



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**  
**FACULTAD DE NUTRICIÓN**

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3  
SOBRE LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA Y FUNCIÓN ENDOTELIAL DE LAS  
LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL) EN SUJETOS CON  
HIPERTRIGLICERIDEMIA.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN**

P R E S E N T A

**L.N. PAOLA PATRICIA PEÑA DE LA SANCHA**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**Dra. Azucena Salazar Piña**

**CODIRECTOR DE TESIS:**

**Dr. Óscar A. Pérez Méndez**

**COMITÉ TUTORAL**

Dra. Margarita Ramos García

Dra. Ana Laura Guadarrama López

Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez

Dr. David Martínez Duncker

CUERNAVACA, MORELOS

DICIEMBRE 2018

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”**

**UNIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR  
LABORATORIO DE METABOLISMO DE LÍPIDOS**



**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 SOBRE  
LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA Y FUNCIÓN ENDOTELIAL DE LAS  
LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL) EN SUJETOS CON  
HIPERTRIGLICERIDEMIA.**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo otorgado por CONACYT durante la realización de este trabajo con número de proyecto 749551.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, la Facultad de Nutrición y al personal académico del posgrado por contribuir a mi desarrollo profesional. A la Doctora Azucena Salazar y mi comité tutorial por su guía y aportes al presente trabajo.

Al Dr. Óscar Pérez, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación, que me ha permitido crecer profesional y personalmente. Lo admiro profundamente por su notable profesionalismo, vocación y disposición, muchas gracias.

A mis compañeros de la primera generación de Maestría, espero volver a coincidir profesionalmente en un futuro y que siempre tengan éxito en lo que emprendan.

A Vicky, Mónica, Diego y Alan, mis compañeros de laboratorio y amigos, que entre muchas risas amenizaron las largas jornadas de trabajo.

A Paco por contribuir con tanto a mi trabajo (aprender a tomar muestra, conseguir pacientes, material) y siempre estar ahí cada vez que lo necesité, sabes que es recíproco, gracias por todo.

A Adolfo, porque has contribuido de manera muy importante a este trabajo. He sido testigo de tu gran crecimiento, nunca pierdas las ganas que te caracterizan de aprender e innovar, tienes un futuro brillante por delante.

A toda mi familia por formar parte de los momentos más importantes de mi vida.

Gracias mamá y papá, este trabajo es para ustedes. Soy muy afortunada porque hasta ahora mi desarrollo profesional ha sido mi único deber y preocupación en la vida. Terminar la maestría no es un logro únicamente mío, también es suyo porque compartieron en este camino conmigo los desvelos, las vueltas, los viajes, los gastos y los momentos de estrés. Me proporcionaron todas las herramientas para siempre cumplir en tiempo y forma, así como el apoyo y amor incondicional que he necesitado para que hoy este logro sea una realidad y no haya obstáculos para alcanzar mis sueños. Espero un día devolverles un poco de todo lo que me han dado, los amo.

## RESUMEN

**Introducción:** La enfermedad arterial coronaria (EAC) es caracterizada por disfunción endotelial promovida por la coexistencia de hipoalfalipoproteinemia e hipertrigliceridemia. El consumo de ácidos grasos omega-3 (n-3) ha mostrado una relación inversa con eventos cardiovasculares e induce cambios en composición de HDL, que poseen efectos favorables sobre la función endotelial. Sin embargo, se desconoce el mecanismo cardioprotector exacto de los n-3. En este trabajo proponemos que los n-3 median cambios en el contenido lipídico de HDL que promueven una mejora en su función endotelial, lo que contribuiría a disminuir la progresión de EAC en pacientes con alto riesgo cardiovascular.

**Objetivo:** Establecer el efecto de los ácidos grasos n-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las HDL, en pacientes con hipertrigliceridemia.

**Metodología:** Se realizó un ensayo clínico cruzado controlado con placebo en 18 pacientes con hipertrigliceridemia, que fueron aleatorizados en 2 grupos (n=9), el primero inició con 2 g/d n-3 (cápsulas de 1000 mg de n-3 al 90%, EPA 460 mg, DHA 380 mg) y el otro grupo inició con placebo (Cápsulas de gelatina sin azúcar). Después de 5 semanas de tratamiento, los sujetos siguieron 4 semanas de lavado (periodo sin n-3 ni placebo) para la depuración del tratamiento y posterior cruce del mismo. Se realizó una evaluación clínico-nutricional y se indicó una dieta isocalórica a lo largo del estudio para evitar factores dietéticos de confusión. Se obtuvo muestra sanguínea en ayuno (10 mL), en tubos con EDTA. Se determinó el perfil de lípidos (colesterol total, triglicéridos y glucosa), así como el perfil de lípidos de HDL (colesterol-HDL, fosfolípidos-HDL y triglicéridos -HDL) por técnicas enzimáticas-colorimétricas. También se aislaron las HDL por medio de ultracentrifugación secuencial para realizar ensayos *in vitro* de función endotelial en anillos de rata Wistar en cámara de órgano aislado en presencia de las HDL de los pacientes. Las modificaciones en la función endotelial de los pacientes se determinaron por ultrasonido en la arteria braquial (prueba de dilatación mediada por flujo, DMF).

**Resultados:** Se encontró una disminución significativa de peso corporal ( $87.8 \pm 11.0$  vs.  $85.5 \pm 11.3$  kg,  $P < 0.05$ ), circunferencia de cintura ( $102.4 \pm 10.0$  vs.  $98.4 \pm 8.9$  cm,  $P < 0.01$ ) y cadera ( $103.6 \pm 9.1$  vs.  $101.1 \pm 9.2$  cm,  $P < 0.01$ ) postratamiento con n-3. En el perfil de lípidos se observó una disminución significativa en la concentración de triglicéridos después del tratamiento ( $454.3 \pm 344.2$  vs.  $283.92 \pm 208.6$  mg/dL,  $P < 0.05$ ) y un incremento en la concentración de colesterol-HDL (+29.18%,  $p < 0.01$ ) y fosfolípidos-HDL (+68%,  $p = < 0.01$ ) respectivamente, acompañado de una disminución significativa en los triglicéridos-HDL (-56.04%,  $P = < 0.05$ ) después de la suplementación de n-3. Por otro lado, en la prueba de DMF, se observó un incremento significativo de la función endotelial ( $8.6 \pm 3.6$  vs.  $10.9 \pm 4.0\%$ ,  $P < 0.01$ ). Sin embargo, no se observaron cambios significativos en los ensayos de función endotelial en anillos de aorta incubados con HDL pre y postratamiento con n-3.

**Conclusión:** La suplementación con EPA y DHA indujo cambios significativos en la composición de las HDL, con una disminución de triglicéridos e incremento de colesterol y fosfolípidos en la partícula. Sin embargo, no se observaron modificaciones en la función endotelial de anillos de aorta de rata Wistar mediadas por HDL, a pesar de una mejora significativa en la función endotelial de los pacientes en la prueba de DMF después del tratamiento. Estos resultados sugieren un efecto benéfico de los n-3 sobre la función endotelial, por medio de un mecanismo independiente de las HDL.

