

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y FIBRATO SOBRE EL PESO,
BIOMETRÍA, ANÁLISIS BIOQUÍMICOS, DEPOSICIÓN DE GRASA
Y EXPRESIÓN GÉNICA EN RATAS OBESAS”**

Presentada por:

JORGE LIANG TAY MAURTUA

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

Lima – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN

**“ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 Y FIBRATO SOBRE EL PESO,
BIOMETRÍA, ANÁLISIS BIOQUÍMICOS, DEPOSICIÓN DE GRASA
Y EXPRESIÓN GÉNICA EN RATAS OBESAS”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO

MAGISTER SCIENTIAE

Presentada por:

JORGE LIANG TAY MAURTUA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Mg. Sc. Víctor Hidalgo Lozano

PRESIDENTE

Ph. D. Carlos Vélchez Perales

PATROCINADOR

Dra. Maria Elena Villanueva Espinoza

MIEMBRO

Dra. Haydee Cárdenas de Jurado

MIEMBRO

DEDICATORIA

*A mis padres, **Jorge** y **Sofía**, por su inagotable motivación,
deseos de superación, humildad y amor infinito
que traspasa fronteras.*

*A mis **abuelos** y **hermana**, por su apoyo constante
e incondicional, increíbles anécdotas compartidas
y sabios consejos de vida.*

*A mis queridas **Águilas Unidas**, por permitirnos
coincidir en un mismo camino, por su inagotable
servicio, amor, pasión y humildad.*

AGRADECIMIENTO

- A mi familia, por ser ejemplo fortaleza, perseverancia, sabiduría, humildad, motivación y amor, a pesar de las distancias geográficas su pasión y energía se encuentra presente en mí día a día.
- Al Dr. Carlos Vílchez Perales, por su amistad, transparencia y grandes enseñanzas, vasta consejería proporcionada e innumerables momentos gratos.
- Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y a su programa nacional de becas, por la oportunidad brindada de continuar mi formación y desarrollo profesional.
- A los miembros del jurado de la presente tesis, Ing. Mg. Sc. Víctor Hidalgo, Dra. Mariaelena Villanueva y Dra. Haydee Cárdenas por su tiempo, enseñanzas, compromiso y retroalimentación dada en mi formación profesional y personal.
- A la Sra. Amelia Chingay, por su apoyo incondicional durante todo el periodo de estudios y coordinaciones académicas, por su apertura, comprensión y amistad.
- A Fabiola Caqui, por su gran apoyo durante el desarrollo de la presente investigación, por su comprensión, palabras de aliento, anécdotas compartidas e incalculables muestras de afecto. A Cristian Uculmana y Mayra Calagua por su gran apoyo durante la planificación, ejecución y discusión de la presente investigación.
- A Vanessa Poquioma por sus grandes enseñanzas, aportes, solidaridad, apertura e intercambio de conocimientos. Al Dr. Marco García por el soporte brindado durante la ejecución de la presente investigación y su sincera amistad.
- A Jennifer Toskano por las facilidades brindadas en la culminación de la presente investigación y formación profesional, por su horizontalidad y constante promoción de la mejora continua.
- A un grupo de personas llenas de amor, que día a día disfrutan de la vida, trabajan y promueven una visión en común, hacer de este mundo, un mundo mejor, donde prime el respeto, amor y el bien común.
- A mi hermosa y prestigiosa Universidad.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Sobrepeso y Obesidad.....	5
2.2 Factores de Transcripción.....	7
2.2.1 Receptores activados por proliferadores de peroxisomas.....	7
a. PPAR- α	9
2.3 Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA).....	10
2.3.1 Aspectos Generales.....	10
2.3.2 Relación Omega-6/Omega-3.....	11
2.3.3 Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3.....	14
2.4 Principales fuentes PUFA n-3.....	15
2.4.1 Aceite de Pescado.....	15
2.4.2 Aceite de Linaza.....	17
2.5 Fármacos relacionados con el tratamiento de dislipidemias.....	18
2.5.1 Estatinas.....	18
2.5.2 Resinas ligadoras de ácidos biliares.....	19
2.5.3 Niacina.....	20
2.5.4 Ezetimiba.....	21
2.5.5 Fibratos.....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1 Lugar de ejecución.....	24
3.2 Instalaciones y Equipos.....	24
3.3 Animales Experimentales.....	25
3.4 Alimentación.....	25
3.4.1. Fase I.....	25

3.4.2	Fase II.....	27
3.5	Tratamientos.....	28
3.6	Sujeción, anestesia y eutanasia.....	28
3.7	Parámetros de Evaluación.....	29
3.7.1	Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento.....	29
3.7.2	Características Biométricas e índices corporales.....	31
a.	Longitud Hocico-Ano (LHA).....	31
b.	Perímetro del cuello (PC).....	31
c.	Perímetro Torácico (PT).....	31
d.	Perímetro Abdominal (PA).....	31
e.	Índice de Lee.....	31
f.	Peso del Hígado.....	32
3.7.3	Análisis Bioquímicos.....	32
a.	Triglicéridos.....	32
b.	Lipoproteínas de alta densidad.....	32
c.	Nivel de Glucosa.....	33
3.7.4	Deposición de grasa.....	33
3.7.5	Evaluación Molecular.....	33
3.8	Diseño Estadístico.....	35
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1	Peso corporal y ganancia de peso.....	36
4.2	Consumo de Alimento.....	39
4.3	Características Biométricas e índices corporales.....	40
4.4	Análisis Bioquímicos.....	43
4.5	Deposición de grasa y Peso de hígado.....	47
4.6	Evaluación Molecular.....	51
V.	CONCLUSIONES.....	56
VI.	RECOMENDACIONES.....	57
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
VIII.	ANEXOS.....	82

ÍNDICE DE CUADROS

Número	Página
1. Composición nutricional del Alimento comercial para ratas.....	26
2. Composición nutricional de la manteca vegetal.....	27
3. Perfil de ácidos grasos de las dos fuentes de omega-3 empleadas.....	27
4. Primers empleados para la expresión génica del PPAR α	34
5. Respuesta obtenida al finalizar el período de inducción a la obesidad (Fase I).....	37
6. Peso Corporal, ganancia de peso y consumo de alimento obtenidos tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	38
7. Características biométricas e índices corporales obtenidos tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	41
8. Perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre obtenida tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	44
9. Peso de tejido adiposo e hígado obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	48
10. Expresión relativa del PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Página
1. Mecanismos de la transcripción génica del PPAR.....	10
2. Vías de biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6.....	12
3. Utilización de la micropipeta en el suministro de los tratamientos.....	25
4. Flujograma de las actividades desarrolladas durante el estudio.....	30
5. Peso corporal obtenido al finalizar el período de inducción a la obesidad (Fase I).....	37
6. Consumo de alimento obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	38
7. Índice de Lee obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II)...	41
8. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sangre obtenidas tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	44
9. Peso de hígado obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).....	48
10. Expresión relativa del PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos.....	52

ÍNDICE DE ANEXOS

Número	Página
I. Perfil de ácidos grasos del Aceite de Pescado.....	83
II. Perfil de ácidos grasos del Aceite de Linaza.....	84
III. Kit comercial empleado para la obtención del perfil lipídico y glucosa.....	85
IV. Diagrama de distribución de los depósitos de grasa en la rata.....	86
V. Registro referido al peso inicial, peso final y ganancia de peso al finalizar el período de inducción a la obesidad.....	87
VI. Registro referido a la longitud hocico-ano, perímetro de cuello y perímetro torácico al finalizar el período de inducción a la obesidad.....	88
VII. Registro referido al perímetro abdominal e índice de Lee al finalizar el período de inducción a la obesidad.....	89
VIII. Registro referido al perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre al finalizar el período de inducción a la obesidad.....	90
IX. Registro referido al peso, ganancia de peso y consumo de alimento tras la administración de los tratamientos.....	91
X. Registro referido a la longitud hocico-ano, perímetro de cuello y perímetro torácico tras la administración de los tratamientos.....	92
XI. Registro referido al perímetro abdominal e índice de Lee tras la administración de los tratamientos.....	93
XII. Registro referido al perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre tras la administración de los tratamientos.....	94
XIII. Registro referido al peso de la grasa abdominal, inguinal y epididimal tras la administración de los tratamientos.....	95
XIV. Registro referido al peso de la grasa perirenal, grasa total e hígado tras la administración de los tratamientos.....	96
XV. Expresión relativa del PPAR α tras la administración de los tratamientos.....	97

RESUMEN

Se evaluaron los efectos de dos fuentes de ácidos grasos omega-3 y fibrato sobre el peso, características biométricas, análisis bioquímicos, deposición de grasa y expresión génica del PPAR α en ratas Holtzamn inducidas a obesidad. El estudio tuvo una duración de 60 días dividida en dos fases (F): **F1**, 30 días de inducción a la obesidad; **F2**, 30 días de asignación de los tratamientos (T). En la segunda etapa, 35 ratas Holtzman macho fueron distribuidas aleatoriamente en 5 tratamientos con 7 repeticiones cada una: T1, dieta estándar (DE) + placebo; T2: dieta obesogénica (DO) + Placebo; T3: DO + aceite de pescado (0.5ml/kg peso); T4: DO + aceite de linaza (0.5ml/kg peso) y T5: DO + fibrato (100mg/kg peso). Al final de cada etapa se tomaron medidas biométricas y muestras de sangre para medir: perfil lipídico y nivel de glucosa. Al término del estudio se sacrificaron los animales, se tomaron muestras de hígado para el análisis de expresión génica, además de extraer tejido adiposo de cuatro diferentes secciones (abdominal, inguinal, perirenal y epididimal). Los datos obtenidos fueron sometidos al proceso ANOVA bajo el Diseño Completamente al Azar y la diferencia de medias se calculó con la prueba LSD utilizando el programa MINITAB. Al finalizar la F1 no se encontraron diferencias ($P>0.05$) para ninguna variable. Por otro lado, al término de la F2 se encontraron diferencias ($P<0.05$) para C-HDL, grasa total, peso del hígado y consumo de alimento; mientras que la expresión relativa del PPAR α a nivel hepático no mostró diferencias ($P>0.05$); sin embargo, el aceite de pescado presentó el mayor valor. En conclusión, las dos fuentes de ácidos grasos omega-3 y el fibrato no generaron diferencias en ninguna variable biométrica, triglicéridos, glucosa y expresión relativa del PPAR α pero sí a nivel C-HDL, grasa total, peso del hígado y consumo de alimento.

Palabras claves: Obesidad, omega-3, fibrato, PPAR α , perfil lipídico.

SUMMARY

The effects of two sources of omega-3 fatty acids and fibrate on biometric characteristics, biochemical analysis, fat deposition and gene expression of PPAR α in Holtzman rats induced to obesity were evaluated. The study divided into two phases (F): F1, 30 days of induction to obesity; F2, 30 days of allocation of treatments (T). In F2, 35 male Holtzman rats were randomly distributed into 5 treatments with 7 repetitions each: T1, standard diet (DE) + placebo; T2: obesogenic diet (DO) + Placebo; T3: DO + fish oil (0.5ml / kg weight); T4: DO + flaxseed oil (0.5ml / kg weight) and T5: DO + fibrate (100mg / kg weight). At the end of each phase, biometric measurements and blood samples were taken in order to determine lipid profile and glucose level. At the end of the study, the animals were euthanized then liver samples were taken for the analysis of gene expression and at the same time adipose tissue from four different sections (abdominal, inguinal, perirenal and epididymal) were extracted. The data obtained were subjected to ANOVA process under the Completely Randomized Design and the difference of means was determined with the LSD test using the MINITAB program. At the end of the F1, no differences were found ($P > 0.05$) for any measured variable. On the other hand, at the end of the F2, differences were found ($P < 0.05$) for HDL-C, total fat, liver weight and food intake; while the relative expression of PPAR α at the liver level showed no differences ($P > 0.05$); however, fish oil presented the highest value. In conclusion, the two sources of omega-3 fatty acids and fibrate did not generate differences in any biometric variables, triglycerides, glucose and relative expression of PPAR α but it did influenced ($P < 0.05$) HDL-C level, total fat, liver weight and food intake.

Key words: Obesity, omega-3, fibrate, PPAR α , lipid profile.

Abreviaturas:

AA: Ácido araquidónico (por sus siglas en inglés)

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AGE: Ácidos grasos esenciales

ALA: Ácido α -linolénico (por sus siglas en inglés)

ChREBP: Proteína de unión al elemento regulador de carbohidratos (por sus siglas en inglés)

DHA: Ácido docosahexaenoico (por sus siglas en inglés)

EPA: Ácido eicosapentaenoico (por sus siglas en inglés)

HSL: Lipasa sensible a hormonas (por sus siglas en inglés)

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

LA: Ácido linoleico (por sus siglas en inglés)

LDL: Lipoproteínas de baja densidad (por sus siglas en inglés)

LXR: Receptor X hepático (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)

RXR: Receptor X retinoide (por sus siglas en inglés)

SM: Síndrome metabólico

SNC: Sistema nervioso central

SREBP: Proteína de unión al elemento regulador del esterol (por sus siglas en inglés)

TG: Triglicéridos

n-3: Omega 3

n-6: Omega 6

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la obesidad es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial debido a su gran impacto en la morbilidad, calidad de vida, gasto sanitario y expansión; su padecimiento está relacionado con la presencia de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Donde éstas son causadas básicamente por un mal direccionamiento de los estilos de vida, como el consumo de una dieta desbalanceada, abuso de alimentos ricos en calorías, sedentarismo, entre otros; conduciendo a un balance energético positivo, que trae como consecuencia el sobrepeso y la obesidad.

Es necesario formular e innovar estrategias, con soporte científico, que permitan reducir los índices de prevalencia de esta condición, ante esta oportunidad en el mundo se ha venido trabajando la inclusión de ciertos ingredientes sobre la dieta, como también la medicación farmacológica; tal es el caso de los ácidos grasos omega-3 y los fibratos quienes actúan como ligandos naturales y sintéticos, respectivamente, sobre receptores nucleares como los PPARs, cruciales en el metabolismo de lípidos y glucosa. Por otro lado, se conoce que los ácidos grasos omega-3, por los componentes nutricionales y funcionales que poseen, son considerados ingredientes con una gran participación en la mejora de enfermedades crónicas debido al papel ejercido sobre la homeostasis energética; sin embargo, los mecanismos de acción y su relación con la expresión génica aún no se encuentran del todo dilucidados.

Por lo expuesto, el **objetivo** del presente trabajo fue evaluar los efectos de dos fuentes de ácidos grasos omega-3 y fibrato sobre el peso, características biométricas, análisis bioquímicos, deposición de grasa y expresión génica del PPAR α en ratas Holtzamn inducidas a obesidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Sobrepeso y Obesidad

La obesidad es un problema de salud pública tanto en los países desarrollados como en países en vías de desarrollo (Chescheir 2011), siendo llamada como la “Epidemia del siglo XXI” por su impacto en la morbimortalidad, la calidad de vida, el gasto sanitario y expansión global (Tarqui-Mamani *et al.* 2013). La OMS define al sobrepeso y obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud; además considera que la obesidad es una epidemia de una enfermedad crónica no transmisible que inicia a edades tempranas con un origen multicausal; donde el 39 por ciento de las personas adultas de 18 a más años padece de sobrepeso, y el 13 por ciento presenta obesidad a nivel mundial (OMS 2017). Países como México, Estados Unidos, Inglaterra, Chile y Canadá presentan las prevalencias más altas de sobrepeso y obesidad en el mundo (Low *et al.* 2009), mientras que países como Japón y Korea presentan las prevalencias de obesidad más bajas (OECD 2017).

En el Perú, el estado nutricional de la población ha tenido un cambio gradual, coexistiendo diferentes formas de malnutrición (déficit y exceso), donde el sobrepeso y obesidad han aumentado en forma progresiva debido a los cambios en la dieta, los estilos de vida de la urbanización y el desarrollo económico. La población en general ha adoptado estilos de vida poco saludables, como el consumo de comida rápida y barata con alto contenido calórico, y paralelamente ha disminuido la actividad física, probablemente por la estabilidad de la economía peruana, lo que se refleja en la mayor capacidad adquisitiva en los hogares. Trayendo como consecuencia cifras donde el 35.5 y 18.3 por ciento de la población mayor a 15 años presenta sobrepeso y obesidad, respectivamente (ENDES 2016).

Conocimientos actuales sobre genética y biología molecular permiten plantear la etiopatogenia de la obesidad como un fenómeno complejo, debido a la heterogeneidad en su origen y a la implicancia de diversos factores genéticos como nutricionales. Siendo

considerada como una condición compleja que implica la desregulación de varios sistemas de órganos y vías moleculares, incluidos el tejido adiposo, hígado, páncreas, tracto gastrointestinal, el microbioma, el sistema nervioso central (SNC) y la genética del individuo (Simopoulos 2016). Estudios recientes sugieren que el desarrollo de la obesidad podría tener su origen en las etapas más precoces de la vida, es decir, durante el período fetal (Jiménez 2013). Además, se ha podido determinar que el riesgo de padecer de obesidad extrema a lo largo de la vida, se multiplica por 7 cuando uno de los progenitores la padece (Hernández 2011). De manera similar, Doo y Kim (2011) reportan que existe evidencia científica suficiente como para establecer en 71 el número de genes identificados como posibles inductores en la aparición de la obesidad.

En cuanto a los cambios en el patrón de alimentación, el incremento en el consumo de alimentos de origen animal con elevado contenido calórico, así como de bebidas carbonatadas constituyen un elemento central que explica el acúmulo excesivo de grasa corporal (Jiménez 2013). Popkin (2006) comenta que la transición nutricional ha progresado con el paso del tiempo, mostrando cambios en los patrones de alimentación y actividad, desde una dieta rica en almidón, baja en grasa y alta en fibra, además de actividad física intensiva a una alta saturación de los alimentos ricos en grasas, alto contenido de azúcar refinada y baja en fibra, además de baja actividad física. El total de calorías, la composición de los alimentos, variedad de los mismos, tamaño y número de comidas diarias representan también factores estrechamente vinculados con la obesidad; donde a esta también se suma la progresiva reducción en los niveles de actividad física. Lo cual se resume en un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas (OMS 2017).

La obesidad reduce la esperanza de vida, quienes la padecen corren el riesgo de morir ocho a 10 años antes, respecto a las personas con un peso normal. De esta manera, tiene un fuerte impacto económico negativo sobre el presupuesto para salud de la población, debido a que es un factor detonante de diversas enfermedades de larga duración y altos costos de atención (García-Rodríguez *et al.* 2010). En términos monetarios, el costo que demanda la obesidad y sus comorbilidades en países del primer mundo alcanzan el 2 y 9,4 por ciento, respectivamente del costo total en salud en países que cuentan con información disponible. En Estados Unidos el costo anual relacionada al uso de los servicios de salud por obesidad - costo directo- aumentó de U\$ 51,6 a U\$ 75 billones desde 1995 al 2003 (Finkelstein *et al.* 2004). Mientras que en países andinos tales como Bolivia, Colombia y Perú muestran un

requerimiento de recursos financieros por un monto aproximado al 25 por ciento de su presupuesto total destinado a salud pública (García-Rodríguez *et al.* 2010).

2.2 Factores de Transcripción

Los factores de transcripción son proteínas que se unen a secuencias específicas de ADN para modificar la transcripción. Esta modificación puede ser directa (por ejemplo, un activador que se une a una región promotora del ADN y a la Pol II para iniciar la transcripción) o indirecta (por ejemplo, que actúa a través de uno o varios cofactores) (Sanders y Mason 2016). Además, Lee y Young (2013) reportan que el alcance y la naturaleza de esta modificación transcripcional varían entre los genes, los factores de transcripción y los tipos de células. Por ejemplo, el tipo y la cantidad de grasa ingerida regula la composición de lípidos y la expresión génica hepática (Jump *et al.* 2005).

Se han identificado varios factores de transcripción hepáticos como posibles dianas para la regulación de ácidos grasos, incluidos los receptores nucleares: familia de receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) α , β , γ_1 y γ_2 , receptor X retinoide (RXR) α , receptor X hepático (LXR) α y factor nuclear hepático (HNF-4) α y γ ; como también factores de transcripción de leucina-cremallera hélice-bucle-hélice (bHLH-LZ): proteína de unión al elemento regulador del colesterol 1 (SREBP-1), proteína de unión al elemento regulador de carbohidratos (ChREBP), entre otros (Botolin *et al.* 2006; Dentin *et al.* 2005; Jump 2004). Los mecanismos que controlan estos factores de transcripción no están del todo claros, pero probablemente implican cambios en el estado de fosforilación del factor de transcripción, que a su vez controla la abundancia y la actividad nuclear del mismo (Jump 2008).

2.2.1 Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR)

Los PPAR son una familia de factores de transcripción nuclear que pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares, comprendida por los receptores de hormonas esteroideas, tiroideas, el receptor de vitamina D y los receptores de retinoides (Alemán *et al.* 2004). Regulan aspectos del metabolismo intermedio, incluyendo características de adipocitos, transporte y eliminación de glucosa, sensibilidad a la insulina, almacenamiento y catabolismo de ácidos grasos e inflamación (Kones y Rumana 2015). Kota *et al.* (2005) mencionan que hasta el momento, se han identificado tres isoformas dentro de la familia

PPARs: el PPAR- α (NR1C1), PPAR- β/δ (NR1C2), PPAR- γ (NR1C3); donde el primero y el tercero son cruciales en el metabolismo de lípidos y glucosa, respectivamente. Aunque la información disponible sobre las funciones de PPAR- β es limitada, estudios recientes han demostrado que también estaría involucrado el metabolismo de la glucosa y la oxidación de ácidos grasos. Considerando a esta isoforma como una opción terapéutica frente a la corrección de trastornos metabólicos y afecciones inflamatorias (Neels y Grimaldi 2014).

Los PPAR se localizan en diversos tejidos, el PPAR- α se encuentra altamente expresado en tejidos metabólicamente activos, principalmente en el hígado, seguido del corazón, músculo esquelético, mucosa intestinal y tejido adiposo marrón; el PPAR- γ se encuentra altamente expresado en el adipocito, seguido del tejido adiposo marrón, intestino y bazo; mientras que el PPAR- β se expresa ubicuamente en prácticamente todos los tejidos, muestra una mayor expresión en el hígado, intestino, riñón, tejido adiposo abdominal y músculo esquelético (Grygiel-Górniak 2014). Donde las isoformas α y β facilitan la combustión de energía, mientras que la isoforma γ contribuye con el almacenamiento de energía mejorando la adipogénesis (Rao *et al.* 2002). Por otro lado, los receptores PPAR se caracterizan por actuar en forma de heterodímeros con el receptor del ácido 9-*cis*-retinoico, unirse al ADN por un elemento de respuesta a PPAR con una secuencia fija e interactuar con proteínas correpressoras y coactivadoras de la expresión génica (Ros y Laguna 2006).

La cavidad de unión Ligando-PPAR es 3-4 veces mayor que la de los otros receptores nucleares. Por lo tanto, los PPAR tienen la capacidad de acomodar y unir variedades de ácidos lipófilos naturales y sintéticos a su estructura, actuando como agonistas o ligandos (Grygiel-Górniak 2014). Carvajal *et al.* (2007) indican que los PPAR son activados por la unión de ligandos naturales derivados de los lípidos de la dieta, como los ácidos grasos poliinsaturados y sus derivados. Sin embargo, también son activados por ligandos sintéticos como los fibratos, las tiazolidinedionas o glitazonas, los antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Según Bishop-Bailey y Wray (2003), los ligandos para el PPAR- α incluyen a los fibratos (relativamente débiles), ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga y leucorieno B4; mientras que los ligandos para el PPAR- γ incluyen a los ácidos grasos libres, algunos eicosanoides, prostaglandinas y tiazolidinedionas (Tenenbaum y Fisman 2012).

a) PPAR- α

Como se ha indicado líneas arriba, fue el primer receptor nuclear activado por proliferadores peroxisómicos identificado (NR1C1) y se expresa mayoritariamente en el hígado. El PPAR- α hepático responde a cambios en la grasa exógena (dietética) como en la grasa recién sintetizada (lipogénesis de novo) (Chakravarthy *et al.* 2005), respuesta que está marcada por cambios en la expresión de múltiples enzimas implicadas en la formación e hidrólisis de ácidos grasos, elongación y desaturación de ácidos grasos, y la oxidación de ácidos grasos (Pawar *et al.* 2003; Tong *et al.* 2006).

Los ligandos naturales o farmacológicos (ácidos grasos omega-3 y fibratos, respectivamente) controlan principalmente la expresión de los genes implicados en el metabolismo de los lípidos (**Figura 1**). Si la concentración de ácidos grasos omega-3 aumenta, se estimula la transcripción de genes regulados por el PPAR- α activando los sistemas de oxidación (Sethi *et al.* 2002). Activación que da como resultado un incremento de la quema de energía y una reducción en el almacenamiento de grasa; mientras que una detección ineficaz del PPAR- α generará todo lo contrario, dando como resultado una esteatosis hepática o también llamado hígado graso (Rao y Reddy 2004). Por otro lado, los ligandos sintéticos del PPAR- α como los fibratos (clofibrato, fenofibrato y bezafibrato) reducen las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LPRTG) a través del incremento de la expresión génica implicada en la β -oxidación de ácidos grasos y una reducción de la expresión de la apolipoproteína C-III (Fruchart *et al.* 2001). Además, de un aumento en la sensibilización a la insulina y los niveles de glucosa en plasma (Neschen *et al.* 2007).

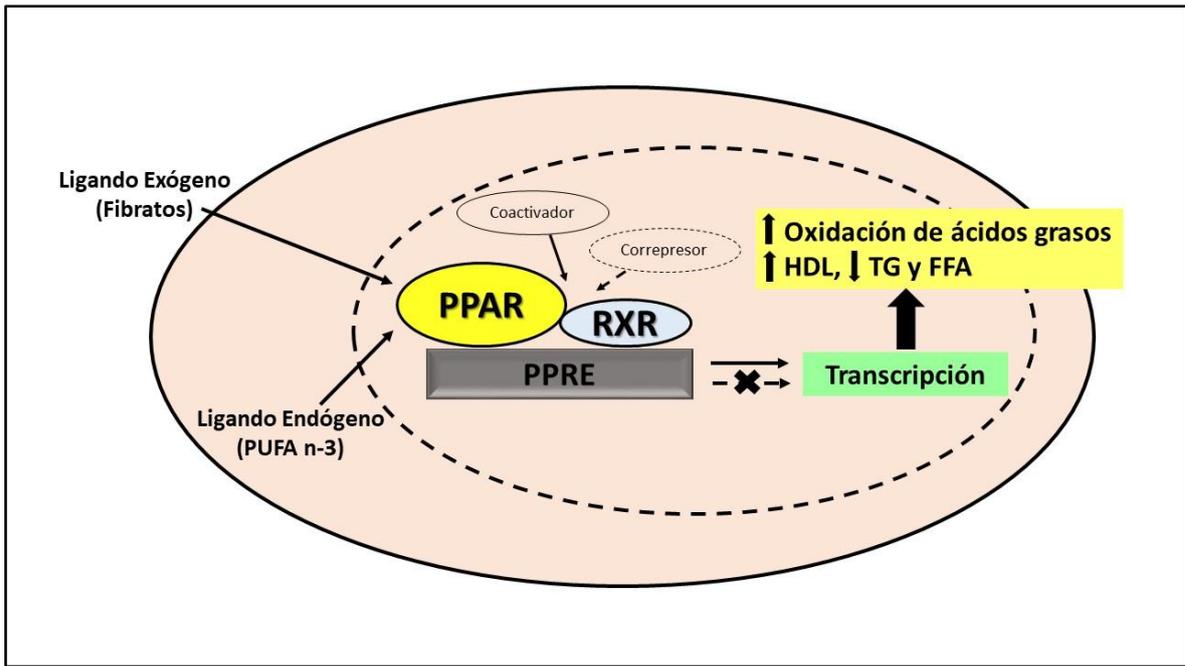


Figura 1. Mecanismos de la transcripción génica del PPAR. Adaptado de Kota *et al.* (2005).

