

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“ESTRÉS OXIDATIVO, BIOQUÍMICA SÉRICA Y ADIPOSIDAD EN
RATAS OBESAS ALIMENTADAS CON GRASA SATURADA Y
SOMETIDAS AL EJERCICIO FÍSICO”**

Presentada por:

WILMER ALEJANDRO HUAMÁN GUZMÁN

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

Lima - Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“ESTRÉS OXIDATIVO, BIOQUÍMICA SÉRICA Y ADIPOSIDAD EN
RATAS ALIMENTADAS CON GRASA SATURADA Y SOMETIDAS
AL EJERCICIO FÍSICO”**

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

Presentada por:

WILMER ALEJANDRO HUAMÁN GUZMÁN

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

**Ing. Mg. Sc. Víctor Hidalgo Lozano
PRESIDENTE**

**Ph.D. Carlos Vílchez Perales
PATROCINADOR**

**Dra. María Elena Villanueva Espinoza
MIEMBRO**

**Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
MIEMBRO**

DEDICATORIA

A ti, porque cuando te hablo sé que me estas escuchando.

A mis padres, Wilmer e Iris, por ser la pieza clave en este logro, sus enseñanzas y la confianza puesta en mí han hecho posible que cumpla los retos que me he propuesto; a mis queridas Mama Rita y Olguita, porque sé que en cualquier momento y lugar alguien estará orando por mí; a mi familia y con particular gratitud a Hugo Huamán por su cariño, preocupación, y motivación a lo largo de mi desarrollo. Adicionalmente, de manera muy especial a mi hermana Alejandra y mi sobrino Joaquín, porque tengo la certeza que sus éxitos futuros superarán las metas que he alcanzado.

AGRADECIMIENTOS

El reconocimiento inconmensurable y la gratitud más profunda por la ayuda y apoyo se extienden a las siguientes personas que de una forma u otra han contribuido a hacer posible esta investigación.

A mi asesor, Dr. Carlos Vílchez Perales; por el soporte, paciencia y tiempo valioso dedicado a este trabajo.

A los miembros del jurado: Ing. Mg. Sc. Víctor Hidalgo, Dr. Víctor Guevara y Dra. María Elena Villanueva; por su orientación, sugerencias y disposiciones que beneficiaron la finalización y éxito de la presente investigación.

A Fabiola Caqui, amiga y compañera de investigación; por su notable anuencia durante los procesos de planificación y ejecución del estudio.

Al programa de becas CIENCIACTIVA CONCYTEC; por brindarme la oportunidad de estudiar la maestría y por el financiamiento para realizar la investigación.

A mis padres; por ser la voz de la experiencia que orienta y alimenta mis aspiraciones.

A Mario, David y Gerver; por su impecable amistad, incontables experiencias y el conocimiento compartido.

A Violeta; por su gran corazón, inagotable motivación y palabras de aliento.

A Irma, Mónica y Luis; por su cariño y permitirme ser parte de su grandiosa familia durante todo este periodo.

ÍNDICE GENERAL

Página

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1	Obesidad	2
2.2	Hipótesis lipídica	3
2.3	Recomendaciones internacionales referentes a los AGS	5
2.4	Ácidos Grasos Saturados (AGS).....	6
2.4.1	Características generales	6
2.4.2	AGS y riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV).....	7
2.4.3	AGS, lipoproteínas y triglicéridos.....	8
2.4.4	AGS y los patrones dietéticos	10
2.5	Fuentes de grasa saturada (FGS).....	10
2.5.1	Aceite de palma.....	10
2.5.1.1	Aceite de palma rojo (APR)	11
2.5.1.2	Efectos del consumo de aceite de palma rojo.....	11
2.5.2	Manteca de cacao (MC)	13
2.5.2.1	Efectos del consumo de manteca de cacao	14
2.6	Ejercicio físico (EF).....	15
2.6.1	Ejercicio aeróbico.....	17
2.6.1.1	Natación.....	17
2.7	Estrés oxidativo: Oxidantes y Antioxidantes.....	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1	Lugar y fecha de ejecución	22
3.2	Animales experimentales	22
3.3	Instalaciones y equipos	22
3.4	Protocolo de alimentación:	23
3.4.1	Fase I: Inducción a la obesidad	23
3.4.2	Fase II: Aplicación de tratamientos.....	23
3.5	Protocolo de la práctica de natación	25
3.6	Administración de anestésicos, técnicas de contención, y método de eutanasia ..	26
3.7	Variables de estudio.....	26
3.7.1	Peso corporal e incremento de peso	26
3.7.2	Consumo de alimento.....	27

3.7.3	Parámetros biométricos e índices corporales	27
3.7.3.1	Longitud Naso-Anal (LNA)	27
3.7.3.2	Índice de Lee	27
3.7.3.3	Circunferencia torácica y abdominal	27
3.7.4	Bioquímica sérica.....	28
3.7.4.1	Triglicéridos y colesterol de lipoproteína de alta densidad	28
3.7.4.2	Concentraciones de glucosa.....	28
3.7.5	Adiposidad	28
3.7.6	Peso del hígado.....	29
3.7.7	Biomarcadores del sistema antioxidante	29
3.7.7.1	Superóxido dismutasa (SOD)	29
3.7.7.2	Catalasa (CAT).....	30
3.7.7.3	Glutación (GSH)	30
3.8	Análisis estadístico:	31
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1	Peso corporal y consumo de alimento	32
4.2	Parámetros biométricos e índices corporales	35
4.3	Bioquímica sérica	37
4.4	Colesterol de lipoproteína de alta densidad	38
4.5	Triglicéridos en sangre.....	40
4.6	Concentraciones de glucosa.....	42
4.7	Adiposidad y peso del hígado	43
4.8	Biomarcadores del sistema antioxidante.....	45
V.	CONCLUSIONES	48
VI.	RECOMENDACIONES	49
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
VIII.	ANEXOS	70

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1.	Composición nutricional de las dietas administradas	23
Cuadro 2.	Perfil de ácidos grasos de las fuentes de grasa saturada	24
Cuadro 3.	Análisis químico proximal de la DO con MC y APR	25
Cuadro 4.	Resultados del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)	33
Cuadro 5.	Peso corporal, incremento de peso, y consumo de alimento al término de la Fase II	33
Cuadro 6.	Parámetros biométricos e índices corporales al término de la Fase II	36
Cuadro 7.	Bioquímica sérica al término de la Fase II	39
Cuadro 8.	Adiposidad y Peso del hígado al término de la Fase II	44
Cuadro 9.	Actividad enzimática antioxidante en hígado al término de la Fase II	46

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Peso corporal a los 30 y 60 días	34
Figura 2.	Circunferencia torácica al término de la Fase II	37
Figura 3.	Concentraciones séricas de HDL-C a los 30 y 60 días	39
Figura 4.	Concentraciones séricas de TG a los 30 y 60 días	41
Figura 5.	Concentraciones séricas de glucosa a los 30 y 60 días	42
Figura 6.	Adiposidad localizada y total a los 60 días	45

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1.	Perfil de ácidos grasos de MC y APR	71
Anexo 2.	Kits comerciales utilizados para la medición del perfil lipídico y glucemia	75
Anexo 3.	Diagrama de la adiposidad localizada en ratas	76
Anexo 4.	Esquema de distribuciones posicionales y metabolismo de los triglicéridos de la grasa	77
Anexo 5.	Registro del peso inicial y final, incremento de peso y consumo de alimento al término del periodo de inducción la obesidad (Fase I)	78
Anexo 6.	Registro de los parámetros biométricos e índices corporales al término del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)	79
Anexo 7.	Registro de bioquímica sérica al término del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)	80
Anexo 8.	Registro de peso inicial y final, incremento de peso y consumo de alimento al término de la Fase II	81
Anexo 9.	Registro de los parámetros biométricos e índices corporales al término de la Fase II	82
Anexo 10.	Registro de bioquímica sérica al término de la Fase II	83
Anexo 11.	Registro de la adiposidad y peso del hígado al término de la Fase II	84
Anexo 12.	Registro de biomarcadores de la capacidad antioxidante en hígado al término de la Fase II	85

Abreviaturas:

AGS: Ácidos grasos saturados

AP: Aceite de palma

APR: Aceite de palma rojo

CAT: Catalasa

CDH: Enfermedad coronaria aterosclerótica (por sus siglas en inglés)

CETP: Proteína transportadora del éster de colesterol (por sus siglas en inglés),

CT: Colesterol total sérico

CPT1: Carnitina palmitoil transferasa 1

ECNT: Enfermedades crónicas no transmisibles

ECV: Enfermedades cardiovasculares

EF: Ejercicio físico

FGS: Fuente de grasa saturada

GPx: Glutación peroxidasa

GSH: Glutación

GSSG: Glutación oxidado

HDL-C: Colesterol de lipoproteína de alta densidad (por sus siglas en inglés)

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

INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática

Lb-LDL: Lipoproteína de baja densidad, grande y flotante (por sus siglas en inglés)

LCFA: Ácidos grasos de cadena larga (por sus siglas en inglés)

LDL-C: Colesterol de lipoproteína de baja densidad (por sus siglas en inglés)

MC: Manteca de cacao

MCFA: Ácidos grasos de cadena media (por sus siglas en inglés)

MUFAs: Ácidos grasos monoinsaturados (por sus siglas en inglés)

NAFLD: Enfermedad del hígado graso no alcohólico (por sus siglas en inglés)

NEFAs: Ácidos grasos libres (por sus siglas en inglés)

OMS: Organización Mundial de la Salud

PUFAs: Ácidos grasos polinsaturados (por sus siglas en inglés)

ROS: Especies reactivas del oxígeno (por sus siglas en inglés)

SCFA: Ácidos grasos de cadena corta (por sus siglas en inglés)

Sd-LDL: lipoproteína de baja densidad, pequeña y densa (por sus siglas en inglés)

SOD: Superóxido dismutasa

VLDL-C: Colesterol de lipoproteína de muy baja densidad (por sus siglas en inglés)

RESUMEN

Se estudió el efecto de la ingesta de dos fuentes de grasa saturada (FGS) en combinación con el ejercicio físico (EF) sobre el incremento de peso, parámetros biométricos e índices corporales, bioquímica sérica, estrés oxidativo y la adiposidad en ratas obesas. Durante 30 días, 24 ratas macho *Holtzman*, previamente inducidas a la obesidad, fueron asignadas bajo un DCA con arreglo factorial de 2 x 2 a cuatro tratamientos (T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% de manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de Palma Rojo (APR) + S; T4: DO + 3.5% de APR + N). Los resultados no mostraron un efecto sinérgico entre los factores FGS y EF en ninguna de las variables estudiadas a excepción de la circunferencia torácica ($P < 0.05$) mostrando una disminución significativa en el T4 en comparación con los otros tratamientos. Al evaluar los factores por su desempeño individual, se observó un aumento de HDL-C en sangre y una disminución de la adiposidad en los grupos ejercitados ($P < 0.05$). Las FGS no mostraron diferencias sobre las variables estudiadas ($P > 0.05$); no obstante, la MC presentó menor tendencia al incremento de glucosa en sangre que el APR ($0.05 < P < 0.1$). En conclusión, las fuentes de grasa saturada estudiadas en combinación con ejercicio físico no tuvieron influencia significativa sobre el estrés oxidativo, bioquímica sérica, ni adiposidad; sin embargo, el ejercicio físico aumentó el nivel de HDL-C y disminuyó la adiposidad. Asimismo, el metabolismo de la glucosa varía de acuerdo al tipo de grasa saturada.

Palabras clave: manteca de cacao, aceite de palma rojo, natación, ejercicio físico, estrés oxidativo.

ABSTRACT

The effect of intake of two sources of saturated fat (SSF) in combination with exercise (Ex) on weight gain, biometric parameters and body indices, serum biochemistry stress oxidative in liver tissue, and adiposity in obese rats was studied. Twenty-four *Holtzman* male rats, previously induced to obesity, were randomly divided into four groups of 6 rats per group, (T1: Obesogenic diet (OD) + 3.5% cocoa butter (CB) + Sedentary (S); T2: OD + 3.5% of CB + Swimming (SW); T3: OD + 3.5% of Red Palm Oil (RPO) + S; T4: OD + 3.5% of RPO + SW) for 30 days. The results showed that there was no interaction effect between the SSF and Ex factors in any of variables studied, except for thoracic circumference ($P < 0.05$) showing a significant decrease in the T4 group compared with the other groups. A significant increase ($P < 0.05$) in HDL-C blood concentrations and a decrease in adiposity were observed in the groups exercised. CB presented a tendency to increase blood glucose than the RPO ($0.05 < P < 0.1$). In conclusion, there was no significant differences between intake of saturated fat sources studied in combination with exercise on oxidative stress, serum biochemistry and adiposity; however, exercise increased the level of HDL-C and decreased adiposity. In addition, glucose metabolism varies according to the type of saturated fat.

Key words: cocoa butter, red palm oil, exercise, oxidative stress.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años estudios han mostrado una fuerte incidencia de mortalidad a causa del sobrepeso y la obesidad. Estos problemas son los desencadenantes de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) tales como las enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes y cáncer. Teniendo como base estudios referentes a la prevención de esta condición, las Guías Alimentarias sugieren la reducción o eliminación de los ácidos grasos saturados (AGS) en la dieta como una intervención clave para prevenir la incidencia de ECV y mortalidad a causa de esta. Sin embargo, investigaciones recientes no sólo han planteado dudas sobre la justificación científica de esta sugerencia, sino que han encontrado posibles efectos beneficiosos de los AGS en la salud. Alternativas como el aceite de palma rojo (APR) y la manteca de cacao (MC) han mostrado resultados positivos sobre el metabolismo lipídico y la reducción del daño oxidativo.

Ante la visión sobre la obesidad como una condición multicausal, no dependiente exclusivamente de la dieta, se ha probado el impacto de la incorporación de ejercicio físico en los hábitos de vida. Los efectos benéficos de este están bien documentados, tal es el caso que pueden ser utilizados como una medida preventiva para la obesidad, pues alteran positivamente el metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas de la sangre por diferentes mecanismos; no obstante, se necesita más información sobre la relación de este factor con una alimentación a base de fuentes de grasa saturada. Teniendo en consideración los puntos antes expuestos, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de dos fuentes de grasa saturada en combinación con el ejercicio físico sobre los parámetros biométricos e índices corporales, bioquímica sérica, estrés oxidativo en el tejido hepático y adiposidad en ratas *Holtzman* inducidas a la obesidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Obesidad

En el escenario actual, la obesidad es un problema de salud desafiante y su presencia asociada a ciertas comorbilidades ha aumentado sustancialmente en los últimos 40 años; de menos del 1 al 8% en niñas y niños, del 3 al 11% en hombres y del 6 al 15% en mujeres (Lavie *et al.* 2018; Karry *et al.* 2019). En un estudio realizado entre 1990 y 2015, que incluyó 195 países, se demostró que la obesidad afectó a 107.7 millones de niños y 630.7 millones de adultos; además la prevalencia de esta condición se duplicó en más de 70 países (Global Burden of Disease 2017). Por otro lado, la Organización mundial de la salud (OMS) reporta que en el año 2016 más de 1900 millones de adultos tenían sobrepeso y 650 millones presentaban obesidad. El Perú no escapa a esta realidad, datos estadísticos informan que más del 50% de las personas de 15 años a más sufren de sobrepeso y el 17% de este total tiene obesidad (INEI 2015). Diversos estudios sustentan que la obesidad es desencadenante del incremento de factores de riesgo para cuantiosas enfermedades de tipo cardiovascular, inflamatorias, hiperlipidémicas, síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2 (Lavie *et al.* 2018) y en el desarrollo de trastornos de sueño relacionados con la respiración (Akinnusi *et al.* 2012).

Aunque no existe una afirmación científica que defina la obesidad como una enfermedad, considerarla como tal no es sólo cuestión médica, donde establecer nuevos indicadores sería idóneo para obtener un diagnóstico objetivo (Sharma *et al.* 2017); sino también, resulta un problema que repercute en otros dominios tales como las finanzas, compañías de seguros, costos de atención médica mejorada y personalizada, entre otros (European Journal of Internal Medicine 2018).

En general, según la OMS la obesidad se puede definir como la acumulación de un exceso de energía almacenada en forma de grasa corporal que puede ser perjudicial para la salud. Este exceso se debe a que la energía ingerida de la dieta es superior al gasto energético (Heismfield *et al.* 2017) por la falta de actividad física, el aumento de alimentos con alta

densidad calórica, factores genéticos que han ido adaptándose a través del tiempo (Hochberg 2018) y una serie de etiologías complejas y multifactoriales que han dado como resultado un desequilibrio del balance energético.

En efecto, una de las principales causas de la obesidad podría explicarse por una mala elección alimentaria caracterizada por el consumo excesivo de alimentos de alta densidad energética, carbohidratos y azúcares refinados, aunado a la escasa ingesta de fibra, frutas y verduras; consecuentemente, un déficit de nutrientes esenciales e indispensables (Mcguire 2016).

El consumo de alimentos ricos en ácidos grasos saturados (AGS) a menudo se ha asociado con los efectos hiperlipidémicos en sangre, y en consecuencia, con la obesidad y el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como las enfermedades cardiovasculares (ECV). Sin embargo, frente a este tema existen dos posturas contrapuestas; algunos estudios testifican un vínculo positivo y otros no han demostrado una asociación significativa entre el consumo de grasa saturada y los niveles de lípidos en la sangre (Días *et al.* 2014). Estos cuestionamientos tienen como origen y punto de llegada la hipótesis lipídica.

2.2 Hipótesis lipídica

A inicios de 1950 muchos estudios crearon controversia en sus intentos por dilucidar el papel del colesterol y la grasa saturada en relación a las ECV. Entre los estudios iniciales destacaron los del Doctor Ancel Keys, quién observó que en un grupo de 482 hombres clínicamente "normales", los cuales recibieron diferentes niveles de colesterol en la dieta, obtuvieron constantes niveles de colesterol total sérico; esto propone que la cantidad de colesterol consumida en la dieta no se refleja en la concentración de colesterol total del suero sanguíneo en un amplio rango (Keys *et al.* 1950), sino que el nivel de colesterol total sérico está notablemente influenciado por la cantidad de calorías suministradas por las grasas en la dieta, tanto las grasas vegetales como las animales tienen este efecto (Keys *et al.* 1952, en Lordan *et al.* 2019), contraponiéndose a estudios que afirmaban que los niveles de colesterol sérico decrecían al sustituir una dieta rica en grasa animal por una dieta alta en grasa vegetal (Ahrens *et al.* 1954).

Otras investigaciones sustentaban que el colesterol en la sangre era un factor importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Gofman realizó diferentes estudios en los cuales pudo aislar las lipoproteínas plasmáticas en subclases y medir su concentración sugiriendo que ciertas fracciones de lipoproteínas eran más aterogénicas que otras, capaces de ser alteradas por la dieta y que posiblemente el colesterol de la lipoproteína de baja densidad (LDL-C por sus siglas en inglés) estaba asociada con las ECV (Gofman *et al.* 1950; Gofman 1956). Además propuso que el uso de una escala como el índice aterogénico o un perfil similar que considere el tamaño y la concentración de las lipoproteínas tendría la capacidad de predecir el riesgo de ECV mejor que el nivel de colesterol total sérico (CT) (Gofman *et al.* 1956). Sin embargo, gran parte de estos hallazgos se consideraron polémicos en aquel momento agravándose por la afirmación que independientemente del estado clínico de todo individuo, este estaría predispuesto a desarrollar la aterosclerosis temprana y severa u otras ECVs, al tener persistentemente el colesterol total sérico alto (Keys 1951).

Keys estaba convencido que el colesterol sérico estaba afectado por el tipo y la cantidad de grasa en la dieta (Keys *et al.* 1955), hecho que se vio sustentado en un estudio en Minnesota, Estados Unidos, donde hombres de negocios aparentemente sanos morían con frecuencia debido a ECV (Keys *et al.* 1963), cuyo CT sérico estaba incrementado, contrastando con el nivel de CT sérico de hombres de clase trabajadora baja en Nápoles, Italia, quienes no presentaban una fuerte incidencia de ECV. (Keys *et al.* 1963; Moro 2016). Esto abaló la creencia que la dieta podría ser una diferencia significativa entre estos estudios cohortes (Keys 1954), llevando a los investigadores a recopilar datos sobre los tipos de alimentos que comían los pobladores napolitanos. De esta manera, la teorización de Keys dio a luz un importante proyecto de investigación internacional llamado *Estudio de siete países*.

El estudio de los siete países identificó la dieta, las grasas saturadas y el colesterol como las causas subyacentes al desarrollo de las enfermedades cardiovasculares (Lordan *et al.* 2019), examinando a más de 12000 hombres en diversos países con el objetivo de explorar la prevalencia de ECV y sus determinantes clínicos (Menotti *et al.* 2007), encontrándose que las tasas de mortalidad por ECV eran más bajas en la región mediterránea (Grecia, Italia) que en Estados Unidos, Japón y países del norte de Europa, como Holanda, Finlandia y Yugoslavia. Se encontró que la dieta consumida en la zona mediterránea incluía: verduras y todo tipo de frutas, legumbres, cereales sin refinar, productos lácteos, algo de pescado, pero muy poca carne, una dieta que se promueve hasta hoy como la dieta mediterránea. Estos

hallazgos influyeron en el establecimiento y difusión de la Pirámide de la Guía de Alimentos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), creada originalmente por la Old Ways Association (Moro 2016); dicha pirámide en la actualidad es cuestionada, ya que si bien los consumidores se han orientado a disminuir el consumo de grasa, ha incrementado en un 12 a 14% la ingesta de energía total de la dieta, hecho que podría explicarse en el alto consumo de otras fuentes de energía como los carbohidratos (Lachance y Fisher 2005; Tsoupras *et al.* 2019). Este desbalance tiene efectos contrarios a los que se espera al utilizar este esquema referencial.

Desafortunadamente el estudio de los siete países y otros estudios epidemiológicos similares se centraron en reducir los niveles de colesterol y controlar ciertas pautas generales de práctica médica y dietética como la mejor manera de prevenir la ECV sin tener en cuenta todos los otros parámetros interconectados; factores de riesgo, el entorno, la genética, ejercicio físico y estilos de vida beneficiosos. Además, con frecuencia los estudios carecen de evidencia bioquímica o mecanicista biológica, por ello persisten limitaciones para llegar a una teoría unificadora que respalde la tesis acerca de que la reducción de la ingesta de grasa saturada puede disminuir las tasas de mortalidad por ECV (Lordan *et al.* 2019); las relaciones entre la dieta, el colesterol sérico y la ECV son más complejas de lo que se pensaba originalmente.

2.3 Recomendaciones internacionales referentes a los AGS

La grasa dietética, especialmente la grasa saturada, ha sido objeto de advertencias sanitarias de organizaciones de salud pública durante 40 años (Harcombe 2018). De acuerdo con las Guías Alimentarias Oficiales una dieta rica en carbohidratos y pobre en grasa, en particular la grasa saturada, se propuso como la mejor manera no farmacológica para prevenir ECV (Ravnskov 2008). Tal es el caso que las recomendaciones alimentarias introducidas por el Comité Dietético de Salud Pública de los Estados Unidos (1977) y posteriormente adoptadas por el Reino Unido, emitido por el Comité Asesor Nacional sobre Educación Nutricional en 1983, se centraron en la reducción del consumo total de grasa al 30% y el consumo de grasa saturada al 10%, ambos de la ingesta energética total (Harcombe 2018). Posteriormente en la edición más reciente de las Guías Alimentarias para Estadounidenses 2015-2020 sugieren mantener un rango de 20 a 30% para la grasa total y menor al 10% para la grasa saturada, ambos como un porcentaje de la ingesta calórica diaria (Moghadasian y Shahidi 2017). Por

su parte, la Asociación Americana del Corazón ha colocado con mayor rigor puntos de corte para la ingesta de grasa saturada que representen el 5 a 6 % del total de grasa consumida (American Heart Association 2019).