## ABSTRACT

**Introduction:** Coronary artery disease (CAD) is characterized by endothelial dysfunction promoted by the coexistence of hypoalphalipoproteinemia and hypertriglyceridemia. The consumption of omega-3 fatty acids (n-3), has shown an inverse relationship with cardiovascular events and induces changes in HDL composition, which have favorable effects on endothelial function. However, the cardioprotective mechanism of n-3 is still not well understood. In this study, we postulate that n-3 drives changes in the lipid content of HDL that promote an improvement in their function vis-a-vis the endothelium, which would contribute to decrease the progression of CAD in patients with high cardiovascular risk.

**Objective:** To determine the effect of n-3 fatty acids on the composition and endothelial function of HDL in patients with hypertriglyceridemia.

**Methodology:** A placebo-controlled crossover clinical trial was performed in 18 hypertriglyceridemic patients, randomized in 2 groups (n = 9), one started with 2 g/d n-3 (1000 mg capsules from n-3, EPA 460 mg, DHA 380 mg) and the other group started with placebo. After 5 weeks of treatment, the subjects followed 4 weeks washout period before crossover. A clinical-nutritional evaluation was performed and an isocaloric diet was indicated during the study to avoid dietary confounding factors. Fasting blood samples (10 mL) were obtained in tubes with EDTA. The lipid profile (total cholesterol, triacylglycerides and glucose) was determined, as well as the lipid profile of HDL (HDL-cholesterol, HDL-phospholipids and HDL-triglycerides). HDL were also isolated by sequential ultracentrifugation from patient's plasma to perform endothelial function in vitro using aorta rings of Wistar rats in an isolated organ chamber in the presence of the lipoproteins. Modifications in the endothelial function of the patients were determined by ultrasound in the brachial artery (flow-mediated dilatation test, FMD).

**Results:** n-3 induced a significant decrease in body weight ( $87.8 \pm 11.0$  vs.  $85.5 \pm 11.3$  kg,  $P < 0.05$ ), waist circumference ( $102.4 \pm 10.0$  vs.  $98.4 \pm 8.9$  cm,  $P < 0.01$ ) and hip circumference ( $103.6 \pm 9.1$  vs.  $101.1 \pm 9.2$  cm,  $P < 0.01$ ). A significant decrease in the concentration of triacylglycerides was observed in the lipid profile ( $454.3 \pm 344.2$  vs.  $283.92 \pm 208.6$  mg / dL,  $P < 0.05$ ) and an increase in the concentration of HDL-cholesterol (+29.18%,  $p < 0.01$ ) and phospholipids- HDL (+68%,  $p = < 0.01$ ) respectively, accompanied by a significant decrease in triglycerides-HDL (-56.04%,  $p = < 0.05$ ) after n-3 supplementation. On the other hand, a significant increase in endothelial function was observed in the FMD test after n-3, ( $8.6 \pm 3.6$  vs.  $10.9 \pm 4.0\%$ ,  $P < 0.01$ ). However, no changes were observed in endothelial function assays with aortic rings co-incubated with HDL before and after treatment with n-3.

**Conclusion:** Supplementation with DHA and EPA induced significant changes in the composition of HDL, with a decrease in triacylglycerides and an increase in cholesterol and phospholipids. However, no changes were observed in the endothelial function of Wistar rat aortic rings mediated by HDL, despite a significant improvement in the endothelial function of patients on the FMD test after treatment. These results suggest a beneficial effect of n-3 on endothelial function, through an HDL independent mechanism.

## ÍNDICE GENERAL

1. ANTECEDENTES.....	1
1.1 Lipoproteínas.....	1
1.2 Lipoproteínas de alta densidad.....	2
1.2.1 Clasificación de HDL.....	2
1.2.2 Relación de composición y función de HDL.....	3
1.2.3 Funciones de las HDL.....	4
1.2.4 Transporte reverso del colesterol.....	5
1.2.5 Función endotelial de las HDL.....	6
1.3 Disfunción endotelial.....	7
1.4 Formación de la lesión aterosclerótica.....	8
1.5 Enfermedades Cardiovasculares.....	9
1.5.1 Factores de riesgo cardiovascular.....	9
1.6 Dislipidemias.....	10
1.6.1 Hipertrigliceridemia.....	11
1.6.2 Epidemiología de hipertrigliceridemia.....	12
1.7 Ácidos Grasos Poliinsaturados.....	13
1.7.1 Omega-3.....	13
1.7.2 Metabolismo de Omega-3.....	13
1.7.3 Omega-3 y Enfermedad cardiovascular.....	15
1.7.4. Omega-3: Mecanismos de acción.....	15
1.7.5 Omega-3 y efectos sobre las HDL.....	18
2. JUSTIFICACIÓN.....	20
3. HIPÓTESIS.....	22
4. OBJETIVO GENERAL.....	22
4.1 Objetivos específicos.....	22
5.MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1 Diseño de estudio.....	23
5.2 Toma de muestra sanguínea.....	24
5.3 Evaluación nutricional e historia clínica.....	24
5.4 Procesamiento de muestras y técnicas utilizadas.....	25
5.4.1 Determinación de perfil de lípidos.....	25
5.4.2 Ultracentrifugación secuencial.....	26
5.4.3 Ensayo función endotelial en cámara de órgano aislado.....	26
5.4.4 Prueba de dilatación mediada por flujo.....	27
5.5 Consideraciones éticas.....	28
5.6 Análisis estadístico.....	28
6. RESULTADOS.....	29
7. DISCUSIÓN.....	33
8. CONCLUSIÓN.....	40
9. ANEXOS.....	41
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de densidades y tamaños de las lipoproteínas.....	1
Figura 2. Estructura de las lipoproteínas de alta densidad.....	2
Figura 3. Clasificación de las HDL de acuerdo a su radio hidrodinámico.....	3
Figura 4. Transporte reverso del colesterol o metabolismo de HDL.....	5
Figura 5. Características de la función endotelial.....	7
Figura 6. Formación de la placa ateromatosa.....	8
Figura 7. Metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados.....	14
Figura 8. Diagrama de intervención del estudio.....	24
Figura 9. Diagrama de flujo del estudio.....	25
Figura 10. Incubación de anillos de aorta en HDL.....	26
Figura 11. Prueba de dilatación mediada por flujo.....	27
Figura 12. Pacientes incluidos en el estudio.....	29
Figura 13. Efecto de las HDL sobre la relajación de anillos de aorta.....	32

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de los componentes de las lipoproteínas.....	1
Tabla 2. Valores de referencia de concentraciones plasmáticas de lípidos.....	10
Tabla 3. Características generales de la población .....	29
Tabla 4 Resultados del análisis de recordatorio de 24 h.....	30
Tabla 5. Resultados del análisis de consumo de ácidos grasos.....	30
Tabla 6. Resultados de perfil de lípidos.....	31
Tabla 7. Resultados de perfil de lípidos de HDL.....	31
Tabla 8. Resultados prueba de dilatación mediada por flujo.....	32



## SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

<b>ABCA1</b>	Transportador dependiente de la unión de ATP, miembro 1 de la subfamilia de transportadores ABCA
<b>AGMI</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>AGPI</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>AGS</b>	Ácidos grasos saturados
<b>ATP IV</b>	Adult Treatment Panel IV
<b>CETP</b>	Proteína de transferencia de ésteres de colesterol
<b>C-HDL</b>	Colesterol de lipoproteínas de alta densidad
<b>COL</b>	Colesterol
<b>COX2</b>	Ciclooxigenasa 2
<b>D.E</b>	Desviación estándar
<b>DHA</b>	Ácido docosahexaenoico
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>DMF</b>	Dilatación Mediada por Flujo
<b>DO</b>	Densidad óptica
<b>EAC</b>	Enfermedad arterial coronaria
<b>ECNT</b>	Enfermedades crónicas no transmisibles
<b>ECV</b>	Enfermedad cardiovascular
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético
<b>EETS</b>	Ácidos epoxieicosatrienoicos
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintasa
<b>EPA</b>	Ácido eicosapentaenoico
<b>GISSI</b>	Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>ICAM-1</b>	Molécula de Adhesión Intracelular-1
<b>ICC</b>	Índice Cintura / Cadera
<b>IDL</b>	Lipoproteínas de densidad intermedia
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>JELIS</b>	Japan Eicosapentaenoic Acid Lipid Intervention Study
<b>LCAT</b>	Enzima lecitin colesterol acil transferasa
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>LPL</b>	Lipoproteínlipasa
<b>LDL ox n-3</b>	Lipoproteínas de baja densidad oxidadas Omega-3
<b>NCEP</b>	Panel de expertos del programa de educación sobre la detección, evaluación y tratamiento de colesterol elevado en adultos

<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PCR</b>	Proteína C Reactiva
<b>PGI-2</b>	Prostaciclina I-2
<b>PLP-HDL</b>	Fosfolípidos de lipoproteínas de alta densidad
<b>PLTP</b>	Proteína de transferencia de fosfolípidos
<b>PON-1</b>	Enzima paraoxonasa-1
<b>ROS</b>	Especies reactivas del oxígeno
<b>RPM</b>	Revoluciones por minuto
<b>SM</b>	Síndrome metabólico
<b>SRB-1</b>	Scavenger receptor clase B tipo 1
<b>TGL-HDL</b>	Triglicéridos de lipoproteínas de alta densidad
<b>TRC</b>	Transporte reverso del colesterol
<b>US</b>	Ultracentrifugación secuencial
<b>VCAM-1</b>	Molécula de adhesión vascular celular 1
<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad

## INTRODUCCIÓN

Dentro de las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la principal causa de muerte a nivel mundial, dentro de las que destaca la enfermedad arterial coronaria (EAC)<sup>1,2</sup>. La EAC es una patología crónico-inflamatoria caracterizada por disfunción endotelial<sup>3</sup>. Una de sus principales causas es la formación de placa en las arterias como consecuencia de desequilibrios en el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas<sup>4,5</sup>. Dado lo anterior, la alteración en las concentraciones plasmáticas de lípidos o dislipidemias, constituyen un factor de riesgo cardiovascular importante. La hipoalfalipoproteinemia (Colesterol-HDL <40 mg/dl) y su coexistencia con hipertrigliceridemia (Triglicéridos >150 mg/dL) y otros factores como obesidad, hipertensión y resistencia a la insulina o diabetes, incrementan el riesgo y progresión de las ECV, también caracterizadas por la presencia de disfunción endotelial<sup>6</sup>.

El consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-3, ha mostrado una relación inversa con eventos cardiovasculares y un efecto benéfico sobre el perfil de lípidos<sup>7</sup>. Asimismo, se ha observado que induce cambios en la estructura y distribución de las lipoproteínas, que son complejos macromoleculares que funcionan como transportadores de lípidos en el plasma sanguíneo<sup>8</sup>. En particular, las lipoproteínas de alta densidad o HDL, poseen funciones antiaterogénicas asociadas en parte al recambio de colesterol y lípidos en su paso por los tejidos periféricos. Se subdividen en cinco subclases que difieren en su composición y radio hidrodinámico. Se ha propuesto que cada una de las subclases de HDL posee un potencial antiaterogénico distinto determinado en gran parte por su composición, pero no existe un consenso sobre cual brinda mayor protección. Es importante destacar que las HDL tienen efectos favorables sobre la función endotelial; modulan la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio, contribuyen a la síntesis de óxido nítrico (NO) y lo protegen ante el estrés oxidativo<sup>9</sup>.

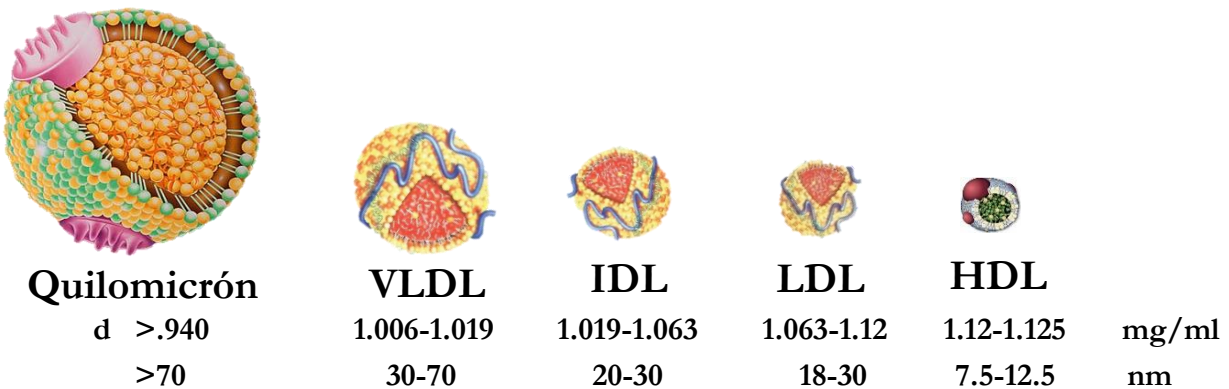
La evidencia actual apunta al gran potencial de los n-3 sobre las ECV, particularmente por su efecto benéfico sobre el perfil lipídico. De esta forma, el beneficio cardiovascular que aportan los n-3 podría estar relacionado, al menos parcialmente, con la calidad y contenido de lípidos de las HDL<sup>10</sup>. Así, la calidad de los lípidos que transportan las HDL repercutiría en la función de las membranas de los tejidos periféricos. Estos cambios podrían estar relacionados con el papel protector de las HDL contra el desarrollo de la aterosclerosis. En la actualidad no existe una caracterización sobre los posibles cambios en la composición lipídica de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) mediados por los n-3 y la relación de estos cambios con posibles modificaciones en su función. Por lo anterior, es posible que la mejora en la función de las HDL mediada por los n-3, represente una disminución en el desarrollo y progresión de ECV en pacientes hipertrigliceridémicos con alto riesgo cardiovascular. En consecuencia, es necesaria la investigación sobre el efecto de los n-3 sobre las HDL, su composición y los efectos sobre su función endotelial, que se aborda en el presente trabajo de investigación.

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1 Lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos macromoleculares que funcionan como transportadores de lípidos en el plasma sanguíneo. Están constituidas por lípidos y proteínas específicas que les confieren estabilidad, las cuales, se denominan apolipoproteínas. Su composición consta de un núcleo que contiene triglicéridos y ésteres de colesterol y en su corteza colesterol no esterificado, fosfolípidos y apolipoproteínas <sup>11</sup>.

