

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Agroindustria Alimentaria**  
**Ingeniería en Agroindustria Alimentaria**



Proyecto Especial de Graduación

**Revisión de literatura: Esteatosis hepática no alcohólica y formulación  
de una bebida de lactosuero y  $\beta$ -glucanos como propuesta para  
mejorar su daño**

Estudiante

Katherine Brigitte Calderón García

Asesores

Adriana Hernández, D.Sc.

Luis Fernando Osorio, Ph.D.

Honduras, agosto 2021

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**ADELA M. ACOSTA MARCHETTI**

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Contenido.....	3
Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figuras .....	6
Índice de Anexos .....	7
Resumen .....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos .....	13
Criterios de búsqueda .....	13
Criterios de selección de artículos .....	13
Resultados y Discusión.....	14
La Esteatosis Hepática no Alcohólica .....	15
Causas de la EHNA .....	16
Tipos de Esteatosis Hepática no Alcohólica, Grados de Progresión y Síntomas.....	17
Biopsia Hepática.....	18
Ecografía Abdominal .....	18
Análisis de Sangre .....	19
Consecuencias de Desarrollar Esteatosis Hepática no Alcohólica .....	19
COVID-19 y EHNA.....	19
Tratamientos para el Esteatosis Hepática no Alcohólica .....	20
Los $\beta$ -glucanos.....	28
Formulación de Bebida de Lactosuero y $\beta$ -glucanos .....	38
Modelos Experimentales para Esteatosis Hepática no Alcohólica .....	40
Método de Inducción a la Esteatosis Hepática no Alcohólica .....	40

Estudios que Realizaron Inducción a EHNA en Ratas Utilizando HFD .....	41
Dieta HFD y Control Propuestas.....	45
Detección de EHNA en Modelos Experimentales. ....	46
Conclusiones .....	48
Recomendaciones.....	49
Referencias.....	50
Anexos.....	69

### Índice de Cuadros

Cuadro 1. Composición del lactosuero dulce y ácido. ....	22
Cuadro 2. Estudios sobre aceptabilidad de bebidas de lactosuero. ....	27
Cuadro 3. Estructuras de $\beta$ -glucanos según su fuente. ....	29
Cuadro 4. Principales fuentes de $\beta$ - glucanos en cereales.....	29
Cuadro 5. Contenido de $\beta$ -glucanos en hongos y levaduras.....	30
Cuadro 6. Estudios sobre los beneficios de los $\beta$ -glucanos de cereales en la reducción de grasas. ....	34
Cuadro 7. Estudios sobre los beneficios de los $\beta$ -glucanos de levaduras en la reducción de grasas. ..	35
Cuadro 8. Estudios sobre los beneficios de los $\beta$ -glucanos de Hongos en la reducción de grasas.....	36
Cuadro 9. Formulación de bebida funcional.....	38
Cuadro 10. Composición nutricional del lactosuero y el extracto de vainilla en 100 g.....	39
Cuadro 11. Composición nutricional para 250 ml de bebida para humanos. ....	40
Cuadro 12. Generalidades del animal utilizado. ....	43
Cuadro 13. Descripción de tratamientos. ....	45
Cuadro 14. Composición nutricional de dieta HFD.....	46
Cuadro 15. Composición nutricional de la dieta control. ....	46

**Índice de Figuras**

Figura 1 Artículos revisados. ....	14
Figura 2 Fotografía de esteatosis hepática, 100 $\mu\text{m}$ .....	15

### Índice de Anexos

Anexo A. Valores de referencia fisiológicos normales para ratones y ratas.....	69
Anexo B. Datos hematológico y bioquímicos para ratas y ratones. ....	70

## Resumen

La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) es una enfermedad caracterizada por la acumulación de ácidos grasos y triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos, en cantidades mayores al 5% del peso total del hígado, en ausencia de inflamación, fibrosis y un consumo bajo de alcohol. Actualmente, no se cuenta con un tratamiento aprobado por agencias regulatorias y se ha convertido en la enfermedad hepática con mayor prevalencia mundial. Los objetivos de esta revisión de literatura fueron resaltar la importancia de la EHNA en la salud de la población, enunciar los beneficios del lactosuero y los  $\beta$ -glucanos en la salud y proponer la formulación de una bebida funcional para mejorar el daño por EHNA. Se revisaron un total de 511 artículos, de los cuales fueron seleccionados 139. Muchos autores han demostrado la efectividad del lactosuero y los  $\beta$ -glucanos, en la reducción de grasas y mejoras en el daño por EHNA. El lactosuero es un producto lácteo líquido obtenido mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche. Los  $\beta$ -glucanos son homopolisacáridos lineales de glucosa, se encuentran en hongos, levaduras, bacterias y cereales. El lactosuero dulce ha demostrado mayor aceptación en bebidas y los  $\beta$ -glucanos de hongos han presentado mejores efectos en la reducción de grasas. A partir de estos resultados, se propuso la formulación de una bebida con 70% de lactosuero dulce y 0.08% de  $\beta$ -glucanos de hongos con la que se espera mejorar el daño por EHNA.

Palabras clave: Hígado, prevención, tratamiento, triglicéridos, salud.

### Abstract

Non-alcoholic hepatic steatosis (NASH) is a disease characterized by the accumulation of fatty acids and triglycerides in the cytoplasm of hepatocytes, in amounts greater than 5% of the total liver weight, in the absence of inflammation, fibrosis and low alcohol consumption. Currently, there is no treatment approved by regulatory agencies and it has become the most prevalent liver disease in the world. The objectives of this literature review were to highlight the importance of NASH in population health, to enunciate the health benefits of whey and  $\beta$ -glucans, and to propose the formulation of a functional beverage to ameliorate NASH damage. A total of 511 articles were reviewed, of which 139 were selected. Many authors have demonstrated the effectiveness of whey and  $\beta$ -glucans in fat reduction and improvements in NASH damage. Whey is a liquid milk product obtained by separation of curd after coagulation of milk and/or milk-derived products. The  $\beta$ -glucans are linear homopolysaccharides of glucose, found in fungi, yeasts, bacteria and cereals. Sweet whey has shown greater acceptance in beverages and  $\beta$ -glucans from fungi have shown better effects on fat reduction. Based on these results, the formulation of a beverage with 70% sweet whey and 0.08%  $\beta$ -glucans from fungi was proposed to improve NASH damage.

Keywords: Liver, health, prevention, treatment, triglycerides.

## Introducción

Los consumidores modernos, buscan constantemente alimentos que beneficien su salud, disminuyendo el riesgo a enfermedades, o ayudando en el tratamiento de estas. Estos productos poseen una alta demanda, por lo que su desarrollo resulta sumamente conveniente para la industria alimentaria, ya que se estima que solo para el 2020, el consumo mundial de alimentos funcionales y fortificados, superó los 267 mil millones de dólares en ventas (Sloan A. 2020).

La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA), es una enfermedad crónica caracterizada por la acumulación de ácidos grasos y de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos (Caballería y Torán 2019), en cantidades mayores al 5% del peso total del hígado (Aguilera 2018). En ausencia de inflamación, fibrosis y un consumo de alcohol menor a 20 g / día en el caso de las mujeres y menos de 30 g / día en hombres (López C. Noguera I. 2018). Es considerada la etapa inicial de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (HGNA) (Jung *et al.* 2018).

Según estudios de 2017, el HGNA fue la causa del 16 al 23% de las muertes por cáncer de hígado y cirrosis en América Central, región Andina, Tropical y el Caribe (Paik JM. *et al.* 2020). En las últimas dos décadas, el HGNA se ha convertido en la causa más común de enfermedades hepáticas crónicas en el mundo, ya que en 2019 se estimaba que el 25% de la población mundial padecían de HGNA (Younossi *et al.* 2018). En Honduras, existe muy poca información acerca de la prevalencia de esta enfermedad, sin embargo, en el 2012 se realizó el estudio estadístico más reciente sobre las diez causas más frecuentes de muerte en Honduras, en donde las enfermedades del hígado, incluido el hígado graso, se encontraban en el sexto puesto de causa de mortalidad (INE 2012).

Actualmente, no se cuenta con información actualizada ni con un tratamiento para esta enfermedad que esté aprobado por las agencias regulatorias para EHNA, por lo que los pacientes suelen tratarse cumpliendo medidas higiénico-dietéticas, tales como la dieta y el ejercicio (Moctezuma-Velázquez 2018).

El lactosuero es un producto lácteo líquido obtenido durante el proceso de elaboración del queso, la caseína u otros productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche (CODEX 2018). Desde hace muchos años, este subproducto ha sido considerado un desecho industrial y, en consecuencia, ha sido vertido en los ríos, causando graves daños al medio ambiente (Barukčić *et al.* 2019).

Aproximadamente del 85 - 95% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero, el cual retiene cerca de 55% del total de sus nutrientes (Fernández Rodríguez *et al.* 2016). Es por ello, que es importante encontrar alternativas que permitan su utilización en el desarrollo de alimentos, para evitar que siga convirtiéndose en un subproducto de desecho y un desperdicio de nutrientes (Ramírez 2012)

El lactosuero ha demostrado excelente aceptación para el desarrollo de bebidas (Mazorra M y Moreno J. 2019), y mejoramiento del perfil de lipídico en mujeres con HGNA (Bortolotti *et al.* 2011). Esto sugiere que el lactosuero podría ser utilizado para la fabricación de productos funcionales para tratar la EHNA, que serían considerados como productos sostenibles al ser una alternativa de uso del lactosuero y de esta manera se reduciría el impacto ambiental (Ramírez 2012).

Los  $\beta$ -glucanos por su parte, son polímeros de glucosa que se encuentran naturalmente en cereales, hongos, levaduras y bacterias (Kaur R *et al.* 2020). Estos actúan en el organismo como fibra intestinal, lo cual promueve la salud, ayudando a disminuir los altos niveles de colesterol en la sangre (Amaya y Ardila 2016). En virtud a los potenciales efectos sobre la salud que poseen los  $\beta$ -glucanos, la industria alimentaria los ha utilizado cada vez más para el desarrollo de alimentos funcionales (Pizarro *et al.* 2014) y existen muchos estudios que prueban su efectividad en la disminución del colesterol, triglicéridos y tratamiento de EHNA.

Para comprobar la efectividad de numerosos productos antes de ser suministrados en seres humanos, se utilizan modelos experimentales animales (Palladini *et al.* 2019). En el caso de la enfermedad del hígado graso, se utilizan roedores, principalmente ratones y ratas, dada su similitud

biológica con el hombre y el gran conocimiento que se tiene a nivel genético, molecular, enzimático y otros (Palladini *et al.* 2019). Estos modelos, permiten comprender los procesos fisiopatológicos asociados al hígado graso y sus características histológicas, permitiendo realizar ensayos para nuevas terapias (Palladini *et al.* 2019).

En este estudio se realizó una revisión sistemática de literatura sobre la EHNA, en una serie de artículos de relevancia científica. También se revisaron los beneficios y aceptación de las bebidas de lactosuero, el efecto de los  $\beta$ -glucanos en la reducción de lípidos y los modelos experimentales aplicados para la reducción de la EHNA; esto con la finalidad de proponer la formulación de una bebida a base de lactosuero con  $\beta$ -glucanos y probar su efecto en la EHNA inducida en roedores. Los objetivos de la presente investigación fueron:

Resaltar la importancia de la esteatosis hepática no alcohólica en la salud de la población.

Enunciar los beneficios de los de  $\beta$ -glucanos y del lactosuero a la salud y sus opciones como insumo para bebidas.

Proponer la formulación de una bebida funcional a base de lactosuero, con la adición de  $\beta$ -glucanos, para mejorar el daño por EHNA.

## **Materiales y Métodos**

### **Criterios de Búsqueda**

Para la realización de la revisión de literatura se buscaron artículos científicos con menos de 10 años de publicación, escritos en inglés o español. Se seleccionaron aquellos que en su resumen hacían referencia a las temáticas abordadas sobre esteatosis hepática no alcohólica (EHNA),  $\beta$ -glucanos, lactosuero y modelos experimentales. Se utilizaron las bases de datos: Pubmed, Springer, Scielo, Science-Direct, PMC, Wiley Online Library, AGORA y Elsevier, con la finalidad de obtener información confiable y de alto valor científico.

### **Criterios de Selección de Artículos**

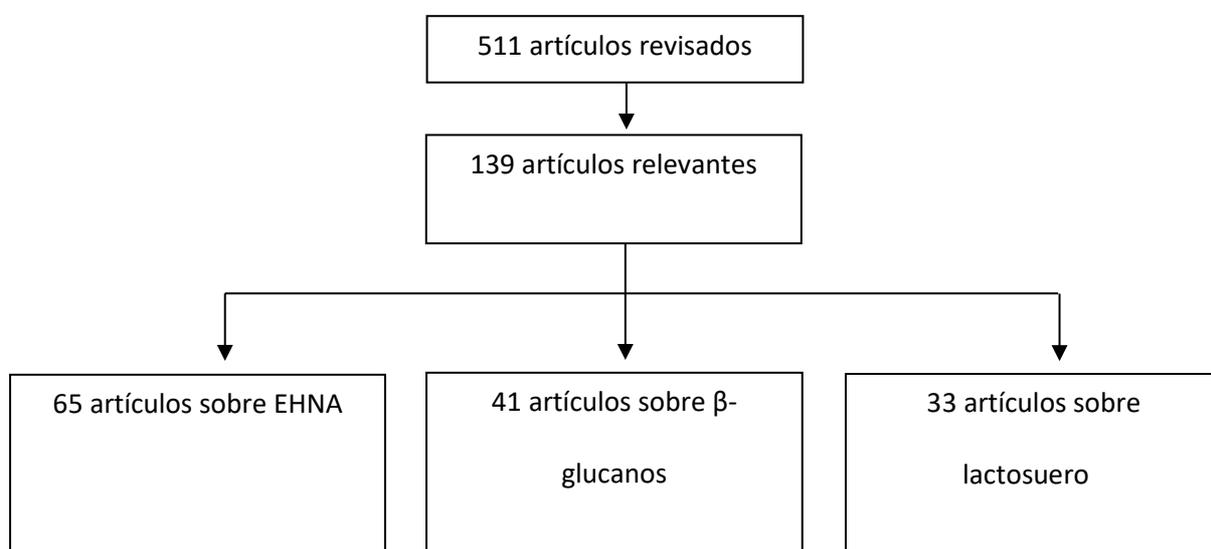
Los artículos adecuados para la inclusión en esta revisión fueron aquellos que cumplieron con los criterios de búsqueda y en su contenido incluían información relevante a la temática de esteatosis hepática no alcohólica (EHNA), el efecto de los  $\beta$ -glucanos en la reducción de lípidos, la aceptabilidad del lactosuero en bebidas y los modelos experimentales con dietas altas en grasa. De esta manera, se logró analizar información pertinente y apropiada a los objetivos planteados.

## Resultados y Discusión

Se revisaron un total de 511 artículos, de los cuales 138 fueron seleccionados, al ser considerados relevantes a las temáticas abordadas en la investigación (Figura 1). De estos artículos, 64 se relacionaban con la EHNA, 41 tenían relación con los  $\beta$ -glucanos y 33 contenían temáticas relevantes sobre el lactosuero. El resto de los artículos fueron excluidos, al no cumplir con los criterios de selección.

**Figura 1**

*Artículos revisados.*



Primeramente, se

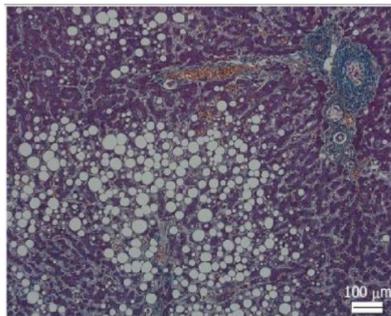
muestran los hallazgos referentes a la EHNA, para tener una mejor comprensión de esta. Después, se presentan los resultados encontrados acerca de los ingredientes propuestos en la elaboración de la bebida para mejorar el daño por EHNA, los cuales son lactosuero y  $\beta$ -glucanos. Posteriormente, se muestra la propuesta de formulación para la bebida, la cual está elaborada a partir de los resultados obtenidos en la revisión. Para finalizar, se muestran las generalidades para elaborar modelos experimentales con roedores para EHNA, los cuales pueden ser utilizados para probar la eficiencia de la bebida.