2.3 Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA)

2.3.1 Aspectos Generales

Los ácidos grasos están compuestos de una cadena carbonada que posee un grupo metilo y un grupo carboxilo terminal. Las propiedades de la grasa de la dieta están determinadas principalmente por la composición de sus ácidos grasos, pudiendo ser saturados (sin dobles enlaces) o insaturados (con dobles enlaces) (Roche 1999). Rodriguez-Cruz *et al.* (2005) reportan que los ácidos grasos insaturados pueden ser monoinsaturados (un doble enlace) o poliinsaturados (más de un doble enlace). Además, los ácidos grasos insaturados pueden adoptar dos configuraciones geométricas distintas, denominadas configuraciones cis y trans, las cuales tienen implicancia en la forma y propiedades físicas de la molécula (Roche 1999). Según Carrero *et al.* (2005) los PUFA son categorizados en dos familias: la familia n-6 y la familia n-3, también conocidos como w-6 y w-3, respectivamente. La primera deriva del ácido linoleico (LA), quien cuenta con dos dobles enlaces y se caracteriza por tener su primer doble enlace en el carbono número 6 de la cadena, contando desde el grupo metilo extremo. Por otro lado, la segunda deriva del ácido α -linolénico (ALA), quien cuenta con tres enlaces dobles y cuyos ácidos grasos tienen su primer doble enlace en el carbono número 3 de la cadena. Precisamente, los ácidos grasos con dobles enlaces en las posiciones w6 y w3 (por ejemplo, AL; 18: 2w6 y ALA; 18: 3w3) son considerados ácidos grasos esenciales (AGE)

debido a que no pueden ser sintetizados endógenamente por la especie humana y, por lo tanto, deben proporcionarse en la dieta (Heird y Lapillonne 2005; Carrero *et al.* 2005; Roche 1999). Rodriguez *et al.* (2005) indican que la esencialidad de estos ácidos grasos es debido a que los mamíferos carecen de las enzimas necesarias para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono que se encuentran más allá del carbono 9 a partir del carboxilo terminal. Los diferentes números y posiciones de los dobles enlaces presentes en la cadena carbonada confieren a los ácidos grasos diferentes propiedades fisiológicas, generando así gran importancia sobre la relación entre los ácidos grasos n-3 y n-6 de la dieta (Carrero *et al.*, 2005). Heird y Lapillonne (2005) detallan que dentro del organismo, los AGE se pueden convertir en otros AGE de cadena más larga, a través de procesos sucesivos de desaturación y elongación, rutas que se resumen en la **Figura 2**; el ácido linoleico se metaboliza a ácido araquidónico (AA; 20: 4n-6), mientras que el ALA da lugar al ácido eicosapentaenoico (EPA; 20: 5n-3) y al ácido docosahexaenoico (DHA; 22: 6n-3). Se ha podido identificar la existencia de competencia entre los ácidos grasos n-3 y n-6 por las enzimas de desaturación (Simopoulos 2008).

Además de ser una fuente de energía, las dos familias de PUFAs mencionadas líneas arriba (n-6 y n-3) se incorporan a las membranas celulares como precursores de los eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos) interviniendo en numerosos procesos fisiológicos tales como la coagulación de la sangre o la respuesta inflamatoria e inmunológica (Carrero *et al.* 2005). Cabe mencionar que los eicosanoides derivados de AA son proinflamatorios pero tienen funciones homeostáticas importantes que regulan la promoción como la resolución de la inflamación (Ricciotti y Fitzgerald 2011). Por el contrario, se sabe que los PUFA n-3 y sus derivados de cadena larga principalmente promueven actividades antiinflamatorias (Tai y Ding 2010).

2.3.2 Relación Omega-6/O

Según Das (2006), los PUFA desempeñan un papel importante en la composición de todas las membranas celulares, manteniendo la homeostasis para su correcta función e influir en su fluidez, regulando así los procesos de señalización celular, funciones celulares y expresión génica.

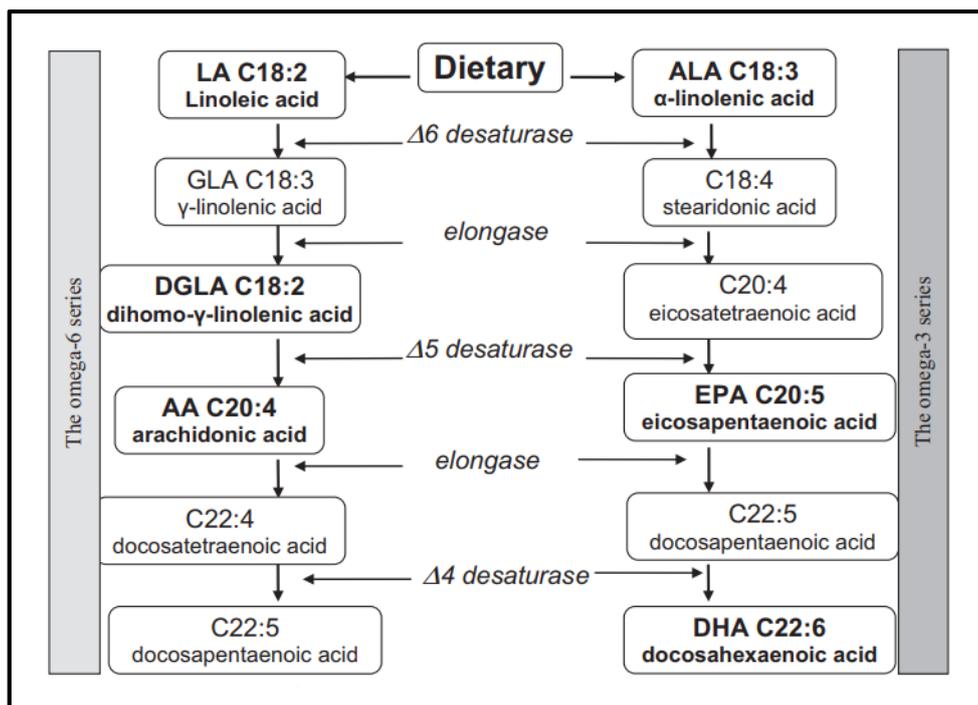


Figura 2. Vías de biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6.

Fuente: Wiktorowska-Owczarek *et al.* (2015).

Los PUFA n-6 y n-3 no son interconvertibles, son metabólica y funcionalmente distintos, y con frecuencia tienen importantes efectos fisiológicos opuestos, por lo tanto, su equilibrio en la dieta es importante (Simopoulos 2016). Dicho equilibrio genera un estado fisiológico menos inflamatorio en términos de expresión génica, metabolismo de prostaglandinas y leucotrienos, como también producción de interleucina-1 (Simopoulos 2008).

Con el paso de los años, los hábitos alimentarios han cambiado drásticamente, provocando así un desequilibrio en la proporción de ácidos grasos poliinsaturados n-6 / n-3 a favor de los PUFA n-6, hecho característico de la dieta occidental (Blasbalg *et al.* 2011; Popkin 2006). Años atrás, Eaton y Konner (1985) atribuyeron este cambio al paso de una dieta paleolítica (anterior a la revolución agrícola, que comprende principalmente carne, pescado, verduras y fruta) a una dieta occidental (durante la era moderna de la revolución postindustrial, con un mayor consumo de granos y azúcares refinados). Dietas contrastadas en cuanto a su relación n-6/n-3, donde la dieta primera presenta un equilibrio perfecto (1:1), mientras que la segunda muestra un profundo desequilibrio a favor de PUFA n-6 (20:1) (Simopoulos 2002).

Antes de la década de 1940, el aceite de hígado de bacalao era ingerido principalmente por los niños como fuente de vitamina A y vitamina D, siendo la dosis habitual de una cucharadita. Una vez que se sintetizaron estas vitaminas, el consumo de aceite de hígado de bacalao se redujo drásticamente, lo que contribuyó aún más a la disminución del consumo de EPA y DHA (Simopoulos 2008). De manera similar Blasblag *et al.* (2011) ilustraron el profundo cambio mostrado en la relación PUFAs durante el último siglo (1909-1999), donde la contribución porcentual de la energía de los PUFA n-6 (LA) aumentó significativamente del 2,79 por ciento al 7,21 por ciento, mientras que la del PUFA n-3 (ALA) aumentó de 0.39 por ciento a 0.72 por ciento; lo cual finalmente contribuyó al aumento de 6.4 a 10.0 en la relación n6/n-3.

Estos cambios en la dieta han afectado negativamente a los parámetros dietéticos; es decir, el consumo de cantidades excesivas de PUFAs n-6 y en consecuencia una mayor relación n-6/n-3, los cuales se encuentran relacionados con la salud, han resultado en un aumento de la obesidad y las enfermedades crónicas, incluidas las enfermedades cardiovasculares (ECV), la diabetes y el cáncer (Jew *et al.* 2009; Konner y Eaton 2010). Resultados que son atribuidos a la mayor cantidad de productos metabólicos eicosanoides formados por el ácido araquidónico (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, etc.) que los formados por el EPA, donde los primeros son biológicamente más activos que los segundos; cambiando el estado fisiológico de la membrana celular a uno proinflamatorio, protrombótico y proagregador, con aumentos en la viscosidad sanguínea, vasoespasmo, vasoconstricción, proliferación celular y enfermedades asociadas a estas afecciones (Simopoulos, 2008; Patterson *et al.* 2012).

De manera contraria, el consumo de mayores niveles de PUFAs n-3 (baja relación n-6/n-3) ejercen efectos supresores (Simopoulos 2002). Existen recomendaciones dietéticas óptimas que mencionan una relación de 1-4:1 entre los PUFA n-6 y n-3 (Olivier *et al.* 2011), mostrando importancia en la salud, prevención y tratamiento de la obesidad (Simopoulos 2016).

2.3.3 Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3

Los PUFA n-3 se pueden encontrar en fuentes marinas como los peces, conteniendo ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA); también en fuentes vegetales

como nueces, semillas y aceites vegetales que contienen ácido α -linolénico (ALA), el cual se puede convertir en EPA y luego DHA por acción de las desaturasas (DeFillippis y Sperling 2006). Ejercen efecto reductor de la grasa a través de una extensa regulación del metabolismo lipídico, inhibiendo la lipogénesis, promoviendo la lipólisis y la oxidación de los ácidos grasos, además de suprimir la diferenciación de los preadipocitos. Por tales efectos son conocidos como factores antiobesidad (Tai y Ding 2010). De manera más específica, el EPA y DHA participan activamente sobre las modificaciones estructurales y funcionales del sistema cardiovascular, las cuales incluyen la mejora de la función cardíaca, disminución de la presión arterial (Fischer *et al.* 2008), función endotelial, inflamación e inmunidad (Calder 2013) y agregación plaquetaria (Reiffel y McDonald 2006). Mientras que el consumo de ALA puede mostrar un papel beneficioso sobre el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Pan *et al.* 2012).

Años atrás se sugería, que los efectos de los PUFA n-3 sobre la lipólisis pueden estar mediados por la perilipina y / o la lipasa sensible a hormonas (HSL). La fosforilación de la primera es requerida para estimular a la HSL y así inducir a sus actividades lipolíticas (Miyoshi *et al.* 2006). Además, Guo *et al.* (2005) reportaron que las tasas de oxidación de ácidos grasos peroxisomales y mitocondriales en adipocitos se ven incrementadas por acción de los PUFA n-3, siendo mediados por el aumento de las actividades enzimáticas relacionadas con la oxidación, como son la carnitina palmitoil transferasa-1, la acil CoA oxidasa, la enoil-CoA hidratasa y la cetoacil-CoA tiolasa. Dichos reportes continúan siendo aceptados; sin embargo, en los últimos años se ha venido trabajando de manera más profunda, identificando que los PUFA n-3 están implicados en la regulación de muchos procesos metabólicos mediante la activación o represión de la expresión de factores de transcripción específicos, pudiendo modificar el metabolismo de los lípidos y carbohidratos, además de regular los procesos inflamatorios (Khaire *et al.* 2015; Lee *et al.* 2014; Calder 2013). La activación de los receptores activados por la proliferación de peroxisomas (PPAR) son responsables del catabolismo lipídico (Grygiel-Gorniak 2014), la supresión de la proteína de unión al elemento regulador del colesterol 1 (SREBP-1) fomenta el mismo efecto; es decir, inhibe la lipogénesis (Nakatani *et al.* 2003). Se tienen reportes que de los tres PUFA n-3 comúnmente encontrados en la dieta, el ALA es un regulador débil de la expresión génica hepática, mientras que el EPA y DHA son fuertes reguladores de la expresión génica hepática (Pawar y Jump 2003).

Las propiedades antiinflamatorias de los PUFA n-3 no son conceptos novedosos y los beneficios de su suplementación dietética están bien documentados en varias enfermedades inflamatorias y autoinmunes, incluida la obesidad (Calder 2013). Sus efectos antiinflamatorios se demuestran por dos puntos de vista: la secreción inhibitoria de mediadores proinflamatorios (Tai y Ding 2010) y la muy reducida migración de macrófagos al tejido adiposo (Kalupahana *et al.* 2011). Cabe mencionar que los mecanismos empleados en la reducción de la grasa corporal estimulados por el consumo de PUFA n-3, como son la prevención de la proliferación de adipocitos, el aumento de la oxidación de ácidos grasos y la inhibición de la lipogénesis hepática pueden ser considerados como una forma indirecta de ejercer sus efectos antiinflamatorios (Wang y Huang 2015). En situaciones de inflamación crónica tienen participación las protectinas y resolvinas, sustancias bioactivas derivadas de EPA y DHA, las cuales presentan una alta capacidad de acelerar la resolución de la inflamación (Serhan 2014; Schwab *et al.* 2007). Los efectos antiinflamatorios anteriormente mencionados actúan a través de la activación de PPAR γ , el cual se encuentra activo a una alta concentración de PUFA n-3 (Krey *et al.* 1997).

2.4 Principales fuentes PUFA n-3

2.4.1 Aceite de Pescado

El aceite de pescado es considerado como la principal fuente natural de PUFA n-3 de cadena larga, es decir, el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20: 5n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22: 6n-3) (Ciriminna *et al.* 2017). Tradicionalmente su obtención se ha dado como subproducto de la industria de harina de pescado, pero en la actualidad, la industria del aceite de pescado ha mostrado mayor atención por los peces más pequeños y con un contenido relativamente alto de grasa (sardina, anchoas y arenque) (Ivanovs y Blumberga 2017). Cabe mencionar, que dentro de una misma especie el contenido de PUFA n-3 del aceite de pescado puede verse influenciado por la temporada y área geográfica de pesca, así como la edad, sexo y dieta (Racine y Deckelbaum 2007). Los mayores contenidos de EPA y DHA están presentes en especies como la sardina, caballa, arenque, anchoa, menhaden, hígado de bacalao y salmón (Khoomrung *et al.* 2014), mientras que los menores contenidos se encuentran en peces de agua dulce como la tilapia y la carpa (Strobel *et al.* 2012).

Numerosos estudios han demostrado que el consumo de aceite de pescado en la dieta mejora la actividad cardiovascular, la respuesta antiinflamatoria, las funciones del sistema nervioso (Shahidi 2015; Ward y Singh 2005) además de la modulación de la expresión génica (Deckelbaum *et al.* 2006); donde los principales gestores de dichos efectos son el EPA y DHA (Yates *et al.* 2014; Fritsche 2006). Tetens (2012) reporta que la ingesta promedio de EPA y DHA en un rango de 250-500 mg al día disminuye el riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria; de manera similar la Organización Mundial de la Salud, desde 2008 recomienda una ingesta diaria de EPA y DHA de 250 mg para la prevención primaria de la enfermedad coronaria y 2 g para una prevención secundaria (FAO/OMS 2008), equivalente a un consumo de al menos 2 porciones/semana de pescado azul (Mozaffarian y Wu 2011).

Hartweg *et al.* (2007) realizaron un metaanálisis donde estudiaron el efecto de PUFA n-3 obtenidos en el mar a nivel de todos los aspectos de los lípidos sanguíneos, obteniendo una reducción del 25% en triglicéridos y 36% en el colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-C), mientras que el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) aumentó ligeramente en un 5.7%. Información que ratifica lo obtenido por otra investigación similar, donde el consumo de pescado mostró una disminución en los triglicéridos de 27% (Balk *et al.* 2006). Un buen patrón dietético rico en frutas, legumbres, verduras, cereales y pescado rico en PUFA n-3, puede disminuir la probabilidad de desarrollar síndrome metabólico (Delavar *et al.* 2009), mientras que un bajo consumo de este último es asociado con una mayor probabilidad de desarrollarlo (Ruidavets *et al.* 2007).

Recientemente, se ha visto un creciente interés en los efectos de diversas relaciones de EPA y DHA sobre las enfermedades crónicas en modelos animales, además se sugiere tener en consideración la relación n-6/n-3 como la relación EPA/DHA al evaluar tales efectos (Shang *et al.* 2017). En una investigación donde se indujo síndrome metabólico (SM) a ratas, se obtuvo que relaciones de 1:1 y 2:1 de EPA/DHA condujo a niveles más bajos de metabolitos inflamatorios y estrés oxidativo, representando así una mejora en los índices de SM, al compararlo con una relación de 1:2 de EPA/DHA (Dasilva *et al.* 2016). Información que reafirma en parte lo obtenido por Molinar-Toribio *et al.* (2015), quienes reportan que la suplementación con EPA/DHA a las proporciones 1:1 y 2:1 disminuyó significativamente la inflamación; sin embargo, la proporción 1:2 disminuyó el estrés oxidativo.

2.4.2 Aceite de Linaza

El lino (*Linum usitatissimum L.*) es considerado como la fuente principal de ácidos grasos omega-3 en vegetales, además es preferido por sus beneficios para la salud en los seres humanos y animales (Thambugala y Cloutier 2014; Pali y Mehta 2014). Por otro lado, la semilla oleaginosa de lino, también conocido como linaza, contiene generalmente entre un 40-50% de aceite y su calidad está determinada en gran medida por su composición de ácidos grasos (Cloutier *et al.* 2010). Muir y Westcott (2003) afirman que el aceite de linaza se compone principalmente de ácido palmítico (PAL, C16: 0; ~ 6%), esteárico (STE, C18: 0~4.4%), oleico (OLE, C18: 1~24.2%), linoleico (LA, C18: 2 ~15.3%) y linolénico (ALA, C18: 3~50.1%). Debido a este último, es que el aceite de linaza cuenta con una reconocida importancia nutricional (Douny *et al.* 2016).

Por otro lado, Damude y Kinney (2008) indican que el ALA y el LA en el aceite de linaza son considerados como ácidos grasos esenciales ya que los seres humanos carecen de enzimas específicas ($\Delta 12$ y $\Delta 15$ desaturasas) que convierten el OLE a AL y este último en ALA. Precisamente este último actúa como precursor de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA), como son el ácido eicosapentaenoico (EPA, C22:5), docosahexaenoico (DHA, C22:6) y araquidónico (AA, C20:4) (Rajwade *et al.* 2010). Sin embargo, dicha conversión endógena es limitada en humanos: entre 0.2 a 8 por ciento de ALA se convierte en EPA (conversión generalmente más alta en mujeres) y entre 0 a 4 por ciento de ALA a DHA (Burdge 2004; Pawlosky *et al.* 2001). De esta manera, los niveles de EPA y DHA en tejidos y circulantes son determinados principalmente por su consumo dietético directo (Mozaffarian y Wu 2011).

Recientemente, la linaza se ha ganado la atención de los investigadores por su contribución en la reducción de muchas enfermedades como la diabetes mellitus, la aterosclerosis, el cáncer (Giada 2010; Demark-Wahnefried *et al.* 2008) y la protección cardiovascular a través de mejoras en el perfil lipídico (Zhao *et al.* 2007). Investigadores como Bloedon y Szapary (2004) atribuyen estos beneficios al ácido linolénico, fitoestrógenos y lignanos contenidos en dicho aceite; que actúan reduciendo ligeramente las concentraciones en suero de colesterol total y lipoproteínas de baja densidad, reduciendo la absorción de la glucosa postprandial, algunos marcadores de la inflamación y aumentando los niveles séricos de ácidos grasos omega-3. Gracias a la presencia de componentes con efectos fisiológicamente

beneficiosos para la salud, la linaza es incluida dentro de los grupos de alimentos funcionales o bioactivos (Hasler *et al.* 2000).

En un estudio en ratas, se evaluó el efecto del aceite de linaza sobre la hiperlipidemia, obteniendo reducciones a nivel de colesterol total y LDL (Akpolat *et al.* 2011). Corazzin *et al.* (2013) reportaron que la inclusión de semillas de linaza en la dieta de toros disminuyó la expresión de genes como la esteroil-CoA desaturasa (SCD) en el tejido subcutáneo y adiposo. De manera similar, Arana *et al.* (2010) reportaron la disminución de la SCD y la acetil-CoA carboxilasa 1 o alfa (ACACA) sobre la expresión de genes en la vía intramuscular y subcutánea en corderos alimentados con una dieta que contenía semillas linaza. Algunos estudios sugieren que el ALA podría tener beneficios cardiovasculares; sin embargo, la evidencia general sigue siendo mixta y no concluyente (Kromhout *et al.* 2010; Wang *et al.* 2006).

2.5 Fármacos relacionados con el tratamiento de dislipidemias

La dislipidemia se caracteriza por altos niveles de lipoproteínas aterogénicas, como es el caso de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) (Ahn y Choi 2015), cuyas elevadas concentraciones son asociadas con un mayor riesgo de infarto de miocardio y muerte vascular (Lewington *et al.* 2007). Mientras que Barter *et al.* (2007) reportan que bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) son asociados con una mayor morbilidad y mortalidad vascular. Existe una mayor controversia entre los niveles de triglicéridos (TG) y los eventos vasculares; sin embargo, niveles elevados de TG parecen estar asociados con un mayor riesgo vascular (Sarwar *et al.* 2007). Ante ello, son utilizados varios agentes para la prevención y tratamiento de enfermedades vasculares al modificar el perfil lipídico, como son las estatinas, las resinas que se unen a los ácidos biliares, la niacina, la ezetimiba y los fibratos (Ridker 2014).

2.5.1 Estatinas

Conocidas como el inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, las estatinas bloquean eficazmente la síntesis de colesterol hepático y reducen el LDL-C en 50% (Koo 2014), siendo consideradas durante las últimas décadas como el tratamiento de primera línea contra la dislipidemia aterogénica (Ahn y Choi 2015), donde la Atorvastatina fue considerada como el fármaco más vendido en el mercado estadounidense

en el año 2010 (Jackevicius *et al.* 2012). Sin embargo, Lim *et al.* (2013) reportan que el riesgo de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica aún persiste en un 60 a 80 por ciento. Siendo este riesgo restante, el causal de eventos vasculares en aproximadamente el 20 por ciento de los pacientes con enfermedad coronaria y bajo el tratamiento con estatinas (Sampson *et al.* 2012). Además, Preiss *et al.* (2011) mostraron que la terapia con estatinas genera un pequeño aumento en el riesgo de desarrollar diabetes; sin embargo, la reducción de los eventos vasculares supera este efecto adverso.

Cabe mencionar que la limitación en el uso de estatinas ha recibido atención en los últimos años, debido a que gran proporción de la población recibe estos medicamentos. De esta manera, el riesgo residual en los usuarios es un problema que no se ha abordado adecuadamente (Kones y Rumana 2015). Además, pacientes con hipercolesterolemia familiar (resulta en un nivel extremadamente alto de LDL-C) y pacientes que son intolerantes o que no responden a las estatinas son obstáculos frente al tratamiento; precisamente la terapia con dosis altas en pacientes intolerantes genera efectos adversos como la miotoxicidad o hepatotoxicidad (Ahn y Choi 2015). En vista de ello, se viene mostrando interés en fármacos no estatinos que generen una mejora significativa en los perfiles lipídicos (Kones y Rumana 2015).

2.5.2 Resinas ligadoras de ácidos biliares

Las resinas ligadoras de ácidos biliares han estado en uso desde la década de 1970. Donde tres de ellas están en el mercado estadounidense: colestiramina, colestipol y colesevelam (Hou y Goldberg 2009). Siendo esta última la resina más nueva y sugerida como un tratamiento alternativo para pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que son intolerantes a las estatinas o tienen una elevada concentración de LDL-C a pesar del tratamiento con estatinas (Tziomalos *et al.* 2009). Estas resinas reducen la concentración de LDL-C con una disminución correspondiente del colesterol total, mientras que la concentración de HDL-C puede aumentar en un 10%; esto debido a que son resinas indigestibles que se encuentran cargadas positivamente y se unen a los ácidos biliares cargados negativamente en la luz intestinal, que luego serán excretados a través de las heces (Insul 2006).

Davidson (2007) reporta que estas resinas disminuyen el colesterol intrahepático al interrumpir la circulación enterohepática de los ácidos biliares, aumentando así la síntesis de

estos a partir del colesterol en el hígado. Además, la reducción de los niveles del colesterol hepático conduce a la activación de la proteína reguladora de la unión elemento esterol 2 (SREBP-2), lo que promueve la transcripción del receptor de LDL, generando la reducción de la concentración de LDL-C en sangre.

El colesevelam tiene mayor capacidad de unión y afinidad a los ácidos biliares que la colestiramina o el colestipol, pudiéndose utilizar en dosis más bajas que las usadas para las otras mencionadas (Davidson *et al.* 1999). La reducción de LDL-C generalmente se encuentra entre el 15 y 18 por ciento, dependiendo de la dosis (Insul *et al.* 2001). Estas resinas pueden aumentar la síntesis de colesterol al afectar la HMG-CoA reductasa, por lo que la combinación con un inhibidor de esta enzima como las estatinas conduce a reducciones sustanciales de LDL-C, además de la reducción de los niveles de triglicéridos (Hou y Goldberg 2009). El uso de las resinas ligadoras de ácidos biliares en la práctica clínica es difícil, debido a los problemas de adherencia relacionados con la mala palatabilidad del fármaco y a la aparición de efectos gastrointestinales (GI) adversos, en particular estreñimiento; sin embargo, el clorhidrato de colesevelam parece mostrar menores efectos gastrointestinales (Davidson 2007).