Las lipoproteínas se clasifican en 5 tipos de acuerdo con su densidad de flotación, donde las lipoproteínas más grandes y menos densas son los quilomicrones, les siguen las VLDL (Very Low Density Lipoproteins), IDL (Intermediate Density Lipoproteins), LDL (Low Density Lipoproteins) y las HDL. Las lipoproteínas reciben su nombre de sus siglas en inglés, como se muestra en la figura 1.



**Figura 1.- Esquema de densidades y tamaños de las lipoproteínas.** Se clasifican en 5 tipos de acuerdo con su densidad de flotación, donde las lipoproteínas más grandes son menos densas, con mayor contenido de lípidos y de mayor tamaño en comparación con las más densas. Las lipoproteínas reciben su nombre de sus siglas en inglés. (Modificado de Barquera S; 2009).

Existe otra clasificación utilizada de acuerdo con el contenido en apolipoproteínas, donde se pueden identificar dos clases; las lipoproteínas que contienen Apo-B (VLDL, IDL, LDL y quilomicrones) y las que contienen Apo-AI como las HDL <sup>12</sup>. Cada tipo de lipoproteína tiene diferente composición proteica y lipídica como se muestra en la tabla 1. Las HDL son las lipoproteínas con mayor contenido de proteína, uno de los factores a los que se les atribuye su papel cardioprotector <sup>2</sup>.

**Tabla 1. Porcentaje de los componentes de las lipoproteínas.**

Lipoproteína (%)	Proteína	Colesterol	Triglicéridos	Fosfolípidos
Quilomicrones	1-2	1-3	90-95	3-6
VLDL	6-10	4-8	45-65	15-20
IDL	20	38	35	30
LDL	18-22	50	4-8	18-24
HDL	45-55	20-25	2-7	26-32

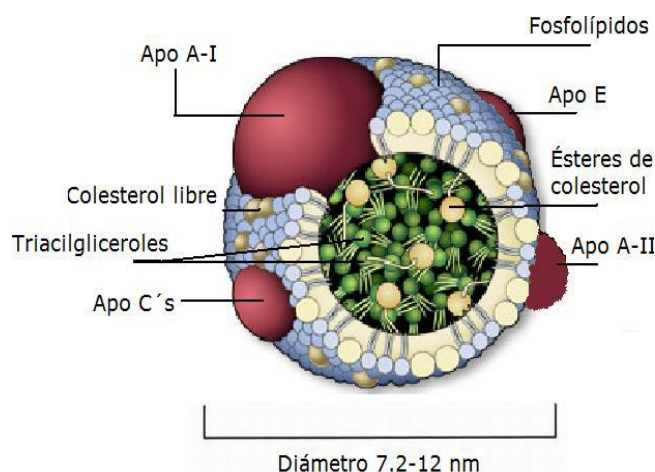
Se muestran los porcentajes de proteína, colesterol, triglicéridos y fosfolípidos de cada lipoproteína. (Modificado de Barquera S. y Campos I; 2009).

## 1.2 Lipoproteínas de alta densidad

Las HDL son un grupo heterogéneo de tamaño relativamente pequeño y alta densidad (1.063-1.21 g/mL). Difieren en su composición y función debido al constante recambio de colesterol y otros compuestos lipídicos en su paso por los tejidos periféricos. Se caracterizan por ser complejos pseudomicelares estructurados en su interior por colesterol esterificado y triglicéridos, y en su superficie por colesterol libre y fosfolípidos <sup>11</sup> (Figura 2).

Al ser insolubles en agua, los lípidos no polares se encuentran hacia el interior de la molécula, lo que garantiza su transporte en medios acuosos tales como el plasma sanguíneo <sup>2</sup>. El 50 % de su masa está constituida por proteínas y tienen además una proporción muy importante de fosfolípidos. Se ha demostrado que partículas ricas en estos componentes, son muy eficientes al promover el eflujo de colesterol de placas de aterosclerosis. El eflujo se refiere a la salida del excedente de colesterol intracelular <sup>9, 13</sup>.

Dentro del contenido proteico de las HDL, la Apo-AI es su apolipoproteína característica; representa el 70 % de su contenido en proteína seguida de la Apo-AII, la segunda con mayor abundancia en su estructura que junto con otras apolipoproteínas tales como Apo-C, Apo-E, Apo-D, Apo-J, Apo-AIV confieren estabilidad fisicoquímica a las HDL <sup>2,9</sup>.



**Figura 2.- Estructura de las lipoproteínas de alta densidad.** Se esquematiza la estructura pseudomicelar de la partícula, los lípidos anfipáticos en la superficie, los hidrófobos en el interior y las apolipoproteínas que se integran a la partícula estabilizándola. (Modificado de Toledo I, 2010)

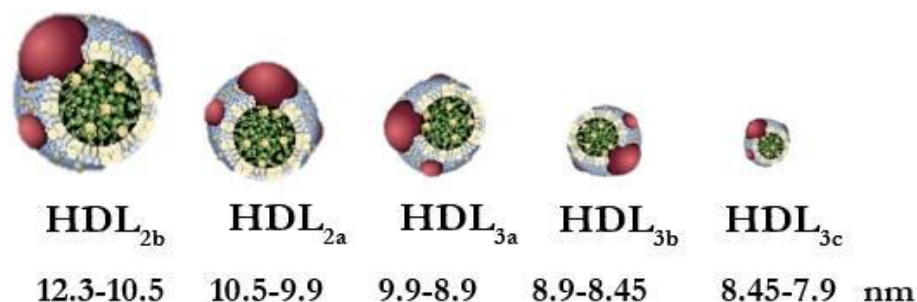
### 1.2.1 Clasificación de las HDL

Se han descrito diferentes subclases de HDL en función de características fisicoquímicas y de composición, que difieren en tamaño, forma, densidad y carga. Cada una de estas, posee distintas capacidades antioxidantes, antiaterogénicas y de potencial para promover el eflujo de colesterol de los tejidos, motivo por el cual, se ha sugerido que la evaluación de su función refleja mejor su potencial antiaterogénico que el C-HDL *per se* <sup>14</sup>.

Las HDL se clasifican de acuerdo con su densidad en:

- HDL-2 (densidad de flotación entre 1.063 y 1.12 g/mL)
- HDL-3 (densidad de flotación entre 1.12 y 1.21 g/mL) <sup>15</sup>.

Durante el metabolismo de las HDL o transporte reverso del colesterol (TRC), las HDL de reciente formación son denominadas HDL-3 y se distinguen por ser ricas en proteínas y fosfolípidos, mientras que las HDL maduras, son llamadas HDL-2; las cuales son abundantes en lípidos. Otro método de separación se basa en su tamaño, el cual, se determina por el radio hidrodinámico de las HDL. De esta manera, se subdividen en cinco subclases, en orden decreciente de tamaño: HDL-2b, HDL-2a, HDL-3a, HDL-3b y HDL-3c, como se muestra en la Figura 3 <sup>16,17</sup>.



**Figura 3.- Clasificación de las HDL de acuerdo con su radio hidrodinámico.** Se presenta la clasificación de las HDL por su densidad de flotación, en conjunto con su radio hidrodinámico. (Modificado de Toledo I, 2010).

### 1.2.2 Relación de composición y función de HDL

Las HDL son partículas dinámicas, su tamaño, composición lipídica y proteica está determinada por su remodelación, producto del intercambio de ésteres de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos con otras lipoproteínas y tejidos periféricos. Enzimas, proteínas, receptores celulares y el transporte de lípidos modifican constantemente su composición convirtiéndolas en un grupo muy heterogéneo que difiere en su estructura y actividad biológica, principalmente debido a su distinto contenido lipídico y de apolipoproteínas <sup>2</sup>.