## La Esteatosis Hepática no Alcohólica

La esteatosis hepática no alcohólica (EHNA), es una enfermedad crónica caracterizada por la acumulación de ácidos grasos y de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos (Caballeria y Torán 2019), en cantidades mayores al 5% del peso total del hígado (Aguilera 2018). En ausencia de inflamación, fibrosis (Figura 2) y un consumo de alcohol menor a 20 g / día en el caso de las mujeres y menos de 30 g / día en hombres (López 2014). Es considerada la etapa inicial de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (HGNA) (Jung *et al.* 2018).

### Figura 2

*Fotografía de esteatosis hepática, 100 μm.*



*Nota.* Tomado de (López 2014)

En los últimos años, la EHNA se ha convertido en la enfermedad hepática crónica más prevalente en el mundo, afectando aproximadamente del 25 al 30% de la población adulta (Park *et al.* 2019). Las poblaciones con obesidad, diabetes, síndrome metabólico y sobrepeso, son consideradas de alto riesgo a padecer esta enfermedad, presentando prevalencias de 60 a 80% (Caballeria *et al.* 2019). En Estados Unidos, la EHNA es la segunda causa de enfermedades hepáticas por las cuales los adultos esperan un trasplante de hígado (Wong *et al.* 2015).

En América Latina, específicamente en los países sur americanos, existe una prevalencia de EHNA del 31%, con mayor prevalencia en Brasil (35.20%), Chile (23%), y Colombia (26.60%). Según los datos obtenidos en un estudio del año 2017, el HGNA causa entre el 16 y 23% de las muertes por cáncer de hígado y cirrosis en América Central, región Andina, Tropical y el Caribe (Paik *et al.* 2020). En Honduras, existe muy poca información acerca de la prevalencia de esta enfermedad, a pesar de

ello, en el 2012 se realizó el estudio estadístico más reciente sobre las diez causas más frecuentes de muerte en Honduras, en donde las enfermedades del hígado, incluida la EHNA, se encontraban en el sexto puesto (INE 2012).

### **Causas de la EHNA**

La patogenia específica de la EHNA es multifactorial (Hiniesto I. 2018). por lo que se divide entre causas metabólicas y tóxicas. Las causas metabólicas a su vez se dividen en causas congénitas (enfermedad de Wilson, galactosemia, entre otras) y causas adquiridas (diabetes mellitus, obesidad, entre otras) (Carrillo R 2011). Las causas tóxicas, se dividen en aquellas causadas por ciertos fármacos (tetraciclinas, estrógenos, entre otros) y las causadas por exposición a metales (cromo, uranio, entre otros) (Carrillo R 2011).

Caballeria *et al.* (2019), detallan que las causas que tienden a incrementar hasta tres veces el riesgo a desarrollar o presentar esteatosis hepática son:

- Obesidad (IMC > 30 kg/ m<sup>2</sup>), especialmente de distribución abdominal (perímetro cintura > 102 cm en varones y > 88 cm en mujeres).
- Diabetes mellitus tipo 2.

En el metaanálisis elaborado por Younossi *et al.* (2016) se constató que el 51.34% de los pacientes con obesidad presentaron EHNA, convirtiendo a la obesidad en la causa más frecuente de EHNA. Esto es de suma importancia, ya que para América Latina y el Caribe, la Organización Mundial de la Salud (OMS), reportó datos de sobrepeso y obesidad en 62.80% de hombres y 59.80% en mujeres (Oliveira *et al.* 2019). No obstante, la población no obesa, tampoco está exenta a desarrollar EHNA, ya que en países como Estados Unidos se estima una prevalencia de EHNA del 10 al 20% en personas no obesas (Younossi *et al.* 2018).

Los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, han presentado incidencias de EHNA mayores al 70%, debido a la resistencia a la insulina (Brito 2019). Así mismo, se determinó que la diabetes mellitus tipo 2, tiende a contribuir a la progresión acelerada de fibrosis hepática y posterior desarrollo del

carcinoma hepatocelular (Mitra *et al.* 2020). De manera contraria, también se observó que los pacientes con EHNA, presentan hasta cinco veces más riesgo a desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (Mitra *et al.* 2020).

En la población latina, las causas de prevalencia de EHNA, se le atribuyen a factores genéticos y ambientales, como la falta de ejercicio y tipo de dietas consumidas (Oliveira *et al.* 2019).

La ascendencia humana, también ha demostrado tener influencia en la prevalencia de EHNA. (Balakrishnan *et al.* 2017) demostraron en su estudio, que las poblaciones de ascendencia hispanoamericana presentan los niveles más altos de incidencia de EHNA, seguidos por los estadounidenses con ascendencia europea, mientras que los afroamericanos presentaron los niveles más bajos de incidencia. En las poblaciones de América Latina, se observó mayor prevalencia de EHNA en personas con origen nativo americano (Oliveira *et al.* 2019). También se han detectado más casos de EHNA en adultos mayores y personas del género masculino (Ballerga E *et al.* 2020), la EHNA puede desarrollarse por herencia familiar, como lo demostró un estudio realizado en 2015 a 60 pares de gemelos, en donde se demostró que tanto la EHNA, como la fibrosis, pueden desarrollarse de manera hereditaria (Loomba *et al.* 2015).

### **Tipos de Esteatosis Hepática no Alcohólica, Grados de Progresión y Síntomas**

Dependiendo el origen, la esteatosis hepática se clasifica en primaria y secundaria (Aguilera 2018). Cuando es causada por padecimientos asociados al síndrome metabólico, como la obesidad, la diabetes tipo 2, y la resistencia a la insulina, se clasifica como EHNA primaria (Aguilera 2018). La EHNA se clasifica como secundaria, cuando su origen se debe a causas inmediatas, como el efecto de algunos medicamentos, cuando se origina por la cirugía yeyuno ileal de bypass, o por enfermedades metabólicas (Aguilera 2018).

La EHNA es una enfermedad progresiva, por lo que Sahuquillo (2017), afirma que la progresión de EHNA se puede clasificar con el sistema Brunt y Cols, que la cataloga en tres grados:

**Grado 1**

Los glóbulos de grasa son menores al 33% de los hepatocitos.

**Grado 2**

Los glóbulos de grasa rondan entre 33 a 66% de los hepatocitos.

**Grado 3**

Los glóbulos de grasa superan el 66% de los hepatocitos.

La mayoría de pacientes de EHNA son asintomáticos, no obstante, en ciertos casos se presentan ciertas manifestaciones clínicas como malestar general, dolor en el hipocondrio derecho y fatiga (López C. Noguera I. 2018).

Para diagnosticar la presencia de esteatosis hepática no alcohólica, se toman en cuenta tres criterios: consumo de alcohol menor a 20 g/día en mujeres y menor a 30 g/día en hombres, diagnóstico de esteatosis por imágenes o lesiones histológicas típicas y el descartarte de otras causas de enfermedades hepáticas crónicas (Castro L, Silva G. 2015). Por lo que se hace uso de algunos métodos clínicos de detección como se enuncian a continuación:

**Biopsia Hepática**

Se realiza una ecografía, con el fin de determinar el lugar adecuado para tomar la muestra, el cual se marca con un rotulador (González y Senosiain C. 2013). Se coloca anestesia local y se procede a tomar la biopsia, insertando una aguja en el hígado a través de la piel del pecho o abdomen para retirar un pequeño segmento de hígado que posteriormente es analizado (González y Senosiain C. 2013). Este procedimiento es considerado el mejor para detectar EHNA, sin embargo, presenta muchas limitantes, como la invasividad de la práctica, la variabilidad en los muestreos y sus altos costos (Castera *et al.* 2019)

**Ecografía Abdominal**

El paciente debe colocarse en decúbito y se deberá realizar una localización hepática, para posteriormente, por medio de una sonda para ecografía tipo convex de baja frecuencia (2.5-5 MHz),

realizar cortes transversales y longitudinales (Sahuquillo A *et al.* 2020). Se debe explorar totalmente el hígado y comprobar la visualización de su contorno (Sahuquillo A *et al.* 2020).

### **Análisis de Sangre**

Se evalúan la bilirrubina y las transaminasas, ya que, si existe daño hepático, estos parámetros son los primeros en elevarse, sin embargo, un incremento de estas, no confirma la presencia de EHNA, por lo que posteriormente se deben realizar otros análisis (Ravisankar P *et al.* 2015).

### **Consecuencias de Desarrollar Esteatosis Hepática no Alcohólica**

Esta enfermedad se caracteriza por ser multisistémica y puede llegar a comprometer órganos extrahepáticos (Ballerga E *et al.* 2020), presentando tasas de mortalidad de 2 al 7% (López 2014). La principal causa de muerte en los pacientes con EHNA, es la enfermedad cardiovascular (Ballerga E *et al.* 2020), seguido por el cáncer no hepático (Wang y Malhi 2018). Según estimaciones, el 50% de los pacientes con esteatosis hepática no alcohólica, desarrollan fibrosis hepática, de los cuales un 15% de los casos evolucionan a la cirrosis y aproximadamente el 3% de estos, progresan a insuficiencia hepática (Quevedo Ramírez *et al.* 2019). La probabilidad de que un paciente con EHNA desarrolle carcinoma hepatocelular, es de aproximadamente 7% en un periodo de 10 años, con tasas de mortalidad de 12 a 36% (López 2014).

### **COVID-19 y EHNA**

El COVID-19 es una enfermedad causada por el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) que ha provocado grandes crisis en el sistema de salud mundial desde diciembre de 2019 (Zhang C *et al.* 2020). Medeiros *et al.* (2020) a través de un estudio retrospectivo, encontraron prevalencias significativamente mayores de EHNA, en los pacientes positivos a COVID-19. Lopez-Mendez *et al.* (2021) realizaron un estudio retrospectivo en pacientes hospitalizados con COVID-19 y encontraron prevalencia significativamente alta de EHNA (42.6%) y fibrosis hepática

(44.5%). Esta última, se asoció a un mayor riesgo de ingreso a la unidad de cuidados intensivos, pero no se determinó su asociación a resultados clínicos.

Xu L *et al.* (2020), presentaron los resultados de una biopsia post mortem, de un paciente fallecido por COVID-19, en el cual se observó EHNA leve, sin embargo, no se podía determinar si la causas de esto, fue el SARS-CoV-2 o los fármacos usados para tratarlo. Para poder detallar la relación de COVID-19 con la EHNA, se requieren realizar más estudios, analizando diversas variables (Medeiros *et al.* 2020).

### **Tratamientos para el Esteatosis Hepática no Alcohólica**

Actualmente, no se cuenta con un tratamiento para esta enfermedad, que este aprobado por las agencias regulatorias para HGNA y los pacientes suelen tratarse cumpliendo medidas higiénico-dietéticas, tales como la dieta y el ejercicio (Moctezuma-Velázquez 2018). Se recomiendan de 40 a 45 minutos de ejercicios aeróbicos o de resistencia tres veces por semana y dietas mediterráneas, debido a que estas son más efectivas que las dietas isocalóricas bajas en grasa, para la reducción de EHNA (Moctezuma-Velázquez 2018).

### **Lactosuero**

El lactosuero o suero de leche es un producto lácteo líquido obtenido durante el proceso de elaboración del queso, la caseína u otros productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche (CODEX 2018). En su estado natural es un líquido claro, translúcido, de color amarillo verdoso o poco azulado, dependiendo de la fuente de obtención (Ramírez 2012).

### ***Clasificación del Lactosuero***

El lactosuero se clasifica de acuerdo a su pH, en lactosuero dulce y ácido (Rincon Garcia *et al.* 2020). El lactosuero dulce, se produce cuando la coagulación de la leche se realiza de manera no ácida, por la acción enzimática causada por el cuajo y presenta un pH entre 5.8 - 6.6 (López R *et al.* 2018). El

lactosuero ácido, es producido cuando la coagulación del queso se realiza a través de una acidificación, por lo que su pH es menor a 4.5 (Rincon Garcia *et al.* 2020).

En la industria láctea, también se produce lactosuero salado, el cual se obtiene por efecto de deshidratación de partículas durante el proceso de secado de la cuajada (Aráuz M. 2020). Para la obtención de este tipo de lactosuero, la sal se dispersa y disuelve la humedad superficial, permitiendo obtener suero salado mediante una expulsión en el proceso de prensado (Aráuz M. 2020). Este suero, se produce en la elaboración de quesos secos en sal, representando porcentajes de 2 - 5% del suero total producido, sin embargo, debido a sus altos costos de procesamiento y contenido de sal elevados, los usos de este suero en la industria son muy bajos y se disponen de pocos estudios sobre el mismo (Motta Y. Mosquera W. 2015)

### **Composición de Lactosuero**

El lactosuero contiene más de la mitad de los sólidos presentes en la leche, siendo su componente principal la lactosa, que representa un total de 70 a 80%, seguido por un 9% de las proteínas y una pequeña cantidad de grasa, sales minerales y vitaminas hidrosolubles (López R *et al.* 2018). Contiene proteínas séricas altamente estructuradas, distribuidas entre 55 a 65% en  $\beta$ -lactoglobulina, de 15 a 25% en  $\alpha$ -lactoalbúmina, entre 10 a 15% inmunoglobulinas, 5 a 6% seroalbúmina, 10 a 20% proteosomas-peptonas, de 1 a 2% de caseína soluble, < 0.5% de proteínas menores y contiene algunos péptidos (Ramírez-Navas *et al.* 2018)

No obstante, su composición tiende a variar según el tipo de queso elaborado, el tipo de leche utilizada y el proceso al que fue sometido (Cuadro 1) (Rincon Garcia *et al.* 2020). El lactosuero ácido es caracterizado por presentar niveles bajos de pH y lactosa, un nivel más alto de cenizas, menor contenido proteico, diferencias en la composición de la fracción de proteína y hasta dos veces más calcio, que el lactosuero dulce (Cuadro 1) (Kaur *et al.* 2020)

Esto es ocasionado, porque en la obtención del lactosuero ácido, durante la precipitación de la caseína, parte de la lactosa se transforma en ácido láctico, por causa de bacterias ácido lácticas y/o

la adición de acidulantes, provocando una disminución en el contenido de lactosa (Cuadro 1) y reducciones de pH (Villareal 2017). El calcio es un mineral, que tiende a incrementar en el lactosuero ácido, debido a que los niveles bajos de pH, provocan que calcio coloidal presente en las micelas de la caseína de la leche, se solubilice y disperse en el lactosuero (Villareal 2017). Por otro lado, en el lactosuero dulce, el 20% de la fracción de proteína, está constituida por glicomacropéptidos, los cuales son producidos por la coagulación, siendo un fragmento de la molécula k-caseína, lo que produce diferencias en la fracción proteica de este, con respecto al lactosuero ácido (Villareal 2017).

### **Cuadro 1**

*Composición del lactosuero dulce y ácido.*

Componente (%)	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
Sólidos totales	6.30 – 7.00	6.30 – 7.00
Lactosa	4.60– 5.20	4.40 – 4.60
Proteína	0.60 – 1.00	0.60 – 0.80
Potasio	0.14 – 0.16	0.14 – 0.16
Calcio	0.04 – 0.06	0.12 – 0.16
Fósforo	0.04 – 0.07	0.05 – 0.08
Grasa	0.00 – 0.50	0.00 – 0.50

*Nota. Tomado de (Hernández y Vélez (2014)*

### **Desperdicio y Contaminación por Lactosuero**

Este subproducto representa entre el 85 y 95% de la cantidad total de leche utilizada para la elaboración del queso, además de contener retenidos el 55% de los nutrientes de la leche (Fernández Rodríguez *et al.* 2016). Se estima una producción de nueve litros de lactosuero, por cada kilogramo de queso elaborado, por lo que es considerado el subproducto principal en la industria quesera y el coproducto principal en la industria láctea (Remón *et al.* 2016). Pese a ello, desde hace muchos años, se le ha considerado un desecho industrial y en consecuencia ha sido vertido en el medio ambiente, causándole graves daños (Barukčić *et al.* 2019). En Latinoamérica, la mayoría del lactosuero es vertido en los ríos y suelos, y solo una pequeña parte es destinada a la alimentación de cerdos o terneros (Ramírez 2012). En Zamorano, el lactosuero producido por la planta de lácteos es desechado por falta de alternativas de uso.

El lactosuero se considera uno de los más altos contaminantes de la industria alimentaria, se estima que su carga residual puede llegar a ser entre 100 a 175 veces más alta, que la carga de una cantidad igual de aguas residuales domésticas (Barukčić *et al.* 2019) (Barukčić *et al.* 2019). Lo anterior se debe, a su alta demanda química de oxígeno (DQO) la cual es de 50 a 80 g/L y su elevada demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que oscila entre 40 a 60 g/L (Barukčić *et al.* 2019). Por lo cual, es importante encontrar alternativas que permitan la utilización del lactosuero para su aprovechamiento en el desarrollo de alimentos y deje de ser un desecho industrial con un enorme desperdicio de nutrientes para convertirse en un coproducto (Ramírez 2012).