Aunque la disminución de grasa dietética se equilibra lógicamente con un aumento en la ingesta de carbohidratos, no se han reportado beneficios probables; estas y otras pautas dietéticas no han logrado revertir la tendencia a una mayor incidencia de obesidad en la población (German y Dillard, 2004).

Cabe señalar que, al evaluar los posibles factores contribuyentes al desarrollo de la obesidad, considerar la grasa saturada como tal resulta controversial, ya que si bien algunos estudios y Guías Alimentarias recomiendan la reducción de los ácidos grasos saturados (AGS) en la dieta, otros han planteado dudas sobre la justificación científica de estas indicaciones encontrando incluso posibles efectos beneficiosos de estos para la salud.

2.4 Ácidos Grasos Saturados (AGS)

2.4.1 Características generales

En la actualidad, el estudio de los ácidos grasos permanece como uno de los campos de investigación más enigmáticos en nutrición. Estas biomoléculas desempeñan diferentes funciones en el organismo; son utilizadas como fuentes de energía, participan en la construcción de elementos estructurales (células y tejidos), en la modificación de proteínas y en la señalización y transcripción genética. Así también producen efectos metabólicos que pueden manifestarse en base a su composición, fuente, y la variación individual; por tanto, no todos los AGS son la misma molécula (German y Dillard 2004). Las diferencias aparentemente leves en la estructura se traducen en diferencias cruciales en forma y función.

En cuanto a composición química los AGS están estructurados en forma de una cadena alifática, hidrófoba, con enlaces simples carbono-carbono; configuración que lleva a una reactividad química disminuida a diferencia de otros ácidos grasos (Moghadasian y Shahidi 2017). Los AGS se subdividen en 3 grupos en base a la longitud de la cadena hidrocarbonada, longitud que también determinará el punto de fusión a temperatura ambiente. El primer grupo lo integran el ácido acético (2:0), propiónico (3:0), butírico (4:0), caproico (6:0) y caprílico (8:0), conocidos como ácidos grasos saturados de cadena corta (SCFA por sus

siglas en inglés), estos se sintetizan durante la fermentación de la fibra en el colon proximal y son reabsorbidos fácilmente por circulación portal; intervienen en diversos procesos como el metabolismo y la absorción de agua y electrolitos (Tvrzicka *et al.* 2011). Los ácidos grasos saturados de cadena media (MCFA por sus siglas en inglés) incluyen el ácido cáprico (10:0), laúrico (12:0) y mirístico (14:0), reabsorbidos directamente y transportados también al hígado por la vena porta. El último grupo está conformado por los ácidos grasos saturados de cadena larga (LCFA) que incluye el ácido palmítico (16:0) y esteárico (18:0); ácidos grasos que representan entre el 30 a 40% de los ácidos grasos totales del organismo (Ruiz-Núñez *et al.* 2016; Boateng *et al.* 2016); estos se encuentran solidos a temperatura ambiente y provienen universalmente de fuentes naturales, tanto animales (mantequilla, manteca de cerdo y sebo de ternera) (Tvrzicka *et al.* 2011) como vegetales (aceite de coco, aceite de palma, manteca de cacao y manteca de karité). Es por eso que, desde una perspectiva funcional de elección de alimentos, es casi imposible lograr una dieta nutricionalmente adecuada con ácidos grasos aislados o que no contenga grasas saturadas (Trumbo *et al.* 2002; DiNicolantonio *et al.* 2016; Kenar *et al.* 2017).

En particular, diferentes grasas pueden tener distintos efectos sobre el metabolismo de los lípidos sanguíneos y el riesgo a desarrollar ECV, en función de los AGS específicos que estas contienen (DiNicolantonio *et al.* 2016). Los estudios referentes a estas biomoléculas posiblemente estén sesgados por los supuestos realizados dentro de dichas investigaciones experimentales; se encuentra que la mayoría de AGS han sido examinados únicamente por su tendencia a alterar e influir en el metabolismo y las concentraciones de las lipoproteínas que transportan el colesterol en la sangre. En efecto, asignar funciones específicas a los AGS resulta complejo (German y Dillard, 2004).

2.4.2 AGS y riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV)

La idea de reducir los AGS en la dieta se basa en la relación que estos tienen con el aumento de los niveles de CT y el LDL-C en la sangre, los cuales son posibles factores de riesgo para el desarrollo de ECV. Aun así, estas relaciones de causalidad resultan más complejas teniendo en cuenta otras variables como el número y el tamaño de las partículas LDL o los efectos sobre el colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL-C) (Astrup 2014; DiNicolantonio *et al.* 2016). Estudios recientes cuestionan una asociación significativa entre la ingesta de los AGS y ECV, e incluso, estas investigaciones han llegado a ser

contradictorias (German y Dillard 2004); esto se puede observar en el metanálisis de Siri-Tarino *et al.* (2010) que además no mostró un mayor riesgo de enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular. Asimismo, Mente *et al.* (2009) revisaron sistemáticamente que no existe una fuerte evidencia que apoye asociaciones válidas entre patrones dietéticos específicos para los ácidos grasos saturados y la cardiopatía coronaria. Tomando en cuenta lo mencionado, no queda claro si existe una asociación entre los AGS y ECV, sugiriéndose que los AGS pueden no ser el principal responsable del incremento de niveles de lípidos en la sangre, por lo que no resulta un factor de riesgo importante en el desarrollo de las ECV (Ruiz-Nuñez *et al.* 2016).

2.4.3 AGS, lipoproteínas y triglicéridos

La evidencia científica que sugiere una asociación entre el LDL-C con ECV está bien establecida y respaldada por un enorme cuerpo de literatura (Joris *et al.* 2016). Sin embargo, estudios recientes demuestran que muchos pacientes con enfermedades cardiovasculares tienen el LDL-C dentro del rango normal; hechos que plantean dudas acerca de la justificación científica que respalda el uso de LDL-C como el más importante marcador y predictor de aterogeneidad (Zaki Khalil *et al.* 2017).

Dicho lo anterior, nuevas investigaciones demuestran que el LDL-C no necesariamente tiene un efecto dañino en el organismo; el impacto podría variar conforme a la densidad y tamaño de partícula (Malhotra *et al.* 2012), se trate de LDL grandes flotantes (>25 nm) llamadas también LDL de tipo A o de partículas LDL pequeñas y densas (<25 nm) conocidas como LDL de tipo B. Una de las principales propiedades aterogénicas que hacen que las LDL pequeñas y densas (sd-LDL por sus siglas en inglés) posiblemente conduzcan al desarrollo de una enfermedad cardíaca es que, debido al reducido tamaño de partícula, tienen la capacidad de penetrar fácilmente la pared arterial, lo que lleva a una prolongada estancia en el espacio subendotelial (Schulte *et al.* 2018). Está ampliamente documentado que personas con partículas de LDL en su mayoría pequeñas y densas tienen un riesgo tres veces mayor de enfermedad cardíaca en comparación con aquellas que tienen más partículas de LDL grandes y flotantes (lb-LDL por sus siglas en inglés) (kikkawa *et al.* 2015; Joris *et al.* 2016); de igual modo, la afinidad de las sd-LDL por los receptores de LDL es reducida en contraste con las partículas de lb-LDL (Pakard *et al.* 2000; Kikkawa *et al.* 2015). Tal es el caso que, la reducción de LDL-C dada por la reducción de la ingesta de los AGS parece ser específica

de las partículas de lb-LDL-C, cuando en realidad son las partículas de sd-LDL las que están implicadas en las ECV (Malhotra *et al.* 2013; DiNicolantonio y O'Keefe 2018).

Así pues, la ingesta de grasa saturada sustituye las partículas de LDL pequeñas y densas por grandes y flotantes, lo que implicaría un ligero aumento del LDL-C; el incremento se debe al cambio por un subtipo benigno que está asociado con un riesgo reducido de enfermedad cardíaca (Joris *et al.* 2016). Dreon *et al.* (1998), Dreon *et al.* 2000 y Kraus *et al.* (2006) probaron el efecto de dos dietas, una baja en grasa saturada y otra alta en grasa saturada, con la variación de la ingesta de carbohidratos sobre las subclases de lipoproteínas de plasma. El alza en la ingesta de AGS totales se correlacionó positivamente con el aumento de diámetro, masa y tasas de flotación de las partículas de LDL grandes y flotantes sin tener efecto sobre la concentración de LDL-C. Estos datos indican que una ingesta alta de grasas saturadas (especialmente de Ac. Láurico, Mirístico y Palmítico) se asocia con concentraciones elevadas de LDL más grandes y flotantes a diferencia de la ingesta alta de carbohidratos que conducen a la producción de LDL pequeñas, densas y mucho más aterogénicas.

Datos aún más específicos muestran que las partículas de sd-LDL carecen de antioxidantes como la vitamina E (Zaki khalil *et al.* 2017), resultando mucho más susceptibles a la oxidación (Kikkawa *et al.* 2015; Schulte *et al.* 2018) a través de radicales libres, paso crucial en el proceso de la enfermedad cardíaca y el desempeño de una función preeminente en la formación de lesiones ateroscleróticas (Di Pietro *et al.* 2016; Omar *et al.* 2016; Cheng *et al.* 2019).

El metanálisis de Mensink *et al.* (2003) ha demostrado que la mayor parte de los AGS de la dieta en comparación con las grasas monoinsaturadas (MUFAs), polinsaturadas (PUFAs), y más aún con carbohidratos dietéticos, tienen mayor impacto en el aumento de las concentraciones plasmáticas del HDL-C, y sobre la relación entre CT y HDL-C, un poderoso factor de riesgo lipídico para ECV. La evidencia epidemiológica sugiere que por cada unidad de disminución en la proporción de CT/HDL-C, hay una disminución del 53% en el riesgo de infarto de miocardio y ECV, adicionado a un cambio en la densidad de las partículas de LDL a partículas de LDL más grandes y flotantes (Griel y Kris-Etherton 2006). En contraposición, Mozaffarian *et al.* (2011) estudiaron el efecto del consumo de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) como remplazo de la grasa saturada en los criterios de valoración de ECV y marcadores lipídicos tradicionales (CT, HDL-C, LDL-C); este metanálisis

encontró que el aumento en el consumo de PUFAs en lugar de grasa saturada redujo el riesgo de eventos de ECV, mejorando los niveles de LDL-C. Sin embargo, no está claro si el efecto se debió a la reducción de la ingesta de grasas saturadas o al aumento del consumo de PUFAs (Hooper *et al.* 2011).

2.4.4 AGS y los patrones dietéticos

Desafortunadamente en las últimas décadas las pautas dietéticas se han centrado en recomendar la reducción la grasa saturada sin especificar el nutriente de sustitución, consecuentemente los estudios han llevado a asumir, por defecto, a los carbohidratos refinados como el nutriente de remplazo (DiNicolantonio *et al.* 2016). La creciente evidencia científica sugiere que sustituir la grasa saturada por un aumento en el porcentaje de carbohidratos altamente refinados y con altos índices glucémicos puede alterar los niveles de triglicéridos, partículas sd-LDL (Siri-Tarino *et al.* 2010; Ruiz-Núñez *et al.* 2015), glucosa, disminuir el HDL-C y otros padecimientos como la resistencia a la insulina, enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD por sus siglas en inglés), ECV, enfermedad coronaria aterosclerótica (CDH por sus siglas en inglés) (Mozaffarian *et al.* 2011). Se ha encontrado que una dieta alta en azúcares agregados causa un riesgo tres veces mayor de muerte debido a una enfermedad cardiovascular (Volek *et al.* 2009; DiNicolantonio *et al.* 2016).

2.5 Fuentes de grasa saturada (FGS)

2.5.1 Aceite de palma

El aceite de palma (AP) es una fuente de AGS de origen vegetal considerado como el más utilizado en el mundo, representa cerca del 32% de la producción mundial de grasas y aceites superando al aceite de soya (Mancini *et al.* 2015). Existe un intenso debate respecto a sus efectos sobre la salud humana y su utilización como componente en la industria alimentaria; la composición y acción fisiológica de este aceite variará según distintos factores: la especie de palma, el tipo y parte de fruto empleado, y el procesamiento al que es sometido (Marangoni *et al.* 2017). El AP en general se compone tanto de ácidos grasos saturados como insaturados siendo el más abundante el palmítico, seguido por el oleico (Imoisi *et al.* 2015). El ácido palmítico (C16:0) abarca más del 50% de su composición (Moghadasian y Shahidi 2017); es un componente esencial de las membranas celulares, lípidos secretores y de

transporte (German y Dillard 2004) y posee efectos reductores sobre el colesterol en el suero (Chowdhury *et al.* 2016).

Es preciso considerar que no todos los AP tienen el mismo impacto en el organismo; resulta muy distinto consumir un aceite de palma en estado natural que uno refinado, blanqueado y desodorizado. El refinamiento de este producto busca eliminar las impurezas, olor, sabor y color indeseables, pero dicho proceso destruye más de la mitad de sus antioxidantes naturales y otros compuestos beneficiosos, consecuentemente lleva a una pérdida de propiedades (Delisle 2017). Por tanto, aunque en estado crudo el AP resulte desagradable al gusto, su consumo aporta grandes beneficios a la salud.

2.5.1.1 Aceite de palma rojo (APR)

El aceite de palma crudo, también conocido como aceite de palma rojo (APR), contiene cuantiosos compuestos beneficiosos para la salud (Mancini *et al.* 2015); cuenta con una cantidad significativa de tocoferoles y tocotrienoles (vitamina E) que ejercen sus efectos antioxidantes principalmente contra especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés). Asimismo, integra algunos precursores de vitamina A (carotenoides) caracterizados por mejorar la función inmunológica mediante una variedad de mecanismos y poseer una bioactividad alta (Imoisi *et al.* 2015; Delisle 2017).

Por su composición el APR cumple un rol importante en la protección frente a dolencias cardiovasculares, se ve involucrado en el incremento de HDL-C, en la reducción de niveles de CT y de LDL-C (Imoisi *et al.* 2015), por su acción sobre las enzimas hepáticas (HMG CoA reductasa) relacionadas con la síntesis de colesterol (Ong y Goh 2002; Sundram *et al.* 2003; Khosla y Khosla 2017), y es reconocido por sus efectos sobre la proporción de CT/HDL-C (Mensink *et al.* 2003).

2.5.1.2 Efectos del consumo de aceite de palma rojo

Además de tener una composición equilibrada de ácidos grasos, el aceite de palma también es rico en varios fitonutrientes que desempeñan un papel importante en la estabilidad y la calidad del aceite además de contar con propiedades antioxidantes y otros beneficios para la salud y nutrición (May y Nesaretnam 2014).

La vitamina A, uno de los componentes presentes en el APR, actúa en la eliminación de radicales libres e inhibe la producción de óxido nítrico en diferentes tejidos. Además, los tocoferoles en esta fuente tienen la capacidad de cortar las reacciones en cadena de los radicales libres, generadas por la oxidación de los lípidos. La vitamina E contenida actúa regulando al alza las enzimas antioxidantes (Ayeleso *et al.* 2014). Estudios argumentan que el aumento en el suministro de APR en la dieta de ratas es concomitante a la elevación de la biodisponibilidad de los β -carotenos en plasma, poderoso antioxidante precursor de la vitamina A. Sin embargo en cantidades muy altas puede reducir la ingesta de alimentos (Koushki *et al.* 2015).

Experimentos de alimentación resaltan el papel beneficioso del APR para la salud. Dauqan *et al.* (2011) estudiaron el efecto de la ingesta de cuatro aceites vegetales diferentes (APR, AP, aceite de coco, y aceite de maíz) sobre las enzimas antioxidantes (Catalasa y Superóxido dismutasa) y las concentraciones de CT en ratas. Se observó diferencias significativas sobre la actividad de la CAT, esta mejoró con el tratamiento con APR comparado con los demás tratamientos, esto podría deberse al alto contenido de carotenoides y tocoferoles. Los grupos suplementados con APR, AP y aceite de coco mostraron una disminución del LDL-C en comparación con el grupo control. Con todos los aceites estudiados el CT se mantuvo sin cambios en la semana 4, pero fue menor después de la semana 8. Se encontró que el APR aumentaba el HDL-C y disminuía el LDL-C.

En otro estudio, los efectos de ciertos antioxidantes en el perfil lipídico fueron examinados en ratas alimentadas con APR, AP, y AP sin vitamina E. Se demostró que el AP y el APR exhibían actividad hipocolesterolemica, resultando efectivos para la reducción del LDL-C y el índice de aterogenicidad (CT/HDL); efectos atribuidos a los antioxidantes contenidos en ambos aceites y a su composición equilibrada de ácidos grasos (Kamisah *et al.* 2005; en Loganathan *et al.* 2017).

Wilson *et al.* (2005) realizaron un estudio en hámsters suministrándoles APR, AP, APR+AP, y aceite de coco. Todos los animales alimentados con aceites de palma tenían niveles más bajos de CT, VLDL-C, y LDL-C, así como un aumento de HDL-C, en contraste con los animales alimentados con aceite de coco. Además se identificó menor aterogenicidad en los hámsters que consumieron el APR (Loganathan *et al.* 2017).

El trabajo de Burdeos *et al.* (2012) también sugirió que los tocotrienoles del aceite de palma reducen los niveles séricos de lípidos a través de la reducción de la síntesis de triglicéridos modificando los genes y la expresión proteica de las enzimas ácido graso sintasa y carnitina palmitoil transferasa (CPT1) (Norhaizan *et al.* 2013).

Saxena *et al.* (2014) examinaron los efectos del APR sobre el estrés oxidativo producido por hipoxia hiperbárica, se encontró que la suplementación con APR atenuó la actividad enzimática de GPx y SOD, y que restauró el estado redox celular tras aumentar la relación GSH/GSSG en ratas expuestas a condiciones hipóxicas. El consumo de APR facilita la desintoxicación de las ROS, resultado del elevado contenido de antioxidantes, mismos que reducen la necesidad de activar la defensa antioxidante inherente del cuerpo.

2.5.2 Manteca de cacao (MC)

Se ha manifestado inquietud con respecto al alto contenido de AGS en la manteca de cacao, aun así las suposiciones sobre su efecto en la salud pueden no aplicarse a esta. La composición química específica de la MC parece tener mejores resultados sobre las concentraciones lipídicas sanguíneas en comparación con otras grasas (Vega y Kwik-Urbe 2012); esto debido a su configuración molecular compleja o a la eficiencia para absorber los lípidos, con un impacto consecuentemente en el metabolismo general (Naik y Kumar 2014).

Esta fuente de grasa saturada es sólida en su estado natural debido al fuerte punto de fusión entre 30-35°C (Naik y Kumar 2014; Caligiani *et al.* 2016), representa aproximadamente el 50-58% del peso del grano de cacao (Patel y Watson 2018) y contiene una mezcla de AGS, ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs por su siglas en Inglés), y en menor grado, ácidos grasos poliinsaturados (Vega y Kwik-Urbe 2012). El AGS predominante en esta fuente es el ácido esteárico (C18:0, 35% del total de ácidos grasos), seguido del ácido palmítico (C16:0 25%), y el ácido oleico (C18:1, 30%) figura como el MUFA más abundante dentro de esta composición. Los PUFAs, principalmente el ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), representan típicamente 5% o menos de la grasa en la MC (Grassi y Ferri 2014; Caligiani *et al.* 2016).

La MC es reconocida por ser portadora de numerosos componentes bioactivos (De Clercq 2011). Sus compuestos lipídicos minoritarios más importantes son los glicéridos parciales,

fosfolípidos y materia insaponificable (Talbot 2012). Esta última incluye a los fitoesteroles, moléculas que pueden contribuir a mejorar los perfiles de lípidos en la sangre mediante la inhibición competitiva de la absorción del colesterol dietético en el intestino (Steinberg *et al.* 2003). Asimismo, se encuentran antioxidantes naturales como la vitamina E en sus diferentes isoformas (β ; α ; γ -tocoferol), aunado a cantidades considerables de polifenoles, particularmente flavonoides (Ding *et al.* 2006) que ayudan en la conservación (De Clercq 2011; Naik y Kumar 2014) y participan en la defensa contra factores estresores externos como las ROS (Manach *et al.* 2004; Peno-Mazzarino 2012).

La característica más sobresaliente de la MC, como ya fue indicado, es su contenido extraordinariamente alto de ácido esteárico (30-45%) (Kenar *et al.* 2017). Goradel *et al.* (2016) mencionan que el ácido esteárico es un ácido graso nutricional de cadena larga, conocido como un potente lípido antiinflamatorio (Steinberg *et al.* 2003), es el tercer ácido graso más abundante en los hepatocitos humanos y está relacionado con varias funciones hepáticas incluyendo el metabolismo del colesterol y la biogénesis de las lipoproteínas (Moghadasian *et al.* 2017). Investigaciones abalan que en relación con otras grasas, las fuentes que contienen ácido esteárico no aumentan significativamente los niveles séricos de CT, LDL-C, sumado a que no tienen un impacto negativo en los niveles de HDL-C (German y Dillard 2004; Sanders y Berry 2005; Wang y Hu 2017); incluso, estudios informan que en algunos casos el impacto puede ser favorable (Grassy y Ferry 2014). Las posibles explicaciones de esta disparidad pueden incluir la longitud de la cadena, la absorción ineficiente, y la desaturación hepática del ácido esteárico en ácido oleico (Steinberg *et al.* 2003; Patel y Watson 2018).

En tal contexto, una revisión del 2010 hecha por el Comité Asesor de Pautas y Guías Alimentarias reconoció estas propiedades especiales del ácido esteárico, y recomendó que se considere distinto de otros AGS según el impacto en las concentraciones de los lípidos sanguíneos (Katz *et al.* 2011; Vega y Kwik-Uribe 2012; Lamarche y Couture 2014).

2.5.2.1 Efectos del consumo de manteca de cacao

En base a las discrepancias acerca de los efectos de la MC sobre el perfil lipídico emergen distintos razonamientos. Timmers *et al.* (2011) notaron que grupos de ratones alimentados con dietas que contenían diferentes grasas vegetales (aceite de palma, manteca de cacao,

aceite de oliva, y aceite de girasol) presentaban una disminución de la glucosa sanguínea con respecto al grupo control que seguía una dieta baja en grasa y alta en carbohidratos. Concretamente, el grupo de ratones al que se administró MC presentaba menor ganancia de peso que los otros grupos dietéticos.

En otro estudio llevado a cabo con ratas, Yildirim *et al.* (2014) encontraron que tanto la MC como el aceite de girasol en la dieta disminuyeron los niveles de triglicéridos y de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL-C por sus siglas en inglés); hallazgos que fueron anteriormente expuestos por Kritchevsky *et al.* (1988), que además detectaron un menor peso relativo del hígado. Adicionalmente se observó que la dieta con MC redujo significativamente el nivel de creatinina; concebiblemente esta fuente de grasa saturada podría tener efectos beneficiosos sobre la función renal.

En una investigación en conejos alimentados con una dieta aterogénica semipurificada, probó la ingesta de diferentes aceites vegetales (aceite de maíz, aceite de palma, manteca de cacao y aceite de coco) sobre el perfil lipídico sanguíneo; se detectó que las concentraciones de colesterol sanguíneas en los conejos alimentados con aceite de palma y aceite de coco aumentaron a diferencia de los conejos que consumieron manteca de cacao. El HDL- C disminuyó en todas las dietas, no obstante, tuvo un efecto menos marcado en el grupo dietético con manteca de cacao (Kritchevsky *et al.* 1982).