Por lo anterior, en décadas recientes se ha propuesto que la funcionalidad de las HDL posee mayor importancia en su rol ateroprotector su contenido de colesterol, el cual, ha mostrado una relación inversa entre su concentración plasmática y riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo, datos epidemiológicos establecieron que el intento de un aumento del nivel de colesterol-HDL (C-HDL) con terapias farmacológicas no es suficiente para reducir el riesgo de EAC <sup>18, 19</sup>.

Diversas funciones protectoras como su función antioxidante en el endotelio o su capacidad de remover el colesterol de tejidos periféricos no pueden ser evaluadas por medio de la concentración de colesterol-HDL, ya que estas funciones son el resultado de mecanismos locales. En consecuencia, el desarrollo de métodos que evalúen la función y composición de las HDL y que estén al alcance de laboratorios clínicos es un objetivo deseable <sup>20</sup>.

Actualmente es aceptado que la funcionalidad HDL está estrechamente relacionada con la composición y la calidad de las moléculas <sup>21</sup> y que su función antiaterogénica no siempre está relacionada a las concentraciones plasmáticas de C-HDL <sup>22</sup> por lo que los investigadores se han enfocado actualmente a la evaluación de la función y composición de las HDL.

Además, el síndrome metabólico (SM) o hipertrigliceridemia enriquecen el contenido de triglicéridos de HDL. Las HDL ricas en triglicéridos resultan en una disminución de niveles de C-HDL. En consecuencia, los hepatocitos no pueden captar las HDL a través del receptor SR-B1 (Scavenger Receptor B type 1) tan fácilmente, lo que reduce la eficacia del Transporte Reverso del Colesterol (TRC). Por lo tanto, las anomalías metabólicas y estados proinflamatorios pueden resultar en HDL disfuncionales <sup>23</sup>.

La hipertrigliceridemia afecta la afinidad de HDL para interactuar con distintos receptores, lo que modifica su capacidad de unir lípidos a su superficie, esto podría ser el factor etiológico de las HDL disfuncionales, que promueven la oxidación del C-LDL, convirtiéndose en moléculas proinflamatorias <sup>20</sup>. También se ha reportado que las HDL aisladas de sujetos con obesidad abdominal poseen menor capacidad para revertir la inhibición de la relajación dependiente del endotelio del anillo aórtico por LDL oxidadas (LDLox) en comparación con HDL de sujetos control sanos <sup>19</sup>.

Por lo anterior, es importante destacar que la heterogeneidad de los efectos vasculares de las HDL puede atribuirse a cambios en su proteoma y el lipidoma, es decir, cambios en la cantidad y tipo de proteínas y lípidos unidos a la partícula HDL. Estudios previos han descrito que la inhibición de la expresión de VCAM-1 mediante HDL reconstituidas varió cuando se usaron diferentes especies de fosfatidilcolina. Esto sugiere que la composición lipídica de HDL influye en su capacidad antiinflamatoria y es probable que sea un determinante importante de la funcionalidad de HDL <sup>19</sup>.

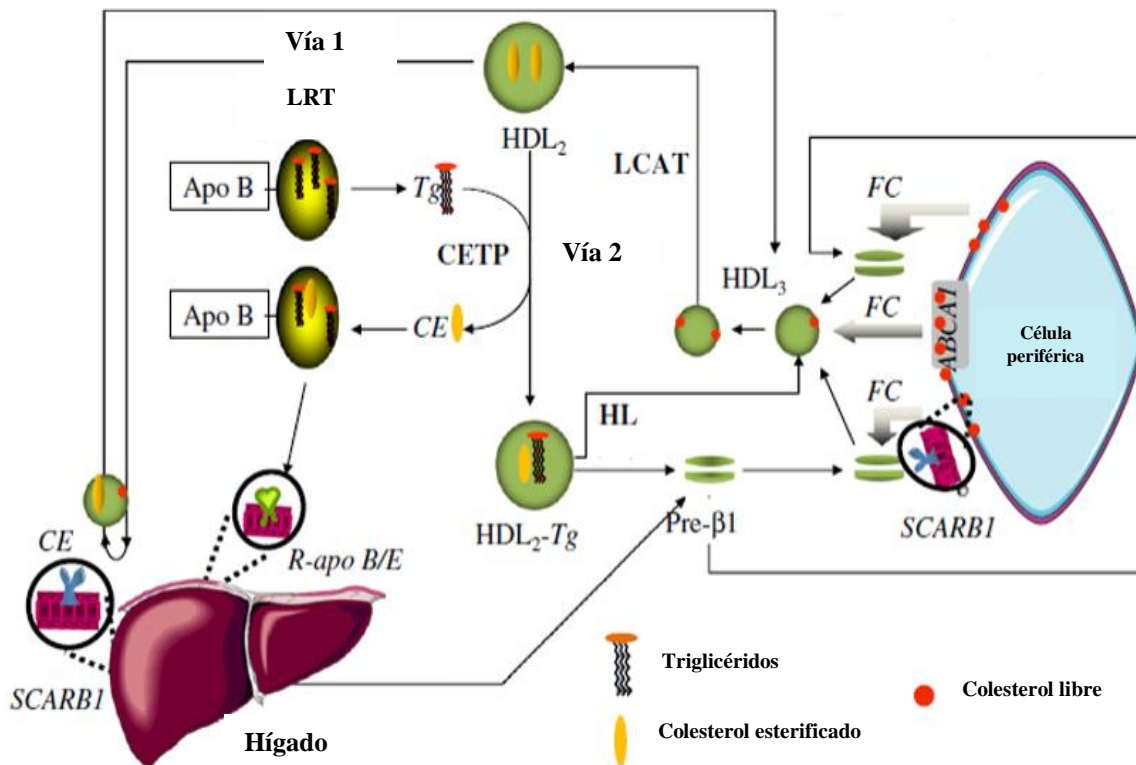
Estas observaciones indican que la composición de HDL puede alterarse en diferentes enfermedades que probablemente tengan un impacto su función. Cada vez es más evidente que la heterogeneidad funcional de HDL puede atribuirse a la complejidad de estas partículas, que contienen proteínas y lípidos que pueden modificarse o alterarse en su composición bajo diversas condiciones como enfermedad renal crónica, diabetes mellitus, enfermedad arterial coronaria y SM <sup>19</sup>.

### **1.2.3 Funciones de las HDL**

Las HDL evitan la acumulación de colesterol en las membranas celulares y tejidos periféricos al promover su eflujo a través del TRC, factor que les concede capacidad antiaterogénica y antitrombótica <sup>24,25</sup>. Asimismo, modulan la inflamación, a través de la regulación de las moléculas de adhesión (VCAM-1 y e-selectina), así como la inhibición de la expresión de interleucinas, como IL-8, y contribuyen a la función endotelial al estimular la síntesis de NO y lo protegen ante el estrés oxidante por medio de la acción de la enzima paraoxonasa (PON-1) <sup>9</sup>.