### ***Usos del Lactosuero***

En la actualidad, el lactosuero es utilizado comúnmente, para la producción de requesón, confitería, fórmulas lácteas, bebidas, como ingrediente de panadería, en biomasa microbiana y como comida para cerdos (Mazorra M y Moreno J. 2019)

### ***Propiedades Funcionales del Lactosuero***

Se estima que en mil litros de lactosuero, se obtienen 9 kg de proteína, 50 kg de lactosa y 3 kg de grasa de leche, lo cual podría satisfacer el requerimiento diario de energía para 100 personas o más y el requerimiento diario de proteínas para aproximadamente 130 personas (Muset G y Castells M. 2017). Las proteínas presentes en el lactosuero, poseen un alto valor biológico, ya que son altas en aminoácidos esenciales, siendo superiores a otras fuentes de proteína animal y vegetal como la proteína del huevo (Barukčić *et al.* 2019).

Se ha demostrado que el consumo de proteínas de alto valor biológico, contribuye al aumento y desarrollo de masa muscular, reduciendo riesgos a enfermedades como la sarcopenia (Platán M y Caudillo N. 2020). El lactosuero contiene grandes cantidades de lactosa, un disacárido altamente benéfico, al cual se le atribuyen propiedades como, la estimulación en absorción intestinal de calcio, contribuyendo de esta manera a la mineralización ósea (Mazorra M y Moreno J. 2019). El consumo de lactosuero puede evitar el riesgo a sufrir fracturas óseas (Platán M y Caudillo N. 2020). En la hidrólisis

de la  $\beta$ - lactoglobulina y la  $\alpha$ -lactoalbúmina, presentes en el lactosuero, se producen secuencias peptídicas en las cuales, se han detectado propiedades hipocolesterolémicas, inmunoestimulantes, antidiabéticas, anti obesidad, antioxidantes, antimicrobianas y antihipertensivas (Dullius *et al.* 2018).

La  $\beta$ -lactoglobulina contenida en el lactosuero, es caracterizada por sus excelentes propiedades emulsificantes, espumantes y gelatinizantes, cualidades apreciables en las bebidas (Ramírez-Navas *et al.* 2018). También estimula funciones intestinales, como la absorción de ácidos grasos y presenta excelentes capacidades de modulación de la respuesta inmune (Mazorra M y Moreno J. 2019). La  $\alpha$ -lactoalbúmina, se considera una fuente natural de triptófano y cisteína, es efectiva contra tumores celulares, como el papiloma humano y ha demostrado tener una intervención positiva en la absorción de hierro en el intestino, por lo que es muy utilizada en formulaciones infantiles (Peso P *et al.* 2012). Esta proteína, dispone de altas propiedades emulsificantes y espumantes, además de presentar excelentes capacidades de ligar de iones de calcio, compuestos liposolubles como vitaminas y ácidos grasos (Mazorra M y Moreno J. 2019). El lactosuero contiene inmunoglobulinas IgG1 y IgG2, las cuales son muy importantes en productos destinados a personas inmunocomprometidas y niños, debido a la función inmune que estas ejercen (Espinosa *et al.* 2018). Otras propiedades atribuidas al lactosuero, son sus características de mejora inmunológica, propiedades de mejora en el crecimiento de la microflora intestinal benéfica, propiedades antitoxinas y su contribución al control de enfermedades específicas, como el cáncer (Macwan *et al.* 2016).

### ***El Lactosuero y la EHNA***

La cantidad proteica presente en el lactosuero, podrían convertirlo en un excelente alimento para el tratamiento de EHNA. En un estudio realizado en el 2020 por Xu C *et al.* se demostró, que una dieta alta en proteínas y baja en calorías, es más eficiente en la reducción del hígado graso no alcohólico (HGNA), que una dieta baja en proteínas y baja en calorías. En dicho estudio, se suministraron ambas dietas a pacientes obesos, que padecían de HGNA, obteniendo reducciones de grasa hepática, hasta del 40%, en pacientes que siguieron la dieta alta en proteína y baja en calorías

(Xu C *et al.* 2020). Mientras que no se observaron cambios en la grasa hepática, de los pacientes que siguieron la dieta baja en proteínas y calorías (Xu C *et al.* 2020). El mecanismo de acción del lactosuero en la reducción de grasas se le atribuye a que las proteínas que contiene, las cuales aumentan la sensibilidad a la leptina, la hormona encargada de provocar una sensación de saciedad, causando sensaciones de satisfacción con la ingesta de menos calorías (Xu C *et al.* 2020). Además, se afirmó que, de haber más investigación, que confirme la efectividad del aumento en la ingesta proteica, en la reducción del HGNA, el uso de estas dietas podría llegar a usarse en prácticas médicas para la terapia de HGNA y por consiguiente de EHNA (Xu C *et al.* 2020).

En un estudio realizado en Suiza a un grupo de mujeres con hígado graso no alcohólico (HGNA), se demostró que el lactosuero mejoró su situación y los perfiles de lípidos grasos (Bortolotti *et al.* 2011). Lo que sugiere que el lactosuero podría ser utilizado en la fabricación de productos funcionales para tratar la EHNA. Así mismo, Ooi *et al.* en el 2015, realizaron una bebida suplementada con proteínas de lactosuero, la cual fue suministrada en dosis de 30 g/día, a mujeres ancianas sanas, demostrando su potencial para prevenir el empeoramiento de EHNA, asociada con el aumento de peso. También, se ha demostrado que el contenido de calcio presente en el lactosuero puede disminuir la acumulación de grasa corporal, ya que inhibe el almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo, al suprimir las hormonas calcitróficas (Madadlou y Abbaspourrad 2018).

### ***Bebidas de Lactosuero***

El lactosuero es una materia prima de gran valor biológico, con un alto potencial para ser llevado a industrias farmacéuticas, biotecnológicas, agroalimentarias y otras similares (Barukčić *et al.* 2019). A pesar de ello, la producción de alimentos funcionales con el uso de lactosuero es muy escasa, siendo la producción de bebidas a base de lactosuero, la forma más conveniente, sencilla y aceptable de utilización de este subproducto, según el punto de vista tecnológico y económico (Barukčić *et al.* 2019). El lactosuero mejora la solubilidad, viscosidad y la estabilidad coloidal de las bebidas (Hernández y Vélez 2014). Además, proporciona un elevado contenido proteico y de minerales (Baba

*et al.* 2016). Las bebidas de lactosuero, se caracterizan por su alto contenido de propiedades nutricionales beneficiosas para la salud, por lo que cumplen con las demandas del consumidor moderno, el cual desea consumir productos que aporten beneficios su salud (Barukčić *et al.* 2019).

El mercado de las bebidas con lactosuero es muy amplio, ya que abarca desde niños hasta ancianos, sin embargo, aún falta informar a los consumidores sobre el valor biológico que estas presentan (Barukčić *et al.* 2019). Entre las bebidas elaboradas con lactosuero se encuentran, las fórmulas infantiles, batidos con proteínas de lactosuero, bebidas de frutas, bebidas fortificadas, bebidas fermentadas entre otras (Hernández y Vélez 2014).

### ***Aceptabilidad de las Bebidas de Lactosuero***

Para conocer la aceptabilidad de las bebidas de lactosuero y el porcentaje que se debe agregar de este en una bebida, se analizaron estudios con menos de 10 años, realizados en Latinoamérica, en los que desarrollaron este tipo de bebidas y evaluaron sensorialmente sus características, a través de pruebas afectivas de preferencia y/o de aceptación, y con esta información se elaboró el Cuadro 2.

En los estudios analizados, se observó la prevalencia del uso de lactosuero dulce en la realización de bebidas (Cuadro 2), estudios comprueban, que resulta más fácil desarrollar bebidas con este tipo de lactosuero (Villareal 2017). Esto se debe, a que el lactosuero ácido produce un sabor y aroma agrio, difícil de enmascarar, además la acidez de este, dificulta la mezcla con varios sabores, ya que su aroma lácteo, descrito como leche caducada, se sigue percibiendo incluso después de terminada la bebida (Villareal 2017). Este lactosuero presenta características astringentes, tendiendo a producir resequedad en el paladar, por su contenido de acidez, lo cual no es muy aceptable en bebidas (Villareal 2017). Sin embargo, con los ingredientes y cantidades adecuadas, se puede lograr el desarrollo de bebidas con lactosuero ácido de manera eficaz (Villareal 2017).

**Cuadro 2***Estudios sobre aceptabilidad de bebidas de lactosuero.*

Autor	Ingredientes	Tipo de lactosuero utilizado	Formulación con mayor aceptación
(Muñoz <i>et al.</i> 2020)	Lactosuero Soya inoculada con mucílago de cacao	Dulce	75% lactosuero 25% soya inoculada con mucílago de cacao nacional
(Rodríguez <i>et al.</i> 2020)	Lactosuero Pulpa de copoazú Azúcar Sorbato de potasio Gelatina	Dulce	70% lactosuero 30% pulpa de copoazú
(Amador <i>et al.</i> 2019)	Lactosuero deslactosado Pulpa de mora congelada Azúcar	Dulce	70% lactosuero 30% pulpa de mora
(Campos 2019)	Lactosuero Jugo de naranja CMC(CarboxiMetilCelulosa) Sorbato	Dulce	40% lactosuero 60% jugo de naranja
(Incahuanaco 2013)	Lactosuero Zum de naranja Agua Estevia	Ácido	30% lactosuero 20% jugo de piña 50% agua

Incahuanaco (2013), desarrolló una bebida con lactosuero ácido, donde determinó que las formulaciones que contenían más de 30% de lactosuero, afectaron las características organolépticas de la bebida, originando un sabor amargo. Pese a ello, las bebidas que contenían 30% de lactosuero obtuvieron buenos puntajes de aceptación sensorial (Incahuanaco 2013).

En los estudios donde se utilizó lactosuero dulce, se observaron formulaciones con porcentajes de 40 a 75% de lactosuero. En el estudio realizado por Campos (2019), se determinó que la aceptabilidad de la bebida, incrementó en las muestras que contenían un mayor porcentaje de jugo de naranja, ya que este mejoraba el color y sabor de la misma. Sin embargo, como era de esperar, su contenido proteico disminuyó a menor concentración de lactosuero (Campos 2019).

(Rodríguez *et al.* 2020) y (Amador *et al.* 2019) argumentaron que, a mayor porcentaje de jugo y pulpa de frutas utilizado, había mayor aceptación de las características organolépticas de las bebidas y obtuvieron una aceptabilidad sensorial favorable, en bebidas con 70% de lactosuero (Cuadro 2). Así

mismo, Muñoz *et al.* (2020) reportaron buena aceptabilidad sensorial, en bebidas con 75% de lactosuero (Cuadro 2). Con estos resultados, se demostró que la aceptación de estas bebidas tiende a variar según el tipo de lactosuero y el porcentaje utilizado. Por su parte, el lactosuero dulce en bebidas es aceptable en concentraciones hasta de 75%, mientras que el lactosuero ácido, es aceptable en cantidades hasta de un 40%. A la vez, se observó que, las características organolépticas de la bebida tienden a mejorar al aumentar la cantidad de jugo o pulpa.

### **Los $\beta$ -glucanos**

Son homopolisacáridos lineales de glucosa sin almidón (Sima *et al.* 2018), y dependiendo de su origen, pueden presentar ramificaciones, variaciones en su estructura y en cambios en los enlaces de cadena principal (Jayachandran *et al.* 2018). Son considerados fibra dietética, debido a que no son digeribles en el intestino delgado humano, ya que este, no dispone de enzimas intestinales o pancreáticas capaces de degradarlo (Pizarro *et al.* 2014). Es por esta razón, que se les atribuyen propiedades promotoras de la salud, y un alto potencial para ayudar a disminuir los niveles elevados de colesterol en la sangre (Amaya y Ardila 2016).

### **Fuentes de $\beta$ -glucanos**

Los  $\beta$ -glucanos se encuentran naturalmente en las paredes celulares de diversos organismos vivos, como los hongos, levaduras, bacterias y en las paredes endospermicas y aleurónicas de los granos de cereales, como la avena y cebada (Du *et al.* 2019). Estos se encuentran en concentraciones de 0.1 - 10% en los cereales, 5 - 7% en levaduras y en los hongos las concentraciones oscilan entre el 3.1 al 46.5% dependiendo la cepa de la que fueron extraídos (Kaur R *et al.* 2020). La estructura de los  $\beta$ - glucanos también varía dependiendo de su fuente (Pizarro *et al.* 2014), tal como se muestra en el Cuadro 3.

### Cuadro 3

*Estructuras de  $\beta$ -glucanos según su fuente. Revisar que los cuadros no queden separados.*

Tipo de $\beta$ -glucano	Estructura	Descripción
Cereal		Glucano lineal $\beta$ - (1-3) y $\beta$ - (1-4)
Hongo		Glucano ramificaciones cortas $\beta$ - (1-6) y $\beta$ - (1-3)
Levadura		Glucano ramificaciones largas $\beta$ - (1-6) y $\beta$ - (1-3)
Bacteria		Glucano lineal $\beta$ - (1-3)

*Nota.* Adaptado de: Pizarro *et al.* (2014)

### ***$\beta$ -glucanos de Cereales***

Los cereales contienen  $\beta$ -glucanos sin ramificaciones, con enlaces  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 3) y  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 4), como se puede ver en el Cuadro 3 (Feng 2016). Los principales cereales utilizados para la extracción de estos compuestos, son la avena y la cebada (Feng 2016). En 1997, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), de los Estados Unidos, afirmó la efectividad de la avena, en la reducción de los niveles de colesterol en plasma y el riesgo a sufrir enfermedades cardíacas, recomendando dosis diarias de 3 g, para reducir el colesterol (Ahmad y Kaleem 2018). También se han observado reducciones en el colesterol en sangre, con el uso  $\beta$ -glucanos de cebada y avena, en dosis diarias de 3 g (Tiwari y Cummins 2011). Si bien, existen otros cereales que contienen  $\beta$ -glucanos (Cuadro 4), aún no se dispone de técnicas de extracción que garanticen la pureza de estos compuestos, logrando extraer solo el 60 - 65% del total contenido en el grano (Feng 2016).

### Cuadro 4

*Principales fuentes de  $\beta$ - glucanos en cereales.*

Fuentes	Contenido de $\beta$ -glucano (%)
Cebada	5 – 10
Avena	3 – 7
Centeno	0.7 – 2.4
Lentejas	0.4 – 1.1
Arroz	0.4 – 0.9
Lino	0.3 – 0.7

*Nota.* Adaptado de: (Ahmad y Kaleem 2018)

### ***β-glucanos de Levaduras y Hongos***

Levaduras y hongos presentan β-glucanos con ramificaciones, compuestos por cadenas de glucosa unidas a través de enlaces β- (1→3) y enlaces β- (1→6) (1 →9) en sus cadenas laterales (Cuadro 3) (Pizarro *et al.* 2014). Sin embargo, a pesar de las similitudes entre los β-glucanos de hongos y levaduras, la longitud de sus cadenas tiende a variar, siendo más grandes en las levaduras (Jayachandran *et al.* 2018).

Son efectivos en la reducción de colesterol y triglicéridos, poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígenas, entre otras (Amaya y Ardila 2016). Se caracterizan por su eficiente extracción y refinación, logrando una pureza hasta del 93% (Feng 2016). En hongos como *Ganoderma lucidum*, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de Estados Unidos, aprueba dosis de 150 mg de β-glucanos por porción (FDA 2011).

El contenido de β-glucanos presentes en hongos y levaduras, varía dependiendo de la cepa extraída, es por lo que se elaboró el Cuadro 5, en donde se muestran las cantidades promedio presentes en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y diferentes tipos de hongos.