2.6 Ejercicio físico (EF)

La obesidad es un problema multifactorial no dependiente únicamente de la dieta, siendo también el sedentarismo uno de los principales desencadenantes. La inactividad física es considerada la cuarta causa de muerte en el mundo; al ser un factor de riesgo resulta relevante establecer políticas de salud pública que exhorten la adopción de hábitos de vida saludable (Kohl *et al.* 2012). Al igual que la restricción de alimentos, el ejercicio físico (EF) tiene efectos acentuados sobre el peso corporal y la homeostasis energética; es una intervención primaria clínicamente probada, no farmacológica y rentable, que puede retrasar y en muchos casos prevenir las cargas de salud asociadas con los trastornos metabólicos (Shen *et al.* 2015; Gabriel y Zierath 2017). La actividad física y el ejercicio prescrito son medidas potentes contra el envejecimiento secundario a condiciones de vida insalubres y juntos desempeñan

un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas mortales que enfrentan los humanos modernos (Cartee *et al.* 2016).

La comunidad médica ha afianzado la asociación entre el sedentarismo y la génesis de enfermedades; se estima que más de un tercio de los cánceres y alrededor del 80% de los problemas cardíacos, los accidentes cerebrovasculares y la diabetes mellitus tipo 2, podrían prevenirse mediante la eliminación de factores de riesgo de comportamiento tales como la inactividad física (Mckinney *et al.* 2016). Existe un creciente cuerpo de literatura aceptando que el ejercicio físico genera cambios favorables implicados en las funciones hemodinámica, hormonal, metabólica, neurológica y respiratoria (Patel *et al.* 2017). Las ventajas inherentes provienen de efectos como la disminución de CT y de los niveles de triglicéridos sanguíneos, el aumento del HDL-C (Kodama 2007; Naci *et al.* 2018), la reducción del diámetro de la circunferencia abdominal (Murtagh *et al.* 2015), mejoras en la presión arterial, control de los niveles de glucosa y en la sensibilidad a la insulina (Abdelhafiz y Sinclair 2015; Patel *et al.* 2017). Investigaciones han afirmado que el ejercicio físico aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), y catalasa (CAT), que ayudan a combatir la formación de radicales libres del metabolismo oxidativo (Guaraldo *et al.* 2016; Cruz *et al.* 2017). Indiscutiblemente se destaca el potencial terapéutico del ejercicio físico para fortalecer la salud cardiometabólica (Coqueiro *et al.* 2018) reduciendo la morbilidad y mortalidad por enfermedades cardíacas (Lazar *et al.* 2013; Hinton y Mahmoudi 2018).

La actividad física y el ejercicio físico suelen usarse indistintamente como sinónimos, pero este último término se refiere solo a un tipo de actividad física que consiste en un movimiento corporal planificado, estructurado y repetitivo que mejora y mantiene la aptitud física (Swain *et al.* 2014). La Organización Mundial de la Salud (OMS 2010) se ha centrado en establecer parámetros para actividad física en general, más no específicamente en el ejercicio físico. Las sugerencias acerca de la actividad física se distribuyen en tres grupos etarios. Entre los 5 y 17 años, es recomendable al menos 60 minutos de actividad moderada diariamente. Las personas con edades de 18 a 64 años deben realizar al menos 150 minutos de actividad moderada o 75 minutos de actividad vigorosa durante la semana. En cuanto a los individuos mayores de 65 años se recomiendan programas de ejercicios de duración e intensidad similares, pero centrándose en actividades direccionadas a mejorar el equilibrio y la prevención de caídas. Estas pautas se asocian con importantes beneficios para la salud y un

riesgo más bajo de mortalidad prematura por todas las causas e incidencia de enfermedades crónicas ya mencionadas (McKinney *et al.* 2016; Warburton y Bredin 2017). La intensidad, duración y modo de actividad física, afectan notablemente la respuesta metabólica y molecular ante el ejercicio realizado (Cartee *et al.* 2016).

2.6.1 Ejercicio aeróbico

La actividad física se puede caracterizar por su grado de requisitos dinámicos (aeróbicos) o estáticos (fuerza). El ejercicio físico aeróbico implica movimientos de grandes grupos musculares e incluye actividades como caminar, nadar o trotar, mientras que el ejercicio físico de resistencia utiliza la fuerza muscular para levantar un peso o mover una carga causando actividad aislada y breve de un solo grupo muscular. No hay certeza que las diferencias entre los ejercicios aeróbicos y de resistencia sean de importancia clínica (Abdelhafiz y Sinclair 2015; Opondo *et al.* 2015; Hinton y Mahmoudi 2018), no obstante, se ha visto reflejado que el ejercicio físico aeróbico puede ser más eficaz en algunas situaciones, incluso con efectos comparados con terapias farmacológicas (Al Saif y Alsenany 2015; Wu *et al.* 2015). El ejercicio aeróbico no solo disminuye los factores de riesgo de ECV convencionales, también puede prevenir o revertir el envejecimiento arterial (Santos-Parker *et al.* 2014). En general, las mejoras funcionales asociadas con el ejercicio físico son el resultado de poderosos efectos inhibidores sobre el estrés oxidativo y la inflamación (La Rocca *et al.* 2017).

2.6.1.1 Natación

La natación es una actividad recreativa que se distingue como una opción efectiva para mantener y mejorar la condición cardiovascular y en el tratamiento de enfermedades metabólicas (Song *et al.* 2014). Se diferencia de los ejercicios en tierra en distintos aspectos, incluyendo la posición, el patrón de respiración y los grupos musculares utilizados (Lazar *et al.* 2013).

Análisis recientes sustentan que diferentes protocolos de ejercicio físico con natación pueden ser útiles en el control de la ganancia de masa corporal, los niveles de adiposidad y la concentración sérica de CT en ratas alimentadas con un alto contenido de grasa (Da rocha *et al.* 2016). De la misma manera, Song *et al.* (2014) encontraron que la natación mejoró significativamente los efectos inducidos por una dieta rica en grasas y que este tipo de

actividad como medida preventiva produjo mejores resultados. Además la natación reguló positivamente la expresión génica de factores relacionados con la oxidación de las grasas y la disminución de la síntesis de estas, como también la actividad de enzimas relacionadas con este mecanismo.

Se ha constatado que la práctica de natación tiene efectos terapéuticos en la resistencia a la insulina, la hiperlipidemia, y el síndrome metabólico inducido por la diabetes mellitus tipo 2 (Yang *et al.* 2017). Del mismo modo, en un estudio en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y sometidas a natación se encontró que esta podía prevenir la NAFLD, además de tener un efecto reductor en el peso corporal, la grasa del epidídimo, la masa del hígado, las concentraciones de triglicéridos, CT sanguíneo, y la glucosa en ayunas (Wu *et al.* 2015).

Diferentes líneas de evidencia sugieren que la natación induce adaptaciones beneficiosas en enfermedades asociadas con el estrés oxidativo; tales cambios están orientados a regular la expresión y actividad enzimática antioxidante en diferentes tejidos, generando la homeostasis redox.

Los beneficios de la natación parecen guardar relación con el hígado, órgano que actúa como un importante sistema antioxidante, jugando un rol notable en la respuesta adaptativa al estrés oxidativo inducido. La natación al igual que otros ejercicios físicos de tipo aeróbico induce una respuesta de resistencia al estrés oxidativo, protegiendo al hígado de ciertos efectos tóxicos, del aumento de la generación de ROS (Zacarias *et al.* 2017; Pillon *et al.* 2017). Datos actuales de investigaciones en ratas reafirman que la natación optimiza la capacidad del sistema antioxidante, aumentando la actividad de SOD, CAT, GPx en diferentes tejidos (Botezelli *et al.* 2011; Lima *et al.* 2013; Nonato *et al.* 2016; Zacarias *et al.* 2017). Tomadas en conjunto estas observaciones, resalta la utilidad del ejercicio físico aeróbico para prevenir y contrarrestar problemas de salud asociados al estrés oxidativo.

2.7 Estrés oxidativo: Oxidantes y Antioxidantes

Las células humanas requieren de oxígeno y otros compuestos para una gran cantidad de procesos (Burgoyne *et al.* 2012), en estos se generan oxidantes como un producto normal del metabolismo aeróbico que ante actividad física intensiva, condiciones fisiopatológicas o por acción de contaminantes pueden producirse a tasas elevadas causando daño oxidativo en

el organismo (Sies 1997; Pisoschi y Pop 2015). Entre los oxidantes se incluyen las especies reactivas de nitrógeno y las especies reactivas de oxígeno (ROS), de las cuales destaca el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), los superóxidos, y el radical hidroxilo (Sies 2017). Estos dos últimos radicales libres, químicamente inestables, debido a que contienen uno o más electrones no apareados en la órbita externa, son capaces de oxidar múltiples biomoléculas (Sanchez y Mendez 2013; Pisoschi y Pop 2015; Sies *et al.* 2017), que de no controlarse producen estrés oxidativo, el cual resulta perjudicial para numerosas funciones fisiológicas (Burgoyne *et al.* 2012). En este sentido el estrés oxidativo se define como una alteración del equilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad del organismo para contrarrestar su acción mediante los sistemas de protección antioxidante (Sies *et al.* 2017) ya sea reduciéndose la capacidad de los sistemas endógenos para luchar contra el ataque oxidativo o ante una generación excesiva de ROS. El estrés oxidativo determina modificaciones de la estructura y la modulación de la función en ácidos nucleicos, lípidos y proteínas (Pisoschi y Pop 2015).

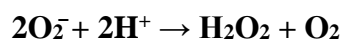
Los radicales libres generados son neutralizados por un elaborado sistema de defensa antioxidante que implica estrategias que participan en la prevención, intercepción y reparación de la alteración del equilibrio redox (Sies 1997; Sies *et al.* 2017). Los antioxidantes son compuestos o sistemas que pueden interactuar de manera segura con los radicales libres y terminar la reacción en cadena antes de que se dañen las moléculas vitales (Oroian y Escriche 2015). Estos pueden clasificarse según su actividad como antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

- **Antioxidantes enzimáticos**

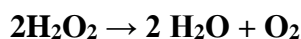
Los antioxidantes enzimáticos funcionan al descomponer y eliminar los radicales libres, convirtiendo los productos oxidativos en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y luego en agua, en un proceso que involucra cofactores como el cobre, zinc, manganeso y hierro. (Nimse y Pal 2015). Se encuentran presentes dentro de las células y tejidos y su activación depende de la concentración de O_2 ambiental y de señales exógenas de diversas naturalezas físicas o químicas (Sies 2017). Dentro de estas enzimas se destacan la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT).

La enzima de desintoxicación y el antioxidante más potente de la célula es la superóxido dismutasa (SOD), esta actúa en la desmutación de dos moléculas de anión superóxido ($2O_2^-$)

a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y oxígeno molecular (O₂) reduciendo el riesgo de toxicidad. Es una metaloenzima, es decir, requiere como cofactor un metal para su actividad, lo cual determinará su isoforma (Ighodaro y Akinloye 2017). La reacción catalizada por esta enzima es la siguiente (Fridovich 2013):



Las catalasas son enzimas endógenas que tienen como grupo prostético hemo, jugando un rol fundamental en la respuesta adaptativa al peróxido de hidrogeno (H₂O₂), manteniéndolo a niveles no tóxicos mediante su descomposición en oxígeno y agua molecular. Estas enzimas se encuentran a nivel celular en mitocondrias, citosol, y peroxisomas (Gebicka y Krych-Madej 2019) y se presentan en mayor concentración en el hígado, riñón y eritrocitos. (Sepasi-Tehrani y Moosavi-Movahedi 2018). La reacción catalizada por esta enzima es la siguiente (Nicholls 2012):



• **Antioxidantes no enzimáticos**

Los antioxidantes no enzimáticos actúan neutralizando o eliminando los radicales libres mediante la donación de electrones con el fin de inhibir el inicio de la cadena y romper las reacciones de propagación de esta. En este proceso se convierten en nuevos radicales pero que son neutralizados fácilmente por otros antioxidantes en este grupo (Sies 2017). Entre estos se encuentran la vitamina C, la vitamina E, los polifenoles, los carotenoides y el glutatión (Nimse y Pal 2015).

El glutatión es un tripéptido formado por los aminoácidos glutamato, glicina y cisteína (Glu-Gly-Cys) y se encuentra en mayor concentración en el hígado, riñones y corazón. En su forma reducida (GSH) desempeña un papel clave en la defensa contra los radicales libres celulares (Enns y Cowan 2017) participando en procesos de detoxificación y en el estado redox en la célula. De esta forma protege los tejidos del estrés oxidativo a través de reacciones enzimáticas sobre las moléculas de peróxido de hidrogeno catalizadas por la glutatión peroxidasa (GPx) (Martínez *et al.* 2006). Tal reacción genera la oxidación del glutatión (GSSG), producto que debido a su toxicidad requiere ser convertido nuevamente

en GSH; este proceso se da por medio de la enzima glutatión reductasa (GRd) y resulta en una adecuada relación de GSSG y GSH (Teskey *et al.* 2018). Por tanto, el estado redox intracelular determinado por los niveles y proporción de glutatión oxidado (GSSG) y reducido (GSH) se considera un importante biomarcador de la salud celular (Cisneros *et al.* 2011; Enns y Cowan 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar y fecha de ejecución

El presente estudio se desarrolló en el Bioterio de la Universidad Nacional Agraria la Molina perteneciente a la facultad de Zootecnia. El periodo experimental discurrió entre los meses de marzo y abril del 2018.

3.2 Animales experimentales

Se utilizaron 24 ratas macho de la raza *holtzman* de 42 días de edad con un peso promedio de 147 g; procedentes del Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). Los animales previo al inicio de la experimentación tuvieron un día para su acondicionamiento al entorno experimental. Cumplidas las tres semanas de edad sus orejas fueron muescadas para facilitar la identificación; los cortes en la oreja izquierda representaban unidades y en la oreja derecha decenas que al sumarse daban como resultado la numeración del animal.

3.3 Instalaciones y equipos

Las ratas fueron alojadas aleatoriamente en jaulas metálicas individuales provistas de comederos y bebederos, así como una base de metal extraíble que servía para facilitar la limpieza de las excretas depositadas en ella. Las jaulas estuvieron situadas en condiciones ambientales controladas con una temperatura de 22°C, humedad relativa de 40 a 50% y un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad. Se instalaron ventiladores y extractores que permitían la constante recirculación del aire. Además se contó con áreas disponibles para el montaje de una piscina y para el manejo de los procedimientos experimentales a lo largo de la investigación

Se utilizó balanzas electrónicas de alta precisión JBC® y HENKEL®; una para tomar el peso corporal de los animales y otra para medir el peso del alimento a suministrar. En la elaboración del preparado de la dieta experimental se empleó una mezcladora eléctrica HOBART® de dieciocho litros de capacidad. Al mezclar el alimento con las fuentes de grasa saturada para los tratamientos respectivos se hizo uso de un procesador de alimentos marca OSTER® con capacidad de setecientos cincuenta mililitros.

3.4 Protocolo de alimentación:

El estudio constó de dos fases con una duración de treinta días cada una; en ambas el suministro de alimento fue supervisado diariamente.

3.4.1 Fase I: Inducción a la obesidad

Todos los animales recibieron la misma cantidad de alimento y agua ad libitum durante este periodo siendo alimentados exclusivamente con una dieta obesogénica (DO) (**Cuadro 1**) (85% alimento estándar para ratas del Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la UNALM y 15% de manteca vegetal Tropical®). Al término de esta fase los animales fueron pesados y se tomaron medidas biométricas con el fin de evaluar si presentaban obesidad mediante el índice de Lee.

Cuadro 1. Composición nutricional de las dietas administradas

Composición de la dieta	Dieta Estándar (DE)*	Dieta Obesogénica (DO)
Proteína total (%)	17.00	14.45
Extracto Etéreo (%)	6.00	20.1
E.M. (Mcal/Kg)	2.90	3.82
Fósforo (%)	0.37	0.31
Calcio (%)	0.63	0.54

**Fuente: Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos-UNALM*

3.4.2 Fase II: Aplicación de tratamientos

Se inició con la homogenización de la muestra tomando como punto de referencia las medias y coeficientes de variación obtenidos del peso de los animales de manera que su distribución en los grupos experimentales sea uniforme. Los tratamientos fueron

asignados a los animales bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2 x 2, haciendo un total de 4 tratamientos con 6 repeticiones cada uno para estudiar el factor A: Fuente de grasa saturada (FGS) y el Factor B: Ejercicio físico. La DO abarcó las dos fases experimentales y al inicio de la Fase II se adicionó **3.5% de manteca de cacao (MC) y 3.5% de aceite de palma rojo (APR)** a los tratamientos. El perfil de ácidos grasos de las fuentes de grasa saturada se muestra en el **Cuadro 2** y es detallado en el **Anexo I**. Los análisis químicos proximales de las dietas se muestran en el **Cuadro 3**.

Tratamientos:

- **T1:** DO + 3.5% de MC – Sedentario
- **T2:** DO + 3.5% de MC – Natación
- **T3:** DO + 3.5% de APR – Sedentario
- **T4:** DO + 3.5% de APR– Natación

Cuadro 2. Perfil de ácidos grasos de las fuentes de grasa saturada

Ácidos Grasos*	Manteca de Cacao (MC)	Aceite de Palma Rojo (APR)
Laúrico (C12:0)	< 0,007	0,145
Mirístico (C14:0)	< 0,011	0,734
Palmítico (C16:0)	29,012	39,967
Esteárico (C18:0)	30,564	5,349
Oleico (C18:1)	34,369	40,985
Linoleico (C18:2)	3,34	10,53
Saturados	60,603	46,288
Monoinsaturados	34,369	41,104
Poliinsaturados	3,507	10,857

*Fuente: CERPER S. A. (Manteca de cacao Anjo®; Aceite de palma rojo Yauvana®).
g/100g de muestra

Cuadro 3. Análisis químico proximal de la DO con MC y APR

Componente	DO + 3.5% de MC	DO + 3.5% de APR
Proteína Total, %	14.78	16.47
Extracto etéreo, %	18.04	18.16
Fibra Cruda, %	5.07	5.18
Humedad, %	9.84	9.83
Ceniza, %	3.81	4.00
ELN, %	48.46	46.36

Fuente: Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA)

3.5 Protocolo de la práctica de natación

Las ratas seleccionadas para la práctica de ejercicio físico fueron sometidas a natación en una piscina de 1.49 m de largo x 1.49 m de ancho x 0.59 m de alto, provista de agua limpia a una temperatura de 32°C, medida considerada térmicamente neutral en relación con la temperatura corporal de la rata (Lima *et al.* 2013; Da Silva *et al.* 2016; Nonato *et al.* 2016; Nogueira *et al.* 2017). El volumen de agua alcanzó los 1.011 m³ y el nivel de profundidad de 25 cm, el cual fue aumentando a medida que los animales crecían hasta llegar a 40 cm para evitar que las ratas se suspendieran asentando la cola en el fondo de la piscina.

Durante la segunda fase experimental los animales fueron sometidos a natación diariamente con dos días de descanso (sábado y domingo) teniendo en consideración una primera semana de entrenamiento y acondicionamiento previo con duraciones de tiempo más cortas. Para las sesiones de natación se estableció los siguientes tiempos: 15 minutos los días 1 y 2, 30 minutos los días 3 y 4, 45 minutos del día 5 al 30.

Al finalizar cada sesión los animales fueron secados en su totalidad con ayuda de toallas y un ventilador de aire caliente para evitar el riesgo de enfermedades respiratorias. Por otro lado, las ratas que no fueron escogidas para la práctica de natación (**T1 y T3**) se colocaron diariamente en el agua unos segundos sin realizar ningún esfuerzo físico con el objetivo de reducir los sesgos experimentales.

3.6 Administración de anestésicos, técnicas de contención, y método de eutanasia

A lo largo de la investigación se desarrolló un protocolo pre-anestésico, en el cual se mantuvo en ayuno a los animales durante 12 horas para luego ser pesados y con tales medidas calcular la dosis adecuada de anestésicos a suministrarse. Se creyó conveniente el suministro vía intraperitoneal de Xilacina al 2% (Dormi-Xyl® 2) y Ketamina al 10% (Halatal® KT) a razón de 5 y 60 mg/Kg de peso vivo respectivamente (Stewart 2017).

Con el propósito de coleccionar muestras y datos biométricos adecuados, brindar seguridad al experimentador y evitar daño o sufrimiento a los animales se estableció técnicas manuales para la contención del movimiento. Durante la toma de medidas biométricas se aplicó una técnica de pinzamiento o “T-rex” (Mourelle *et al.* 2013; Stewart 2017) que permitía el acceso a distintas áreas del cuerpo de los animales para un adecuado uso de la cinta métrica. Por otra parte, en la colección de las muestras de sangre se efectuó una técnica de contención manual acorde a las características morfológicas de la especie, aplicando el método de “wrapping” (Pekow y Baumans 2002) que permitía dejar expuesta la zona de la cola en que se precisaba trabajar.

El sacrificio de los animales se realizó al finalizar el desarrollo experimental procurando generar el menor sufrimiento físico y psíquico. Esto se llevó a cabo aplicando una inyección por vía intracardiaca con pentobarbital sódico (60mg/Kg de P.V.) a cada animal previamente anestesiado (Carbone 2014); ha sido probado que el uso de dicho barbitúrico en la eutanasia es útil si se desea realizar estudios histopatológicos de las vísceras abdominales (Gagea-Iurascu y Craig 2012). Ningún animal fue expuesto a la eutanasia de otro puesto que la desesperación del animal a sacrificar puede intranquilizar y generar estrés en los demás animales (Stewart 2017). Se procedió a extraer los depósitos de grasa subcutánea y visceral de diferentes regiones corporales. Adicionalmente, se tomaron muestras de hígado que fueron guardadas a -80 ° C en nitrógeno líquido para posteriores análisis concernientes al estrés oxidativo.

3.7 Variables de estudio

3.7.1 Peso corporal e incremento de peso

El peso de los animales se calculó en tres oportunidades; el día de su recepción al experimento (día 0), antes de iniciar la segunda fase, con el propósito de realizar la distribución homogénea en los grupos experimentales, y al término de la segunda fase.

La ganancia de peso se obtuvo calculando la diferencia entre el peso al finalizar el experimento y el peso final en la primera fase.

3.7.2 Consumo de alimento

El consumo de alimento se estimó indirectamente por la diferencia entre el alimento suministrado diariamente a los animales y la cantidad de alimento residual recolectado 24 horas después.

3.7.3 Parámetros biométricos e índices corporales

3.7.3.1 Longitud Naso-Anal (LNA)

Con el objetivo de obtener una medición precisa de LNA, los animales fueron anestesiados y ubicados estirándose sobre una base recta en decúbito ventral (Cossio *et al* 2010) empleando un calibrador graduado. La medición inicia desde la nariz hasta el ano del animal.

3.7.3.2 Índice de Lee

Se utilizó el índice de Lee como parámetro biométrico debido que presenta altos valores de confiabilidad y es ampliamente utilizado como una medida rápida y precisa para determinar obesidad en ratas sometidas a un incremento de peso (Angélico *et al.* 2012). Para su medición se registró el peso corporal y la longitud naso-anal de las ratas. Con estas medidas se calculó la raíz cúbica del peso corporal (g) dividida por la longitud naso-anal (cm) (Lee 1929). Los valores menores e iguales a 0.300 se clasificaron en la categoría “NORMAL” y aquellos animales que alcanzaron valores mayores a 0.300 fueron clasificados como “OBESOS”.

3.7.3.3 Circunferencia torácica y abdominal

En el presente trabajo se midió la circunferencia abdominal sujetándose a los animales con la técnica de contención antes descrita y colocándose en posición ventral, empleando una cinta métrica en la zona más grande del abdomen con precisión de 0,1 cm. La circunferencia torácica fue tomada colocando la cinta métrica en la zona posterior de la pata delantera.