2.5.3 Niacina

El ácido nicotínico (niacina, vitamina B3) es una vitamina soluble en agua y su papel metabólico es que sirve como precursor de dos coenzimas esenciales, el nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) (Ganji *et al.* 2003). Su uso como agente farmacológico es conocido desde muchos años atrás (Altschul *et al.* 1955) y en los últimos años viene siendo utilizado en el tratamiento de dislipidemias (Taylor *et al.* 2009), debido a su participación en la reducción de las concentraciones de colesterol total, apolipoproteína B, triglicéridos, VLDL-C y LDL-C, e incremento de las concentraciones de HDL-C (Tavintharan y Kashyap 2001). En base a los efectos mencionados, Ganji *et al.* (2003) consideran a la niacina como un agente regulador de lípidos de amplio espectro.

El efecto beneficioso de la niacina para reducir los triglicéridos y las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B (VLDL y LDL) se da a través de dos mecanismos, primero por la disminución de la movilización de ácidos grasos de los depósitos de triglicéridos en el

tejido adiposo (lipólisis), y segundo por la inhibición del hepatocito diacilglicerol aciltransferasa y la síntesis de triglicéridos (Ganji *et al.* 2003). Mientras que el incremento de la concentración del HDL-C está dado por la reducción de la tasa de catabolismo fraccional de la HDL-apo AI (componente proteico del HDL-C) sin afectar las tasas de síntesis (Kamanna y Kashyap 2000).

El uso de la niacina ha sido asociado con efectos adversos (enrojecimiento y toxicidad hepática) (Illingworth *et al.* 1994), donde la niacina estimula la prostaglandina D₂ en la piel, produciendo así la vasodilatación de los vasos sanguíneos y por lo consiguiente síntomas de enrojecimiento, calor y picazón (Cheng *et al.* 2006). Sin embargo, la utilización de nuevas formulaciones de niacina ha demostrado la reducción significativa del enrojecimiento y hepatotoxicidad con efectos sobre el perfil lipídico (Maccubbin *et al.* 2009; Tavintharan y Kashyap 2001), renovando el interés en el uso de la niacina como agente regulador de lípidos de amplio espectro y particularmente al incrementar las concentraciones de HDL-C (Ganji *et al.* 2003).

2.5.4 Ezetimiba

La ezetimiba es un inhibidor selectivo de la absorción del colesterol en el intestino delgado (Dujovne *et al.* 2002). Actúa sobre los enterocitos y posiblemente interactúa con el receptor de la proteína transmembrana Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1), inhibiendo así el transporte de colesterol a los enterocitos (Altmann *et al.* 2004). Recientemente, Jia *et al.* (2011) indican que la ezetimiba inhibe selectivamente alrededor del 50% de la actividad del NPC1L1. Lo que conduce a la reducción de los niveles de colesterol hepático y al incremento de la eliminación del LDL-C en plasma (Hou y Goldberg 2009), produciendo así reducciones de aproximadamente 14 a 25 por ciento en las concentraciones de LDL-C (Davis y Veltri 2007; Knopp *et al.* 2003).

Es utilizada como monoterapia en pacientes intolerantes a las estatinas; sin embargo, presenta un efecto aditivo junto a las estatinas, promoviendo un descenso adicional en la concentración de LDL-C y triglicéridos, además de un aumento en la concentración de HDL-C (Ballantyne *et al.* 2007; Goldberg *et al.* 2004). Estudios de monoterapia informan un descenso del 18,5 por ciento en los niveles de LDL-C y del 8 por ciento en los valores de TG, mientras que un aumento de 3 a 5 por ciento en los niveles de HDL-C (Pandor *et al.*

2009). Hou y Goldberg (2009) reportaron mialgias, molestias gastrointestinales y elevación de transaminasas como efectos secundarios comunes del consumo de medicamentos individuales; sin embargo, dichos efectos son mínimos cuando los medicamentos son combinados.

2.5.5 Fibratos

Los fibratos, agonistas selectivos del PPAR- α , han sido estudiados durante más de 40 años (Acheson y Hutchison 1972). Ros y Laguna (2006) los definen como los ligandos exógenos del PPAR- α (clofibrato, bezafibrato, gemfibrozilo, fenofibrato, etc.), siendo claramente eficaces en la reducción de los niveles plasmáticos de triglicéridos (TG), con pequeños incrementos en los niveles de HDL-C (Birjmohun *et al.* 2005). Torra *et al.* (2001) atribuyen dicha reducción a la mayor captación y oxidación hepática de ácidos grasos, menor producción hepática de la apo CIII (inhibidor de la lipoproteilipasa, LPL) y mayor expresión muscular de la LPL, acelerando de este modo la lipólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LPRTG). Mientras que Blaschke *et al.* (2006) reportan, que la expresión de apo AI y apo AII y de transportadores de colesterol, es asociado con un aumento del HDL-C y el transporte reverso de colesterol. Por otro lado, una mayor absorción y oxidación de los ácidos grasos celulares, junto a una producción más baja de ácidos grasos libres y TG, genera la disminución de la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Plutzky 2011). Además, los fibratos aumentan la afinidad del LDL por el receptor de LDL hepático (LDL-R), reduciendo modestamente los niveles de LDL-C (Kones y Rumana 2015).

Los fibratos poseen un efecto notable sobre la regulación lipídica en pacientes hipertrigliceridémicos ya que pueden reducir los triglicéridos en un 36 por ciento, aumentar en un 8 por ciento los niveles de colesterol HDL (Birjmohun *et al.*, 2005), reducir los niveles de colesterol LDL en 8 por ciento (rango de -5 a -20 por ciento) como también la expresión de citoquinas proinflamatorias, inhibición de la proliferación y migración de células del músculo liso vascular (Kones y Rumana 2015). Siendo la actividad transcripcional del PPAR- α a nivel del tejido hepático la causante de los efectos lipídicos mencionados (Blaschke *et al.* 2006; Staels *et al.* 1998). De esta manera, pueden reducir el riesgo de eventos cardiovasculares mediante la prevención de eventos coronarios, con mayor impacto en individuos de alto riesgo y en aquellos con dislipidemia combinada (Jun, *et al.* 2010).

Se conoce que la adición de un fibrato a una estatina en pacientes con elevados niveles de TG y colesterol puede producir un descenso adicional de LDL-C y TG, además de un incremento de HDL-C en mayores niveles a los obtenidos con cualquiera de los agentes por sí solo (Hou y Goldberg 2009). Un metaanálisis concluyó que la adición de fibrato a una estatina redujo el riesgo relativo en un 10 por ciento para eventos cardiovasculares, 13 por ciento para eventos coronarios y 19 por ciento para eventos coronarios no fatales (Jun *et al.* 2010). Sin embargo, Alsheikh-Ali *et al.* (2004) reportaron precauciones sobre la toxicidad de algunos tipos de fibratos y su combinación con estatinas, donde el gemfibrozil en relación con el fenofibrato aumentó el riesgo de eventos adversos como la rabdomiólisis (desestructuración y necrosis del músculo esquelético) (Graham *et al.* 2004). En un estudio posterior, Jones y Davidson (2005) notificaron que la tasa de rabdomiólisis es aproximadamente 15 veces menor entre una combinación fenofibrato más estatinas que entre una combinación gemfibrozil más estatinas. Además, se ha denominado el uso “esencial” de fibratos en pacientes diabéticos con dislipidemia aterogénica tratados con estatinas, debido a que permiten reducir el riesgo residual generado por las estatinas (Davidson y Toth 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Evaluación Biológica de Alimentos (LEBA), entre febrero y abril del año 2017; mientras que la evaluación molecular, expresión del PPAR- α en hígado, fue realizada en el Laboratorio de Microbiología (LMIC), entre octubre del año 2017 y febrero del año 2018. Ambos lugares detallados pertenecen al Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2 Instalaciones y Equipos

En el estudio se emplearon jaulas individuales, cada una equipada con su respectivo comedero y bebedero, además de una bandeja individual que recibía las excretas, aquellas que eran retiradas diariamente. Las jaulas estuvieron en una habitación a temperatura ambiente, donde la renovación del aire fue constante gracias al empleo de ventiladores y extractores. Hubo un control manual de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad durante todo el periodo de evaluación.

El control de peso de los animales y del alimento, fueron obtenidos empleando balanzas electrónicas de alta precisión (marcas JBC[®] y HENKEL[®], respectivamente). Mientras que la preparación de la dieta obesogénica (Extracto etéreo: 20.00%, Proteína: 14.50%) se realizó empleando una mezcladora marca HOBART[®]. El suministro de los tratamientos a las ratas se realizó con ayuda de una micropipeta de 20-200 μ l con una imprecisión de 12 μ l (**Figura 3**). La evaluación del perfil lipídico en sangre (Triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad, HDL) fue realizado con el equipo Mission[®] Cholesterol Monitoring System, mientras que el nivel de glucosa en sangre empleando el On Call[®] Advanced Blood Glucose Monitoring System, ambos de la marca ACON. Para la necropsia de las ratas se emplearon equipos de disección, hojas de bisturí, tijeras, guantes y bolsas descartables.



Figura 3. Utilización de la micropipeta en el suministro de los tratamientos.

3.3 Animales Experimentales

Se emplearon 35 ratas macho de la raza Holtzman con 45 días de edad con un peso promedio de 187.91 gramos, procedentes del Bioterio, perteneciente al Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, siendo distribuidos al azar en cinco (5) tratamientos con siete (7) repeticiones por tratamiento, obteniendo 35 unidades experimentales (jaulas), con una rata cada una.

3.4 Alimentación

La duración del ensayo biológico fue de 60 días, el cual tuvo el siguiente cronograma de alimentación:

3.4.1 Fase I:

Consistió en proveer a los animales una base alimenticia común (Dieta Obesogénica, DO) de manera controlada y agua de mesa envasada (INDDA[®]) *ad libitum* durante un período de 30 días, tuvo la finalidad de inducir a la obesidad a los animales en evaluación gracias a su

alto contenido de energía y grasas saturadas. La dieta obesogénica contó con 20.00% de extracto etéreo y 14.50% de proteína.

Preparación de Dieta Obesogénica (DO): La dieta en mención fue proporcionada a los animales durante la Fase I, fue preparada en el Bioterio teniendo como bases alimenticias al alimento comercial o dieta estándar (DE) para ratas fabricado por el Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina y a la manteca vegetal (Tropical®). La composición química y valor nutricional del alimento comercial para ratas y la manteca vegetal reportado en el etiquetado de los mismos se muestran en el **Cuadro 1 y 2**, respectivamente.

Para obtener la dieta con 20.00% de extracto etéreo, se mezcló de manera homogénea el alimento comercial (85% w/w) y la manteca vegetal (15% w/w), empleando una mezcladora HOBART®, la mezcla obtenida fue colocada en un recipiente y se conservó en un ambiente fresco. Aproximadamente 2000 g. de DO fueron preparados cada dos días siguiendo los procedimientos mencionados anteriormente (ej. se mezclaron 1700 g. de DE con 300 g de manteca vegetal).

Cuadro 1. Composición nutricional del Alimento comercial para ratas

Componente	Contenido
Energía Metabolizable, Kcal/Kg	2900
Proteína Digestible mín., %	17.00
Grasa máx., %	6.00
Fibra máx., %	4.00
Humedad máx., %	14.00
Lisina Digestible mín., %	0.92
Met+Cis Digestible mín., %	0.98
Fosforo Disponible mín., %	0.37
Calcio mín., %	0.63

Fuente: Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos-UNALM; compuesto por harina de maíz, torta de soya 48, harina integral extruida de soya, subproductos de trigo, aceite de palma, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, cloruro de colina 60%, cloruro de sodio, aminoácidos sintéticos, premezcla Vit-Mín., antioxidantes y antifúngicos.

Cuadro 2. Composición nutricional de la manteca vegetal

Componente	Contenido
Energía Metabolizable, Kcal/Kg	9000
Proteína Digestible mín., %	0.00
Grasa máx., %	100.00
Fibra máx., %	0.00
Humedad máx., %	0.00
Lisina Digestible mín., %	0.00
Met+Cis Digestible mín., %	0.00
Fosforo Disponible mín., %	0.00
Calcio mín., %	0.00

Fuente: Tropical®

3.4.2 Fase II:

Consistió en la asignación y administración de los tratamientos de manera controlada, provisión de agua *ad libitum* durante un período de 30 días. La administración diaria de los aceites (pescado y linaza), fenofibrato (Controlip®) y agua (placebo) se realizó a las 11:30 am utilizando una micropipeta de 20-200 ul. El perfil de ácidos grasos de las fuentes de omega-3 empleadas se muestra en el **Cuadro 3** y es detallado en los **ANEXOS I y II**, mientras que el fenofibrato empleado tuvo una concentración de 160mg y fue distribuido bajo el nombre de Controlip®, producto producido por Abbott Laboratorios.

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos de las dos fuentes de omega-3 empleadas

Ácidos Grasos, g/100g de muestra	Aceite de Pescado	Aceite de Linaza
Ácidos grasos trans	< 0.011	< 0.011
Ácidos grasos Omega 3	36.565	59.601
Ácidos grasos Omega 6	3.296	13.678
Ácidos grasos Omega 9	17.53	18.111
Ácidos grasos EPA	10.753	< 0.014
Ácidos grasos DHA	24.413	< 0.038
Ácidos grasos EPA + DHA	35.166	< 0.014

Fuente: CERPER S. A. (Aceite de pescado-SunDown®; Aceite de linaza-Gatti®)

3.5 Tratamientos

Luego de haberse culminado los primeros 30 días de evaluación (Fase I, inducción a la obesidad), los animales fueron seleccionados al azar y asignados aleatoriamente a uno de los siguientes cinco (5) tratamientos:

- **Tratamiento 1:** Dieta comercial o estándar (DE) + Agua (placebo)
- **Tratamiento 2:** Dieta obesogénica (DO) + Agua (Placebo)
- **Tratamiento 3:** DO + Aceite de Pescado (0.5 ml/kg Peso*)
- **Tratamiento 4:** DO + Aceite de Linaza (0.5 ml/kg Peso*)
- **Tratamiento 5:** DO + Fenofibrato (100mg/kg**)

*La determinación de la dosis respectiva para cada tratamiento y repetición se realizó a partir del peso promedio obtenido entre todos los animales al iniciar la fase II de la evaluación. El peso promedio de los animales fue de 302 g, de esta manera la dosis aplicada al T3 y T4 fue de 151 ul de aceite/ animal/ día. **Dosis alta de fenofibrato empleada en ratas (Osada *et al.* 2014).

3.6 Sujeción, anestesia y eutanasia

Durante la conducción de la presente investigación, en muchas de las actividades que la involucran, se establecieron intervenciones que controlasen el posible dolor y sufrimiento generado durante cada procedimiento. De esta manera, la manipulación y sujeción de los animales se realizó siguiendo las recomendaciones propuestas por Mourelle *et al.* (2013) y Maurer *et al.* (2008).

En cuanto a la anestesia, se estableció un protocolo pre-anestésico el cual consistió en someter a un ayuno de 12 horas, realizar una revisión clínica y pesaje de los animales. Establecido el estado clínico favorable de los mismos, se ejecutó un protocolo de anestesia general en base a Xilacina al 2% (Dormi-Xyl[®] 2) y Ketamina al 10% (Halatal[®] KT), los cuales fueron aplicados en una sola toma por vía intraperitoneal a razón de 5 mg/Kg P.V. y 60 mg/Kg P.V., respectivamente. Teniendo un tiempo de acción de 30 a 45 minutos (Sarradell *et al.* 2010). Los protocolos en mención fueron realizados al término de las 2 fases de evaluación, día 30 y 60 de la investigación.

Sobre la eutanasia, fue realizada el día 60 de la investigación, luego de realizar las actividades programadas con los animales anestesiados. Se aplicó una sobredosis de pentobarbital sódico a razón de 60mg/Kg P.V. por vía intracardiaca (al considerar la medición de la grasa abdominal post-mortem). La eutanasia con barbitúricos es considerado un método aceptable (Donovan y Brown 2005). Al finalizar la realización de las actividades vinculadas con la disección de órganos y tejidos, se procedió con la remoción los desechos orgánicos generados, siendo eliminados siguiendo las normativas establecidas por la Oficina de Gestión Ambiental de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.7 Parámetros de Evaluación

La presente investigación evaluó diferentes parámetros de interés, siendo realizados en momentos pertinentes, los cuales son detallados líneas más abajo. El flujograma que detalla las actividades realizadas durante las fases de evaluación se muestra en la **Figura 4**.

3.7.1 Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento

a) Peso Corporal

Se tomó el peso de los animales en tres oportunidades, siendo expresado en gramos: el día de la recepción (día 0), al inicio de la Fase II (donde se realizó la homogenización de los pesos, para luego darse la distribución al azar en los tratamientos) y al finalizar la Fase II.

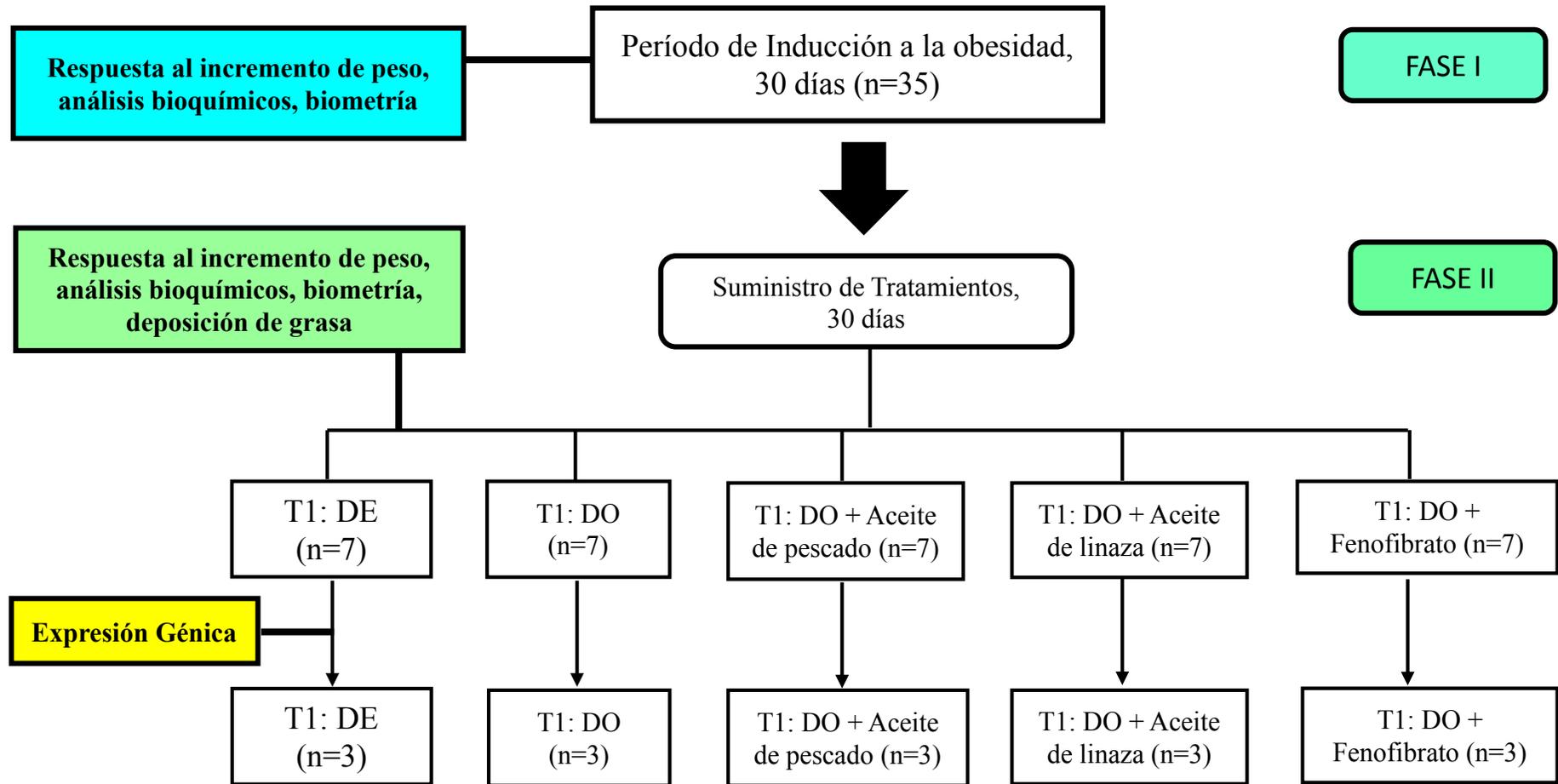
b) Ganancia de Peso (GP)

Obtenida a partir de la diferencia entre el peso final y el peso inicial de la Fase I y II, siendo expresada en gramos.

c) Consumo de Alimento

El consumo de alimento se cuantificó diariamente de manera indirecta, ya que se pesó el residuo y desperdicio del alimento encontrado 24 horas después de haberlo proporcionado. La cuantificación del consumo se llevó a cabo durante toda la Fase II de la evaluación, haciendo uso de una balanza analítica de precisión de 0.001 g (HENKEL®).

Figura 4. Flujograma de las actividades desarrolladas durante el estudio.



3.7.2 Características Biométricas e índices corporales

Se realizaron las siguientes medidas biométricas e índices corporales:

a) Longitud Hocico-Ano (LHA)

Medición obtenida al posicionar al animal de manera recta sobre una base plana, tomando la longitud representada desde el hocico hasta el ano, empleando un vernier profesional (Cossio *et al.* 2010). Dicho parámetro fue obtenido cuando los animales se encontraban anestesiados; es decir, al iniciar y finalizar la Fase II. Siendo expresado en centímetros.

b) Perímetro de cuello (PC)

Medición obtenida inmediatamente antes de la pata delantera del animal, empleando una cinta métrica convencional. Dicho parámetro fue obtenido cuando los animales se encontraban anestesiados; es decir, al iniciar y finalizar la Fase II. Siendo expresado en centímetros (Elaboración propia).

c) Perímetro Torácico (PT)

Medición obtenida inmediatamente detrás de la pata delantera del animal, empleando una cinta métrica convencional (Angélico *et al.* 2012). Dicho parámetro fue obtenido cuando los animales se encontraban anestesiados; es decir, al iniciar y finalizar la Fase II. Siendo expresado en centímetros.

d) Perímetro Abdominal (PA)

Medición obtenida inmediatamente antes de la pata posterior del animal, empleando una cinta métrica convencional (Angélico *et al.* 2012). Dicho parámetro fue obtenido cuando los animales se encontraban anestesiados; es decir, al iniciar y finalizar la Fase II. Siendo expresado en centímetros.

e) Índice de Lee

Este índice fue utilizado por Resende *et al.* (2016) y se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso corporal (g)}}}{\text{Longitud Hocico Ano (cm)}}$$

Es ampliamente utilizado en investigaciones como un predictor de obesidad, para lo cual una valor igual o menor a 0.300 fue considerado como normal, mientras que un valor mayor a 0.300 fue considerado como obeso (Bernardis y Patterson 1968; Lobato *et al.* 2012).

f) Peso del Hígado

Después de la eutanasia e iniciada la disección, se extrajeron las vísceras. El hígado fue lavado con una solución salina (cloruro de sodio al 0.9%) manteniendo su integridad, para luego tomar su peso, el cual fue expresado en gramos.

3.7.3 Análisis Bioquímicos

Las siguientes variables fueron obtenidas mientras los animales se encontraban bajo efecto de la anestesia; es decir, al iniciar y finalizar la Fase II. La muestra de sangre fue tomada luego de realizar un pequeño corte en la parte final de la cola (Parasuraman *et al.* 2010; Fluttert *et al.* 2000). Los valores obtenidos en cada tratamiento fueron enfrentados con los obtenidos en el grupo control para cada variable en evaluación.

a) Triglicéridos

Se determinó la concentración sanguínea de triglicéridos (TG) empleando el equipo Mission[®] Cholesterol Monitoring System y el kit de diagnóstico Test Devices - 3-1 Lipid Panel (N° Cat. C131-2041), el cual sigue la metodología de reflectometría. Los valores se expresaron en miligramos por decilitro (mg/dL). La información relacionada a éste kit comercial es detallado en el **ANEXO III**.

b) Lipoproteínas de alta densidad

Se determinó la concentración sanguínea de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) empleando el equipo Mission[®] Cholesterol Monitoring System y el kit de diagnóstico Test Devices - 3-1 Lipid Panel (N° Cat. C131-2041), el cual sigue la metodología de reflectometría. Los valores se expresaron en miligramos por decilitro (mg/dL). La información relacionada a éste kit comercial es detallado en el **ANEXO III**.

c) Nivel de Glucosa

Se determinó la concentración sanguínea de glucosa empleando el equipo On Call® Advanced Blood Glucose Monitoring System y el kit de diagnóstico On Call® Advanced Blood Glucose Test Strips (N° Cat. G134-101), el cual sigue la metodología de la catalización selectiva de la oxidación de glucosa. Los valores se expresaron en miligramos por decilitro (mg/dL). La información relacionada a éste kit comercial es detallado en el **ANEXO III**.

3.7.4 Deposición de grasa

Después de la eutanasia e iniciada la disección de los animales, se procedió con la visualización anatómica de diferentes localizaciones de tejido adiposo propuesto por Ma *et al.* (2016). De esta manera se tomó el peso (expresado en gramos) de las siguientes localizaciones de tejido adiposo: grasa abdominal, grasa inguinal, grasa epididimal, grasa perirenal y grasa total, siguiendo el diagrama de distribución de los depósitos de grasa identificados por Cinti (2002), el cual se muestra en el **ANEXO IV**.

3.7.5 Evaluación Molecular

Luego de realizar los procedimientos de eutanasia y necropsia, se realizó la disección del hígado de cada animal, a partir del cual se tomó una muestra de 200mg, adicional a ello una muestra fue conservada en nitrógeno líquido de acuerdo a las recomendaciones de Bagul *et al.* (2012) y Mohammadi *et al.* (2014). El procedimiento realizado sobre la muestra de hígado fue hacer cortes en tiras, las cuales fueron colocadas en tubos de 15 ml a los que se le agregó el reactivo RNA later (Invitrogen®) bajo una proporción 1:3 por un período de 24 horas a temperatura ambiente. Pasado dicho período se decantó el exceso de reactivos y las muestras fueron conservadas a -20°C para su posterior análisis.

En cuanto a la extracción de ARN, se siguió la metodología del reactivo Trizol (*Invitrogen, Carlsbad, CA, USA*). Se realizó la verificación de cantidad y calidad de ARN por espectrofotometría (*Nanodrop One*) y electroforesis. Se emplearon los índices de pureza 260/280 y 260/230 (relaciones de absorbancia de ácidos nucleicos corregidas) como indicadores de calidad del ARN, donde ratios cuyo valor se encontraron entre 1.8 a 2.0 para el primero y entre 1.8 a 2.2 para el segundo fue aceptado como “puro”, mientras que valores por debajo de los rangos mencionados indicaron posible contaminación (Thermo Fisher

Scientific, 2016). Ante ello, se empleó un kit de limpieza de posibles trazas de ADN (*TURBO DNA-free kit*) que hubiesen quedado tras la extracción, para luego volver a verificar la calidad de las muestras por espectrofotometría.