## 1.2.4 Transporte reverso de colesterol (TRC)

El TRC, consiste en el regreso de colesterol que proviene de los tejidos periféricos hacia el hígado para su reciclaje y/o excreción. Este proceso es representado esquemáticamente en la figura 4 y es el mecanismo principal por el cual se evita la formación de la placa aterosclerótica<sup>26,27</sup>. El colesterol proveniente de la ingesta dietética o síntesis hepática puede tener diferentes destinos durante su metabolismo. El primero consiste en la incorporación de la bilis, que, junto con los fosfolípidos, es excretado en las heces. El colesterol también puede ser eliminado por las células epiteliales e intestinales. Finalmente, una pequeña parte de este es destinada a la síntesis de hormonas esteroideas<sup>28,29</sup>.



### Figura 4.- Representación gráfica del transporte reverso o metabolismo de las HDL.

Tras su síntesis intestinal y hepática, las partículas precursoras de las HDL, denominadas partículas Pre-β1, son liberadas a la circulación; poseen una forma discoidal debido a su pobre contenido de lípidos, sin embargo, en su paso por los tejidos, rápidamente adquieren fosfolípidos y colesterol libre por medio del transportador ABCA1 (transportador dependiente de la unión de ATP, miembro 1 de la subfamilia de transportadores ABCA) convirtiéndose en HDL pequeñas y esféricas denominadas HDL-3. Posteriormente, el colesterol libre (FC) es esterificado por acción de la enzima LCAT. Las partículas se enriquecen con colesterol esterificado e incrementan su tamaño, además, de disminuir su densidad, convirtiéndose en HDL-2. A continuación, ésta es depurada en el hígado, y da como resultado una partícula remanente de HDL-3 que puede volver a iniciar el ciclo. Los remanentes de moléculas que contienen Apo-B, son catabolizadas en el hígado por el receptor Apo B/E, mientras que los triglicéridos de estas moléculas son intercambiados por colesterol esterificado de las HDL-2 a través de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP). Los triglicéridos recién captados por las HDL-2 son hidrolizados por la lipasa hepática, que junto con la proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP) la transforman nuevamente en Pre-β1 o HDL-3. Las partículas que contienen Apo-AI, son metabolizadas en el hígado por medio del receptor Apo B/E o a través del riñón. (Modificado de Pérez-Méndez et al; 2014).



### 1.2.5 Función endotelial de las HDL

El endotelio se constituye por monocapa de células que recubren las arterias, venas y capilares. Tiene un papel principal en la homeostasis vascular, vasodilatación, antitrombosis y producción de NO, el cual, es liberado en respuesta a fuerzas mecánicas, y al estrés <sup>30,31</sup>. En décadas recientes, ha habido un interés creciente en el entendimiento de los efectos de las HDL sobre el endotelio, debido a que interactúan directamente con las células endoteliales y son transportadas e internalizadas en su porción luminal por transcitosis <sup>30</sup>.

Las HDL ejercen propiedades benéficas en el endotelio; estimulan la síntesis de NO, disminuyen la expresión de factor tisular y suprimen la expresión de moléculas de adhesión. De igual manera, participan en la regulación del tono vascular por la inducción de la ciclooxigenasa-2 (COX2) que incrementa la secreción de prostaciclina I-2 (PGI-2) en las células endoteliales <sup>24</sup>. Adicionalmente, disminuyen la síntesis de especies reactivas de oxígeno o ROS (Reactive Oxygen Species, por sus siglas en inglés), factores clave en el desarrollo de la EAC lo que se ha asociado a una menor progresión de aterosclerosis <sup>25</sup>.

También promueven la vasorelajación por distintos mecanismos; uno de ellos es el mantenimiento del microambiente lipídico. Es bien conocido que las oxLDL inducen la disfunción endotelial, inhibiendo la producción de NO, que es mediada por la enzima óxido nítrico sintasa (eNOS) a partir de L-arginina. Se ha descrito además que las HDL incrementan la estabilidad de la eNOS e inducen la cascada de señalización para su fosforilación, aumentando su tiempo medio de vida y su abundancia <sup>30,32</sup>.

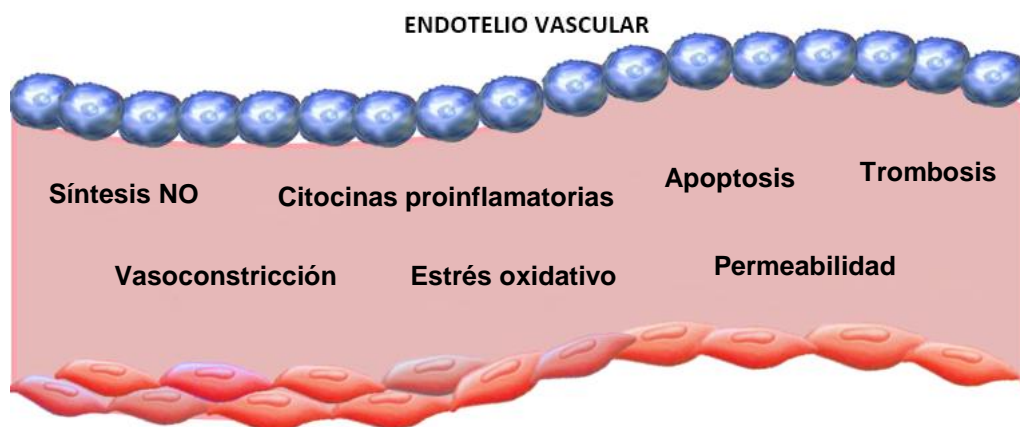
De igual manera, las HDL previenen la apoptosis de células endoteliales causada por oxLDL y Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), por inhibición de la vía apoptótica mitocondrial. Por otra parte, promueven la unión celular, por medio de la esfingosina-1-fosfato asociada a las HDL, lo que favorece la integridad del endotelio. También, protegen su integridad por la promoción del reparamiento de lesiones vasculares. Asimismo, el endotelio posee un receptor para HDL, SR-BI y la proteína de membrana ABCA1 (ATP-Binding Cassette A1). Estas proteínas podrían participar en la internalización de las HDL en el endotelio vascular, aunque aún se desconoce si este proceso ocurre durante la recolección de colesterol de los tejidos periféricos <sup>32,33</sup>.

Debido a su creciente importancia, se han desarrollado técnicas para la medición de la función endotelial. Una de las más comunes es la prueba de Dilatación Mediada por Flujo (DMF), debido a que es accesible y no invasiva. Consiste en medir ultrasonido el diámetro de la arteria braquial después de la hiperemia reactiva mediada por el endotelio posterior a una oclusión del flujo sanguíneo. El esfigmomanómetro es colocado por encima del antebrazo y se aplica una presión de 200-300 mmHg durante 5 minutos. El porcentaje de cambio de diámetro después de la hiperemia se ha propuesto como una medición de la función microvascular periférica <sup>34</sup>.

La función endotelial medida por DMF no es normal en sujetos con hipercolesterolemia y síndrome metabólico. Los factores de riesgo cardiovascular como hipertensión, DM2 e hipercolesterolemia, están asociados a alteraciones en la función endotelial, así como una vasodilatación dependiente de endotelio deteriorada, la cual se asocia a un mayor riesgo cardiovascular <sup>30</sup>.