3.7.4 Bioquímica sérica

Durante la colección de muestras de sangre se adoptó ciertos criterios propuestos por Stewart (2017). Las muestras sanguíneas fueron obtenidas mediante una incisión de aproximadamente 1 a 2 milímetros desde el extremo de la cola de cada uno de los animales utilizando hojas de bisturíes esterilizados; el corte longitudinal fue realizado únicamente en la primera toma de muestras. En la segunda medición se ejerció presión a la parte proximal del corte con el objetivo de intensificar el flujo sanguíneo, consecuentemente, permitir extraer la cantidad de sangre requerida. Tras haber colectado las muestras se aplicó presión directa en la punta de la cola con un algodón hasta confirmarse la hemostasia.

3.7.4.1 Triglicéridos y colesterol de lipoproteína de alta densidad

Los niveles de TG y HDL-C séricos fueron obtenidos con el kit comercial Test Devices - 3-1 Lipid Panel y el equipo Mission® Cholesterol Monitoring System empleándose el método de reflectometría, estos son detallados en el **Anexo II**.

3.7.4.2 Concentraciones de glucosa

Los niveles de glucosa se determinaron con el kit de diagnóstico On Call® Advanced Blood Glucose Monitoring System, este es detallado en el **Anexo II**. Sobre cada tira reactiva insertada en el glucómetro se depositó una gota de sangre para ser absorbida por aspirado capilar. El glucómetro emplea el método de catalización selectiva de la oxidación de la glucosa para determinar tal medida con un tiempo de respuesta de aproximadamente un minuto.

3.7.5 Adiposidad

Tras la eutanasia se realizó una incisión longitudinal en la parte anterior del cuerpo del animal, para visualizar *in situ* la adiposidad localizada en las zonas dorso-lumbar, abdominal, inguinal, retroperitoneal, perirenal, epididimal y gluteal (Lehnig *et al.* 2019), y posteriormente extraerla en condiciones estériles, tendiendo en consideración el diagrama planteado por Choe *et al.* (2016) mostrado en el **Anexo III**. Se tomó el peso (expresado en gramos) de la grasa por región corporal y en su totalidad.

3.7.6 Peso del hígado

Tras la disección, el hígado de las ratas fue extraído y posteriormente lavado con una solución salina compuesta por cloruro de sodio. Una vez realizada la limpieza se pesó el hígado de cada uno los animales que integraron el experimento. La valoración del peso de este órgano se consideró útil para evaluar el impacto diferencial entre los distintos tratamientos. Esta variable tiene relevancia clínica en cuanto a su relación funcional con el metabolismo general (Greaves 2012; Cattley y Cullen 2013; Adewale-Ahmed *et al.* 2019).

3.7.7 Biomarcadores del sistema antioxidante

Se tomaron muestras del tejido hepático (1g), las cuales fueron inmediatamente almacenadas en un tanque criogénico a una temperatura de a -82 ° C con el fin de preservar su integridad. Esta muestra fue extraída con la intención de determinar actividad antioxidante de las enzimas endógenas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT); glutatión (GSH) y su relación con el glutatión oxidado (GSH/GSSG).

3.7.7.1 Superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de la superóxido dismutasa fue medida mediante el método de Marklund, el cual indica la capacidad de la enzima para inhibir la autooxidación del pirogalol a pH alcalino con formación del radical anión superóxido (Marklund y Marklund, 1974). Para medir dicha actividad se diluyó 1/5 del homogenizado de hígado al 10%. En una cubeta de 1 mL se colocó 950 µL de buffer tris HCl 0,05 M, a pH 8.2, y se añadió 50 µL pirogalol 2 mM, produciéndose un cambio de absorbancia de $0,02 \pm 10\%$ por minuto. La lectura en el espectrofotómetro se realizó a una longitud de onda 420 nm. Las muestras se analizaron colocando una cantidad de homogenizado al 10%, disminuyendo el cambio de absorbancia a la mitad. Una unidad SOD equivale al 50% del cambio de absorbancia del pirogalol por minuto. Finalmente, la actividad se calculó realizando la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad SOD} = \frac{A_o - A_t/0.5}{A_o} \times \frac{\text{Volumen total (ml)}}{\text{Volumen de la muestra (ml)}} \times \text{Factor de dilución}$$

*Los resultados fueron expresados en U/mg de proteína

3.7.7.2 Catalasa (CAT)

La medición de esta enzima se basó en la descomposición del H₂O₂ a agua, observándose un descenso de absorbancia; la diferencia de absorbancia por unidad de tiempo muestra la medida de la actividad de la enzima estudiada (Aebi 1984). La reacción se obtuvo utilizando un buffer fosfato 50 mM a pH neutro y se midió durante 3 minutos. Se utilizó el coeficiente de extinción (ϵ_{240}) = 39,4 M⁻¹. Cm⁻¹. Para medir la actividad se diluyó 1/1000 de homogenizado hepático al 10%. El peróxido de hidrogeno preparado en el mismo buffer de dilución tuvo una concentración de 30 mM. En una cubeta de 1 mL se vertió la muestra diluida en buffer y se colocó a treinta grados centígrados en baño maría, luego se llevó al espectrofotómetro y se añadió el H₂O₂ en una relación de 2:1 (muestra/peróxido), realizando la lectura a una longitud de onda de 240 nm.; se empleó la siguiente ecuación:

$$U(\mu\text{mol}/\text{min}) = \frac{\Delta \text{absorbancia} / \text{min} \times \text{Volumen total (ml)} \times \text{factor de dilución}}{\epsilon(\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}) \times \text{longitud de la cubeta (cm)} \times \text{volumen de muestra (ml)}}$$

3.7.7.3 Glutación (GSH)

Los niveles de glutación se midieron empleando el método químico con DTNB (ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico)), el cual reacciona con los grupos sulfhidrilo. (Boyne y Ellman 1972). Se utilizó 950 μL de homogenizado hepático y se le añadió 50 μL de ácido tricloroacético (ATC) al 100%; dicha mezcla se centrifugó a 15 000 g por 8 minutos. Posteriormente 200 μL de sobrenadante fueron colocados en un tubo de ensayo para incubarse a 67°C por 5 minutos; al enfriar se agregó 200 μL de DTNB. Finalmente, la lectura fue realizada a una longitud de onda de 412 nm. Se empleó la siguiente ecuación:

$$GSH (\mu\text{mol}/\text{ml}) = \frac{Fc \times \text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Volumen real de la muestra}}$$

Dónde:

Fc: Promedio del factor de calibración del estándar

$$Fc = \frac{\text{estándar } (\mu\text{mol})}{\text{Absorbancia del estándar}}$$

*Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína.

3.8 Análisis estadístico:

El presente trabajo se realizó bajo un Diseño Completamente al Azar, con arreglo factorial 2 x 2, haciendo un total de 4 tratamientos y 6 repeticiones. Los datos obtenidos fueron procesados mediante el análisis de varianza (ANVA) usando el programa MINITAB versión 17. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Fisher. El nivel de significancia para las diferencias entre tratamientos fue de 0.05 en todos los casos. Se utilizó la prueba de T pareada, con el objetivo de determinar si la media de las diferencias entre dos muestras pareadas es diferente de 0. El Modelo Aditivo Lineal fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} : Valor estadístico de cada observación en cada unidad experimental.

μ : Media general.

A_i : Efecto del factor A (FGS).

B_j : Efecto del factor B (EF).

$(AB)_{ij}$: Efecto de la interacción de los tratamientos (en el i-ésimo nivel de A y el j iésimo nivel B).

ε_{ijk} : Efecto aleatorio o error en la obtención de Y_{ijk} .

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase I: inducción a la obesidad

Al término de la fase I se realizó el análisis de las variables mostradas en el **Cuadro 4** y en los **Anexos V, VI y VII** que no reportó diferencias significativas entre grupos ($P>0.05$). Tales resultados eran esperados ya que no se adicionó ninguna fuente de variación; de esta manera se probaría la homogeneidad de la muestra previo al inicio de la Fase II. Asimismo, este análisis permitió verificar que no existían variantes generadas por condiciones del entorno o por el manejo al operar con los animales.

Fase II: Aplicación de los tratamientos

Al culminar el segundo periodo experimental se realizó nuevamente el análisis de variables; tales resultados se describen a continuación

4.1 Peso corporal y consumo de alimento

En el **Cuadro 5** y en el **Anexo VIII** se encuentran los resultados sobre el peso corporal (PC), incremento de peso (IP), y consumo de alimento al finalizar el periodo de aplicación de los tratamientos. No se halló interacción significativa ($P>0.05$) entre los factores ejercicio físico (EF) y fuente de grasa saturada (FGS) respecto a las variables en cuestión.

Cuadro 4. Resultados del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)

Variables	Grupos*				Probabilidad*
	1	2	3	4	
Respuesta a la Ganancia de peso					
Peso corporal, (g)	295.50	295.50	295.50	295.30	0.993
Incremento de peso, (g)	143.33	142.67	148.00	145.67	0.922
Consumo diario de alimento, (g)	18.22	17.90	18.13	18.09	0.842
Parámetros Biométricos e índices corporales					
Longitud Naso-Anal, 30d (cm)	20.20	20.58	20.23	20.32	0.650
Índice de Lee, 30d	0.333	0.333	0.333	0.322	0.537
Circunferencia Torácica, (cm)	13.68	13.22	13.62	13.17	0.984
Circunferencia abdominal, (cm)	15.23	15.20	15.10	14.80	0.683
Circunferencia de Cuello, (cm)	9.671	9.921	9.520	9.721	0.884
Bioquímica Sérica					
Triglicéridos en sangre, 30d (mg/dL)	88.83	76.67	82.00	81.17	0.280
HDL-C, 30d (mg/dL)	29.67	29.83	34.17	30.17	0.603
Glucosa en sangre, 30d (mg/dL)	114.00	110.00	92.33	99.83	0.524

* En todos los casos al realizarse la prueba ANOVA entre los grupos el P-valor fue mayor a 0.05.

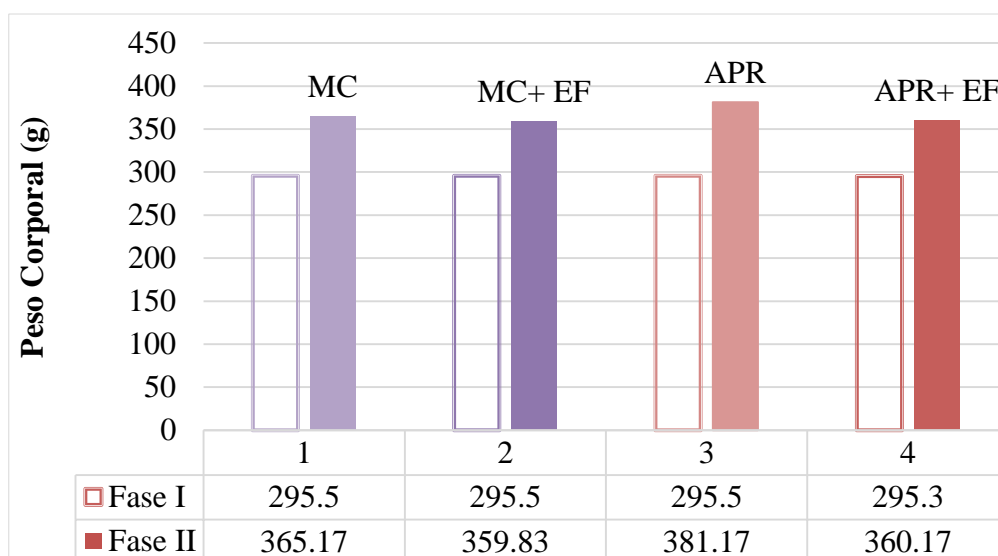
Cuadro 5. Peso corporal, incremento de peso, y consumo de alimento al término de la Fase II

T*	FGS*	EF*	PC (g)	IP (g)	Consumo Al. (g)
1	3.5 % MC	S	365.17	69.67	17.57
2	3.5 % MC	N	359.83	64.33	17.93
3	3.5 % APR	S	381.17	85.67	18.18
4	3.5 % APR	N	360.17	64.83	16.74
Efecto de FGS		MC	362.50	67.00	17.75
		APR	370.66	75.25	17.46
Efecto del EF		S	373.17	77.67	17.88
		N	360.00	64.58	17.34
Probabilidad					
FGS			0.606	0.324	0.741
EF			0.408	0.125	0.538
FGS*EF			0.621	0.354	0.313

^{ab}: Letras distintas como superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

*T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% Manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de palma rojo (APR) + S; T4: DO+3.5% de APR + N. Fuente de grasa saturada (FGS); Ejercicio físico (EF).

Al iniciar el periodo experimental el PC de los animales fue similar para todos los individuos (295.46 ± 23.07 g). Después de las cuatro semanas mostraron un aumento aproximado del 24% en su peso corporal ($P < 0.001$, prueba t pareada) a pesar de los tratamientos suministrados (**Figura 1**); situación semejante a lo hallado por Nogueira *et al.* (2017) al explorar el impacto de una dieta alta en grasas (HFD por sus siglas en inglés) en ratones sometidos a natación a niveles bajos y moderados. En el estudio actual el incremento de peso corporal durante el periodo de los tratamientos fue ligeramente menor en los animales que tuvieron las sesiones de natación que en los grupos sedentarios, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($P > 0.05$); situación que también fue observada por Kim *et al.* (2000) al analizar el efecto en ratas de una dieta HFD en combinación con ejercicio (natación) por un periodo de tres semanas, sin encontrar diferencias significativas.



MC: Manteca de cacao; APR: Aceite de palma rojo; EF: Ejercicio físico

Figura 1. Peso corporal a los 30 y 60 días

En contraste, la investigación de Wu *et al.* (2015), con un periodo experimental más extenso (90 días), mostró que la práctica de natación fue eficaz ($P < 0.05$) para prevenir un aumento de peso corporal en un grupo de ratas con tratamiento de HFD. Los datos presentados no descartan que de haber ampliado el periodo experimental o aumentado la dosis en los tratamientos, los efectos de la DO pudieran haberse visto disminuidos y de forma significativa.

Por otra parte, no hubo diferencias significativas en el incremento de peso entre las fuentes de grasa saturada. El tratamiento con APR no tuvo impacto sobre el peso corporal, al igual que el estudio de Aguila *et al.* (2004) donde se comparó el desempeño de diferentes aceites vegetales en ratas. Es preciso señalar que en ese estudio el tratamiento con MC reportó valores numéricos de peso ligeramente menores que el APR; hallazgo similar al trabajo de Kritchevsky *et al.* (1988), donde ratas alimentadas con MC presentaron menor IP frente a aquellas que consumieron dietas que incluían aceite de semilla de palma y aceite de maíz. Que la ganancia de peso corporal para el grupo de ratas alimentadas con MC resulte inferior al del aceite de palma rojo puede explicarse por su alto contenido de ácidos grasos saturados (AGS); específicamente en el ácido esteárico (C18:0) que influye en la digestibilidad de los lípidos. Los estudios en animales han demostrado que 5 a 20% de MC en la dieta produce una digestibilidad más baja (58 a 70%), lo que resulta en una mayor eliminación de lípidos fecales a comparación de otras fuentes (Apgar *et al.* 1987; Timmers *et al.* 2011). Puesto que en el estudio actual no se recolectó datos referentes a las excretas para el análisis del contenido de grasa, no puede excluirse la posibilidad de que la base del peso reducido fuera la digestibilidad de las fuentes.

Los resultados sobre el consumo de alimento (**Cuadro 5**), como ya se mencionó, no mostraron interacción significativa entre la FGS y el EF ($P > 0.05$), al igual que los efectos individuales de los factores para esta variable; datos que concuerdan con otros estudios (Apgar *et al.* 1987; Pellizzon *et al.* 2002; Aguila *et al.* 2004).

4.2 Parámetros biométricos e índices corporales

Los datos acerca de la biometría e índices corporales obtenidos en la segunda fase se muestran en el **Cuadro 6** y el **Anexo IX**. De ello puede observarse que las variables LNA, Índice de Lee, Circunferencia abdominal y Circunferencia de cuello, no reflejaron interacción significativa ($P > 0.05$) entre los factores EF y FGS, en contraste con la circunferencia torácica ($P = 0.035$). Particularmente el grupo al que se aplicó el cuarto tratamiento que combinaba la ingesta de APR y la práctica de natación presentó menores medidas de circunferencia torácica en relación a los demás tratamientos, como se aprecia en la **Figura 2**. Este hecho podría explicarse por el efecto reductor que tienen los tocotrienoles contenidos en el aceite de palma rojo sobre la síntesis de triglicéridos modificando los genes y la expresión proteica de las enzimas ácido graso sintasa y

carnitina palmitoil transferasa (CPT1), favoreciendo la oxidación de las grasas (Burdeos et al. 2012; Norhaizan et al. 2013) y evitando un almacenamiento en esta zona corporal. Además, Wu *et al.* (2015) mencionan que es comprensible atribuir al ejercicio las variaciones en la biometría del tórax, siendo esta posiblemente la zona que más se ejercita con la práctica de natación.

Cuadro 6. Parámetros biométricos e índices corporales al término de la Fase II

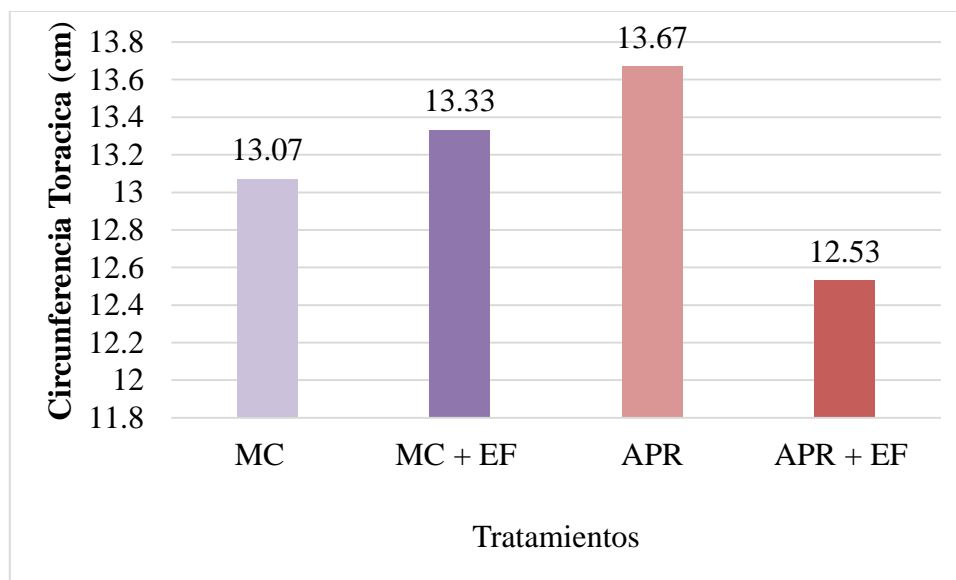
T*	FGS	EF	LNA	Índice de Lee	Cir. T	Cir. A	Cir. C
1	3.5 % MC	S	22.07	0.323	13.07 ^{ab}	14.65	10.60
2	3.5 % MC	N	21.75	0.327	13.33 ^{ab}	14.35	10.92
3	3.5 % APR	S	22.18	0.327	13.67 ^b	14.68	10.57
4	3.5 % APR	N	21.32	0.334	12.53 ^a	14.53	10.50
Efecto de FGS		MC	21.91	0.325	13.20	14.50	10.76
		APR	21.75	0.330	13.10	14.61	10.53
Efecto del EF		S	22.13	0.325	13.37	14.67	10.58
		N	21.53	0.330	12.93	14.44	10.71
Probabilidad							
FGS			0.658	0.101	0.750	0.753	0.457
EF			0.108	0.078	0.176	0.515	0.678
FGS*EF			0.444	0.561	0.035	0.828	0.526

^{ab}: Letras distintas como superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

*T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% Manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de palma rojo (APR) + S; T4: DO+3.5% de APR + N. Fuente de grasa saturada (FGS); Ejercicio físico (EF)

La evaluación de los factores individualmente no exhibió diferencias relevantes ($P > 0.05$) en ninguna de las variables ya mencionadas. Estudios similares obtuvieron evidencias del carácter neutro de la práctica de ejercicio sobre la longitud Naso-Anal (Svidnicki *et al.* 2015), y de FGS sobre la circunferencia abdominal (Widjaja *et al.* 2018). Cabe señalar que si bien la circunferencia abdominal no reveló significancia en este estudio, tal parámetro se considera una técnica útil al estudiar ratas obesogénicas debido a su bajo coeficiente de variación que le otorga precisión y confiabilidad (Gerbaix *et al.* 2010). En el presente estudio la práctica de natación y la suplementación con FGS no tuvieron

impacto sobre el Índice de Lee. Investigaciones al respecto han demostrado que la MC (Wu *et al.* 2013) y el AP (Aguila *et al.* 2004) no generaban variaciones al compararse con otros aceites. Los datos actuales sobre esta variable referentes al EF no concuerdan con otras investigaciones (Song *et al.* 2014; Lu *et al.* 2016), que atribuyen efectos reductores de la natación sobre el Índice de Lee en ratas obesas alimentadas con una HFD.



MC: Manteca de cacao; APR: Aceite de palma rojo; EF: Ejercicio físico

Figura 2. Circunferencia torácica al término de la Fase II

Si bien no se halló relevancia estadística en la medida de parámetros corporales, estos datos tienen sentido solo para efectos del presente trabajo. En la evaluación de la obesidad, valerse de criterios basados en el aumento del Índice de Lee y del contenido de grasa corporal resulta ser la mejor alternativa. Se ha encontrado correlaciones confiables entre el Índice de Lee y el contenido de grasa del cuerpo en algunos estudios (Hairi y Thibault 2010).

4.3 Bioquímica sérica

Los resultados de los niveles de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL-C), triglicéridos (TG), y glucosa en sangre se muestran en el **Cuadro 7** y en el **Anexo X**.

4.4 Colesterol de lipoproteína de alta densidad

Para la variable HDL-C no se detectó interacción significativa entre EF y FGS; sin embargo, al evaluar los factores por su desempeño individual se observó que el EF aumentaba las concentraciones de HDL-C en sangre (**Figura 3**), datos con significancia estadística ($P=0.004$). Esto se ve reafirmado en el estudio de Burneiko *et al.* (2006) al explorar la interacción entre una dieta hipercalórica y la práctica ejercicio físico en ratas, encontró que al ejercitarse dos veces por semana se producía una elevación significativa del HDL-C. Una explicación factible a este suceso se encuentra en que el ejercicio aeróbico posiblemente aumenta la expresión del receptor X del hígado (LXR), que está involucrado en la manifestación del gen ABCA1, codificador de la proteína que regula el flujo de salida del colesterol; este es un impulso fundamental para el transporte inverso del colesterol que origina un aumento del efecto antiaterogénico del HDL-C (Wang y Xu 2017).

Si bien el factor FGS no presentó diferencias significativas para el HDL-C, la MC por su cuenta no mostró un impacto adverso sobre tal variable, incluso, más allá de conservar sus concentraciones las incrementó ligeramente. Al igual, investigaciones acerca de la acción de diferentes aceites vegetales sobre el HDL- C mostraron que la MC mantenía los niveles de HDL (Kritchevsky *et al.* 1988) e incluso tenía un impacto más favorable frente a otros aceites vegetales (Kritchevsky *et al.* 1982). Investigaciones han mostrado que la baja cantidad de ácido esteárico que llega a absorberse, $51 \pm 2\%$ (Kritchevsky *et al.* 1994), por acción de la Esteroil-CoA Desaturasa es convertido rápidamente a ácido oleico, el cual reduce los niveles de LDL-C en plasma y favorece los niveles de HDL (Cheng *et al.* 2018).