Siguiendo con los procedimientos, se realizó la generación de las cDNA (DNA complementario) a partir de las muestras de ARN empleando el kit *High-capacity cDNA Reverse transcription*[®], con la finalidad de realizar el ensayo de expresión mediante PCR a tiempo real, para lo cual se siguieron 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 (PPAR α), para lo cual fueron estandarizados los protocolos de PCR a una temperatura de melting de 60° para ambas PCR. A fin de asegurar la calidad de los 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 con ayuda del programa bioinformático: REST 2009 (Relative Expression Software Tool) de Qiagen. El cual se basa en el método de cuantificación relativa de Pfaffl (Pfaffl *et al.* 2002), que consiste en normalizar los datos con el gen de referencia utilizando el valor de las eficiencias de cada gen. En el presente estudio, el gen de interés fue el PPAR α . Los primers (cadenas de ácidos nucleicos que sirven como punto de partida para la replicación del DNA) empleados para la expresión génica del PPAR α son descritos en el **Cuadro 4**.

Cuadro 4. Primers empleados para la expresión génica del PPAR α

Genes	Forward (Hacia adelante)	Reverse (Hacia atrás)	Tamaño de fragmento
PPARα ^a	5'-AATCCACGAAGCCTACCTGA-3'	5'-GTCTTCTCAGCCATGCACAA-3'	132
18S ^b	5'-GGAGAGGGAGCCTGAGAAAC-3'	5'-CAATTACAGGGCCTCGAAAG-3'	128

Fuente: ^aLi *et al.* (2014); ^bZhang *et al.* (2016).

3.8 Diseño Estadístico

En el ensayo se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco tratamientos y siete repeticiones. El análisis de varianza de los datos registrados se llevó a cabo aplicando el procedimiento ANOVA utilizando el programa MINITAB versión 17. Mientras que la comparación de medias se realizó a través de la prueba LSD. En todos los casos se empleó un nivel de significancia de 0.05 para detectar diferencias significativas.

El Modelo Aditivo Lineal es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = es la respuesta observada bajo el i-ésimo tratamiento.

μ = Efecto de la media general del experimento.

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento ($i = 1, 2, 3, 4, 5$)

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental en el i-ésimo tratamiento.

De manera similar, para el análisis estadístico de los resultados de expresión génica (qRT-PCR) se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco tratamientos y tres repeticiones. Se utilizó la Prueba de Dunnett para las comparaciones múltiples como parte del ANOVA. La comparación de las medias de todos los tratamientos fue frente al tratamiento control (T2), el cual a la vez fue considerado como un tratamiento. El programa estadístico empleado fue el GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc.). Se empleó un nivel de significancia de 0.05 para detectar diferencias significativas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos al finalizar el período de inducción a la obesidad (Fase I), se muestran en el **Cuadro 5** y en los **ANEXOS V, VI, VII y VIII**. De manera particular el peso corporal obtenido en esta fase se muestra en la **Figura 5**.

Para todos los parámetros evaluados, peso corporal, ganancia de peso, características biométricas (LHA, perímetro del cuello, perímetro torácico, perímetro abdominal e índice de Lee) y análisis bioquímicos (concentración sanguínea de triglicéridos, HDL-C y glucosa) no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$). Resultados que eran esperados debido a que todos los animales durante esta fase de evaluación recibieron una base alimenticia común (Dieta obesogénica); es decir, no se incorporó ninguna fuente de variación; permitiendo así dar inicio a la Fase II de manera homogénea. Además, la información obtenida permite inferir que las posibles fuentes de variación como son el ambiente o el manejo operativo realizado sobre los animales no generaron efecto de importancia estadística.

Los resultados obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) en el presente trabajo, se muestran en los **Cuadros 6, 7, 8, 9 y 10**.

4.1 Peso corporal y ganancia de peso

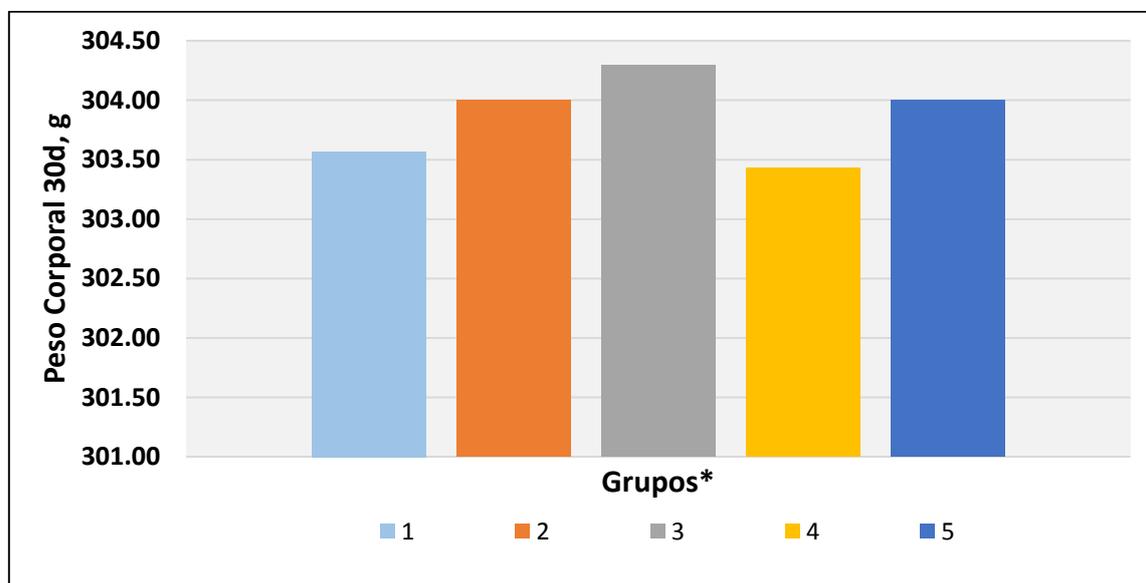
Los resultados de peso corporal y ganancia de peso obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 6** y en el **ANEXO IX**, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en peso corporal y ganancia de peso entre tratamientos. Sin embargo, se puede observar una tendencia en que los grupos de animales donde se incorporó las fuentes PUFA n-3 además de una dieta rica en grasas saturadas (T3 y T4) presentaron mayores valores para las variables en mención.

Cuadro 5. Respuesta obtenida al finalizar el período de inducción a la obesidad (Fase I).

Variables	Grupos*					Probabilidad P>F
	1	2	3	4	5	
Peso corporal, Inicial (g)	191.00	183.57	192.00	189.00	184.00	0.815
Peso corporal, Final (g)	303.57	304.00	304.29	303.43	304.00	1.000
Ganancia de peso, g	112.57	120.43	112.29	114.43	120.00	0.797
Características Biométricas						
LHA,30d (cm)	19.73	20.10	19.47	19.58	19.77	0.714
Perímetro del Cuello, cm	10.32	10.04	10.00	9.97	10.00	0.934
Perímetro Torácico, cm	13.57	13.14	13.38	13.43	13.65	0.737
Perímetro Abdominal, cm	14.30	14.14	14.67	14.53	13.92	0.640
Índice de Lee, 30d	0.339	0.335	0.346	0.343	0.342	0.743
Análisis Bioquímicos						
Triglicéridos, 30d (mg/dL)	67.00	63.40	63.20	65.80	64.40	0.987
HDL-C, 30d (mg/dL)	21.50	24.40	21.20	23.00	24.60	0.509
Glucosa, 30d (mg/dL)	89.33	78.71	81.33	80.14	91.33	0.518

*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).

Figura 5. Peso Corporal obtenido al finalizar el período de inducción a la obesidad (Fase I).



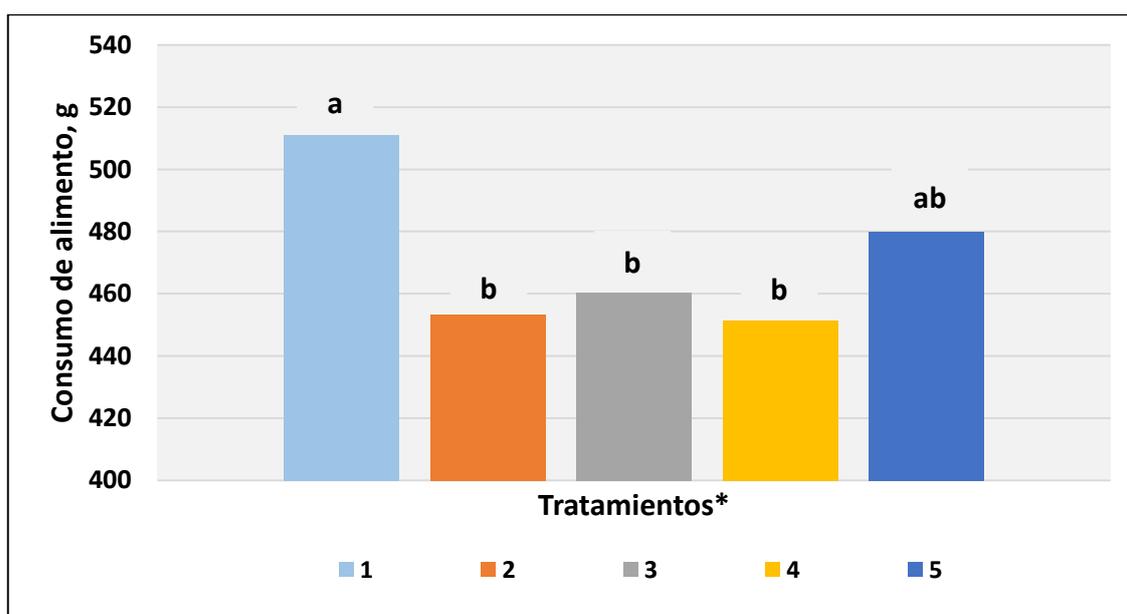
*En todos los casos, al realizarse la prueba ANVA entre los grupos, el P-value fue mayor a 0.05.

Cuadro 6. Peso corporal, ganancia de peso y consumo de alimento obtenidos tras la administración de los tratamientos (Fase II).

Variables	Tratamientos*					Probabilidad P>F
	1	2	3	4	5	
Peso corporal Final, g	361.57	370.57	386.83	374.43	365.29	0.604
Ganancia de Peso 30-60d, g	58.00	66.57	78.67	71.00	61.29	0.054
Consumo de Alimento, g	511.00 ^a	453.40 ^b	460.47 ^b	451.51 ^b	479.86 ^{ab}	0.023

^{a, b}: Valores con letra distinta como superíndice en una misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$). *T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Figura 6. Consumo de alimento obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).



^{a, b}: Barras con letra distinta como superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$). *T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

El grupo de animales que no recibió una dieta rica en grasas saturadas y la no suplementación de alguna fuente PUFA n-3 presentaron los valores más bajos. Resultados similares a los obtenidos por Kopf *et al.* (2014) quienes reportaron la no presencia de diferencias significativas en el peso corporal de las ratas en evaluación. Además, muestran una tendencia similar a la obtenida en el presente estudio, donde el grupo de animales que recibió una dieta estándar y una dieta rica en fructosa con inclusión de fenofibrato mostraron los menores pesos corporales al compararlos con el grupo que consumió exclusivamente una dieta rica en fructosa. Recientemente, Chiu *et al.* (2017) quienes estudiaron el papel del aceite de pescado y quitosano sobre la expresión proteica de factores de transcripción tampoco encontraron diferencias significativas en el peso corporal de ratas alimentadas con una dieta obesogénica suplementada con aceite de pescado y alimentadas exclusivamente con una dieta obesogénica; sin embargo, se muestra un mayor peso corporal en el grupo que recibió el aceite de pescado, resultado similar al obtenido en el presente estudio. Caso contrario a los resultados obtenidos por Thorsdottir *et al.* (2007), quienes a través de la restricción calórica a nivel de la dieta sumada a la inclusión de aceite de pescado obtuvieron una mejora en la pérdida de peso, siendo asociado este efecto a la generación de una mayor saciedad por parte de los PUFA n-3 y al papel regulador que presentan sobre la expresión génica del metabolismo lipídico.

De esta manera, tales resultados sugieren que el aceite de pescado como otras fuentes PUFA n-3 ejercen efectos reguladores sobre el metabolismo lipídico de ratas obesas, al generar alteraciones como la inhibición de los receptores hepáticos X- α (LXR α) y la activación del PPAR- α , afectando así la expresión de genes asociados a la lipogénesis hepática y fomentando la expresión de genes vinculados con la oxidación lipídica, respectivamente (Chiu *et al.* 2017); es decir, un efecto más allá de la pérdida peso corporal, especialmente cuando se trabaja con dietas altas en energía.

4.2 Consumo de Alimento

Los resultados de consumo de alimento obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 6**, en la **Figura 6** y en el **ANEXO IX**. Se obtuvo diferencias significativas ($P < 0.05$) en el consumo de alimento, donde el grupo de animales que recibió una dieta estándar (T1) presentó el mayor consumo de alimento, mientras que los menores valores fueron obtenidos en los grupos de animales que recibieron

el suministro de aceite de linaza (T4) y dieta obesogénica (T2). El menor consumo de alimento obtenido por parte de los grupos de animales que recibieron la dieta obesogénica, además de la inclusión de PUFA n-3, es similar a lo reportado por Thorsdottir *et al.*, (2007) quienes concluyen que el consumo de PUFA n-3 modula la saciedad posprandial en individuos con sobrepeso y obesidad, reduciendo así el posterior consumo de alimentos. Años más tarde, Watanabe *et al.* (2009) y Pimentel *et al.* (2012) concluyeron que el consumo de una dieta hiperlipídica enriquecida con PUFA n-3 aumentó la actividad neuronal de los sitios hipotalámicos anorexigénicos, lo cual explica el bajo consumo de alimento obtenido en los grupos de animales que recibieron la inclusión de una fuente PUFA n-3. Por otro lado, los resultados obtenidos por Chiu *et al.* (2017) no alcanzaron a obtener diferencias significativas sobre consumo de alimento entre tratamientos evaluados; sin embargo, el grupo de animales que recibió una dieta estándar tendió a consumir más alimento que los grupos cuya base alimenticia fue una dieta obesogénica y ésta última suplementada con aceite de pescado.

4.3 Características Biométricas e índices corporales

Los resultados referidos a las características biométricas e índices corporales obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 7** y en los **ANEXOS X y XI**. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para ninguna de las variables biométricas trabajadas. De manera particular el índice de Lee obtenido tras la administración de los tratamientos se muestra en la **Figura 7**.

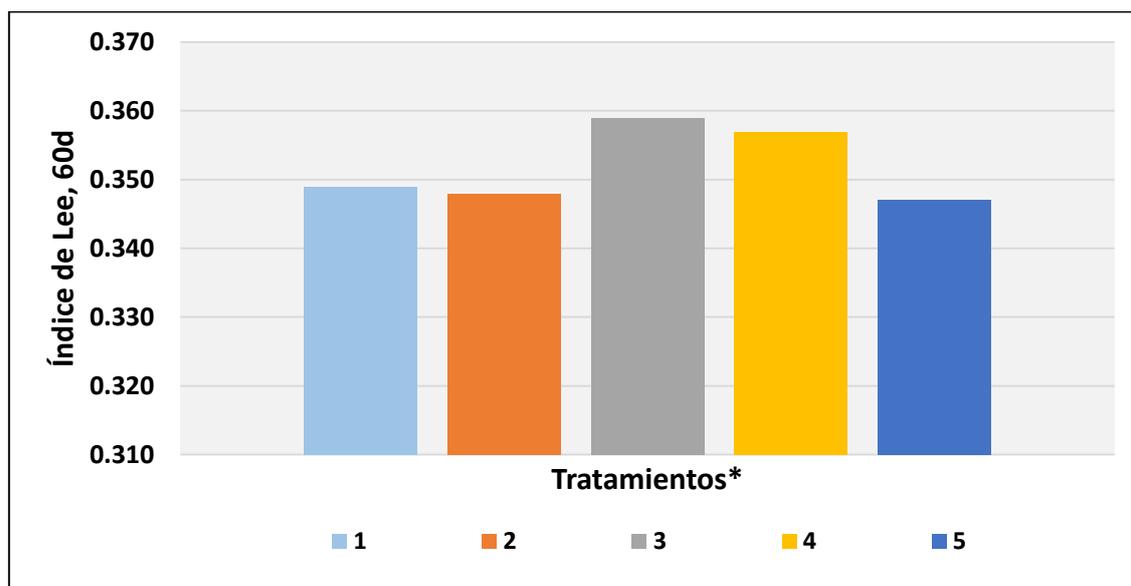
El índice de Lee viene siendo utilizado como un determinador rápido y preciso de obesidad en ratas sometidas a un incremento de peso, donde resultados por debajo de 0.300 son considerados normales. La información obtenida en el presente estudio es similar a la reportada por Malafaia *et al.* (2013) quienes no evidenciaron diferencias significativas para el índice de Lee entre los grupos de animales que recibieron una dieta estándar y ésta última suplementada con sucrosa (dieta obesogénica) por un período de 91 días, cabe destacar que ambos grupos presentaron un valor mayor a 0.300; es decir, se encontraban obesos.

Cuadro 7. Características biométricas e índices corporales obtenidos tras la administración de los tratamientos (Fase II).

Variables	Tratamientos*					Probabilidad P>F
	1	2	3	4	5	
LHA,60d (cm)	20.45	20.62	20.31	20.20	20.59	0.789
Perímetro del Cuello, cm	11.04	10.83	11.15	10.86	10.69	0.683
Perímetro Torácico, cm	14.20	13.81	14.47	14.06	13.79	0.490
Perímetro Abdominal, cm	15.76	15.27	15.47	15.59	15.23	0.880
Índice de Lee, 60d	0.349	0.348	0.359	0.357	0.347	0.435

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Figura 7. Índice de Lee obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).



*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Sin embargo, difiere con los resultados obtenidos por Mutiso *et al.* (2014) a nivel de longitud Hocico-Ano (LHA) quienes reportaron la presencia de diferencias significativas entre el grupo de animales que recibió una dieta estándar y una dieta obesogénica por un período de siete semanas.

Por otro lado, Yamazaki *et al.* (2011) quienes trabajaron con etapas experimentales similares a las del presente estudio; es decir, una etapa de inducción a la obesidad y otra de suministro de tratamientos si lograron obtener diferencias significativas a nivel del índice de Lee entre el grupo de animales que recibió una dieta estándar y una dieta obesogénica; sin embargo, no evidenciaron diferencias significativas entre el grupo obesogénico y el grupo obesogénico suplementado con aceite de pescado (1 g/Kg/día), resultados similares a los obtenidos en la evaluación.

En la presente investigación, la administración de fenofibrato no afectó significativamente el índice de Lee. En la literatura no existe suficiente información disponible sobre su efecto direccionado en el índice de Lee. Shabbir *et al.* (2016) realizaron la comparación entre ratas alimentadas con una dieta obesogénica y ésta última suplementada con la administración de un fármaco hipolepemiante (atorvastatina, 10 mg/Kg/día) no encontrando diferencias significativas tanto a nivel de longitud Hocico-Ano (LHA) e índice de Lee. De manera similar, Poletto *et al.* (2015) quienes trabajaron con ratones inducidos a obesidad, no encontraron diferencias significativas a nivel de índice de Lee entre los grupos de animales que recibieron una dieta obesogénica con y sin la administración de atorvastatina (0.1% w/w) durante cuatro semanas.

Según las continuas investigaciones direccionadas a esta sección. Los indicadores biométricos o también llamados indicadores de evaluación somática, como el índice de Lee, longitud total, longitud de la cola, longitud del cuerpo, índice de masa corporal y circunferencia del abdomen presentan altos valores de confiabilidad. Siendo considerados como técnicas adecuadas para la estimación de la composición corporal en ratas (Angélico *et al.* 2012). Gracias a su facilidad, practicidad y bajo costo de ejecución Cossio *et al.* (2010) sugieren el empleo de dichas medidas para estudios que involucren el crecimiento, desarrollo y maduración de ratas, como también sus posibles relaciones con variables fisiológicas y bioquímicas.

4.4 Análisis Bioquímicos

Los resultados referidos a los análisis bioquímicos obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 8** y en el **ANEXO XII**. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los niveles sanguíneos de HDL, comportamiento que se muestra en la **Figura 8**, donde los tratamientos 1 y 4 presentaron los mayores niveles 28.71 y 28.17 mg/dL, respectivamente; por otro lado, la inclusión de fenofibrato (T5) generó una disminución marcada en los niveles sanguíneos de HDL.

En el trabajo realizado por Xie *et al.* (2016), se reportó la no presencia de diferencias significativas en los niveles sanguíneos de HDL entre los grupos de animales que recibieron una dieta obesogénica, la suplementación de ésta con aceite de perilla y una tercera dieta que suplementaba aceite de pescado. Precisamente éste último grupo, mostró el menor nivel de HDL entre tratamientos, lo cual se asemeja al comportamiento mostrado por el tratamiento 3 en la presente evaluación. Asimismo, Arai *et al.* (2009) quienes trabajaron con ratones, obtuvieron que la inclusión de aceite de pescado sobre una dieta rica en grasa generó de manera significativa la disminución de los niveles sanguíneos de HDL, atribuyendo dicho comportamiento a la menor expresión de ARNm SREBP-2 obtenida por tal tratamiento, debido a que el SREBP-2 es un activador relativamente selectivo de la síntesis de colesterol. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio no concuerdan con lo reportado por Tangka *et al.* (2016), donde la suplementación de una dieta obesogénica con aceite de pescado (0.5 y 1 ml/kg/día) genera un incremento de los niveles sanguíneos de HDL de manera significativa al compararlo con una dieta rica en grasa. En los últimos años, se vienen generando investigaciones que involucran a los PUFA n-3 como suplementación de una dieta rica en grasa y así evaluar sus efectos sobre la resistencia a la insulina y la obesidad, con la premisa de que dietas ricas en grasa pueden afectar las funciones fisiológicas del aceite de pescado que normalmente se encuentran reportadas (Xie *et al.* 2016). Por otro lado, la suplementación de fenofibrato a una dieta obesogénica en el presente estudio generó significativamente los niveles sanguíneos más bajos de HDL, resultado contrario al obtenido por Hong *et al.* (2007) y Arai *et al.* (2009) quienes atribuyen el incremento de los niveles sanguíneos de HDL al fenofibrato y a su rol como agonista del PPAR α .

Los niveles sanguíneos de triglicéridos (TG) obtenidos no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos; sin embargo, se observan mayores niveles en el

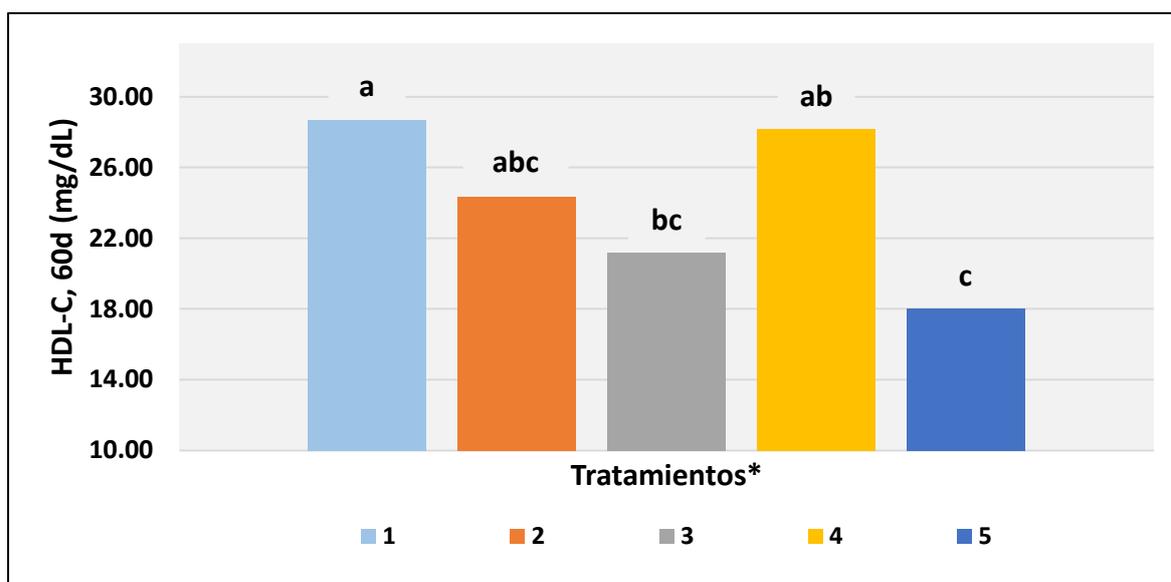
Cuadro 8. Perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre obtenida tras la administración de los tratamientos (Fase II).

Variables	Tratamientos*					Probabilidad P>F
	1	2	3	4	5	
Glucosa, 60d (mg/dL)	102.29	113.71	109.00	94.00	103.29	0.460
Triglicéridos, 60d (mg/dL)	64.00	51.17	51.33	55.17	58.57	0.124
C-HDL, 60d (mg/dL)	28.71 ^a	24.33 ^{abc}	21.17 ^{bc}	28.17 ^{ab}	18.00 ^c	0.012

^{a, b, c}: Valores con letra distinta como superíndice en una misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$).

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Figura 8. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sangre obtenidas tras la administración de los tratamientos (Fase II).



^{a, b, c}: Barras con letra distinta como superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$). *T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Barras con letra distinta difieren significativamente ($P < 0.05$).

grupo de animales que recibió una dieta estándar frente a los demás tratamientos, lo que nos permite bosquejar la participación de factores involucrados en la disminución de TG en sangre diferentes a la reducción del nivel energético de la dieta. De esta manera, podemos resaltar el papel de las fuentes PUFA n-3, en especial el aceite de pescado y la reducción de los niveles sanguíneos de TG. Lo que concuerda con los estudios de Chiu *et al.* (2017) y Arai *et al.* (2009) quienes reportaron que la inclusión de aceite de pescado a una dieta rica en grasa generó la disminución de los niveles sanguíneos de TG de manera significativa al compararlo con el grupo de animales que consumió exclusivamente una dieta rica en grasa. Por otro lado, Tangka *et al.* (2016) al comparar diferentes dosis de inclusión de aceite de pescado (0.5ml y 1ml/Kg/día) además de una dieta hipercolesterolémica lograron obtener diferencias significativas, donde el incremento de la dosis empleada generó una mayor reducción de los niveles sanguíneos de TG.

