.; Ishizaka, M.; Kawahata, K.; Koga, J. Fructooligosaccharides suppress high-fat diet-induced fat accumulation in C57BL/6J mice. *BioFactors* **2011**, doi:10.1002/biof.147.
11. Malaguarnera, M.; Vacante, M.; Antic, T.; Giordano, M.; Chisari, G.; Acquaviva, R.; Mastrojeni, S.; Malaguarnera, G.; Mistretta, A.; Li Volti, G.; *et al.* *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. *Dig. Dis. Sci.* **2012**, *57*, 545–553.
12. Galisteo, M.; Duarte, J.; Zarzuelo, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *J. Nutr. Biochem.* **2008**, *19*, 71–84.
13. Rutledge, A.C.; Adeli, K. Fructose and the metabolic syndrome: Pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr. Rev.* **2007**, *65*, S13–S23.
14. Xu, H.; Barnes, G.T.; Yang, Q.; Tan, G.; Yang, D.; Chou, C.J.; Sole, J.; Nichols, A.; Ross, J.S.; Tartaglia, L.A.; *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 1821–1830.
15. Esposito, K.; Nappo, F.; Marfella, R.; Giugliano, G.; Giugliano, F.; Ciotola, M.; Quagliaro, L.; Ceriello, A.; Giugliano, D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: Role of oxidative stress. *Circulation* **2002**, *106*, 2067–2072.

16. Esposito, K.; Pontillo, A.; Giugliano, F.; Giugliano, G.; Marfella, R.; Nicoletti, G.; Giugliano, D. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J. Clin. Endocrinol. Meta.* **2003**, *88*, 1055–1058.
17. Wexler, D.J.; Hu, F.B.; Manson, J.E.; Rifai, N.; Meigs, J.B. Mediating effects of inflammatory biomarkers on insulin resistance associated with obesity. *Obes. Res.* **2005**, *13*, 1772–1783.
18. Blancas-Flores, G.; Almanza-Pérez, J.C.; López-Roa, R.I.; Alarcón-Aguilar, F.J.; García-Macedo, R.; Cruz, M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* **2010**, *67*, 88–97.
19. Alarcon-Aguilar, F.J.; Jimenez-Estrada, M.; Reyes-Chilpa, R.; Roman-Ramos, R. Hypoglycemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *72*, 21–27.
20. Tai, M.M. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diabetes Care* **1994**, *17*, 152–154.
21. Figlewicz, D.P.; Ioannou, G.; Bennett-Jay, J.; Kittleson, S.; Savard, C.; Roth, C.L. Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiol. Behav.* **2009**, *98*, 618–624.
22. Elliott, S.S.; Keim, N.L.; Stern, J.S.; Teff, K.; Havel, P.J. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* **2002**, *76*, 911–922.
23. Strader, A.D.; Woods, S.C. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology* **2005**, *128*, 175–191.
24. De Moura, R.F.; Ribeiro, C.; de Oliveira, J.A.; Stevanato, E.; de Mello, M.A. Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *Br. J. Nutr.* **2009**, *101*, 1178–1184.
25. Lindqvist, A.; Baelemans, A.; Erlanson-Albertsson, C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul. Pept.* **2008**, *150*, 26–32.
26. Abdullah, M.M.; Riediger, N.N.; Chen, Q.; Zhao, Z.; Azordegan, N.; Xu, Z.; Fischer, G.; Othman, R.A.; Pierce, G.N.; Tappia, P.S.; *et al.* Effects of long-term consumption of a high-fructose diet on conventional cardiovascular risk factors in Sprague-Dawley rats. *Mol. Cell Biochem.* **2009**, *327*, 247–256.
27. Bocarsly, M.E.; Powell, E.S.; Avena, N.M.; Hoebel, B.G. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2010**, *97*, 101–106.
28. Alzamendi, A.; Giovambattista, A.; Raschia, A.; Madrid, V.; Gaillard, R.C.; Rebolledo, O.; Gagliardino, J.J.; Spinedi, E. Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. *Endocrine* **2009**, *35*, 227–232.