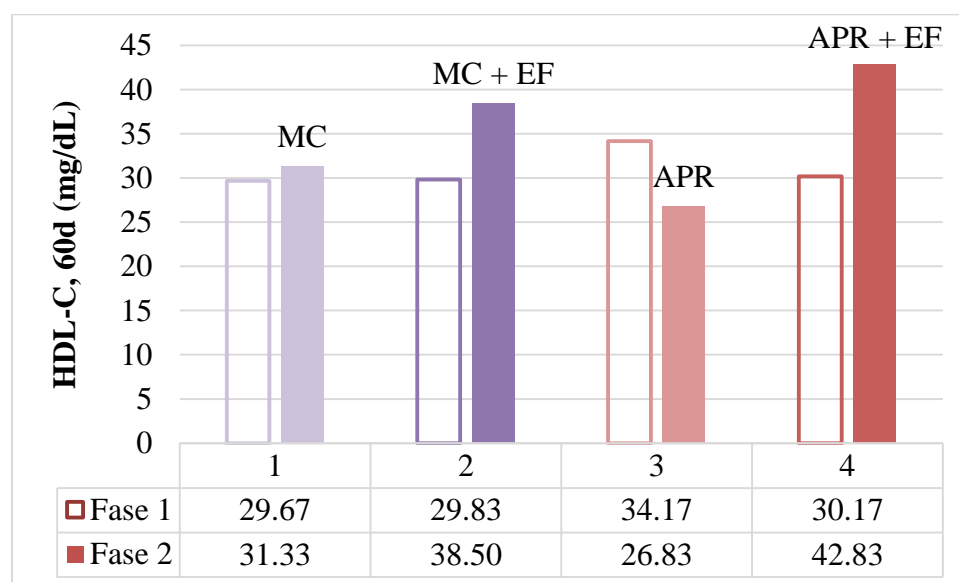
Cuadro 7. Bioquímica sérica al término de la Fase II

T*	FGS*	EF*	HDL-C (mg/dL)	TG (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)
1	3.5 % MC	S	31.33	72.33	108.00
2	3.5 % MC	N	38.50	58.67	131.50
3	3.5 % APR	S	26.83	63.83	148.67
4	3.5 % APR	N	42.83	57.33	132.33
Efecto de FGS		MC	34.92	65.50	119.75
		APR	34.83	60.58	140.50
Efecto del EF		S	29.08 ^b	68.08	128.33
		N	40.67 ^a	58.00	131.92
Probabilidad					
FGS			0.981	0.413	0.054
EF			0.004	0.102	0.727
FGS*EF			0.223	0.549	0.063

^{ab}: Letras distintas como superíndices dentro de una columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

*T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% Manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de palma rojo (APR) + S; T4: DO+3.5% de APR + N.

Fuente de grasa saturada (FGS); Ejercicio físico (EF).



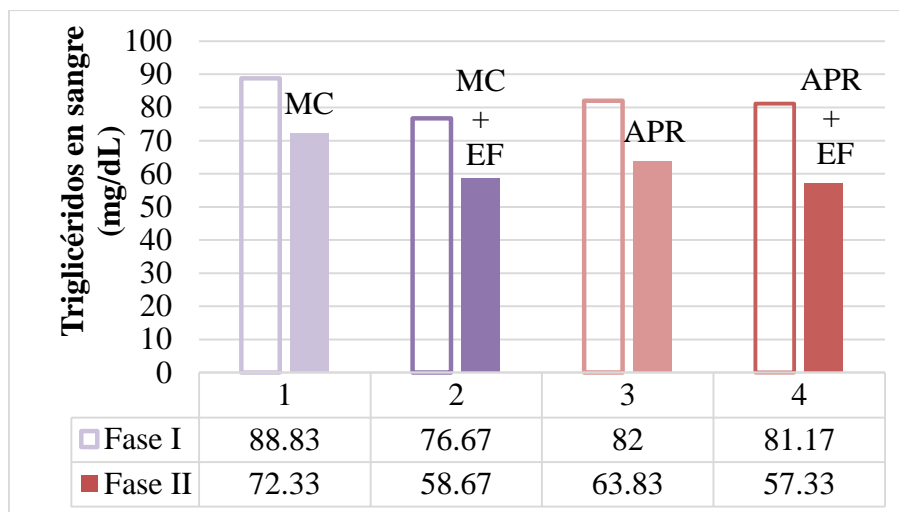
MC: Manteca de cacao; APR: Aceite de palma rojo; EF: Ejercicio físico

Figura 3. Concentraciones séricas de HDL-C a los 30 y 60 días

En cuanto al APR, diversos trabajos de investigación constatan que dicho aceite no interfiere en las concentraciones de HDL-C e inclusive algunos afirman tiene la capacidad de aumentarlas (Zhang *et al.* 1997, Kamsiah *et al.* 2001; Wilson *et al.* 2005; Dauqan *et al.* 2011; Fattore *et al.* 2014; Odia 2015; Sun *et al.* 2015; Yanai y Tada 2018). El presente estudio no coincide con tales afirmaciones, pues el APR presentó una tendencia a reducir las concentraciones de esta lipoproteína, comportamiento antes observado en la indagación de Kritchevsky *et al.* (1982). Se conjetura que el ácido palmítico contenido en el APR, tiene efecto hipercolesterolémico debido a que genera un aumento en la actividad de la proteína transportadora de éster de colesterol (CETP por sus siglas en inglés) que es responsable de la transferencia de HDL a LDL; consecuentemente se originaría la disminución de las concentraciones HDL-C aunada al aumento de LDL-C (Devi *et al.* 2010).

4.5 Triglicéridos en sangre

Las concentraciones de triglicéridos séricos de las ratas al inicio de la Fase II fueron similares entre todos los grupos (82.17 ± 12.49 g). Sin embargo, transcurridas cuatro semanas se observa una disminución de aproximadamente 23% de la variable en cuestión ($P < 0.001$, prueba t pareada) tanto para los animales sedentarios como para los ejercitados como se puede apreciar en la **Figura 4**, siendo estos últimos más eficaces en la disminución. Aun así, no se encontró interacción significativa entre los factores FGS y EF para la variable TG. Wang y Xu (2017) explican que la disminución de TG posterior a la práctica de EF se debe al incremento de los niveles de la Lipoproteína Lipasa (LPL) en plasma, la cual promueve la hidrólisis de los TG facilitando su descomposición y la movilización de ácidos grasos libres al músculo esquelético, para su subsecuente utilización como energía.



MC: Manteca de cacao; APR: Aceite de palma rojo; EF: Ejercicio físico

Figura 4. Concentraciones séricas de TG a los 30 y 60 días

Por su parte, el APR no parece tener un potencial elevador de las concentraciones de TG (Ayeleso *et al.* 2012; Loganathan *et al.* 2017) presentando en este trabajo una disminución progresiva. En concordancia, Oluba *et al.* (2008) examinaron los efectos del aceite de palma en ratas encontrando que los TG se redujeron significativamente en comparación con el aceite de soya. Esto rebate otros estudios que informan que la ingesta de APR aumenta la concentración de TG en el plasma sanguíneo (Dauqan *et al.* 2011). Al parecer, los tocotrienoles del aceite de palma rojo reducen la síntesis de triglicéridos modificando los genes y la expresión proteica de las enzimas ácido graso sintasa y carnitina palmitoil transferasa (CPT1), favoreciendo la oxidación de las grasas (Burdeos *et al.* 2012; Norhaizan *et al.* 2013).

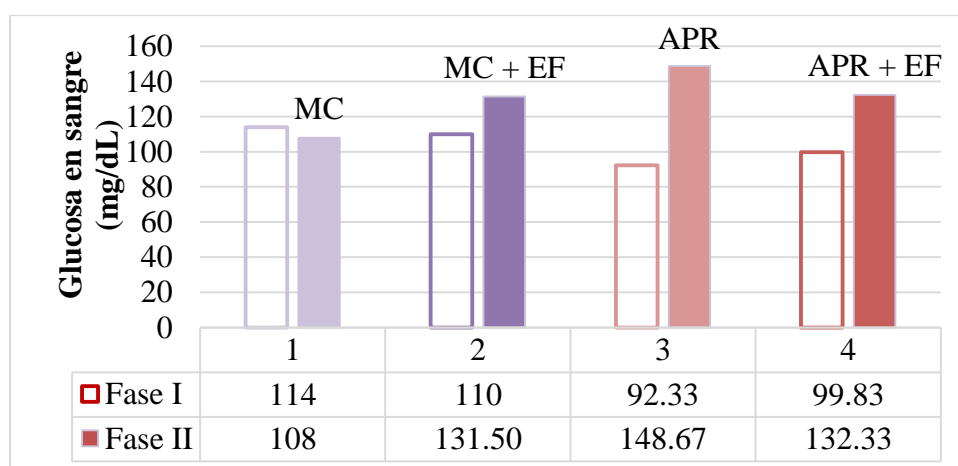
La MC también exhibió una reducción de TG transcurridos los 60 días, coincidiendo con los reportes de Yildirim *et al.* (2014), y Kritchevsky *et al.* (1988). Lo antes mencionado invita a considerar que los TG pueden disminuirse concomitante a una dieta con alta densidad calórica, dejando entrever que hay más variantes involucradas. Tal indicio tiene sentido si se considera que conforme sea más grande el tamaño de la cadena de los AGS presentaran una tendencia a incorporarse con mayor velocidad a los fosfolípidos (Kritchesky 1994).

Tomando en cuenta otros criterios, puede que la disminución de las concentraciones de TG en plasma para los tratamientos con MC y el APR obedeciera a las distribuciones

posicionales en el esqueleto de los TG (Food and Agriculture Organization of the United Nations 2010) según los ácidos grasos que los conforman; el ácido palmítico, compuesto principal del APR, y el ácido esteárico de la MC se encuentran en gran proporción ubicados en la posición sn-1 o sn-3 (**Anexo IV**). Dado que los ácidos grasos en posición sn-2 tienen una mayor utilización biológica y tasas de absorción que aquellos en las posiciones sn-1 y sn-3 (Mensink 2005; May y Nesaretnam 2014; Teh *et al.* 2016; Cheng *et al.* 2018), tiene sentido que la MC y APR presentaran disminución de los TG.

4.6 Concentraciones de glucosa

Respecto a los niveles glucémicos no se detectó interacción significativa entre EF y FGS. Al evaluar los factores individualmente se identificó una tendencia al aumento de esta variable en el tratamiento que incluyó únicamente APR (**Figura 5**), y en los que realizaban ejercicio físico. Previamente, investigaciones habían mostrado que la práctica de natación tendía a elevar los niveles de glucosa en la sangre (Rivera *et al.* 2016; Nogueira *et al.* 2017), lo cual puede atribuirse al aumento de movilización del glucógeno hepático y muscular que favorece el desempeño en el ejercicio físico. Este hecho también podría explicarse en que el EF conlleva a una remoción de ácidos grasos libres en el plasma sanguíneo (NEFAs por sus siglas en inglés) generando resistencia a la insulina al bloquear el receptor de esta e inhibir la translocación de los transportadores de glucosa, dando como efecto una disminuida captación de esta (Sampaio *et al.* 2003; Ochiai *et al.* 2009).



MC: Manteca de cacao; APR: Aceite de palma rojo; EF: Ejercicio físico

Figura 5. Concentraciones séricas de glucosa a los 30 y 60 días

El alza en el nivel de glucosa en sangre para el grupo sedentario al que se suministró APR guarda relación con lo ocurrido en otros estudios (Ghosh *et al.* 2004; Bačová *et al.* 2012; Bačová *et al.* 2016), donde los grupos de ratas suministradas con APR presentaban mayores niveles de glucosa en comparación a otros grupos. Con anterioridad se ha aseverado que la alimentación con aceite de palma reduce los sitios de unión de baja afinidad del receptor de insulina, efecto atribuido a su composición de ácidos grasos; el tipo de grasa dietética suministrada podría configurar la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos en diversos tejidos del cuerpo (Van Amelsvoort *et al.* 1986). En lo referente a los efectos particulares de la MC, se observó que los niveles de glucosa en sangre disminuyeron ligeramente; ello podría vincularse con el alto contenido del ácido oleico en esta fuente, que por su posición en los TG (sn-2) y su alta tasa de conversión a partir del ácido esteárico tiene un impacto favorable sobre la sensibilidad a la insulina y la captación de la glucosa (Palomer *et al.* 2018; Cheng *et al.* 2018).

4.7 Adiposidad y peso del hígado

La información sobre la adiposidad y peso de hígado se detalla en el **Cuadro 8** y el **Anexo XI**. No se encontró interacción significativa ($P > 0.05$) en la distribución de grasa almacenada de forma localizada, ni en la deposición de grasa total en torno a FGS y EF. No obstante, el análisis individual de los factores reveló que la adiposidad a nivel dorso-lumbar, epididimal, retroperitoneal y por grasa total era significativamente menor en los grupos que tuvieron las sesiones de natación ($P < 0.05$) (**Figura 6**).

Si bien algunas investigaciones parecen no coincidir con el hecho suficientemente probado que el ejercicio contribuye a la reducción del tejido adiposo según su proximidad anatómica al músculo de trabajo (Oscai 1979; Lehnig *et al.* 2019), el estudio actual tuvo un efecto positivo frente a esta premisa, datos que concuerdan con los trabajos de Wu *et al.* (2015) y Endlich *et al.* (2013) que aducen que la deposición del tejido adiposo en diversas zonas del cuerpo de ratas tiende a reducirse con la práctica de natación. Aun así, no se descarta que la lipólisis consecuente al entrenamiento con ejercicio esté relacionada a otros factores, tales como las variaciones del perfil de expresión génica que están vinculadas con la oxidación de ácidos grasos y metabolismo de la glucosa (Lehnig *et al.* 2019).

Cuadro 8. Adiposidad y peso del hígado al término de la Fase II

T*	FGS*	EF*	DL	ING	ABD	EPI	PR	RPT	GT	PHI
1	3.5 % MC	S	4.54	2.72	1.96	6.98	2.14	4.64	24.97	13.57
2	3.5 % MC	N	3.81	2.45	1.47	5.62	1.83	3.95	20.97	14.43
3	3.5 % APR	S	5.60	2.99	1.99	7.88	2.27	5.17	28.92	14.95
4	3.5 % APR	N	3.84	2.18	1.32	6.07	1.74	3.87	21.15	13.96
Efecto de FGS		MC	4.18	2.58	1.71	6.30	1.99	4.30	22.97	14.00
		APR	4.72	2.59	1.66	6.97	2.00	4.52	25.04	14.46
Efecto del EF		S	5.0 ^b	2.86	1.98	7.43 ^b	2.21	4.91 ^b	26.9 ^b	14.26
		N	3.8 ^a	2.31	1.39	5.84 ^a	1.79	3.91 ^a	21.0 ^a	14.20
Probabilidad										
FGS			0.257	0.987	0.869	0.322	0.955	0.58	0.367	0.634
EF			0.015	0.097	0.110	0.027	0.170	0.020	0.016	0.945
FGS*EF			0.283	0.393	0.788	0.737	0.705	0.453	0.410	0.344

ab: Letras distintas como superíndices dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$). *T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% Manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de palma rojo (APR) + S; T4: DO+3.5% de APR + N. Fuente de grasa saturada (FGS); Ejercicio físico (EF).

En lo que respecta al peso del hígado no se halló interacción significativa ($P > 0.05$) concurrente a los factores FGS y EF. De igual manera no hubo variaciones en el peso de la masa hepática ante los factores individuales. En coherencia, otros estudios han constatado que tanto la MC (Yildirim *et al.* 2014) como el APR (Djohan *et al.* 2018) tienen un efecto neutral en el peso hepático. En relación al EF, contrastando con otros trabajos en que ratas presentaban cambios en el peso del hígado ante la práctica de natación (Estadella *et al.* 2004; Dallak 2017), la presente investigación no reportó variabilidad en el peso del hígado de las ratas.

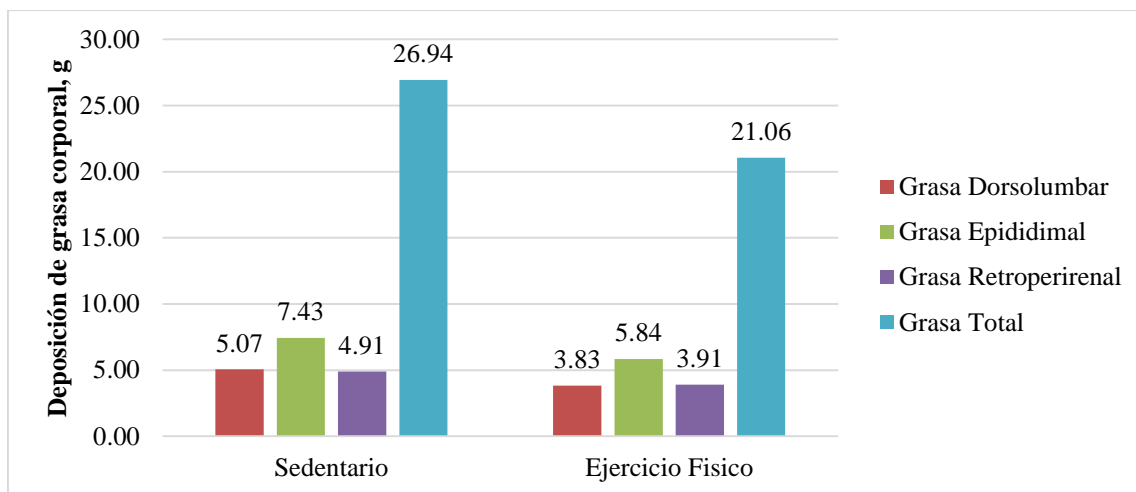


Figura 6. Adiposidad total y localizada a los 60 días

4.8 Biomarcadores del sistema antioxidante

El **Cuadro 9** y el **Anexo XII** muestran los resultados sobre la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas (SOD y CAT) y del GSH en el hígado de los animales al finalizar el experimento. No se encontró efecto sinérgico a un nivel de significancia ($P > 0.05$) de los factores EF y FGS en los indicadores de actividad antioxidante evaluados.

Al observar los efectos particulares de cada intervención en relación a las FGS, se aprecia que en comparación con la MC el APR tenía actividad ligeramente mayor de SOD y GSH, sin embargo dichas diferencias no resultan estadísticamente relevantes. Con anterioridad han sido acreditadas las propiedades del APR sobre el estrés oxidativo (Ayeleso *et al.* 2014; Mba *et al.* 2015), este se compone de antioxidantes no enzimáticos (α - y β -caroteno, licopeno, tocoferoles, tocotrienoles, coenzima Q10), fitonutrientes que tienen actividad antioxidante. De la misma manera la MC es rica en polifenoles, flavonoides y vitamina E (Cheng *et al.* 2018), que tienen impacto favorable sobre la homeostasis redox. Interpretar los datos de forma directa llevaría a pensar que el APR tiene mayor potencial antioxidante que la MC, pero surge una explicación alternativa si se considera que al ingresar una gran cantidad de antioxidantes estos se encargan de la desintoxicación de las ROS, restando la necesidad de activar la defensa antioxidante inherente del cuerpo (Saxena *et al.* 2014); ello sugiere que la fuente que presente menores concentraciones de compuestos antioxidantes endógenos sería aquella en que los antioxidantes no enzimáticos tuvieron mayor cobertura de las funciones atenuantes de los ROS, que en este caso sería la MC.

Por lo antes expuesto, la influencia de la actividad biológica de ambas fuentes en los resultados presentados no debe ser desestimada.

Cuadro 9. Actividad enzimática antioxidante en hígado al término de la Fase II

T*	FGS*	EF*	GSH	GSH/GSSG	SOD	CAT
1	3.5 % MC	S	92.31	5.34	27.63	0.963
2	3.5 % MC	N	85.77	1.21	19.96	0.760
3	3.5 % APR	S	109.43	6.33	26.56	0.840
4	3.5 % APR	N	78.01	2.47	24.21	0.839
Efecto de FGS		MC	89.04	3.28	23.80	0.862
		APR	93.72	4.40	25.38	0.839
Efecto del EF		S	100.87	5.84	27.09	0.901
		N	81.89	1.84	22.09	0.799
Probabilidad						
FGS			0.844	0.745	0.580	0.885
EF			0.277	0.266	0.107	0.514
FGS*EF			0.622	0.969	0.362	0.519

ab: Letras distintas como superíndices dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$). *T1: Dieta obesogénica (DO) + 3.5% Manteca de cacao (MC) + Sedentario (S); T2: DO + 3.5% de MC + Natación (N); T3: DO + 3.5% de Aceite de palma rojo (APR) + S; T4: DO+3.5% de APR + N. Fuente de grasa saturada (FGS); Ejercicio físico (EF).

En torno a los grupos con tratamiento de natación se halló que la actividad de SOD, CAT, y GSH presentaba menores magnitudes que en los grupos sedentarios, diferencias sin relevancia estadística. Estos datos son controvertidos pues objetan la premisa que la práctica de ejercicio físico tenga la capacidad de incrementar la producción de estos compuestos antioxidantes; supuesto que cuenta con solidez teórica y empírica (Lima *et al.* 2013; Haghani *et al.* 2016; Zacarias *et al.* 2017; Costa *et al.* 2018). Una razón para el decremento del nivel de actividad antioxidante en el entrenamiento con natación podría estar en el hecho que el ejercicio físico, más aun el de tipo aeróbico, aumenta el consumo de oxígeno (VO_2) y proporcionalmente la formación de ROS, resultando en la activación del sistema de defensa biológica que de acuerdo a la intensidad, frecuencia y duración del ejercicio podría llevar al agotamiento de la reserva de antioxidantes (Kihlström *et al.*

1989; Ji 1999). En la misma línea, Saxena *et al* (2014) aseguran que en condiciones de mayor estrés oxidativo el GSH dona equivalentes reductores a las ROS, generando la oxidación del glutatión (GSSG), y en efecto, disminuyendo la relación GSH/GSSG. Tales juicios afianzan el hecho que ante el factor EF, la proporción GSH/GSSG era menor en el presente estudio. Parece ser que a pesar que la MC y APR cuentan con propiedades antioxidantes su administración no logró atenuar el daño oxidativo inducido por la dieta obesogénica en los tratamientos con ejercicio aeróbico.

La información presentada no es irrefutable; cada fuente cuenta con propias características y las diferencias aparentemente leves en su composición, variación y estructura, se traducen en diferencias cruciales en forma y función. Todo ello deja entrever que las relaciones entre la FGS y el EF son más complejas de lo que se planteaba al iniciar esta investigación. Se espera que este trabajo brinde información útil que contribuya a construir una nueva óptica en torno a los ácidos grasos saturados y en la comprensión de la génesis de enfermedades relacionadas al estilo de vida que enfrentan los humanos modernos.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó esta investigación se concluye que:

- 1 La ingesta de las fuentes de grasa saturada manteca de cacao y aceite de palma rojo en combinación con el ejercicio físico no tuvo efecto significativo sobre las variables estrés oxidativo, bioquímica sérica y adiposidad.
- 2 Existe interacción significativa entre los factores ejercicio físico y fuente de grasa saturada respecto a la variable circunferencia torácica, mostrando una disminución significativa en el tratamiento que incluía aceite de palma rojo y natación
- 3 Las concentraciones de HDL-C en sangre se vieron afectadas ante la práctica de ejercicio físico, mostrando un aumento con significancia estadística en los grupos que realizaron las sesiones de natación.
- 4 El ejercicio físico afectó significativamente la adiposidad subcutánea y visceral de diferentes regiones corporales, viéndose una disminución de la deposición de grasa dorso-lumbar, epididimal, retroperirenal y de la grasa total en los grupos ejercitados con natación.
- 5 Las fuentes de grasa saturada estudiadas tienen diferentes efectos sobre el metabolismo de la glucosa, viéndose menor tendencia al incremento de las concentraciones séricas de glucosa en los grupos alimentados con manteca de cacao que en los grupos alimentados con aceite de palma rojo.