El posible mecanismo del aceite de pescado para reducir los TG plasmáticos o del hígado es a través de la actividad decreciente de las enzimas hepáticas involucradas con la síntesis de los mismos (por ejemplo, la acetil CoA carboxilasa, enzima que controla la lipogénesis), de esta manera no son formados los triglicéridos o su excreción a la circulación sanguínea es reducida (Waterman y Zammit 2002). El efecto reductor de TG por parte de EPA + DHA se ha demostrado en numerosos ensayos, donde el consumo de 3-4 g/día de PUFA n-3 generan una reducción de alrededor 30% (Harris *et al.* 2008). Además, el papel desempeñado por el EPA y DHA en la reducción de TG parecen ser igualmente potentes (Mori y Woodman 2006). Sin embargo, estudios previos como el de Berge *et al.* (1999) pretendieron explicar el efecto hipolipemiante del EPA, los autores reportaron que el éster CoA del EPA (EPA-CoA) redujo directamente la síntesis de TG con mayor eficacia que el éster CoA del DHA (DHA-CoA) mediante la inhibición de la actividad de la diacilglicerol aciltransferasa; de manera similar el EPA aumentó la β -oxidación mitocondrial mientras que el DHA no mostró tal efecto. Actualmente se viene evaluando la importancia de la proporción EPA/ DHA y su rol con el síndrome metabólico, donde las proporciones 1:1 y 2:1 conducen a una mejora en los parámetros clínicos de ECV, menor generación de metabolitos inflamatorios a cambio de mayores perfiles antiinflamatorios, así como la activación o preservación de las defensas endógenas antioxidantes a diferencia de la proporción 1:2; resultando finalmente en la mejora de los índices del síndrome metabólico (Dasilva *et al.* 2016).

Una mayor inclusión de aceite de linaza en la dieta generó la reducción de los niveles sanguíneos de TG; sin embargo, esta reducción no logró alcanzar diferencias significativas al compararlo con el grupo de animales que recibió una dieta obesogénica o la inclusión de aceite de pescado (El-Waseif *et al.* 2014). Además de ello, se tienen reportes que la administración de PUFA n-3 proveniente de fuentes vegetales, como es el aceite de linaza han generado resultados lipídicos controversiales y hasta el momento poco concluyentes. Por una parte, en la investigación de Lucas *et al.* (2004) se reportó que la inclusión de linaza en la dieta de hámsters incrementó los niveles de TG en sangre. Mientras que Riediger *et al.* (2008) al incluir aceite de linaza o pescado en la dieta de ratas mostraron la reducción de TG sanguíneos al compararlo con el grupo de animales que recibió una dieta estándar; sin embargo, tal reducción no generó diferencias significativas. Como se conoce, el consumo de aceites ricos en ALA puede ofrecer protección frente a las ECV a través de sus efectos en las funciones plaquetarias (Renaud y Lanzmann-Petithory 2001). Además, la linaza es una fuente rica de lignanos como el secoisolariciresinol diglucósido, quien presenta un papel importante en la modulación del metabolismo de los lípidos, pudiendo éstos estar involucrados con los beneficios reportados (Lucas *et al.* 2004).

En el presente estudio, la participación del fenofibrato sobre el nivel sanguíneo de triglicéridos no generó diferencias significativas entre tratamientos. Motawi *et al.* (2009) reportaron la no presencia de diferencias significativas entre el grupo de ratas que recibió una dieta obesogénica suplementada con aceite de pescado o fenofibrato por un período de 6 semanas; sin embargo, dichos tratamientos mostraron significativamente menores niveles de TG al compararlo con el grupo de animales que recibió exclusivamente la dieta obesogénica. Comportamiento que también es reportado por Sohn *et al.* (2017) quienes encuentran significativamente menores niveles de TG en el grupo de animales que recibió la suplementación de fenofibrato al compararlo con aquel que recibió una dieta obesogénica. Reducción que es demostrada por Birjmohun *et al.*, (2005) y es atribuida a la inhibición de la síntesis y secreción de TG por el hígado, además de estimular la degradación de lipoproteínas ricas en TG, mecanismos generados gracias a la activación de factores de transcripción como el PPAR por parte de los fibratos (Lalloyer *et al.* 2010).

Por otro lado, los niveles de glucosa en sangre no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos; sin embargo, el grupo de animales que recibió aceite de linaza presentó una ventaja frente a los otros grupos evaluados, al obtener los niveles más bajos de

glucosa en sangre. Comportamiento similar al reportado por Brant *et al.* (2012) y Marques *et al.* (2011), quienes asociaron la suplementación de linaza en la dieta con un menor nivel de glucosa en sangre, debido a una mejora sobre la sensibilidad a la insulina, aumentando así la absorción de glucosa. Corroborando de esta manera el estudio de Abuelgassim (2010) quién reportó el efecto hipoglicémico de la linaza sobre ratas diabéticas. Por otro lado, se conoce que los lignanos presentes en la linaza como el secoisolariciresinol diglucósido proporcionan un mejor control glucémico en pacientes con hipercolesterolemia (Zhang *et al.* 2008). De manera similar a Watanabe *et al.* (2010), quienes compararon los niveles de glucosa en sangre entre el grupo de ratas que recibió una dieta obesogénica de manera exclusiva y aquel que recibió la suplementación con aceite de pescado por un período de nueve semanas no obtuvieron diferencias significativas. Ajiro *et al.* (2000) trabajaron con tratamientos similares a los descritos líneas arriba pero por un período de evaluación de 16 semanas, donde en las primeras 4 semanas el aceite de pescado sólo generó una reducción numérica sobre los niveles de glucosa en sangre al compararlo con la dieta obesogénica; sin embargo, este comportamiento fue pronunciándose significativamente a partir de la octava semana, resultado atribuido al rol del aceite de pescado sobre el aumento de la secreción de insulina por parte de las células β del páncreas, lo cual genera control frente a estados de hiperglicemia y mejoras en la tolerancia a la glucosa.

4.5 Deposición de grasa y Peso de hígado

Los resultados referidos a la deposición de grasa y peso de hígado obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 9** y en los **ANEXOS XIII y XIV**. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la distribución de grasa depositada de manera individual y en una zona específica, pero sí en la deposición de grasa total ($P < 0.05$), donde la inclusión de PUFAs n-3 (T3 y T4) generó una mayor cantidad de grasa depositada al compararlo con el grupo de animales que recibió la dieta estándar (T1). En el estudio de Yamazaki *et al.* (2011) se estudió la respuesta del aceite de pescado sobre la deposición de grasa epididimal en ratas inducidas a obesidad, no encontrando diferencias significativas entre el grupo que consumió una dieta obesogénica suplementada con aceite de pescado y aquel que consumió exclusivamente la dieta obesogénica. Mientras que el grupo cuya base alimenticia fue la dieta estándar suplementada con aceite de pescado mostró significativamente menor grasa epididimal que los dos tratamientos anteriormente

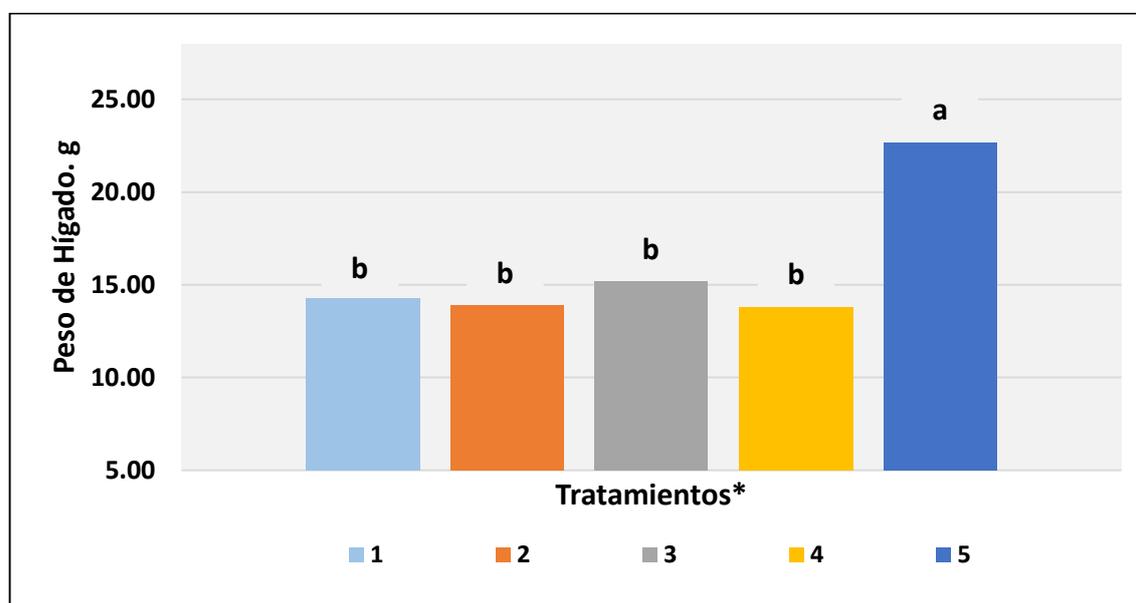
mencionados. En una investigación reciente (Wang *et al.* 2018) donde se trabajó con ratones, reportaron la no presencia de diferencias significativas a nivel de la deposición de grasa

Cuadro 9. Peso de tejido adiposo e hígado obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).

Variables	Tratamientos*					Probabilidad P>F
	1	2	3	4	5	
Grasa Abdominal, g	1.27	1.58	1.60	1.21	1.37	0.480
Grasa Inguinal, g	5.84	5.75	7.36	8.24	6.32	0.119
Grasa Epididimal, g	4.69	6.27	7.22	6.10	5.54	0.137
Grasa Perirenal, g	1.13	1.26	1.32	1.46	1.37	0.672
Grasa Total, g	12.94 ^b	14.85 ^{ab}	17.50 ^a	17.02 ^a	14.60 ^{ab}	0.049
Peso Hígado, g	14.28 ^b	13.92 ^b	15.21 ^b	13.79 ^b	22.64 ^a	0.000

^{a, b}: Valores con letra distinta como superíndice en una misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$). *T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Figura 9. Peso de hígado obtenido tras la administración de los tratamientos (Fase II).



^{a, b}: Barras con letra distinta como superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$). *T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

epididimal entre el grupo que recibió la suplementación con aceite de pescado (6.5%, w/w) y aquel que no. El procedimiento de inducción a la obesidad además del aprovisionamiento continuo de una dieta obesogénica genera lesiones hipotalámicas, lo cual provoca el deterioro de la señalización de la insulina. Sin embargo, también se presenta la reducción de la actividad simpática y una baja actividad de la Lipasa sensible a hormonas (LSH) reduciendo así su papel sobre la hidrólisis de triglicéridos (Dolnikoff *et al.* 2001), lo cual se traduce en mayores deposiciones de tejido adiposo, por ejemplo, la grasa epididimal.

En el trabajo realizado por Wang *et al.* (2016) se estudió la inclusión de aceite de linaza en una dieta obesogénica sobre parámetros plasmáticos y deposición de grasa en ratones, no se encontraron diferencias significativas sobre el peso de la grasa epididimal entre los animales que recibieron una dieta obesogénica suplementada con aceite de linaza y aquellos que no recibieron dicha suplementación. De manera similar, Ansar *et al.* (2017) tampoco lograron obtener diferencias significativas a nivel del peso de grasa epididimal e inguinal al comparar tratamientos similares a los descritos líneas arriba; sin embargo, encontraron mayores valores de las grasas evaluadas que favorecían al grupo de ratones que recibió exclusivamente una dieta obesogénica. En el trabajo realizado por Sundaram *et al.* (2016), se investigaron los efectos de dietas ricas en grasas conteniendo diferentes cantidades de PUFA-n-3 sobre la adiposidad en ratones, a partir del cual se sugiere que una relación n-3:n-6 tiene mayor importancia que la cantidad y la fuente de grasa en la dieta, ya que un desequilibrio en esta relación puede causar modificaciones en la distribución de la grasa en el cuerpo.

En cuanto a la deposición de grasa total, la suplementación de la dieta obesogénica con fuentes PUFA n-3, como aceite de pescado y linaza generaron valores significativamente mayores que los obtenidos por la dieta estándar. En el estudio realizado por Sundaram *et al.* (2016), los animales que recibieron dietas ricas en grasa con suplementación o no de PUFA n-3 aumentaron significativamente el porcentaje de masa grasa en comparación con los ratones alimentados con una dieta baja en grasa o estándar. De manera similar, De Sousa *et al.* (2013) quienes trabajaron con ratas, reportaron que la masa grasa blanca fue significativamente mayor en el grupo que recibió la dieta obesogénica suplementada con aceite de pescado que en el grupo que recibió la dieta estándar. Mientras que en la investigación de Arai *et al.* (2009) se reportó la no presencia de diferencias significativas a nivel del tejido adiposo blanco entre ratones que recibieron una dieta obesogénica y ésta

misma suplementada con dos fuentes diferentes de aceite de pescado (cuya diferencia radica en la relación EPA: DHA de cada uno, 1:1 y 1:2). Asimismo, Nakatani *et al.* (2003) mostraron que el incremento progresivo del porcentaje de inclusión de aceite de pescado (22 y 27.5%) en reemplazo de aceite de cártamo en una dieta obesogénica logra reducir significativamente el tejido adiposo blanco al compararlo con la dieta obesogénica sin inclusión de aceite de pescado (33.5% de aceite de cártamo), cabe mencionar que menores niveles de inclusión de aceite de pescado (5.5, 11 y 16.5%) no logran generar diferencias significativas. Resultados que son explicados por los autores, donde el alto contenido de aceite de pescado en la alimentación genera modificaciones sobre los factores de transcripción, como la inhibición del SREBP-1 y la activación del PPAR, propiciando la disminución de la masa grasa.

En el presente estudio, el efecto del fenofibrato sobre la deposición de grasa total no generó diferencias significativas al compararlo con el grupo de animales que recibió exclusivamente la dieta obesogénica. Efecto no observado en el estudio de Mancini *et al.* (2001), donde el tratamiento con fenofibrato previno el aumento de la masa de tejido adiposo inducido por la dieta con alto contenido de grasa; sin embargo, en comparación con el presente estudio tal variación puede deberse a la diferente dosis empleada (100mg/kg/día vs. 320mg/kg/día) y al tiempo de administración (1 mes vs. 2 meses). Es bien sabido que los lípidos acumulados en el tejido adiposo provienen en gran medida de los triglicéridos circulantes, especialmente cuando la base alimenticia presenta un alto contenido de grasa. Por lo tanto, el aumento de la oxidación de ácidos grasos en el hígado juega un papel importante en la regulación del peso corporal y la deposición de tejido adiposo, efecto promovido por los fibratos, quienes son considerados ligandos sintéticos del PPAR α quien tiene participación sobre el incremento de la actividad de enzimas relacionadas con la β -oxidación (Seok y Cha 2013). Finalmente, reportes mencionan diferencias encontradas entre tipos de ácidos grasos y su relación con las tasas de oxidación y deposición, pudiendo tales diferencias contribuir con la acumulación de grasa e incremento de peso. En el estudio realizado por Jones *et al.* (2008), se muestran los efectos positivos de los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) sobre el control del peso, al aumentar la oxidación de las grasas y la termogénesis inducida por la dieta en comparación con los ácidos grasos saturados (SFA) y poliinsaturados n-3. Mecanismo también respaldado por Krishnan y Cooper (2014) quienes establecen la siguiente relación: MUFA \geq PUFA \geq SFA, en base a la oxidación de las grasas y termogénesis inducida por la dieta luego de haber consumido dietas ricas en grasas. Cabe

resaltar que es de importancia tomar en consideración la relación PUFA/SFA cuando se provee de una dieta rica en grasa, un valor de alrededor de 5 puede evitar la acumulación de grasa corporal al disminuir la expresión del PPAR- γ y ARN mensajero de la lipoproteína lipasa (LPL) y mejorar la actividad de la enzima lipolítica hepática (Liao *et al.* 2010).

Por otro lado, en el presente estudio se observó que el peso del hígado fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en el grupo de animales que recibió la administración de fenofibrato (T5) en comparación con los otros tratamientos, comportamiento que se muestra en la **Figura 9**. En el trabajo realizado por Kopf *et al.* (2014), se reportó que la inclusión de fenofibrato (100mg/kg P.V.) a una dieta rica en fructosa incrementó significativamente el peso del hígado de ratas al compararlo con aquellos que recibieron una dieta libre de fructosa sin inclusión de fenofibrato (similar a dieta estándar). Mientras que una investigación en ratones (Arai *et al.* 2009) reportó que la administración por 8 semanas de 0.1% de fenofibrato en la dieta generó significativamente un mayor peso del hígado al compararlo con aquellos que no la recibieron. El mecanismo relacionado con dichos resultados no está del todo claro; sin embargo, los autores lo atribuyen a un posible aumento de la acción metabólica inducida por la activación del PPAR- α (donde el fenofibrato es su ligando sintético), generando así un aumento de la actividad hepática. Por su parte, Mancini *et al.* (2001) relacionan la participación del fenofibrato tanto en la prevención de la acumulación de grasa como en la movilización de la misma al ser impulsadas por el incremento del catabolismo de los lípidos en el hígado; incremento que también se ve reflejado en el peso del hígado el cual es atribuido a la proliferación de peroxisomas y mitocondrias en los hepatocitos.

4.6 Evaluación Molecular

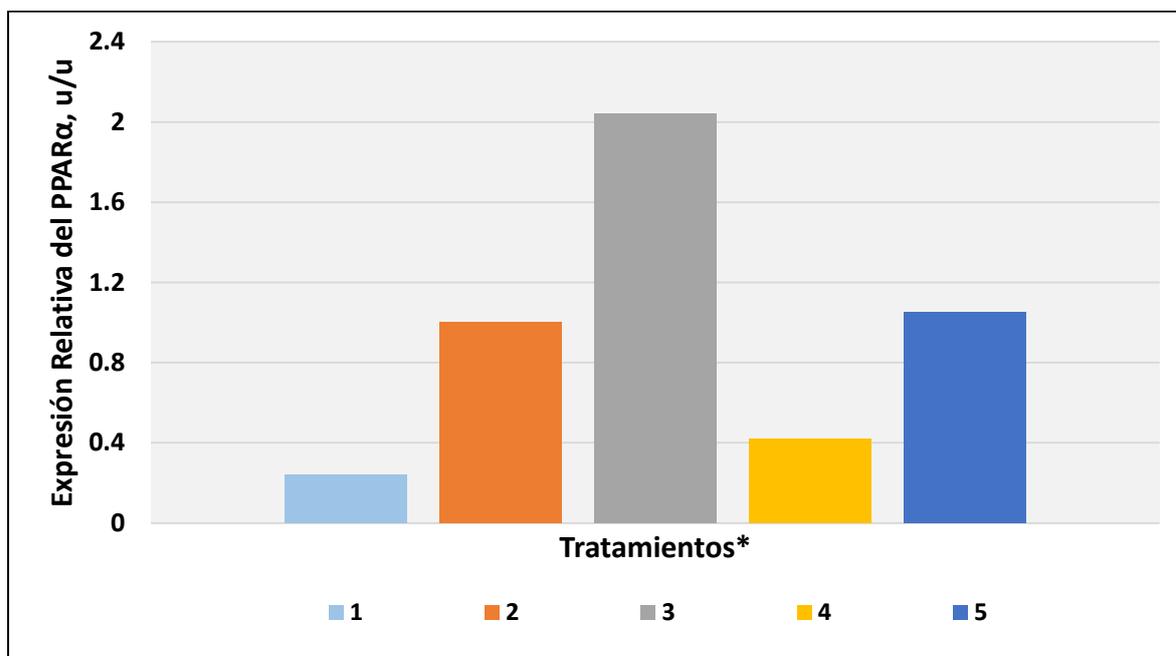
Los resultados referidos a la expresión relativa del PPAR α obtenidos al finalizar el período de suministro de tratamientos (Fase II) se detallan en el **Cuadro 10**, **Figura 10** y en el **ANEXO XV**. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos; sin embargo, el grupo de animales que recibió la suplementación con aceite de pescado (T3) obtuvo la mayor expresión relativa del gen en estudio evaluado en el tejido hepático, al compararlo con el grupo que recibió la dieta estándar (T1) y aquel que recibió la suplementación con el aceite de linaza (T4). Resultado que reafirma lo reportado por Chiu *et al.* (2017) quienes sugieren el efecto regulador del aceite de pescado sobre el metabolismo lipídico de ratas inducidas a obesidad, al generar alteraciones sobre la expresión proteica de

Cuadro 10. Expresión relativa del PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos.

Variables	Tratamientos*					Probabilidad
	1	2	3	4	5	P>F
Expresión relativa entre los genes PPAR/18s. u/u	0.24	1.00	2.04	0.42	1.05	0.268

*Tras realizarse la prueba ANVA entre los tratamientos, se obtuvo un P-value mayor a 0.05. Los promedios fueron obtenidos con 3 réplicas biológicas (n = 3); T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

Figura 10. Expresión relativa del PPAR α en hígado tras la administración de los tratamientos (Fase II).



*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

factores de transcripción lipogénicos, como la inhibición de los receptores X del hígado (LXR α) y la activación del PPAR α . De manera similar, Shearer *et al.* (2012) mostraron que el aceite de pescado aumentó la lipólisis extracelular por acción de la lipoproteína lipasa y mejoró la β -oxidación, gracias a la activación de factores de transcripción que regulan las rutas metabólicas involucradas y generan la reducción de TG plasmáticos. Los efectos del aceite de pescado son atribuidos a los PUFA n-3 que lo constituyen, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) quienes son considerados ligandos naturales del PPAR α , éstos se unirán a receptores específicos y activarán tal factor de transcripción (Neschen *et al.* 2007).

Recientemente, un estudio realizado en ratas por Wang *et al.* (2018) involucró la expresión relativa del PPAR α a nivel testicular, reportando la no presencia de diferencias significativas entre el grupo de animales que recibió una dieta obesogénica suplementada con aceite de pescado (6.5%, w/w) y aquel que no recibió dicha suplementación por un período de doce semanas. Sin embargo, Chiu *et al.* (2017) quienes para la evaluación de la expresión génica contaron con un tamaño muestral de n = 4-6, reportaron significativamente mayor expresión del PPAR α a nivel hepático en el grupo de animales que recibió la suplementación con 5% de aceite de pescado (w/w) al compararlo con aquel que recibió exclusivamente la dieta obesogénica por un período de cinco semanas. De manera similar, la investigación realizada por Arai *et al.* (2009) contó con un tamaño muestral de n = 5 para la evaluación de la expresión génica, logrando obtener diferencias significativas que favorecieron al tratamiento que incluía aceite de pescado. De esta manera, el resultado obtenido en el presente estudio puede haberse debido tanto al menor número de réplicas biológicas empleadas para la evaluación de la expresión génica al compararlas con los reportes existentes en la literatura, como también a las diferencias en las dosis de aceite de pescado utilizadas.

En el presente estudio, el grupo de animales que recibió la suplementación de aceite de linaza (T4) mostró una baja expresión relativa del PPAR α a nivel hepático. En el estudio realizado por Xu *et al.* (2017), se evaluó el efecto de la suplementación progresiva de aceite de linaza (nivel bajo, medio y alto) y el carotenoide astaxantina sobre la expresión relativa del PPAR α , reportando la no presencia de diferencias significativas al comparar el grupo de animales que consumió una dieta obesogénica con aquel que recibió una baja suplementación de aceite de linaza; sin embargo, a incrementar el nivel de inclusión (medio o alto) la expresión relativa del PPAR α fue significativamente mayor. Devarshi *et al.* (2013) reportaron que el

aceite de linaza tuvo un mejor efecto sobre la expresión del PPAR α en ratas diabéticas que el aceite de pescado. Como es sabido el ácido α -linolénico (ALA, PUFA n-3 derivado de las plantas) principal ácido graso del aceite de linaza es nutricionalmente esencial y puede competir con el ácido linoleico para reducir el ácido araquidónico, actuar como precursor de los PUFA n-3 de cadena larga (EPA y DHA) o interactuar directamente con los receptores nucleares (Barceló-Coblijn y Murphy, 2009). De esta manera, la respuesta obtenida en la evaluación podría estar supeditada al empleo de una baja dosis de aceite de linaza, debido a que el ALA que lo constituye tendría que haber realizado la conversión hacia EPA y DHA para actuar como ligando natural del PPAR α , siendo el aceite de pescado mucho más eficiente en este aspecto.

Por otra parte, el grupo de animales que recibió el fármaco fenofibrato (T5) logró incrementar la expresión relativa del PPAR α a nivel hepático. El fenofibrato, ligando farmacológico del PPAR α , tiene participación en la regulación de genes implicados en la oxidación mitocondrial y peroxisomal de ácidos grasos a nivel del hígado (Oosterveer *et al.* 2009). Por lo que es ampliamente utilizado como fármaco por su eficacia en la reducción del colesterol y triglicéridos (Cheng *et al.* 2016). En la investigación realizada por Arai *et al.* (2009), se reportó la no presencia de diferencias significativas a nivel de la expresión relativa del PPAR α entre el grupo de animales que recibió la suplementación de aceite de pescado y aquel que recibió el fenofibrato; sin embargo, ambos valores fueron significativamente superiores sobre el grupo que recibió la dieta obesogénica. Por otro lado, Hong *et al.* (2007) mostraron que la inclusión de fenofibrato por un período de 42 días, a una dosis de 100mg/kg/día además del consumo de una dieta desfavorable generó significativamente una mayor expresión relativa del PPAR α al compáralo con la dieta obesogénica. Si bien es cierto, el tratamiento que incluía fenofibrato mostró una alta expresión del PPAR α , esta no superó al obtenido por el aceite de pescado, lo cual también se ve reflejado en las otras variables involucradas en la investigación, reflejando así que el aceite de pescado a diferencia del fenofibrato no sólo actúa sobre el PPAR, sino que está involucrado en otras vías reguladoras ejerciendo múltiples efectos, lo cual refleja su característica nutricional (Lu *et al.* 2011).

Los PUFA n-3 bajo la forma de suplementos dietéticos se encuentran ampliamente disponibles y son ampliamente utilizados; sin embargo, éstos no están sujetos a rigurosas regulaciones requeridas para su elaboración; por lo tanto, tomando como ejemplo el aceite de pescado, su contenido de EPA y DHA puede ser inconsistente y a menudo no cumplir

con la composición mostrada en el etiquetado (Backes *et al.* 2016). Todavía hay mucha controversia en los estudios publicados, ya sea por lo comentado líneas arriba, por la duración relativamente corta de las evaluaciones o por las modestas mejoras reportadas en temas vinculados con el sobrepeso y obesidad. Si bien es cierto la investigación en el campo de la expresión molecular, como la participación de factores de transcripción sobre la regulación de ciertas rutas metabólicas cada vez va teniendo mayor importancia y acercamiento, hasta el momento no se han revelado todos los secretos del PPAR, por lo cual seguirá teniendo gran interés por los investigadores que intentan comprender sus funciones metabólicas y así como la participación de sus ligandos (Lalloyer y Staels 2010).

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo el presente estudio se concluye:

- El peso corporal, ganancia de peso, características biométricas e índices corporales no fueron afectadas significativamente por los tratamientos mientras que el consumo de alimento obtenido con la dieta estándar presentó un mayor consumo ($P < 0.05$), el aceite de linaza por su parte mostró el menor valor.
- Los niveles sanguíneos de triglicéridos y glucosa no fueron afectados significativamente por los tratamientos mientras que el nivel de HDL obtenido con la dieta estándar mostró el mayor valor ($P < 0.05$) seguido por el tratamiento que incluyó aceite de linaza, la inclusión de fenofibrato mostró el menor valor.
- El peso focalizado de la grasa no fue afectado significativamente por los tratamientos mientras que el peso de grasa total obtenido con la inclusión de aceite de pescado mostró el mayor valor ($P < 0.05$) seguido por el tratamiento que incluyó aceite de linaza, la dieta estándar mostró el menor valor.
- El peso del hígado sí fue afectado de manera significativa, la inclusión de fenofibrato mostró un aumento ($P < 0.05$) sobre los demás tratamientos.
- La expresión relativa del PPAR α a nivel hepático no fue afectado significativamente por los tratamientos; sin embargo, la inclusión de aceite de pescado mostró un mayor valor numérico, la menor expresión se dio con la inclusión de aceite de linaza, al ser comparada con la dieta obesogénica control.

VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados y conclusiones establecidas en esta investigación se recomienda las siguientes sugerencias:

- Realizar estudios que evalúen la participación de los ácidos grasos poliinsaturados sobre la expresión relativa de factores de transcripción relacionados con el metabolismo de lípidos y glucosa.
- Investigar otras fuentes de ácidos grasos poliinsaturados que involucren restricción energética a nivel de la dieta, como también el incremento del gasto energético (actividad física) sobre la evaluación de factores de transcripción vinculados con el equilibrio energético y control del sobrepeso.
- Realizar estudios que involucren la participación de ácidos grasos poliinsaturados y su respuesta sobre la actividad de enzimas vinculadas con la oxidación y síntesis de ácidos grasos, la capacidad antioxidante y el perfil de ácidos grasos a nivel hepático.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUELGASSIM, O. 2010. Effects of flax seeds and date palm leaves extracts on serum concentrations of glucose and lipids in alloxan diabetics rats (ABSTRACT). *Pak J Biol Sci.*; 13(23): 1141-5.

ACHESON, J. y HUTCHINSON, E.C. 1972. Controlled trial of clofibrate in cerebral vascular disease. *Atherosclerosis*; 15: 177-83.

AHN, C. H. y CHOI, S. H. 2015. New Drugs for Treating Dyslipidemia: Beyond Statins. *Diabetes Metab J.*; 39: 87-94.

AJIRO, K.; SAWAMURA, M.; IKEDA, K.; NARA, Y.; NISHIMURA, M.; ISHIDA, H.; SEINO, Y.; YAMORI, Y. 2000. Beneficial effects of fish oil on glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*; 27, 412-415.

AKPOLAT, M.; KANTER, M.; TOPCU-TARLADACALISIR, Y.; AYDOGDU, N. 2011. Protective effect of flaxseed oil on renal injury in hyperlipidaemic rats: the effect of flaxseed oil on hyperlipidaemia. *Phytother Res*; 25(6): 796-802.

ALEMÁN, G.; TORRES, N.; TOVAR, A. R. 2004. Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) en el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina. *Rev. Invest Clin*; 56(3): 351-367.

ALSHEIKH-ALI, A.A.; KUVIN, J.T.; KARAS, R.H. 2004. Risk of adverse events with fibrates. *Am J Cardiol*; 94: 935-38.

ALTMANN, S. W.; DAVIS, H. R.; JR, ZHU, L. J.; YAO, X.; HOOS, L. M.; TETZLOFF, G.; LYER, S. P.; MAGUIRE, M.; GOLOVKO, A.; ZENG, A.; WANG, L.; MURGOLO, N.; GRAZIANO, M. P. 2004. Niemann-Pick C1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*; 303(5661): 1201-4.

- ALTSCHUL, R.; HOFFER, A.; STEPHEN, J. D.** 1955. Influence of nicotinic acid on serum cholesterol in man. *Arch Biochem Biophys*; 54: 558 –9.
- ANGÉLOCO, L. R. N.; DEMINICE, R.; ARRUDA LEME, I. A.; LATARO, R. C.; JORDÃO, A. A.** 2012. Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: effects of high-fat and high-sucrose diets. *Rev. Nutr., Campinas*, 25(3): 331-339.
- ANSAR, H.; ZAMANINOUR, N.; DJAZAYERY, A.; PISHVA, H.; VAFA, M.; FARD, R. M. N.; DILMAGHANIAN, A.; MIRZAEI, K.; SHIDFAR, F.** 2017. Weight changes and metabolic outcomes in calorie-restricted obese mice fed high-fat diets containing corn or flaxseed oil: physiological role of sugar replacement with polyphenol-rich grape. *Journal of the American College of Nutrition*; 6: 422-433.
- ARAI, T.; KIM, H.J.; CHIBA, H. y MATSUMOTO, A.** 2009. Interaction of Fenofibrate and Fish Oil Relation to Lipid Metabolism in Mice. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. Vol. 6, N° 3. 283-291.
- ARANA, A., MENDIZÁBAL, J.A., INSAUSTI, K., EGUINO, P., SARRIES, M.V., BERRAIN, M.J.** 2010. Effect of feeding linseed to lambs on growth parameters, adipose tissues metabolism and meat fatty acid composition. In: 61st Annual Meeting of EAAP, Heraklion, Crete, Greece.
- BACKES, J.; ANZALONE, D.; HILLEMANN, D.; CATINI, J.** 2016. The clinical relevance of omega-3 fatty acids in the management of hypertriglyceridemia. *Lipids in Health and Disease*; 15:118.
- 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.
- BALK, E. M.; LICHTENSTEIN, A. H.; CHUNG, M.; KUPELNICK, B.; CHEW, P.; LAU, J.** 2006. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis*; 189: 19-30.

BALLANTYNE, C.M.; WEISS, R.; MOCSETTI, T.; VOGT, A.; EBER, B.; SOSEF, F.; DUFFIELD, E. 2007. Efficacy and safety of rosuvastatin 40 mg alone or in combination with ezetimibe in patients at high risk of cardiovascular disease (results from the EXPLORER study). *Am J Cardiol*; 99(5):673–80.

BARCELÓ-COBLIJN, G.; MURPHY, E.J. 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog. Lipid Res*; 48: 355–374.

BARTER, P.; GOTTO, A.M.; LAROSA, J.C.; MARONI, J.; SZAREK, M.; GRUNDY, S.M.; KASTELEIN, J.J.; BITTNER, V.; FRUCHART, J.C. 2007. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med*; 357: 1301-10.

BERGE, R. K.; MADSEN, L.; VAAGENES, H.; TRONSTAD, K. J.; GOTTLICHER, M.; RUSTAN, A. C. 1999. In contrast with docosahexaenoic acid, eicosapentaenoic acid and hypolipidaemic derivatives decrease hepatic synthesis and secretion of triacylglycerol by decreased diacylglycerol acyltransferase activity and stimulation of fatty acid oxidation. *Biochem J*; 343(Pt 1): 191-197.

BERNARDIS, L. L. y PATTERSON, B. D. 1968. Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*; 40(4): 527-528.

BIRJMOHUN, R.S.; HUTTEN, B.A.; KASTELEIN, J.J.; STROES, E.S. 2005. Efficacy and safety of high-density lipoprotein cholesterol-increasing compounds: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Coll Cardiol*; 45: 185–97.

BISHOP-BAILEY, D.; WRAY, J. 2003. Peroxisome proliferator-activated receptors: a critical review on endogenous pathways for ligand generation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*; 71: 1–22.

BLASBALG, T.L.; HIBBELN, J.R.; RAMSDEN, C.E.; MAJCHRZAK, S.F.; RAWLINGS, R.R. 2011. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *Am. J. Clin. Nutr.*; 93, 950–962.

BLASCHKE, F.; TAKATA, Y.; CAGLAYAN, E.; LAW, R. E.; HSUEH, W. A. 2006. Obesity, peroxisome proliferator-activated receptor, and atherosclerosis in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*; 26: 28-40.

BLOEDON, L. T. y SZAPARY, P. O. 2004. Flaxseed and cardiovascular risk (ABSTRACT). *Nutr. Rev.*; 62(1): 18.27.

BOTOLIN, D.; WANG, Y.; CHRISTIAN, B.; JUMP, D.B. 2006. Docosahexaenoic acid [22: 6, n-3] stimulates rat hepatic sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) degradation by an Erk- and 26S proteasome-dependent pathway. *J Lipid Res.*; 47:181-192.

BRANT., L. H. C.; CARDOZO, L. F. M.; VELARDE, L. G. C.; BOAVENTURA, G. T. 2012. Impact of flaxseed intake upon metabolic syndrome indicators in female Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*; 27 (8): 537-543.

BURDGE, G. 2004. Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 7:137-44.

CALDER, P. C. 2013. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology. *Br J Clin Pharmacol.*; 75: 645-62.

CARVAJAL, K.; HERNÁNDEZ-ESQUIVEL, M.; MORENO-SÁNCHEZ, R. 2007. PPARs, síndrome metabólico y enfermedad cardíaca. *Arch Cardiol Mex*; N° 77, S4, 66-76.

CARRERO, J. J.; MARTÍN-BAUTISTA, E.; BARÓ, L.; FONOLLÁ, J.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J. J. y LÓPEZ-HUERTAS, E. 2005. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr. Hosp.*; 20 (1) 63-69.

CHAKRAVARTHY, M. V.; PAN, Z.; ZHU, Y.; TORDIMAN, K.; SCHNEIDER, J. G.; COLEMAN, T.; TURK, J.; SEMENKOVICH, C. F. 2005. “New” hepatic fat activates PPARalpha to maintain glucose, lipid, and cholesterol homeostasis. *Cell Metab.*; 1: 309-322.

CHENG, H.; XI, Y.; CHI, X.; WU, Y.; LIU, G. 2016. Fenofibrate treatment of rats with experimental autoimmune myocarditis by alleviating Treg/Th17 disorder. *Cent Eur J Immunol*; 41 (1): 64-70.

CHENG, K.; WU, T. J.; WU, K. K.; STURINO, C.; METTERS, K.; GOTTESDIENER, K.; WRIGHT, S. D.; WANG, Z.; LAI, E. WATERS, M. G. 2006.

Antagonism of the prostaglandin D2 receptor 1 suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. *Proc Natl Acad SciUSA*; 103: 6682- 6687.

CHESCHEIR, N. 2011. Obesidad en el Mundo y su Efecto en la Salud de la Mujer. *Obstet Gynecol*; 117: 1213–22.

CHIU, C. Y.; CHANG, T. C.; LIU, S. H.; CHIANG, M. C. 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.

CINTI, S. 2002. Adipocyte differentiation and transdifferentiation: plasticity of the adipose organ. *Journal of Endocrinological Investigation*; 25: 823–835.

CIRIMINNA, R.; MENEGUZZO, F.; DELISI, R.; PAGLIARO, M. 2017. Enhancing and improving the extraction of omega-3 from fish oil. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*; 5: 54–59.

CLOUTIER, S.; RAGUPATHY, R.; NIU, Z.; DUGUID, S. 2010. SSR-based linkage map of flax (*Linum usitatissimum* L.) and mapping of QTLs underlying fatty acid composition traits. *Mol Breed.*; 28:437–451.

CORAZZIN, M., BOVOLENTA, S., SACCA, E., BIANCHI, G., PIASENTIER, E. 2013. Effect of linseed addition on the expression of some lipid metabolism genes in the adipose tissue of young Italian Simmental and Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 91, 405–412.

COSSIO B., M. A.; 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.

DAMUDE, H. G. y KINNEY, A. J. 2008. Engineering oilseeds to produce nutritional fatty acids. *Physiol Plant*; 132: 1-10.

DAS, U. N. 2006. “Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology,” *Biotechnology Journal*; 1 (4): 420–439.

DASILVA, G.; PAZOS, M.; GARCIA-EGIDO, E.; PEREZ-JIMENEZ, J.; TORRES, J. L.; GIRALT, M.; NOGUES, M. R.; 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 Chem.*; 205: 196-203.

DAVIDSON, M. H. y TOTH, P. P. 2004. Combination therapy in the management of complex dyslipidemias. *Curr Opin Lipidol*; 15(4): 423–31.

DAVIDSON, M. H. 2007. The use of colestevlam hydrochloride in the treatment of dyslipidemia: a review. *Expert Opin. Pharmacother.*; 8(15): 2569-2578.

DAVIDSON, M. H.; DILLON, M. A.; GORDON, B.; JONES, P.; SAMUELS, J.; WEISS, S.; ISAACSOHN, J.; TOTH, P.; BURKE, S. K. 1999. Colesevelam hydrochloride (Cholestagel): a new, potent bile acid sequestrant associated with a low incidence of gastrointestinal side effects. *Arch Intern Med.*; 159(16): 1893–900.

DAVIS, H.R. y VELTRI, E.P. 2007. Zetia: inhibition of Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) to reduce intestinal cholesterol absorption and treat hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb*; 14(3):99–108.

DECKELBAUM, R. J.; WORGALL, T. S.; SEO, T. 2006. N-3 Fatty acids and gene expression. *Am J Clin Nutr.*; 83: 1520S–1525S.

DEFILIPPIS, A. P.; SPERLING, L. S. 2006. Understanding omega-3's. *Am Heart J.*; 151:564–570.

DELAVAR, M.A.; LYE, M.S.; KHOR, G.L.; HASSAN, S.T.; HANACHI, P. 2009. “Dietary patterns and the metabolic syndrome in middle aged women, Babol, Iran,” *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*; Vol. 18, No. 2, pp. 285–292.

DEMARK-WAHNEFRIED, W.; POLASCIK, T. J.; GEORGE, S. L.; SWITZER, B. R.; MADDEN, J. F.; RUFFIN, M. T.; SNYDER, D. C.; OWZAR, K.; HARS, V.; ALBALA, D. M.; WALTHER, P. J.; ROBERTSON, C. N.; MOUL, J. W.; DUNN, B. K.; BRENNER, D.; MINASIAN, L.; STELLA, P.; y VOLLMER, R. T. 2008. Flaxseed supplementation (not dietary fat restriction) reduces prostate cancer proliferation rates in men presurgery. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 17(12): 3577-3587.

DENTIN, R.; BENHAMED, F.; PEGORIER, J. P.; FOUFELLE, F.; VIOLLET, B.; VAULONT, S.; GIRARD, J.; POSTIC, C. 2005. Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *J Clin Invest*; 115: 2843-2854.

DE SOUSA, I. F.; DE SOUZA, A. P.; ANDRADE, I. S.; BOLDARINE, V. T.; NASCIMENTO, C. M. O.; OYAMA, L. M.; TELLES, M. M.; RIBEIRO, E. B. 2013. Effect of fish oil intake on glucose levels in rat prefrontal cortex, as measured by microdialysis. *Lipids in Health and Disease*; 12:188.

DEVARSHI, P.P.; JANGALE, N.M.; GHULE, A.E.; BODHANKAR, S. L.; HARSULKAR, A.M. 2013. Beneficial effects of flaxseed oil and fish oil diet are through modulation of different hepatic genes involved in lipid metabolism in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Genes Nutr*; 8: 329–342.

DOLNIKOFF, M.; MARTIN-HIDALGO, A.; MACHADO, U. F.; LIMA, F. B.; HERRERA, E. 2001. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats. *Int J Obes Relat Metab Disord.*; 25: 426-433.

DONOVAN, J.; BROWN, P. 2005. Euthanasia. *Curr. Protoc. Neurosci.* Vol 33: A.4H.1-A.4H.4.

DOO, M. y KIM, Y. 2011. Association between ESR1 rs1884051 polymorphism and dietary total energy and plant protein intake on obesity in Korean men. *Nutr Res Pract.*; 5: 527-532.

DOUNY, C.; RAZANAKOLONA, R.; RIBONNET, L.; MILET, J.; BAETEN, V.; ROGEZ, H.; SCIPPO, M.L. y LARONDELLE, Y. 2016. Linseed oil presents different patterns of oxidation in real-time and accelerated aging assays. *Food Chemistry*; Vol. 208, pp: 111-115.

DUJOVNE, C. A.; ETTINGER, M. P.; MCNEER, J. F.; LIPKA, L. J.; LEBEAUT, A. P.; SURESH, R.; YANG, B.; VELTRI, E. P. 2002. Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.*; 90(10): 1092.

EATON, S.B.; KONNER, M. 1985. A consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J. Med.*; 312, 283–289.

EL-WASEIF, M. A.; EL-DAYEM, H. H. ABD.; HASHEM, H. A.; EL-BEHAIRY, S. A. 2014. Hypolipidemic effect of fat spreads containing flaxseed oil. *Annals of Agricultural Science*; 59(1), 17–24.

ENDES. 2016. Encuesta Demográfica y de Salud familiar. (En línea). Consultado el 16 de Diciembre del 2017: https://inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1433/index.html

FAO/WHO. 2008. Interim summary of conclusions and dietary recommendations on total fat & fatty acids. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. Geneva.

FINKELSTEIN, E. A.; FIEBELKORN, I. C.; WANG, G. 2004. State-level estimates of annual medical expenditures attributable to obesity. *OBES RES.*; 12: 18-24.

FISCHER, R.; DECHEND, R.; QADRI, F.; MARKOVIC, M.; FELDT, S.; HERSE, F.; PARK, J. K.; GAPELYUK, A.; SCHWARZ, I.; ZACHARZOWSKY, U. B.; PLEHM, R.; SAFAK, E.; HEUSER, A.; SCHIRDEWAN, A.; LUFT, F. C.; SCHUNCK, W. H.; MULLER, D. N. 2008. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and direct renin inhibition improve electrical remodeling in a model of high human renin hypertension. *Hypertension*; 51: 540–6.

FLUTTERT, M.; DALM, S. y OITZL, M. S. 2000. A refined method for sequential blood sampling by tail incision in rats. *Laboratory Animals*; 34: 372-378.

FRITSCHKE, K. 2006. Fatty acids as modulators of the immune response. *Annu. Rev. Nutr.*; 26, 45–73.

FRUCHART, J. C.; STAELS, B.; DURIEZ, P. 2001. The role of fibric acids in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.*; 3(1): 83-92.

GANJI, S.H.; KAMANNA, V.S.; KASHYAP, M.L. 2003. Niacin and cholesterol: role in cardiovascular disease (Review). *J Nutr Biochem*; 14: 298 –305.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, J. F.; GARCÍA-FARIÑAS, A.; RODRÍGUEZ-LEÓN, G. A.; GÁLVEZ-GONZÁLEZ, A. M. 2010. Dimensión económica del sobrepeso y la obesidad como problemas de salud pública. *Salud en Tabasco*; 16(1): 891-895.

GIADA, M.R. 2010. Food applications for flaxseed and its components: products and processing. *Recent Pat Food Nutr Agric*; 2(3):181-186.

GOLDBERG, A.C.; SAPRE, A.; LIU, J.; CAPECE, R.; MITCHEL, Y.B. 2004. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Mayo Clin Proc*; 79(5): 620–9.

- GRAHAM, D.J.; STAFFA, J.A.; SHATIN, D.; ANDRADE, S.E.; SCHECH, S.D.; LA GRENADE, L.; GURWITZ, J.H.; CHAN, K.A.; GOODMAN, M.J.; PLATT, R.** 2004. Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA*; 292: 2585–90.
- GRYGIEL-GÓRNIAK, B.** 2014. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications (REVIEW). *Nutrition J.*; 13: 17.
- HARRIS, W. S.; MILLER, M.; TIGHE, A. P.; DAVIDSON, M. H.; SCHAEFER, E. J.** 2008. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis.*; 197: 12-24.
- HARTWEG, J.; FARMER, A. J.; PERERA, R.; HOLMAN, R. R.; NEIL, H. A. W.** 2007. Metaanalysis of the effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on lipoproteins and other emerging lipid cardiovascular risk markers in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*; 50: 1593-1602.
- HASLER, C. M.; KUNDRAT, S.; WOOL, D.** 2000. Functional foods and cardiovascular disease. *Curr Atherosckler Rep.*; 2: 467-475.
- HEIRD, W. C. y LAPILLONNE, A.** 2005. The role of essential fatty acids in development. *Annu. Rev. Nutr.*; 25:549–71.
- HERNÁNDEZ, S. C.** 2011. Prevention of infant obesity. *Gac Med Mex*, 147, pp. 46-50.
- HONG, X. Z.; LI, L. D. y WU, L. M.** 2007. Effects of fenofibrate and xuezhikang on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*; 34, 27–35.
- HOU, R. y GOLDBERG, A.C.** 2009. Lowering Low-Density Lipoprotein Cholesterol: Statins, Ezetimibe, Bile Acid Sequestrants, and Combinations: Comparative Efficacy and Safety. *Endocrinol Metab Clin N Am*; 38: 79–97.
- ILLINGWORTH, D.R.; STEIN, E.A.; MITCHEL, Y.B.; DUJOVNE, C.A.; FROST, P.H.; KNOPP, R.H.; TUN, P.; ZUPKIS, R.V.; GREGUSKI, R.A.** 1994. Comparative effects of lovastatin and niacin in primary hypercholesterolemia: a prospective trial. *Arch Intern Med*; 154:1586 –1595.

- INSULL, W.; TOTH, P.; MULLICAN, W.; HUNNINGHAKE, D.; BURKE, S.; DONOVAN, J. M.; DAVIDSON, M. H.** 2001. Effectiveness of colesevelam hydrochloride in decreasing LDL cholesterol in patients with primary hypercholesterolemia: a 24-week randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc*; 76(10): 971–82.
- INSULL, W.** 2006. Clinical utility of bile acid sequestrants in the treatment of dyslipidemia: a scientific review. *South Med J*; 99(3): 257–73.
- IVANOV, K. Y BLUMBERGA, D.** 2017. Extraction of fish oil using green extraction methods: a short review. *Energy Procedia*; 128: 477-483.
- JACKEVICIUS, C.; CHOU, M.; ROSS, J.; SHAH, N.; KRUMHOLZ, H.** 2012. Generic Atorvastatin and Health Care Costs. *N Engl J Med*; 366(3): 201-4.
- JEW, S.; ABUMWEIS, S. S. y JONES, P. J. H.** 2009. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. *J Med Food*; 12 (5), 925–934.
- JIA, L.; BETTERS, J. L.; YU, L.** 2011. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Ann Rev Physiol*; 73: 239–59.
- JIMÉNEZ, E. G.** 2013. Obesidad: análisis etiopatogénico y fisiopatológico. *Endocrinol Nutr*; 60: 17-24.
- JONES, P.H. y DAVIDSON, M.H.** 2005. Reporting rate of rhabdomyolysis with fenofibrate 1 statin versus gemfibrozil 1 any statin. *Am J Cardiol*; 95(1):120–2.
- JONES, P. J. H.; JEW, S.; ABUMWEIS, S.** 2008. The effect of dietary oleic, linoleic, and linolenic acids on fat oxidation and energy expenditure in healthy men. *Metabolism*; 57, 1198–1203.
- JUMP, D. B.** 2004. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit Rev Clin Lab Sci*; 41: 41-78.
- JUMP, D.B.; BOTOLIN, D.; WANG, Y.; XU, J.; CHRISTIAN, B.; DEMEURE, O.** 2005. Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *J Nutr*; 135:2503– 2506.
- JUMP, D. B.** 2008. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol*; 19(3): 242–247.

JUN, M.; FOOTE, C.; LV, J.; NEAL, B.; PATEL, A.; NICHOLLS, S. J.; GROBBEE, D. E.; CASS, A.; CHALMERS, J.; PERKOVIC, V. 2010. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*; 375(9729): 1875-84.

KALUPAHANA, N. S.; CLAYCOMBE, K. J. y MOUSTAID-MOUSSA, N. 2011. "(n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance mechanistic insights, *Advances in Nutrition*; 2 (4): 304-316.

KAMANNA, V. S.; KASHYAP, M. L. 2000. Mechanism of action of niacin on lipoprotein metabolism. *Current Atherosclerosis Reports*; 2: 36 – 46.

KHAIRE, A. A.; KALE, A. A.; JOSHI, S. R. 2015. Maternal omega-3 fatty acids and micronutrients modulate fetal lipid metabolism: a review. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; 98: 49-55.

KHOOMRUNG, S.; RABER, G.; LAOTENG, K. y FRANCESCONI, K. A. 2014. Identification and characterization of fish oil supplements base don fatty acid analysis combined with a hierarchical clustering algorithm. *European Journal of Lipid Science and Technology*; 116(7), 795-804.

KNOPP, R.H.; GITTER, H.; TRUITT, T.; BAYS, H.; MANION, C.V.; LIPKA, L.J.; LEBEAUT, A.P.; SURESH, R.; YANG, B.; VELTRI, E.P. 2003. Effects of ezetimibe, a new cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J*; 24(8):729–41.

KONES, R. y RUMANA, U. 2015. Current treatment of dyslipidemia: evolving roles of non-statin and newer drugs. *Drugs*; 75:1201–1228.

KONNER, M.; EATON, S.B. 2010. Paleolithic nutrition: Twenty-five years later. *Nutr. Clin. Pract.*; 25, 594–602.

KOO, B. K. 2014. Statin for the primary prevention of cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab J.*; 38: 32-4.

KOPF, T.; SCHAEFER, H. L.; TROETZMUELLER, M.; KOEFELER, H.; BROENSTRUP, M.; KONOVALOVA, T.; SCHMITZ, G. 2014. Influence of

Fenofibrate Treatment on Triacylglycerides, Diacylglycerides and Fatty Acids in Fructose Fed Rats. *Plos One*; 9 (9): e106849.

KOTA, B. P.; HUANG, T. H. W.; ROUFOGALIS, B. D. 2005. An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research.*; 51, 85-94.

KREY, G.; BRAISSANT, O.; L'HORSET, F.; KALKHOVEN, E.; PERROUD, M.; PARKER, M.G.; WAHLI, W. 1997. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Molecular Endocrinology*; Vol. 11, no. 6, pp. 779–791.

KRISHNAN, S.; COOPER, J.A. 2014. Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans. *Eur J Nutr*; 53(3): 691-710.

KROMHOUT, D.; GILTAY, E.J.; GELEIJNSE, J.M. 2010. N-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med*; 363: 2015–26.

LALLOYER, F. y STAELS, B. 2010. Fibrates, glitazones, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Arterioscler Thromb Vascular Biol.*; 30: 894-899.

LEE, T. I., y YOUNG, R. A. 2013. Transcriptional regulation and its misregulation in disease. *Cell*; 152(6), 1237-1251.

LEE, H. S.; BARRAZA-VILLARREAL, A.; BIESSY, C.; DUARTE-SALLES, T.; SLY, P. D.; RAMAKRISHNAN, U.; RIVERA, J.; HERCEQ, Z.; ROMIEU, I. 2014. Dietary supplementation with polyunsaturated fatty acid during pregnancy modulates DNA methylation at IGF2/H19 imprinted genes and growth of infants. *Physiol Genomics*; 46: 851-7.

LEWINGTON, S.; WHITLOCK, G.; CLARKE, R.; SHERLIKER, P.; EMBERSON, J.; HALSEY, J.; QIZILBASH, N.; PETO, R.; COLLINS, R. 2007. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55 000 vascular deaths. *Lancet*; 370: 1829–39.

LI, L.; LI, L.; CHEN, L.; LIN, X.; XU, Y.; REN, J.; FU, J.; QIU, Y. 2014. Effect of oleoylethanolamide on diet-induced nonalcoholic fatty liver in rats. *J. Pharmacol. Sci.* 127(3):244-50.