#### **Cuadro 5**

*Contenido de β-glucanos en hongos y levaduras.*

Fuente	Contenido de β-glucano (%)	Autor
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33.74 – 44.52	(Pengkumsri N <i>et al.</i> 2017)
<i>Lentinula edodes</i>	20	(Bak WChull <i>et al.</i> 2014)
<i>Antrodia camphorata</i>	14.20	(Chiu C <i>et al.</i> 2013)
<i>Ganoderma lucidum</i>	12.40 – 19.00	(Cho J-H <i>et al.</i> 2013)

### ***β-glucanos de Bacterias***

Están compuestos por cadenas lineales, con enlaces β- (1-3), carentes de ramificaciones (Cuadro 3) (Pizarro *et al.* 2014). A estos β-glucanos, les son atribuidas propiedades inmunomoduladoras (Pérez *et al.* 2018). Además, (Sun *et al.* 2017), demostraron sus propiedades funcionales en la reducción del peso. En la actualidad, no se disponen de muchos estudios sobre ellos (Feng 2016).

### **Extracción de $\beta$ - glucanos**

Los métodos y procesos utilizados varían dependiendo de la fuente utilizada (Cáceres 2017). En los cereales el método más utilizado para extraer los  $\beta$ - glucanos, es la extracción por agua caliente (Maheshwari *et al.* 2017). Para este método, primeramente, se muelen y tamizan las muestras, para someterlas a un reflujo en etanol que elimina la mayor parte de los lípidos y ayuda a desactivar la enzima  $\beta$ - glucanasa (Maheshwari *et al.* 2017). Después se realiza la extracción a temperaturas de 47 a 50 °C para evitar que el almidón se solubilice o gelatinice (Maheshwari *et al.* 2017).

En los hongos, el método más utilizado también es la extracción por agua caliente (Cáceres 2017). Para ello, los hongos son cortados en trozos y se lavan con agua normal, después se hierven a 100 °C por 10 horas, en agua destilada, se dejan enfriar, se centrifugan y el líquido que queda sobre el sedimento, es precipitado con etanol para extraer el polisacárido crudo y purificarlo mediante cromatografía, como la de permeación en gel (GPC) (Maity *et al.* 2015).

Para extraer los  $\beta$ -glucanos de levadura, (Pengkumsri N *et al.* 2017), hicieron uso de células de levadura autolizada. Como primer paso, mezclaron las células de levadura con NaOH y las incubaron en un agitador por dos horas a 80 °C, para posteriormente centrifugar por 25 minutos a 4 °C, con el fin de recoger el sedimento producido y suspenderlo en agua destilada (Pengkumsri N *et al.* 2017). Después disolvieron el sedimento celular en HCL y nuevamente incubaron en un agitador a 80 °C por 2 horas, centrifugaron por 25 minutos a 4 °C para recoger el sedimento, lavaron el sedimento con agua, luego lo secaron en un horno de aire caliente a 60 °C y obtuvieron gránulos de glucano, que almacenaron a 4 °C (Pengkumsri N *et al.* 2017). El contenido de  $\beta$ -glucanos fue determinado mediante el kit de ensayo de glucano de levadura (Megazyme, Irlanda) (Pengkumsri N *et al.* 2017).

### **Propiedades Funcionales de los $\beta$ - glucanos**

Los  $\beta$ -glucanos, poseen cualidades bioactivas y funcionales, que los convierten en un excelente ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales (Jayachandran *et al.* 2018). Se les atribuyen beneficios al sistema inmunológico, propiedades antisépticas, antioxidantes,

antienvejecimiento, activadores del sistema inmunológico, propiedades antiinflamatorias, antidiabéticas, de protección contra la radiación, entre otras (Kusmiati y Dhewantara 2016).

En diversos estudios, realizados tanto en humanos, como en modelos experimentales animales, se ha demostrado que los  $\beta$ -glucanos de fibra dietética, además de mejorar la salud en general, contribuyen a evitar el riesgo a desarrollar enfermedades crónicas, asociadas al estilo de vida (Sima *et al.* 2018). Por lo que la industria alimentaria, puede beneficiarse de sus propiedades para el desarrollo de alimentos funcionales y nutraceúticos (Ahmad y Kaleem 2018).

### ***$\beta$ -glucanos en la Reducción de Grasas***

Muchos autores, han demostrado la efectividad de los  $\beta$ -glucanos, independientemente de su origen, en la reducción de los niveles de colesterol y triglicéridos (Sima *et al.* 2018) El mecanismo de acción más aceptable para los  $\beta$ -glucanos en la reducción del colesterol y triglicéridos, se le atribuye a la formación de geles viscosos en el tracto gastrointestinal, lo cual disminuye la reabsorción de los ácidos biliares y la absorción del colesterol (Sima *et al.* 2018). Sin embargo, el mecanismo específico por el cual los  $\beta$ -glucanos ejercen sus propiedades reductoras de lípidos, aún no se comprende (Sima *et al.* 2018). A causa de la inhibición de ácidos biliares, ocurre un aumento en la síntesis de estos, a partir del uso del colesterol sanguíneo (Sima *et al.* 2018). Hace algunos años, se creía que los  $\beta$ -glucanos, clasificados como fibra dietética insoluble, solo influían en el volumen de materia fecal, mientras que, a los  $\beta$ -glucanos, clasificados como fibra soluble, les eran atribuidas propiedades de reducción de lípidos y colesterol (Sima *et al.* 2018).

Actualmente, se ha demostrado, que la capacidad de reducción de lípidos y colesterol en sangre, aumenta conforme se eleva la capacidad de fermentación y viscosidad que presentan los  $\beta$ -glucanos (Sima *et al.* 2018). Aunque estas capacidades suelen ser mayores en fibras solubles, la fermentabilidad suele ser mayor en las fibras insolubles con alta porosidad y gran tamaño (Feng 2016). En muchos estudios, se ha observado que la viscosidad de los  $\beta$ -glucanos, esta correlaciona con su peso molecular, tendiendo a aumentar conforme este aumenta (Kim y White 2013). De igual forma,

el peso molecular está influenciado por los métodos de extracción y modificación del  $\beta$ -glucano (Kaur *et al.* 2020). Los  $\beta$ -glucanos con 530.000–5.686.600 g / mol son considerados de alto peso molecular (Huang *et al.* 2020).

Los  $\beta$ -glucanos de la avena, u otros cereales, son los más utilizados en la reducción del colesterol, sin embargo, se ha demostrado que los  $\beta$ -glucanos provenientes de otras fuentes, también son efectivos para este fin (Sima *et al.* 2018).  $\beta$ -glucanos como los de origen fúngico, además de tener efectividad en la reducción del colesterol y triglicéridos, previenen el desarrollo del HGNA (Aoki *et al.* 2015). Pese a ello, se disponen de pocos estudios sobre el uso de fuentes fúngicas de  $\beta$ -glucanos y los beneficios que proporcionan a la salud (Feng 2016). Otra característica que aumenta el valor de esta fibra dietética, independientemente de su fuente de extracción, es que no se reportan efectos secundarios negativos significativos, al ser consumidos (Sima *et al.* 2018).

#### ***Estudios sobre los Beneficios de $\beta$ -glucanos en la Reducción de Grasas***

Se analizaron estudios recientes  $\beta$ -glucanos en la reducción de grasas y se clasificaron según el origen de los  $\beta$ -glucanos utilizados. La mayoría de estos estudios, fueron realizados en ratas y ratones, a los cuales también se les suministraron dietas altas en grasas para utilizarlos como modelos experimentales. Las dosis de  $\beta$ -glucanos utilizadas, fueron reportadas en porcentajes en dieta, mg por kg de dieta, mg por kg de peso corporal y gramos diarios. Se ha demostrado, que la dosis exacta de  $\beta$ - el glucanos a utilizar, depende de la enfermedad a tratar, el tipo de  $\beta$ - el glucano y su peso molecular (Huang *et al.* 2020).

#### ***$\beta$ -glucanos de Cereales***

Para comparar los estudios analizados, se realizó el Cuadro 6. Se observó que los  $\beta$ -glucanos utilizados en los estudios, provenían de la cebada y avena. Los estudios encontrados, fueron realizados en ratas, ratones y humanos. En la mayoría de los estudios se demostró la efectividad de los  $\beta$ -glucanos de cereales en la reducción de grasas.

El peso molecular de los  $\beta$ -glucanos, tiene una alta influencia en la eficiencia para la reducción de lípidos, (Wang *et al.* 2016) suministraron dos dietas, una con  $\beta$ -glucanos de bajo peso molecular y otra con de  $\beta$ -glucanos de alto peso molecular, a personas adultas levemente hipercolesterolémicas. Como resultado, obtuvieron una reducción en el colesterol total y triglicéridos con la dieta de  $\beta$ -glucanos de alto peso molecular, debido a que presentó mayor viscosidad, mientras que la otra dieta no resulto efectiva (Cuadro 6). Se reportaron reducciones en los niveles de colesterol, triglicéridos y mejoras en EHNA, a partir de la suministración de 1% de  $\beta$ -glucanos en dieta, y a pesar de que en algunos estudios utilizaron dosis hasta de 10% de  $\beta$ -glucanos en dieta, los resultados favorables fueron independientes a la dosis administrada, pero su nivel de reducción aumento con las dosis más altas.

En estudios donde suministraron dosis en mg por kg de dieta, se mostraron resultados favorables en la reducción de colesterol, triglicéridos y EHNA, a partir de dosis de 500 mg por kg de dieta, pero conforme se aumentaban la dosis, los resultados presentaban más significancia.

### Cuadro 6

*Estudios sobre los beneficios de los  $\beta$ -glucanos de cereales en la reducción de grasas.*

Autor	Modelo experimental	Fuente de $\beta$ -glucano	Dosis (diaria)	Resultados
(Suzuki y Aoe 2021)	Ratones C57BL / 6J	Cebada	27.3 g / kg de dieta	No se obtuvieron diferencias significativas en las concentraciones séricas de colesterol total, triglicéridos, glucosa, insulina.
(Aoe <i>et al.</i> 2020)	Ratones C57BL / 6J	Cebada	4% de la dieta	Reducción concentraciones de colesterol total y LDL.
Mio <i>et al.</i> 2020	Ratones C57BL/6J	Cebada	2.4% de la dieta	Reducción de niveles de glucosa en sangre, tras las comidas. Reducción en los lípidos del hígado y los tejidos adiposos.
Liu B <i>et al.</i> 2018	Ratones ICR	Avena	500 mg / kg de peso corporal y 1000 mg / kg. de peso corporal	Mejoras en EHNA y la inflamación. Suprimió la hiperlipidemia. Reducción de triglicéridos, LDL y peso corporal.
Wang <i>et al.</i> 2016	Humanos	Cebada	3 g	Disminución del colesterol total y triglicéridos de manera efectiva.
Handayani <i>et al.</i> 2012	Ratas Wistar	Avena	1.8% de la dieta	Disminución de masa grasa total. Reducción de tejido adiposo blanco. Reducción del peso corporal

### ***β-glucanos de Levadura***

Los estudios analizados, fueron comparados a través de la realización del Cuadro 7. En todos los estudios, utilizaron  $\beta$ -glucanos provenientes *Saccharomyces cerevisiae* y fueron probados en ratas y ratones, obteniendo efectos en la reducción de colesterol, triglicéridos y mejoras en la EHNA desde dosis de 10 mg /kg de peso corporal y 2% de  $\beta$ -glucanos en dieta, con mejores efectos en las dietas más altas (Cuadro 7). Feng (2016), llegó a la conclusión, de que el  $\beta$ -glucano de levadura, no presenta viscosidad, pero posee fermentabilidad, que influye en la reducción del colesterol hepático. También, se han demostrado mejores efectos en la reducción de lípidos por medio de  $\beta$ -glucanos, cuando son combinados con dietas saludables, o rutinas de ejercicios (Andrade *et al.* 2016).

### **Cuadro 7**

*Estudios sobre los beneficios de los β-glucanos de levaduras en la reducción de grasas.*

Autor	Modelo experimental	Fuente de $\beta$ -glucano	Dosis (diaria)	Resultados
Huang <i>et al.</i> 2020	Ratones C57 BL / 6J.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10, 30, y 100 mg/kg	Mejoras en EHNA, inflamación y peso del hígado. Participa en la prevención de la progresión de la EHNA Efectos protectores contra la lesión hepática (30 y 100 mg/kg).
Afiati <i>et al.</i> 2019	Ratones C57/BL6JRj	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50 mg / kg de peso corporal	Redujo el colesterol en un valor porcentual del 58.0%
Andrade <i>et al.</i> 2016	Ratas Wistar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30 mg / kg de dieta	Disminución de los niveles de glucosa en ayunas, triglicéridos, colesterol total y LDL
Feng 2016	Ratas Wistar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2 y 4% de la dieta	Reducción del colesterol en el hígado. Fracaso en reducción de diabetes
Vieira Lobato <i>et al.</i> 2015		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30 mg/kg de peso corporal	Redujo significativamente los niveles de colesterol y triglicéridos mostrando su potencial terapéutico.

### ***β-glucanos de Hongos***

Los estudios seleccionados se compararon por medio de la realización de Cuadro 8. Los  $\beta$ -glucanos utilizados provenían de los hongos, *Antrodia cinnamomea*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum* y *Botryosphaeria rhodina* y fueron probados en ratas y ratones (Cuadro

8). Se obtuvieron resultados favorables para la disminución de lípidos y mejoras en el daño por EHNA, a partir de dosis de 12 mg / kg de peso corporal de  $\beta$ -glucanos provenientes de *Botryosphaeria rhodina*. En el caso de los  $\beta$ -glucanos del hongo *Antrodia cinnamomea*, se observaron resultados favorables a partir de dosis de 40 mg / kg de peso corporal. Las dietas con 1.8% de  $\beta$ -glucanos de *Lentinula edodes*, lograron reducir la grasa corporal. Con dietas desde 8 mg por ml de dieta de  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum*, se logró reducir la inflamación de tejidos del corazón, hígado, riñón, bazo y colon.

### Cuadro 8

*Estudios sobre los beneficios de los  $\beta$ -glucanos de Hongos en la reducción de grasas.*

Autor	Modelo experimental	Fuente de $\beta$ -glucano	Dosis (diaria)	Resultados
Chyau <i>et al.</i> 2020	Ratones C57BL / 6	<i>Antrodia cinnamomea</i>	40 mg / kg de peso corporal	Disminución en desarrollo de HGNA, triglicéridos, colesterol total, glucosa e insulina. Mejoras terapéuticas en lesiones hepáticas. Posible potencial terapéutico para la mejora o prevención de HGNA.
Afiati <i>et al.</i> 2019	Ratones C57/BL6JRj	<i>Lentinula edodes</i>	50 mg / kg de peso corporal	Mostró una disminución porcentual del 55.87% del colesterol
Silva A <i>et al.</i> 2018	Ratas Wistar	<i>Botryosphaeria rhodina</i>	12 mg / kg de peso corporal	Disminución de la obesidad, la EHNA, dislipidemia, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa.
Wu <i>et al.</i> 2016	Ratones C57BL / 6 J	<i>Ganoderma lucidum</i>	100 ul de 8 mg / ml de dieta	Reducción de la inflamación de tejidos del corazón, hígado, riñón, bazo y colon.
Handayani <i>et al.</i> 2012	Ratas Wistar	<i>Lentinula edodes</i>	1.8% de la dieta	Disminución de masa grasa total Reducción de tejido adiposo blanco Aumento de la excreción fecal de grasa Reducción del peso corporal

### ***$\beta$ -glucanos de Bacterias***

Solo fue encontrado un estudio sobre su uso en la reducción de lípidos, en donde se afirmaba que los  $\beta$ -glucanos de bacterias también pueden ser eficaces en la prevención de la obesidad y el

síndrome metabólico con dietas de 3 a 6% de  $\beta$ -glucanos extraídos de *Agrobacterium* spp (Sun *et al.* 2017).

### **Comparación de Fuentes de $\beta$ -glucanos**

Afiati *et al.* (2019), compararon el efecto en la reducción de lípidos de los  $\beta$ -glucanos de levaduras (Cuadro 7) y de hongos (Cuadro 8), pero no obtuvieron diferencias significativas entre sus efectos y ambos resultaron ser efectivos.

Handayani *et al.* (2012), compararon una dieta con  $\beta$ -glucanos provenientes de hongos (Cuadro 8) y otra dieta con  $\beta$ -glucanos provenientes de avena (Cuadro 6). En este estudio, se concluyó que ambos tipos de  $\beta$ -glucanos presentan efectos reductores de lípidos, pero los  $\beta$ -glucanos de hongos producen mejores efectos y requieren menores dosis (Handayani *et al.* 2012). En el mismo estudio, también se observó que la viscosidad del  $\beta$ -glucano de avena, era bastante superior a la del  $\beta$ -glucano de hongo, por lo cual se descartó que esta característica fuera la razón por la que el  $\beta$ -glucano de hongo presentara mejores efectos (Handayani *et al.* 2012). Se propuso como posible causa de los efectos de los  $\beta$ -glucanos de hongos, su estructura química y se demostró que estos contenían un peso molecular mayor al de los  $\beta$ -glucanos de avena (Handayani *et al.* 2012). En los estudios analizados, se determinó que los  $\beta$ -glucanos de hongos, proporcionan mejores efectos para tratar la EHNA, siendo las dosis de 50 mg / kg de peso corporal las que mejores efectos presentaron.

