

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“PRODUCTOS ANTIPOBESIDAD SOBRE EL PESO, BIOQUÍMICA
SANGUÍNEA, BIOMETRÍA, DEPOSICIÓN DE GRASA Y
EXPRESIÓN GÉNICA EN RATAS HOLTZMAN INDUCIDAS A
OBESIDAD”**

Presentada por:

CRISTIAN GABRIEL UCULMANA MORALES

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Lima – Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LAMOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“PRODUCTOS ANTIPOBESIDAD SOBRE EL PESO, BIOQUÍMICA
SANGUÍNEA, BIOMETRÍA, DEPOSICIÓN DE GRASA Y
EXPRESIÓN GÉNICA EN RATAS HOLTZMAN INDUCIDAS A
OBESIDAD”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Presentada por:

CRISTIAN GABRIEL UCULMANA MORALES

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg.Sc. Víctor Hidalgo Lozano
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Vilchez Perales
PATROCINADOR

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
MIEMBRO

Mg.Sc. Elva Ríos Ríos
MIEMBRO

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su inmenso apoyo y amor. A mi padre César, a mi madre Ursula y a mi hermano Jarod.

A Mayra Calagua, por estar conmigo en todo momento y por su gran corazón.

A mi patrocinador y amigo, Carlos Vílchez Perales, por su apoyo incondicional y buenos consejos.

A mis amigos de siempre: Elmer, Saira, Manuel, Liz, Jorge y Fabiola.

A la señora Amelia, por su inmensa amabilidad y comprensión.

A los miembros de mi jurado: Dra. Villanueva, Profesora Elva Ríos e Ing. Víctor Hidalgo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	2
2.1. Obesidad en el contexto de salud pública	2
2.2. Tejido adiposo: implicancias y síndrome metabólico	3
2.3. Terapias comunes contra la obesidad	5
a) Ácido linoleico conjugado (CLA)	7
b) Fibratos	10
2.4. Ácidos grasos poliinsaturados	11
a) Aceite de oliva	16
b) Aceite de pescado	17
2.5. Nutrigenómica y activación de genes relacionados con obesidad	19
a) Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR)	19
2.6. Investigación: dietas para inducir estados metabólicos	22
III. Materiales y métodos	25
3.1. Lugar de ejecución y duración	25
3.2. Animales en evaluación	25
3.3. Instalaciones y equipos	25
3.4. Alimentación	26
3.5. Tratamientos	27
3.6. Variables de respuesta	28
a) Peso y consumo de alimento	28
b) Bioquímica Sanguínea	29
c) Biometría e índices corporales	30
d) Peso del tejido adiposo e hígado	31
e) Expresión génica	31
3.7. Diseño estadístico	32
IV. Resultados y discusiones	34
4.1. Peso y consumo de alimento	34
4.2. Bioquímica Sanguínea	37
4.3. Biometría e índices corporales	42

4.4. Peso del tejido adiposo e hígado	43
4.5. Expresión génica	47
V. Conclusiones	50
VI. Recomendaciones	51
VII. Bibliografía	52
VIII. Anexos	70

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1: Evidencias de la influencia del aceite de oliva sobre el síndrome metabólico	17
Cuadro 2: Composición nutricional de las dietas empleadas	26
Cuadro 3: Primers utilizados para la expresión génica del gen PPAR α	32
Cuadro 4: Variables registradas al finalizar el periodo de inducción a obesidad	35
Cuadro 5: Peso y consumo de alimento tras la administración de los tratamientos	35
Cuadro 6: Perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre tras la administración de los tratamientos	37
Cuadro 7: Características biométricas e índices corporales tras la administración de los tratamientos	43
Cuadro 8: Peso del tejido adiposo e hígado tras la administración de los tratamientos	45
Cuadro 9: Expresión relativa del gen PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1: Estructura química de los dos isómeros principales del CLA	8
Figura 2: Estructura química de los ácidos grasos monoinsaturados	12
Figura 3: Estructura química de los ácidos grasos poliinsaturados	13
Figura 4: Modo de suplementación de los tratamientos	28

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág
Anexo I.	Número de réplicas del mismo tratamiento en diferentes estudios relacionados	71
Anexo II.	Kit comercial para prueba de perfil lipídico	72
Anexo III.	Kit comercial para prueba de glucosa	73
Anexo IV.	Peso corporal y ganancia de peso al finalizar el período de inducción a obesidad	74
Anexo V.	Perfil lipídico y glucosa en sangre al finalizar el período de inducción a obesidad	75
Anexo VI.	Biometría e índices corporales al finalizar el período de inducción a obesidad	76
Anexo VII.	Peso, ganancia de peso, consumo y conversión de alimento tras la administración de los tratamientos	77
Anexo VIII.	Perfil lipídico, nivel de glucosa en sangre e índice de aterogénesis modificado tras la administración de los tratamientos	78
Anexo IX.	Biometría e índices corporales tras la administración de los tratamientos	79
Anexo X.	Peso del tejido adiposo e hígado tras la administración de los tratamientos	80
Anexo XI.	Expresión génica tras la administración de los tratamientos	81

RESUMEN

Los parámetros de peso, bioquímica sanguínea (TG, HDL y glucosa), biometría, deposición de tejido adiposo y expresión génica relativa de PPAR α en tejido hepático fueron evaluados después de la administración de productos antiobesogénicos en ratas Holtzman de 3 meses, previamente inducidas a obesidad. Los productos utilizados fueron: un nutraceutico (ácido linoleico conjugado, CLA), un fármaco (fenofibrato, F), un ácido graso monoinsaturado (aceite de oliva, AO) y otro poliinsaturado (aceite de pescado, AP). El estudio se dividió en dos etapas (**E**): **E1**, dieta obesogénica (DO) por 30 días; **E2**, incorporación de tratamientos (**T**). **T1**: dieta estándar (DE); **T2**: DO; **T3**: DO + CLA; **T4**: DO + F; **T5**: DO + AO; **T6**: DO + AP. Para los **T3**, **T5** y **T6** se consideró 0.5 ml aceite/kg PV rata/día; para el **T4** la dosis de F fue 100 mg/Kg PV rata/día. El consumo de alimento fue medido diariamente. Al final de la fase experimental, se sacrificaron a los animales y se tomaron las siguientes mediciones: peso, bioquímica sanguínea, biometría, grasa corporal y expresión del gen de PPAR α (hígado). Los datos fueron sometidos a análisis de varianza bajo un DCA con 6 tratamientos y 7 repeticiones utilizando el programa MINITAB, la diferencia de medias se calculó con la prueba LSD. Al finalizar la **E2** se encontró que los tratamientos tuvieron influencias ($P < 0.05$) sobre la ganancia de peso, nivel de HDL, grasa inguinal, total y en el peso del hígado, mas no así ($P > 0.05$) sobre el peso final ni en variables biométricas. Se encontró una tendencia ($0.05 < P < 0.1$) en la expresión relativa de PPAR α , donde el **T6** tuvo el mayor valor y el **T1** tuvo el menor valor. Se concluye que los productos evaluados tienen diferentes efectos benéficos a nivel de metabolismo y expresión génica relativa incluso bajo condiciones alimentarias desfavorables.

Palabras claves: obesidad, perfil lipídico, ácidos grasos

ABSTRACT

The parameters of weight, blood biochemistry (TG, HDL and glucose), biometry, deposition of adipose tissue and relative gene expression of PPAR α in liver tissue were evaluated after the administration of antiobesogenic products in Holtzman rats of 3 months, previously induced to obesity. The products used were: a nutraceutical (conjugated linoleic acid, CLA), a drug (fenofibrate, F), a monounsaturated fatty acid (olive oil, OO) and another polyunsaturated (fish oil, FO). The study was divided into two stages (S): S1, obesogenic diet (OD) for 30 days; S2, incorporation of treatments (T). T1: standard diet (SD); T2: OD; T3: OD + CLA; T4: OD + F; T5: OD + OO; T6: OD + FO. For T3, T5 and T6, 0.5 ml oil / kg PV rat / day was considered; for T4 the dose of F was 100 mg / Kg PV rat / day. Food consumption was measured daily. At the end of the experimental phase, the animals were sacrificed and the following measurements were taken: weight, blood biochemistry, biometrics, body fat and expression of the PPAR α gene (liver). The data were subjected to analysis of variance under a DCA with 6 treatments and 7 repetitions using the MINITAB program, the difference in means was calculated with the LSD test. At the end of the S2 it was found that the treatments had influences ($P < 0.05$) on the weight gain, HDL level, inguinal fat, total and liver weight, but not ($P > 0.05$) on the final weight nor in biometric variables. A trend ($0.05 < P < 0.1$) was found in the relative expression of PPAR α , where T6 had the highest value and T1 had the lowest value. It is concluded that the products evaluated have different beneficial effects at the level of metabolism and relative gene expression even under unfavorable food conditions.

Key words: obesity; lipidic profile; fatty acids

Abreviaturas:

AG: Ácidos grasos

ALA: Ácido linolénico (por sus siglas en inglés)

ARA: Ácido araquidónico (por sus siglas en inglés)

CT: Colesterol total

DHA: Ácido docosahexaenoico (por sus siglas en inglés)

DIO: Dietas que inducen obesidad (por sus siglas en inglés)

EPA: Ácido eicosapentaenoico (por sus siglas en inglés)

HDL: Lipoproteínas de alta densidad (por sus siglas en inglés)

HFD: Dieta alta en grasa (por sus siglas en inglés)

LA: Ácido linoleico (por sus siglas en inglés)

PPAR: Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (por sus siglas en inglés)

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados (por sus siglas en inglés)

TG: Triglicéridos

n-3: Omega 3

n-6: Omega 6

n-9: Omega 9

I. INTRODUCCIÓN

Las mejoras en el nivel socioeconómico, los estilos de vida y los hábitos alimentarios actuales han desencadenado la actual transición epidemiológica/nutricional. Se sabe que hay mayor prevalencia y mayores tasas de mortalidad por enfermedades cardiovasculares que muertes por enfermedades infecciosas (Aranceta y Pérez 2012). La obesidad es considerada una patología ya que está relacionada con la disfunción de muchos órganos y sistemas a través de los más complejos mecanismos. Los efectos más comunes son: acumulación de tejido adiposo e inflamación crónica, hígado graso, disfunción del páncreas, tracto gastrointestinal deteriorado, microbiota alterada, complicaciones a nivel de sistema nervioso central e incluso alteraciones de índole genética (Spiegelman y Flier 2001; Wang y Huang 2015; Simopoulos 2016), desencadenándose lo que hoy en día conocemos como síndrome metabólico (García et al. 2016), siendo necesaria la intervención multidisciplinaria para controlar este gran problema de orden mundial (Barret et al. 2016). En la última década, las investigaciones en el campo de la obesidad han ido desde modelos básicos en roedores, hasta el entendimiento de los circuitos neurales y su interacción con la ingesta de alimento y el balance energético. Actualmente las investigaciones están orientadas a diseñar modelos alimentarios más realistas, mejor caracterización del comportamiento humano y aplicación de herramientas moleculares y genéticas para entender los complejos mecanismos de la obesidad con el fin de obtener beneficios terapéuticos de aplicación en salud pública (Barret et al. 2016). Nutracéuticos, farmacología y alimentos funcionales son considerados dentro de los tratamientos más efectivos contra patologías asociadas de la obesidad y expresión de genes vinculados con el metabolismo lipídico.

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de diferentes productos antiobesogénicos sobre la ganancia de peso, la bioquímica sanguínea (TG, HDL y nivel de glucosa), peso del tejido adiposo en diferentes localizaciones y del hígado, características biométricas y expresión del gen PPAR α en tejido hepático en ratas Holtzman previamente inducidas a obesidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Obesidad en el contexto de salud pública

La percepción de obesidad ha ido cambiando a lo largo del tiempo; desde el punto de vista evolutivo fue beneficioso para los cazadores y recolectores almacenar energía en forma de tejido adiposo ya que había temporadas en donde la ingesta energética era muy restrictiva. Hipócrates (460 – 370 ac) fue el primero en señalar que la obesidad tiene una asociación con muerte prematura (Komaroff 2016). Se conoce que actualmente existe la mayor tasa de sobrepeso y obesidad de la historia con un gran impacto negativo en el estado de salud de la población (Mohamed 2013; Trigueros et al. 2013; Bender et al. 2014; Brown et al. 2015); y más preocupante aún son los índices de sobrepeso y obesidad infantil que están aumentando de manera exponencial, y no se sabe como repercutirá este fenómeno en el futuro. En términos de gestión pública, el sobrepeso es un problema no solo en los países desarrollados sino también en países en vía de desarrollo e incluso en poblaciones de bajos ingresos (Rocha et al. 2007; Seoane et al. 2014). El sobrepeso y obesidad afectan enormemente la economía de los países ya que se incrementa el presupuesto destinado a salud pública (Vanecková et al. 2014; Du et al. 2015).

Oliveira et al. (2015) mencionan que la obesidad es una patología crónica que está asociada con el consumo de dietas hipercalóricas (comidas con azúcar añadida e ingredientes con alto contenido de grasa). La obesidad es caracterizada por causar inflamación de menor grado en el tejido adiposo (Teng et al. 2014); esta inflamación local ejerce una profunda influencia negativa en los diferentes sistemas y además favorece el cuadro de resistencia a la insulina (Wang y Huang 2015). Se conoce que la prevalencia de resistencia a la insulina se ha incrementado en todas las poblaciones (Sishi et al. 2010), siendo esta condición la que agrava todos los componentes del síndrome metabólico (Lucero et al. 2017). La diabetes mellitus Tipo 2 es un desorden metabólico ocasionado por una resistencia crónica a la insulina y que tiene grandes complicaciones para la salud (alteración del metabolismo de lípidos y carbohidratos, sobre producción de radicales libres, inflamación crónica, daño y disfunción del sistema cardiovascular y daño renal) (Hassanali et al. 2010; Mirmiran et al. 2014).

Se sabe también que la obesidad predispone a las enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis (Smith et al. 2014) existiendo también un componente genético y de influencia del medio ambiente (Barret et al. 2016). Enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis son las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo (Chiesa et al. 2016) y estas deben entenderse en su totalidad para desarrollar estrategias de prevención y tratamiento (Torrejon et al. 2007).

Recientemente la organización mundial de la salud (World Health Organization 2016) ha reportado que:

- Desde 1975, la obesidad se ha triplicado en todo el mundo.
- En 2016, el 39% de las personas adultas (18 años a más) tenían sobrepeso, y el 13% eran obesas.
- En 2016, 41 millones de niños menores de 5 años tenían sobrepeso u obesidad.
- En 2016, había más de 340 millones de niños y adolescentes (5 – 19 años) que tenían sobrepeso y obesidad.

El objetivo de las próximas investigaciones en el campo de salud pública llevará a comprender los mecanismos que regulan la obesidad y las patologías asociadas (García et al. 2016). Es indispensable conocer más a detalle los mecanismos fundamentales del balance energético para desarrollar estrategias cada vez más efectivas para influenciar en los patrones de consumo y en reducir la ingesta de energía (Barret et al. 2016), sabiendo, además, que existen sustancias derivadas de los alimentos que pueden ser beneficiosas para la salud (Abete et al. 2011).

2.2. Tejido adiposo: implicancias y síndrome metabólico

El tejido adiposo juega un papel importante en la homeostasis metabólica debido a su rol como almacenador y repositor de energía (White et al. 2015); esta función garantiza la supervivencia de los organismos durante periodos de baja ingesta calórica (Montanari et al. 2017). EL Tejido adiposo también funciona como tejido endocrino, secretando una variedad de adipoquinas que están relacionadas con el metabolismo y la inflamación (Wendel et al. 2008). Un desbalance en el metabolismo energético relacionado a una mayor ingesta energética en comparación al gasto calórico es la causa de la obesidad; en este sentido, el peso corporal puede ser un indicativo de obesidad (Ma et al. 2016).

En un estado de obesidad existe la infiltración de macrófagos y otras células inmunitarias en el tejido adiposo, con la consecuente producción incontrolada de citoquinas proinflamatorias generando un estado de inflamación crónica generalizada (Mohammadi et al. 2014; Wang y Huang 2015). Las desaturasas de AG son importantes reguladores del metabolismo de los AG poliinsaturados n-6 y n-3, y pueden regular la desaturación hasta sus correspondientes AG monoinsaturados; una mayor actividad de las desaturasas de AG está relacionada con la formación de los AG: oleico, palmitoleico y araquidónico, que a su vez están asociados con obesidad, hipertrigliceridemia, síndrome metabólico y el riesgo de presentar resistencia a la insulina (Dasilva et al. 2015). Se conoce que el músculo está involucrado en el 80% de la captación de glucosa y oxidación de ácidos grasos mediado por insulina, por lo que, si existen factores que ocasionen estrés mitocondrial y por consiguiente una incompleta oxidación de ácidos grasos, puede existir resistencia a la insulina a nivel de músculo esquelético, lo que es fundamental para desarrollar resistencia a la insulina a escala sistémica (Koves et al. 2008).

El tejido adiposo produce una inflamación crónica que contribuye a una serie de respuestas patológicas, desencadenándose lo que hoy se conoce como síndrome metabólico (Wendel et al. 2008; Mohammadi et al. 2014; García et al. 2016). Para algunos autores (Abete et al. 2011), el síndrome metabólico incluye una combinación de complicaciones clínicas como: obesidad abdominal, resistencia a la insulina, dislipidemias, hipertensión e hígado graso no-alcohólico; sin embargo, publicaciones recientes (Mohamed 2013; Teng et al. 2014) consideran que existe el cuadro de síndrome metabólico cuando se presentan por lo menos 3 de las 5 siguientes alteraciones:

- Obesidad abdominal: si el perímetro abdominal es mayor que 94 cm en hombres y 80 cm en mujeres.
- Triglicéridos elevados: cuando la medición es mayor que 150 mg/dl.
- HDL disminuido: cuando los niveles son menores que 40 mg/dl en hombres y menor que 50 mg/dl en mujeres.
- Presión sanguínea: cuando la presión sistólica es mayor que 130 mmHg y la presión diastólica es mayor que 85 mmHg.
- Glucosa en sangre elevada: cuando la medición es mayor que 100 mg/dl o que previamente se hubiese detectado diabetes Tipo 2.

La hipertensión es una patología muy vinculada al sobrepeso y obesidad, y es uno de los factores principales para que se desencadene cualquier problema cardiovascular, que actualmente es la principal causa de muerte en el mundo (Sun et al. 2012; Vanecková et al. 2014). Otra patología muy estudiada desde hace muchos años, por la repercusión en políticas de salud pública, es la diabetes Tipo 2, que causa múltiples complicaciones de salud, afectando diversos órganos del cuerpo, existen líneas de investigación que se centran en el desarrollo de estrategias para el manejo de la resistencia a la insulina y del síndrome metabólico, además de la reducción del estrés oxidativo (Bagul et al. 2012).

Finalmente, el concepto de lipotoxicidad se puede definir como: los efectos adversos de la acumulación ectópica (órganos) de ácidos grasos que puede alterar el normal funcionamiento. Se ha reportado que la lipotoxicidad aumenta la resistencia a la insulina y en la revisión de Saad et al. (2016) nos describen el efecto negativo en algunos órganos y tejidos:

- Músculo esquelético: la concentración de ácidos grasos libres disminuye la señalización de la insulina, ocasionando la resistencia de esta hormona en este nivel.
- Páncreas: los ácidos grasos libres pueden alterar la funcionalidad de este órgano. El exceso crónico en la síntesis de insulina desencadena diabetes tipo II.
- Hígado: la disfunción mitocondrial en los hepatocitos es ocasionada por los ácidos grasos libres y ocasiona estrés oxidativo. Existe una alta correlación entre un hígado con funcionalidad deteriorada y la presencia de síndrome metabólico.
- Vasos sanguíneos: en este caso, existe una relación muy cercana con el riesgo de presentar hipertensión. El óxido nítrico pierde bio-actividad en condiciones de daño a este nivel.
- Riñones: a través del complejo renina-angiotensina, hay predisposición a la hipertensión.

2.3. Terapias más comunes contra la obesidad

Existe gran variedad de estrategias que han sido usadas para combatir la obesidad, dentro de las más comunes tenemos:

- Buenas prácticas alimentarias (Mirmiran et al. 2014)
- El consumo en la cantidad adecuada de alimentos saludables (PUFA, lácteos, pescado, legumbres, frutas y verduras) (Abete et al. 2011 y Mohamed 2013).
- Ejercicio (Rocha et al. 2007)
- Farmacoterapia e intervención médica (Trigueros et al. 2013; Nazari et al. 2016)

Es muy notoria la necesidad de encontrar fuentes alternativas que ayuden al control de peso y que puedan complementar a las ya existentes (Medina et al. 2017). Hasta hace poco, los esfuerzos en controlar la diabetes tipo 2 se centraban en el manejo de la glucosa en sangre; sin embargo, recientemente se prefiere abordar el tema desde diversos ángulos, y uno de ellos es reducir también las complicaciones metabólicas como el estrés oxidativo característico en personas con esta enfermedad (Bagul et al. 2012), sin dejar de lado los posibles efectos adversos para la salud (Brown et al. 2015). En la revisión de Trigueros et al. (2013) se discuten los posibles mecanismos por los cuales los alimentos pueden contribuir positivamente con las complicaciones del sobrepeso y obesidad: disminuyendo la ingesta de alimento (a nivel del sistema nervioso), disminuyendo la disponibilidad de nutrientes (a nivel enzimático o de absorción), modificando la microbiota y aumentando la termogénesis. La termogénesis adaptativa despertó el interés científico hace mucho tiempo (Rothwell y Stock 1979; Sims y Danforth 1987; Levine et al. 1999) ya que es una forma de pérdida de calor en respuesta a cambios ambientales de temperatura y alteraciones en la dieta.

Debido al frecuente fracaso de encontrar fármacos adecuados para el control de la obesidad, es necesario evaluar la administración de suplementos que estén relacionados directa o indirectamente con el metabolismo energético (Nazari et al. 2016). Los flavonoides (antocianinas de los vegetales con pigmentos de tonalidad rojiza; quercetina y rutina), las catequinas del té verde, los polifenoles de los berries y del vino, el resveratrol, los alcaloides del café y los simbióticos son algunas de las sustancias utilizadas en el control del peso y de sus implicancias a nivel metabólico (Brown et al. 2015). Montanari et al. (2017) complementan la lista con capsaicina, β -caroteno, EPA, DHA, CLA, curcumina y mentol, mencionando la capacidad de estas sustancias para diferenciar el tejido adiposo blanco en uno intermedio con el tejido adiposo marrón.