- LIAO, F. H.; LIOU, T. H.; SHIEH, M. J.; CHIEN, Y. W.** 2010. Effects of different ratios of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids on regulating body fat deposition in hamsters. *Nutrition*; 26, 811–817.
- LIM, S.; PARK, Y. M.; SAKUMA, I.; KOH, K. K.** 2013. How to control residual cardiovascular risk despite statin treatment: focusing on HDL cholesterol. *Int J Cardiol*; 166: 8-14.
- LOBATO, N.S.; FILGUEIRA, F.P.; HAGIHARA, G.N.; AKAMINE, E.H.; PARIZ, J.R.; TOSTES, R.C.; CARVALHO, M.H.; FORTES, Z.B.** 2012. Improvement of metabolic parameters and vascular function by metformin in obese non-diabetic rats. *Life Sci*; 90(5-6): 228-235.
- LOW, S.; CHEW, C. M.; DEURENBERG-YAP, M.** 2009. Review on epidemic of obesity. *Ann Acad Med Singapore.*; 38: 57- 65.
- LU, Y.; BOEKSCHOTEN, M. V.; WOPEREIS, S.; MÜLLER, M.; KERSTEN, S.** 2011. Comparative transcriptomic and metabolomic analysis of fenofibrate and fish oil treatments in mice. *Physiol. Genomics*; 43: 1307-1318.
- LUCAS, E.A.; LIGHTFOOT, S.A.; HAMMOND, L.J.; DEVAREDDY, L.; KHALIL, D.A.; DAGGY, B.P.; SMITH, B.J.; WESTCOTT, N.; MOCANU, V.; SOUNG, D.Y.; ARJMANDI, B.H.** 2004. Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis* 173: 223-229.
- 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. *Neurosci Lett*; Jan 12; 611:28-32.
- MACCUBBIN, D.; KOREN, M.J.; DAVIDSON, M.; GAVISH, D.; PASTERNAK, R.C.; MACDONELL, G.; MALLICK, M.; SISK, C.M.; PAOLINI, J.F.; MITCHEL, Y.** 2009. Flushing profile of extended-release niacin/laropiprant versus gradually titrated niacin extended-release in patients with dyslipidemia with and without ischemic cardiovascular disease. *Am J Cardiol*; 104(1): 74.
- MALAFIA, A. B.; NASSIF, P. A. N.; RIBAS, C. A. P. M.; ARIEDE, B. L.; SUE, K. N.; CRUZ, M. A.** 2013. Obesity induction with high fat sucrose in rats. *ABCD Arq Bras Cir Dig*; 26 (Suplemento 1):17-21.

- MANCINI, F. P.; LANNI, A.; SABATINO L.; MORENO, M.; GIANNINO, A.; CONTALDO, F.; COLANTUONI, V. y GOGLIA, F.** 2001. Fenofibrate prevents and reduces body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *FEBS Lett.*; 491: 154–158.
- MARQUES, A. C.; HAUTRIVE, T. P.; de MOURA, G. B.; CALLEGARO, M. G. K.; HECKTHEUER, L. H. R.** 2011. Effect of flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) prepared by different methods on the biological response of rats. *Revista de Nutrição.*; 24(1): 131-141.
- MAURER, B. M.; DÖRING, D.; SCHEIPL, F.; KÜCHENHOFF, H.; ERHARD, M. H.** 2008. Effects of a gentling programme on the behaviour of laboratory rats towards humans. *Appl Anim Behav Sci. Dic*; 111(3-4), 329-41.
- MIYOSHI, H.; SOUZA, S. C.; ZHANG, H. H.; STRISSEL, K. J.; CHRISTOFFOLETE, M. A.; KOVSAN, J.; RUDICH, A.; KRAEMER, F. B.; BIANCO, A. C.; OBIN, M. S.; GREENBERG, A. S.** 2006. Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and independent mechanisms. *J Biol Chem.*; 281: 15837-44.
- 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.; PEREZ-JIMENEZ, J.; RAMOS-ROMERO, S.; ROMEU, M.; GIRALT, M.; TALTAVULL, N.; MUNOZ-CORTES, M.; JAUREGUI, O.; MENDEZ, L.; MEDINA, I.; TORRES, J. L.** 2015. Effect of n-3 PUFA supplementation at different EPA: DHA ratios on the spontaneously hypertensive obese rat model of the metabolic syndrome. *Br J Nutr.*; 113: 878-87.
- MORI, T. A. y WOODMAN, R. J.** 2006. The independent effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*; 9: 95-104.
- MOTAWI, T. M. K.; HASHEM, R. M.; RASHED, L. A. y EL-RAZEK, S. M. A. B. D.** 2009. Comparative study between the effect of the peroxisome proliferator activated receptor-a ligands fenofibrate and n-3 polyunsaturated fatty acids on activation of 50 -AMP-

activated protein kinase- α 1 in high-fat fed rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*; 61: 1339–1346.

MOURELLE, A. C.; HERRERO, E.; RICCA, M. 2013. Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. *Spei Domus*; 9(19): 39-47.

MOZAFFARIAN, D. y WU, J. H. 2011. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol.*; 58(20): 2047-67.

MUIR, A. y WESTCOTT, N. 2003. Flax: the genus *Linum*. Taylor & Francis, London, UK, pp 307. (En línea) Consultado el 02 de agosto del 2016: http://www.pdfarchive.info/pdf/M/Mu/Muir_Alister_D_-_Westcott_Neil_D_-_Flax_The_genus_Linum.pdf.

MUTISO, S. K.; RONO, D. K. Y BUKACHI, F. 2014. Relationship between anthropometric measures and early electrocardiographic changes in obese rats. *BMC Research Notes* 2014; 7:931.

NAKATANI, T.; KIM, H. J.; KABURAGI, Y.; YASUDA, K.; EZAKI, O. 2003. A low fish oil inhibits SREBP-1 proteolytic cascade, while a high fish-oil feeding decreases SREBP-1 mRNA in mice liver: relationship to anti-obesity. *J Lipid Res.*; 44: 369–379.

NEELS, J. G. y GRIMALDI, P. A. 2014. Physiological functions of peroxisome proliferator-activated receptor β . *Physiol Rev.*; 94: 795–858.

NESCHEN, S.; MORINO, K.; DONG, J.; WANG-FISCHER, Y.; CLINE, G. W.; ROMANELLI, A. J.; ROSSBACHER, J. C.; MOORE, I. K.; REGITTNIG, W.; MUNOZ, D. S.; KIM, J. H.; SHULMAN, G. I. 2007. N-3 Fatty Acids Preserve Insulin Sensitivity In Vivo in a Peroxisome Proliferator–Activated Receptor- α –Dependent Manner. *Diabetes*; 56(4):1034–41.

OLIVIER, M. C.; VANESSA, L. y ISABELLE, A. 2011. “Why and how meet n-3 PUFA dietary recommendations?”. *Gastroenterology Research and Practice*, vol. 2011, Article ID 364040, 11 pag.

OOSTERVEER, M. H.; GREFFHORST, A.; VAN DIJK, T. H.; HAVINGA, R.; STAELS, B.; KUIPERS, F.; GROEN, A. K.; REIJNGOUD, D. J. 2009. Fenofibrate

simultaneously induces hepatic fatty acid oxidation, synthesis, and elongation in mice. *J Biol Chem*; 284: 34036–34044.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). 2017. Obesity Update 2017. (En línea). Consultado el 5 de Diciembre del 2017: <https://www.oecd.org/els/health-systems/Obesity-Update-2017.pdf>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2017. Obesidad y sobrepeso. (En línea). Consultado el 5 de Diciembre del 2017: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>

OSADA, M.; SAKAI, T.; KUROYANAGI, K.; KOHNO, H.; TSUNEOKA, H. 2014. Treatment of experimental autoimmune uveoretinitis with peroxisome proliferator-activated receptor α agonist fenofibrate. *Mol Vis.*; 20: 1518-1526.

PALI, V. y MEHTA, N. 2014. Evaluation of Oil Content and Fatty Acid Compositions of Flax (*Linum usitatissimum L.*) Varieties of India. *Journal of Agricultural Science*; Vol. 6, No. 9.

PAN, A.; CHEN, M.; CHOWDHURY, R.; WU, J. H. Y.; CAMPOS, Q. S. H.; MOZAFFARIAN, D. y HU, F. B. 2012. α -Linolenic acid and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.*; 96: 1262–73.

PANDOR, A.; ARA, R.M.; TUMUR, I.; WILKINSON, A.J.; PAISLEY, S.; DUENAS, A.; DURRINGTON, P.N.; CHILCOTT, J. 2009. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med.*; 265:568–80.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. 2010. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother.*; 1 (2): 87-93.

PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G.F.; ROSS, R.P. y STANTON, C. 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids (review). *Journal of Nutrition and Metabolism*; Article ID 539426, 16 pages.

PAWAR, A. y JUMP, D. B. 2003. Unsaturated fatty acid regulation of peroxisome proliferator activated receptor α activity in primary rat hepatocytes. *J Biol Chem.*; 278: 35931–35939.

PAWAR, A.; BOTOLIN, D.; MANGELSDORF, D.J.; JUMP, D. B. 2003. The role of liver X receptor-alpha (LXR-alpha) in the fatty acid regulation of hepatic gene expression. *J Biol Chem.*; 278: 40736–40743.

PAWLOSKY, R.J.; HIBBELN, J.R.; NOVOTNY, J.A.; SALEM, N JR. 2001. Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J Lipid Res*; 42:1257–65.

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.

PIMENTEL, G. D.; DORNELLAS, A. P.; ROSA, J. C.; LIRA, F. S.; CUNHA, C. A.; BOLDARINE, V. T.; DE SOUZA, G. I.; HIRATA, A. E.; NASCIMENTO, C. M.; OYAMA, L. M.; WATANABE, R. L.; RIBEIRO, E. B. 2012. High-fat diets rich in soy or fish oil distinctly alter hypothalamic insulin signaling in rats. *J Nutr Biochem.*; 23: 822-828.

PLUTZKY, J. 2011. The PPAR-RXR transcriptional complex in the vasculature: energy in the balance. *Circ Res.*; 108: 1002–16.

POLETTI, A. C.; SILVA, A. D.; YAMAMOTO, A.; MACHADO, U. F. y FURUY, D. T. 2015. Reduced Slc2a4/GLUT4 expression in subcutaneous adipose tissue of monosodium glutamate obese mice is recovered after atorvastatin treatment. *Diabetology & Metabolic Syndrome*; 7:18.

POPKIN, B. M. 2006. Global nutrition dynamics: the world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. *Am J Clin Nutr.*; 84, 289–298.

PREISS, D.; SESHASAI, S. R.; WELSH, P.; MURPHY, S. A.; HO, J. E.; WATERS, D. D.; DEMICCO, D. A.; BARTER, P.; CANNON, C. P.; SABATINE, M. S.; BRAUNWALD, E.; KASTELEIN, J. J.; DE LEMOS, J. A.; BLAZING, M. A.; PEDERSEN, T. R.; TIKKANEN, M. J.; SATTAR, N. Y RAY, K. K. 2011. Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis. *JAMA*; 305: 2556–64.

- RACINE, R. A. y DECKELBAUM, R. J.** 2007. Sources of the very-long-chain unsaturated omega-3 fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 10: 123–128.
- RAJWADE, A. V.; ARORA, R. S.; KADDOO, N. Y.; HARSULKAR, A. M.; GHORPADE, P. B.; GUPTA, V. S.** 2010. Relatedness of Indian flax genotypes (*Linum usitatissimum* L.): an inter-simple sequence repeat (ISSR) primer assay. *Mol. Biotechnol.*; 45(2): 161-170.
- RAO, M. S.; KASHIREDDY, P.; MUSUNURI, S.; OKONKWO, A.** 2002. Prevention/reversal of choline deficiency-induced steatohepatitis by a peroxisome proliferator activated receptor alpha ligand in rats. *In Vivo*; 16(2): 145–152.
- RAO, M. S.; REDDY, J. K.** 2004. PPAR alpha in the pathogenesis of fatty liver disease. *Hepatology*; 40(4): 783-786.
- REIFFEL, J. A.; MCDONALD, A.** 2006. Antiarrhythmic effects of omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.*; 98: 50-60.
- RENAUD, S. C. y LANZMANN-PETITHORY, D.** 2001. Alpha-linolenic acid in the prevention of cardiovascular diseases. *World Rev Nutr Diet*; 88: 79-85.
- RIDKER P.M.** 2014. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *Lancet*; 384: 607-17.
- RIEDIGER, N. D.; OTHMAN, R.; FITZ, E.; PIERCE, G. N.; SUH, M.; MOGHADASIAN, M. H.** 2008. Low n-6: n-3 fatty acid ratio, with fish- or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr.*; 47: 153-160.
- RICCIOTTI, E y FITZGERALD, G.A.** 2011. “Prostaglandins and inflammation”. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*; Vol. 31, no. 5, pp. 986–1000.
- ROCHE, H. M.** 1999. Unsaturated fatty acids. *Proceedings of the Nutrition Society*; 58, 397–401.
- RODRÍGUEZ-CRUZ, M.; TOVAR, A. R.; DEL PRADO, M.; TORRES, N.** 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Rev Invest Clin*; 57 (3): 457-472.

ROS, E. y LAGUNA, J. C. 2006. Tratamiento de la hipertrigliceridemia: fibratos frente a ácidos grasos omega-3. *Rev Esp Cardiol Supl*; 6: 52D-61D.

RUIDAVETS, J.B.; BONGARD, V.; DALLONGEVILLE, J.; ARVEILER, D.; DUCIMETIERE, P.; PERRET, B.; SIMON, C.; AMOUYEL, P.; FERRIERES, J. 2007. High consumptions of grain, fish, dairy products and combinations of these are associated with a low prevalence of metabolic syndrome. *J. Epidemiol. Community Health*; 61, 810–817.

SAMPSON, U. K.; FAZIO, S.; LINTON, M. F. 2012. Residual cardiovascular risk despite optimal LDL cholesterol reduction with statins: the evidence, etiology, and therapeutic challenges. *Curr Atheroscler Rep.*; 14: 1-10.

SANDERS, S. J. y MASON C. E. 2016. Chapter 1-The newly emerging view of the genome. Pages: 3-26. doi.org/10.1016/B978-0-12-800105-9.00001-9.

SARRADELL, J.; RONDELLI, F.M.; HRDALO, J.C.; FIORENTINI, J.; GOLLAN, A.; MOLINARI, C.; IBARGOYEN, G.; D'ESPÓSITO, R.; PIETRONAVE, V.; BELÁ, M.; SCHIAFFI, A.; RINAUDO, A.; SACCHI, L.; PAGNI, C.; FAIN BINDA, J.C. 2010. Células ovales en el hígado de ratas con lesiones quirúrgicas severas. *InVet*; 12(1): 19-24.

SARWAR, N.; DANESH, J.; EIRIKSDOTTIR, G.; SIGURDSSON, G.; WAREHAM, N.; BINGHAM, S.; BOEKHOLDT, S.M.; KHAW, K.T.; GUDNASON, V. 2007. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10, 158 incident cases among 262, 525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation*; 115(4): 450-8.

SCHWAB, J. M.; CHIANG, N.; ARITA, M. y SERHAN, C. N. 2007. “Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation resolution programmes”. *Nature*; 447 (7146): 869-874.

SEOK, H. y CHA, B. S. 2013. Refocusing Peroxisome Proliferator Activated Receptor- α : A New Insight for Therapeutic Roles in Diabetes. *Diabetes Metab J.*; 37(5): 326-332.

SERHAN, C.N. 2014. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*; 510, 92–101.

SETHI, S.; ZIOUZENKOVA, O.; NI, H.; WAGNER, D. D.; PLUTZKY, J.; MAYADAS, T. N. 2002. Oxidized omega-3 fatty acids in fish oil inhibit leukocyte-endothelial interactions through activation of PPAR alfa. *Blood*, 100(4): 1340–1346.

- SHABBIR, F.; KHAN, S.; YOUSAF, M. J.; KHAN, M. A.; RAJPUT, T. A.** 2016. Comparison of effect of high fat diet induced obesity and subsequent atorvastatin administration on different anthropometric measures in sprague dawley rats. *Pak Armed Forces Med J*; 66(5):699-704.
- SHAHIDI, F.** 2015. Omega-3 fatty acids and marine oils in cardiovascular and general health: A critical overview of controversies and realities. *Journal of Functional Foods*, 19, 797–800.
- SHANG, T.; LIU, L.; ZHOU, J.; ZHANG, M.; HU, Q.; FANG, M.; WU, Y.; YAO, P. y GONG, Z.** 2017. Protective effects of various ratios of DHA/ EPA supplementation on high-fat dietinduced liver damage in mice. *Lipids in Health and Disease*; 16: 65.
- SHEARER, G. C.; SAVINOVA, O. V.; HARRIS, W. S.** 2012. Fish oil – how does it reduce plasma triglycerides? *Biochim Biophys Acta*. May; 1821(5): 843–851.
- SIMOPOULOS, A. P.** 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*., 56, 365-379.
- SIMOPOULOS, A. P.** 2008. The Importance of the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*; 233: 674-688.
- SIMOPOULOS, A. P.** 2016. An Increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity (Review). *Nutrients*; 8, 128.
- SOHN, M.; KIM, K.; UDDIN, M. D. J.; LEE, G.; HWANG, I.; KANG, H.; KIM, H.; LEE, J. H. y HA, H.** 2017. Delayed treatment with fenofibrate protects against high-fat diet-induced kidney injury in mice: the possible role of AMPK autophagy. *Am J Physiol Renal Physiol.*; 312: F323–F334.
- STAELS, B.; DALLONGEVILLE, J.; AUWERX, J.; SCHOONJANS, K.; LEITERSDORF, E.; FRUCHART, J. C.** 1998. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation*; 98: 2088-93.
- STROBEL, C.; JAHREIS, G. y KUHNT, K.** 2012. Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. *Lipids in health and disease*; 11(1), 1.

SUNDARAM, S.; BUKOWSKI, M. R.; LIE, W. R.; PICKLO, M. J.; YAN, L. 2016. High-fat diets containing different amounts of n3 and n6 polyunsaturated fatty acids modulate inflammatory cytokine production in mice. *Lipids*; 51: 571– 582.

TAI, C.C y DING, S.T. 2010. “N-3 polyunsaturated fatty acids regulate lipid metabolism through several inflammation mediators: mechanisms and implications for obesity prevention”. *Journal of Nutritional Biochemistry*; Vol. 21, no. 5, pp. 357–363.

TANGKA, J.; BANNE, Y.; DUMANAUW, J. M.; RUMAGIT, B. 2016. The effect of tuna fish oil (*Thunnus albacares*) on the total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and the triacylglycerol level on hypercholesterolemia rats (*Rattus norvegicus*). *IJPCR*; 8(5) Suppl: 451-456.

TARQUI-MAMANI, C.; SÁNCHEZ-ABANTO, J.; ALVAREZ-DONGO, D.; GÓMEZ-GUIZADO, G.; VALDIVIA-ZAPANA, S. 2013. Tendencia del sobrepeso, obesidad y exceso de peso en el Perú. *Rev. Peru. Epidemiol.* Vol 17, N° 3.

TAVINTHARAN, S.; KASHYAP, M. L. 2001. The benefits of niacin in atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*; 3: 74 – 82.

TAYLOR, A.; VILLINES, T.; STANEK, E.; DEVINE, P.; GRIFFEN, L.; MILLER, M.; WEISSMAN, N. y TURCO, M. 2009. Extended-Release Niacin or Ezetimibe and Carotid Intima–Media Thicknes. *N Eng J Med*; 361: 2113-22.

TENENBAUM, A.; FISMAN, E. Z. 2012. Balanced pan-PPAR activator bezafibrate in combination with statin: comprehensive lipids control and diabetes prevention? *Cardiovasc Diabetol.*; 11: 140.

TETENS, I. 2012. EFSA panel on dietetic products, nutrition and allergies (NDA); scientific opinión related to the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal*; 10 (7), 2817.

THAMBUGALA, D. y CLOUTIER, S. 2014. Fatty acid composition and desaturase gene expression in flax (*Linum usitatissimum* L.). *J. Appl. Genetics.* 55:423–432.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. 2016. Guía del usuario-NanoDrop One. Espectrofotómetros micro-UV/Vis NanoDrop. Medir ADNbc, ADNmc o ARN, 25p. (En

línea). Consultado el 4 de Mayo del 2018: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/manuals/3091-NanoDrop-One-User-Guide-v1.3-sw-SPANISH.pdf>

THORSDOTTIR, I.; TOMASSON, H.; GUNNARSDOTTIR, I.; GISLADOTTIR, E.; KIELY, M.; PARRA, M.; BANDARRA, N.; SCHAAFSMA, G.; MARTINE, J. 2007. Randomized trial of weight-loss-diets for young adults varying in fish and fish oil content. *Int. J. Obes.*; 31: 1560–1566.

TONG, F.; BLACK, P. N.; COLEMAN, R. A.; DIRUSSO, C. C. 2006. Fatty acid transport by vectorial acylation in mammals: Roles played by different isoforms of rat long-chain acyl-CoA synthetases. *Arch Biochem Biophys*; 447: 46–52.

TORRA, I.P.; CHINETTI, G.; DUVAL, C.; FRUCHART, J.C.; STAELS, B. 2001. Peroxisome proliferator-activated receptors: from transcriptional control to clinical practice. *Curr Opin Lipidol.*; 12:245–54.

TZIOMALOS, K.; ATHYROS, V.G.; MIKHAILIDIS, D.P. 2009. Colesevelam improves glycemic control and lipid management in inadequately controlled type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*; 5: 16-7.

WANG, C.; HARRIS, W. S.; CHUNG, M.; LICHTENSTEIN, A. H.; BALK, E. M.; KUPELNICK, B.; JORDAN, H. S.; LAU, J. 2006. N-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr*; 84:5–17.

WANG, Y. y HUANG, F. 2015. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation in Obesity: Local Effect and Systemic Benefit (Review). *BioMed Research International*; Volume 2015, Article ID 581469, 16 pages.

WANG, M.; ZHANG, X. J.; FENG, K.; HE, C.; LI, P.; HU, Y. J.; SU, H.; WAN, J. B. 2016. Dietary α -linolenic acid-rich flaxseed oil prevents against alcoholic hepatic steatosis via ameliorating lipid homeostasis at adipose tissue-liver axis in mice. *Nature. Scientific Reports.*; 6: 26826.

WANG, H. CAI, Y.; SHAO, Y.; ZHANG, X.; LI, N.; ZHANG, H.; LIU, Z. 2018. Fish oil ameliorates high-fat diet induced male mouse reproductive dysfunction via modifying the rhythmic expression of testosterone synthesis related genes. *Int. J. Mol. Sci.*; 19, 1325.

WARD, O. P. y SINGH, A. 2005. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production. *Process Biochemistry*, 40(12), 3627–3652.

WATANABE, R. L.; ANDRADE, I. S.; ZEMDEGS, J. C.; ALBUQUERQUE, K. T.; NASCIMENTO, C. M.; OYAMA, L. M.; CARMO, M. G.; NOGUEIRA, M. I.; RIBEIRO, E. B. 2009. Prolonged consumption of soy or fish-oil-enriched diets differentially affects the pattern of hypothalamic neuronal activation induced by refeeding in rats. *Nutr Neurosci.*; 12: 242-248.

WATANABE, R. L. H.; ANDRADE, I. S.; TELLES, M. M.; ALBUQUERQUE, K. T.; NASCIMENTO, C. M. O.; OYAMA, L. M.; CASARINI, D. E.; RIBEIRO, E. B. 2010. Long-term consumption of fish oil-enriched diet impairs serotonin hypophagia in rats. *Cell Mol Neurobiol*; 30: 1025–1033.

WATERMAN, I. J. y ZAMMIT, V. A. 2002. Differential effects of fenofibrate or simvastatin treatment of rats on hepatic microsomal overt and latent diacylglycerol acyltransferase activities. *Diabetes*; 51(6): 1708e13.

WIKTOROWSKA-OWCZAREK, A.; BEREZIŃSKA, M.; NOWAK, J. Z. 2015. PUFAs: Structures, Metabolism and Functions. *Adv Clin Exp Med.*; 24 (6): 931–941.

XIE, X.; ZHANG, T.; ZHAO, S.; LI, W.; MA, L.; DING, M. y 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.

XU, J.; RONG, S.; GAO, H.; CHEN, C.; YANG, W.; DENG, Q.; HUANG, Q.; XIAO, L.; HUANG, F. 2017. A combination of flaxseed oil and astaxanthin improves hepatic lipid accumulation and reduces oxidative stress in high fat-diet fed rats. *Nutrients*; 9, 271. 13 pp.

YAMAZAKI, R. K.; BRITO, G. A. P.; COELHO, I.; PEQUITTO, D. C. T.; YAMAGUCHI, A. A.; BORGHETTI, G.; SCHIESSEL, D. L.; KRYCZYK, M.; MACHADO, J.; ROCHA, R. E. R.; AIKAWA, J.; IAGHER, F.; NALIWAIKO, K.; TANHOFFER, R. A.; NUNES, E. A. Y FERNANDES, L. C. 2011. Low fish oil intake improves insulin sensitivity, lipid profile and muscle metabolism on insulin resistant MSG-obese rats. *Lipids in Health and Disease*; 10: 66.

YATES, C.M.; CALDER, P.C.; ED RAINGER, G. 2014. Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. *Pharmacol. Ther.*; 141, 272–282.

ZHANG, W.; WANG, X.; LIU, Y.; TIAN, T.; FLICKINGER, B.; EMPIE, M. W.; SUN, S. Z. 2008. Dietary flaxseed lignin extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. *Br J Nutr.*; 99(6): 1301-9.

ZHANG, W. X.; FAN, J.; MA, J.; RAO, Y. S.; ZHANG, LI.; YAN, Y. E. 2016. Selection of suitable reference genes for quantitative real-time PCR normalization in three types of rat adipose tissue. *Int. J. Mol. Sci.* 17(6):968.

VIII. ANEXO

ANEXO I. Perfil de ácidos grasos del Aceite de Pescado.

INFORME DE ENSAYO N° 3-00457/17

Solicitante : **FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGRARIO**

Domicilio Legal : Jr. Camilo Carrillo 325 - Jesús María - Lima

Producto Declarado : **ACEITE DE PESCADO**

Cantidad de muestra para ensayo : 01 muestra x 150 mL.
Muestra proporcionada por el solicitante

Forma de Presentación : En frasco de plástico, cerrado y conservada a temperatura ambiente.