VI. RECOMENDACIONES

En concordancia a lo hallado en esta investigación se propone lo siguiente:

- Evaluar el comportamiento de los ácidos grasos saturados en relación a la expresión de genes implicados en la regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos.
- Realizar estudios que evalúen la performance de las fuentes de grasa saturada, y sus posibles efectos sobre el tamaño de las partículas de las LDL.
- Analizar los efectos del ejercicio físico sobre las concentraciones de ácidos grasos libres, y su relación con la resistencia a la insulina.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAFIZ, A. H.; SINCLAIR, A.J. 2015. Diabetes, nutrition, and exercise. Clinics in Geriatric Medicine, 31: 439-451.

ADEWALE, I.; ABIMBOLA, M.; MUSTAFA, M. 2019. Lifestyle interventions for non-alcoholic fatty liver disease. Saudi Journal of Biological Sciences.

AEBI, H. 1984. Catalase in vitro. Oxygen Radicals in Biological Systems, 121–126.

AGOSTONI, C.; MORENO, L.; SHAMIR, R. 2015. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Palmitic acid and health: Introduction. Universidad de Zaragoza, España.

AGUILA, M. B.; SA SILVA, S. P.; PINHEIRO, A. R.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. 2004. Effects of long-term intake of edible oils on hypertension and myocardial and aortic remodelling in spontaneously hypertensive rats. Journal of Hypertension, 22:921-929

AHRENS, E. H.; BLANKENHORN D. H.; TSALTAS, T. T. 1954. Effect on human serum lipids of substituting plant for animal fat in diet. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 86:872-878

AKINNUSI, M. E.; SALIBA, R.; PORHOMAYON, J.; ELSOLH A. A. 2012. Sleep disorders in morbid obesity. Eur J Intern Med., 23:219-226.

AL SAIF, A.; ALSENANY, S. 2015. Aerobic and anaerobic exercise training in obese adults. Journal of Physical Therapy Science, 27:1697-1700.

ANGÉLOCO, N.; RODRIGUES, L.; DEMINICE, R.; LEME, I. D. 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. Revista de Nutrição, 25:331-339.

APGAR, J. L.; SHIVELY, C. A.; TARKA JR, S. M. 1987. Digestibility of cocoa butter and corn oil and their influence on fatty acid distribution in rats. *The Journal of Nutrition*, 117:660-665.

ASTRUP, A. 2014. A changing view on saturated fatty acids and dairy: from enemy to friend *Am J Clin Nutr.*, 100:1407-8.

AYELESO, A.; BROOKS, N.; OGUNTIBEJU, O. 2014. Modulation of antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats following intake of red palm oil and/or rooibos. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7:536-544.

AYELESO, A. O.; OGUNTIBEJU, O. O.; BROOKS, N. L. 2012. Effects of dietary intake of red palm oil on fatty acid composition and lipid profiles in male Wistar rats. *African Journal of Biotechnology*, 11:8275-8279.

BAČOVÁ, B.; RADOŠINSKÁ, J.; VICZENCZOVA, C.; KNEZL, V.; DOSENKO, V.; BEŇOVA, T.; NAVAROVÁ, J.; GONÇALVESOVÁ, E.; VAN ROOYEN, J.; WEISMANN, P.; SLEZAK, J.; TRIBULOVÁ, N. 2012. Up-regulation of myocardial connexin-43 in spontaneously hypertensive rats fed red palm oil is most likely implicated in its anti-arrhythmic effects. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 90:1235-1245.

BAČOVÁ, B. S.; VINCZENZOVA, C.; ŽURMANOVÁ, J.; KAŠPAROVÁ, D.; KNEZL, V.; BEŇOVÁ, T. E.; PAVELKA, S.; SOUKUP, T.; TRIBULOVÁ, N. 2016. Altered thyroid status affects myocardial expression of connexin-43 and susceptibility of rat heart to malignant arrhythmias that can be partially normalized by red palm oil intake. *Histochemistry and cell biology*, 147:63-73.

BOTEZELLI, J. D.; CAMBRI, L. T.; GHEZZI, A. C.; DALIA, R. A.; M SCARIOT, P. P.; RIBEIRO, C.; VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M. A. 2011. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 3:35.

BRUCE, J.; SALTER, A. 1996. Metabolic fate of oleic acid, palmitic acid and stearic acid in cultured hamster hepatocytes. *Biochem. J.*, 316:847-852.

BURDEOS, G.; NAKAGAWA, K.; KIMURA, F.; MIYAZAWA, T. 2012. Tocotrienol Attenuates Triglyceride Accumulation in HepG2 Cells and F344 Rats. *Lipids*, 47: 471–481.

- CALIGIANI, A.; MARSEGLIA, A.; PALLA, G.** 2016. Cocoa: Production, chemistry, and use. *Encyclopedia of Food and Health*, 185-190.
- CARBONE, L.** 2014. Euthanasia and laboratory animal welfare. *Laboratory Animal Welfare*, 157-169.
- CARTEE, G. D.; HEPPLER, R. T.; BAMMAN, M. M.; ZIERATH, J. R.** 2016. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 23:1034-1047.
- CATTLEY, R. C.; CULLEN, J. M.** 2013. Liver and gall bladder. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*, 1509-1566.
- CHENG, C.; WANG, D.; XIA, H.; WANG, F.; YANG, X.; PAN, D., WANG, S.; YANG, L.; LU, H.; SHU, G.; HE, Y.; XIE, Y.; SUN, G.; YANG, Y.** (2018). A comparative study of the effects of palm olein, cocoa butter and extra virgin olive oil on lipid profile, including low-density lipoprotein subfractions in young healthy Chinese people. *International journal of food sciences and nutrition*, 70:355-366.
- CHOE, S. S.; HUH, J. Y.; HWANG, I. J.; KIM, J. I.; KIM, J. B.** 2016. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in endocrinology*, 7:30.
- CHOWDHURY, R.; STEUR, M.; PATEL, P. S.; FRANCO, O.H.** 2016. Individual fatty acids in cardiometabolic disease. *Handbook of Lipids in Human Function*, 207-318.
- CISNEROS, R.; ORÉ, R.; ARNAO, I.; SUÁREZ, S.** 2011. Relación de glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG) en ratas diabéticas tratadas con maca (*Lepidium meyenii* walp). Facultad de Medicina UNMSM. In *Anales de la Facultad de Medicina*, 72:107-111.
- COQUEIRO, R. S.; SOARES, T. J.; PEREIRA, R.; CORREIA, T. L.; COQUEIRO, D. O.; OLIVEIRA, M. V.; DE MAGALHÃES, A. M.** 2018. Therapeutic and preventive effects of exercise on cardiometabolic parameters in aging and obese rats. *Clinical Nutrition ESPEN*.
- 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*, 11:296-302.

COSTA-JUNIOR, M.; BARBOSA-RESENDE, W.; DE ARAÚJO, M. B.; DALIA, R. A.; DE MOURA, L. P.; DE MEDEIROS, L. A.; MOREIRA, L.; LUCIANO, E. 2018. Different protocols of physical training: effect on markers of oxidative stress in erythrocytes in rats. *Open Access Library Journal*, 5: 1.

CRUZ, A.; BARBOSA, M. A.; GUERRA-SÁ R; MENDES, U.G.; SILVA, F.; GERALDO, W.; CARDOSO, L. M.; SOUZA, R. A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; CARVALHO, A. 2017. Swimming training induces liver adaptations to oxidative stress and insulin sensitivity in rats submitted to high-fat diet. *Redox Report*, 1-9.

DALLAK, M. A. 2017. Suppression of high fat diet-induced liver cell injury by swim exercise. *Int. J. Morphol.*, 36:327-332.

DA ROCHA, G. L.; CRISP, A. H.; DE OLIVEIRA, R. M.; DA SILVA, C. A.; SILVA, J. O.; DUARTE, A. O.; SENE-FIORESE, M.; VERLENGIA, R. 2016. Effect of high intensity interval and continuous swimming training on body mass adiposity level and serum parameters in high-fat diet fed rats. Hindawi Publishing Corporation *The Scientific World Journal*.

DA SILVA PEREIRA, A.; ROVERATTI VSPAGNOL, A.; LUCIANO, E.; DE ALMEIDA LEME, C.; ALEXANDRE, J. 2016. Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats. *Revista da educação física/uem*, 27.

DAUQAN, E.; SANI, H. A.; ABDULLAH, A.; KASIM, Z. M. 2011. Effect of different vegetable oils (red palm olein, palm olein, corn oil and coconut oil) on lipid profile in rat. *In Food Nutr. Sci*, 2:253-258.

DE CLERCQ, N. 2011. Changing the functionality of cocoa butter (Tesis doctoral, Ghent University).

DELISLE, H. 2017. The nutritional value of red palm oil. *In Achieving sustainable cultivation of oil palm*, 217-231.

DEVI, K.; FATTEPUR, S.; KOCHIKUZHYIL, B. 2010. Effect of saturated fatty acid-rich dietary vegetable oils on lipid profile, antioxidant enzymes and glucose tolerance in diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 42:142

DIAS, C. B.; GARG, R.; WOOD, L. G.; GARG, M. L. 2014. Saturated fat consumption may not be the main cause of increased blood lipid levels. *Medical Hypotheses*, 82:187-195.

DINICOLANTONIO J. J.; LUCAN S. C.; O'KEEFE J. H. 2016. The evidence for saturated fat and for sugar related to coronary heart disease. *Prog Cardiovasc.*, 58:464-472.

DINICOLANTONIO, J. J.; O'KEEFE, J. H. 2018. Effects of dietary fats on blood lipids: a review of direct comparison trials. *Open Heart*, 5.

DI PIETRO, N.; FORMOSO, G.; PANDOLFI, A. 2016. Physiology and pathophysiology of oxLDL uptake by vascular wall cells in atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, 84:1-7

DREON, D. M.; FERNSTROM, H. A.; CAMPOS, H.; BLANCHE, P.; WILLIAMS, P. T.; KRAUSS, R. M. 1998. Change in dietary saturated fat intake is correlated with change in mass of large low-density-lipoprotein particles in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67:828–836.

DREON, D. M.; FERNSTROM, H. A.; WILLIAMS, P. T; KRAUSS, R. M. 2000. Reduced LDL particle size in children consuming a very-low-fat diet is related to parental LDL-subclass patterns. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71:1611-1616

ENDLICH, P. W.; CLAUDIO, E. R. G.; DA SILVA, W. L.; GOUVÊA, S. A.; MOYSÉS, M. R.; DE ABREU, G. R. 2013. Swimming training prevents fat deposition and decreases angiotensin II-induced coronary vasoconstriction in ovariectomized rats. *Peptides*, 47:29-35.

ENNS, G. M.; COWAN T. M. 2017. Glutathione as a redox biomarker in mitochondrial disease-implications for therapy. *Journal of Clinical Medicine*, 6.

EUROPEAN JOURNAL OF INTERNAL MEDICIN. 2018. *European Journal of Internal Medicine*. Elsevier B.V.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2010. *Fats and fatty acids in human nutrition Report of an expert consultation*. 91.

- FATTORE, E.; BOSETTI, C.; BRIGHENTI, F.; AGOSTONI, C.; FATTORE, G.** 2014. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. *Am J Clin Nutr*, 99:1331-1350
- FRIDOVICH, I.** 2013. Superoxide Dismutase. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 352-354.
- GABRIEL, B. M.; Y ZIERATH, J. R.** 2017. The limits of exercise physiology: from performance to health. *Cell Metabolism*, 25:1000-1011.
- GAGEA-IURASCU, M.; CRAIG, S.** 2012. Euthanasia and necropsy. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, 117-139.
- GEBICKA, L.; KRYCH-MADEJ, J.** 2019. The role of catalases in the prevention /promotion of oxidative stress. *Journal of Inorganic Biochemistry*.
- GERBAIX, M.; METZ, L.; RINGOT, E.; COURTEIX, D.** 2010. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy x-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. *Lipids in Health and Disease*, 9.
- GERMAN, J. B.; DILLARD, C. J.** 2004. Saturated Fats: What Dietary Intake? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80:550-559.
- GHOSH, S.; AN, D.; PULINILKUNNIL, T.; QI, D.; LAU, H.; ABRAHANI, A.; INNIS, S.; RODRIGUES, B.** 2004. Role of dietary fatty acids and acute hyperglycemia in modulating cardiac cell death. *Nutrition*, 20:916-923.
- GLOBAL BURDEN OF DISEASE 2015 COLABORATORS.** 2017. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med.*, 377:13-27.
- GOFMAN, J.** 1956. Serum lipoproteins and the evaluation of atherosclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 64:590-595.
- GOFMAN, J.; HANIG, M.; JONES, H.; LAUFFER, M.; LAWRY, E.; LEWIS, L.; MANN, G.; MOORE, F.; OLMSTED, F.; YEAGER, J.; ANDRUS, E.; BARACH, J.; BEAMS, J.; FERTING, J.; LAUFFER, M.; PAGE, P.; WHITE, P.** 1956. Evaluation of serum lipoprotein and cholesterol measurements as predictors of clinical complications of atherosclerosis: report of a cooperative study of lipoproteins and atherosclerosis. *Circulation*, 14:689-741.

GOFMAN, J.; LINDGREN, F.; ELLIOTT, H.; MANTZ, W.; HEWITT, J.; STRISOWER, B.; HERRING, V.; LYON, T. 1950. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science*, 111:166-186.

GORADEL, H. H.; EGHBAL, M. A.; DARABI, M.; ROSHANGAR, L.; ASADI, M.; ZARGHAMI, N.; NOURI, M. 2016 Improvement of liver cell therapy in rats by dietary stearic acid. *Iranian Biomedical Journal*, 20:217-222.

GRASSI, D.; FERRI, C. 2014. Cocoa, flavonoids and cardiovascular protection. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 1009-1023.

GREAVES, P. 2012. Liver and pancreas. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*, 433-535.

GRIEL, A. E.; KRIS-ETHERTON, P. M. 2006. Beyond saturated fat: the importance of the dietary fatty acid profile on cardiovascular disease. *Nutrition Reviews*, 64:257-262.

GUARALDO, S. A.; SERRA, A. J.; AMADIO, E. M.; ANTÔNIO, E. L.; SILVA, F.; PORTES, L. A.; FERREIRA, P. J.; PINTO, E. C.; DE TARSO CAMILLO, P. 2016. The effect of low-level laser therapy on oxidative stress and functional fitness in aged rats subjected to swimming: an aerobic exercise. *Lasers Med Sci*.

GVOZDJAKOVA, A.; SINGH, R.; SINGH, R. B.; TAKAHASHI, T.; FEDACKO, J.; HRISTOVA, K.; MOJTO, V. 2019. Cocoa consumption and prevention of cardiometabolic diseases and other chronic diseases. *The Role of Functional Food Security in Global Health*, 317-345.

HAGHANI, K.; BAKHTIYARI, S.; DOOST MOHAMMADPOUR, J. 2016. Alterations in plasma glucose and cardiac antioxidant enzymes activity in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of *Trigonella Foeniculum* extract and swimming training. *Canadian Journal of Diabetes*, 40:135-142.

HARCOMBE, Z. 2018. Us dietary guidelines: is saturated fat a nutrient of concern? . *Br J Sports Med*, 1-4.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. 2010. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, 23: 270-299.

- HASHEMI, N.; EGHBAL, M. A.; DARABI, M.; ROSHANGAR, L.; ASADI, M.; ZARGHAMI, N.; NOURI, M.** 2016. Improvement of liver cell therapy in rats by dietary stearic acid. *Iranian biomedical journal*, 20:217-222.
- HEYMSFIELD, S. B; WADDEN, T. A.** 2017. Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. *N Engl J Med.*, 376:254-266.
- HINTON, J; MAHMOUDI, M.** 2018. The role of exercise in cardiac disorders. *medicine*, 46:516-519
- HOCHBERG, Z.** 2018. An evolutionary perspective on the obesity epidemic. *TEM.*, 1350:1-8.
- HOOPER, L.; SUMMERBELL, C. D.; THOMPSON, R.; SILLS, D.; ROBERTS, F. G.; MOORE, H.; SMITH, G. D.** 2011. Reduced or modified dietary fat for preventing cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7.
- IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A.** 2017. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*.
- IMOISI, O. B.; ILORI, G. E.; AGHO, I.; EKHATOR, J. O.** 2015. Palm oil, its nutritional and health implications. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 19:127-133.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA.** 2015. Perú: enfermedades no transmisibles y transmisibles, 2014. Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2015-05330, 145.
- Ji, L. L.** 1999. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222:283-292.
- JORIS, P. J.; MENSINK, R. P.** 2016. Effect of dietary fatty acid intake on cardiovascular disease. *Functional Dietary Lipids*, 177-191.
- KAMISAH, Y.; ADAM, A.; NGAH, W. W.; GAPOR, M. T.; AZIZAH, O.; MARZUKI, A.** 2005. Chronic intake of red palm olein and palm olein produce beneficial effects on plasma lipid profile in rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4: 89-96.

- KAMSAH, J.; AZIZ, S. N.; SIEW, S. T.; ZAHIR, I. S.** 2001. Changes in serum lipid profile and malondialdehyde following consumption of fresh or heated red palm oil. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 14:79-86.
- KARRI, S.; SHARMA, S.; HATWARE, K.; PATIL, K.** 2019. Natural anti-obesity agents and their therapeutic role in management of obesity: A future trend perspective. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110:224-238.
- KATZ, D. L.; DOUGHTY, K.; ALI, A.** 2011. Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15:2779-2811.
- KENAR, J. A.; MOSER, B. R.; LIST, G. R.** 2017. Naturally occurring fatty acids. *Fatty Acids*, 23-82.
- KEYS, A.** 1951. Cholesterol, giant molecules, and atherosclerosis. *Journal of the American Medical Association*, 147:1514-1519.
- KEYS, A.; ANDERSON, J. T.; FIDANZA, F.; KEYS, M. H.; SWAHN, B.** 1955. Effects of diet on blood lipids in man; particularly cholesterol and lipoproteins. *Clin. Chem.*, 1:34-52.
- KEYS, A.; ANDERSON, A.; GRANDE, F.** 1965. Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. From Laboratory of Physiological Hygiene. University of Minnesota, Minneapolis. Minnesota. *Metabolism*, 14.
- KEYS, A.; FIDANZA, F.; SCARDI, V.; BERGAMI, G.; KEYS, M.H.; DI LORENZO, F.** 1954. Studies on serum cholesterol and other characteristics of clinically healthy men in naples. *AMA Arch. Intern. Med.*, 93:328-336.
- KEYS, A.; MICKELSEN, O.; MILLER, O.; CHAPMAN, C.** 1950. The relation in man between cholesterol levels in the diet and in the blood. *Science*, 112:79-81.
- KEYS, A.; TAYLOR, H. L.; BLACKBURN, H.; BROZEK, J.; ANDERSON, J. T.; SIMONSON, E.** 1963. Coronary heart disease among Minnesota business and professional men followed fifteen years. *Circulation*, 3:381-395.
- KHOSLA, I.; KHOSLA G.** 2017. Saturated fats and cardiovascular disease risk: a review. *Journal of Clinical and Preventive*.

- KIHLSTRÖM, M.; OJALA, J.; SALMINEN, A.** 1989. Decreased level of cardiac antioxidants in endurance-trained rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, 135:549-554.
- KIKKAWA, K.; NAKAJIMA, K.; SHIMOMURA, Y.; TOKITA, Y.; MACHIDA, T.; SUMINO, H.; MURAKAMI, M.** 2015. Small dense LDL cholesterol measured by homogeneous assay in Japanese healthy controls, metabolic syndrome and diabetes patients with or without a fatty liver. *Clinica Chimica Acta.*, 438:70-79.
- KODAMA, S.** 2007. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol. *Archives of Internal Medicine*, 167.
- KOHL, H. W.; CRAIG, C. L.; LAMBERT, E. V.; INOUE, S.; ALKANDARI, J. R.; LEETONGIN, G.; KAHLMEIER, S.** 2012. The pandemic of physical inactivity: global action for public health. *The Lancet*, 380:294-305.
- KOUSHKI, M.; NAHIDI, M.; CHERAGHALI, F.** 2015. Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil. *Journal of Paramedical Sciences*, 6:117-134.
- KRAUSS, R. M.; BLANCHE, P. J.; RAWLINGS, R. S.; FERNSTROM, H. S.; WILLIAMS, P. T.** 2006. Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83:1025-1031
- KRITCHEVSKY, D.** 1994. Stearic acid metabolism and atherogenesis: history. *The American journal of clinical nutrition*, 60:997-1001.
- KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; BISES, G.; KLURFELD, D. M.** 1982. Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. *Atherosclerosis*, 41:279-284.
- KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; LLOYD L. M.; DAVIDSON L. M.; KLURFELD, D. M.** 1988. Serum and liver lipids of rats fed cocoa butter, corn oil, palm kernel oil, coconut oil and cholesterol. *Nutrition Research*, 8:287-29.
- KÜHN, J.; SCHRÖTER, A.; HARTMANN, B. M.; Y STANGL, G. I.** 2018. Cocoa and chocolate are sources of vitamin D 2. *Food Chemistry*, 269:318-320.
- KUMAWAT, M.; PAHWA, M. B.; GAHLAUT, V. S.; SINGH, N.** 2009. Status of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus with microvascular complications. *Open Endocrinol J.*, 3:12-15.

KUSHNER, R. F. 2018. Healthy weight and obesity prevention. *Journal of the American College of Cardiology*, 72:1506-1531.

LACHANCE, P. A.; FISHER, M. C. 2005. Reinvention of the food guide pyramid to promote health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 49:1043-4526.

LAMARCHE, B.; COUTURE, P. 2014. It is time to revisit current dietary recommendations for saturated fat. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 39:1409-1411.

LAROCCA, T. J.; MARTENS, C. R.; SEALS, D. R. 2017. Nutrition and other lifestyle influences on arterial aging. *Ageing Research Reviews*, 39:106-119.

LAVIE, C. J.; ARENA, R.; ALPERT, M. A.; MILANI, R. V.; VENTURA, H. O. 2018. Management of cardiovascular diseases in patients with obesity. *Nat Rev Cardiol.*, 15:45-56.

LAVIE, C. J.; LADHU, D.; ARENA R.; ORTEGA, F. B.; ALPERT, M. A.; KUSHNER, R. F. 2018. Healthy weight and obesity prevention. [72:1506-1531.](#)

LAZAR, J. M.; KHANNA, N.; CHESLER, R.; SALCICCIOLI, L. 2013. Swimming and the heart. *International Journal of Cardiology*, 168:19-26.

LEE, M. O. 1929. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am. J. Physiol.*, 89:24-33.

LEHNIG, A. C.; DEWAL, R. S.; BAER, L. A.; KITCHING, K. M.; MUNOZ, V. R.; ARTS, P. J.; SINDELDECKER, D. A.; MAY, F. J. LAURITZEN, H. P.; GOODYEAR, L. J.; STANFORD, K. I. 2019. Exercise Training Induces Depot-Specific Adaptations to White and Brown Adipose Tissue. *iScience*.

LIMA, F. D.; STAMM, D. N.; DELLA-PACE, I. D.; DOBRACHINSKI, F.; DE CARVALHO, N. R.; ROYES, L. F. F.; BRESCIANI, G. 2013. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *Plos One*, 8.