Se ha demostrado que los ácidos poliinsaturados n-3 están asociados con la reducción de enfermedades crónicas no transmisibles como la resistencia a la insulina, cáncer y enfermedades cardiovasculares (Xie et al. 2016). Los mamíferos no tienen la capacidad para sintetizar PUFA y por lo tanto estos deben provenir de la dieta (Ma et al. 2016). Según Boyle et al. (2017) aún no es claro como los mecanismos que propician la oxidación de ácidos grasos están relacionados con la inflexibilidad metabólica (se entiende por flexibilidad metabólica la posibilidad de ajustar apropiadamente la oxidación a los cambios en la disponibilidad de nutrientes). Las grasas son muy importantes para una vida saludable ya que son una importante fuente de energía (Aranceta y Pérez 2012) que además facilitan la absorción de muchos compuestos lipídicos, como las vitaminas liposolubles (Aranceta y Pérez 2012). Finalmente, es ampliamente reconocido (Lehnen et al. 2015; Brown et al. 2015; Chiu et al. 2017) el rol beneficioso de los alimentos funcionales (alimentos que poseen beneficios extra nutricionales que demuestren sus efectos en cantidades que puedan ingerirse normalmente) y de los nutraceuticos (cualquier parte o sustancia de un alimento que tenga efectos benéficos en la salud) en nutrición humana.

Por formar parte de la presente investigación, a continuación se hará una revisión sobre dos productos utilizados para combatir la obesidad y sus patologías asociadas, es el caso del CLA (tratamiento nutraceutico) y de los fibratos (tratamiento farmacológico).

a) Ácido linoleico conjugado (CLA)

Gebauer et al. (2011) mencionan conceptos importantes sobre los ácidos grasos trans; estos se pueden formar artificialmente con una hidrogenación parcial de los aceites vegetales (comúnmente asociados con problemas para la salud) y naturalmente por la biohidrogenación que ocurre en rumiantes (ácido vaccénico e isómeros del CLA).

El ácido linoleico conjugado (CLA) son isómeros del ácido linoleico (C18:2, n-6), que se encuentran principalmente en la carne y en los productos lácteos exclusivos de rumiantes (Whigham et al. 2007; Wendel et al. 2008; Montanari et al. 2017). El CLA es naturalmente producido en el rumen-retículo de los rumiantes, y en menor grado en monogástricos, por bacterias fermentativas (*Butyrivibrio fibrisolvens*) que isomerizan el ácido linoleico (Kishino et al. 2002), y la síntesis endógena dependerá de la fuente alimentaria, de la edad del animal y de la microflora ruminal (Shen y McIntosh 2016).

Además, el CLA puede ser obtenido de forma industrial a partir del aceite de cártamo o de girasol (hidrogenaciones parciales del ácido linoleico) y asegurar un compuesto con la máxima actividad biológica y con una composición química definida (Blankson et al. 2000). Oleszczuk et al. (2012) mencionan que el mayor isómero de manera natural (90 por ciento según Silveira et al. 2007) es el 18:2 cis-9, trans-11 (c9,t11) o ácido ruménico; mientras que en los CLA comerciales puede haber una mezcla (40% - 40%) entre el ácido ruménico con el 18:2 trans-10, cis-12 (t10,c12); que en conjunto son los 2 isómeros más comunes (**Figura 1**), aunque se ha reportado que existen 28 isómeros distintos. Además, el CLA tiene el estatus de GRAS (generalmente reconocido como seguro) avalado por la US FDA (US Food and Drug Administration) desde el 2008 (Shen y McIntosh 2016).

El CLA fue descubierto inicialmente en 1987 en la Universidad de Wisconsin y en primera instancia fue identificado como un anticarcinógeno (Ha et al. 1987). Posteriormente mostró efectos positivos a nivel de la aterosclerosis en ratones (Mitchell y McLeod 2008) y luego propiedades antiobesogénicas en humanos, roedores y cerdos (Kennedy et al. 2010). Durante este periodo los mecanismos de acción, fuentes, proporción de isómeros y mecanismos moleculares han sido muy estudiados en esta molécula por su gran versatilidad en cuanto a los potenciales efectos benéficos en la salud humana, aunque aún se debe revisar los casos en los que no se debería de recomendar, para ello se debe afinar aún más los detalles en las investigaciones futuras.

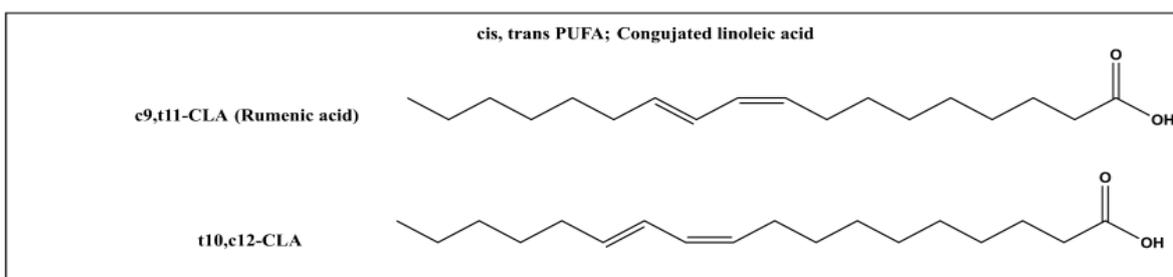


Figura 1. Estructura química de los dos isómeros principales del CLA. Fuente: Brown et al. (2015)

Se han descrito (Larsen et al. 2003; Silveira et al. 2007; Oleszczuk et al. 2012; Lehnen et al. 2015; Shen y McIntosh 2016) los siguientes efectos benéficos del CLA:

- Reducción de la grasa corporal
- Mejora la resistencia a la insulina

- Reducción del estado perjudicial de la aterosclerosis
- Mejora el perfil lipídico
- Disminuye la adipogénesis y la lipogénesis
- Apoptosis de adipocitos
- Incrementa el gasto energético
- Diferenciación de pre-adipocitos (pardeamiento - browning - beiging)
- Modula el sistema inmune
- Estimula la mineralización ósea
- Mejora el perfil glicémico
- Efectos anticancerígenos en modelos preclínicos ya que, in vitro, se ha demostrado que suprime la síntesis de ciertos AG vinculados con esta enfermedad (McGowan et al. 2013)

En una revisión del año 2007 (Whigham et al.) y en otra del año 2013 (Trigueros et al.) se concluye que en estudios con animales experimentales la respuesta benéfica del CLA ha sido mayor en comparación con estudios con humanos. A pesar de que existen numerosos estudios que comprueban la eficacia del CLA en la reducción del peso y la mejora del perfil lipídico (CLA provenientes de suplementos comerciales), también existen varios artículos que muestran datos contradictorios (CLA provenientes de fuentes naturales), por lo que debe seguir investigándose los posibles mecanismos de acción de los isómeros del CLA (Lehnen et al. 2015) y/o proponer modelos animales más realistas.

En las fuentes comerciales el CLA se puede encontrar bajo la forma de TG o bajo la forma de AG libres, mientras que en fuentes alimentarias naturales el CLA se encuentra bajo de TG, la forma más biodisponible (Shen y McIntosh 2016). Debido a su incorporación en los TG, también se conoce que el CLA puede estar presente en diversos tejidos y órganos:

- Cerebro (Sartorius et al. 2015)
- Hígado (Shen et al. 2013)
- Riñones (Yuan et al. 2009)
- Corazón (Czauderna et al. 2007; Yuan et al. 2009)
- Pulmones (Yuan et al. 2009)
- Músculo (Czauderna et al. 2007)
- Tejido adiposo epididimal (Shen et al. 2013)

En estudios experimentales la dosis de CLA proveniente de los alimentos debe ser realista y alcanzable a través de dietas convencionales; por tanto, la potencia estadística que se utilice en este tipo de estudios debe ser revisada por un especialista para evitar posibles sesgos a este nivel (Gebauer et al. 2011). Por otro lado, en algunas revisiones se ha reportado que el CLA puede causar resistencia a la insulina (Oleszczuk et al. 2012) y este efecto negativo podría atribuirse a los CLA comerciales por la manipulación y por el desbalance en los isómeros en comparación con los isómeros del CLA de origen natural (Larsen et al. 2003). También se ha reportado que con el consumo del isómero comercial del CLA (trans-10, cis-12) hay más probabilidad de desarrollar mayor peso del hígado debido a una esteatosis (Li et al. 2012).

Finalmente, se conoce que la suplementación con CLA puede incrementar la lipólisis y reducir la acumulación de ácidos grasos en el tejido adiposo bajo los siguientes posibles mecanismos: reducir la actividad de la lipoprotein lipasa, incrementar la actividad de la carnitina-palmitoil-transferasa-1 (CAT-1), interactuar con PPAR γ e incrementar la expresión de UCP-1 (Lehnen et al. 2015). Además, el isómero trans-10, cis-12 puede reducir la adiposidad mediante dos mecanismos adicionales: causando estrés celular e inflamación en los adipocitos y por activación indirecta del sistema nervioso activando la termogénesis (Shen y McIntosh 2016).

b) Fibratos

Algunos fármacos se pueden utilizar para disminuir los efectos adversos del síndrome metabólico (Mancini et al. 2001; Smith et al. 2014). En el rubro de la farmacología, existe un tratamiento convencional en los pacientes con sobrepeso y con síndrome metabólico, son los fármacos denominados fibratos, cuya acción está involucrada a nivel génico, activando los PPAR (Rizvi et al. 2003; Haile y Kosten 2017), aumentando la oxidación de las grasas y disminuyendo la resistencia a la insulina, aunque los mecanismos exactos aún tienen que esclarecerse (Dai et al. 2016). Existen 10 tipos diferentes de fibratos; sin embargo, los más utilizados por ser activadores de PPAR y por estar indicados en el tratamiento contra la hipercolesterolemia y dislipidemias son el gemfibrozil y el fenofibrato (Haile y Kosten 2017).

Los efectos asociados al consumo de fenofibratos han sido revisados por Zheng et al. (2017):

- Disminuye la concentración en plasma de IL-6 (interleuquina 6)
- Modulador de la inflamación
- Prevención de obesidad en mujeres con sobrepeso que estén en la etapa de menopausia (Jeong et al. 2004)

También se han reportado los siguientes efectos benéficos:

- Regulador del metabolismo (Mancini et al. 2001)
- Ayuda a disminuir el perfil lipídico en sangre (Haile y Kosten 2017)
- Disminuye la lipotoxicidad inducida por la disfunción de las células β del páncreas en un estado de resistencia a la insulina (Zheng et al. 2017)
- Incrementa los niveles de adiponectina (hormona secretada por el tejido adiposo con propiedades anti inflamatorias) en pacientes con síndrome metabólico (Rosenson 2008)
- Disminuye los niveles de ácidos grasos libres mejorando la función cardíaca a la vez que disminuye los trastornos cardiovasculares (Sun et al. 2012)

Existen fármacos de última generación que combinan estructuras químicas de sustancias diferentes. Por ejemplo, Sashidhara et al. (2012) combinaron determinadas estructuras del fenofibrato, gemfibrozilo y fluvastatina para posteriormente probarlo en dos modelos animales de inducción a obesidad, con resultados a favor del uso de estos fármacos. Sin embargo, a pesar de que se conoce la acción directa de los fibratos, aún se viene investigando de qué manera tiene relación con los diversos tejidos corporales (Dai et al. 2016).

2.4. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)

Los PUFA son nutrientes importantes ya que tienen función a nivel de crecimiento y desarrollo de todos los organismos vivos: brindan sustratos para el metabolismo energético, tienen función estructural al ser componentes de las membranas celulares y tienen función como moléculas señalizadoras (Caputo et al. 2010); además, son considerados de gran interés para la salud humana por su potencial anti inflamatorio, por la protección que brindan en enfermedades degenerativas, por aliviar las complicaciones del síndrome metabólico y

porque su consumo se ha asociado con una disminución en el riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer (Marventano et al. 2015). Los ácidos grasos poliinsaturados se clasifican de acuerdo con su estructura química en (Poudyal et al. 2013):

- MUFA: ácido graso monoinsaturado, con un doble enlace (**Figura 2**)
- PUFA: ácido graso poliinsaturado, con dos o más dobles enlaces. Estos a su vez se clasifican en n-3 y n-6, de acuerdo con la posición del primer doble enlace contando desde el carbono del grupo metilo terminal (**Figura 3**). Estos enlaces son de configuración *cis*.

A su vez, la mayoría de las fuentes lipídicas alimentarias tienen 18 carbonos y se dividen en:

- SFA: ácido esteárico (C18:0) - ácidos grasos saturados.
- MUFA: ácido oleico (C18:1n-9) / 1 doble enlace en la posición n-9. Ejemplo común: aceite de oliva.
- n-6 PUFA: ácido linoleico (C18:2n-6) / 2 dobles enlaces en las posiciones n-6 y n-9. Ejemplo común: aceite de maíz o de soya.
- n-3 PUFA: ácido α -linolénico (C18:3n-3) / 3 dobles enlaces en las posiciones n-3, n-6 y n-9. Ejemplo común: aceite de pescado.

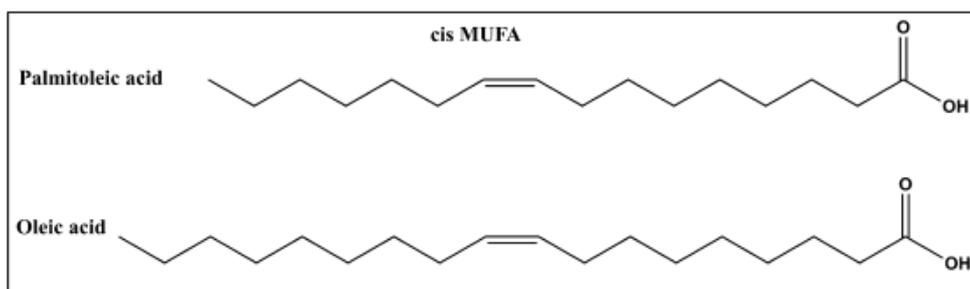


Figura 2. Estructura química de los ácidos grasos monoinsaturados. Fuente: Brown et al. (2015)

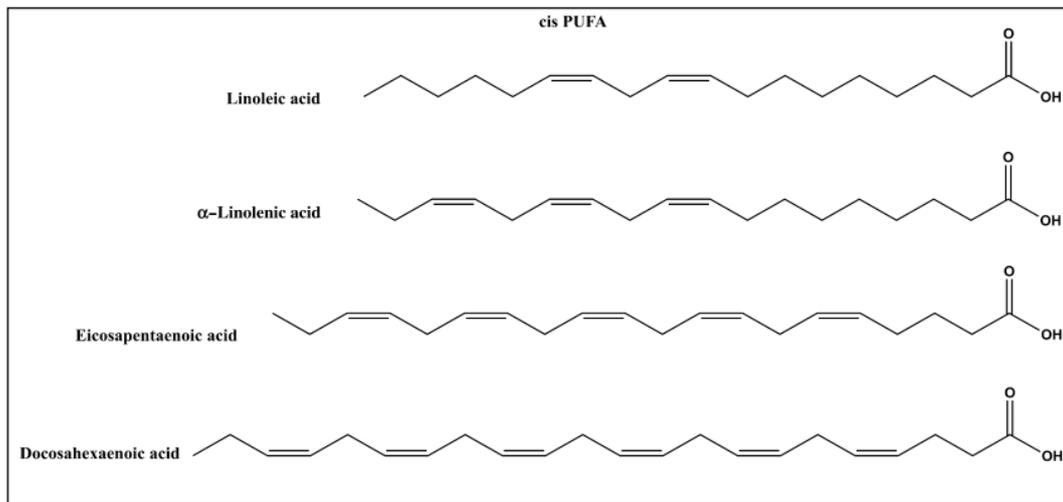


Figura 3. Estructura química de los ácidos grasos poliinsaturados. Fuente: Brown et al. (2015)

Debido a cambios en la alimentación y al comercio de alimentos, las dietas occidentales presentan altas concentraciones de n-6 PUFA y muy bajas concentraciones de n-3 PUFA, llegando a relaciones n-6/n-3 PUFA de 20:1. Es bien conocido que los ácidos grasos saturados y los n-6 PUFA tienen un efecto proinflamatorio (Teng et al. 2014); así, en el artículo de revisión de Simopoulos (2016) se presentó una serie de conclusiones y recomendaciones en torno al uso de los PUFA:

- Una alta relación n-6/n-3 PUFA está asociado con el sobrepeso mientras que un alto consumo de ácidos grasos n-3 disminuye el riesgo de aumento de peso, así como mejorar el balance metabólico.
- Los n-6 y n-3 PUFA compiten por las enzimas que las metabolizan, y estos dos tipos de ácidos grasos tienen distintas propiedades fisiológicas y metabólicas.
- El consumo de EPA y DHA conduce a la homeostasis del tejido adiposo a través de la disminución de la inflamación y aumento en la génesis de mitocondrias.
- Los n-6 PUFA aumentan la probabilidad de que se genere resistencia a la insulina y a la leptina.
- Se recomienda sustituir los aceites ricos en n-6 PUFA (aceite de maíz, girasol, soya) por los ricos en n-3 (linaza, chía) junto con los altos en monoinsaturados (oliva, nuez); además de aumentar la ingesta de pescado de 2 a 3 veces por semana.
- Un equilibrio en la relación n-6/n-3 es quizás uno de los factores nutricionales más importantes en la prevención de la obesidad y síndrome metabólico.

Los n-3 PUFA pueden ser obtenidos de distintas fuentes, y es indispensable la inclusión en la dieta para disfrutar de todos los beneficios y sobre todo prevenir enfermedades crónicas no transmisibles (Tur et al. 2012). Los n-3 PUFA son conocidos por su participación en los procesos inflamatorios como una estrategia nutricional que mitiga la inflamación local y sistémica observada en la obesidad (Teng et al. 2014; Wang y Huang 2015). En la revisión de literatura de Torrejon et al. (2007) se señala que los n-3 PUFA tienen efectos biológicos en la disminución de TG en plasma, estabilidad de las placas de ateroma, incremento del HDL, disminución de la presión sanguínea y de la inflamación. Los 3 principales impactos de los n-3 PUFA sobre el metabolismo del tejido adiposo son: controlar el almacenamiento, regular la función secretora y actuar como mediadores de la inflamación (Wang y Huang 2015); también tienen un efecto directo en cuanto a la regulación de la expresión génica (Caputo et al. 2010); tienen la capacidad de modular el metabolismo incluso bajo condiciones de resistencia a la insulina (Hassanali et al. 2010), y recientemente han mostrado tener efecto neuro-protector frente a una variedad de desórdenes neuro-degenerativos y neurológicos (Al et al. 2016).

En general, la población utiliza n-3 PUFA como suplementos y alimentos enriquecidos para controlar el sobrepeso; sin embargo, la seguridad y riesgo de uso de estos productos para salud pública fueron revisados por Tur et al. (2012), concluyendo que:

- Los aceites de pescado son la fuente de omegas 3 más usados y tienen efecto positivo sobre salud cardiovascular, perfil lipídico, inflamación y enfermedades renales; además, el consumo de este aceite mejora la función del sistema nervioso y previene ciertos tipos de cáncer. Sin embargo, algunos estudios sugieren un incremento de riesgo de diabetes mellitus Tipo 2, así como el riesgo de contaminantes ambientales encontrados en los pescados de los cuales se extrae el aceite.
- Los ácidos grasos provenientes de fuentes vegetales, principalmente ALA, mejoran el cuadro conocido como resistencia a la insulina.
- El metabolismo de los rumiantes genera ciertos tipos de ácidos grasos (los más conocidos son el CLA, vaccénico y ruménico) que se depositan en la carne y en la leche. Los productos lácteos son un buen vehículo para proporcionar estos ácidos grasos y se ha comprobado que mejoran el perfil lipídico, la rigidez arterial, la inflamación y la oxidación; además, no se han reportado efectos nocivos para la

salud. Los huevos son otra fuente animal de ácidos grasos que además tiene un buen perfil nutricional y es accesible a la población.

- Los ácidos grasos provenientes de las algas tienen efecto sobre la disminución de TG y un aumento de HDL, y no se han encontrado efectos adversos. Otras fuentes de ácidos grasos que se tocaron en esta revisión fueron: el animal marino Krill y el aceite de foca.
- Los dos ácidos grasos poliinsaturados más comunes en el aceite de pescado son el EPA y el DHA; sin embargo, algunas investigaciones no consideran la relación que existe entre estos dos ácidos grasos, que puede explicar algunas controversias encontradas (Molinar et al. 2015).

Se debe reconsiderar las implicancias de la patología de la obesidad en términos de alteraciones metabólicas y parámetros metabólicos en lugar de solamente basarnos en el IMC. La pérdida de peso que ejerce la suplementación con n-3 PUFA es mucho menor que una restricción energética; sin embargo, los n-3 PUFA son beneficiosos para disminuir los efectos negativos de las anormalidades metabólicas generadas por la obesidad (Teng et al. 2014), además de ser cruciales a la hora de acompañar un plan de reducción de peso; es por esta razón que las variables relacionadas con efectos antiinflamatorios e inmunoreguladores son mucho más interesantes de ser evaluadas, en complemento con las variables clásicas (Wang y Huang 2015).

También cabe señalar que el consumo crónico de ácidos grasos saturados, junto con una dieta desequilibrada energéticamente, alteran la función del centro hipotálamo-pituitaria-adrenal, aumentando niveles de cortisol y agravando la disfunción metabólica (Hryhorczuk et al. 2017). No es correcto afirmar que los ácidos grasos saturados son malos para la salud, solo se menciona que hay una proporción de inclusión saludable en la dieta.

Se hizo una revisión de literatura sobre dos aceites considerados como alimentos funcionales (Mohamed 2013): aceite de oliva (como fuente de ácidos grasos monoinsaturados) y aceite de pescado (como fuente de ácidos grasos poliinsaturados).

a) Aceite de oliva

Los ácidos grasos monoinsaturados representan más del 70% del consumo de grasa en una dieta mediterránea, con el aceite de oliva como principal fuente de este ácido (Brown et al. 2015; Alsina et al. 2016; Schwingshackl et al. 2017).

El aceite de oliva tiene varios compuestos bioactivos que cumplen el rol de fitonutrientes que, junto con los ácidos grasos monoinsaturados, desempeñan un rol sinérgico promoviendo la salud a nivel de enfermedades cardiovasculares, prevención de ciertos tipos de cáncer y disminuyendo la probabilidad de desarrollar degeneración cognitiva (Piroddi et al. 2016). Además, el consumo frecuente de aceite de oliva disminuye la acumulación de TG en el hígado, mejora los niveles de TG en estados posprandiales, restaura el nivel de glucosa y regula la expresión de proteínas como GLP-1 (péptido similar al glucagón) y del transportador de glucosa GLUT-2 (Saad et al. 2016). Con base en la conclusión de Schwingshackl et al. (2017), se considera que el aceite de oliva no solo debe ser considerado como fuente de ácido oleico ya que tiene otros compuestos igual de beneficiosos para la salud como el consumo de ácidos grasos insaturados.