### 1.3 Disfunción endotelial.

En condiciones normales, las células endoteliales intervienen en diversos procesos involucrados en la homeostasis vascular, entre los que se encuentran la regulación de la fibrinólisis, presión arterial, y tono vascular. Las alteraciones en sus funciones se denominan disfunción endotelial. La liberación de NO regula el tono vasomotor en respuesta a sustancias que inducen la vasodilatación como la acetilcolina<sup>35</sup> y la reducción de su síntesis es característica de las primeras etapas de la disfunción endotelial favoreciendo la vasoconstricción, incremento en la apoptosis de las células endoteliales y un estado protrombótico<sup>30</sup>, así como un incremento de citocinas proinflamatorias que inducen estrés oxidativo, como se muestra en la figura 5<sup>36</sup>.



**Figura 5. Características de la disfunción endotelial.** Bajo condiciones patológicas se producen alteraciones en la homeostasis vascular a consecuencia de la pérdida o modificación en uno o más de los mecanismos protectores del endotelio, lo cual es conocido como disfunción endotelial (Modificado de Acosta A; 2006).

La disfunción endotelial se ha identificado como un factor común en todas las ECV. La diabetes mellitus, hipertensión, aterosclerosis y tabaquismo se han asociado con alteraciones en la relajación dependiente del endotelio<sup>35</sup>. En particular, se encuentra estrechamente relacionada con la EAC y aterosclerosis, por lo que se le ha considerado como predictor de eventos clínicos y se ha propuesto como un mecanismo subyacente de las ECV<sup>31</sup>. La disfunción endotelial es uno de los primeros pasos involucrados en la aterosclerosis, que conlleva al desarrollo de EAC; se ha observado que las HDL de pacientes con enfermedad coronaria, exhiben propiedades proinflamatorias cuando son expuestas a células endoteliales<sup>37</sup>.

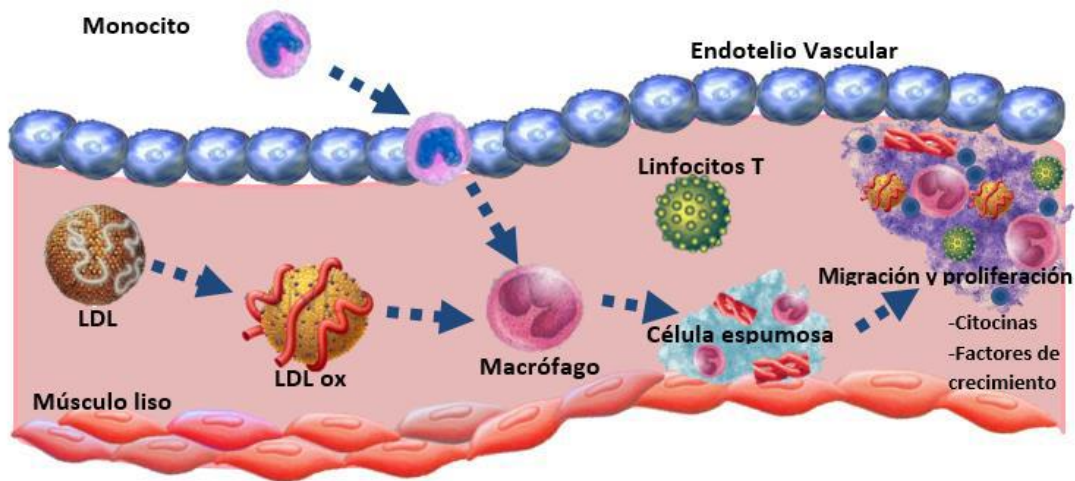
En adición, las Lipoproteínas Ricas en Triglicéridos (LRT) aisladas por ultracentrifugación secuencial de pacientes con función endotelial alterada mostraron sobre enriquecimiento de triglicéridos en comparación con LRT de pacientes con función endotelial normal, y estas lipoproteínas afectan de manera significativa la función endotelial, inhibiendo la relajación. Asimismo, se ha observado que el contenido de triglicéridos de las LRT se correlaciona directamente con el grado de inhibición de la relajación en el endotelio en ensayos *in vitro*<sup>38, 39, 40</sup>. Por otro lado, se observó en sujetos obesos que los macrófagos activados se infiltran en los adipocitos y promueven la liberación de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  y Proteína C Reactiva (PCR), que promueven la disfunción endotelial. Asimismo, los

ácidos grasos libres liberados por el tejido adiposo disfuncional causan efectos tóxicos en el endotelio vascular, lo cual puede perjudicar la producción de agentes vasodilatadores <sup>41,42</sup>. Cabe destacar que la disfunción endotelial se encuentra estrechamente relacionada con la patogénesis del síndrome metabólico, asimismo, en la presencia de obesidad central, el tejido adiposo perivascular que rodea el corazón y las arterias puede tornarse disfuncional y afectar la función vascular, lo que contribuiría al desarrollo de aterosclerosis y disfunción endotelial, en el proceso que se detalla a continuación <sup>38</sup>.

## 1.4 Formación de la lesión aterosclerótica

En el subendotelio, la acción proaterogénica de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), favorece el desarrollo de aterosclerosis. Cuando estas lipoproteínas son oxidadas por ROS en el espacio subendotelial, propician la generación de radicales libres, y a su vez, promueven la producción de citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento que favorecen el desarrollo de la placa ateromatosa <sup>25</sup>.

Las LDL oxidadas son fagocitadas por los macrófagos, dando lugar a una acumulación de lípidos en su citoplasma, lo que origina una célula espumosa que, a su vez, promueve una respuesta inflamatoria al estimular la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio, necesarias para la migración de los leucocitos hacia el espacio subendotelial. Entre estas moléculas, se encuentran las moléculas de adhesión celular vascular (VCAM-1), moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y E-Selectina <sup>26</sup>. La apoptosis celular junto con la disfunción endotelial provocada por el ateroma, inducen un aumento en la permeabilidad de la pared vascular, factores clave en el inicio del proceso aterosclerótico (Figura 6).



**Figura 6.- Formación de la placa ateromatosa.** En zonas donde existen alteraciones de la permeabilidad en el endotelio vascular se facilita la infiltración de LDL al espacio subendotelial, donde se modifican por ROS, formando LDLox. Esto genera una respuesta de los monocitos que se adhieren al endotelio activado, el cual genera la sobreexpresión de moléculas de adhesión (ICAM, VCAM). Los monocitos penetran en la pared y se diferencian a macrófagos, los cuales captan LDLox y se transforman en células espumosas. Las células musculares lisas de la media, activadas por citocinas y factores de crecimiento, migran a la íntima y proliferan provocando apoptosis y contribuyen a la evolución de la lesión. (Modificado de Libby P, *et al.* 2010).

La relevancia clínica y científica de la disfunción endotelial se fundamenta en que ésta es un factor común en la patogénesis de las enfermedades crónicas y cardiovasculares, tales

como la aterosclerosis y la enfermedad arterial coronaria y se presenta incluso antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas <sup>31, 34</sup>.

## **1.5 Enfermedades cardiovasculares**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son aquellas que no se transmiten de persona a persona y son caracterizadas por su larga duración y lenta evolución<sup>1</sup>. En México conforman las principales causas de mortalidad general, propician la incapacidad temprana y su tratamiento se caracteriza por ser complejo y de costo elevado <sup>6</sup>. Dentro de estas destacan las ECV, que constituyen la principal causa de muerte en México y el mundo <sup>43</sup>.