### **Conversión de Dosis para Ratas, a Dosis para Humanos**

Debido a que la mayoría de los estudios analizados fueron realizados en ratas y ratones, es necesario realizar una conversión de las dosis utilizadas para poder determinar cuál sería la dosis para utilizar en una bebida para humanos. Para ello, se dispone de la Ecuación 1:

$$\text{Dosis humana} = \left( \text{Animal NOAEL} \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left( \frac{\text{Peso animal [kg]}}{\text{Peso humano [kg]}} \right)^{(1-0.67)} \quad [1]$$

Donde NOAEL significa nivel sin efectos adversos observados, de cierto producto utilizado y el 0.67 representa la diferencia que existe para la tasa metabólica, en la conversión de las dosis entre

animales y humanos (Nair y Jacob 2016). Al convertir la dosis de 50 mg / kg de peso corporal de  $\beta$ -glucanos en ratones, suponiendo que estos tienen un peso de 20 g, el cual es el peso mínimo promedio en ratones macho adulto (Frohlich 2020) y utilizando el peso corporal humano de referencia el cual es de 60 kg (Nair y Jacob 2016), se plantearía la Ecuación 2, como se muestra a continuación:

$$\text{Dosis humana} = \left(50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right) \times \left(\frac{0.02 [\text{kg}]}{60 [\text{kg}]}\right)^{(1-0.67)} = 3.56 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ de peso corporal} \quad [2]$$

Para obtener la dosis diaria equivalente, en 60 kg de peso corporal se utilizó la Ecuación 3:

$$\text{Dosis diaria (g)} = \frac{(3.56 \times 60)}{1000} = 0.21 \text{ g} \quad [3]$$

### Formulación de Bebida de Lactosuero y $\beta$ -glucanos

Para presentar la formulación de la bebida, se elaboró el Cuadro 9. Se propone 70% de lactosuero dulce (Cuadro 9), ya que este tipo de lactosuero presenta excelentes características nutricionales para la elaboración de bebidas (Villareal 2017) y en esta cantidad, se encuentra dentro del rango de aceptación observado en la revisión de literatura. La cantidad de  $\beta$ -glucanos a utilizar (Cuadro 9), corresponde al equivalente en humanos, de la dosis con mejores efectos en la reducción de EHNA para ratas y ratones. La cantidad de concentrado de frutas corresponde a la necesaria para realizar un litro de refresco, haciendo uso del concentrado de frutas producido por la planta hortofrutícola de Zamorano (Cuadro 9). La cantidad de agua a utilizar (Cuadro 9), es la cantidad necesaria para llevar la formulación a un litro o 1000 g.

#### Cuadro 9

*Formulación de bebida funcional.*

Ingrediente	Contenido	
	Cantidad	Porcentaje
Lactosuero dulce (ml)	175	70
$\beta$ -glucanos de hongo (g)	0.21	0.08
Extracto de vainilla (Saborizante) (ml)	1	0.4
Agua (ml)	73.79	29.52
Tamaño de porción (ml)	250	100
Calorías (kcal) por porción	50	

Para determinar la composición calórica de la bebida, se utilizó la información nutricional de los ingredientes que aportan calorías en la bebida (Cuadro 10).

### Cuadro 10

#### *Composición nutricional del lactosuero y el extracto de vainilla en 100 g*

Ingrediente	Energía (Kcal)	Proteínas (g)	Carbohidratos (CHOs) (g)	Grasa (g)
Lactosuero dulce	27	0.85	5.14	0.36
Extracto de vainilla (Saborizante)	288	0.06	12.65	0.06

*Nota. Adaptado de INCAP y OPS (2012)*

La cantidad de energía presente por en cada ingrediente en la bebida nutricional, se obtuvo mediante el uso de la Ecuación 4:

$$\frac{\text{Cantidad de energía en ingrediente (kcal)} \times \text{Cantidad de ingrediente en bebida(g)}}{100 \text{ g}} \quad [4]$$

Para obtener la cantidad de proteínas, grasa y carbohidratos presentes por en cada ingrediente en la bebida nutricional, se hizo uso de la Ecuación 5:

$$\frac{\text{Cantidad de nutriente en ingrediente} \left( \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) \times \text{Cantidad de ingrediente en bebida(g)}}{100 \text{ g}} \quad [5]$$

A partir de los datos obtenidos mediante las Ecuaciones 3 y 4, se elaboró el Cuadro 11, en donde se presenta el aporte energético y las cantidades de proteínas, carbohidratos y grasas presentes en una porción de bebida de 250 mL.

El porcentaje de Valor Diario (% VD) se determinó en base una dieta de 2000 kcal, por lo que se dividió la cantidad de proteína entre 50 g, los carbohidratos entre 300 g y las grasas totales entre 65 g (FDA 2021) y cada resultado se multiplicó por 100 para obtener su porcentaje (Cuadro 11).

Se obtuvo un aporte calórico total de 50 calorías por cada porción de 250 mL de bebida, además, se condiciona como baja en grasa, al contener menos de 3 g por poción (RTCA 2012).

**Cuadro 11**

*Composición nutricional para 250 ml de bebida para humanos.*

Ingrediente	mL	Energía (kcal)	Proteína (g)	Carbohidratos (g)	Grasa (g)
Lactosuero dulce	175	47.2	1.49	9	0.63
Extracto de vainilla	1	2.8	0.0006	0.13	0.0006
Agua	73.79	-	-	-	-
Total	250	50	1.49	9.13	0.63
% Valor diario (%VD)	-	2.5	3	3	1

**Modelos Experimentales para Esteatosis Hepática no Alcohólica**

Los modelos experimentales, son utilizados para probar la efectividad de ciertos productos, antes de ser suministrados en humanos (Palladini *et al.* 2019). Teóricamente, un modelo experimental ideal, tendría que presentar todas las características patológicas, etiológicas y de desarrollo de la enfermedad en humanos, sin embargo, en la actualidad no se dispone de un modelo animal que desarrolle todas estas características (Palladini *et al.* 2019). A pesar de ello, existen modelos capaces de imitar características particulares de la enfermedad y entre ellos figuran las ratas y los ratones, quienes además son los más utilizados para EHNA (Zhong *et al.* 2020).

**Método de Inducción a la Esteatosis Hepática no Alcohólica*****Dieta Alta en Grasas (HFD)***

Se ha determinado que las grasas en las dietas son las principales impulsoras del desarrollo de EHNA (Jensen *et al.* 2018). Esta dieta es ampliamente utilizada para elaborar modelos experimentales de EHNA en ratas, a las cuales se les suministra un contenido de grasa que ronda entre las 45 a 75 kcal% (Zhong *et al.* 2020). Generalmente se compone por 71% de calorías de grasa, 11% de carbohidratos y 18% de proteínas (Cuesta 2020). Esta dieta produce cambios metabólicos que provocan el almacenamiento de grasas, resistencia a insulina y el desarrollo de EHNA (Maciejewska *et al.* 2019).

Los resultados suelen variar dependiendo la cepa de roedor, la especie, el género, la cantidad y composición de la grasa suministrada y el tiempo de duración del tratamiento (Cuesta 2020). Las variaciones de los resultados se ven reflejadas en el grado de daño hepático, especialmente en la fibrosis, ya que esta suele ser menos severa que en otros tipos de dietas de inducción (Cuesta 2020). En cuanto a parámetros metabólicos, la HFD es la dieta que más se asemeja a la EHNA humana (Preguiça *et al.* 2020). La HFD, se considera un excelente modelo para una dieta occidental humana rica en grasas saturadas (Crawford *et al.* 2019).

### **Estudios que Realizaron Inducción a EHNA en Ratas Utilizando HFD**

Se seleccionaron estudios que indujeron los modelos experimentales a EHNA y no progresaron a fibrosis. Se analizaron las generalidades del animal, en la composición de las dietas y el proceso de inducción a EHNA, para proponer un modelo que logre inducir de manera efectiva la EHNA.

#### ***Generalidades en el Diseño Experimental Animal***

Los resultados de los estudios fueron comparados a través de la realización del Cuadro 12.

#### **Cepa.**

En los estudios analizados, las cepas más utilizadas fueron la rata Sprague-Dawley (n=4), y el ratón C57BL / 6 (n=4), seguida por las cepas de rata Wistar (n=3), ratón C57BL / 6J (n=3) y ratón C57BL / 6N (n=1) (Cuadro 12). Estas cepas, se caracterizan por ser las más usadas en los estudios de EHNA inducida por HFD. Kucera y Cervinkova (2014), concluyeron que la cepa Sprague-Dawley parecía ser la más susceptible al desarrollo de EHNA por la alimentación con HFD. No obstante, el grado, patrón de esteatosis y contenido de triglicéridos en el hígado no difiere entre las ratas Sprague-Dawley y Wistar (Kucera y Cervinkova 2014)

Marques *et al.* (2016), comprobaron que las ratas Wistar responden de manera más rápida a la HFD, en cuanto a mayor aumento de peso, en menor tiempo, en comparación con las ratas Sprague-Dawley. Sin embargo, la diferencia en cuanto a cantidad de masa grasa entre ambas cepas, no fue estadísticamente significativa (Marques *et al.* 2016). Las cepas C57BL / 6, C57BL / 6J y C57BL / 6N, son

ampliamente utilizadas para modelos experimentales de síndrome metabólico y EHNA, debido a su excelente respuesta a dietas altas en grasa (Fisher-Wellman *et al.* 2016).

#### **Género.**

En los estudios analizados, se pudo observar una estandarización en cuanto al género de los ratones utilizados, ya que todos hicieron uso de ratones macho (Cuadro 12). En el 2014, Yang *et al.* descubrieron que los ratones machos tienden a aumentar más su peso corporal en relación a las hembras, determinando que los machos responden de manera más rápida a este tipo de tratamiento. En el estudio, los ratones machos llegaron a aumentar hasta el 93% de su masa corporal y grasa, mientras que los ratones hembras lograron aumentar el 71%, después de suministrar un tratamiento HFD por 35 semanas (Yang *et al.* 2014). Por esta razón, se puede justificar el uso de ratones macho en los tratamientos de inducción a EHNA con HFD.

#### **Edad y Peso.**

En algunos estudios los autores hicieron mención solo de las edades, o solo de los pesos de los animales al inicio del tratamiento. Las edades de los animales fueron muy variadas, desde dos hasta 15 semanas (Cuadro 12). De la misma manera, los pesos obtuvieron un rango desde 12 g hasta 326 g (Cuadro 12), debido a que las ratas presentan pesos más altos que los ratones (Frohlich 2020). Se puede observar que estos factores no afectaron el periodo de inducción a EHNA, ya que, a pesar de los diversas edades y pesos utilizados, los estudios presentaron un rango similar en el tiempo de inducción a EHNA.

#### **Periodo de Aclimatación.**

Al momento de realizar el traslado de los animales hacia el lugar de estudio, se espera que estos sufran de estrés producido por cambios de ambiente, temperaturas y otros aspectos en el transporte (National Research Council 2011). Dicho estrés, puede causar efectos en el sistema fisiológico del animal, aunque normalmente tienen corta duración, generalmente entre uno a siete días, se debe aclimatar al animal para que su homeostasis se restablezca, ya que puede afectar la

investigación (National Research Council 2011). Según investigaciones, se debe proporcionar un mínimo de tres días de aclimatación, excluyendo el día de transporte, para que el animal logre adaptarse fisiológica, conductual y nutricionalmente, pero el tiempo de aclimatación dependerá del uso de los animales, el transporte, y la especie (National Research Council 2011). En los estudios analizados, el tiempo de aclimatación es de una a dos semanas (Cuadro 12), mostrando excelentes resultados en adaptación, sin embargo, algunos autores no especificaron el tiempo de aclimatación.

### Cantidad de Ratas por Grupo.

En este parámetro se obtuvieron resultados diversos, ya que se observaron estudios con grupos entre cuatro a 20 ratas (Cuadro 12). Pese a ello, todos los animales utilizados lograron inducirse a EHNA.

### Cuadro 12

#### Generalidades del animal utilizado.

Autor	Cepa	Edad al inicio de tratamiento (semanas)	Peso (g) y género* (macho)	Periodo de aclimatación (semanas)	Cantidad de ratas por grupo
Choi <i>et al.</i> 2020	C57BL / 6	6	19.3-20.3	N A	6
(Kwon <i>et al.</i> 2020)	C57BL / 6J	13	N A	2	8
Lee <i>et al.</i> 2020	C57BL / 6N	8	N A	1	7
Lensu <i>et al.</i> 2020	Wistar	15	N A	2	10
Li <i>et al.</i> 2020	C57BL / 6	N A	16 -20	N A	8
Lin <i>et al.</i> 2020	C57BL / 6	10	N A	N A	4
Morsy <i>et al.</i> 2020	Wistar	N A	120 ± 5	1	12
Park <i>et al.</i> 2020	Sprague-Dawley	11	306 ± 20	N A	8
Zhang <i>et al.</i> 2020	Sprague-Dawley	4	N A	1	16 HFD, 8 Control
Crawford <i>et al.</i> 2019	Sprague-Dawley	6	140-160	N A	19 HFD, 18Control
Echeverría <i>et al.</i> 2019	C57BL /6J	N A	12-14 g	N A	7
Lee <i>et al.</i> 2019	Sprague-Dawley	N A	240-260 g	1	10
Pedroso <i>et al.</i> 2019	Wistar	3	N A	N A	20
Soto <i>et al.</i> 2019	C57BL / 6J	N A	12-14	N A	7
Zilu <i>et al.</i> 2019	C57BL / 6	6-8 semanas	18-25 g	1	8

Nota. N A = No Aplica

\*todos los estudios fueron realizados en machos.

## **Tratamientos**

Para realizar una comparación de los resultados de los estudios, se presenta el Cuadro 13, donde se describen las principales características.

### **HFD.**

La principal composición de las HFD utilizadas en los estudios son grasas, carbohidratos y proteínas. El contenido de grasa en las dietas, oscilo entre 45 a 60%, siendo 60% la cantidad más utilizada en los estudios (Cuadro 13). El porcentaje de carbohidratos (CHO) en los estudios, fue de 20 a 37%, siendo más predominante el 20%. En el caso de las proteínas, se utilizaron valores de 16 a 20%, siendo 20% la cantidad más utilizada. Algunos autores no especificaron el contenido de carbohidratos y proteínas de las dietas.

### **Dieta Control.**

Las dietas control se componían por grasas, carbohidratos y proteínas, principalmente. El contenido de grasa utilizado se encuentra en un rango de 6.06 a 20%, siendo el 10% la cantidad más utilizada. Los carbohidratos, presentaron valores entre 44.67 a 70%, siendo 70% la cantidad más comúnmente utilizada. En cuanto a proteínas, se utilizaron porcentajes entre 16 a 26%, siendo 20% la cantidad predominante en los estudios analizados. En algunos estudios los autores no mencionaron las cantidades de grasa, carbohidratos o proteínas utilizados.

### **Duración de Tratamiento.**

Todos los tratamientos presentaron inducciones efectivas a la EHNA, en rangos de seis a 16 semanas, no obstante, la mayoría de los autores lograron la inducción a EHNA en 12 semanas (Cuadro 13).

### **Modo de Suministración.**

De los estudios analizados 14 de ellos suministraron la dieta control, HFD y agua de manera *ad libitum*, sin embargo, en uno de los estudios las dietas fueron suministradas con sonda intragástrica (Cuadro 13). Ravussin *et al.* (2018), compararon el modelo de suministración de dietas por *ad libitum*

y por sonda, en ratones macho C57BL / 6J, obteniendo un aumento de peso más acelerado en los ratones alimentados por sonda. A pesar de ello, se comprobó que el grado de resistencia a la insulina, la adiposidad total, la masa grasa y el tamaño de los adipocitos, no presentaron diferencias entre los ratones alimentados por sonda, o por dieta (Ravussin *et al.* 2018). Por lo tanto, ambas maneras de administración del alimento son aptas para la inducción a la EHNA (Ravussin *et al.* 2018).