Los principales mecanismos de acción por los cuales el consumo de aceite de oliva es tan popular se basan principalmente en la mejora de la resistencia a la insulina y en la menor producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6), aunque aún falta mayor investigación para dilucidar los mecanismos exactos de acción sobre todo a nivel molecular (Saad et al. 2016).

Una característica importante de este aceite es que presenta una forma bioactiva de vitamina E (Piroddi et al. 2016), vitamina que está relacionada con disminuir el daño oxidativo ya que es un potente antioxidante; por tal razón, los efectos positivos del consumo de aceite de oliva van mucho más allá de su composición de ácidos grasos (Bernardini y Visioli 2017). También se ha reportado (Bulotta et al. 2014) el efecto antioxidante de compuestos fenólicos propios del aceite de oliva, con énfasis en la protección del daño cardiovascular y síndrome metabólico. Se conoce que cuando la capacidad antioxidante del individuo es mayor, existe un mejor metabolismo y se aminoran los problemas relacionados con la obesidad (Dannenberger et al. 2013).

Se conocen los efectos benéficos a nivel de metabolismo; sin embargo, en la revisión de Saibandith et al. (2017) se menciona que el consumo de aceite de oliva no tiene efecto consistente en cuanto a la reducción de peso grasa corporal (**Cuadro 1**). Estas afirmaciones son coherentes, ya que para la pérdida de peso y de grasa corporal, lo que se debe tomar en cuenta es la restricción calórica, y una correcta alimentación debe ser un coadyugante para este proceso.

Cuadro 1. Evidencias de la influencia del aceite de oliva sobre el síndrome metabólico

Componentes del síndrome metabólico	Evidencia
Obesidad	Limitada
Hiperglicemia	Consistente
Hipertensión	Consistente
Dislipidemia	Limitada
Peroxidación de lípidos	Consistente

Fuente: Saibandith et al. (2017)

También se ha investigado el extracto de las hojas del olivo (conocido en el mercado comercial por su efecto benéfico en la presión arterial), que presentó características deseables al disminuir la ganancia de peso y grasa visceral, además de mejorar los niveles de lípidos en el plasma en comparación con una dieta alta en grasa (HFD, por sus siglas en inglés) (Shen et al. 2014).

Finalmente, el uso de otras fuentes de ácido oleico como el aceite de macadamia, aceite de canola, aceite de girasol, manteca de cerdo y sebo de vaca no han tenido los mismos efectos en comparación con el aceite de oliva (Brown et al. 2015), corroborándose que la fuente del ácido oleico es tan importante como el mismo ácido graso en evaluación.

b) Aceite de pescado

En los últimos años se ha puesto atención en el consumo de aceite de pescado debido a sus efectos benéficos sobre las dislipidemias y enfermedades cardiovasculares (Chiesa et al. 2016). El aceite de pescado es la fuente más común de ácidos grasos Omega-3, principalmente por su contenido de ácido eicosapentaenoico (EPA 20:5) y ácido docosahexaenoico (DHA 22:6) (Taltavull et al. 2014). A pesar de que se ha comprobado que

los ácidos grasos poliinsaturados tienen efectos benéficos en cuanto a reducir el riesgo de padecer patologías asociadas con el sobrepeso y obesidad, no existe un consenso claro sobre la recomendación de ingesta diaria; así, la recomendación de ingesta de EPA + DHA varía de 250 a 667 mg/día (Aranceta y Pérez 2012).

En la investigación de Dasilva et al. (2015) se mencionó que los aceites vegetales no son efectivos potenciando la síntesis endógena de EPA y DHA, por lo tanto, si deseamos tener estos ácidos grasos, debemos consumir directamente el aceite de pescado o el mismo pescado; en este sentido, en el estudio hecho en salud pública por Minihane et al. (2016) se reportó que el consumo prolongado de EPA y DHA reduce el desarrollo de hipertensión. También en salud pública se ha reportado el incremento en los niveles de adiponectina de la población que consumía aceite de pescado (Wu et al. 2013); por consiguiente, se recomienda seguir investigando tanto los n-3 PUFA como los componentes específicos del aceite de pescado que generan los efectos benéficos ya conocidos (Bender et al. 2014).

Algunos de los efectos benéficos del aceite de pescado fueron resumidos en la revisión de Chiesa et al. (2016), en la investigación de Dasilva et al. (2015) y en el meta-análisis de Du et al. (2015):

- Disminución de TG
- Mejora el estado cardiovascular
- Regula la homeostasis
- Mejora el perfil de ácidos grasos de las membranas celulares
- Mejora la señalización de la insulina
- Disminuye la tensión arterial
- Disminuye la inflamación crónica
- Incrementa la apoptosis de los adipocitos
- Incrementa los niveles de adiponectina

También se ha reportado que existe un beneficio directo entre el consumo de aceite de pescado con la mejora de la microflora (se reduce la población bacteriana relacionada con la obesidad y se favorece la proliferación de bacterias benéficas como los lactobacillus y bifidobacterias) (Yu et al. 2014). También se sabe que el consumo de EPA y DHA son

beneficiosos en reducir la hipertensión en humanos con el consumo de más de 2 gramos de EPA y DHA al día, disminuyendo tanto la presión sistólica como la diastólica (Miller et al. 2014).

Se ha mencionado recientemente (Wang et al. 2017) que el aceite de pescado debe seguir evaluándose poniendo énfasis en la parte molecular; y que no solo el aceite de pescado tiene efectos benéficos, sino también los péptidos que forman parte de las proteínas encontradas en el propio pescado (Chiesa et al. 2016).

2.5. Nutrigenómica y activación de genes relacionados con obesidad

Recientemente se ha demostrado que los nutrientes y los factores ambientales inducen modificaciones epigenéticas, que puede darse por: metilación del ADN, modificaciones de histonas y por posicionamiento del nucleosoma (Wang y Huang 2015). Estos mecanismos reguladores de la expresión génica están ganando mayor atención en la etiología de las principales enfermedades que afectan a la salud de la población (Vanecková et al. 2014). Teniendo en cuenta el objetivo de la presente investigación, se hizo una revisión acerca del gen PPAR α .

a) Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR)

Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) son factores de transcripción que pertenecen a la familia de receptores nucleares (hormonas tiroideas, hormonas esteroideas, retinoides, vitamina D₃) (Grygiel 2014) que están involucrados en la regulación de la homeostasis de la glucosa, en la inflamación y en el metabolismo lipídico (Grygiel 2014; Lehnen et al. 2015). Los PPAR fueron identificados (Dreyer et al. 1992) en una especie de ranas como los receptores que inducían la proliferación de peroxisomas (organelos envueltos en la oxidación de ácidos grasos de cadena larga y como antioxidantes contra los ROS), razón por la cual se les dio ese nombre. En los últimos años su activación ha sido foco de investigación en los campos de la obesidad, desórdenes metabólicos, dislipidemias y diabetes tipo 2 (Tavares et al. 2007; Rull et al. 2014).

Se conoce que existen ligandos naturales (ácidos grasos) y sintéticos (fármacos) (Grygiel 2014). El mecanismo de activación por PPAR ocurre por la liberación del complejo co-represor (histona desacetilasa) y por el reclutamiento del complejo coactivador (actividad

acetiltransferasa); el complejo PPAR/RxR (receptor retinoide X) activado se une a los elementos que son sensibles a los proliferadores de peroxisomas, produciendo cambios en la estructura de la cromatina (Lehnen et al. 2015), lo que permite la activación de complejos transcripcionales que ejercerán la acción directa sobre el metabolismo energético (Grygiel 2014; Rigano et al. 2017).

Algunos de los mecanismos de los PPAR han sido revisados por Tavares et al. (2007) y Rull et al. (2014):

- Oxidación de ácidos grasos
- Mejora estadios de resistencia a la insulina
- Metabolismo de las lipoproteínas
- Inflamación
- Respuesta vascular y prevención del riesgo de aterosclerosis

Hasta el momento 3 isoformas, codificadas por distintos genes, han sido encontradas: PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ (Tavares et al. 2007; Janani y Kumari 2014; Lehnen et al. 2015). Las isoformas PPAR α y PPAR β están involucrados en el metabolismo lipídico y de la glucosa, mientras que PPAR γ está involucrado en la diferenciación de adipocitos (Tavares et al. 2007; Abduljabbar et al. 2015).

Las isoformas se expresan en diferentes tejidos (Grygiel 2014). Las expresiones de las 3 isoformas han sido descritas en la revisión de Rigano et al. (2017):

- PPAR α se expresa en músculo esquelético, hígado, corazón y riñones, y principalmente regula los genes relacionados con los lípidos y lipoproteínas.
- PPAR β/δ es expresado en casi todos los tejidos pero muy poco en el hígado, tiene función importante en el metabolismo lipídico sobre todo en el tejido adiposo, músculo esquelético y corazón.
- PPAR γ es expresado en el tejido adiposo, intestino largo y en células hematopoyéticas. Existen dos isoformas adicionales: PPAR γ 1 y PPAR γ 2. Tiene un papel importante en la regulación de adipogénesis, también desempeña un rol en el crecimiento celular, proliferación y progresión tumoral y por lo tanto suele estar asociado con ciertos tipos de cáncer a tal punto que su expresión puede ser usada

como pronóstico (Abduljabbar et al. 2015). En los adipocitos, el PPAR γ regula la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico, incluido el acil CoA sintetasa y la lipoprotein lipasa (Lehnen et al. 2015) y su activación está más relacionada con mejorar la resistencia a la insulina y actualmente en controlar la diabetes Tipo 2 (Janani y Kumari 2014).

Los ligandos naturales del PPAR α son los n-3 PUFA (Grygiel 2014). El PPAR α funciona como un sensor del estado nutricional y del balance energético, estimula la expresión de la lipoproteína lipasa, reduce los niveles de TG en los quilomicrones, incrementa el HDL, tiene un efecto anti inflamatorio a nivel del intestino y mejora la memoria por su acción a nivel de sistema nervioso central. Además, en investigaciones (Zhao et al. 2006) se ha reportado que la activación de PPAR α mejora la salud del endotelio, disminuyendo la probabilidad de desarrollar hipertensión. El PPAR α también aumenta los niveles de adiponectina, ayudando a pacientes con resistencia a la insulina y con diabetes (Hiuge et al. 2006). La activación de PPAR α ha sido la menos estudiada, pero se conoce que los ligandos naturales más conocidos, además de los PUFA, pueden ser: terpenos (compuestos de aceites esenciales), policétidos (metabolitos secundarios de bacterias, hongos y plantas), polifenoles, alcaloides (Rigano et al. 2017).

Se conoce que (Rigano et al. 2017) hay fármacos que se utilizan por ser activadores de las diferentes isoformas de PPAR, por ejemplo:

- Fibratos (fenofibrato, gemfibrozil) que activan PPAR α : para las implicancias negativas del síndrome metabólico.
- Tiazolidinedionas (rosiglitazona, pioglitazona) que activan PPAR γ : para la diabetes tipo 2.

Los últimos avances en farmacología han desarrollado agonistas duales, es decir, capaces de activar a la vez más de 1 isoforma, aprovechándose los beneficios que ofrece cada isoforma y la versatilidad del fármaco cuya función es específica (Grygiel 2014). Sin embargo, más atención están cobrando los agonistas naturales, estos deben cumplir funciones similares a los fármacos sin los problemas asociados a estos (Wang et al. 2014).

2.6. Investigación: Dietas para inducir estados metabólicos

Muchos de los mecanismos de la obesidad conocidos hoy en día fueron investigados en laboratorios empleando modelos animales en ratas y ratones, ya que precisamente son estos modelos los que imitan ciertos aspectos de la condición y causas de la obesidad, particularmente el exceso de ingesta calórica y el consumo de dietas desbalanceadas (Barret et al. 2016). Las enfermedades metabólicas de los humanos (obesidad, hígado graso no alcohólico y síndrome metabólico) pueden ser estudiadas en roedores con la ayuda de la genética y de la nutrición (Kakimoto y Kowaltowski 2016).

En la última década, las investigaciones en el campo de la obesidad han ido desde los modelos en roedores básicos hasta el entendimiento de la construcción de los circuitos neurales y su interacción con la ingesta de alimento y el balance energético; ahora las investigaciones estarán dadas por modelos alimenticios más realistas, mejor caracterización de los comportamientos alimenticios y aplicación de herramientas moleculares y genéticas para entender los complejos mecanismos e interconexión en el estudio de la obesidad con el fin de desarrollar beneficios terapéuticos en salud pública (Barret et al. 2016).

Los modelos animales (principalmente roedores) juegan un rol importante en el entendimiento de la obesidad, ya que se está trabajando con éxito a nivel genético y a nivel de influencia del medio ambiente (Barret et al. 2016). El tipo de dieta para inducir a un estado fisiológico en particular depende de que queremos conseguir, por ejemplo, algunas investigaciones utilizan fructuosa en dosis elevadas para inducir o desarrollar un estado parecido al de la diabetes tipo 2, caracterizada por resistencia a la insulina, síndrome metabólico y estrés oxidativo (Bagul et al. 2012).

Según la revisión de Kakimoto y Kowaltowski (2016), en estudios con dietas alta en grasa (HFD, por sus siglas en inglés), el 75% fueron ratas de la línea Wistar y el 25% restante Sprague-Dawley. A pesar de que los experimentos de dietas que inducen obesidad (DIO) se han venido desarrollando promisoriamente, aún se necesita más investigación para imitar mejor el comportamiento que tienen los humanos al consumir alimentos: preferencias de consumo, comidas “tipo”, origen del alimento y la motivación de comer en exceso (Barret et al. 2016). Es bastante frecuente que en modelos de inducción a obesidad solo se consideren cambios en la dieta como factor medio ambiental (Barret et al. 2016).

El estudio de García et al. (2016) sugiere que el consumo de HFD genera estados de obesidad a la vez que altera la función linfática y la expresión génica de células linfáticas endoteliales. A pesar de que existe una gran variabilidad con respecto al diseño de intervenciones dietéticas cuando se utilizan HFD, algunos hallazgos son reproducibles: existe esteatosis en mayor o menor grado y se promueve el desequilibrio oxidativo (Kakimoto y Kowaltowski 2016).

El modelo animal de suministrar una ingesta alta en calorías está relacionado con las señales a nivel neuroquímico, con énfasis en el balance energético (Barret et al. 2016). Tradicionalmente la regulación a nivel neural implica una alternancia entre las señales de hambre y saciedad que se originan en el tracto gastrointestinal y que activan los centros respectivos en el hipotálamo, es así que la ingesta y la utilización de la energía está regulada por poblaciones específicas de neuronas que están interconectadas y que expresan varios neuropéptidos diferentes (orexigénicos y anorexigénicos); además, los centros de saciedad también son afectados por el fotoperiodo (Johnstone et al. 2006).

En la investigación de Brown et al. (2015) se menciona que los roedores utilizados como modelos animales que han sido modificados genéticamente para el estudio de síndrome metabólico y obesidad son: ratones db/db, ratones ob/ob, ratas Zucker con predisposición a la diabetes, ratas Otsuka Long-Evans Tokushima y ratas Goto-Kakizaki. Según Barret et al. (2016), las drogas anti obesogénicas, principios bio-activos y estrategias nutricionales, son los temas de mayor investigación en los últimos años en cuanto a patologías relacionadas con la obesidad. El objetivo es trasladar los hallazgos encontrados en investigaciones realizadas con modelos animales al tratamiento contra la obesidad en humanos; por ello se recopiló información de la revisión de Barret et al. (2016) sobre los principales modelos utilizados para inducir obesidad:

- Modelos genéticos tradicionales de obesidad

Existen muchos genes que están relacionados con la obesidad de manera directa o indirecta a través del balance energético. Existen modelos de roedores modificados genéticamente para desarrollar obesidad (algunos por mutaciones naturales, otros por ayuda de la ingeniería genética). El hipotálamo es la región del cerebro que está envuelta en la regulación homeostática del metabolismo energético. Además, en menor grado, el hipocampo y las

amígdalas cumplen esta función. Los modelos que tienen como base los principios orexigénicos y anorexigénicos son importantes como marco de referencia, sin embargo, recientemente se viene cambiando el concepto de “modelos en roedores de obesidad” a “modelos en roedores para entender la obesidad”.

- Modelo de dietas que inducen obesidad (DIO)

Este tipo de modelo imita de una manera más precisa lo que ocurre en el organismo del humano cuando está sometido crónicamente a un exceso calórico. El modelo es simple: implica cambiar una dieta con relativamente baja densidad energética a una dieta con alta densidad energética; sin embargo, debido a la simplicidad del modelo muchas veces los resultados pueden ser inconsistentes e irreproducibles. Este modelo es comúnmente usado en los estudios de obesidad y sus numerosas comorbilidades (Smith et al. 2014).

- Dietas de cafetería

Este tipo de dietas trata de asemejarse a las dietas humanas actuales ya que se suministran alimentos con azúcares y saborizantes, dietas altas en grasas y azúcares a roedores. Los pioneros en esta línea de investigación fueron el equipo de investigación de Rothwell, quienes incrementaron la ingesta de energía a través de alimentos típicos seleccionados (Rothwell et al. 1982), posteriormente y hasta la fecha se siguen realizando modificaciones y agregando conocimiento a esta línea de investigación. Adaptaciones de este modelo fueron presentados por Ong et al. (2013) quienes alimentaron a ratas Wistar con alimentos procesados y snacks, el objetivo fue determinar los efectos de la ingesta crónica de una dieta de cafetería. Además, existen modelos que no solo se basan en los alimentos, sino que también se toma en cuenta a los nutrientes con potencial para inducir obesidad (grasas saturadas y agua con sucrosa) (la Fleur et al. 2014).

- Alimentación por comidas

Es un modelo que se caracteriza por el acceso libre a una única dieta alta en grasa y puede ser útil para probar agentes farmacológicos. Otra utilidad de este tipo de modelo se puede encontrar en el experimento realizado por Johnstone et al. (2006) en donde se examinó la activación del hipotálamo en ratas que fueron entrenadas para alimentarse solo en un periodo de tiempo de dos horas al día por dos semanas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución y duración

La investigación se realizó en el Laboratorio de Evaluación Biológica de Alimentos (LEBA) del Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria la Molina entre los meses de Febrero a Abril del 2017.

La parte experimental tuvo una duración de 60 días que se distribuyó de la siguiente manera:

- Día 0: Recepción de los animales para evaluación. Adaptación de 1 día (día 0).
- Periodo I del experimento: este periodo tuvo una duración de 30 días. A los animales se les asignó una dieta única: dieta obesogénica.
- Periodo II del experimento: en este periodo los tratamientos fueron asignados a los animales y tuvo una duración de 30 días, un tiempo cuya duración y efectividad es segura según investigaciones previas (Nazari et al., 2016).

3.2. Animales en evaluación

Se utilizaron 42 ratas Holtzman destetadas (45 días de edad) que en el Periodo I recibieron la misma dieta (obesogénica) y en el Periodo II se distribuyeron aleatoriamente en 6 tratamientos con 7 repeticiones por tratamiento.

Para validar el nivel de confianza del experimento en cuanto al número de repeticiones, se muestra el número de repeticiones (1 roedor como repetición) consideradas en investigaciones similares (**Anexo I**).

3.3. Instalaciones y equipos

Se utilizaron jaulas equipadas con comederos y bebederos individuales y con una bandeja individual para el retiro de las excretas. Las jaulas estuvieron en una habitación con temperatura ambiente y hubo renovación de aire constante con la ayuda de ventiladores y

extractores. Hubo un control manual de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las instalaciones contaron con espacios independientes para la estadía, manipulación de los animales y las mediciones necesarias para el correcto desarrollo de la investigación. Se limpió el ambiente diariamente y se realizaron limpiezas generales cada 5 días.

3.4. Alimentación

Periodo I: La alimentación fue controlada y se le suministró la misma cantidad de alimento a cada unidad experimental. Se utilizó la misma dieta para todos los animales. Esta dieta tuvo la característica de ser obesogénica, para lo cual se mezcló alimento comercial (85%) y manteca vegetal (15%). El contenido nutricional de las dietas se muestra en el **Cuadro 2**. Kakimoto y Kowaltowski (2016) recomiendan que se coloque el contenido nutricional de la dieta y además el detalle del sexo, edad y tiempo de estudio, ya que son factores que influyen directamente en el estudio.

Periodo II: Antes de iniciar este periodo se realizó una homogeneización de los animales para asegurar que las unidades experimentales fueran similares y que no exista diferencias, en promedio y en coeficiente de variación, entre los tratamientos. La alimentación fue controlada y se le suministró la misma cantidad de alimento a cada unidad experimental, y además se midió el residuo de alimento diariamente. Durante todos los días de este periodo (11:30 am), a los animales se les suministró los tratamientos de forma oral con la ayuda de una micropipeta (20 – 200 µl).

Cuadro 2. Composición nutricional de las dietas empleadas

Ingredientes	Dieta obesogénica (DO)	Dieta estándar (DE)
Proteína, %	14.45	17.00
Extracto etéreo, %	20.10	6.00
EM, Mcal/Kg	3.82	2.90
Fósforo total, %	0.31	0.37
Calcio, %	0.54	0.63

3.5. Tratamientos

Los tratamientos (T) de la presente investigación se asignaron a las unidades experimentales en el período II y fueron los siguientes:

- **T1:** Dieta estándar (DE)
- **T2:** Dieta obesogénica (DO)
- **T3:** DO + Ácido linoleico conjugado (CLA)
- **T4:** DO + Fibrato (F)
- **T5:** DO + Aceite de oliva (O)
- **T6:** DO + Aceite de pescado (AP)

Se determinó el peso promedio de todos los animales al fin del periodo I del experimento, y en base a este peso se calculó una dosis única (0.5 ml de aceite/Kg peso promedio. 42 µl de aceite/animal/día, esta dosis se aplicó al **T3**, **T5** y **T6**). La dosis de fibrato (**T4**) utilizada fue de 100 mg/Kg peso vivo/día. Para el suministro de los tratamientos a los animales se utilizó una micropipeta de 20-200 µl con una impresión de 0.12 µl (**Figura 4**).

Para las dosis de los tratamientos utilizados en la investigación se utilizó la metodología propuesta por Nazari et al. (2016), quienes reportaron un beneficio tras el uso de una dosis de 0.5 ml CLA/Kg de peso. Además, la inclusión de un fármaco comercial (fibrato) para comparar su efecto con alimentos naturales se basó en la investigación de Bagul et al. (2012) y la dosis fue elegida tras comparar antecedentes (El-Haleim et al. 2016; Zheng et al. 2017). Con respecto a los aceites, se utilizó una dosis (0.5 ml/Kg) tras una revisión de literatura previa (Lucero et al. 2017).