LOGANATHAN, R.; SUBRAMANIAM, K. M.; RADHAKRISHNAN, A. K.; CHOO, Y. M.; TENG, K. T. 2017. Health-promoting effects of red palm oil: evidence from animal and human studies. *Nutrition Reviews*, 75:98-113

- LORDAN, R.; TSOUPRAS, A.; ZABETAKIS, L.** 2019. The lipid hypothesis and the seven countries study, Cap. 4.
- LU, Y.; LI, H.; SHEN, S.W.; SHEN, Z.H.; XU, M.; YANG, C.; LI, F.; FENG, Y.; YUNG, J.; WANG, L.; QI, H.** 2016. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high fat diet fed Wistar rats. *Lipids in Health and Disease*, 15.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L.** 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79:727-747.
- MANCINI, A.; IMPERLINI, E.; NIGRO, E.; MONTAGNESE, C.; DANIELE, A.; ORRU, S.; BUONO, P.** 2015. Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: effects on health. *Molecules*, 20:17339-17361
- MALHOTRA, J.; TONOREZOS, E. S.; ROZENBERG, M.; VEGA, G. L.; SKLAR, C. A.; CHOU, J.; OEFFINGER, K. C.** 2012. Atherogenic low-density lipoprotein phenotype in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Lipid Research*, 53:2747-2754.
- MARANGONI, F.; GALLI, C.; GHISELLI, A.; LERCKER, G.; LA VECCHIA, C.; MAFFEIS, C.; POLI, A.** 2017. Palm oil and human health. Meeting report of NFI: Nutrition Foundation of Italy symposium. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68:643-655.
- MARKLUND, S.; MARKLUND, G.** 1974. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47: 469–474.
- MARTÍNEZ, M.; ANDRÉS, D.; ZUBILLAGA M.** 2006. Conceptos actuales del metabolismo del glutatión. Utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 40:45-51.
- MAY, C. Y.; NESARETNAM, K.** 2014. Research advancements in palm oil nutrition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116:1301-1315.
- MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M.** 2015. Palm oil: processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *Food Bioscience*, 10:26-41.

MCGUIRE, S. 2016. Scientific report of the 2015 dietary guidelines advisory committee. Washington, DC: US Departments of Agriculture and Health and Human Services, 2015. American Society for Nutrition. *Adv Nutr.*, 7:202-204.

MCKINNEY, J.; LITHWICK, D. J.; MORRISON, B. N.; NAZZARI, H.; ISSEROW, S. H.; HEILBRON, B.; KRAHN, A. D. 2016. The health benefits of physical activity and cardiorespiratory fitness. *British Columbia Medical Journal*, 58:131-137.

MENOTTI, A.; LANTI, M.; KROMHOUT, D.; BLACKBURN, H.; NISSINEN, A.; DONTAS, A.; KAFATOS, A.; NEDELJKOVIC, S.; ADACHI, H. 2007. Forty-year coronary mortality trends and changes in major risk factors in the first 10 years of follow-up in the seven countries study. *Eur. J. Epidemiol*, 22:747-754.

MENSINK, R. P. 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids*, 40:1201-1205.

MENSINK, R. P.; ZOCK, P. L.; KESTER, A. D.; KATAN, M. B. 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77:1146-1155.

MENTE, A.; DE KONING, L.; SHANNON, H. S.; ANAND S. S. 2009. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med.*, 169:659-669.

MOGHADASIAN, M. H.; SHAHIDI, F. 2017. Fatty acids. *International Encyclopedia of Public Health*, 3:114-122.

MONSMA, C.; GALLAHER, D.; NEY, D. M. 1996. Reduced digestibility of beef tallow and cocoa butter affects bile acid excretion and reduces hepatic esterified cholesterol in rats. *The Journal of Nutrition*, 126:2028-2035.

MORO, E. 2016. The Mediterranean diet from Ancel Keys to the UNESCO Cultural Heritage. A pattern of sustainable development between myth and reality. *Procedia Soc. Behav. Sci.*, 223:655-661.

MOZAFFARIAN, D. 2011. The great fat debate: taking the focus off of saturated fat. *Journal of the American Dietetic Association*, 111:665-666.

MOURELLE, A. C.; HERRERO, E.; RICCA, M. 2013. Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. Spei Domus, 9.

MURTAGH, E. M.; NICHOLS, L.; MOHAMMED, M. A.; HOLDER, R.; NEVILL, A. M.; MURPHY, M. H. 2015. The effect of walking on risk factors for cardiovascular disease: An updated systematic review and meta-analysis of randomised control trials. Preventive Medicine, 72:34-43.

NACI, H.; SALCHER-KONRAD, M.; DIAS, S.; BLUM, M. R.; SAHOO, S. A.; NUNAN, D.; IOANNIDIS, J. P. 2018. How does exercise treatment compare with antihypertensive medications? A network meta-analysis of 391 randomised controlled trials assessing exercise and medication effects on systolic blood pressure. Br J Sports Med, bjsports.

NAIK, B.; KUMARB, V. 2014. Cocoa butter and its alternatives: a review. Journal of Bioresource Engineering and Technology, 1:07-17.

NICHOLLS, P. 2012. Classical catalase: ancient and modern. Archives of Biochemistry and Biophysics, 525:95-101.

NIMSE, S.; PAL, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. Royal Society of Chemistry Advances, 5: 27986-28006.

NOGUEIRA, P. A. S.; PEREIRA, M. P.; SOARES, J. J. G.; NORTON FILHO, A. F.; TANIMOTO, I. M. F.; FONSECA, I. A. T.; OLIVEIRA, H.; VASCONCELOS, F.; ROEVER, L.; VIEIRA A. A.; ZANON, R. G. 2017. Physiological adaptations induced by swimming in mice fed a high fat diet. Journal of Exercise Rehabilitation, 13: 284.

NONATO, L. F.; ROCHA-VIEIRA, E.; TOSSIGE-GOMES, R.; SOARES, A. A.; SOARES, B. A.; FREITAS, D. A.; OLIVEIRA, M. X.; MENDONC, V. A.; LACERDA, A. C.; MASSENSINI, A. R.; LEITE, H. R. 2016. Swimming training attenuates oxidative damage and increases enzymatic but not non-enzymatic antioxidant defenses in the rat brain. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 49.

NORHAIZAN, M.; HOSSEINI, S.; GANGADARAN, S.; LEE, S.; KAPOURCHALI, F.; MOGHADASIAN, M. 2013. Palm oil: Features and applications. Lipid Technology, 25: 39 - 42.

- OCHIAI, M.; MATSUO, T.** 2009. Prolonged swimming exercise does not affect contents and fatty acids composition of rat muscle triacylglycerol. *Journal of Oleo Science*, 58:313-321.
- ODIA, O. J.** 2015. Palm oil and the heart: a review. *World Journal of Cardiology*, 7:144.
- OLABIYI, F. A.; OLATUNJI, O. I.; MAKINWA, T. T.; OGUNTIBEJU, O. O.** 2019. Palm oil and ground nut oil supplementation effects on blood glucose and antioxidant status in alloxan-induced diabetic rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 29:1-7.
- OLUBA, O. M.; ADEYEMI, O.; OJIEH, G. C.; ABOLUWOYE, C. O.; EIDANGBE, G. O.** 2008. Comparative effect of soybean oil and palm oil on serum lipids and some serum enzymes in cholesterol-fed rats. *European Journal of Scientific Research*, 23:559-566.
- OMAR, N. N.; EL HEFNAWY, M. H.; EL SODA, M. F.; HEIDER, N. M.; HAMED, H. I.** 2017. Assessment of oxLDL, anti-oxLDL antibodies and lipoprotein-associated phospholipase A2 as cardiovascular risk markers in obese adolescents with and without T1DM. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55:325-331.
- ONG, A. S. H.; GOH, S. H.** 2002. Palm oil: a healthful and cost-effective dietary component. *Food and nutrition bulletin*, 23:11-22.
- OPONDO, M. A; SARMA, S; LEVINE, B. D.** 2015. The cardiovascular physiology of sports and exercise. *Clinics in Sports Medicine*, 34:391-404.
- OROIAN, M.; ESCRICHE, I.** 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74:10–36.
- OSCAI, L. B.** 1979. Effect of acute exercise on tissue free fatty acids in untrained rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 57:485-489.
- PACKARD, C.; CASLAKE, M.; SHEPHERD, J.** 2000. The role of small, dense low-density lipoprotein (LDL): a new look. *International Journal of Cardiology*, 74:17-22.
- PALOMER, X.; PIZARRO-DELGADO, J.; BARROSO, E.; VÁZQUEZ-CARRERA, M.** 2018. Palmitic and oleic acid: the yin and yang of fatty acids in type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29:178-190.

- PATEL, H.; ALKHAWAM, H.; MADANIEH, R.; SHAH, N.; KOSMAS, C. E.; VITTORIO, T. J.** 2017. Aerobic vs anaerobic exercise training effects on the cardiovascular system. *World Journal of Cardiology*, 9.
- PATEL, K.; WATSON, R. R.** 2018. Chocolate and its component's effect on cardiovascular disease. *Lifestyle in Heart Health and Disease*, 255-266.
- PEKOW, C.; BAUMANS V.** 2002. Common nonsurgical techniques and procedures. En Hau, J. y Van Hoosier G. (Eds.), *Handbook in Laboratory Animal Science*, 1:351-390.
- PENO-MAZZARINO, L.** 2012. Cocoa polyphenols. Cocoa butter and related compounds, 63-71.
- PILLON, R.; FREIRE, L. F.; GONZALEZ-GALLEGO, J.; BRESCIANI, G.** 2017. Oxidative stress and inflammation: liver responses and adaptations to acute and regular exercise. *Free Radical Research*, 51:222-236.
- PISOSCHI, A.; POP, A.** 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97:55–74.
- RAVNSKOV, U.** 2008. The fallacies of the lipid hypothesis. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 42:236-239
- RIVERA, A. E.; MACÍAS, J. J.; OCHOA, P. E.; CASTELLANOS, A.** 2016. Respuesta de la glucosa sanguínea en el ejercicio físico máximo. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 63:79-81.
- RUIZ-NUÑEZ, B.; DIJCK-BROUWER, J.; MUSKIET, F.** 2016. The relation of saturated fatty acids with low-grade inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 36:1-20.
- RUSTAN, A. C.; DREVON, C. A.** 2005. Fatty acids: structures and properties. *Encyclopedia of Life Sciences*.
- SAMPAIO-BARROS, M.; FARIAS-SILVA, E.; GRASSI-KASSISSE, D.; SPADARI-BRATFISCH, R.** 2003. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. *Stress*, 6:127-132.

- SANTOS-PARKER, J. R.; LAROCCA, T. J.; SEALS, D. R.** 2014. Aerobic exercise and other healthy lifestyle factors that influence vascular aging. *Advances in Physiology Education*, 38:296-307
- SAXENA, S.; CHAWLA, S.; NIMEKAR, C.; SINGH, K.** 2014. Benefits of oral supplementation of red palm oil under hypobaric hypoxia in rats: an observational study. *int. j. pharm. Phytopharmacol. Res.*, 3:327-331.
- SCHULTE, D. M.; PAULSEN, K.; TÜRK, K.; BRANDT, B.; FREITAG-WOLF, S.; HAGEN, I.; LAUDES, M.** 2018. Small dense LDL cholesterol in human subjects with different chronic inflammatory diseases. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 1-6
- SEPASI-TEHRANI, H.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A.** 2018. Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*.
- SIRI-TARINO, P. W.; SUN, Q.; HU, F. B.; KRAUSS, R. M.** 2010. Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91:502-509.
- SHARMA, A. M.; CAMPBELL-SCHERER, D. L.** 2017. Redefining obesity: beyond the numbers. *The Obesity Society*, 25:1-2.
- SHEN, Y.; XU, X.; YUE, K.; XU, G.** 2015. Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obesity Biology and Integrated Physiology*, 23:1000-1006.
- SIES, H.** 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82:291–295.
- SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D.** 2017. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86: 715–748.
- SONG, A.; CHAO WANG, C.; REN, L.; ZHAO, J.** 2014. Swimming improves high-fat induced insulin resistance by regulating lipid and energy metabolism and the insulin pathway in rats. *International Journal of Molecular Medicine*, 33:1671-1679.
- STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L.** 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, 103:215-223.

STEWART, K. L. 2017. Common technical procedures in rodents. *Principles of Animal Research*, 177-198.

SUN, Y.; NEELAKANTAN, N.; WU, Y.; LOTE-OKE, R.; PAN, A.; VAN DAM, R.M. 2015. Palm oil consumption increases LDL Cholesterol compared with Vegetable Oils Low in Saturated Fat in a Meta-Analysis Of Clinical Trials. *J Nutr.*, 145:1549-1558.

SUNDRAM, K.; SAMBANTHAMURTHI, R.; TAN, Y. A. 2003. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr.*, 12:355-362.

SWAIN, D. P.; BRAWNER, C. A. 2014. American College of Sports Medicine. ACSM's resource manual for guidelines for exercise testing and prescription. *Human Movement Sciences Faculty Books*, 3.

TALBOT, G. 2011. Sources of saturated and other dietary fats. *Reducing Saturated Fats in Foods*, 47-76.

TALBOT, G. 2012. Chocolate and cocoa butter-structure and composition. *Cocoa Butter and Related Compounds*, 1-33.

TEH, S. S.; VOON, P. T.; NG, Y. T.; ONG, S. H.; ONG, A. S. H.; CHOO, Y. M. 2016. Effects of fatty acids at different positions in the triglycerides on cholesterol levels. *J. Oil Palm Res*, 28:211-221.

TESKEY, G.; ABRAHEM, R.; CAO, R.; GYURJIAN, K.; ISLAMOGLU, H.; LUCERO, M.; MARTINEZ A.; PAREDES, E.; SALAIZ O.; ROBINSON, B.; VENKETARAMAN, V. 2018. Glutathione as a marker for human disease. *Advances in Clinical Chemistry*.

TIMMERS, S.; DE VOGEL-VAN DEN BOSCH, J.; DE WIT, N.; SCHAART, G.; VAN BEURDEN, D.; HESSELINK, M.; SCHRAUWEN, P. 2011. Differential effects of saturated versus unsaturated dietary fatty acids on weight gain and myocellular lipid profiles in mice. *Nutrition and Diabetes*.

TRAN, T.; KAHN, C. 2010. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 6:195-213.

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES A. A.; POOS M. 2002. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *Journal of the American Dietetic Association*, 102:1621-1630

- TSOUPRAS, A.; LORDAN, R.; ZABETAKIS, I.** 2019. Cholesterol in atherosclerosis and cardiovascular disease: the role of specific dietary and lifestyle patterns, cap. 5.
- TVRZICKA, E.; KREMMYDA, L. S; STANKOVA, B.; ZAK, A.** 2011. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease-a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc, 155.
- VAN AMELSVOORT, J.; VAN DER BEEK, A.; STAM, J.** 1986. Effects of the type of dietary fatty acid on the insulin receptor function in rat epididymal fat cells. Annals of Nutrition and Metabolism, 30:273-280.
- VEGA, C.; KWIK-URIBE, C.** 2012. Theobroma cacao- an introduction to the plant, its composition, uses, and health benefits. Cocoa Butter and Related Compounds, 35-62.
- VINICIUS, P.; CARVALHO, N.; VICARI, M. R.; DE ALMEIDA, M. C.; FERREIRA, R.; MARINO, G.; GRASSIOLLI, S.; NOGAROTO, V.** 2015. Swim training and the genetic expression of adipokines in monosodium glutamate-treated obese rats. Archives of Endocrinology and Metabolism, 59:210-214
- VOLEK, J. S.; PHINNEY, S. D.; FORSYTHE, C. E.; QUANN, E. E.; WOOD, R. J.; PUGLISI, M. J.; FEINMAN, R. D.** 2008. Carbohydrate restriction has a more favorable impact on the metabolic syndrome than a low fat diet. Lipids, 44:297-309.
- WANG, D. D.; HU, F. B.** 2017. Dietary fat and risk of cardiovascular disease: recent controversies and advances. Annual review of nutrition, 37:423-446.
- WANG, Y.; XU, D.** 2017. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. Lipids in Health and Disease, 16.
- WARBURTON, D. R.; BREDIN, S. D.** 2017. Health benefits of physical activity. Current Opinion in Cardiology, 32:541-556.
- WIDJAJA, E. E.; NUGRAHA, G. I.; ADI, S. S.** 2019. The influence of coconut oil and palm oil on body mass index, abdominal circumference, and fat mass of Wistar male rats. eJournal Kedokteran Indonesia, 6.
- WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; KOTYLA, T.; SUNDRAM, K.; KRITCHEVSKY, D.** 2005. Different palm oil preparations reduce plasma cholesterol

concentrations and aortic cholesterol accumulation compared to coconut oil in hypercholesterolemic hamsters. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16:633–640.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2017. Obesity and overweight. Fact About Overweight and Obesity.

WU, H.; JIN, M.; HAN, D.; ZHOU, M.; MEI, X.; GUAN, Y.; LIU, C. 2015. Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: Regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 458:862-868.

YANAI, H.; TADA, N. 2018. Effects of consumption of various fatty acids on serum HDL-cholesterol levels. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, 8:94-99.

YANG, Q.; WANG, W. W.; MA P.; MA Z. X.; HAO, M.; ADELUSI, T. I.; LEI-DU, Y.; LU, Q. 2017. Swimming training alleviated insulin resistance through Wnt3a/ β -catenin signaling in type 2 diabetic rats. *Iran J Basic Med Sci.*, 20:1220-1226.

YILDIRIM, E.; ÇINAR, M.; YALÇINKAYA, E.; EKICI, H.; ATMACA, N.; GÜNCÜM, E. 2014. Effect of cocoa butter and sunflower oil supplementation on performance, immunoglobulin, and antioxidant vitamin status of rats. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International.

ZACARIAS, A. C.; BARBOSA, M. A.; GUERRA-SÁ, R.; DE CASTRO, U. M.; BEZERRA, F. S.; DE LIMA, W. G.; ALZAMORA, A. C. 2017. Swimming training induces liver adaptations to oxidative stress and insulin sensitivity in rats submitted to high-fat diet. *Redox Report*, 22:515-523.

ZAKI-KHALIL, R. M. A.; AL-AZAB, D. A. M.; AKL, O. A. 2017. Is sdLDL a valuable screening tool for cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome? *Alexandria Journal of Medicine*, 53:299-305.

ZHANG, J.; PING, W.; CHUNRONG, W.; SHOU, C. X.; KEYOU, G. 1997. Nonhypercholesterolemic effects of a palm oil diet in chinese adults. *The Journal of Nutrition*, 127:509S-513S.

ZHANG, H.; TSAO, R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8:33–42.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Perfil de ácidos grasos de MC y APR

INFORME DE ENSAYO N° 1-02345/18

Solicitante : FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO

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

Producto declarado : MANTECA DE CACAO

Cantidad de Muestras para el Ensayo : 1 muestra x 500 g.Muestra proporcionada por el solicitante

Forma de Presentación : En bolsa ziplock, cerrada y conservada a temperatura ambiente

Fecha de recepción : 2018 - 03 - 09

Fecha de inicio del ensayo : 2018 - 03 - 12

Fecha de término del ensayo : 2018 - 03 - 28

Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química - Cromatografía de Gases

Identificado con : H/S 18002656 (EXAI-03101-2018)

Validez del documento : Este documento es válido solo para las muestras descritas

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Ac. Araquidico(C20:0)	0,014	g/100 g de muestra	0,869
	Ac. Araquidónico(C20:4 (W 6))	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
	Ac. Behénico(C22:0)	0,019	g/100 g de muestra	< 0,019
	Ac. Butírico (C4:0)	0,097	g/100 g de muestra	< 0,097
	Ac. Capríco (C10:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Caprílico (C8:0)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
	Ac. Caproico(C6:0)	0,033	g/100 g de muestra	< 0,033
	Ac. cis-10 pentadecenoico(C15:1)	0,002	g/100 g de muestra	< 0,002
	Ac. cis-10-Heptadecenoico(C17:1)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Cis-11, 14, 17- Eicosatrienoico(C20:3 (w 3))	0,004	g/100 g de muestra	< 0,004
	Ac. Cis-11, 14-Eicosadienoico(C20:2)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
	Ac. Cis-11-Eicosenoico(C20:1)	0,011	g/100 g de muestra	< 0,011
	Ac. Cis-13, 16- Docosadienoico(C22:2)	0,012	g/100 g de muestra	< 0,012
	Ac. cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosahexaenoico(C22:6 (w3) DHA)	0,038	g/100 g de muestra	< 0,038
	Ac. cis-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoico(C20:5 (w 3) EPA)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
	Ac. Cis-8, 11, 14- Eicosatrienoico(C20:3 (w 6))	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. Eláidico (trans)(C18:1 (w 9 trans))	0,008	g/100 g de muestra	< 0,008
	Ac. Erucico(C22:1 (w 9))	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Estéarico(C18:0)	0,018	g/100 g de muestra	30,564
	Ac. Heneicosanoico(C21:0)	0,032	g/100 g de muestra	< 0,032
	Ac. Laurico (C12:0)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Lignocerico(C24:0)	0,026	g/100 g de muestra	< 0,026
Ac. Linoeláidico (trans)(C18:2 (w 6 trans))	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007	
Ac. Linoleico (C18:2 (w 6 cis))	0,009	g/100 g de muestra	3,34	
Ac. Linolenico(C18:3 (w 3))	0,007	g/100 g de muestra	0,167	
Ensayo		LC	Unidad	Resultados
	Ac. Mirístico (C14:0)	0,011	g/100 g de muestra	< 0,011
	Ac. Miristoleico (C14:1)	0,004	g/100 g de muestra	< 0,004
	Ac. Nervónico(C24:1)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010

Composición de Ácidos Grasos	Ac. Oleico(C18:1 (w 9 cis))	0,017	g/100 g de muestra	34,369
	Ac. Palmítico(C16:0)	0,016	g/100 g de muestra	29,012
	Ac. Palmítoleico(C16:1)	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
	Ac. Pentadecanoico (C15:0)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Tricosanoico(C23:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Tridecanoico (C13:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. Undecanoico (C11:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. y-linolenico(C18:3 (w 6))	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007

LC: Limite de Cuantificación

Composición de Ácidos Grasos	Acidos Grasos Saturados	0,003	g/100 g de muestra	60,603
	Acidos Grasos Monoinsaturados	0,002	g/100 g de muestra	34,369
	Acidos Grasos Poliinsaturados	0,003	g/100 g de muestra	3,507
	Acidos Grasos No Identificados	-	g/100 g de muestra	1,471
	Acidos grasos total	-	g/100 g de muestra	99,95

LC: Limite de Cuantificación

	Ensayo	LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Otros - Acidos Grasos Trans	0,011	g/100 g de muestra	< 0,011
	Acidos Grasos Omega 3 (g/100 g de Muestra)	0,004	g/100 g de muestra	0,17
	Acidos Grasos Omega 6 (g/100 g de Muestra)	0,003	g/100 g de muestra	3,34
	Acidos Grasos Omega 9 (g/100 g de Muestra)	0,008	g/100 g de muestra	34,37
	Acidos Grasos EPA (g/100 g de Muestra)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
	Acidos Grasos DHA (g/100 g de Muestra)	0,038	g/100 g de muestra	< 0,038
	EPA + DHA	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014

LC: Limite de Cuantificación

MÉTODO

Composición de Ácidos Grasos: AOAC -996.06, c41, 20th Ed. 2016. Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 31 de marzo de 2018