### Cuadro 13

#### Descripción de tratamientos.

Autor	Dieta alta en grasa (HFD)			Dieta control			Duración de tratamiento (semanas)	Modo de administración
	Grasa (%)	CHO (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	CHO (%)	Proteína (%)		
Choi <i>et al.</i> 2020	60	N A	N A	6	N A	N A	7	<i>ad libitum</i>
Kwon <i>et al.</i> 2020	60	20	20	10	70	20	10	<i>ad libitum</i>
Lee <i>et al.</i> 2020	60	20	20	6.06	44.67	25.43	12	<i>ad libitum</i>
Lensu <i>et al.</i> 2020	60	N A	N A	10	N A	N A	12	<i>ad libitum</i>
Li <i>et al.</i> 2020	60	20	20	10	70	20	14	Sonda intragástrica
Lin <i>et al.</i> 2020	45	35	20	10	70	20	16	<i>ad libitum</i>
Morsy <i>et al.</i> 2020	45	35	20	10	70	20	12	<i>ad libitum</i>
Park E-J <i>et al.</i> 2020	51	33	16	20	64	16	12	<i>ad libitum</i>
Zhang <i>et al.</i> 2020	45	37	18	10	64	26	12	<i>ad libitum</i>
Crawford <i>et al.</i> 2019	60	20	20	18	58	24	6	<i>ad libitum</i>
Echeverría <i>et al.</i> 2019	60	20	20	10	70	20	12	<i>ad libitum</i>
Lee <i>et al.</i> 2019	60	N A	N A	N A	N A	N A	10	<i>ad libitum</i>
Pedroso <i>et al.</i> 2019	58.55	N A	N A	9.4	N A	N A	12	<i>ad libitum</i>
Soto <i>et al.</i> 2019	60	20	20	10	70	20	12	<i>ad libitum</i>
Zilu <i>et al.</i> 2019	60	20	20	10	70	20	12	N A

Nota. N A = No Aplica

### Dieta HFD y Control Propuestas

El Cuadro 14 contiene una propuesta para la composición nutricional de una dieta HFD, basándose en las cantidades e ingredientes más utilizados en los estudios analizados, para lograr

inducir a ratas o ratones a la EHNA de manera efectiva. De la misma manera, se elaboró una propuesta para la dieta control, la cual, se presenta en el Cuadro 15.

Para obtener el aporte calórico de las dietas, se multiplicaron las cantidades de cada nutriente en 100 gramos de dieta, por la cantidad de calorías del nutriente, siendo nueve para las grasas y cuatro para las proteínas y carbohidratos, finalmente, se sumaron los valores. Se sugiere administrar las dos dietas de manera combinada y de forma *ad libitum* ya que en la mayoría de los estudios analizados se sugiere este método debido a su conveniencia, durante 12 semanas, ya que corresponde al periodo en que la mayoría de los estudios reportaron efectividad en la inducción. Se estima que ratones tienen un consumo promedio de 5 - 8 mL de agua por día y de 3 - 5 g diarios de dieta sólida (Frohlich 2020). Para realizar un manejo adecuado de los modelos experimentales, es recomendable verificar los valores de referencia fisiológicos normales presentados en el Anexo A (Frohlich 2020).

#### **Cuadro 14**

*Composición nutricional de dieta HFD.*

Nutriente	Cantidad (%)	Fuentes potenciales
Proteínas	60	Lactosuero
Carbohidratos	20	Sacarosa, almidón
Grasas	20	Manteca de cerdo, aceite de soya
Total	100	
Kilocalorías (kcal) en 100 g	500	

#### **Cuadro 15**

*Composición nutricional de la dieta control.*

Nutriente	Cantidad (%)	Fuentes potenciales
Proteínas	20	Lactosuero
Carbohidratos	70	Sacarosa, almidón
Grasas	10	Manteca de cerdo, aceite de soya
Total	100	
Kilocalorías (kcal) en 100 g	450	

#### **Detección de EHNA en Modelos Experimentales**

Para detectar si la inducción a EHNA se desarrolló de manera efectiva, Park *et al.* (2020) después de finalizar las ocho semanas de inducción, sacrificaron una rata de cada grupo para evaluar

la presencia de EHNA. En el estudio realizado por (Zhang *et al.* 2020), optaron por sacrificar dos ratas de cada grupo, a fin de obtener un muestreo más confiable.

Una vez sacrificadas las ratas, se pesaron los hígados, para obtener el índice hepático, ya que, para este se divide el peso total del hígado, entre el peso de la rata o ratón, y se multiplica por 100 (Hamad *et al.* 2011). Posteriormente, se toman muestras de tejido hepático y se colocan dichas muestras en formalina tamponada al 10%, luego la colocan en parafina (Hamad *et al.* 2011) Finalmente, se realiza una tinción de hematoxilina-eosina, para lograr identificar las características del tejido, así como también su forma y estructura (Hamad *et al.* 2011). También es recomendable realizar un análisis del perfil hematológico y bioquímico del modelo, para analizar los efectos causados por el tratamiento, una vez realizado el análisis se compara con datos de referencia ya establecidos (Anexo B), para encontrar aumentos o reducciones de los mismos (Frohlich 2020).

### Conclusiones

La esteatosis hepática no alcohólica es una enfermedad que afecta a una gran parte de la población mundial, la cual, se desarrolla por múltiples razones y nadie está exento a padecerla, no presenta síntomas y no se dispone de medicamentos aprobados para su tratamiento. La información sobre EHNA en Honduras es muy escasa.

El lactosuero es una fuente considerable de nutrientes, especialmente de proteínas, que lo convierten en un excelente ingrediente para la elaboración de alimentos funcionales que ayudan a la salud, teniendo una gran aceptación en la elaboración de bebidas, y su uso contribuye a la sostenibilidad ambiental. Los  $\beta$ -glucanos, independientemente de su origen tienen un enorme potencial para la reducción de lípidos y la reducción el daño por esteatosis hepática no alcohólica, con resultados más favorables en  $\beta$ -glucanos de hongos.

La formulación para una bebida contiene 70% de lactosuero dulce y 0.08% de  $\beta$ -glucanos de hongos, es baja en grasas y aporta 50 calorías por porción, con la cual, se espera tener efectos benéficos en el tratamiento de esteatosis hepática no alcohólica.

### **Recomendaciones**

Desarrollar la bebida funcional propuesta haciendo uso del lactosuero desechado por la planta de lácteos de Zamorano, y siguiendo la formulación propuesta en la presente revisión de literatura.

Definir la aceptación de la bebida funcional con un análisis sensorial en la población en general.

Probar la eficiencia de la bebida para la reducción de la esteatosis hepática no alcohólica, primeramente, en un modelo experimental con ratas o ratones.

Realizar un estudio en humanos para analizar el efecto de la bebida en el tratamiento de la esteatosis hepática no alcohólica.

## Referencias

- Afiati F, Firza SF, Kusmiati, Aliya LS. 2019. The effectiveness  $\beta$ -glucan of shiitake mushrooms and *Saccharomyces cerevisiae* as antidiabetic and antioxidant in mice Sprague Dawley induced alloxan. En: Romaidi. Wahyudi D. Hery R. Yusnawan. Kikuchi, editor. International Conference on Biology and Applied Science (ICOBAS). International Conference on Biology and Applied Science (ICOBAS); 13–14 March 2019; Malang, Indonesia. [sin lugar]: AIP Publishing. p. 70006 (AIP Conference Proceedings); [consultado el 13 de mar. de 2021].
- Aguilera A. 2018. Esteatosis hepática no alcohólica: una enfermedad silente. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social; [consultado el 31 de ene. de 2021]. 544–549. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2018/im186g.pdf>.
- Ahmad A, Kaleem M. 2018.  $\beta$ -Glucan as a Food Ingredient. En: Grumezescu A. Holban A., editor. Biopolymers for Food Design. [sin lugar]: Elsevier. p. 351–381 ; [consultado el 2 de mar. de 2021].
- Amador J, Andreus A, Arredondo C, Rendón C, Barrera E, Jiménez C. 2019. Estandarización de una bebida deslactosada a base de suero dulce de leche saborizado con pulpa de mora. Encuentro Sennova del Oriente Antioqueño; [consultado el 26 de feb. de 2021]. 33–44.
- Amaya L, Ardila J. 2016. Evaluación del proceso de obtención de polisacáridos tipo glucano presentes en la *Ganoderma lucidum* a nivel laboratorio para NUTRISETAS. Fundación Universidad de América. Fundación Universidad de América; [consultado el 28 de feb. de 2021]. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/828/1/6112823-2016-2-IQ.pdf>.
- Andrade EF, Lima ARV, Nunes IE, Orlando DR, Gondim PN, Zangeronimo MG, Alves FHF, Pereira LJ. 2016. Exercise and Beta-Glucan Consumption (*Saccharomyces cerevisiae*) Improve the Metabolic Profile and Reduce the Atherogenic Index in Type 2 Diabetic Rats (HFD/STZ). *Nutrients*; [consultado el 17 de dic. de 2020]. 8(12). eng. doi:10.3390/nu8120792.

- Aoe S, Mio K, Yamanaka C, Kuge T. 2020. Low Molecular Weight Barley  $\beta$ -Glucan Affects Glucose and Lipid Metabolism by Prebiotic Effects. *Nutrients*; [consultado el 31 de dic. de 2020]. 13(1). eng. doi:10.3390/nu13010130.
- Aoki S, Iwai A, Kawata K, Muramatsu D, Uchiyama H, Okabe M, Ikesue M, Maeda N, Uede T. 2015. Oral administration of the *Aureobasidium pullulans*-derived  $\beta$ -glucan effectively prevents the development of high fat diet-induced fatty liver in mice. *Sci Rep*; [consultado el 1 de mar. de 2021]. 5:10457. eng. doi:10.1038/srep10457.
- Aráuz M. 2020. Fermentación de lactosuero para la obtención de etanol y su uso en cervezas y bebidas saborizadas Revisión de Literatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado el 27 de abr. de 2021].
- Baba WN, Din S, Punoo HA, Wani TA, Ahmad M, Masoodi FA. 2016. Comparison of cheese and paneer whey for production of a functional pineapple beverage: Nutraceutical properties and Shelf life. *J Food Sci Technol*; [consultado el 20 de feb. de 2021]. 53(6):2558–2568. eng. doi:10.1007/s13197-016-2218-8.
- Bak WC, Park JH, Park YA, Ka KH. 2014. Determination of Glucan Contents in the Fruiting Bodies and Mycelia of *Lentinula edodes* Cultivars. *Mycobiology*; [consultado el 28 de abr. de 2021]. 42(3):301–304. eng. doi:10.5941/MYCO.2014.42.3.301.
- Balakrishnan M, Kanwal F, El-Serag HB, Thrift AP. 2017. Acculturation and Nonalcoholic Fatty Liver Disease Risk Among Hispanics of Mexican Origin: Findings From the National Health and Nutrition Examination Survey. *Clin Gastroenterol Hepatol*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 15(2):310–312. eng. doi:10.1016/j.cgh.2016.09.149.
- Ballerga E, Curia A, Cusi K. 2020. Hígado graso no alcohólico: certezas e incertidumbres de una epidemia silenciosa. *Revista ACTA*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 50(3). <https://actagastro.org/higado-graso-no-alcoholico-certezas-e-incertidumbres-de-una-epidemia-silenciosa/>.

- Barukčić I, Lisak Jakopović K, Božanić R. 2019. Valorisation of Whey and Buttermilk for Production of Functional Beverages - An Overview of Current Possibilities. *Food Technol Biotechnol*; [consultado el 20 de feb. de 2021]. 57(4):448–460. eng. doi:10.17113/ftb.57.04.19.6460.
- Bortolotti M, Maiolo E, Corazza M, van Dijke E, Schneiter P, Boss A, Carrel G, Giusti V, Lê K-A, Quo Chong DG, et al. 2011. Effects of a whey protein supplementation on intrahepatocellular lipids in obese female patients. *Clin Nutr*; [consultado el 26 de feb. de 2021]. 30(4):494–498. eng. doi:10.1016/j.clnu.2011.01.006.
- Brito G. Macías. 2019. Hiperlipidemia y su relación con la esteatosis hepática no alcohólica en personas de la asociación San Ignacio del cantón 24 de mayo. [sin lugar]: Universidad Estatal del Sur de Manabí; [consultado el 1 de feb. de 2021]. <http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/1791/1/UNESUM-ECUADOR-LAB%20CLI-2019-17.pdf>.
- Brockman DA, Chen X, Gallaher DD. 2013. Consumption of a high  $\beta$ -glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. *Eur J Nutr*; [consultado el 11 de mar. de 2021]. 52(7):1743–1753. eng. doi:10.1007/s00394-012-0478-2.
- Caballeria L, Augustin S, Broquetas T, Morillas RM, Vergara M, Virolés S, Hernández MR, Serra I, Goday A, Vila L, et al. 2019. Recomendaciones para la detección, diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad por hígado graso no alcohólico en atención primaria y hospitalaria [Recommendations for the detection, diagnosis and follow-up of patients with non-alcoholic fatty liver disease in primary and hospital care]. *Med Clin (Barc)*; [consultado el 1 de feb. de 2021]. 153(4):169–177. eng. doi:10.1016/j.medcli.2019.01.030.
- Caballeria L, Torán P. 2019. “Epidemia de esteatosis hepática: un análisis desde la atención primaria” [The fatty liver epidemic: An analysis from the primary care]. *Aten Primaria*; [consultado el 2 de feb. de 2021]. 51(9):525–526. spa. doi:10.1016/j.aprim.2019.09.002.

- Cáceres C. 2017. Metodología empleada para la obtención de nanocápsulas de betaglucanos provenientes del hongo ganoderma lucidum. Una revisión sistemática de la literatura. Universidad de la Sabana; [consultado 29.04.21].
- Campos Y. 2019. Formulación y elaboración de una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja (*Citrus sinensis*). Universidad Nacional de Cajamarca Facultad de Ciencias Agrarias; [consultado el 26 de feb. de 2021].
- Carrillo R MJ. 2011. Hígado graso y esteatohepatitis no alcohólica; [consultado el 5 de feb. de 2021]. 54(3).
- Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. 2019. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 156(5):1264-1281.e4. eng. doi:10.1053/j.gastro.2018.12.036.
- Castro L, Silva G. 2015. Hígado graso no alcohólico. *Revista Médica Clínica Las Condes*; [consultado el 1 de feb. de 2021]. 26(5):600–612. doi:10.1016/j.rmcl.2015.09.006.
- Chiu C, Peng C, Ker Y, Chen C, Lee A, Chang W, Chyau C, Peng R. 2013. Physicochemical Characteristics and Anti-Inflammatory Activities of Antrodan, a Novel Glycoprotein Isolated from *Antrodia cinnamomea* Mycelia. *Molecules (Basel, Switzerland)*; [consultado el 28 de abr. de 2021]. 19:22–40. doi:10.3390/molecules19010022.
- Cho J-H, Lee J-Y, Lee M-J, Oh H-N, Kang D-H, Jhune C-S. 2013. Comparative analysis of useful  $\beta$ -glucan and polyphenol in the fruiting bodies of *Ganoderma* spp. *Journal of Mushroom*; [consultado el 28 de abr. de 2021]. 11(3):164–170. doi:10.14480/JM.2013.11.3.164.
- Choi DJ, Kim SC, Park GE, Choi B-R, Lee DY, Lee Y-S, Park S-B, Park YI, Kim GS. 2020. Protective Effect of a Mixture of *Astragalus membranaceus* and *Lithospermum erythrorhizon* Extract against Hepatic Steatosis in High Fat Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*; [consultado el 10 de feb. de 2021]. 2020:8370698. eng. doi:10.1155/2020/8370698.