Figura 4. Modo de suplementación de los tratamientos

Cabe mencionar que cuatro semanas consumiendo una HFD o alguna dieta para inducir determinado estado metabólico son suficientes para perjudicar el metabolismo energético intracelular y llegar a conclusiones acerca de determinado tratamiento (Zhao et al. 2006; Benaicheta et al. 2016; Barbeau et al. 2017). Algunas investigaciones han utilizado 5 semanas (Chiu et al. 2017), 4 semanas (Belzung et al. 1993) e incluso se ha utilizado períodos de 3 semanas (Hassanali et al. 2010; Alsina et al. 2016) encontrándose diferencias significativas en cada caso.

3.6. Variables de respuesta evaluadas

a) Peso y consumo de alimento

- **Peso corporal y ganancia de peso**

Se tomó el peso de los animales el día de la recepción (día 0), el peso de los animales al inicio del periodo II (donde se homogenizaron los pesos para su distribución) y al fin del periodo II. La ganancia de peso se calculó por diferencia entre el peso al final y al inicio del periodo II.

- **Consumo de alimento**

El consumo de alimento se calculó de manera indirecta al pesar los residuos del comedero diariamente.

b) Bioquímica sanguínea

Para estos análisis fue necesario anestésiar a los animales (Dai et al. 2016), para lo cual se realizó el protocolo de anestesia general en base a Xilacina al 2% y Ketamina al 10%, aplicados en un solo bolo por vía intraperitoneal, a razón de 5 mg/Kg peso y 60 mg/Kg peso vivo respectivamente. El tiempo de acción del protocolo anestésico en ratas fue de 30 minutos aproximadamente (Kiessling et al. 2017).

- **Triglicéridos (TG) y lipoproteínas de alta densidad (HDL)**

Se evaluó el nivel de estos indicadores de bioquímica sanguínea a través de kits comerciales de medición, así como en la investigación de Ma et al. (2016). Los detalles de este kit comercial se muestran en el **Anexo II**.

- **Glucosa en sangre**

Se evaluó el nivel de glucosa en sangre a través de kits comerciales de medición, de la misma manera que hicieron Bagul et al. (2012). El detalle del kit comercial se muestra en el **Anexo III**.

- **Índice de aterogénesis modificado (IAm)**

Este índice señala la probabilidad de desarrollar un ataque cardiaco. Para el cálculo de esta variable se usó como referencia el índice utilizado por Ikewuchi e Ikewuchi (2009). Luego de hacer la modificación a la fórmula original en donde interviene el nivel de colesterol total, el IAm (al finalizar el periodo II) se calculó de la siguiente manera:

$$\text{IAm} = \frac{\text{TG} - \text{HDL}}{\text{HDL}}$$

c) **Biometría e índices corporales**

La evaluación de indicadores somáticos (peso corporal, longitud del animal y circunferencia del abdomen) puede ser considerada una técnica idónea en animales (roedores) de laboratorio por ser de fácil ejecución, bajo costo y por presentar altos valores de confiabilidad; recomendándose el uso de estas variables en estudios de crecimiento y para evaluar la posible relación con variables fisiológicas y bioquímicas (Cossio et al., 2010).

- **Longitud boca – ano**

Se midió con un vernier profesional la longitud de cada animal. Esta variable se evaluó con la finalidad de determinar el crecimiento del animal y su relación con el peso y con otras variables de índole biométrica.

- **Perímetro del cuello, del tórax y del abdomen**

Se midió con la ayuda de una cinta métrica el perímetro del cuello, del tórax y del abdomen. Esta serie de variables se evaluaron con la finalidad de verificar de manera indirecta si el animal, al consumir una dieta obesogénica con un respectivo tratamiento, logra incrementar o disminuir ciertas medidas.

- **Índice de Lee**

Este índice fue propuesto por Bernardis (1970) y es ampliamente utilizado (Medina et al. 2017) en investigaciones para determinar si las ratas, bajo ciertas condiciones, han alcanzado el estado conocido como obesidad. Este índice se calculó (Novelli et al. 2007) de la siguiente manera:

$$\text{Índice de Lee} = \sqrt[3]{\text{Peso fin periodo II} \div \text{Longitud boca ano fin periodo II}}$$

- **Índice de masa corporal adaptado (IMCa)**

En la investigación de Novelli et al. (2007) se demostró la efectividad de trabajar con esta variable ya que el IMCa estuvo asociado con el perfil de dislipidemias y estrés oxidativo, además de predecir las consecuencias negativas de la obesidad en ratas. El cálculo de este índice es similar al índice de masa corporal usado en humanos para conocer si es que un

determinado paciente está en su peso normal, si tiene sobrepeso o si presenta obesidad. El cálculo de este índice fue de la siguiente manera:

$$\text{IMCa} = \text{Peso fin periodo II} \div \sqrt{\text{longitud boca ano fin periodo II}}$$

d) Peso del tejido adiposo e hígado

La eutanasia fue realizada con una sobredosis de pentobarbital sódico (60mg/Kg), aplicado por vía intracardiaca posterior a la aplicación del protocolo anestésico utilizado de forma regular para las mediciones ya indicadas con anterioridad. Luego de la necropsia de los animales, se visualizó anatómicamente las diferentes localizaciones de las grasas de acuerdo con lo propuesto por Ma et al. (2016), quienes evaluaron 3 localizaciones del tejido adiposo: tejido adiposo de los intestinos, tejido adiposo perirenal y tejido adiposo testicular. En la presente investigación se pesó las siguientes localizaciones del tejido adiposo: grasa abdominal, grasa inguinal, grasa epididimal y grasa perirenal.

- **Peso del hígado**

Esta variable se evaluó debido a la funcionalidad que presenta el hígado y su relación con el metabolismo de las grasas y glúcidos. Se conoce que una acumulación ectópica de lípidos en este órgano (propio de un estado de obesidad) incrementa la resistencia a la insulina; además, la esteatosis hepática induce un estado de inflamación crónico que puede relacionarse con el peso de este órgano (Wang et al. 2017).

e) Expresión génica

Después de la eutanasia y necropsia se extrajo el hígado de cada animal y se separó 200mg de tejido. Una muestra adicional (contra-muestra) fue conservada en nitrógeno líquido de acuerdo con las recomendaciones de Bagul et al. (2012) y Mohammadi et al. (2014). De la cantidad separada de hígado se hicieron cortes en tiras, las cuales fueron colocadas en tubos de 15 ml a los que se le agregó el reactivo RNA later (Invitrogen) en una proporción 1:3 por un lapso de 24 horas a temperatura ambiente. Se decantó el exceso de reactivos y se guardaron los tubos a -20°C para su posterior análisis.

Para la extracción de ARN se siguió la metodología del reactivo Trizol (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*). Se hizo una verificación de cantidad y calidad de ARN por espectrofotometría (*NanodroOne*) y por electroforesis. Se verificó que muestren ratios entre 1.8 y 2.0 a una longitud de onda de 280/260, y de 1.8 a 2.0 a 260/230. Para la limpieza de posibles trazas de ADN que hubiesen quedado tras la extracción se utilizó un *kit* de limpieza (*TURBO DNA-free kit*) para luego volver a verificar la calidad de las muestras por espectrofotometría.

Luego se generó cDNA a partir de las muestras de ARN con el kit *High-capacity cDNA Reverse transcription* a fin de realizar el ensayo de expresión mediante PCR a tiempo real siguiendo las especificaciones del *kit* (*PowerUp™ SYBR® Green Master Mix*). La expresión del gen endógeno **CT-18S** fue utilizado para normalizar la expresión del gen de interés seleccionado, para lo cual se estandarizó los protocolos de PCR a una temperatura de melting de 60° para ambas PCR. Para asegurar la calidad de resultados se utilizó un control negativo en el que se sustituyó cDNA por una alícuota de agua.

Los datos de Cq arrojados por el termociclador fueron procesados por el programa bioinformático: REST 2009 (RelativeExpression Software Tool) de Qiagen. Este programa se basa en el método de cuantificación relativa de Pfaffl (Pfaffl et al. 2002), el cual normaliza los datos con el gen de referencia utilizando el valor de las eficiencias de cada gen. El gen de interés fue el **PPAR α** . Los primers están descritos en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Primers utilizados para la expresión génica del gen PPAR α

Genes	Forward	Reverse	Tamaño de fragmento
PPARα	5'-AATCCACGAAGCCTACCTGA-3'	5'-GTCTTCTCAGCCATGCACAA-3'	132
18S	5'-GGAGAGGGAGCCTGAGAAAC-3'	5'-CAATTACAGGGCCTCGAAAG-3'	128

3.7. Diseño estadístico

Se empleó el Diseño Completo al Azar con seis tratamientos y siete repeticiones. El análisis de varianza se realizó aplicando el procedimiento ANOVA del programa MINITAB y para la diferencia de medias se empleó la prueba LSD. En todos los casos se utilizó un nivel de

significancia de 0.05 para detectar diferencias significativas. El Modelo Aditivo Lineal General aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable respuesta; **U** = media general; **T_i** = i-ésimo tratamiento (i = 1, 2, 3, 4, 5, 6);

E_{ij} = error experimental.

Por otro lado, para el análisis estadístico de los resultados de expresión génica (qRT-PCR) se utilizó la Prueba de Dunnett para comparaciones múltiples como parte del ANOVA. Para confirmar la existencia de diferencias significativas se comparó las medias de todos los tratamientos contra el tratamiento control (**T2**), el cual a la vez se considera como un tratamiento. El programa estadístico usado fue el GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc.).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Periodo I:

Las variables evaluadas al finalizar el periodo I se muestran en el **Cuadro 4**. Al finalizar el primer período (inducción a obesidad) no se observó diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas. Este resultado fue totalmente esperado ya que no se incorporó ninguna fuente de variación, pero fue importante que se hayan evaluado las principales variables a este nivel para corroborar estadísticamente que no hubo un efecto del ambiente o del manejo en la conducción de los animales.

Periodo II:

Al finalizar el segundo periodo de la investigación, y tras la administración de los diferentes tratamientos, las variables de respuesta se agruparon por su naturaleza en:

4.1. Peso y consumo de alimento

Los datos de peso corporal, ganancia de peso y consumo diario de alimento se muestran en el **Cuadro 5**. Tras la administración de los tratamientos, no se encontró diferencias significativas en el peso corporal; sin embargo, sí hubo diferencia estadística en la ganancia de peso, en donde el tratamiento que recibió una dieta estándar tuvo la menor ganancia de peso, mientras que las mayores ganancias de peso se encontraron con el suministro del aceite de pescado y de oliva.

El tratamiento que recibió el CLA no mostró diferencias significativas ni en el peso ni en la ganancia de peso respecto al tratamiento control; datos similares se encontraron en la investigación de Nazari et al. (2016), quienes no observaron diferencias significativas en el peso corporal luego de 4 semanas de administración de CLA a una dosis de 0.5 ml/Kg peso en comparación con una dieta alta en grasa.

Cuadro 4. Variables registradas al finalizar el periodo de inducción a obesidad

Variables	Grupos*					
	1	2	3	4	5	6
Respuesta al incremento de peso						
Peso corporal, g	303.57	304.00	303.14	304.00	304.14	304.29
Ganancia de peso, g	112.57	120.43	111.14	120.00	122.57	112.29
Perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre						
Triglicéridos en sangre, mg/dL	67.00	63.40	67.00	64.40	60.83	63.20
HDL en sangre,	21.50	24.40	21.50	24.60	22.67	21.20
Glucosa en sangre,	89.33	78.71	88.14	91.33	83.00	81.33
Características biométricas e índices corporales						
Longitud boca ano, cm	19.73	20.10	19.75	19.77	19.68	19.47
Perímetro del cuello, cm	10.32	10.04	10.01	10.00	10.19	10.00
Perímetro del tórax, cm	13.57	13.14	13.40	13.65	13.54	13.38
Perímetro del abdomen, cm	14.30	14.14	14.63	13.92	14.40	14.67
Índice de Lee	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.35
Índice de masa corporal adaptado	0.77	0.75	0.78	0.79	0.78	0.81

* En todos los casos, al realizarse la prueba ANVA entre los grupos, el P-value fue mayor a 0.05 (Valores promedio de siete animales por grupo)

Cuadro 5. Peso y consumo de alimento tras la administración de los tratamientos

Variables	Tratamientos*					
	DE	DO	DO + CLA	DO + F	DO + AO	DO + AP
Peso corporal, g	361.57 ^a	370.57 ^a	369.29 ^a	365.29 ^a	385.43 ^a	386.83 ^a
Ganancia de peso, g	58.00 ^b	66.57 ^{ab}	66.14 ^{ab}	61.29 ^b	81.29 ^a	78.67 ^a
Consumo diario - alimento, g	17.62 ^a	15.63 ^a	15.73 ^a	16.55 ^a	16.36 ^a	15.88 ^a

^{a, b} Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra (P<0.05). * DE: dieta estándar, DO: dieta obesogénica, CLA: ácido linoleico conjugado, F: fenofibrato, AO: aceite de oliva, AP: aceite de pescado.

El fibrato demostró ser efectivo en disminuir la ganancia de peso, incluso obtuvo diferencias significativas con el aceite de pescado y el de oliva, y numéricamente fue similar al tratamiento con dieta estándar, lo que demuestra su potencial para la disminución de peso. En el ensayo de Boyle et al. (2017), cuando una mitocondria aislada proveniente de pacientes que fueron tratados con fenofibrato fue estimulada, la oxidación de ácidos grasos se vio incrementada aún después del tratamiento, lo que sugiere un posible efecto residual, o adaptación metabólica, a un tratamiento crónico con fenofibrato. En otro estudio reciente, Dai et al. (2016) también demostraron la eficacia del fenofibrato en reducir la acumulación de peso, encontrándose que los animales alimentados con una dieta alta en grasa (HFD, por sus siglas en inglés) más fenofibrato tuvieron pesos significativamente más bajos en comparación con una HFD.

El aceite de oliva, rico en ácido oleico, no demostró afectar significativamente el consumo de alimento entre los tratamientos; reportes similares se encontraron en la investigación de Poudyal et al. (2013). El tratamiento con aceite de pescado tuvo una ganancia de peso significativamente mayor en comparación con el grupo control. Estos resultados son contrarios a los del trabajo de Chiu et al. (2017) quienes reportaron que la suplementación con aceite de pescado suprime el peso corporal en ratas alimentadas con HFD; además, Lonzeiti et al. (2015) observaron que animales que consumieron una HFD con aceite de pescado lograron tener un menor peso corporal en comparación con una HFD con manteca, pero ninguna de las HFD logró tener un peso menor que las dietas estándares, y una dieta estándar con AP se comportó de manera muy similar a una dieta estándar tradicional. En este sentido, en la investigación de Ramos et al. (2016), tampoco encontraron diferencias significativas en las variables ganancia de peso y peso corporal cuando se comparó una dieta para inducir síndrome metabólico (HFD junto con aceite de pescado y antioxidantes extraídos de la uva con respecto al control (HFD).

Por otro lado, cuando se trabajó con dietas purificadas e isocalóricas (Hassanali et al. 2010), se demostró que solo un 5% n-3 PUFA (proveniente del aceite de pescado) logró disminuir el peso en comparación con su dieta control; además, otros aceites de origen marino que tienen DHA también son efectivos en reducir la ganancia de peso (Pedersen et al. 2014). En la investigación de Yu et al. (2017) se reportó que tratamientos HFD + DHA (proveniente de microalgas) disminuye significativamente la ganancia de peso en comparación con la misma HFD, pero el aceite de pescado no logra ese efecto, razón por la cual se puede sugerir

que no solo influye el ácido graso DHA, sino también la fuente. En el ámbito de nutrición pública, 21 estudios fueron revisados por Du et al. (2015), quienes en su meta-análisis concluyeron que el aceite de pescado no tiene efecto sobre la reducción de peso, pero sí disminuye el perímetro abdominal, factor importante en el desarrollo de síndrome metabólico.

El consumo diario de alimento tuvo una tendencia a ser significativo ($0.05 < P < 0.1$), encontrándose que la dieta estándar tuvo un mayor consumo de alimento en comparación con los demás tratamientos. Estos datos son refutados por el estudio de Lonzezzi et al. (2015), quienes encontraron que la variable consumo de alimento se comportó de manera similar entre los tratamientos que recibieron una HFD y una dieta estándar. Además, en la investigación de Hassanali et al. (2010) se reportó un menor consumo de alimento cuando ratones consumieron una dieta con 10% n-3 PUFA en comparación con una dieta de 5% n-3 PUFA utilizándose dietas purificadas e isocalóricas; esta tendencia también se observó en el estudio de Chiu et al. (2017), quienes encontraron que el consumo diario de alimento fue menor en un tratamiento que combinó una HFD con aceite de pescado con respecto a una dieta estándar.

4.2. Bioquímica sanguínea

Los resultados de los niveles de Triglicéridos en sangre (TG), lipoproteína de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés), glucosa en sangre y el índice de aterogénesis modificado se muestran en el **Cuadro 6**.

Cuadro 6. Perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre tras la administración de los tratamientos

Variables	Tratamientos*					
	DE	DO	DO + CLA	DO + Fibrato	DO + AO	DO + AP
Triglicéridos en sangre, mg/dL	64.00 ^a	51.17 ^a	59.43 ^a	58.57 ^a	61.86 ^a	51.33 ^a
HDL en sangre, mg/dL	28.71 ^a	24.33 ^{abc}	26.57 ^{ab}	18.00 ^c	21.00 ^{bc}	21.17 ^{bc}
Glucosa en sangre, mg/dL	102.29 ^a	113.71 ^a	114.29 ^a	103.29 ^a	118.14 ^a	109.00 ^a
Índice de aterogénesis modificado, u/u	1.27 ^c	1.26 ^c	1.31 ^c	2.40 ^a	2.17 ^{ab}	1.51 ^{bc}

^{a, b, c} Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra ($P < 0.05$). * DE: dieta estándar, DO: dieta obesogénica, CLA: ácido linoleico conjugado, F: fenofibrato, AO: aceite de oliva, AP: aceite de pescado.

Para el nivel de TG en sangre, se encontró una tendencia ($0.05 < P < 0.1$) que pone en desventaja a la dieta estándar frente a los demás tratamientos, incluso frente a la dieta que prosiguió con la dieta obesogénica en la segunda etapa del experimento, que indicaría que el efecto de la obesidad no se puede revertir solo con disminuir el nivel de energía de la dieta, sino que son necesarios factores adicionales. A pesar de lo contradictorio que puede parecer este resultado, en el estudio de Ramos et al. (2016) también se reporta una tendencia similar, encontrándose que, incluso una dieta alta en grasa y en azúcares, presentó menores niveles de triglicéridos en sangre; en este mismo estudio, se comprueba que el aceite de pescado no modifica los niveles de triglicéridos en sangre, pero los mantiene en un nivel similar al de una dieta estándar, a pesar de que los animales se encontraban bajo un régimen alimentario desfavorable.

El tratamiento que involucró al CLA no demostró ser efectivo en cuanto a disminuir los niveles de TG ni aumentar los de HDL, datos que concuerdan con la investigación de Kloss et al. (2005), en donde no se encontró diferencias significativas en consumo de alimento, ganancia de peso ni en concentraciones séricas de TG cuando se evaluó el efecto del CLA bajo dos condiciones diferentes: dieta con grasa saturada (aceite de coco) y dieta con grasa insaturada (aceite de maíz); sin embargo, también concluyen que la suplementación de CLA puede disminuir la adiposidad y mejorar el perfil lipídico bajo ciertas condiciones (Wendel et al. 2008).

Es importante indicar que el nivel de TG tiende a aumentar en animales alimentados con HFD en comparación con sus respectivos grupos de control en solo 30 días (Zhukova et al. 2014). En la investigación de Viggiano et al. (2016) se encontró diferencias significativas en el nivel de TG de una dieta HFD (con aceite de pescado) en comparación con otra dieta HFD (con manteca animal), estos resultados indican que los animales que recibieron la segunda HFD tuvieron un nivel de TG similar en comparación con los que recibieron la dieta estándar, resultados que demuestran que el aceite de pescado es más efectivo en reducir los problemas asociados a la obesidad cuando se sigue un programa alimentario favorable para la salud. También se ha demostrado (Hassanali et al. 2010) que roedores que consumieron dietas con una misma cantidad de energía variando solo el nivel de n-3 PUFA, los que recibieron un 5% n-3 PUFA redujeron sus niveles plasmáticos de TG; sin embargo, previamente se observó (Bjursell et al. 2014) que cuando se daba una HFD con PUFA (aceite rico en n-3) en comparación con una HFD con grasa saturada, se disminuía el nivel de TG.

Además, un aceite marino que contenía DHA también logró disminuir los niveles de TG en comparación con otra HFD (Pedersen et al. 2014); esto debido a que hay beneficios directamente atribuidos a los PUFA provenientes del aceite de pescado, como la producción de metabolitos antiinflamatorios específicos, que no son obtenidos en el metabolismo de PUFA provenientes de aceites vegetales (Dasilva et al. 2015).

El tratamiento con aceite de pescado no logró aumentar los niveles de HDL. Estos resultados que no concuerdan con el estudio de Xie et al. (2016), quienes en ratas con resistencia a la insulina que consumieron una dieta alta en grasas con la suplementación de aceite de pescado, se incrementó la síntesis de HDL. En general, se conoce que los ácidos grasos saturados inducen resistencia a la insulina e inflamación, mientras que los n-3 PUFA mejoran la resistencia a la insulina y los estados inflamatorios propios de la obesidad (Putti et al. 2016). A pesar de que los datos parecen ser contradictorios, se debe tener en cuenta que todos los aceites de pescado contienen EPA y DHA en cantidades que varían de acuerdo con la especie, esta proporción EPA/DHA varía de 0.22 a 1.25 y es importante conocer este detalle ya que la mayoría de los ensayos que se han llevado a cabo utilizan suplementos dietéticos derivados del aceite de pescado, pero con una proporción de EPA/DHA más elevada de la que comúnmente se encuentran en los peces pudiendo alterar los resultados y conclusiones en investigaciones similares alrededor del mundo (Taltavull et al. 2014; Marventano et al. 2015). Cocientes EPA/DHA de 1:1 y 2:1 dieron los mejores resultados en cuanto a disminuir las sustancias pro inflamatorias cuando se comparó con cocientes de 1:2, esto debido a que se sugiere una mayor capacidad antioxidante del EPA con respecto al DHA (Dasilva et al. 2015).