Identificación de la muestra : **CÓDIGO: 991017-04**
F.V: 4/19
MARCA ENVASE: SUNDOWN

Fecha de Recepción : 2017 – 01 – 10

Fecha de Inicio del ensayo : 2017 01 – 10

Fecha de Término del ensayo : 2017 – 01 – 23

Ensayo realizado en : Laboratorio Ambiental – GC

Identificado con : **H/S 17000353 (EXAI-00731-2017)**

Validez del documento : Este documento es válido solo para la muestra descrita

n°	Ácidos Grasos	C:n	Límite de cuantificación (g/100g de muestra)	Resultados (g/100g de muestra)
1	Acido Butírico	4:0	0,097	< 0,097
2	Acido Caproico	6:0	0,033	< 0,033
3	Acido Caprílico	8:0	0,022	< 0,022
4	Acido Capríco	10:0	0,010	< 0,010
5	Acido Undecanoico	11:0	0,003	< 0,003
6	Acido Laurico	12:0	0,007	0,093
7	Acido Tridecanoico	13:0	0,003	0,065
8	Acido Mirístico	14:0	0,011	5,588
9	Acido Miristoleico	14:1	0,004	< 0,004
10	Acido Pentadecanoico	15:0	0,007	0,841
11	Acido cis 10 pentadecenoico	15:1	0,002	< 0,002
12	Acido Palmítico	16:0	0,016	16,301
13	Acido Palmitoleico	16:1	0,006	5,934
14	Acido Margarico (Heptadecanoico)	17:0	0,006	< 0,006
15	Acido cis 10 Heptadecenoico	17:1	0,007	< 0,007
16	Acido Estearico	18:0	0,018	3,377
17	Acido Elaidico (Trans)	18:1 (ω 9 trans)	0,008	< 0,008
18	Acido Oleico	18:1 (ω 9 cis)	0,017	17,530
19	Acido Linoeladico (Trans)	18:2 (ω 6 trans)	0,007	< 0,007
20	Acido Linoleico	18:2 (ω 6 cis)	0,009	2,486
21	Acido γ Linolenico	18:3 (ω 6)	0,007	0,135
22	Acido Linolenico	18:3 (ω 3)	0,007	1,399
23	Acido Araquídico	20:0	0,014	0,533
24	Acido cis 11 Eicosenoico	20:1	0,011	0,562
25	Acido Heneicosanoico	21:0	0,032	< 0,032
26	Acido cis 11,14 Eicosadienoico	20:2	0,022	0,221
27	Acido cis 11,14,17 Eicosatrienoico	20:3 (ω 3)	0,004	< 0,004
28	Acido Araquidónico	20:4 (ω 6)	0,006	0,586
29	Acido cis 8,11,14 Eicosatrienoico	20:3 (ω 6)	0,003	0,089
30	Acido Behénico	22:0	0,019	0,198
31	Acido Erucico	22:1 (ω 9)	0,010	< 0,010
32	Acido cis 5,8,11,14,17 Eicosapentaenoico	20:5 (ω 3) EPA	0,014	10,753
33	Acido Tricosanoico	23:0	0,010	0,325
34	Acido cis 13,16 Docosadienoico	22:2	0,012	< 0,012
35	Acido Lignocerico	24:0	0,026	0,099
36	Acido Nervónico	24:1	0,010	0,558
37	Acido cis 4,7,10,13,16,19 Docosahexaenoico	22:6 (ω 3) DHA	0,038	24,413

Ácidos grasos: AOAC-996.06, c41, 20 th Ed. 2016 .Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method. Fuente: CERPER S. A.

ANEXO II. Perfil de ácidos grasos del Aceite de Linaza.

INFORME DE ENSAYO N° 3-00458/17

Solicitante : **FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGRARIO**

Domicilio Legal : Jr. Camilo Carrillo 325 - Jesús María - Lima

Producto Declarado : **ACEITE DE LINAZA**

Cantidad de muestra para ensayo : 01 muestra x 250 mL.
Muestra proporcionada por el solicitante

Forma de Presentación : En botella de vidrio, cerrado y conservada a temperatura ambiente.

Identificación de la muestra : **LT: 1112416**
F.V: 15/06/18
MARCA ENVASE: GATTI

Fecha de Recepción : 2017 – 01 – 10

Fecha de Inicio del ensayo : 2017 01 – 10

Fecha de Término del ensayo : 2017 – 01 – 23

Ensayo realizado en : Laboratorio Ambiental – GC

Identificado con : **H/S 17000353 (EXAI-00731-2017)**

Validez del documento : Este documento es válido solo para la muestra descrita

n°	Ácidos Grasos	C:n	Límite de cuantificación (g/100g de muestra)	Resultados (g/100g de muestra)
1	Acido Butírico	4:0	0,097	< 0,097
2	Acido Caproico	6:0	0,033	< 0,033
3	Acido Caprílico	8:0	0,022	< 0,022
4	Acido Capríco	10:0	0,010	< 0,010
5	Acido Undecanoico	11:0	0,003	< 0,003
6	Acido Laurico	12:0	0,007	< 0,007
7	Acido Tridecanoico	13:0	0,003	< 0,003
8	Acido Mirístico	14:0	0,011	< 0,011
9	Acido Miristoleico	14:1	0,004	< 0,004
10	Acido Pentadecanoico	15:0	0,007	< 0,007
11	Acido cis 10 pentadecenoico	15:1	0,002	< 0,002
12	Acido Palmítico	16:0	0,016	5,041
13	Acido Palmitoleico	16:1	0,006	0,091
14	Acido Margarico (Heptadecanoico)	17:0	0,006	< 0,006
15	Acido cis 10 Heptadecenoico	17:1	0,007	< 0,007
16	Acido Estearico	18:0	0,018	3,198
17	Acido Eláidico (Trans)	18:1 (ω 9 trans)	0,008	< 0,008
18	Acido Oleico	18:1 (ω 9 cis)	0,017	18,111
19	Acido Linoeláidico (Trans)	18:2 (ω 6 trans)	0,007	< 0,007
20	Acido Linoleico	18:2 (ω 6 cis)	0,009	13,678
21	Acido γ Linolenico	18:3 (ω 6)	0,007	< 0,007
22	Acido Linolenico	18:3 (ω 3)	0,007	59,601
23	Acido Araquídico	20:0	0,014	< 0,014
24	Acido cis 11 Eicosenoico	20:1	0,011	< 0,011
25	Acido Heneicosanoico	21:0	0,032	< 0,032
26	Acido cis 11,14 Eicosadienoico	20:2	0,022	< 0,022
27	Acido cis 11,14,17 Eicosatrienoico	20:3 (ω 3)	0,004	< 0,004
28	Acido Araquidónico	20:4 (ω 6)	0,006	< 0,006
29	Acido cis 8,11,14 Eicosatrienoico	20:3 (ω 6)	0,003	< 0,003
30	Acido Behénico	22:0	0,019	0,117
31	Acido Erucico	22:1 (ω 9)	0,010	< 0,010
32	Acido cis 5,8,11,14,17 Eicosapentaenoico	20:5 (ω 3) EPA	0,014	0,062
33	Acido Tricosanoico	23:0	0,010	< 0,010
34	Acido cis 13,16 Docosadienoico	22:2	0,012	< 0,012
35	Acido Lignocérico	24:0	0,026	0,061
36	Acido Nervónico	24:1	0,010	< 0,010
37	Acido cis 4,7,10,13,16,19 Docosahexaenoico	22:6 (ω 3) DHA	0,038	< 0,038

Ácidos grasos: AOAC-996.06, c41, 20 th Ed. 2016 .Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method. Fuente: CERPER S. A.

ANEXO III. Kit comercial empleado para la obtención del perfil lipídico y glucosa.

a) Mission® Cholesterol Monitoring System

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



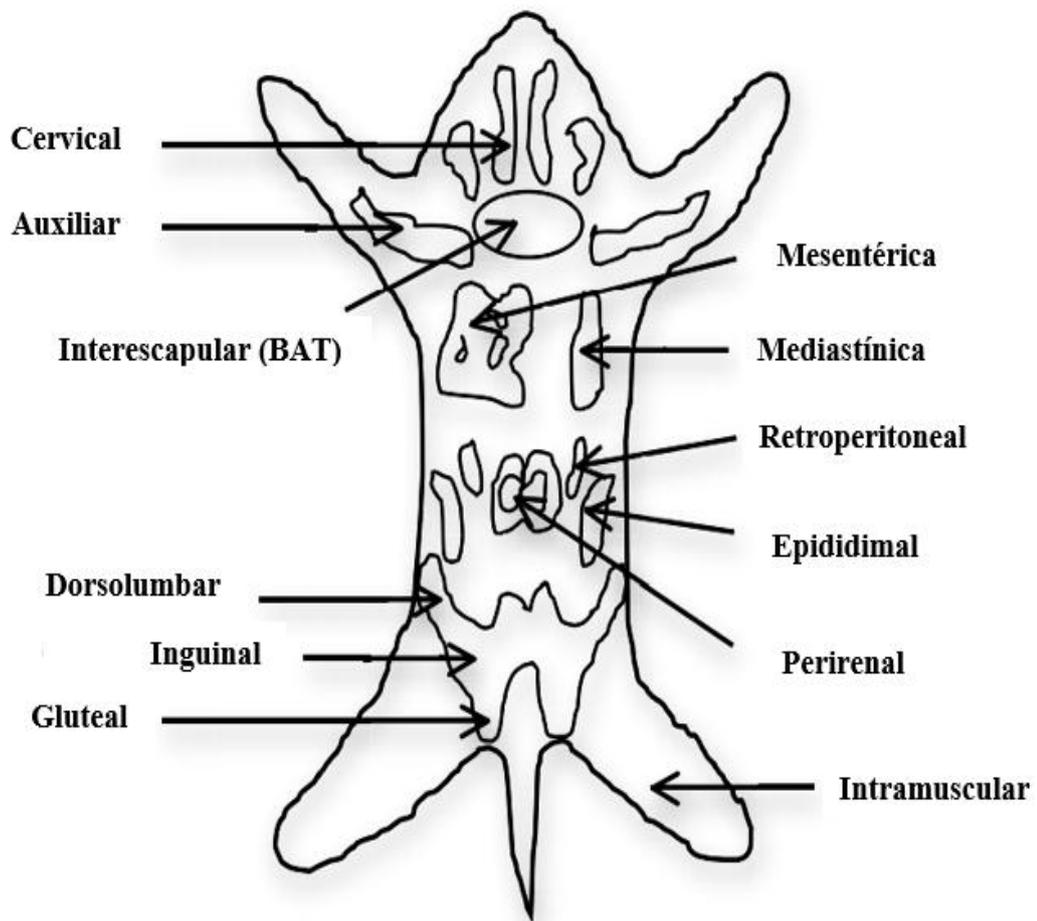
b) On Call® Advanced Blood Glucose Monitoring System



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. Reporta los resultados en tan sólo 5 segundos.

Distribuidor en Perú: MontGroup S. A. C. (<http://www.montgroup.com.pe>)

ANEXO IV. Diagrama de distribución de los depósitos de grasa en la rata.



Adapado de Cinti (2002)

ANEXO V. Registro referido al peso inicial, peso final y ganancia de peso al finalizar el período de inducción a la obesidad.

Grupo*	Repetición	Peso Inicial (g)	Peso 30 días (g)	Ganancia de Peso (g)
1	1	202.0	333.0	131.0
	2	203.0	320.0	117.0
	3	206.0	321.0	115.0
	4	184.0	305.0	121.0
	5	191.0	304.0	113.0
	6	161.0	280.0	119.0
	7	190.0	262.0	72.0
	Promedio	191.00	303.57	112.57
2	1	188.0	338.0	150.0
	2	204.0	317.0	113.0
	3	180.0	314.0	134.0
	4	187.0	300.0	113.0
	5	191.0	303.0	112.0
	6	158.0	281.0	123.0
	7	177.0	275.0	98.0
	Promedio	183.57	304.00	120.43
3	1	202.0	338.0	136.0
	2	204.0	322.0	118.0
	3	199.0	317.0	118.0
	4	180.0	306.0	126.0
	5	196.0	302.0	106.0
	6	183.0	281.0	98.0
	7	180.0	264.0	84.0
	Promedio	192.00	304.29	112.29
4	1	191.0	331.0	140.0
	2	213.0	324.0	111.0
	3	208.0	322.0	114.0
	4	186.0	307.0	121.0
	5	181.0	300.0	119.0
	6	182.0	290.0	108.0
	7	162.0	250.0	88.0
	Promedio	189.00	303.43	114.43
5	1	212.0	326.0	114.0
	2	194.0	326.0	132.0
	3	200.0	311.0	111.0
	4	201.0	307.0	106.0
	5	161.0	287.0	126.0
	6	154.0	292.0	138.0
	7	166.0	279.0	113.0
	Promedio	184.00	304.00	120.00

**Todos los grupos recibieron de manera exclusiva una dieta obesogénica durante el proceso de inducción a la obesidad.*

ANEXO VI. Registro referido a la longitud hocico-ano, perímetro de cuello y perímetro torácico al finalizar el período de inducción a la obesidad.

Grupo*	Repetición	LHA (cm)	Perímetro de Cuello (cm)	Perímetro Torácico (cm)
1	1	20.2	10.2	13.9
	2	19.6	10.2	14.6
	3			
	4	19.8	11.0	13.0
	5	20.4	10.5	13.2
	6	19.4	11.1	14.2
	7	19.0	8.9	12.5
	Promedio	19.73	10.32	13.57
2	1	20.0	9.8	13.0
	2	19.7	11.9	13.5
	3	20.0	9.1	13.0
	4	20.8	9.2	12.9
	5	20.7	11.3	13.4
	6	19.9	9.8	12.9
	7	19.6	9.2	13.3
	Promedio	20.10	10.04	13.14
3	1	20.6	10.9	14.5
	2	19.2	10.4	13.3
	3	18.4	10.3	14.5
	4		9.5	12.7
	5			
	6	19.8	9.3	13.1
	7	19.3	9.6	12.2
	Promedio	19.47	10.00	13.38
4	1	19.2	11.2	14.0
	2	20.2	10.4	14.3
	3	20.5	10.2	13.1
	4	20.9	9.5	12.4
	5	19.7	10.1	13.0
	6	19.0	9.3	13.1
	7	17.5	9.1	14.1
	Promedio	19.58	9.97	13.43
5	1	18.1	10.6	14.0
	2	19.1	10.1	14.5
	3	20.4	10.1	13.9
	4	19.8	10.0	13.8
	5	20.6	9.6	13.2
	6			
	7	20.6	9.6	12.5
	Promedio	19.77	10.00	13.65

**Todos los grupos recibieron de manera exclusiva una dieta obesogénica durante el proceso de inducción a la obesidad.*

ANEXO VII. Registro referido al perímetro abdominal e índice de Lee al finalizar el período de inducción a la obesidad.

Grupo*	Repetición	Perímetro Abdominal (cm)	Índice de Lee
1	1	14.8	0.343
	2	15.5	0.350
	3		
	4	14.4	0.340
	5	14.1	0.330
	6	14.5	0.337
	7	12.5	0.336
	Promedio	14.30	0.339
2	1	16.0	0.348
	2	14.6	0.346
	3	13.2	0.340
	4	14.7	0.322
	5	14.1	0.325
	6	13.1	0.329
	7	13.3	0.332
	Promedio	14.14	0.335
3	1	14.9	0.338
	2	15.1	0.357
	3	15.6	0.370
	4	14.0	
	5		
	6	13.9	0.331
	7	14.5	0.332
	Promedio	14.67	0.346
4	1	15.6	0.359
	2	15.7	0.340
	3	13.8	0.335
	4	14.0	0.323
	5	15.5	0.339
	6	13.2	0.348
	7	13.9	0.360
	Promedio	14.53	0.343
5	1	15.0	0.380
	2	14.6	0.361
	3	13.5	0.332
	4	14.2	0.340
	5	13.2	0.321
	6		
	7	13.0	0.316
	Promedio	13.92	0.342

**Todos los grupos recibieron de manera exclusiva una dieta obesogénica durante el proceso de inducción a la obesidad.*

ANEXO VIII. Registro referido al perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre al finalizar el período de inducción a la obesidad.

Grupo*	Repetición	Glucosa (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)
1	1	138.0	46.0	19.0
	2	83.0	65.0	22.0
	3			
	4	59.0	85.0	21.0
	5	79.0		
	6	72.0		
	7	105.0	72.0	24.0
	Promedio	89.33	67.00	21.50
2	1	99.0	59.0	21.0
	2	65.0	71.0	22.0
	3	84.0		
	4	87.0	63.0	26.0
	5	74.0		
	6	68.0	56.0	28.0
	7	74.0	68.0	25.0
	Promedio	78.71	63.40	24.40
3	1	86.0	86.0	23.0
	2	81.0	55.0	28.0
	3	78.0	63.0	15.0
	4	79.0	51.0	24.0
	5			
	6	82.0	61.0	16.0
	7	82.0		
	Promedio	81.33	63.20	21.20
4	1	85.0	67.0	17.0
	2	87.0	75.0	23.0
	3	71.0		
	4	84.0	64.0	24.0
	5	96.0	60.0	24.0
	6	72.0	63.0	27.0
	7	66.0		
	Promedio	80.14	65.80	23.00
5	1	82.0	85.0	21.0
	2	85.0	68.0	28.0
	3	115.0	68.0	24.0
	4	99.0		
	5	97.0	45.0	22.0
	6			
	7	70.0	56.0	28.0
	Promedio	91.33	64.40	24.60

**Todos los grupos recibieron de manera exclusiva una dieta obesogénica durante el proceso de inducción a la obesidad.*

ANEXO IX. Registro referido al peso, ganancia de peso y consumo de alimento tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Peso 60 días (g)	Ganancia de Peso (g)	Consumo de Alimento (g)
T-1	1	407.0	74.0	563.5
	2	384.0	64.0	496.7
	3	396.0	75.0	544.1
	4	342.0	37.0	477.6
	5	344.0	40.0	513.8
	6	334.0	54.0	484.5
	7	324.0	62.0	496.8
	Promedio	361.57	58.00	511.00
T-2	1	410.0	72.0	470.0
	2	384.0	67.0	490.4
	3	376.0	62.0	473.6
	4	358.0	58.0	433.3
	5	369.0	66.0	439.5
	6	352.0	71.0	420.3
	7	345.0	70.0	446.7
	Promedio	370.57	66.57	453.40
T-3	1	430.0	92.0	519.3
	2	405.0	83.0	475.1
	3	395.0	78.0	467.4
	4	376.0	70.0	434.6
	5	375.0	73.0	454.9
	6			
	7	340.0	76.0	411.5
	Promedio	386.83	78.67	460.47
T-4	1	408.0	77.0	481.2
	2	416.0	92.0	519.6
	3	396.0	74.0	475.0
	4	364.0	57.0	428.7
	5	362.0	62.0	430.9
	6	354.0	64.0	421.4
	7	321.0	71.0	403.8
	Promedio	374.43	71.00	451.51
T-5	1	408.0	82.0	516.2
	2	394.0	68.0	540.6
	3	353.0	42.0	450.3
	4	340.0	33.0	443.4
	5	348.0	61.0	466.6
	6	374.0	82.0	510.9
	7	340.0	61.0	431.0
	Promedio	365.29	61.29	479.86

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO X. Registro referido a la longitud hocico-ano, perímetro de cuello y perímetro torácico tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	LHA (cm)	Perímetro de Cuello (cm)	Perímetro Torácico (cm)
T-1	1	21.7	12.1	14.6
	2	19.9	11.1	14.6
	3	19.0	11.1	14.8
	4	21.0	11.2	14.7
	5	20.4	10.5	13.5
	6	19.8	10.7	13.7
	7	21.4	10.6	13.5
	Promedio	20.45	11.04	14.20
T-2	1	20.7	11.5	15.0
	2	21.5	11.7	13.7
	3	20.0	10.7	14.4
	4	20.8	11.1	13.9
	5	20.9	10.1	13.0
	6	20.6	11.1	12.9
	7	19.8	9.6	13.8
	Promedio	20.62	10.83	13.81
T-3	1	20.9	11.4	15.8
	2	21.1	10.2	14.0
	3	20.5	12.0	14.0
	4	20.3	10.6	13.8
	5	18.9	11.4	16.0
	6			
	7	20.1	11.3	13.2
	Promedio	20.31	11.15	14.47
T-4	1	19.6	11.3	15.1
	2	21.1	10.3	14.2
	3	20.6	12.0	14.5
	4	21.0	10.9	13.2
	5	19.8	11.1	14.3
	6	19.7	10.4	13.2
	7	19.5	10.0	13.9
	Promedio	20.20	10.86	14.06
T-5	1	21.4	11.0	13.8
	2	19.8	10.8	14.8
	3	20.5	11.3	13.8
	4	20.0	10.0	13.0
	5	20.7	10.3	13.2
	6	21.0	10.8	13.6
	7	20.8	10.6	14.3
	Promedio	20.59	10.69	13.79

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO XI. Registro referido al perímetro abdominal e índice de Lee tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Perímetro Abdominal (cm)	Índice de Lee
T-1	1	16.2	0.341
	2	16.2	0.366
	3	16.6	0.387
	4	16.5	0.334
	5	15.0	0.343
	6	14.6	0.350
	7	15.2	0.321
	Promedio	15.76	0.349
T-2	1	17.0	0.359
	2	15.8	0.337
	3	16.7	0.361
	4	15.2	0.341
	5	13.7	0.344
	6	15.0	0.343
	7	13.5	0.355
	Promedio	15.27	0.348
T-3	1	17.4	0.361
	2	14.8	0.350
	3	15.4	0.358
	4	15.0	0.356
	5	16.6	0.381
	6		
	7	13.6	0.347
	Promedio	15.47	0.359
T-4	1	17.1	0.378
	2	16.6	0.354
	3	15.5	0.357
	4	14.9	0.340
	5	15.4	0.359
	6	14.8	0.359
	7	14.8	0.351
	Promedio	15.59	0.357
T-5	1	15.3	0.347
	2	17.0	0.371
	3	14.3	0.345
	4	15.0	0.349
	5	14.8	0.340
	6	15.2	0.344
	7	15.0	0.335
	Promedio	15.23	0.347

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO XII. Registro referido al perfil lipídico y nivel de glucosa en sangre tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Glucosa (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)
T-1	1	131.0	68.0	32.0
	2	89.0	67.0	36.0
	3	144.0	63.0	32.0
	4	82.0	49.0	25.0
	5	95.0	54.0	21.0
	6	76.0	55.0	20.0
	7	99.0	92.0	35.0
	Promedio	102.29	64.00	28.71
T-2	1	129.0		
	2	92.0	57.0	27.0
	3	131.0	45.0	33.0
	4	97.0	50.0	24.0
	5	129.0	62.0	17.0
	6	109.0	48.0	18.0
	7	109.0	45.0	27.0
	Promedio	113.71	51.17	24.33
T-3	1	136.0	65.0	22.0
	2	111.0	50.0	27.0
	3	116.0	47.0	15.0
	4	105.0	59.0	25.0
	5	93.0	42.0	15.0
	6			
	7	93.0	45.0	23.0
	Promedio	109.00	51.33	21.17
T-4	1	89.0	77.0	23.0
	2	128.0	57.0	32.0
	3	119.0	45.0	19.0
	4			
	5	82.0	47.0	28.0
	6	65.0	50.0	39.0
	7	81.0	55.0	28.0
	Promedio	94.00	55.17	28.17
T-5	1	122.0	56.0	17.0
	2	115.0	64.0	20.0
	3	98.0	56.0	15.0
	4	111.0	62.0	15.0
	5	92.0	58.0	15.0
	6	90.0	56.0	16.0
	7	95.0	58.0	28.0
	Promedio	103.29	58.57	18.00

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO XIII. Registro referido al peso de la grasa abdominal, inguinal y epididimal tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Grasa Abdominal (g)	Grasa Inguinal (g)	Grasa Epididimal (g)
T-1	1	1.28	5.67	6.45
	2	0.86	4.23	4.39
	3	1.35	7.63	5.85
	4	1.17	4.69	2.71
	5	0.88	5.47	4.70
	6	0.84	5.21	3.83
	7	2.54	8.01	4.90
	Promedio	1.27	5.84	4.69
T-2	1	0.95	4.22	9.50
	2	1.97	2.59	6.61
	3	1.58	8.04	7.99
	4	1.61	6.24	5.47
	5	1.98	7.39	5.31
	6	1.81	6.10	4.57
	7	1.16	5.66	4.44
	Promedio	1.58	5.75	6.27
T-3	1	1.50	9.68	10.13
	2	1.72	5.55	6.83
	3	0.53	6.63	8.14
	4	1.29	8.03	6.39
	5	1.98	7.93	7.13
	6			
	7	2.59	6.34	4.72
	Promedio	1.60	7.36	7.22
T-4	1	1.27	4.66	9.17
	2	1.46	9.10	9.23
	3	1.03	8.82	4.80
	4	1.57	6.29	6.41
	5	0.89	8.19	4.91
	6	1.08	6.97	3.31
	7	1.19	13.66	4.86
	Promedio	1.21	8.24	6.10
T-5	1	1.33	3.74	6.72
	2	1.67	7.43	6.90
	3	0.94	4.48	4.74
	4	1.60	7.23	4.56
	5	1.03	6.46	4.96
	6	1.04	9.29	6.71
	7	1.99	5.59	4.21
	Promedio	1.37	6.32	5.54

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO XIV. Registro referido al peso de la grasa perirenal, grasa total e hígado tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Grasa Perirenal (g)	Grasa Total (g)	Peso Hígado (g)
T-1	1	1.40	14.80	17.39
	2	1.23	10.71	13.61
	3	1.51	16.34	18.87
	4	1.00	9.57	12.26
	5	1.10	12.15	12.64
	6	0.62	10.50	13.19
	7	1.07	16.52	12.00
	Promedio	1.13	12.94	14.28
T-2	1	1.77	16.44	14.86
	2	1.08	12.25	13.95
	3	1.97	19.58	14.08
	4	1.40	14.72	13.74
	5	0.82	15.50	15.10
	6	1.05	13.53	12.84
	7	0.70	11.96	12.85
	Promedio	1.26	14.85	13.92
T-3	1	1.23	22.54	18.25
	2	1.92	16.02	15.68
	3	1.18	16.48	16.21
	4	1.18	16.89	17.21
	5	1.45	18.49	13.47
	6			
	7	0.93	14.58	10.45
	Promedio	1.32	17.50	15.21
T-4	1	1.85	16.95	16.60
	2	2.30	22.09	17.18
	3	1.12	15.77	12.91
	4	1.23	15.50	13.32
	5	1.06	15.05	12.23
	6	1.07	12.43	15.50
	7	1.62	21.33	8.80
	Promedio	1.46	17.02	13.79
T-5	1	1.60	13.39	26.46
	2	2.34	18.34	25.11
	3	1.25	11.41	23.59
	4	1.19	14.58	21.69
	5	0.87	13.32	23.25
	6	1.36	18.40	20.47
	7	0.96	12.75	17.90
	Promedio	1.37	14.60	22.64

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.

ANEXO XV. Expresión relativa del PPAR α tras la administración de los tratamientos.

Tratamiento*	Repetición	Expresión Relativa entre los genes PPARα/18s (u/u)
T-1	1	0.00
	2	0.10
	3	0.60
	Promedio	0.24
T-2	1	1.00
	2	1.00
	3	1.00
	Promedio	1.00
T-3	1	0.67
	2	4.38
	3	1.06
	Promedio	2.04
T-4	1	0.52
	2	0.22
	3	0.51
	Promedio	0.42
T-5	1	0.34
	2	0.93
	3	1.90
	Promedio	1.05

*T1, Dieta estándar; T2, Dieta obesogénica (DO); T3, DO + Aceite de Pescado; T4, DO + Aceite de Linaza; T5, DO + Fenofibrato.