- Chyau C-C, Wang H-F, Zhang W-J, Chen C-C, Huang S-H, Chang C-C, Peng RY. 2020. Antrodan Alleviates High-Fat and High-Fructose Diet-Induced Fatty Liver Disease in C57BL/6 Mice Model via AMPK/Sirt1/SREBP-1c/PPAR $\gamma$  Pathway. *Int J Mol Sci*; [consultado el 22 de feb. de 2021]. 21(1). eng. doi:10.3390/ijms21010360.
- [CODEX] Codex Alimentarius. 2018. Norma general para los aditivos alimentarios.: Cxc 192-1995; [consultado el 21 de mar. de 2021].
- Crawford M, Whisner C, Al-Nakkash L, Sweazea KL. 2019. Six-Week High-Fat Diet Alters the Gut Microbiome and Promotes Cecal Inflammation, Endotoxin Production, and Simple Steatosis without Obesity in Male Rats. *Lipids*; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 54(2-3):119–131. eng. doi:10.1002/lipd.12131.
- Cuesta S. 2020. Elección de dietas adecuadas en un modelo animal de la enfermedad del hígado graso no alcohólico. Universitat de València; [consultado el 8 de feb. de 2021].
- Du B, Meenu M, Liu H, Xu B. 2019. A Concise Review on the Molecular Structure and Function Relationship of  $\beta$ -Glucan. *Int J Mol Sci*; [consultado el 14 de mar. de 2021]. 20(16). eng. doi:10.3390/ijms20164032.
- Dullius A, Goettert MI, Souza CFV de. 2018. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 42:58–74. doi:10.1016/j.jff.2017.12.063.
- Echeverría F, Valenzuela R, Bustamante A, Álvarez D, Ortiz M, Espinosa A, Illesca P, Gonzalez-Mañan D, Videla LA. 2019. High-fat diet induces mouse liver steatosis with a concomitant decline in energy metabolism: attenuation by eicosapentaenoic acid (EPA) or hydroxytyrosol (HT) supplementation and the additive effects upon EPA and HT co-administration. *Food Funct*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 10(9):6170–6183. eng. doi:10.1039/C9FO01373C.

- Espinosa AV, Navas A, Molina J, Lagarcha S, Solana R, Alonso C. 2018. Comparación de dos métodos para la cuantificación en suero de subclases de inmunoglobulinas. *Revista del Laboratorio Clínico*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 11(4):193–201. doi:10.1016/j.labcli.2018.04.001.
- [FDA] Administración de Medicamentos y Alimentos. 2021. Valor diario en las nuevas etiquetas de información nutricional y de suplementos; [consultado el 4 de may. de 2021]. <https://www.fda.gov/food/new-nutrition-facts-label/daily-value-new-nutrition-and-supplement-facts-labels>.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2011. GRAS Notice (Mushroom beta glucan) 000413; [consultado el 2 de mar. de 2021].
- Feng F. 2016. Los efectos del betaglucano de levadura sobre la diabetes, el colesterol del hígado y el hígado graso en roedores. University of Minnesota Digital Conservancy; [consultado el 27 de feb. de 2021]. <https://hdl.handle.net/11299/183303>.
- Fernández Rodríguez C, Martínez Torres EJ, Morán Palao A, Gómez Barrios X. 2016. Procesos biológicos para el tratamiento de lactosuero con producción de biogás e hidrógeno. Revisión bibliográfica. *rev.ion*; [consultado el 24 de feb. de 2021]. 29(1):47–62. doi:10.18273/revion.v29n1-2016004.
- Fisher-Wellman KH, Ryan TE, Smith CD, Gilliam LAA, Lin C-T, Reese LR, Torres MJ, Neuffer PD. 2016. A Direct Comparison of Metabolic Responses to High-Fat Diet in C57BL/6J and C57BL/6NJ Mice. *Diabetes*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 65(11):3249–3261. eng. doi:10.2337/db16-0291.
- Frohlich J, editor. 2020. *Rats and Mice*. [sin lugar]: Elsevier. ISBN: 9780323484350; [consultado el 15 de feb. de 2021].
- González M, Senosiaín C. 2013. Biopsia hepática percutánea [Percutaneous liver biopsy]. *Rev Esp Enferm Dig*; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 105(2):113. spa. doi:10.4321/S1130-01082013000200011.

- Hamad EM, Taha SH, Abou Dawood A-GI, Sitohy MZ, Abdel-Hamid M. 2011. Protective effect of whey proteins against nonalcoholic fatty liver in rats. *Lipids Health Dis*; [consultado el 20 de feb. de 2021]. 10:57. eng. doi:10.1186/1476-511X-10-57.
- Handayani D, Meyer BJ, Chen J, Tang P, Kwok PCL, Chan H-K, Huang X-F. 2012. The Comparison of the Effect of Oat and Shiitake Mushroom Powder to Prevent Body Weight Gain in Rats Fed High Fat Diet. *FNS*; [consultado el 13 de mar. de 2021]. 03(07):1009–1019. doi:10.4236/fns.2012.37134.
- Hernández M, Vélez J. 2014. Whey and its application in the preparation of functional food. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*; [consultado el 26 de feb. de 2021]. 8(2):13–22.
- Hiniesto I. 2018. Estrategias terapéuticas frente a la esteatosis hepática no alcohólica: empleo del resveratrol. *Universidad Complutense*; [consultado el 18 de mar. de 2021].
- Huang T, Liu Y, Li H, Zhang Y, Kong D, Cui G. 2020.  $\beta$ -Glucan ameliorates nonalcoholic steatohepatitis induced by methionine and choline-deficient diet in mice. *J Food Biochem*; [consultado el 22 de feb. de 2021]. e13408. eng. doi:10.1111/jfbc.13408.
- Incahuanaco Y. 2013. Optimización de néctar de lactosuero enriquecido con zumo de naranja y controlado con radiación ultravioleta. *Universidad Nacional deñ altiplano-Puno*; [consultado el 10 de may. de 2021].
- [INE] Instituto Nacional De Estadística de Honduras. 2012. Estadísticas de Hechos Vitales 2010 a 2012: Honduras; [consultado el 13 de feb. de 2021].
- Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2012. Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica; [consultado el 4 de may. de 2021]. <http://www.incap.int/mesocaribefoods/dmdocuments/tablacalimentos.pdf>.
- Jayachandran M, Chen J, Chung SSM, Xu B. 2018. A critical review on the impacts of  $\beta$ -glucans on gut microbiota and human health. *J Nutr Biochem*; [consultado el 28 de feb. de 2021]. 61:101–110. eng. doi:10.1016/j.jnutbio.2018.06.010.

- Jensen VS, Hvid H, Damgaard J, Nygaard H, Ingvorsen C, Wulff EM, Lykkesfeldt J, Fledelius C. 2018. Dietary fat stimulates development of NAFLD more potently than dietary fructose in Sprague-Dawley rats. *Diabetol Metab Syndr*; [consultado el 8 de feb. de 2021]. 10:4. eng. doi:10.1186/s13098-018-0307-8.
- Jung S, Son H, Hwang CE, Cho KM, Park SW, Kim HJ. 2018. Ganoderma lucidum Ameliorates Non-Alcoholic Steatosis by Upregulating Energy Metabolizing Enzymes in the Liver. *J Clin Med*; [consultado el 28 de feb. de 2021]. 7(6). eng. doi:10.3390/jcm7060152.
- Kaur, Rupinder, Panwar D, Panesar PS. 2020. Biotechnological approach for valorization of whey for value-added products. En: Kaur R, Panwar D, Panesar P, editores. *Biotechnological approach for valorization of whey for value-added products*. [sin lugar]: Elsevier. p. 275–302 ; [consultado el 27 de feb. de 2021].
- Kaur R, Sharma M, Ji D, Xu M, Agyei D. 2020. Structural Features, Modification, and Functionalities of Beta-Glucan. *Fibers*; [consultado el 14 de mar. de 2021]. 8(1):1. doi:10.3390/fib8010001.
- Kim HJ, White PJ. 2013. Impact of the molecular weight, viscosity, and solubility of  $\beta$ -glucan on in vitro oat starch digestibility. *J Agric Food Chem*; [consultado el 14 de mar. de 2021]. 61(13):3270–3277. eng. doi:10.1021/jf305348j.
- Kucera O, Cervinkova Z. 2014. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World J Gastroenterol*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 20(26):8364–8376. eng. doi:10.3748/wjg.v20.i26.8364.
- Kusmiati, Dhewantara FXR. 2016. Cholesterol-Lowering Effect of Beta Glucan Extracted from *Saccharomyces cerevisiae* in Rats. *Sci Pharm*; [consultado el 28 de feb. de 2021]. 84(1):153–165. eng. doi:10.3797/scipharm.ISP.2015.07.
- Kwon E, Yoo T, Joung H-Y, Jo Y-H. 2020. Hydrocarboxylic acid receptor 1 in BAT regulates glucose uptake in mice fed a high-fat diet. *PLoS One*. 15(1):e0228320. eng. doi:10.1371/journal.pone.0228320.

- Lee G-H, Lee H-Y, Park S-A, Shin T-S, Chae H-J. 2019. *Eucommia ulmoides* Leaf Extract Ameliorates Steatosis Induced by High-fat Diet in Rats by Increasing Lysosomal Function. *Nutrients*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 11(2). eng. doi:10.3390/nu11020426.
- Lee HA, Cho J-H, Afinanisa Q, An G-H, Han J-G, Kang HJ, Choi SH, Seong H-A. 2020. *Ganoderma lucidum* Extract Reduces Insulin Resistance by Enhancing AMPK Activation in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*; [consultado el 1 de mar. de 2021]. 12(11). eng. doi:10.3390/nu12113338.
- Lee MR, Kim JE, Park JW, Kang MJ, Choi HJ, Bae SJ, Choi YW, Kim KM, Hong JT, Hwang DY. 2020. Fermented mulberry (*Morus alba*) leaves suppress high fat diet-induced hepatic steatosis through amelioration of the inflammatory response and autophagy pathway. *BMC Complement Med Ther*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 20(1):283. eng. doi:10.1186/s12906-020-03076-2.
- Lensu S, Pariyani R, Mäkinen E, Yang B, Saleem W, Munukka E, Lehti M, Driuchina A, Lindén J, Tiirola M, et al. 2020. Prebiotic Xylo-Oligosaccharides Ameliorate High-Fat-Diet-Induced Hepatic Steatosis in Rats. *Nutrients*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 12(11). eng. doi:10.3390/nu12113225.
- Li H, Xi Y, Xin X, Tian H, Hu Y. 2020. Salidroside improves high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis by regulating the gut microbiota-bile acid-farnesoid X receptor axis. *Biomed Pharmacother*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 124:109915. eng. doi:10.1016/j.biopha.2020.109915.
- Lin M, Long J, Li W, Yang C, Loughran P, O'Doherty R, Billiar TR, Deng M, Scott MJ. 2020. Hepatocyte high-mobility group box 1 protects against steatosis and cellular stress during high fat diet feeding. *Mol Med*; [consultado el 10 de feb. de 2021]. 26(1):115. eng. doi:10.1186/s10020-020-00227-6.
- Liu B, Yang T, Luo Y, Zeng L, Shi L, Wei C, Nie Y, Cheng Y, Lin Q, Luo F. 2018. Oat  $\beta$ -glucan inhibits adipogenesis and hepatic steatosis in high fat diet-induced hyperlipidemic mice via AMPK signaling. *Journal of Functional Foods*; [consultado el 1 de mar. de 2021]. 41:72–82. doi:10.1016/j.jff.2017.12.045.

- Loomba R, Schork N, Chen C-H, Bettencourt R, Bhatt A, Ang B, Nguyen P, Hernandez C, Richards L, Salotti J, et al. 2015. Heritability of Hepatic Fibrosis and Steatosis Based on a Prospective Twin Study. *Gastroenterology*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 149(7):1784–1793. eng. doi:10.1053/j.gastro.2015.08.011.
- López R. 2014. Pathological aspects of fatty liver disease. *Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología*; [consultado el 30 de ene. de 2021]. [http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v29n1/en\\_v29n1a12.pdf](http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v29n1/en_v29n1a12.pdf).
- López C, Noguera I. 2018. Valoración de la enfermedad por hígado graso no alcohólico desde el laboratorio clínico. *Revista del Laboratorio Clínico*; [consultado el 1 de feb. de 2021]. 11(3):163–173. doi:10.1016/j.labcli.2017.10.004.
- López R, Becerra M, Borrás L. 2018. Caracterización físico-química y Microbiológica del lactosuero del queso Paipa.: *Ciencia y Agricultura*; [consultado el 24 de feb. de 2021]. 99–106. doi://%2010.19053/01228420.v15.2.
- Lopez-Mendez I, Aquino-Matus J, Gall SM-B, Prieto-Nava JD, Juarez-Hernandez E, Uribe M, Castro-Narro G. 2021. Association of liver steatosis and fibrosis with clinical outcomes in patients with SARS-CoV-2 infection (COVID-19). *Ann Hepatol*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 20:100271. eng. doi:10.1016/j.aohep.2020.09.015.
- Maciejewska D, Łukomska A, Dec K, Skonieczna-Żydecka K, Gutowska I, Skórka-Majewicz M, Styburski D, Misiakiewicz-Has K, Pilutin A, Palma J, et al. 2019. Diet-Induced Rat Model of Gradual Development of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) with Lipopolysaccharides (LPS) Secretion. *Diagnostics (Basel)*; [consultado el 8 de feb. de 2021]. 9(4). eng. doi:10.3390/diagnostics9040205.
- Macwan SR, Dabhi BK, Parmar SC, Aparnathi KD. 2016. Whey and its Utilization. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*; [consultado el 26 de mar. de 2021]. 5(8):134–155. doi:10.20546/ijcmas.2016.508.016.

- Madadlou A, Abbaspourrad A. 2018. Bioactive whey peptide particles: An emerging class of nutraceutical carriers. *Crit Rev Food Sci Nutr*; [consultado el 26 de feb. de 2021]. 58(9):1468–1477. eng. doi:10.1080/10408398.2016.1264064.
- Maheshwari G, Sowrirajan S, Joseph B. 2017. Extraction and Isolation of  $\beta$ -Glucan from Grain Sources- A Review. *J Food Sci*; [consultado el 29 de abr. de 2021]. 82(7):1535–1545. eng. doi:10.1111/1750-3841.13765.
- Maity P, Sen IK, Maji PK, Paloi S, Devi KSP, Acharya K, Maiti TK, Islam SS. 2015. Structural, immunological, and antioxidant studies of  $\beta$ -glucan from edible mushroom *Entoloma lividoalbum*. *Carbohydr Polym*; [consultado el 29 de abr. de 2021]. 123:350–358. eng. doi:10.1016/j.carbpol.2015.01.051.
- Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, Faria A, Calhau C. 2016. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 5(1):11–21. eng. doi:10.1080/21623945.2015.1061723.
- Mazorra M, Moreno J. 2019. Propiedades y opciones para valorizar el lactosuero de la quesería artesanal. *CienciaUAT*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 14(1):133. doi:10.29059/cienciauat.v14i1.1134.
- Medeiros AK, Barbisan CC, Cruz IR, Araújo EM de, Libânio BB, Albuquerque KS, Torres US. 2020. Higher frequency of hepatic steatosis at CT among COVID-19-positive patients. *Abdom Radiol (NY)*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 45(9):2748–2754. eng. doi:10.1007/s00261-020-02648-7.
- Mio K, Yamanaka C, Matsuoka T, Kobayashi T, Aoe S. 2020. Effects of  $\beta$ -glucan Rich Barley Flour on Glucose and Lipid Metabolism in the Ileum, Liver, and Adipose Tissues of High-Fat Diet Induced-Obesity Model Male Mice Analyzed by DNA Microarray. *Nutrients*; [consultado el 4 de mar. de 2021]. 12(11). eng. doi:10.3390/nu12113546.

- Mitra S, De A, Chowdhury A. 2020. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 5:16. eng. doi:10.21037/tgh.2019.09.08.
- Moctezuma-Velázquez C. 2018. Tratamiento actual de la enfermedad por hígado graso no alcohólico [Current treatment for non-alcoholic fatty liver disease]. *Rev Gastroenterol Mex*; [consultado el 31 de ene. de 2021]. 83(2):125–133. eng. doi:10.1016/j.rgmx.2017.10.003.
- Momenizadeh A, Heidari R, Sadeghi M, Tabesh F, Ekramzadeh M, Haghghatian Z, Golshahi J, Baseri M. 2014. Effects of oat and wheat bread consumption on lipid profile, blood sugar, and endothelial function in hypercholesterolemic patients: A randomized controlled clinical trial. *ARYA Atheroscler*; [consultado el 10 de mar. de 2021].
- Morsy MD, Aboonq MS, ALSleem MA, Abusham AA. 2020. Taurine prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis in rats by direct inhibition of hepatic sterol regulatory element-binding proteins and activation of AMPK. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. eng. doi:10.1111/1440-1681.13387.
- Motta Y, Mosquera W. 2015. Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos; [consultado el 30 de abr. de 2021]. 13(1):81–91.
- Muñoz G, Erazo C, Vera J, Tuarez D. 2020. Bebida de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L) nacional. Universidad, Ciencia y Tecnología; [consultado el 26 de feb. de 2021]. (1):44–52.
- Muset G, Castells M. 2017. Valorización del lactosuero. *Transferencia tecnologica*; [consultado el 24 de feb. de 2021].
- Nair AB, Jacob S. 2016. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm*. 7(2):27–31. eng. doi:10.4103/0976-0105.177703.
- National Research Council. 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. 8ª ed. Washington, D.C.: National Academies Press. 220 p. ISBN: 0-309-15400-6; [consultado el 14 de feb. de 2021].