29. Kusminski, C.M.; da Silva, N.F.; Creely, S.J.; Fisher, F.M.; Harte, A.L.; Baker, A.R.; Kumar, S.; McTernan, P.G. The *in vitro* effects of resistin on the innate immune signaling pathway in isolated human subcutaneous adipocytes. *J. Clin. Endocrinol. MeTab.* **2007**, *92*, 270–276.
30. Astolpho, R.D.; Curbete, M.M.; Colombo, N.H.; Shirakashi, D.J.; Chiba, F.Y.; Prieto, A.K.; Cintra, L.T.; Bomfim, S.R.; Ervolino, E.; Sumida, D.H. Periapical lesions decrease insulin signal and cause insulin resistance. *J. Endod.* **2013**, *39*, 648–652.
31. Veličković, N.; Djordjevic, A.; Vasiljević, A.; Bursać, B.; Milutinović, D.V.; Matic, G. Tissue-specific regulation of inflammation by macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoids in fructose-fed Wistar rats. *Br. J. Nutr.* **2013**, *110*, 456–465.

32. Senn, J.J.; Klover, P.J.; Nowak, I.A.; Zimmers, T.A.; Koniaris, L.G.; Furlanetto, R.W.; Mooney, R.A. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 13740–13746.
33. Tataranni, P.A.; Ortega, E. A burning question: Does an adipokine-induced activation of the immune system mediate the effect of overnutrition on type 2 diabetes? *Diabetes* **2005**, *54*, 917–927.
34. Kim, J.H.; Bachmann, R.A.; Chen, J. Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam. Horm.* **2009**, *80*, 613–633.
35. Pahan, K. Lipid-lowering drugs. *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *63*, 1165–1178.
36. Ranjbaran, H.; Sokol, S.I.; Gallo, A.; Eid, R.E.; Iakimov, A.O.; D'Alessio, A.; Kapoor, J.R.; Akhtar, S.; Howes, C.J.; Aslan, M.; *et al.* An inflammatory pathway of IFN-gamma production in coronary atherosclerosis. *J. Immunol.* **2007**, *178*, 592–604.
37. Guerre-Millo, M. Adipose tissue and adipokines: For better or worse. *Diabetes Metab.* **2004**, *30*, 13–19.
38. Hernández, C.; González, V.; Fuentes, A.; Cesar, R.; González, B.; García, E. Citocinas proinflamatorias en la infección de tejidos blandos de pacientes diabéticos. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* **2004**, *42*, 227–233.
39. Esposito, K.; Giugliano, D. Diet and inflammation: A link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur. Heart J.* **2006**, *27*, 15–20.
40. Maachi, M.; Pieroni, L.; Bruckert, E.; Jardel, C.; Fellahi, S.; Hainque, B.; Capeau, J.; Bastard, J.P. Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **2004**, *28*, 993–997.
41. Medina, E.A.; Erickson, K.L.; Stanhope, K.L.; Havel, P.J. Evidence that tumor necrosis factor-alpha-induced hyperinsulinemia prevents decreases of circulating leptin during fasting in rats. *Metabolism* **2002**, *51*, 1104–1110.
42. Bastard, J.P.; Maachi, M.; van Nhieu, J.T.; Jardel, C.; Bruckert, E.; Grimaldi, A.; Robert, J.J.; Capeau, J.; Hainque, B. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both *in vivo* and *in vitro*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**, *87*, 2084–2089.
43. Rabe, K.; Lehrke, M.; Parhofer, K.G.; Broedl, U.C. Adipokines and insulin resistance. *Mol. Med.* **2008**, *14*, 741–751.
44. Halle, M.; Persson, P.B. Role of leptin and leptin receptor in inflammation. *Am. J. Physiol.* **2003**, *284*, R760–R762.
45. Martin, S.S.; Qasim, A.; Reilly, M.P. Leptin resistance: A possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2008**, *52*, 1201–1210.