Añadiendo más información a este punto, en otro estudio (Molinar et al. 2015) se utilizaron, por primera vez, ratas obesas con hipertensión espontánea (SHROB) para evaluar el efecto de la suplementación de diferentes proporciones de EPA/DHA (1:1, 2:1 y 1:2) sobre indicadores de enfermedades cardiovasculares; en este estudio se concluyó que las relaciones EPA/DHA 1:1 y 2:1 parecen tener efectos positivos más marcados en comparación con las relaciones EPA/DHA 1:2, esto por los diferentes efectos del EPA y del DHA sobre las rutas metabólicas y la expresión de ciertos genes, particularmente los relacionados con la activación enzimática y los envueltos en el metabolismo lipídico. Así mismo, Taltavull et al. (2014) demostraron que la relación EPA:DHA de 1:1 mejoró significativamente la densidad y el pliegue de las capas elásticas de la aorta abdominal así como variables referidas a

inflamación, por lo que concluyen que esta relación es la ideal para reducir el daño a nivel histológico del sistema cardiovascular en ratas obesas, por lo que podría existir una dosis específica de acuerdo a cada objetivo en particular. En el presente estudio, se analizó el contenido de EPA (10.753 g/100g) y DHA (24.413 g/100g) del aceite de pescado utilizado, la relación EPA/DHA fue de 0.44, una relación que se asemeja a la proporción 1:2, y es este detalle el que podría explicar por qué el aceite de pescado no logró incrementar los niveles de HDL en comparación con los demás tratamientos. En base a esta discusión, es necesario conocer los procesos nutricionales metabólicos implicados en el riesgo y la prevención de ciertas enfermedades, lo que podría permitir el desarrollo de mejores diagnósticos y oportunidades terapéuticas de gran impacto a nivel de salud pública (Caputo et al. 2010).

El nivel de HDL en la DO fue menor en comparación con la DE, este resultado fue totalmente esperado y coincide con el estudio de Medina et al. (2017), quienes evaluaron una HFD con una dieta estándar y se encontró que el tratamiento con HFD tuvo un nivel numéricamente menor de HDL; así mismo, este resultado también se comprobó en el ensayo de Sishi et al. (2010) quienes alimentaron a ratas Wistar por 16 semanas con una HFD y este tratamiento obtuvo niveles menores de HDL y mayores niveles de TG en comparación con un grupo control. Además, el nivel de HDL se ve disminuido en ratas Wistar alimentadas con una HFD en comparación con un grupo control a los 30 días de la experimentación (Zhukova et al. 2014). Finalmente, también se conoce que incluso con dietas de igual contenido energético (Hassanali et al. 2010), el nivel de HDL fue el mismo entre una dieta estándar y dietas con 5 y 10% de n-3 PUFA (proveniente del aceite de pescado); por lo que, el modificar los niveles de HDL tiene un origen multifactorial y no necesariamente mejora cuando se consumen ácidos grasos esenciales.

El nivel de glucosa en sangre no mostró diferencias significativas y sus valores numéricos parecen estar bien cercanos, hecho que concuerda con la baja respuesta insulínica por acción de las grasas, y razón por la que se recomienda que el nivel de grasas en una dieta saludable represente entre el 30 y 35 por ciento de la energía total consumida. Sin embargo, en otros estudios (Viggiano et al. 2016) se encontró que dos HFD (una con manteca y otra con aceite de pescado) aumentaron significativamente los niveles de glucosa en sangre; por otro lado, cuando se trabaja con dietas purificadas e isocalóricas (Hassanali et al. 2010), un nivel de 10% de n-3 PUFA en la dieta es eficaz reduciendo el nivel de glucosa en comparación con su respectiva dieta control. En el estudio de Benaicheta et al. (2016) se concluye que ratas

diabéticas alimentadas con una HFD agravan la resistencia a la insulina pero que la administración de proteína proveniente de sardina, ejerce un efecto positivo en cuanto a mejorar los parámetros de glucemia, colesterol y TG; de esta manera se comprueba que no solo la ingesta de aceite de pescado es recomendable para aminorar los efectos negativos del síndrome metabólico, sino también directamente la proteína de origen marino.

A pesar que no se encontró diferencias en el nivel de glucosa en sangre, se conoce desde hace mucho tiempo los beneficios del aceite de pescado sobre la mejora de la resistencia a la insulina por Storlien et al. (1987), quienes reemplazaron un 6 por ciento de n-6 PUFA por aceite de pescado obteniéndose un efecto benéfico pronunciado sobre el hígado y el músculo esquelético en cuanto a mejora en la oferta y demanda del metabolismo de la glucosa, por lo que se concluyó que el aceite de pescado puede usarse en la alimentación como una terapia para la prevención de diabetes mellitus causada por una prolongada resistencia a la insulina. En el estudio de (Sishi et al. 2010) tampoco se encontraron diferencias significativas en el nivel de glucosa; sin embargo, tras 16 semanas que duró el tratamiento, numéricamente se obtuvo un nivel de glucosa mayor en comparación con un grupo control. Además, hay que considerar que los radicales libres son generados por la oxidación de glucosa (estrés oxidativo), pero el problema ocurre cuando este estado se amplifica, en donde se genera un estrés metabólico, daños a los tejidos y muerte celular (Bagul et al. 2012). Además, se conoce que los PUFA ingeridos son susceptibles a la oxidación por parte de los ROS (Dannenberger et al. 2013).

Con respecto al aceite de oliva, este aceite no demostró afectar el nivel de glucosa, y este dato ya se reportó en la investigación de Poudyal et al. (2013), quienes tampoco encontraron diferencia en el nivel de glucosa, pero sí en el nivel de triglicéridos cuando probaron diferentes aceites (MUFA y PUFA), inclinando la balanza hacia el uso de n-3 PUFA. Lucero et al. (2017) también recomendaron el uso de n-3 antes que n-9 PUFA cuando se usó un modelo alimenticio no favorable (dieta alta en sucrosa), ya que este ácido graso en particular mostró efectos favorables a nivel de metabolismo.

El índice de aterogénesis mostró diferencias significativas y el tratamiento que involucró al fibrato y al aceite de oliva fueron los que tuvieron un índice significativamente mayor, por lo que se puede suponer que el uso de estos tratamientos cuando el entorno alimentario es desfavorable agrava más la situación. El fibrato es un fármaco utilizado comúnmente para

controlar el exceso de peso, y como se vio anteriormente sí logró reducir significativamente la ganancia de peso; sin embargo, al aumentar el índice de aterogénesis, su inclusión en salud humana debe ser revisada estrictamente por un profesional de la salud. A pesar de los datos encontrados en el presente estudio, en la investigación de Dai et al. (2016) el fenofibrato sí logró reducir los niveles de TG y aumentar el nivel de HDL, pero a una dosis 3 veces menor que la utilizada en la presente investigación (30 mg F día/Kg peso vivo). En términos generales, por más que existan fármacos aprobados bajo los más altos estándares de calidad e inocuidad internacionales, siempre existe el riesgo de que se presenten complicaciones en la salud, por lo que, si existe un producto natural con el mismo mecanismo de acción, sería preferible su uso acompañado de hábitos saludables y actividad física (Trigueros et al. 2013).

La importancia de la evaluación de estas variables es que el metabolismo lipídico es la principal causa de dislipidemia, que es uno de los factores de riesgo más importantes que predisponen las enfermedades cardiovasculares (Rizvi et al. 2003). Se debe saber también que recientemente (Barbeau et al. 2017) se ha comprobado que la actividad física tiene un efecto beneficioso sinérgico con el ácido linolénico en cuanto a mejorar las variables relacionadas con una alta probabilidad de presentar accidentes cardiovasculares y que las rutas metabólicas mediadas por la inflamación y por el estrés tienen un rol importante en la patogénesis de la obesidad (Sishi et al. 2010). Además, hace poco El-Haleim et al. (2016) concluyeron que hay una mejora en el perfil lipídico cuando se usa la mitad de la dosis de fenofibrato junto a un antioxidante natural (resveratrol), lo que indicaría que buscando otros productos naturales se podría llegar a prescindir de la farmacología, o al menos evitar que los pacientes tomen gran número de pastillas al día (poli-farmacia). Finalmente, es importante señalar que en la revisión presentada por Harris y Bulchandani (2006) se concluye que una ingesta de 3-4 gramos/día de n-3 PUFA (aproximadamente 1.2% del total de energía) claramente logra reducir el nivel de TG en humanos.

4.3. Biometría e índices corporales

Se evaluaron también variables relacionadas con la biometría y a partir de estos valores, se calcularon algunos índices de interés y reportados previamente como variables de estudio en esta línea de investigación. Ninguna de las variables de este rubro logró detectar diferencias significativas, por lo que se puede decir que no hubo efecto directo de los tratamientos sobre la biometría corporal (**Cuadro 7**).

El índice de Lee medido en esta etapa dio notar que no hay una reducción en cuanto al estado de obesidad que se encontró cuando se finalizó el periodo I de este experimento. Al parecer, el índice de Lee es un parámetro que se utiliza en las investigaciones solo para determinar estados de obesidad, pero no es una variable de la cual se pueda sacar conclusiones. El estudio de Medina et al. (2017) no encontró diferencias significativas entre una HFD y una dieta estándar cuando se calculó el índice de Lee. Sin embargo, al parecer la obesidad puede inducir cambios a nivel molecular en el músculo y promover apoptosis y atrofia del músculo (Sishi et al. 2010).

La longitud boca-año no tuvo diferencias significativas, y sus valores numéricos fueron bastante similares; estos datos son corroborados por el estudio de Alsina et al. (2016), en el que se encontró que la longitud del cuerpo no fue estadísticamente significativa cuando se comparó un tratamiento que recibió la suplementación de aceite de oliva con su respectivo grupo control.

Cuadro 7. Características biométricas e índices corporales tras la administración de los tratamientos

Variables	Tratamientos*					
	DE	DO	DO + CLA	DO + Fibrato	DO + AO	DO + AP
Longitud boca-año, cm	20.45	20.62	20.41	20.59	20.60	20.31
Perímetro del cuello, cm	11.04	10.83	11.23	10.69	10.99	11.15
Perímetro del tórax, cm	14.20	13.81	14.54	13.79	14.17	14.47
Perímetro del abdomen, cm	15.76	15.27	15.60	15.23	15.44	15.47
Índice de Lee	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36
Índice de masa corporal adaptado	0.87	0.87	0.89	0.86	0.91	0.94

* En todos los casos, al realizarse la prueba ANVA entre los tratamientos, el P-value fue mayor a 0.05 (DE: dieta estándar, DO: dieta obesogénica, CLA: ácido linoleico conjugado, F: fenofibrato, AO: aceite de oliva, AP: aceite de pescado).

4.4. Peso del tejido adiposo e hígado

La grasa inguinal y la grasa total mostraron diferencias significativas; así mismo, hubo una tendencia ($0.05 < P < 0.1$) para la grasa epididimal y la perirenal. El aceite de oliva presentó mayor cantidad de grasas inguinal, epididimal, perirenal y total (**Cuadro 8**). La dieta estándar tuvo el menor valor de grasa total, lo que es un indicativo de que cuando se suspende

una dieta hipercalórica y desbalanceada, y se pasa a una dieta convencional, hay una disminución de grasa total. Estos hallazgos son compatibles con los datos obtenidos por Ramos et al. (2016), quienes encontraron diferencias significativas en el porcentaje de tejido adiposo entre una dieta estándar y una dieta de inducción a síndrome metabólico, mas no entre estas dietas con sus respectivos tratamientos (aceite de pescado y antioxidantes extraídos de la uva). También se encontraron resultados similares en el estudio de Yu et al. (2017), quienes encontraron más grasa inguinal y mesentérica en una HFD (60% Kcal proveniente de la grasa) en comparación con una dieta estándar, pero los tratamientos con aceite de pescado y fuentes de DHA disminuyeron significativamente la grasa inguinal. Además, en un estudio de comportamiento de las ratas cuando se sometieron a diferentes agentes estresores, se comprobó que una HFD incrementa los niveles de grasa corporal en comparación con una dieta estándar (Oliveira et al. 2015) y que el tipo de cadena n-3 PUFA influye en el metabolismo energético y puede reducir la inflamación en los estados de obesidad (Pedersen et al. 2014). Un resultado similiar al encontrado en la presente investigación se reportó en la investigación de Lonzetti et al. (2015), quienes también reportaron el hecho de que, a pesar de la ingesta de PUFA cuyo origen fue el aceite de pescado, la grasa a nivel de epidídimo fue mayor con una HFD en comparación con una dieta estándar.

El CLA, en comparación con el aceite de pescado y el aceite de oliva, mostró un mayor efecto en cuanto a la reducción del tejido adiposo, efecto que también fue encontrado en la investigación de Wendel et al. (2008), quienes observaron diferencias significativas en el peso de tejido adiposo a nivel de epidídimo cuando compararon una dieta con CLA y una dieta control en ratones modificados genéticamente para no producir leptina (CLA: 1.71 g, control: 2.96 g); así, cuando los ratones recibieron una dosis de leptina recombinante de 1mg

Cuadro 8. Peso del tejido adiposo e hígado tras la administración de los tratamientos

Variables	Tratamientos*					
	DE	DO	DO + CLA	DO + F	DO + AO	DO + AP
Grasa abdominal, g	1.27 ^a	1.58 ^a	1.57 ^a	1.37 ^a	1.41 ^a	1.60 ^a
Grasa inguinal, g	5.84 ^b	5.75 ^b	7.09 ^b	6.32 ^b	9.11 ^a	7.36 ^{ab}
Grasa epididimal, g	4.69 ^a	6.27 ^a	6.20 ^a	5.54 ^a	6.87 ^a	7.22 ^a
Grasa perirenal, g	1.13 ^a	1.26 ^a	1.49 ^a	1.37 ^a	1.80 ^a	1.32 ^a
Grasa total, g	12.94 ^c	14.85 ^{ab}	16.35 ^{ab}	14.60 ^{bc}	19.19 ^a	17.50 ^{ab}
Peso hígado, g	14.28 ^b	13.92 ^b	13.60 ^b	22.64 ^a	13.18 ^b	15.21 ^b

^{a, b, c} Promedios significativamente diferentes no comparten la misma letra (P<0.05). * DE: dieta estándar, DO: dieta obesogénica, CLA: ácido linoleico conjugado, F: fenofibrato, AO: aceite de oliva, AP: aceite de pescado.

por Kg peso, los que recibieron el tratamiento con CLA tuvieron menor peso de tejido adiposo epididimal en comparación con el grupo control lo que sugiere el efecto del CLA sobre la pérdida de masa grasa. También se conoce que el CLA incrementa la concentración y actividad de la CPT-1 y reduce la actividad de la enzima CAT-1, por lo que es lógico suponer que el efecto benéfico de la suplementación con CLA solo tendría un efecto potencial en sujetos físicamente activos (Lehnen et al. 2015). Cooper et al. (2008) mencionan que puede haber efectos negativos asociados al isómero 10-trans, 12-cis, el cual provoca cambios adversos en la función de los adipocitos y en el metabolismo lipídico a nivel del hígado, afirmación que es corroborada con la revisión de Lehnen et al. (2015). En humanos, el CLA reduce el contenido de grasa corporal, pero a una dosis mayor de 3.4 gramos CLA/persona/día (Blankson et al. 2000).

El fibrato parece tener mejor efecto sobre el nivel de grasa total, así como de sus distintas distribuciones anatómicas, en comparación con los PUFA. Este hallazgo concuerda con lo planteado por Boyle et al. (2017), quienes investigaron la inflexibilidad metabólica en humanos obesos y demostraron la capacidad del fenofibrato para aumentar la oxidación de ácidos grasos en músculo esquelético, que tiene relación directa con el estrés oxidativo, que es un estado que se caracteriza por un desbalance entre las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la habilidad biológica para eliminar estos compuestos altamente perjudiciales para la salud (Dannenberger et al. 2013).

El aceite de pescado incrementó los niveles de grasa total en comparación con su grupo control (DO), lo que concuerda con el experimento de Belzung et al. (1993), quienes examinaron la influencia de los n-3 PUFA (dieta alta en grasa más una dosis de aceite de pescado: alta, media, baja; la dieta control no fue alta en grasa) sobre el crecimiento del tejido adiposo en diferentes localizaciones anatómicas (subcutánea, mesentérica, del peritoneo y epididimal), encontrándose que los 3 tratamientos tuvieron mayor cantidad de tejido adiposo total en comparación con el grupo control y que la ganancia de masa grasa en el epidídimo fue debido solo a la hipertrofia de los adipocitos, mientras que la grasa peritoneal fue mayor tanto por hipertrofia como por hiperplasia, y solo la grasa del peritoneo y epididimal fue menor en la dieta alta en grasa suplementada con una dosis alta de aceite de pescado. Además, en la investigación de Ruzickova et al. (2004) los n-3 PUFA de origen marino redujeron el tejido adiposo en ratones C57BL/6J alimentados con dietas alta en grasas; resultados similares fueron encontrados recientemente por Chiu et al. (2017), quienes reportaron que hubo una disminución de tejido adiposo cuando se suministró aceite de pescado junto con una HFD en comparación con la misma HFD. El EPA y el DHA pueden reducir la acumulación de masa grasa bajo las dos condiciones conocidas: hipertrofia e hiperplasia y para ello es necesario conocer la relación entre EPA:DHA ya que cada forma química ejerce distintas funciones a nivel de metabolismo (Dasilva et al. 2016).

El tratamiento con aceite de oliva incrementó el tejido adiposo en comparación con el tratamiento control (DO) y fue el mayor de todos los tratamientos evaluados, lo que concuerda con el estudio de Poudyal et al. (2013) quienes reportaron que el ácido oleico incrementó el nivel de tejido adiposo en comparación con una dieta alta en grasa. Así mismo, Poudyal et al. (2013) encontraron que, incluso el tratamiento suplementado con ácido linolénico, superó la cantidad de tejido adiposo en comparación con su dieta control (HFD), lo que señala que los PUFA son totalmente efectivos cuando las condiciones alimentarias son favorables, pero que su acción en el metabolismo se ve disminuida cuando existe de por medio un factor alimentario negativo.

Con respecto al peso del hígado, se encontró diferencias significativas, viéndose que el fibrato incrementa considerablemente el peso del hígado. En el trabajo realizado por Yu et al. (2017), se reportó que el ácido graso DHA proveniente del aceite de pescado y de microalgas tuvo un efecto en la variable peso del hígado, y se encontró un peso mayor en HFD en comparación con una dieta estándar; sin embargo, el tratamiento HFD + aceite de

microalga (73.4% DHA) logró disminuir el peso del hígado y fue similar al encontrado tras la ingesta de una dieta estándar. Por otro lado, en la investigación de Chiu et al. (2017) se reportó que no hubo diferencia en el peso del hígado cuando se suplementó aceite de pescado junto a una HFD en comparación a esa misma HFD; en este sentido, tampoco se encontraron diferencias en la variable peso del hígado cuando se utilizó una dieta alta en sucrosa con la suplementación de AP en comparación con la misma dieta alta en sucrosa (Lucero et al. 2017).

La variable peso del hígado puede estar vinculada a dos patologías: hígado graso no alcohólico y esteatosis hepática (El-Haleim et al. 2016), que son parte importante del origen del síndrome metabólico (Rull et al. 2014) y existe mayor probabilidad de que se desarrolle algún tipo de neoplasia; además, se ha demostrado que el perfil de los ácidos grasos en el organismo mediado por diferentes PUFA puede influir en el metabolismo del hígado (Matsuda et al. 2016), indicadores que pueden ser usados en investigaciones a un nivel más profundo. Es bien conocido que el estrés en el retículo endoplasmático causa resistencia a la insulina a nivel del hígado ya que se incrementa la lipogénesis y se interfiere con las señales de la insulina (Stanley et al. 2013). Un ensayo más antiguo (Rahman et al. 2009) indicó que el fenofibrato está involucrado directamente en la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico en el hígado mejorando las características de la esteatosis hepática, por lo que se supone que la dosis de ingesta diaria debe ser efectiva en combatir los problemas vinculados al sobrepeso, sin que afecte negativamente el metabolismo en el hígado.

4.5. Expresión génica

Los resultados de expresión génica se muestran en el **Cuadro 9**. En la presente investigación el tratamiento con aceite de pescado tuvo la mayor expresión relativa del gen PPAR α evaluado en tejido hepático y tuvo una tendencia ($0.05 < P < 0.1$) a ser mayor en comparación con la dieta estándar y con el aceite de oliva. Se conoce que el aceite de pescado favorece el metabolismo lipídico en el hígado principalmente por ser ligando del gen de PPAR α (Chiu et al. 2017); además, se ha comprobado que el aceite de pescado activa las 3 isoformas de los PPAR (Lonzetti et al. 2015).

Se conoce que el consumo de diferentes tipos de lípidos tiene un efecto variable sobre el uso de la energía en mamíferos (Kakimoto y Kowaltowski 2016), esto debido a la regulación a

nivel de control transcripcional en genes como el PPAR α y de enzimas encargadas del metabolismo de ácidos grasos en el tejido hepático (Harris y Bulchandani 2006), debido a que un consumo crónico de una fuente de grasa en particular puede cambiar la morfología y fisiología de la mitocondria (Putti et al. 2016). Es conocido que el PPAR α es un buen candidato para evaluar en intervenciones cuyo objetivo es incrementar la oxidación de grasas ya que su expresión está relacionada con la flexibilidad metabólica y el aumento del gasto energético (Boyle et al. 2017).

Cuadro 9. Expresión relativa del gen PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos

Variables	Tratamientos*					
	DE	DO	DO + CLA	DO + F	DO + AO	DO + AP
Expresión relativa entre los genes PPAR α /18s, u/u	0.24	1.00	1.02	1.05	0.68	2.04

* En todos los casos, al realizarse la prueba ANVA entre los tratamientos, el P-value fue mayor a 0.05. Los promedios fueron obtenidos con 3 réplicas biológicas (3 animales) (DE: dieta estándar, DO: dieta obesogénica, CLA: ácido linoleico conjugado, F: fenofibrato, AO: aceite de oliva, AP: aceite de pescado).

Recientemente, Montanari et al. (2017) pone de manifiesto que, a través de la alimentación, los preadipocitos del tejido adiposo blanco pueden convertirse en adipocitos marrones (adipocitos característicos de la grasa parda) debido a una alteración del metabolismo generado por mayor expresión de los genes UCP-1 y PPAR. White et al. (2015) evaluaron la administración de n-3 PUFA y su relación con la morfología y función del tejido adiposo en ratones obesos modificados genéticamente, concluyendo que este tipo de ácidos grasos pueden coordinar la expresión génica para disminuir los efectos negativos relacionados con la obesidad, un rol que va más allá de la pérdida de peso.