- Oliveira CPMS de, Cotrim HP, Arrese M. 2019. Factores de riesgo de la enfermedad por hígado graso no alcohólico en poblaciones de Latinoamérica: situación actual y perspectivas. *Clin Liver Dis (Hoboken)*; [consultado el 19 de mar. de 2021]. 13(Suppl 1):S5-S8. spa. doi:10.1002/cld.837.
- Ooi EM, Adams LA, Zhu K, Lewis JR, Kerr DA, Meng X, Solah V, Devine A, Binns CW, Prince RL. 2015. Consumption of a whey protein-enriched diet may prevent hepatic steatosis associated with weight gain in elderly women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; [consultado el 20 de feb. de 2021]. 25(4):388–395. eng. doi:10.1016/j.numecd.2014.11.005.
- Paik JM, Golabi P, Younossi Y, Mishra A, Younossi ZM. 2020. Changes in the Global Burden of Chronic Liver Diseases From 2012 to 2017: The Growing Impact of NAFLD. *Hepatology*; [consultado el 20 de mar. de 2021]. 72(5):1605–1616. eng. doi:10.1002/hep.31173.
- Palladini G, Di Pasqua LG, Berardo C, Siciliano V, Richelmi P, Perlini S, Ferrigno A, Vairetti M. 2019. Animal Models of Steatosis (NAFLD) and Steatohepatitis (NASH) Exhibit Hepatic Lobe-Specific Gelatinases Activity and Oxidative Stress. *Can J Gastroenterol Hepatol*; [consultado el 8 de feb. de 2021]. 2019:5413461. eng. doi:10.1155/2019/5413461.
- Park E-J, Lee Y-S, Kim SM, Park G-S, Lee YH, Jeong DY, Kang J, Lee H-J. 2020. Beneficial Effects of *Lactobacillus plantarum* Strains on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in High Fat/High Fructose Diet-Fed Rats. *Nutrients*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 12(2). eng. doi:10.3390/nu12020542.
- Park S, Zhang T, Qiu JY, Wu X. 2019. The Combination of Mulberry Extracts and Silk Amino Acids Alleviated High Fat Diet-Induced Nonalcoholic Hepatic Steatosis by Improving Hepatic Insulin Signaling and Normalizing Gut Microbiome Dysbiosis in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*; [consultado el 10 de feb. de 2021]. 2019:8063121. eng. doi:10.1155/2019/8063121.
- Pedroso JA, Camporez JP, Belpiede LT, Pinto RS, Cipolla-Neto J, Donato J. 2019. Evaluation of Hepatic Steatosis in Rodents by Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance. *Diagnostics (Basel)*; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 9(4). eng. doi:10.3390/diagnostics9040198.

- Pengkumsri N, Sivamaruthi BS, Sirilun S, Peerajan S, Kesika P, Chaiyasut K, Chaiyasut C. 2017. Extraction of  $\beta$ -glucan from *Saccharomyces cerevisiae*: Comparison of different extraction methods and in vivo assessment of immunomodulatory effect in mice. *Food Sci. Technol*; [consultado el 28 de abr. de 2021]. 37(1):124–130. doi:10.1590/1678-457x.10716.
- Pérez A, Mohedano ML, Pardo MÁ, López P. 2018.  $\beta$ -Glucan-Producing *Pediococcus parvulus* 2.6: Test of Probiotic and Immunomodulatory Properties in Zebrafish Models. *Front Microbiol*; [consultado el 2 de mar. de 2021]. 9:1684. eng. doi:10.3389/fmicb.2018.01684.
- Peso P, González C, Vasallo M, Santaella M, Ros G, Frontela C, Martínez C. 2012.  $\alpha$ -Lactoalbúmina como ingrediente de fórmulas infantiles. *Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 62(1):6–14.
- Pizarro S, Ronco M, Gotteland R. 2014.  $\beta$ -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud? *Rev. chil. nutr*; [consultado el 28 de feb. de 2021]. 41(4):439–446. doi:10.4067/S0717-75182014000400014.
- Platán M, Caudillo N. 2020. Elaboración de una bebida funcional a base de suero de leche y frijol de soja como posible auxiliar contra la sarcopenia. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*; [consultado el 26 de feb. de 2021]. 5:604–608. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/9/119.pdf>.
- Preguiça I, Alves A, Nunes S, Fernandes R, Gomes P, Viana SD, Reis F. 2020. Diet-induced rodent models of obesity-related metabolic disorders-A guide to a translational perspective. *Obes Rev*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 21(12):e13081. eng. doi:10.1111/obr.13081.
- Quevedo Ramírez N, Pérez Castillo R, Sánchez Gendriz I. 2019. Correlación entre marcadores serológicos y ecográficos en pacientes con hígado graso no alcohólico y diabetes mellitus tipo 2. *Rev.méd.sinerg*; [consultado el 1 de feb. de 2021]. 4(8):264. doi:10.31434/rms.v4i8.264.
- Ramírez J. 2012. Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publ. investig*; [consultado el 24 de feb. de 2021]. 6:69. doi:10.22490/25394088.1100.

- Ramírez-Navas JS, Solís-Carvajal CA, Vélez CA. 2018. Tecnología de membranas: Obtención de proteínas de lactosuero. *Entre cienc. ing*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 12(24):52. doi:10.31908/19098367.3815.
- Ravisankar P, Pravallika D, Anjali G, Sree vidya V, Sai Anvith P, Pragna P. 2015. Fatty liver disease in-depth analysis. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*; [consultado el 7 de feb. de 2021]. 3622–3642. [https://www.researchgate.net/publication/340871995\\_FATTY\\_LIVER\\_DISEASE\\_IN-DEPTH\\_ANALYSIS](https://www.researchgate.net/publication/340871995_FATTY_LIVER_DISEASE_IN-DEPTH_ANALYSIS).
- Ravussin Y, Edwin E, Gallop M, Xu L, Bartolomé A, Kraakman MJ, LeDuc CA, Ferrante AW. 2018. Evidence for a Non-leptin System that Defends against Weight Gain in Overfeeding. *Cell Metab*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 28(2):289-299.e5. eng. doi:10.1016/j.cmet.2018.05.029.
- Remón J, Laseca M, García L, Arauzo J. 2016. Hydrogen production from cheese whey by catalytic steam reforming: Preliminary study using lactose as a model compound. *Energy Conversion and Management*; [consultado el 24 de feb. de 2021]. 114:122–141. doi:10.1016/j.enconman.2016.02.009.
- Rincon Garcia DJ, Sepúlveda-Valencia JU, Ciro-Velásquez HJ. 2020. Evaluación del proceso de Diafiltración para la concentración de la proteína en el suero dulce de quesería. *DYNA*; [consultado el 24 de feb. de 2021]. 87(214):239–247. doi:10.15446/dyna.v87n214.82795.
- Rodríguez A, Abad C, PerezDíeguez K. 2020. Elaboración de una bebida a base de suero lácteo y pulpa de *Theobroma grandiflorum*. *BSAA*; [consultado el 25 de feb. de 2021]. 18(2):166.
- [RTCA] Reglamento Técnico Centroamericano. 2012. Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad. RTCA 67.01.60:10; [consultado 4.05.21]. (2812012).
- Sahuquillo A. 2017. Esteatosis hepática no alcohólica en pacientes con síndrome metabólico. Universidad Autónoma de Madrid; [consultado el 6 de feb. de 2021]. [https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/681344/sahuquillo\\_martinez\\_alicia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/681344/sahuquillo_martinez_alicia.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

- Sahuquillo A, Ramírez J, Torres P, Solera J, Tárraga P. 2020. La ecografía, técnica diagnóstica en esteatosis hepática no alcohólica. JONNPR; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 5(4). [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2529-850X2020000400004](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2529-850X2020000400004).
- Silva A, Costa FPL, Souza IL, Ribeiro MC, Giordani MA, Queiroz DA, Luvizotto RAM, Nascimento AF, Bomfim GF, Sugizaki MM, et al. 2018. Botryosphaeran reduces obesity, hepatic steatosis, dyslipidaemia, insulin resistance and glucose intolerance in diet-induced obese rats. Life Sci; [consultado el 22 de feb. de 2021]. 211:147–156. eng. doi:10.1016/j.lfs.2018.09.027.
- Sima P, Vannucci L, Vetvicka V. 2018.  $\beta$ -glucans and cholesterol (Review). Int J Mol Med; [consultado el 28 de feb. de 2021]. 41(4):1799–1808. eng. doi:10.3892/ijmm.2018.3411.
- Sloan A. 2020. The Top 10 Functional Food Trends. Food Technology Magazine; [consultado el 21 de mar. de 2021].
- Soto S, Ortiz M, Orellana P, Echeverría F, Bustamante A, Espinosa A, Illesca P, Gonzalez D, Valenzuela R, Videla L. 2019. Docosahexaenoic acid and hydroxytyrosol co-administration fully prevents liver steatosis and related parameters in mice subjected to high-fat diet: A molecular approach. Biofactors; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 45(6):930–943. eng. doi:10.1002/biof.1556.
- Sun Q, Li M, Yang X, Xu X, Wang J, Zhang J. 2017. Dietary salectan reverts partially the metabolic gene expressions and NMR-based metabolomic profiles from high-fat-diet-induced obese rats. J Nutr Biochem; [consultado el 22 de feb. de 2021]. 47:53–62. eng. doi:10.1016/j.jnutbio.2017.04.015.
- Suzuki S, Aoe S. 2021. High  $\beta$ -Glucan Barley Supplementation Improves Glucose Tolerance by Increasing GLP-1 Secretion in Diet-Induced Obesity Mice. Nutrients; [consultado el 12 de mar. de 2021]. 13(2). eng. doi:10.3390/nu13020527.
- Tiwari U, Cummins E. 2011. Meta-analysis of the effect of  $\beta$ -glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. Nutrition; [consultado el 12 de mar. de 2021]. 27(10):1008–1016. eng. doi:10.1016/j.nut.2010.11.006.

- Vieira Lobato R, Oliveira Silva V de, Francelino Andrade E, Ribeiro Orlando D, Gilberto Zangeronimo M, Vicente de Sousa R, José Pereira L. 2015. Metabolic effects of  $\beta$ -glucans (*Saccharomyces cerevisiae*) per os administration in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Nutr Hosp*; [consultado el 12 de mar. de 2021]. 32(1):256–264. eng. doi:10.3305/nh.2015.32.1.9013.
- Villareal M. 2017. Value added products utilizing acid whey: development of a fruit yogurt beverage and a sports drink. Cornell University; [consultado el 27 de feb. de 2021]. doi:10.7298/X4XD0ZSP.
- Wang XJ, Malhi H. 2018. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Ann Intern Med*; [consultado el 5 de feb. de 2021]. 169(9):ITC65-ITC80. eng. doi:10.7326/AITC201811060.
- Wang Y, Harding SV, Eck P, Thandapilly SJ, Gamel TH, Abdel-Aal E-SM, Crow GH, Tosh SM, Jones PJ, Ames NP. 2016. High-Molecular-Weight  $\beta$ -Glucan Decreases Serum Cholesterol Differentially Based on the CYP7A1 rs3808607 Polymorphism in Mildly Hypercholesterolemic Adults. *J Nutr*; [consultado el 12 de mar. de 2021]. 146(4):720–727. eng. doi:10.3945/jn.115.223206.
- Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, Ahmed A. 2015. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*; [consultado el 5 de feb. de 2021]. 148(3):547–555. eng. doi:10.1053/j.gastro.2014.11.039.
- Wu Y-S, Ho S-Y, Nan F-H, Chen S-N. 2016. *Ganoderma lucidum* beta 1,3/1,6 glucan as an immunomodulator in inflammation induced by a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med*; [consultado el 1 de mar. de 2021]. 16(1):500. eng. doi:10.1186/s12906-016-1476-3.
- Xu C, Markova M, Seebeck N, Loft A, Hornemann S, Gantert T, Kabisch S, Herz K, Loske J, Ost M, et al. 2020. High-protein diet more effectively reduces hepatic fat than low-protein diet despite lower autophagy and FGF21 levels. *Liver Int*; [consultado el 27 de feb. de 2021]. 40(12):2982–2997. eng. doi:10.1111/liv.14596.

- Xu L, Liu J, Lu M, Yang D, Zheng X. 2020. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 40(5):998–1004. eng. doi:10.1111/liv.14435.
- Yang Y, Smith DL, Keating KD, Allison DB, Nagy TR. 2014. Variations in body weight, food intake and body composition after long-term high-fat diet feeding in C57BL/6J mice. *Obesity (Silver Spring)*; [consultado el 13 de feb. de 2021]. 22(10):2147–2155. eng. doi:10.1002/oby.20811.
- You S, Hu X, Zhao Q, Chen X, Xu C. 2013. Oat  $\beta$ -glucan inhibits lipopolysaccharide-induced nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Food Funct*; [consultado el 11 de mar. de 2021]. 4(9):1360–1368. eng. doi:10.1039/C3FO60081E.
- Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. 2018. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 15(1):11–20. eng. doi:10.1038/nrgastro.2017.109.
- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. 2016. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*; [consultado el 6 de feb. de 2021]. 64(1):73–84. eng. doi:10.1002/hep.28431.
- Zhang C, Shi L, Wang F-S. 2020. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 5(5):428–430. doi:10.1016/S2468-1253(20)30057-1.
- Zhang N, Tao J, Gao L, Bi Y, Li P, Wang H, Zhu D, Feng W. 2020. Liraglutide Attenuates Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Modulating Gut Microbiota in Rats Administered a High-Fat Diet. *Biomed Res Int*; [consultado el 9 de feb. de 2021]. 2020:2947549. eng. doi:10.1155/2020/2947549.
- Zhong F, Zhou X, Xu J, Gao L. 2020. Rodent Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Digestion*; [consultado el 8 de feb. de 2021]. 101(5):522–535. eng. doi:10.1159/000501851.

Zilu S, Qian H, Haibin W, Chenxu G, Deshuai L, Qiang L, Linfeng H, Jun T, Minxuan X. 2019. Effects of XIAP on high fat diet-induced hepatic steatosis: a mechanism involving NLRP3 inflammasome and oxidative stress. *Aging (Albany NY)*; [consultado el 14 de feb. de 2021]. 11(24):12177–12201. eng. doi:10.18632/aging.102559.

## Anexos

### Anexo A

*Valores de referencia fisiológicos normales para ratones y ratas.*

Valor	Ratón	Rata
Vida media en meses	12-36	26-40
Vida útil máxima en meses	48	56
Peso adulto medio (macho), g	20-40	267-500
Peso adulto medio (hembra), g	22-63	225-325
Consumo diario aproximado de la dieta en un adulto, g	3-5	15-20
Consumo diario aproximado de agua en un adulto, mL	5-8	22-33
Producción fecal aproximada, g	1-1.5	9-15
Temperatura ambiental recomendada, °C	24-25	21-24
Humedad relativa recomendada, %	45-55	45-55

Adaptado de Frohlich (2020).

## Anexo B

### *Datos hematológico y bioquímicos para ratas y ratones.*

Valor	Ratón macho (n = 133)	Rata macho (n> 220)
Hematocrito, %	53 (39–74)	43.3 (28.3–49.2)
Hemoglobina, g / dL	14.4 (11.9-18.4)	15.4 (14.7-16.6)
Glóbulos rojos, × 10 <sup>6</sup> / μL	9.5 (7.3-12.3)	8.3 (7.9–8.9)
Glóbulos blancos, × 10 <sup>3</sup> / μL	8.6 (4.4-14.0)	11.1 (9.8-12.9)
Plaquetas, × 10 <sup>3</sup> / μL	1580 (736–2374)	852 (765–1029)
Bilirrubina, total, mg / dL	0.3 (0.2-0.4)	0.6 (0.2-1.0)
Colesterol, mg / dL	185 (168-275)	65 (55–89)
Glucosa, mg / dL	240 (147–361)	157 (121-197)
Triglicéridos, mg / dL	213 (128–288)	76 (62–92)

Adaptado de Frohlich (2020).