AM

INFORME DE ENSAYO N° 1-02348/18

Solicitante : **FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO**

Domicilio legal : Jr. Camilo Carrillo 325 - Jesús María – Lima

Producto declarado : **ACEITE DE PALMA ROJO**

Cantidad de Muestra para el ensayo : 1 muestra x 530 mL Muestra proporcionada por el solicitante

Identificación de la muestra : LOTE. 29-01-2018 // VENC. 01-2020

Forma de Presentación : En bolsa ziplock, cerrada y conservada a temperatura ambiente

Fecha de recepción : 2018 - 03 - 09

Fecha de inicio del ensayo : 2018 - 03 - 12

Fecha de término del ensayo : 2018 - 03 - 28

Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química - Cromatografía de Gases

Identificado con : H/S 18002656 (EXAI-03101-2018)

Validez del documento : Este documento es válido solo para las muestras descritas

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Ac. Araquidico(C20:0)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
	Ac. Araquidonico(C20:4 (W 6))	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
	Ac. Behenico(C22:0)	0,019	g/100 g de muestra	< 0,019
	Ac. Butirico (C4:0)	0,097	g/100 g de muestra	< 0,097
	Ac. Caprico (C10:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Caprilico (C8:0)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
	Ac. Caproico(C6:0)	0,033	g/100 g de muestra	< 0,033
	Ac. cis-10 pentadecenoico(C15:1)	0,002	g/100 g de muestra	< 0,002
	Ac. cis-10-Heptadecenoico(C17:1)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Cis-11, 14, 17- Eicosatrienoico(C20:3 (w 3))	0,004	g/100 g de muestra	< 0,004
	Ac. Cis-11, 14-Eicosadienoico(C20:2)	0,022	g/100 g de muestra	< 0,022
	Ac. Cis-11-Eicosenoico(C20:1)	0,011	g/100 g de muestra	0,119
	Ac. Cis-13, 16- Docosadienoico(C22:2)	0,012	g/100 g de muestra	< 0,012
	Ac. cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-Docosahexaenoico(C22:6 (w3) DHA)	0,038	g/100 g de muestra	< 0,038
	Ac. cis-5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoico(C20:5 (w 3) EPA)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
	Ac. Cis-8, 11, 14- Eicosatrienoico(C20:3 (w 6))	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. Elaidico (trans)(C18:1 (w 9 trans))	0,008	g/100 g de muestra	< 0,008
	Ac. Erucico(C22:1 (w 9))	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Esteárico(C18:0)	0,018	g/100 g de muestra	5,349
	Ac. Heneicosanoico(C21:0)	0,032	g/100 g de muestra	< 0,032
	Ac. Laurico (C12:0)	0,007	g/100 g de muestra	0,145
	Ac. Lignoceroico(C24:0)	0,026	g/100 g de muestra	< 0,026
Ac. Linoeladico (trans)(C18:2 (w 6 trans))	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007	
Ac. Linoleico (C18:2 (w 6 cis))	0,009	g/100 g de muestra	10,53	
Ac. Linolenico(C18:3 (w 3))	0,007	g/100 g de muestra	0,327	

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Ac. Margarico (C17:0)	0,006	g/100 g de muestra	0,093
	Ac. Mirístico (C14:0)	0,011	g/100 g de muestra	0,734
	Ac. Miristoleico (C14:1)	0,004	g/100 g de muestra	< 0,004
	Ac. Nervónico(C24:1)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Oleico(C18:1 (w 9 cis))	0,017	g/100 g de muestra	40,985
	Ac. Palmítico(C16:0)	0,016	g/100 g de muestra	39,967
	Ac. Palmitoleico(C16:1)	0,006	g/100 g de muestra	< 0,006
	Ac. Pentadecanoico (C15:0)	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007
	Ac. Tricosanoico(C23:0)	0,01	g/100 g de muestra	< 0,010
	Ac. Tridecanoico (C13:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. Undecanoico (C11:0)	0,003	g/100 g de muestra	< 0,003
	Ac. y-linolenico(C18:3 (w 6))	0,007	g/100 g de muestra	< 0,007

LC: Limite de Cuantificación

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Acidos Grasos Saturados	0,003	g/100 g de muestra	46,288
	Acidos Grasos Monoinsaturados	0,002	g/100 g de muestra	41,104
	Acidos Grasos Poliinsaturados	0,003	g/100 g de muestra	10,857
	Acidos Grasos No Identificados	-	g/100 g de muestra	1,671
	Acidos grasos total	-	g/100 g de muestra	99,92

LC: Limite de Cuantificación

Ensayo		LC	Unidad	Resultados
Composición de Ácidos Grasos	Otros - Acidos Grasos Trans	0,011	g/100 g de muestra	< 0,011
	Acidos Grasos Omega 3 (g/100 g de Muestra)	0,004	g/100 g de muestra	0,33
	Acidos Grasos Omega 6 (g/100 g de Muestra)	0,003	g/100 g de muestra	10,53
	Acidos Grasos Omega 9 (g/100 g de Muestra)	0,008	g/100 g de muestra	40,99
	Acidos Grasos EPA (g/100 g de Muestra)	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014
	Acidos Grasos DHA (g/100 g de Muestra)	0,038	g/100 g de muestra	< 0,038
	EPA + DHA	0,014	g/100 g de muestra	< 0,014

LC: Limite de Cuantificación

MÉTODO

Composición de Ácidos Grasos: AOAC -996.06, c41, 20th Ed. 2016. Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.


Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 31 de marzo de 2018


AM

Anexo 2. Kits comerciales utilizados para la medición del perfil lipídico y glucemia

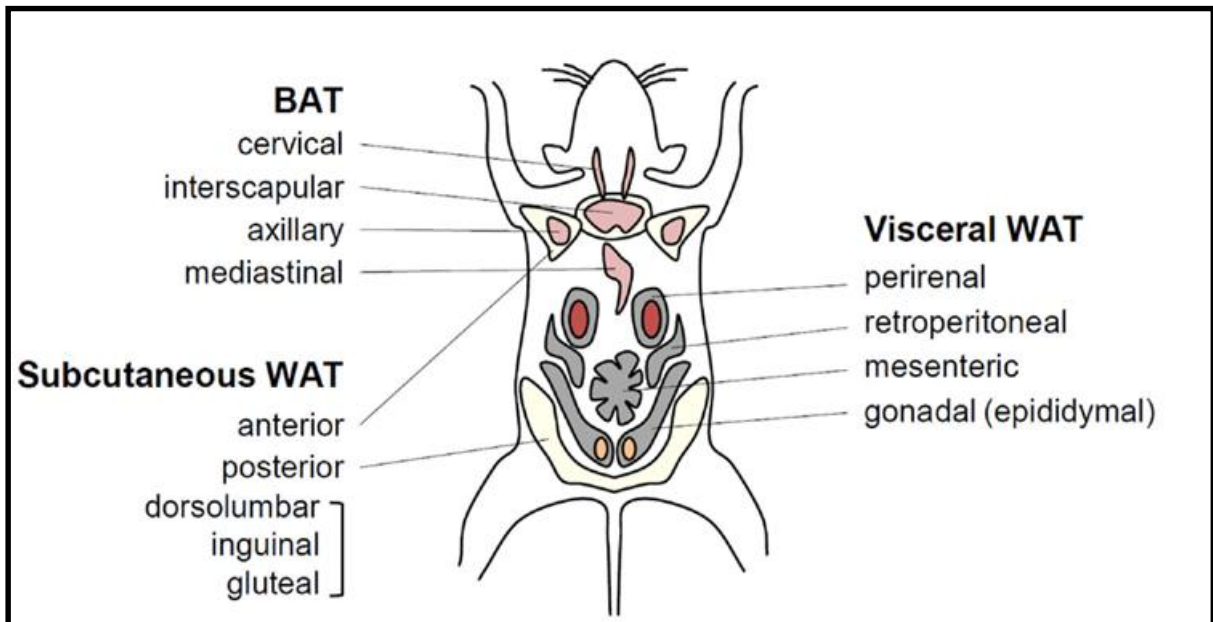
MISSION® CHOLESTEROL MONITORING SISTEM

	MEDICIONES	EFICIENCIA	USO
	<ul style="list-style-type: none"> -CT, (mg/dL) -TG, (mg/dL) -HDL-C, (mg/dL) -LDL-C, (mg/dL) -CT/HDL -CHD 	<p>Muestra requerida: 35µL de sangre.</p> <p>Resultados en ≤ 2 min y almacenados en la base de datos del equipo.</p>	<p>Insertar la tira; aplicar la muestra con un tubo de transferencia capilar; leer los resultados.</p>

ON CALL® ADVANCED BLOOD GLUCOSE MONITORING SISTEM

	MEDICIONES	EFICIENCIA	USO
	<ul style="list-style-type: none"> -Glucosa (mg/dL) 	<p>Muestra requerida: 0.8µL de sangre.</p> <p>Resultados en ≤ 30 seg. y almacenados en la base de datos del equipo.</p>	<p>Insertar la tira; aplicar la muestra con un tubo de transferencia capilar; leer los resultados.</p>

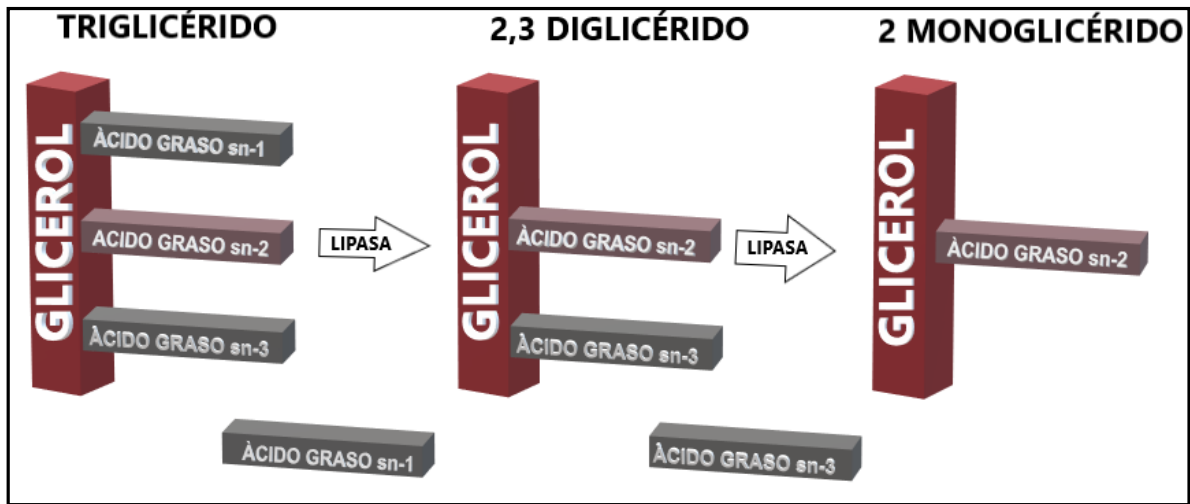
Anexo 3. Diagrama de la deposición del tejido adiposo localizado en ratas



DEPOSICIÓN DE TEJIDO ADIPOSO EN RATAS		
BAT: Tejido Adiposo Marrón	WAT: Tejido Adiposo Blanco	
	Subcutaneo WAT	Viceral WAT
Cervical	Anterior	Perirenal
Interescapular	Dorso-lumbar	Retroperitoneal
Axilar	Inguinal	Mesentérica
Mediastinal	Gluteal	Epididimal

Fuente: Choe et al. (2016)

Anexo 4. Esquema de distribuciones posicionales y metabolismo de los triglicéridos de la grasa



Mancini et al. (2016); Gesteiro et al. (2018)

Anexo 5. Registro del peso inicial y final, incremento de peso y consumo de alimento al término del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)

TRATAMIENTO	REP	PESO I.(g)	PESO F.(g)	IP(g)	CONS Ali.(g)
MC	1	155.00	346.00.	191.00	21.69
	2	153.00	270.00	117.00	16.35
	3	135.00	281.00	146.00	18.35
	4	155.00	281.00	126.00	16.57
	5	136.00	282.00	146.00	17.80
	6	179.00	313.00	134.00	18.55
\bar{x}		152.16	295.50	143.3	18.20
MC + EF	1	158.00	287.00	129.00	16.90
	2	154.00	286.00	132.00	17.05
	3	161.00	302.00	141.00	18.47
	4	167.00	314.00	147.00	19.76
	5	129.00	302.00	173.00	18.68
	6	148.00	282.00	134.00	16.53
\bar{x}		152.8	295.50	142.7	17.90
APR	1	129.00	255.00	126	15.49
	2	161.00	336.00	175	20.53
	3	144.00	314.00	170	19.19
	4	155.00	316.00	161	19.44
	5	158.00	296.00	138	18.52
	6	138.00	256.00	118	15.62
\bar{x}		147.5	295.50	148.0	18.1
APR + EF	1	164.00	328.00	164	20.19
	2	144.00	295.00	151	18.95
	3	148.00	274.00	126	16.36
	4	144.00	294.00	150	17.56
	5	162.00	300.00	138	18.27
	6	136.00	281.00	145	17.24
\bar{x}		149.66	295.33	145.7	18.10

Anexo 6. Registro de los parámetros biométricos e índices corporales al término del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)

TRATAMIENTO	REP	LNA(cm)	Índ. Lee	Cir.T(cm)	Cir.A(cm)	Cir.C(cm)
MC	1	22.5	0.312	14.6	16.5	9.8
	2	19.6	0.330	12.7	15.2	9.5
	3	19.1	0.343	13.3	14.7	9.1
	4	20.2	0.324	14.2	15.0	9.6
	5	19.6	0.335	13.6	15.3	9.4
	6	20.2	0.336	13.7	14.7	10.6
\bar{x}		20.2	0.33	13.7	15.2	9.7
MC + EF	1	20.5	0.322	14.4	16.0	10.0
	2	21.4	0.308	13.5	14.5	9.9
	3	20.4	0.329	14.0	15.5	9.3
	4	20.3	0.335	13.8	16.1	10.5
	5	21.5	0.312	13.5	15.3	9.7
	6	19.4	0.338	10.1	13.8	10.1
\bar{x}		20.6	0.32	13.2	15.2	9.9
APR	1	19.7	0.322	13.0	14.5	9.2
	2	20.8	0.334	14.8	15.6	10.1
	3	20	0.340	13.7	15.7	9.3
	4	20.7	0.329	13.3	16.3	9.7
	5	20.3	0.328	13.7	14.5	9.7
	6	19.9	0.319	13.2	14.0	9.1
\bar{x}		20.2	0.33	13.6	15.1	9.5
APR + EF	1	20.5	0.336	13.5	14.7	10.0
	2	20.8	0.320	14.5	16.0	9.8
	3	19.8	0.328	13.1	14.3	9.4
	4	19.5	0.341	11.5	14.4	9.5
	5	20.8	0.322	13.4	15.1	9.4
	6	20.5	0.320	13.0	14.3	10.2
\bar{x}		20.3	0.33	13.2	14.8	9.7

Anexo 7. Registro de bioquímica sérica al término del periodo de inducción a la obesidad (Fase I)

TRATAMIENTO	REP	HDL-C (mg/dL)	TG (mg/dL)	GLUCOSA (mg/dL)
MC	1	23	94	125
	2	15	86	90
	3	36	95	128
	4	30	76	88
	5	42	86	125
	6	32	96	128
\bar{x}		29.7	88.8	114.0
MC + EF	1	16	60	161
	2	45	56	110
	3	26	91	94
	4	24	84	80
	5	35	70	115
	6	33	99	100
\bar{x}		29.8	76.7	110.0
APR	1	20	91	75
	2	40	100	109
	3	41	83	98
	4	22	73	126
	5	35	63	71
	6	47	82	75
\bar{x}		34.2	82.0	92.3
APR + EF	1	22	75	112
	2	30	79	82
	3	29	70	88
	4	45	98	123
	5	27	86	94
	6	28	79	100
\bar{x}		30.2	81.2	99.8

Anexo 8. Registro de peso inicial y final, incremento de peso y consumo de alimento al término de la Fase II

TRATAMIENTO	REP	PESO 28D(g)	PESO 60D(g)	IP(g)	CONS Ali.(g)
MC	1	346.00	455.00	109.00	21.78
	2	270.00	330.00	60.00	15.58
	3	281.00	324.00	43.00	15.51
	4	281.00	335.00	54.00	15.37
	5	282.00	353.00	71.00	17.95
	6	313.00	394.00	81.00	19.25
\bar{x}		295.50	365.17	69.67	17.57
MC + EF	1	287.00	345.00	58.00	17.21
	2	286.00	371.00	85.00	18.93
	3	302.00	360.00	58.00	17.94
	4	314.00	360.00	46.00	17.91
	5	302.00	360.00	58.00	16.82
	6	282.00	363.00	81.00	18.76
\bar{x}		295.50	359.83	64.33	17.93
APR	1	255.00	323.00	68.00	14.80
	2	336.00	417.00	81.00	18.95
	3	314.00	416.00	102.00	20.85
	4	316.00	395.00	79.00	18.63
	5	296.00	381.00	85.00	17.65
	6	256.00	355.00	99.00	18.20
\bar{x}		295.50	381.17	85.67	18.18
APR + EF	1	328.00	437.00	109.00	20.74
	2	295.00	342.00	47.00	16.43
	3	274.00	320.00	46.00	15.64
	4	294.00	376.00	82.00	18.60
	5	300.00	358.00	58.00	13.55
	6	281.00	328.00	47.00	15.51
\bar{x}		295.33	360.17	64.83	16.74

Anexo 9. Registro de los parámetros biométricos e índices corporales al término de la Fase II

TRATAMIENTO	REP	LNA(cm)	Índ. Lee	Cir.T(cm)	Cir.A(cm)	Cir.C(cm)
MC	1	23.40	0.33	13.00	16.70	11.50
	2	21.50	0.32	12.80	14.00	9.90
	3	21.00	0.33	13.20	15.00	10.70
	4	22.40	0.31	13.00	13.80	10.40
	5	21.30	0.33	12.90	13.90	10.70
	6	22.80	0.32	13.50	14.50	10.40
\bar{x}		22.07	0.32	13.07	14.65	10.60
MC + EF	1	21.80	0.32	13.00	13.80	10.30
	2	22.00	0.33	13.60	14.70	12.70
	3	21.20	0.34	13.40	14.60	9.60
	4	22.00	0.32	13.40	14.30	11.20
	5	21.70	0.33	13.00	13.50	11.00
	6	21.80	0.33	13.60	15.20	10.70
\bar{x}		21.75	0.33	13.33	14.35	10.92
APR	1	21.10	0.33	13.30	13.90	9.70
	2	22.00	0.34	14.20	15.50	10.30
	3	23.20	0.32	14.00	15.50	10.50
	4	23.00	0.32	14.00	14.70	11.70
	5	21.90	0.33	13.50	14.50	10.50
	6	21.90	0.32	13.00	14.00	10.70
\bar{x}		22.18	0.33	13.67	14.68	10.57
APR + EF	1	23.00	0.33	14.20	15.90	10.60
	2	20.60	0.34	10.60	15.10	10.60
	3	19.80	0.35	11.10	14.00	11.10
	4	22.20	0.33	13.20	14.50	11.00
	5	21.60	0.33	13.30	13.90	10.10
	6	20.70	0.33	12.80	13.80	9.60
\bar{x}		21.32	0.33	12.53	14.53	10.50

Anexo10. Registro de bioquímica sérica al término de la Fase II

TRATAMIENTO	REP	HDL-C (mg/dL)	TG (mg/dL)	GLUCOSA (mg/dL)
MC	1	30	97	109
	2	21	75	109
	3	37	80	122
	4	24	55	112
	5	36	65	109
	6	40	62	87
\bar{x}		31.3	72.3	108.0
MC + EF	1	39	55	139
	2	56	51	156
	3	37	68	143
	4	30	65	85
	5	40	53	119
	6	29	60	147
\bar{x}		38.5	58.7	131.5
APR	1	21	57	165
	2	35	63	159
	3	19	104	173
	4	21	62	174
	5	19	47	91
	6	46	50	130
\bar{x}		26.8	63.8	148.7
APR + EF	1	35	55	163
	2	45	46	143
	3	43	72	109
	4	45	49	138
	5	47	71	97
	6	42	51	144
\bar{x}		42.8	57.3	132.3

Anexo 11. Registro de adiposidad y peso del hígado al término de la Fase II

TRATAMIENTO	REP	DL	ING	ABD	EPID	PR	RPT	GT	PHI
MC	1	4.32	3.46	4.90	10.90	4.02	7.00	36.92	18.94
	2	5.20	3.44	1.86	6.44	1.82	4.68	25.06	12.60
	3	4.28	2.00	1.00	6.52	1.48	3.96	20.66	10.96
	4	3.88	2.30	1.00	5.54	1.64	3.58	20.18	12.22
	5	4.84	2.56	1.86	6.56	2.02	4.98	25.18	15.60
	6	4.74	2.54	1.12	5.90	1.86	3.66	21.80	11.10
\bar{x}		4.54	2.72	1.96	6.98	2.14	4.64	24.97	13.57
MC + EF	1	2.60	3.02	0.76	5.12	1.56	3.28	17.70	13.56
	2	4.40	2.50	1.66	5.72	2.16	4.52	22.36	16.04
	3	3.74	3.38	1.44	8.14	2.42	5.22	26.72	16.44
	4	4.30	1.98	1.54	5.00	1.36	2.70	18.40	11.82
	5	2.98	2.38	1.32	5.30	1.60	3.66	19.34	15.46
	6	4.84	1.42	2.10	4.42	1.90	4.30	21.30	13.24
\bar{x}		3.81	2.45	1.47	5.62	1.83	3.95	20.97	14.43
APR	1	3.00	1.86	1.38	4.46	1.22	4.46	18.10	13.16
	2	6.74	3.66	2.30	9.24	3.06	5.84	33.76	15.58
	3	7.74	4.18	2.70	9.58	3.04	5.58	38.52	18.86
	4	6.48	3.62	1.64	8.74	2.58	5.76	31.48	13.28
	5	6.12	2.30	2.52	8.38	2.12	5.40	29.88	16.78
	6	3.54	2.34	1.42	6.88	1.60	3.96	21.78	12.06
\bar{x}		5.60	2.99	1.99	7.88	2.27	5.17	28.92	14.95
APR + EF	1	4.32	2.86	1.94	7.76	3.04	3.34	25.36	14.54
	2	3.76	1.94	1.34	4.94	1.28	4.44	19.70	11.12
	3	4.48	1.62	0.90	6.04	1.68	4.98	21.20	14.32
	4	4.24	3.34	1.40	7.10	1.80	4.12	25.28	15.10
	5	2.26	1.38	1.28	5.78	1.46	3.60	17.70	14.58
	6	3.98	1.94	1.04	4.78	1.16	2.72	17.68	14.12
\bar{x}		3.84	2.18	1.32	6.07	1.74	3.87	21.15	13.96

Anexo 12. Registro de biomarcadores de la capacidad antioxidante en hígado al término de la Fase II

TRATAMIENTO	REP	GSH	GSH/GSSG	SOD	CAT
MC	1	91.63	9.88	24.43	1.09
	2	54.95	5.87	30.52	0.96
	3	130.36	0.26	27.95	0.84
\bar{x}		92.31	5.34	27.63	0.96
MC + EF	1	119.85	0.61	21.30	0.77
	2	28.08	0.58	11.33	0.37
	3	109.38	2.44	27.25	1.14
\bar{x}		85.77	1.21	19.96	0.76
APR	1	132.92	0.31	23.43	0.57
	2	68.96	18.26	28.31	1.10
	3	126.39	0.42	27.92	0.85
\bar{x}		109.43	6.33	26.56	0.84
APR + EF	1	96.71	0.62	22.46	0.67
	2	81.83	3.15	22.37	1.04
	3	55.48	3.64	27.79	0.80
\bar{x}		78.01	2.47	24.21	0.84