En el presente estudio, el tratamiento que recibió CLA también demostró tener una alta expresión relativa del gen PPAR α . El efecto del CLA en cuanto al metabolismo energético está mediado por la activación o inactivación del gen PPAR (Lehnen et al. 2015). El CLA interactúa con el co-activador de PPAR (presente en el núcleo) y a continuación ocurre un aumento de la transcripción de genes relacionados con la diferenciación de adipocitos, lipólisis (β -oxidación), biogénesis mitocondrial y la sensibilidad a la insulina (Abduljabbar et al. 2015).

Bajo las condiciones en que se realizó la prueba, el uso de fenofibrato también logró incrementar la expresión del gen PPAR α . El fenofibrato actúa como un modulador del peso corporal mediado por la acción del PPAR α y el rol que cumple el hígado es fundamental en la disipación de energía (Mancini et al. 2001). El fenofibrato puede ser usado como tratamiento para la hipercolesterolemia y dislipidemias y parte de su mecanismo se explica porque activa al PPAR α (Haile y Kosten 2017). El fenofibrato afecta el metabolismo lipídico y el balance energético, pero también se debe conocer que afecta de una manera distinta de acuerdo con múltiples factores como el sexo, la actividad física y la línea genética, y todo bajo la activación de genes en el hígado, dentro de ellos el PPAR α (Jeong et al. 2004). Los datos de la investigación de Boyle et al. (2017) muestran la habilidad del organismo de incrementar la oxidación de grasas bajo la exposición a una dieta rica en grasas y que el efecto del fenofibrato es de acción rápida y transitoria, por lo que el efecto del fenofibrato actúa a nivel de PPAR α y a nivel de activación metabólica (proteína quinasa dependiente de AMP).

A pesar de que se conocen los efectos benéficos del consumo de PUFA n-3, los mecanismos aún no son claros (Xie et al. 2016). Aún se desconoce el mecanismo específico de como los n-3 PUFA pueden alterar la expresión de genes en el hígado (Wang et al. 2017). Al respecto, Yu et al. (2017) concluyen que aún falta más investigación para entender mejor el mecanismo por el cual el DHA y la fuente de este ácido graso influye en el metabolismo energético y por lo tanto se podrán pensar en mejores estrategias a favor de contribuir con la actual epidemia mundial de la patología conocida como obesidad.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo la investigación se concluye:

- El peso corporal, consumo de alimento y las características biométricas no fueron afectadas significativamente por los tratamientos mientras que la ganancia de peso sí fue afectada significativamente, encontrándose que el aceite de oliva presentó la mayor ganancia de peso y con el fibrato se obtuvieron los menores valores.
- Los niveles de triglicéridos y de glucosa en sangre no fueron afectados significativamente por los tratamientos mientras que el nivel de HDL sí fue afectado significativamente, encontrándose que la dieta estándar tuvo el mayor valor numérico seguido por el tratamiento con CLA; además, el índice de aterogénesis también resultó significativo en donde el fibrato tuvo el valor mayor y el CLA tuvo el menor valor con respecto a la dieta obesogénica control.
- El peso de la grasa abdominal, inguinal y total fue significativo encontrándose que el mayor valor numérico para la grasa total se obtuvo con el aceite de oliva y el menor valor se obtuvo con el fibrato con respecto a la dieta obesogénica control; además, se encontró diferencias significativas en el peso del hígado en donde el fibrato tuvo el mayor valor numérico en comparación con todos los tratamientos.
- No se encontró diferencias significativas en la expresión relativa de PPAR α en tejido hepático, pero el mayor valor numérico fue para el aceite de pescado y el menor valor de expresión se obtuvo con el aceite de oliva, en ambos casos comparados con la dieta obesogénica control.

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se recomienda:

- Evaluar el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados sobre la expresión génica relativa de genes relacionados con el sobrepeso para tener un panorama más amplio de su mecanismo de acción.
- Utilizar otras fuentes de ácidos grasos poliinsaturados así como ácidos grasos saturados para evaluar el efecto de los ácidos grasos como nutrientes encargados de activar genes vinculados con el control del sobrepeso.
- Se debe tener en cuenta variables de perfil lipídico, peso del tejido adiposo en diferentes y peso de órganos para tener un contexto más amplio sobre los complejos mecanismos vinculados con la obesidad.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULJABBAR, R.; AL-KAABI, M. M.; NEGM, O. H.; JERJEES, D.; MUFTAH, A. A.; MUKHERJEE, A.; LAI, C.; BULUWELA, L.; ALI, S.; TIGHE, P.; GREEN, A.; ELLIS, I.; RAKHA, E. 2015. Prognostic and biological significance of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in luminal breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 150(3): 511-522.

ABETE, I.; GOYENCHEA, E.; ZULET, M. A.; MARTÍNEZ, J. A. 2011. Obesity and metabolic syndrome: Potential benefit from specific nutritional components. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 21: B1-B15.

AL, B.; MAHMOUD, O.; SALEM, N. 2016. Therapeutic potential of omega-3 against sodium fluoride toxicity on the cerebellar cortex of adult male albino rats: histological and immunohistochemical study. *The Egyptian Journal of Histology*. DOI: 10.1097/01.EHX.0000490005.171834f.

ALSINA, E.; MACRI, E.; LIFSHITZ, F.; BOZZINI, C.; RODRIGUEZ, P.; BOYER, P.; FRIEDMAN, S. 2016. Efficacy of phytosterols and fish-oil supplemented high-oleic-sunflower oil rich diets in hypercholesterolemic growing rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2016.1161010>.

ARANCETA, J.; PÉREZ, C. 2012. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review. *British Journal of Nutrition* 107: S8-S22.

BAGUL, P.; MIDDELA, H.; MATAPALLY, S.; PADIYA, R.; BASTIA, T.; MADHUSUDANA, K.; REDDY, B.; CHAKRAVARTY, S.; BANERJEE, S. 2012. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacological Research* 66: 260-268.

BARBEAU, P.; HOLLOWAY, T.; WHITFIELD, J.; BAECHLER, B.; QUADRILATERO, J.; VAN LOON, L.; CHABOWSKI, A.; HOLLOWAY, G. 2017. α -Linolenic acid and exercise training independently, and additively, decrease blood pressure and prevent diastolic dysfunction in obese Zucker rats. *The journal of physiology* 595(13): 4351-4364. DOI 10.1113/JP274036.

BARRET, P.; MERCER, J. G.; MORGAN, P. J. 2016. Preclinical models for obesity research. *Disease models & Mechanisms* 9: 1245-1255.

BELZUNG, F.; RACLOT, T.; GROSCOLAS, R. 1993. Fish Oil n-3 fatty acids selectively limit the hypertrophy of abdominal fat depots in growing rats fed high-fat diets. *Am. J. Physiol.* 264: R1111-8.

BENAICHETA, N.; LABBACI, F.; BOUCHENAK, M.; BOUKORTT, F. 2016. Effect of sardine proteins on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and lecithin: cholesterol acyltransferase activity, in high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. *British Journal of Nutrition* 115: 6-13.

BENDER, N.; PORTMANN, M.; HEG, Z.; HOFMANN, K.; ZWAHLEN, M.; EGGER, M. 2014. Fish or n3-PUFA intake and body composition: a systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews*. doi: 10.1111/obr.12189.

BERNARDINI, E.; VISIOLI, F. 2017. High quality, good health: The case for olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 119, DOI: 10.1002/ejlt.201500505.

BERNARDIS, L. L. 1970. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's nutritive ratio in rats with hypothalamic obesity. *Experientia* 26: 789-90.

BJURSELL, M.; XU, X.; ADMYRE, T.; BÖTTCHER, G.; LUNDIN, S.; NILSSON, R.; STONE, V.; MORGAN, N.; LAM, Y.; STORLIEN, L.; LINDÉN, D.; SMITH, D.; BOHLOOLY-Y, M.; OSCARSSON, J. 2014. The Beneficial Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Diet Induced Obesity and Impaired Glucose Control Do Not Require Gpr120. *PLoS ONE* 9(12): e114942. doi:10.1371/journal.pone.0114942.

BLANKSON, H.; STAKKEDTAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. 2000. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J. Nutr.* 130: 2943-2948.

BOYLE, K.; FRIEDMAN, J.; JANSSEN, R.; UNDERKOFER, C.; HOUMARD, J.; RASOULL, N. 2017. Metabolic Inflexibility with Obesity and the Effects of Fenofibrate on Skeletal Muscle Fatty Acid Oxidation. *Horm. Metab. Res.* 49: 50-57.

BROWN, L.; POUDYAL, H.; PANCHAL, K. 2015. Functional foods as potential therapeutic options for metabolic syndrome. *Obesity reviews* 16: 914-941.

BULOTTA, S.; CELANO, M.; MASSIMO, L. S.; MONTALCINI, T.; PUJIA, A.; RUSSO, D. 2014. Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Translational Medicine* 12:219.

CAPUTO, M.; ZIRPOLI, H.; TORINO, G.; FELICE, M. 2010. Selective Regulation of UGT1A1 and SREBP-1c mRNA Expression by Docosahexaenoic, Eicosapentaenoic, and Arachidonic Acids. *Journal of Cellular Physiology* 226: 187-193.

CHIESA, G.; BUSNELLI, M.; MANZINI, S.; PAROLINI, C. 2016. Nutraceuticals and Bioactive Components from fish for dyslipidemia and cardiovascular risk reduction. *Mar. Drugs* 14: 113. doi:10.3390/md14060113.

CHIU, C-Y.; CHANG, T-C.; LIU, S-H.; CHIANG, M-T. 2017. The regulatory effects of fish oil and chitosan on hepatic lipogenic signals in high-fat diet-induced obese rats. *Journal of food and drug analysis* 25: 919-930.

COOPER, M. H.; MILLER, J. R.; MITCHELL, P. L.; CURRIE, D. L.; MCLEOD, R. S. 2008. Conjugated linoleic acid isomers have no effect on atherosclerosis and adverse effects on lipoprotein and liver metabolism in apoE^{-/-} mice fed a high-cholesterol diet. *Atherosclerosis* 200: 294-302.

COSSIO, B. M.; GÓMEZ, C. R.; DE ARRUDA, M.; TADEO, R.; FOGACA, H. 2010. Reliability values of somatic indicators in male Wistar rats. *Epidemiología e investigación básica* 11(4): 296-302.

CZAUDEANA, M.; KOWALCZYK, J.; KORNILUK, K. 2007. Effect of dietary conjugated linoleic acid and selenized yeast on the concentration of fatty acids and minerals in rats. *Arch. Anim. Nutr.* 61(2): 135-50.

DAI, F.; JIANG, T.; BAO, Y.; CHEN, G.; CHEN, L.; ZHANG, Q.; LU, Y. 2016. Fenofibrate improves high-fat diet-induced and palmitate-induced endoplasmic reticulum stress and inflammation in skeletal muscle. *Life Sciences* 157: 158-167.

DANNENBERGER, D.; NUERNBERG, G.; RENNE, U.; NUERNBERG, K.; LANGHAMMER, M.; HUBER, K.; BREIR, B. 2013. High-fat diets rich in n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids have distinct effects on lipid profiles and lipid peroxidation in mice selected for either high body weight or leanness. *Nutrition*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2012.10.010>.

DASILVA, G.; PAZOS, M.; GARCÍA-EGIDO, E.; GALLARDO, J. M.; RODRÍGUEZ, I.; CELA, R.; MEDINA, I. 2015. Healthy effect of different proportions of marine w-3 PUFAs and DHA supplementation in Wistar rats: Lipidomic biomarkers of oxidative stress and inflammation. *Journal of Nutritional Biochemistry* 26: 1385-1392.

DASILVA, G.; PAZOS, M.; GARCÍA, E.; PÉREZ, J.; LLUIS, J.; GIRALT, M.; NOGUÉS, M.; MEDINA, I. 2016. Lipidomics to analyze the influence of diets with different EPA:DHA ratios in the progression of Metabolic Syndrome using SHROB rats as a model. *Food Chemistry* 205: 196-203.

DREYER, C.; KREY, G.; KELLER, H.; GIVEL, F.; HELFTENBEIN, G.; WAHLI, W. 1992. Control of the peroxisomal β -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell* 68: 879-87.

DU, S.; JIN, J.; FANG, W.; SU, Q. 2015. Does Fish Oil Have an Anti-Obesity Effect in Overweight/Obese Adults? A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS ONE* 10(11): e0142652. doi:10.1371/journal.pone.0142652.

EL-HALEIM, E.; BAHGAT, A.; SALEH, S. 2016. Resveratrol and fenofibrate ameliorate fructose-induced nonalcoholic steatohepatitis by modulation of genes expression. *World J. Gastroenterol* 22(10): 2931-2948.

GARCÍA, N. G.; CUZZONE, D. A.; ALBANO, N. J.; HESPE, G. E.; KATARU, R. P.; TORRISI, J. S.; GARDENIER, J. C.; SAVETSKY, I. L.; ASCHEN, S. Z.; NITTI, M. D.; MEHRARA, B. J. 2016. Obesity but not high-fat diet impairs lymphatic function. *International Journal of Obesity* 40: 1582-1590.

GEBAUER, S. K.; CHARDIGNY, J-M.; JAKOBSEN, M. U.; LAMARCHE, B.; LOCK, A.; PROCTOR, S.; BAER, D. 2011. Effects of ruminant trans fatty acids on cardiovascular disease and cancer: a comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Adv. Nutr.* 2: 332-354.

GRYGIEL, G. B. 2014. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications - a review. *Nutrition Journal* 13:17 (10pp).

HA, Y. L.; GRIMM, N. K.; PARIZA, M. W. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-87.

HAILE, C.; KOSTEN, T. 2017. The peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist fenofibrate attenuates alcohol self-administration in rats. *Neuropharmacology* 116: 364-370.

HARRIS, W.; BULCHANDANI, D. 2006. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides?. *Current Opinion in Lipidology* 17: 387-393.

HASSANALI, Z.; AMETAJ, B. N.; FIELD, J.; PROCTOR, S. D.; CINE, D. F. 2010. Dietary supplementation of n-3 PUFA reduces weight gain and improves postprandial

lipaemia and the associated inflammatory response in the obese JCR:LA-cp rat. *Diabetes, Obesity and metabolism* 12: 139-147.

HIUGE, A.; TENENBAUM, A.; MAEDA, N.; BENDERLY, M.; KUMADA, M.; FISMAN, E.; TANNE, D.; MATAS, Z.; HIBUSE, T.; FUJITA, K.; NISHIZAWA, H.; ADLER, Y.; MOTRO, M.; KIHARA, S.; SHIMOMURA, I.; BEHAR, S.; FUNAHASHI, T. 2006. Effects of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Ligands, Bezafibrate and Fenofibrate, on Adiponectin Level. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* DOI: 10.1161/01.ATV.0000256469.06782.d5.

HRYHORCZUK, C.; DÉCARIE-SPAIN, L.; SHARMA, S.; DANEULT, C.; ROSIERS, C.; ALQUIER, T.; FULTON, S. 2017. Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamus-pituitary-adrenal axis function but no anxiety-like behaviour. *Psychoneuroendocrinology* 83: 142-149.

IKEWUCHI, CHIGOZIE; IKEWUCHI CHIDINMA. 2009. Alteration of Plasma Lipid Profiles and Atherogenic Indices by *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl). *Biokemistri* 21(2): 71-77.

JANANI, C.; KUMARI, R. 2014. PPAR gamma gene - A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clin. Res. Rev.* [Http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015](http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015).

JEONG, S.; HAN, M.; LEE, H.; KIM, M.; KIM, J.; NICOL, C.; KIM, B.; CHOI, J.; NAM, K.; OH, G.; YOON, M. 2004. Effects of Fenofibrate on High-Fat Diet-Induced Body Weight Gain and Adiposity in Female C57BL/6J Mice. *Metabolism* 53 (10): 1284-1289.

JOHNSTONE, L. E.; FONG, T. M.; LENG, G. 2006. Neuronal activation in the hypothalamus and brainstem during feeding in rats. *Cell Metab.* 4: 313-321.

KAKIMOTO, P. A.; KOWALTOWSKI, A. J. 2016. Effects of high fat diets on rodent liver bioenergetics and oxidative imbalance. *Redox Biology* 8: 216-225.

KENNEDY, A.; MARTINEZ, K.; SCHMIDT, S.; MANDRUP, S.; LAPOINT, K.; MCINTOSH, M. 2010. Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *J. Nutr. Biochem.* 21(3): 171-79.

KIESSLING, F.; PICHLER, B.; HAUFF, P. 2017. *Small Animal Imaging: Basics and Practical Guide*-Springer International Publishing. Springer International Publishing, 2 edition. DOI: 10.1007/978-3-319-42202-2.

KISHINO, S.; OGAWA, J.; OMURA, Y.; MATSUMURA, K.; SHIMIZU, S. 2002. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70: 159-163.

KLOSS, R.; LINSCHIED, J.; JOHNSON, A.; LAWSON, B.; EDWARDS, K.; LINDER, T.; STOCKER, K.; PETITTE, J.; KERN, M. 2005. Effects of conjugated linoleic acid supplementation on blood lipids and adiposity of rats fed diets rich saturated versus unsaturated fat. *Pharmacological Research* 51(6): 503-507.

KOMAROFF, M. 2016. For Researcher on Obesity: Historical Review of Extra Body Weight definitions. *Journal of Obesity*. [Http://dx.doi.org/10.1155/2016/2460285](http://dx.doi.org/10.1155/2016/2460285).

KOVES, T.; USSHER, J.; NOLAND, R.; SLENTZ, D.; MOSEDALE, M.; ILKAYEVA, O.; BAIN, J.; STEVENS, R.; DYCK, Jr.; NEWGARD, C.; LOPASCHUK, G.; MUOIO, D. 2008. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab.* 7(1): 45-56. doi: 10.1016/j.cmet.2007.10.013.

LA FLEUR, S. E.; LUIJENDIJK, M. C. M.; VAN DER ZWAAL, E. M.; BRANS, M. A. D.; ADAN, R. A. H. 2014. The snacking rat as model of human obesity: effects of free-choice high-fat high-sugar diet on meal patterns. *Int. J. Obesity* 38: 643-649.

LARSEN, T. M.; TOUBRO, S.; ASTRUP, A. 2003. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. *J. Lipid Res.* 44: 2234-2241.

LEHNEN, T. E.; RAMOS, M.; CAMACHO, A.; MARCADENTI, A.; MACHADO, A. 2015. A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and energetic metabolism. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 12: 36. DOI 10.1186/s12970-015-0097-4.

LEVINE, J. A.; EBERHARDT, N. L.; JENSEN, M. D. 1999. Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. *Science* 283: 212-214.

LI, J., VISWANADHA, S.; LOOR, J. 2012. Hepatic Metabolic, Inflammatory, and Stress-Related Gene Expression in Growing Mice Consuming a Low Dose of Trans-10, cis-12-Conjugated Linoleic Acid. *Journal of Lipids*. doi:10.1155/2012/571281.

LONZETTI, T.; MANDARIM, A.; BARBOSA, M. 2015. A high-fish-oil diet prevents adiposity and modulates white adipose tissue inflammation pathways in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.04.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.04.002).

LUCERO, D.; OLANO, C.; BURSZTYN, M.; MORALES, C.; STRANGES, A.; FRIEDMAN, S.; MACRI, E.; SCHREIER, L.; ZAGO, V. 2017. Supplementation with n-3, n-6, n-9 fatty acids in an insulin-resistance animal model: Does it improve VLDL quality? *Food & Function*, DOI: 10.1039/C7FO00252A.

MA, S.; GE, Y.; GAI, X.; XUE, M.; LI, N.; KANG, J.; WAN, J.; ZHANG, J. 2016. Transgenic n-3 PUFAs enrichment leads to weight loss via modulating neuropeptides in hypothalamus. *Neuroscience Letters* 611: 28-32.

MANCINI, F.; LANNI, A.; SABATINO, L.; MORENO, M.; GIANNINO, A.; CONTALDO, F.; COLANTUONI, V.; GOGLIA, F. 2001. Fenofibrate prevents and reduces body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *FEBS Letters* 491: 154-158.

MARVENTANO, S.; KOLACZ, P.; CASTELLANO, S.; GALVANO, F.; BUSCEMI, S.; MISTRETTA, A.; GROSSO, G. 2015. A review of recent evidence in human studies of n-3 and n-6 PUFA intake on cardiovascular disease, cancer, and depressive disorders: does the ratio really matter? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2015.1077790>.

MATSUDA, M.; KAWAMOTO, T.; TAMURA, R. 2016. Predictive value of serum dihomono- γ -linolenic acid level and estimated Δ -5 desaturase activity in patients with hepatic steatosis. *Obesity Research & Clinical Practice*. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2016.02.004](http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2016.02.004).

MCGOWAN, M. M.; EISENBERG, B. L.; LEWIS, L. D.; FROEHLICH, H. M.; WELLS, W. A.; EASTMAN, A.; KUEMMERLE, N.; ROSENKRANTZ, K.; BARTH, R. Jr.; SCHWARTZ, G.; LI, Z.; TOSTESON, T.; BEAULIEU, B. Jr.; KINLAW, W. 2013. A proof of principle clinical trial to determine whether conjugated linoleic acid modulates the lipogenic pathway in human breast cancer tissue. *Breast Cancer Res. Treat.* 138(1): 175-183.

MEDINA, R. N.; LOPES, T. R.; CASTRO, M. M.; DUARTE, M. H.; ANJOS, B. L.; DE QUEIROZ, J.; RIBEIRO, A.; RIBEIRO, S. 2017. Anti-obesity effects of tea from *Mangifera indica* L. leaves of the Ubá variety in high-fat diet-induced obese rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 91: 938-945.

MILLER, P.; VAN ELSWYK, M.; ALEXANDER, D. 2014. Long-Chain Omega-3 Fatty Acids Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on Blood Pressure: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *American Journal of Hypertension* 27(7): 885-896.

MINIHANE, A.; ARMAH, C.; MILES, E.; MADDEN, J.; CLARK, A.; CASLAKE, M.; PACKARD, C.; KOFLER, B.; LIETZ, G.; CURTIS, P.; MATHERS, J.; WILLIAMS, C.; CALDER, P. 2016. Consumption of Fish Oil Providing Amounts of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid That Can Be Obtained from the diet reduces blood pressure in adults with Systolic Hypertension: A retrospective Analysis. *The journal of nutrition*. doi: 10.3945/jn.115.220475.

MIRMIRAN, P.; BAHADORAN, Z.; AZIZI, F. 2014. Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review. *World J. Diabetes* 5(3): 267-281.

MITCHELL, P.; MCLEOD, R. 2008. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: studies in animal models. *Cell Biol.* 86(4): 293-301.

MOHAMED, S. 2013. Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. *Trends in Food Science & Technology.* [Http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.001](http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.001).

MOHAMMADI, A.; GHOLAMHOSEINIAN, A.; FALLAH, H. 2014. Zataria multiflora increases insulin sensitivity and PPAR- γ gene expression in high fructose fed insulin resistant rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 17: 263-270.

MOLINAR-TORIBIO, E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; RAMOS-ROMERO, S.; ROMEU, M.; GIRALT, M.; TALTAVULL, N.; MUÑOZ-CORTES, M.; JÁUREGUI, O.; MÉNDEZ, L.; MEDINA, I.; TORRES, J. 2015. Effect of n-3 PUFA supplementation at different EPA:DHA ratios on the spontaneously hypertensive obese rat model of the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 113: 878-887.

MONTANARI, N.; POŠĆIĆ, N.; COLITTI, M. 2017. Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review. *Obesity reviews.* doi: 10.1111/obr.12520.

NAZARI, M.; KARANDISH, M.; JALALI, M.; SABERI, A. 2016. Weight Management Effects of a Mixture of Conjugated Linoleic Acid and L-Carnitine in Diet Induced Obese Rats. *British Journal of Medicine & Medical Research* 12(1): 1-8.

NOVELLI, E.; DINIZ, Y.; GALHARDI, C.; EBAID, G.; RODRIGUES, H.; MANI, F.; FERNANDES, A.; CICOONA, A.; NOVELLI, F. 2007. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals* 41: 111-119.

OLESZCZUK, J.; OLESZCZUK, L.; SIWICKI, A. K.; SKOPIŃSKA-SKOPIŃSKA, E. 2012. Biological effects of conjugated linoleic acids supplementation. *Pol. J. Vet. Sci.* 15: 403-408.

OLIVEIRA, CD; OLIVEIRA, C. M.; MACEDO, I.; QUEVEDO, A.; FILHO, P.; SILVA, F.; VERCELINO, R.; DE SOUZA, I.; CAUMO, W.; TORRES, I. 2015.

Hypercaloric diets modulates effects of chronic stress: a behavioral and biometric study on rats. *The International Journal on the Biology of Stress*.
<http://dx.doi.org/10.3109/10253890.2015.1079616>.

ONG, Z. Y.; WANASURIA, A. F.; LIN, M. Z. P.; HISCOCK, J.; MUHLHAUSLER, B. S. 2013. Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system. *Appetite* 65: 189-199.

PFAFFL, M.; HORGAN, G.; DEMPFLER, L. 2002. Relative expression software (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research* 30(9): 10 páginas.

PEDERSEN, A.; SALMA, W.; HÖPER, A.; STEINAR, T.; LUDVIG, R. 2014. Lipid profile of mice fed a high-fat diet supplemented with a wax ester-rich marine oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116: 1718-1726.

PIRODDI, M.; ALBINI, A.; FABIANI, R.; GIOVANNELLI, L.; LUCERI, C.; NATELLA, F.; ROSIGNOLI, P.; ROSSI, T.; TATICCHI, A.; SERVILI, M.; GALLI, F. 2016. Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* 43 (1): 17-41.

POUDYAL, H.; KUMAR, S.; IYER, A.; WAANDERS, J.; WARD, L.; BROWN, L. 2013. Responses to oleic, linoleic and α -linolenic acids in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24: 1381-1392.

PUTTI, R.; MIGLIACCIO, V.; SICA, R.; LIONETTI, L. 2016. Skeletal Muscle Mitochondrial Bioenergetics and Morphology in High Fat Diet Induced Obesity and Insulin Resistance: Focus on Dietary Fat Source. *Front. Physiol.* 6: 426. Doi: 10.3389/fphys.2015.00426.

RAHMAN, S.; QADRI, I.; JANSSEN, R.; FRIEDMAN, J. 2009. Fenofibrate and PBA prevent fatty acid-induced loss of adiponectin receptor and pAMPK in human hepatoma cells and in hepatitis C virus-induced steatosis. *Journal of Lipid Research* 50: 2193-2202.

RAMOS-ROMERO, S.; MOLINAR-TORIBIO, E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; TALTAVULL, N.; DASILVA, G.; ROMEU, M.; MEDINA, I.; TORRES, J. 2016. The combined action of omega-3 polyunsaturated fatty acids and grape proanthocyanidins on a rat model of diet-induced metabolic alterations. *Food & Function*, DOI: 10.1039/c6fo00679e.

RIGANO, D.; SIRIGNANO, C.; TAGLIALATELA, S., O. 2017. The potential of natural products for targeting PPAR α . *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 7(4): 427-438.

RISVI, F.; IFTIKHAR, M.; GEORGE, J. 2003. Beneficial Effects of Fish Liver Preparations of Sea Bass (*Lates calcarifer*) Versus Gemfibrozil in High Fat Diet-Induced Lipid-Intolerant Rats. *Journal of Medicinal Food* 6(2): 123-128.

ROCHA, P. A.; CUNHA, A.; BARBOSA, A. M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. 2007. Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 17: 365-375.

ROSENSON, R. S. 2008. Effect of Fenofibrate on Adiponectin and Inflammatory Biomarkers in Merabolic Syndrome Patients. *Obesity* 17: 504-509. doi: 10.1038/oby.2008.530

ROTHWELL, N. J.; SAVILLE, M. E.; STOCK, M. J. 1982. Effects of feeding a "cafeteria" diet on energy balance and diet-induced thermogenesis in four strains of rat. *J. Nutr.* 112: 1515-1524.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. 1979. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* 281: 31-35.

RULL, A.; GEERAERT, B.; ARAGONES, G.; BELTRÁN, R.; RODRÍGUEZ, E.; GARCÍA, A.; PEDRO, J.; HOLVET, P.; CAMPS, J. 2014. Rosiglitazone and Fenofibrate Exacerbate Liver Steatosis in a Mouse Model of Obesity and Hyperlipidemia. A transcriptomic and Metabolimic Study. *J. Proteome Res.* 13: 1731-1743.

RUZICKOVA, J.; ROSSMEISL, M.; PRAZAK, T.; FLACHS, P.; SPONAROVA, J.; VECK, M.; TVRZICKA, E.; BRYHN, M.; KOPECKY, J. 2004. Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids* 12: 1177-85.

SAAD, E.; SBEIT, W.; ARRAF, L.; BARHOUM, M.; ASSY, N. 2016. Lipotoxicity in obesity: Benefit of olive oil. *Asian Journal of Science and Technology* 7(9): 3499-3506.

SAIBANDITH, B.; SPENCER, J.; ROWLAND, I.; COMMANE, D. 2017. Olive Polyphenols and the Metabolic Syndrome. *Molecules* 22: 1082 (15pp).

SARTORIUS, T.; DRESCHER, A.; PANSE, M.; LASTOVICKA, P.; PETER, A.; WEIGERT, C.; KOSTENIS, E.; ULLRICH, S.; HÄRING, H. 2015. Mice lacking free fatty acid receptor 1 (GPR40/FFAR1) are protected against conjugated linoleic acid-induced fatty liver but develop inflammation and insulin resistance in the brain. *Cell Physiol. Biochem.* 35(6): 2272-84.

SASHIDHARA, K.; KUMAR, M.; SONKAR, R.; SHANKAR, B.; KHANNA, A.; BHATIA, G. 2012. Indole-Based Fibrates as Potential Hypolipidemic and Antiobesity Agents. *J. Med. Chem.* 55: 2769-2779. [dx.doi.org/10.1021/jm201697v](https://doi.org/10.1021/jm201697v).

SCHWINGSHACKL, L.; LAMPOUSI, A-M.; PORTILLO, M. P.; ROMAGUERA, D.; HOOFMANN, G.; BOEING, H. 2017. Olive oil in the prevention and management of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies and intervention trials. *Nutrition & Diabetes* 7: e262. [doi:10.1038/nutd.2017.12](https://doi.org/10.1038/nutd.2017.12).

SEOANE, P.; MARTÍNEZ, P.; FERNØ, J.; DIÉGUEZ, C.; NOGUEIRAS, R.; LÓPEZ, M. 2014. Nicotine Improves Obesity and Hepatic Steatosis and ER Stress in Diet-Induced Obese Male Rats. *Endocrinology* 155(5): 1679-1689.

SHEN, W.; CHUANG, C. C.; MARTINEZ, K.; REID, T.; BROWN, J. M.; HIXSON, J.; HOPKINS, R.; STARNES, J.; MCINTOSH, M. 2012. Conjugated linoleic acid reduces adiposity and increases markers of browning and inflammation in white adipose tissue of mice. *J. Lipid Res.* 54(4): 909-22.

SHEN, W.; MCINTOSH, M. K. 2016. Nutrient regulation: conjugated linoleic acid's inflammatory and browning properties in adipose tissue. *Annu. Rev. Nutr.* 36:183-210.

SHEN, Y.; SONG, S. J.; KEUM, N.; PARK, T. 2014. Olive Leaf Extract Attenuates Obesity in High-Fat Diet-Fed Mice by Modulating the Expression of Molecules Involved in Adipogenesis and Thermogenesis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/971890>.

SILVEIRA, M. B.; CARRARO, R.; MONEREO, S.; TÉBAR, J. 2007. Conjugated linoleic acid (CLA) and obesity. *Public Health Nutr.* 10: 1181-1186.

SIMOPOULOS, A. P. 2016. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the risk for Obesity. *Nutrients* 8: 128, doi:10.3390/nu8030128.

SIMS, E. A.; DANFORTH, E. Jr. 1987. Expenditure and storage of energy in man. *J. Clin. Invest.* 79: 1019-1025.

SISHI, B.; LOOS, B.; ELLIS, B.; SMITH, W.; DU TOIT, E.; ENGELBRECHT, A. 2010. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp. Physiol.* 96(2): 179-193.

SMITH, P.; HINDMARCH, C.; MURPHY, D.; FERGUSON, A. 2014. AT1 receptor blockade alters nutritional and biometric development in obesity-resistant and obesity-prone rats submitted to a high fat diet. *Frontiers in Psychology*. doi:10.3389/fpsyg.2014.00832.

SPIEGELMAN, B. B.; FLIER, J. S. 2001. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104: 531-543.

STANLEY, C.; RUO, S.; XIAO, Z.; ZI, C.; HAO, W.; MATTHEW, J.; JI, Y. 2013. Activation of PPAR alfa Ameliorates Hepatic Insulin Resistance and Steatosis in High Fructose-Fed Mice Despite Increased Endoplasmic Reticulum Stress. *Diabetes* 62: 2095-2105.

STORLIEN, L. H.; KRAEGEN, E. W.; CHISHOLM, D. J.; FORD, G. L.; BRUCE, D. G.; PASCOE, W. S. 1987. Fish Oil Prevents Insulin Resistance Induced by High-Fat Feeding in Rats. *Science* 237: 885-888, doi 10.1126/science.3303333.

SUN, X.; PAN, H.; TAN, H.; YU, Y. 2012. High free fatty acids levels related with cardiac dysfunction in obese rats. Sun X.; Pan H.; Tan H.; Yu Y.

TALTAVULL, N.; MUÑOZ-CORTÉS, M.; LLUÍS, L.; JOVÉ, M.; FORTUÑO, A.; MOLINAR-TORIBIO, E.; TORRES, J.; PAZOS, M.; MEDINA, I.; NOGUÉS, M. 2014. Eicosapentaenoic acid/docosahexaenoic acid 1:1 ratio improves histological alterations in obese rats with metabolic syndrome. *Lipids in Health and Disease* 13: 31, doi: 10.1186/1476-511X-13-31.

TAVARES, V.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. 2007. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma): molecular study in glucose homeostasis, lipid metabolism and therapeutic approach. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 51(4): 526-533.

TENG, K.T.; CHANG, C.; FAUN, C., L.; NESARETNAM, K. 2014. Modulation of obesity-induced inflammation by dietary fats: mechanisms and clinical evidence. *Nutrition Journal* 13:12 (15pp).

TORREJON, C.; JUNG, U. J.; DECKELBAUM, R. J. 2007. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: Actions and molecular mechanisms. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 77: 319-326.

TRIGUEROS, L.; PEÑA, S.; UGIDOS, A.; SAYAS-BARBERÁ, E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.; SENDRA, E. 2013. Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(9): 929-942.

TUR, J. A.; BIBILONI, M. M.; SUREDA, A.; PONS, A. 2012. Dietary sources of omega 3 fatty acids: public health risks and benefits. *British Journal of Nutrition* 107: S23-S52.

VANECKOVÁ, I.; MALETÍNSKA, L.; BEHULIAK, M.; NAGELOVÁ, V.; ZICHA, J.; KUNES, J. 2014. Obesity-related hypertension: possible pathophysiological mechanisms. *Journal of Endocrinology* 223: R63-R78.

VIGGIANO, E.; PINA, M.; LIONETTI, L.; CAVALIERE, G.; TRINCHESE, G.; DE FILIPPO, C.; CHIEFFI, S.; GAITA, M.; BARLETTA, A.; DE LUCA, B.; CRISPINO, M.; MONDA, M. 2016. Effects of an High-Fat Diet Enriched in Lard or in Fish Oil on the Hypothalamic Amp-Activated Protein Kinase and Inflammatory Mediators. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 10, doi: 10.3389/fncel.2016.00150

WANG, H.; SHAO, Y.; YUAN, F.; FENG, H.; LI, N.; ZHANG, H.; WU, C.; LIU, Z. 2017. Fish Oil Feeding Modulates the Expression of Hepatic MicroRNAs in a Western-Style Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Rat Model. *BioMed Research International*. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/2503847>.

WANG, L.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY, E.; BLUNDER, M.; LIU, X.; MALAINER, C.; BLAZEVIC, T.; SCHWAIGER, S.; ROLLINGER, J.; HEISS, E.; SCHUSTER, D.; KOPP, B.; BAUER, R.; STUPPNER, H.; DIRSCH, V.; ATANASOV, A. 2014. Natural product agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): a review. *Biochemical Pharmacology* 92: 73-89.

WANG, Y.; HUANG, F. 2015. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation in Obesity: Local Effect and Systemic Benefit. *BioMed Research International*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/581469>

WENDEL, A.; PURUSHOTHAM, A.; LIU, L.; BELURY, M. 2008. Conjugated linoleic acid fails to worsen insulin resistance but induces hepatic steatosis in the presence of leptin in ob/ob mice. *Journal of lipid research* 49: 98-106.

WHIGHAM, L. D.; WATRAS, A. C.; SCHOELLER, D. A. 2007. Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 85: 1203-1211.

WHITE, P.; MITCHELL, P.; SCHWAB, M.; TROTTIER, J.; KANG, J.; BARBIER, O.; MARETTE, A. 2015. Transgenic ω -3 PUFA enrichment alters morphology and gene expression profile in adipose tissue of obese mice: Potential role for protectins. *Metabolism* 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.01.017>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2016. Obesity and overweight [documento WWW]. URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. [visitado en Noviembre 2017].

WU, J.; CAHILL, L.; MOZAFFARIAN, D. 2013. Effect of Fish Oil on Circulating Adiponectin: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled trials. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98(6): 2451-2459.

XIE, X.; ZHANG, T.; ZHAO, S.; LI, W.; MA, L.; DING, M.; LIU, Y. 2016. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids high fat diet intervention on the synthesis of hepatic high-density lipoprotein cholesterol in obesity-insulin resistance rats. *Lipids in Health and Disease* 15: 81-87.

YU, H.; ZHU, J.; PAN, W.; SHEN, S.; SHAN, W.; DAS, U. 2014. Effects of Fish Oil with a High Content of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Mouse Gut Microbiota. *Archives of Medical Research* 45: 195-202.

YU, J.; MA, Y.; SUN, J.; RAN, L.; LI, Y.; WANG, N.; YU, T.; GAO, W.; JIA, W.; JIANG, R.; GUO, M.; BI, Y.; WU, Y. 2017. Microalgal Oil from *Schizochytrium* sp. Prevents HFD-Induced Abdominal Fat Accumulation in Mice. *Journal of the American College of Nutrition*, DOI: 10.1080/07315724.2017.1302366.

YUAN, G-F.; SINCLAIR, A. J.; SUN, H-Y.; LI D. 2009. Fatty acid composition on tissues of mice fed diets containing conjugated linoleic acid and conjugated linoleic acid. *J. Food Lipids* 16: 148-63.

ZHAO, X.; QUIGLEY, J.; YUAN, J.; WANG, M.; ZHOU, Y.; IMIG, J. 2006. PPAR- α activator fenofibrate increases renal CYP-derived eicosanoid synthesis and improves endothelial dilator function in obese Zucker rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 290. doi:10.1152/ajpheart.00937.2005.

ZHENG, S.; REN, X.; HAN, T.; CHEN, Y.; QIU, H.; LIU, W.; HU, Y. 2017. Fenofibrate attenuates fatty acid-induced islet β -cell dysfunction and apoptosis via inhibiting the NF- κ B/MIF dependent inflammatory pathway. *Metabolism*: doi:10.1016/j.metabol.2017.09.001

ZHUKOVA, N.; NOVGORODTSEVA, T.; DENISENKO, Y. 2014. Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver. *Lipids in Health and Disease* 13:49 (8pp).

VIII. ANEXOS

Anexo I. Número de réplicas del mismo tratamiento en diferentes estudios relacionados

N°	Investigación	Número de repeticiones por tratamiento utilizadas
1	Al et al. (2016)	n = 10
2	Lonzetti et al. (2015)	n = 10
3	Zhukova et al. (2014)	n = 10
4	Hassanali et al. (2010)	n = 10
5	Medina et al. (2017)	n = 8
6	Chiu et al. (2017)	n = 8
7	Lucero et al. (2017)	n = 8
8	Nazari et al. (2016)	n = 8
9	Viggiano et al. (2016)	n = 8
10	Dai et al. (2016)	n = 8
11	Shen et al. (2014)	n = 8
12	Seoane et al. (2014)	n = 8
13	Bjursell et al. (2014)	n = 8
14	Mohammadi et al. (2014)	n = 8
15	Smith et al. (2014)	n = 8
16	Rull et al. (2014)	n = 8
17	Wendel et al. (2008)	n = 8
18	Haile y Kosten (2017)	n = 7
19	Ramos et al. (2016)	n = 7
20	Molinar et al. (2015)	n = 7
21	Kloss et al. (2005)	n = 7
22	Rizvi et al. (2003)	n = 6
23	Rocha et al. (2007)	n = 5
24	Jeong et al. (2004)	n = 5
25	Pedersen et al. (2014)	n = 3

Anexo II. Kit comercial para prueba de perfil lipídico

<http://www.montgroup.com.pe>



Características:

Análisis completo de Perfil Lipídico en tan solo 45 segundos (45 - 120 seg.), Colesterol Total (COL), Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL), Triglicéridos (TRIG), Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL), Relación entre Colesterol y HDL (COL / HDL) y Evaluación de Riesgo coronario (CHD).

Eficiente

Análisis del Perfil Lipídico completo, 6 parámetros con una sola gota de sangre, en tan sólo 45 segundos: 3 pruebas medidas directamente (COL, TRI, HDL) y 3 por cálculo de software (LDL, COL/HDL y Riesgo Coronario), todo esto con la tira Panel de Lípidos 3 en 1.

Seguro y fácil de usar

- Se pueden utilizar muestras de sangre total, suero o plasma.
- Amplio rango aceptable de Hematocrito, sin interferencias desde 0 - 55%.
- Resultados rápidos, ideal para consultorios médicos, laboratorios y hogares.
- Gran pantalla LCD de fácil lectura.

Anexo III. Kit comercial para prueba de glucosa

<http://www.montgroup.com.pe>



Características:

Dispositivo de medición que se utiliza para obtener la concentración de glucosa en la sangre de manera instantánea, sin necesidad de tener que ir a un centro especializado.

Seguro y conveniente

- Eyector de la tira que permite la eliminación de la tira fácil y suave para evitar la contaminación
- Disponible para sangre capilar, venosa, y los análisis de sangre neonatales
- Lancet eyector diseñado para la liberación de la lanceta
- Prueba simple y rápida con una pequeña muestra de sangre
- Pruebas múltiples, incluyendo la yema del dedo, la palma y el antebrazo
- Los resultados exactos disponibles en tan sólo 5 segundos
- Sólo 0.8 ml muestra de sangre necesaria

Anexo IV. Peso corporal y ganancia de peso al finalizar el período de inducción a obesidad

T	R	Dieta utilizada	Peso corporal, g	Ganancia de peso, g
1	1	Dieta obesogénica (DO)	333.00	131.00
1	2	Dieta obesogénica (DO)	320.00	117.00
1	3	Dieta obesogénica (DO)	321.00	115.00
1	4	Dieta obesogénica (DO)	305.00	121.00
1	5	Dieta obesogénica (DO)	304.00	113.00
1	6	Dieta obesogénica (DO)	280.00	119.00
1	7	Dieta obesogénica (DO)	262.00	72.00
2	1	Dieta obesogénica (DO)	338.00	150.00
2	2	Dieta obesogénica (DO)	317.00	113.00
2	3	Dieta obesogénica (DO)	314.00	134.00
2	4	Dieta obesogénica (DO)	300.00	113.00
2	5	Dieta obesogénica (DO)	303.00	112.00
2	6	Dieta obesogénica (DO)	281.00	123.00
2	7	Dieta obesogénica (DO)	275.00	98.00
3	1	Dieta obesogénica (DO)	326.00	122.00
3	2	Dieta obesogénica (DO)	324.00	136.00
3	3	Dieta obesogénica (DO)	321.00	115.00
3	4	Dieta obesogénica (DO)	310.00	119.00
3	5	Dieta obesogénica (DO)	296.00	104.00
3	6	Dieta obesogénica (DO)	295.00	92.00
3	7	Dieta obesogénica (DO)	250.00	90.00
4	1	Dieta obesogénica (DO)	326.00	114.00
4	2	Dieta obesogénica (DO)	326.00	132.00
4	3	Dieta obesogénica (DO)	311.00	111.00
4	4	Dieta obesogénica (DO)	307.00	106.00
4	5	Dieta obesogénica (DO)	287.00	126.00
4	6	Dieta obesogénica (DO)	292.00	138.00
4	7	Dieta obesogénica (DO)	279.00	113.00
5	1	Dieta obesogénica (DO)	339.00	177.00
5	2	Dieta obesogénica (DO)	323.00	123.00
5	3	Dieta obesogénica (DO)	322.00	118.00
5	4	Dieta obesogénica (DO)	306.00	110.00
5	5	Dieta obesogénica (DO)	305.00	147.00
5	6	Dieta obesogénica (DO)	282.00	99.00
5	7	Dieta obesogénica (DO)	252.00	84.00
6	1	Dieta obesogénica (DO)	338.00	136.00
6	2	Dieta obesogénica (DO)	322.00	118.00
6	3	Dieta obesogénica (DO)	317.00	118.00
6	4	Dieta obesogénica (DO)	306.00	126.00
6	5	Dieta obesogénica (DO)	302.00	106.00
6	6	Dieta obesogénica (DO)	281.00	98.00
6	7	Dieta obesogénica (DO)	264.00	84.00

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo V. Perfil lipídico y glucosa en sangre al finalizar el período de inducción a obesidad

T	R	Dieta utilizada	Triglicéridos en sangre, mg/dL	HDL en sangre, mg/dL	Glucosa en sangre, mg/dL
1	1	Dieta obesogénica (DO)	46	19	138
1	2	Dieta obesogénica (DO)	65	22	83
1	3	Dieta obesogénica (DO)			
1	4	Dieta obesogénica (DO)	85	21	59
1	5	Dieta obesogénica (DO)			79
1	6	Dieta obesogénica (DO)			72
1	7	Dieta obesogénica (DO)	72	24	105
2	1	Dieta obesogénica (DO)	59	21	99
2	2	Dieta obesogénica (DO)	71	22	65
2	3	Dieta obesogénica (DO)			84
2	4	Dieta obesogénica (DO)	63	26	87
2	5	Dieta obesogénica (DO)			74
2	6	Dieta obesogénica (DO)	56	28	68
2	7	Dieta obesogénica (DO)	68	25	74
3	1	Dieta obesogénica (DO)	66	25	115
3	2	Dieta obesogénica (DO)	77	19	69
3	3	Dieta obesogénica (DO)			76
3	4	Dieta obesogénica (DO)	71	16	68
3	5	Dieta obesogénica (DO)			98
3	6	Dieta obesogénica (DO)	54	26	100
3	7	Dieta obesogénica (DO)			91
4	1	Dieta obesogénica (DO)	85	21	82
4	2	Dieta obesogénica (DO)	68	28	85
4	3	Dieta obesogénica (DO)	68	24	115
4	4	Dieta obesogénica (DO)			99
4	5	Dieta obesogénica (DO)	45	22	97
4	6	Dieta obesogénica (DO)			
4	7	Dieta obesogénica (DO)	56	28	70
5	1	Dieta obesogénica (DO)	50	19	107
5	2	Dieta obesogénica (DO)			64
5	3	Dieta obesogénica (DO)	61	21	97
5	4	Dieta obesogénica (DO)	72	30	80
5	5	Dieta obesogénica (DO)	50	19	67
5	6	Dieta obesogénica (DO)	69	24	93
5	7	Dieta obesogénica (DO)	63	23	73
6	1	Dieta obesogénica (DO)	86	23	86
6	2	Dieta obesogénica (DO)	55	28	81
6	3	Dieta obesogénica (DO)	63	15	78
6	4	Dieta obesogénica (DO)	51	24	79
6	5	Dieta obesogénica (DO)			
6	6	Dieta obesogénica (DO)	61	16	82
6	7	Dieta obesogénica (DO)			82

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo VI. Biometría e índices corporales al finalizar el período de inducción a obesidad

T	R	Dieta utilizada	Longitud boca ano, cm	Perímetro del cuello, cm	Perímetro del tórax, cm	Perímetro del abdomen, cm	Índice de Lee	Índice de masa corporal adaptado
1	1	Dieta obesogénica (DO)	20.23	10.2	13.9	14.8	0.34	0.81
1	2	Dieta obesogénica (DO)	19.56	10.2	14.6	15.5	0.35	0.84
1	3	Dieta obesogénica (DO)						
1	4	Dieta obesogénica (DO)	19.79	11	13	14.4	0.34	0.78
1	5	Dieta obesogénica (DO)	20.36	10.5	13.2	14.1	0.33	0.73
1	6	Dieta obesogénica (DO)	19.43	11.1	14.2	14.5	0.34	0.74
1	7	Dieta obesogénica (DO)	19.03	8.9	12.5	12.5	0.34	0.72
2	1	Dieta obesogénica (DO)	20.03	9.8	13	16	0.35	0.84
2	2	Dieta obesogénica (DO)	19.71	11.9	13.5	14.6	0.35	0.82
2	3	Dieta obesogénica (DO)	19.99	9.1	13	13.2	0.34	0.79
2	4	Dieta obesogénica (DO)	20.77	9.2	12.9	14.7	0.32	0.70
2	5	Dieta obesogénica (DO)	20.66	11.3	13.4	14.1	0.33	0.71
2	6	Dieta obesogénica (DO)	19.93	9.8	12.9	13.1	0.33	0.71
2	7	Dieta obesogénica (DO)	19.59	9.2	13.3	13.3	0.33	0.72
3	1	Dieta obesogénica (DO)	20.78	11.2	14.1	15.1	0.33	0.75
3	2	Dieta obesogénica (DO)	20.02	10.4	13.8	16	0.34	0.81
3	3	Dieta obesogénica (DO)	19.63	10.3	14	15.1	0.35	0.83
3	4	Dieta obesogénica (DO)	20.53	10	14.2	14.4	0.33	0.74
3	5	Dieta obesogénica (DO)	19.08	9.9	13.8	15.7	0.35	0.81
3	6	Dieta obesogénica (DO)	19.26	9.1	12.5	13.9	0.35	0.80
3	7	Dieta obesogénica (DO)	18.93	9.2	11.4	12.2	0.33	0.70
4	1	Dieta obesogénica (DO)	18.12	10.6	14	15	0.38	0.99
4	2	Dieta obesogénica (DO)	19.07	10.1	14.5	14.6	0.36	0.90
4	3	Dieta obesogénica (DO)	20.42	10.1	13.9	13.5	0.33	0.75
4	4	Dieta obesogénica (DO)	19.82	10	13.8	14.2	0.34	0.78
4	5	Dieta obesogénica (DO)	20.57	9.6	13.2	13.2	0.32	0.68
4	6	Dieta obesogénica (DO)						
4	7	Dieta obesogénica (DO)	20.65	9.6	12.5	13	0.32	0.65
5	1	Dieta obesogénica (DO)	21.09	10.2	13.1	15.5	0.33	0.76
5	2	Dieta obesogénica (DO)	19.48	12.2	13.8	14.8	0.35	0.85
5	3	Dieta obesogénica (DO)	19.75	9.2	14.9	15.1	0.35	0.83
5	4	Dieta obesogénica (DO)	20.20	11.1	13.9	14	0.33	0.75
5	5	Dieta obesogénica (DO)	19.63	9.2	13.1	13.4	0.34	0.79
5	6	Dieta obesogénica (DO)	19.31	9.9	12.9	14	0.34	0.76
5	7	Dieta obesogénica (DO)	18.29	9.5	13.1	14	0.35	0.75
6	1	Dieta obesogénica (DO)	20.61	10.9	14.5	14.9	0.34	0.80
6	2	Dieta obesogénica (DO)	19.18	10.4	13.3	15.1	0.36	0.88
6	3	Dieta obesogénica (DO)	18.42	10.3	14.5	15.6	0.37	0.93
6	4	Dieta obesogénica (DO)		9.5	12.7	14		
6	5	Dieta obesogénica (DO)						
6	6	Dieta obesogénica (DO)	19.80	9.3	13.1	13.9	0.33	0.72
6	7	Dieta obesogénica (DO)	19.34	9.6	12.2	14.5	0.33	0.71

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo VII. Peso, ganancia de peso, consumo y conversión de alimento tras la administración de los tratamientos

T	R	Dieta utilizada	Peso corporal, g	Ganancia de peso, g	Consumo diario - alimento, g	Conversión neta, g/g
1	1	Dieta estándar	407.00	74.00	19.43	7.61
1	2	Dieta estándar	384.00	64.00	17.13	7.76
1	3	Dieta estándar	396.00	75.00	18.76	7.25
1	4	Dieta estándar	342.00	37.00	16.47	12.91
1	5	Dieta estándar	344.00	40.00	17.72	12.85
1	6	Dieta estándar	334.00	54.00	16.71	8.97
1	7	Dieta estándar	324.00	62.00	17.13	8.01
2	1	Dieta obesogénica (DO)	410.00	72.00	16.21	6.53
2	2	Dieta obesogénica (DO)	384.00	67.00	16.91	7.32
2	3	Dieta obesogénica (DO)	376.00	62.00	16.33	7.64
2	4	Dieta obesogénica (DO)	358.00	58.00	14.94	7.47
2	5	Dieta obesogénica (DO)	369.00	66.00	15.16	6.66
2	6	Dieta obesogénica (DO)	352.00	71.00	14.49	5.92
2	7	Dieta obesogénica (DO)	345.00	70.00	15.40	6.38
3	1	DO + CLA	390.00	64.00	15.80	7.16
3	2	DO + CLA	418.00	94.00	17.83	5.50
3	3	DO + CLA	372.00	51.00	16.48	9.37
3	4	DO + CLA	364.00	54.00	15.55	8.35
3	5	DO + CLA	368.00	72.00	15.24	6.14
3	6	DO + CLA	375.00	80.00	15.67	5.68
3	7	DO + CLA	298.00	48.00	13.51	8.16
4	1	DO + Fibrato	408.00	82.00	17.80	6.30
4	2	DO + Fibrato	394.00	68.00	18.64	7.95
4	3	DO + Fibrato	353.00	42.00	15.53	10.72
4	4	DO + Fibrato	340.00	33.00	15.29	13.44
4	5	DO + Fibrato	348.00	61.00	16.09	7.65
4	6	DO + Fibrato	374.00	82.00	17.62	6.23
4	7	DO + Fibrato	340.00	61.00	14.86	7.07
5	1	DO + Aceite de oliva	433.00	94.00	18.49	5.70
5	2	DO + Aceite de oliva	403.00	80.00	16.06	5.82
5	3	DO + Aceite de oliva	425.00	103.00	17.49	4.92
5	4	DO + Aceite de oliva	390.00	84.00	16.29	5.62
5	5	DO + Aceite de oliva	388.00	83.00	17.74	6.20
5	6	DO + Aceite de oliva	346.00	64.00	15.12	6.85
5	7	DO + Aceite de oliva	313.00	61.00	13.30	6.32
6	1	DO + Aceite de pescado	430.00	92.00	17.91	5.64
6	2	DO + Aceite de pescado	405.00	83.00	16.38	5.72
6	3	DO + Aceite de pescado	395.00	78.00	16.12	5.99
6	4	DO + Aceite de pescado	376.00	70.00	14.99	6.21
6	5	DO + Aceite de pescado	375.00	73.00	15.69	6.23
6	6	DO + Aceite de pescado				
6	7	DO + Aceite de pescado	340.00	76.00	14.19	5.41

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo VIII. Perfil lipídico, nivel de glucosa en sangre e índice de aterogénesis modificado tras la administración de los tratamientos

T	R	Dieta utilizada	Triglicéridos en sangre, mg/dL	HDL en sangre, mg/dL	Glucosa en sangre, mg/dL	Índice de aterogénesis modificado
1	1	Dieta estándar	68.00	32.00	131.00	1.13
1	2	Dieta estándar	67.00	36.00	89.00	0.86
1	3	Dieta estándar	63.00	32.00	144.00	0.97
1	4	Dieta estándar	49.00	25.00	82.00	0.96
1	5	Dieta estándar	54.00	21.00	95.00	1.57
1	6	Dieta estándar	55.00	20.00	76.00	1.75
1	7	Dieta estándar	92.00	35.00	99.00	1.63
2	1	Dieta obesogénica (DO)			129.00	
2	2	Dieta obesogénica (DO)	57.00	27.00	92.00	1.11
2	3	Dieta obesogénica (DO)	45.00	33.00	131.00	0.36
2	4	Dieta obesogénica (DO)	50.00	24.00	97.00	1.08
2	5	Dieta obesogénica (DO)	62.00	17.00	129.00	2.65
2	6	Dieta obesogénica (DO)	48.00	18.00	109.00	1.67
2	7	Dieta obesogénica (DO)	45.00	27.00	109.00	0.67
3	1	DO + CLA	64.00	32.00	134.00	1.00
3	2	DO + CLA	58.00	31.00	122.00	0.87
3	3	DO + CLA	63.00	25.00	130.00	1.52
3	4	DO + CLA	52.00	17.00	92.00	2.06
3	5	DO + CLA	70.00	35.00	106.00	1.00
3	6	DO + CLA	51.00	21.00	116.00	1.43
3	7	DO + CLA	58.00	25.00	100.00	1.32
4	1	DO + Fibrato	56.00	17.00	122.00	2.29
4	2	DO + Fibrato	64.00	20.00	115.00	2.20
4	3	DO + Fibrato	56.00	15.00	98.00	2.73
4	4	DO + Fibrato	62.00	15.00	111.00	3.13
4	5	DO + Fibrato	58.00	15.00	92.00	2.87
4	6	DO + Fibrato	56.00	16.00	90.00	2.50
4	7	DO + Fibrato	58.00	28.00	95.00	1.07
5	1	DO + Aceite de oliva	67.00	25.00	150.00	1.68
5	2	DO + Aceite de oliva	51.00	25.00	141.00	1.04
5	3	DO + Aceite de oliva	58.00	19.00	116.00	2.05
5	4	DO + Aceite de oliva	82.00	15.00	132.00	4.47
5	5	DO + Aceite de oliva	63.00	15.00	82.00	3.20
5	6	DO + Aceite de oliva	67.00	22.00	108.00	2.05
5	7	DO + Aceite de oliva	45.00	26.00	98.00	0.73
6	1	DO + Aceite de pescado	65.00	22.00	136.00	1.95
6	2	DO + Aceite de pescado	50.00	27.00	111.00	0.85
6	3	DO + Aceite de pescado	47.00	15.00	116.00	2.13
6	4	DO + Aceite de pescado	59.00	25.00	105.00	1.36
6	5	DO + Aceite de pescado	42.00	15.00	93.00	1.80
6	6	DO + Aceite de pescado				
6	7	DO + Aceite de pescado	45.00	23.00	93.00	0.96

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo IX. Biometría e índices corporales tras la administración de los tratamientos

T	R	Dieta utilizada	Longitud boca ano, cm	Perímetro del cuello, cm	Perímetro del tórax, cm	Perímetro del abdomen, cm	Índice de Lee	Índice de masa corporal adaptado
1	1	Dieta estándar	21.73	12.10	14.60	16.20	0.34	0.86
1	2	Dieta estándar	19.85	11.10	14.60	16.20	0.37	0.97
1	3	Dieta estándar	18.98	11.10	14.80	16.60	0.39	1.10
1	4	Dieta estándar	20.95	11.20	14.70	16.50	0.33	0.78
1	5	Dieta estándar	20.42	10.50	13.50	15.00	0.34	0.82
1	6	Dieta estándar	19.80	10.70	13.70	14.60	0.35	0.85
1	7	Dieta estándar	21.41	10.60	13.50	15.20	0.32	0.71
2	1	Dieta obesogénica (DO)	20.72	11.50	15.00	17.00	0.36	0.96
2	2	Dieta obesogénica (DO)	21.55	11.70	13.70	15.80	0.34	0.83
2	3	Dieta obesogénica (DO)	20.02	10.70	14.40	16.70	0.36	0.94
2	4	Dieta obesogénica (DO)	20.83	11.10	13.90	15.20	0.34	0.82
2	5	Dieta obesogénica (DO)	20.86	10.10	13.00	13.70	0.34	0.85
2	6	Dieta obesogénica (DO)	20.60	11.10	12.90	15.00	0.34	0.83
2	7	Dieta obesogénica (DO)	19.76	9.60	13.80	13.50	0.35	0.88
3	1	DO + CLA	20.88	11.40	14.00	17.20	0.35	0.89
3	2	DO + CLA	20.21	11.70	16.40	17.30	0.37	1.02
3	3	DO + CLA	20.25	11.60	14.60	14.20	0.36	0.91
3	4	DO + CLA	21.11	10.70	14.50	14.50	0.34	0.82
3	5	DO + CLA	20.25	10.80	13.80	14.90	0.35	0.90
3	6	DO + CLA	21.13	12.00	14.50	15.90	0.34	0.84
3	7	DO + CLA	19.02	10.40	14.00	15.20	0.35	0.82
4	1	DO + Fibrato	21.36	11.00	13.80	15.30	0.35	0.89
4	2	DO + Fibrato	19.78	10.80	14.80	17.00	0.37	1.01
4	3	DO + Fibrato	20.49	11.30	13.80	14.30	0.35	0.84
4	4	DO + Fibrato	19.99	10.00	13.00	15.00	0.35	0.85
4	5	DO + Fibrato	20.71	10.30	13.20	14.80	0.34	0.81
4	6	DO + Fibrato	20.96	10.80	13.60	15.20	0.34	0.85
4	7	DO + Fibrato	20.85	10.60	14.30	15.00	0.33	0.78
5	1	DO + Aceite de oliva	21.65	11.60	14.60	16.30	0.35	0.92
5	2	DO + Aceite de oliva	20.79	11.20	14.30	16.20	0.36	0.93
5	3	DO + Aceite de oliva	21.02	11.50	15.20	16.60	0.36	0.96
5	4	DO + Aceite de oliva	20.35	11.40	14.20	15.40	0.36	0.94
5	5	DO + Aceite de oliva	20.03	10.50	14.40	15.00	0.36	0.97
5	6	DO + Aceite de oliva	20.02	10.50	13.50	14.30	0.35	0.86
5	7	DO + Aceite de oliva	20.39	10.20	13.00	14.30	0.33	0.75
6	1	DO + Aceite de pescado	20.89	11.40	15.80	17.40	0.36	0.98
6	2	DO + Aceite de pescado	21.11	10.20	14.00	14.80	0.35	0.91
6	3	DO + Aceite de pescado	20.50	12.00	14.00	15.40	0.36	0.94
6	4	DO + Aceite de pescado	20.29	10.60	13.80	15.00	0.36	0.91
6	5	DO + Aceite de pescado	18.93	11.40	16.00	16.60	0.38	1.05
6	6	DO + Aceite de pescado						
6	7	DO + Aceite de pescado	20.11	11.30	13.20	13.60	0.35	0.84

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo X. Peso del tejido adiposo e hígado tras la administración de los tratamientos

T	R	Dieta utilizada	Grasa abdominal, g	Grasa inguinal, g	Grasa epididimal, g	Grasa perirenal, g	Grasa total, g	Peso hígado, g
1	1	Dieta estándar	1.28	5.67	6.45	1.40	14.80	17.39
1	2	Dieta estándar	0.86	4.23	4.39	1.23	10.71	13.61
1	3	Dieta estándar	1.35	7.63	5.85	1.51	16.34	18.87
1	4	Dieta estándar	1.17	4.69	2.71	1.00	9.57	12.26
1	5	Dieta estándar	0.88	5.47	4.70	1.10	12.15	12.64
1	6	Dieta estándar	0.84	5.21	3.83	0.62	10.50	13.19
1	7	Dieta estándar	2.54	8.01	4.90	1.07	16.52	12.00
2	1	Dieta obesogénica (DO)	0.95	4.22	9.50	1.77	16.44	14.86
2	2	Dieta obesogénica (DO)	1.97	2.59	6.61	1.08	12.25	13.95
2	3	Dieta obesogénica (DO)	1.58	8.04	7.99	1.97	19.58	14.08
2	4	Dieta obesogénica (DO)	1.61	6.24	5.47	1.40	14.72	13.74
2	5	Dieta obesogénica (DO)	1.98	7.39	5.31	0.82	15.50	15.10
2	6	Dieta obesogénica (DO)	1.81	6.10	4.57	1.05	13.53	12.84
2	7	Dieta obesogénica (DO)	1.16	5.66	4.44	0.70	11.96	12.85
3	1	DO + CLA	1.40	2.96	4.90	1.44	10.70	15.14
3	2	DO + CLA	0.49	7.63	8.43	1.92	18.47	14.55
3	3	DO + CLA	1.04	5.53	6.46	1.33	14.36	13.25
3	4	DO + CLA	1.77	8.41	6.79	1.94	18.91	13.70
3	5	DO + CLA	3.24	7.81	5.32	1.08	17.45	13.24
3	6	DO + CLA	1.46	9.76	6.40	1.63	19.25	12.88
3	7	DO + CLA	1.62	7.50	5.09	1.12	15.33	12.47
4	1	DO + Fibrato	1.33	3.74	6.72	1.60	13.39	26.46
4	2	DO + Fibrato	1.67	7.43	6.90	2.34	18.34	25.11
4	3	DO + Fibrato	0.94	4.48	4.74	1.25	11.41	23.59
4	4	DO + Fibrato	1.60	7.23	4.56	1.19	14.58	21.69
4	5	DO + Fibrato	1.03	6.46	4.96	0.87	13.32	23.25
4	6	DO + Fibrato	1.04	9.29	6.71	1.36	18.40	20.47
4	7	DO + Fibrato	1.99	5.59	4.21	0.96	12.75	17.90
5	1	DO + Aceite de oliva	1.70	9.76	7.51	1.86	20.83	20.43
5	2	DO + Aceite de oliva	1.59	5.84	8.61	1.70	17.74	14.14
5	3	DO + Aceite de oliva	0.62	8.52	8.72	2.08	19.94	12.95
5	4	DO + Aceite de oliva	1.10	10.11	7.22	2.13	20.56	12.34
5	5	DO + Aceite de oliva	2.85	12.46	7.40	2.07	24.78	11.14
5	6	DO + Aceite de oliva	1.68	9.55	5.58	1.92	18.73	11.62
5	7	DO + Aceite de oliva	0.34	7.54	3.03	0.85	11.76	9.66
6	1	DO + Aceite de pescado	1.50	9.68	10.13	1.23	22.54	18.25
6	2	DO + Aceite de pescado	1.72	5.55	6.83	1.92	16.02	15.68
6	3	DO + Aceite de pescado	0.53	6.63	8.14	1.18	16.48	16.21
6	4	DO + Aceite de pescado	1.29	8.03	6.39	1.18	16.89	17.21
6	5	DO + Aceite de pescado	1.98	7.93	7.13	1.45	18.49	13.47
6	6	DO + Aceite de pescado						
6	7	DO + Aceite de pescado	2.59	6.34	4.72	0.93	14.58	10.45

T: Tratamiento – R: Repetición

Anexo XI. Expresión génica relativa del PPAR α tras la administración de los tratamientos

Dieta utilizada	Expresión génica PPARα
Dieta estándar	0.004
Dieta estándar	0.104
Dieta estándar	0.602
Dieta obesogénica (DO)	1.000
Dieta obesogénica (DO)	1.000
Dieta obesogénica (DO)	1.000
DO + CLA	1.984
DO + CLA	0.776
DO + CLA	0.296
DO + Fibrato	0.338
DO + Fibrato	0.925
DO + Fibrato	1.896
DO + Aceite de oliva	0.003
DO + Aceite de oliva	1.546
DO + Aceite de oliva	0.480
DO + Aceite de pescado	0.674
DO + Aceite de pescado	4.378
DO + Aceite de pescado	1.058