Las ECV incluyen enfermedades del corazón, enfermedades vasculares cerebrales y enfermedades de los vasos sanguíneos. Existen distintos tipos de ECV, dentro de las que destacan las causadas por aterosclerosis. Las manifestaciones clínicas de la aterosclerosis son la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial coronaria (EAC) o enfermedad isquémica del corazón y existen diversos factores que propician su aparición o progresión <sup>44</sup>.

### **1.5.1 Factores de riesgo cardiovascular:**

Diversos factores pueden incrementar el riesgo metabólico y favorecer el desarrollo de ECV, por ejemplo, el sobrepeso, la obesidad, HTA, tabaquismo, antecedentes familiares, factores genéticos y dislipidemias <sup>45</sup>.

Por otro lado, la dieta es reconocida como un factor de riesgo importante en el desarrollo y prevención de ECNT debido a que, en la actualidad, es habitual el consumo desorganizado y frecuente de alimentos con un elevado contenido calórico y poco valor nutricional, ricos en hidratos de carbono simples y grasas saturadas <sup>44,46</sup>. La coexistencia de patrones dietéticos inadecuados y estilo de vida no saludable como la ingesta excesiva de alcohol e inactividad física han favorecido un incremento potencial en la prevalencia de las ECV <sup>47,48</sup>.

No obstante, este riesgo podría ser revertido con cambios en el estilo de vida, lo que ofrece la oportunidad de implementar estrategias pronósticas o preventivas, así como farmacológicas que incidan en su aparición o progresión. Los principales objetivos para su prevención y tratamiento se centran en el control de la presión arterial, pérdida de peso, suspender el tabaquismo, incremento en la actividad física y alcanzar concentraciones plasmáticas normales de colesterol-HDL (C-HDL) y triglicéridos <sup>6</sup>.

La obesidad central, es decir, el exceso de tejido adiposo visceral ha mostrado ser un factor predictivo para el desarrollo de enfermedad coronaria; se asocia con frecuencia a alteraciones en el perfil de lípidos caracterizados por hipertrigliceridemia en ayuno, incremento en las concentraciones de insulina, disminución de C-HDL e incremento de colesterol LDL (C-LDL). Se puede estimar por la medición de la circunferencia de cintura (> 88 cm en mujeres y >102 cm en hombres) <sup>49</sup>.

Por otra parte, el síndrome metabólico (SM) incrementa potencialmente el riesgo cardiovascular <sup>5</sup>. Según el Panel de expertos del programa nacional de educación sobre la detección, evaluación, y tratamiento del colesterol sanguíneo elevado en adultos, de Estados Unidos de América (ATP IV, por sus siglas en inglés), se define como un conjunto de factores de riesgo metabólico, que se encuentran ligados con un incremento del riesgo

de ECV, entre los cuales se incluyen; dislipidemia aterogénica, obesidad abdominal, presión arterial elevada y un estado protrombótico e inflamatorio. Cabe destacar que se encuentra estrechamente relacionado con la resistencia a la insulina, es decir, la respuesta de los tejidos a la insulina es ineficiente, lo que incrementa el riesgo de desarrollar DM2. El criterio para su diagnóstico es la presencia de 3 o más de las siguientes características <sup>49</sup>:

- Circunferencia de cintura: hombres > 102 cm, mujeres > 88 cm.
- Presión arterial  $\geq$  130/85 mmHg.
- Glucosa en ayuno  $\geq$  110 mg/dL.
- **Dislipidemia aterogénica:**  
Triglicéridos  $\geq$  150 mg/dL o C-HDL hombres < 40 mg/dL, mujeres < 50 mg/dL.

## 1.6 DISLIPIDEMIAS

Las dislipidemias se definen como anomalías en las concentraciones de lípidos plasmáticos que incrementan considerablemente el riesgo cardiovascular. La hipoalfalipoproteinemia, es decir, concentraciones plasmáticas de C-HDL <40 mg/dL en hombres y <50 mg/dL en mujeres, constituyen el factor más común en la población mexicana. Así como el aumento en la concentración de C-LDL e hipertrigliceridemia, que es reconocida como un factor independiente de riesgo cardiovascular <sup>6</sup>.

Los valores de referencia para el perfil de lípidos según el ATP IV se resumen a continuación en la tabla 2.

**Tabla 2. Valores de referencia de concentraciones plasmáticas de lípidos.**

<b>Colesterol Total</b>		<b>Triglicéridos</b>	
< 200 mg/dL	Deseable	< 150 mg/dL	Normal
200 a 239 mg/dL	Limítrofe	150 a 199 mg/dL	Limítrofe
> 240 mg/dL	Alto	200 - 499 mg/dL	Alto
<b>Colesterol-HDL</b>		<b>Colesterol-LDL</b>	
< 40 mg/dL	Factor de riesgo	< 100 mg/dL	Óptimo
40 to 59 mg/dL	Normal	130 a 159 mg/dL	Limítrofe
> 60 mg/dL	Protector	160 a 189 mg/dL	Alto

Se han establecido rangos de concentraciones plasmáticas de lípidos para la determinación del riesgo cardiovascular (Modificado de: Adult Treatment Panel IV, ATP IV).

### 1.6.1 Hipertrigliceridemia

La elevación de triglicéridos plasmáticos se reconoce como un factor clínico independiente que contribuye al aumento del riesgo cardiovascular y desarrollo de aterosclerosis<sup>39, 50</sup>. El ATP IV clasifica la hipertrigliceridemia de la siguiente manera:

- **Normal:** <150 mg/dL
- **Límite superior:** 150-199 mg/dL
- **Alto:** 200-499 mg/dL
- **Muy alto:** 500 mg/dL

La hipertrigliceridemia se clasifica de acuerdo con su origen en primaria, como consecuencia de defectos genéticos que intervienen en el metabolismo de los triglicéridos, por ejemplo, la hipertrigliceridemia familiar y la deficiencia de lipoproteinlipasa (LPL). Esta enzima que tiene un rol primordial en la hidrólisis de triglicéridos a ácidos grasos y acil glicerol en las lipoproteínas, principalmente quilomicrones y VLDL; la LPL se encuentra localizada en el endotelio de los capilares, en el tejido muscular y adiposo<sup>2, 51</sup>.

La hipertrigliceridemia secundaria es resultado de la ingesta excesiva de alcohol, sedentarismo, diabetes no controlada, resistencia a la insulina, hipotiroidismo, sobrepeso y obesidad, así como ingesta dietética excesiva de carbohidratos simples. En condiciones normales durante la glucólisis el piruvato es convertido a acetil-CoA, sin embargo, cuando hay una ingesta excesiva de energía, el acetil CoA se convierte en Malonil-CoA, por el acetil CoA-carboxilasa, precursor de todos los ácidos grasos de cadena larga, lo que origina la síntesis en exceso de triglicéridos<sup>2, 51</sup>.

A su vez, los quilomicrones transportan los triglicéridos postprandiales, así como las LDL y VLDL los derivados de la síntesis hepática e intestinal, principalmente al hígado y tejidos periféricos. Estas lipoproteínas ricas en triglicéridos pueden promover el desarrollo de aterosclerosis por su efecto negativo sobre la vasodilatación mediada por endotelio, incremento en la agregación plaquetaria y captación de colesterol de los macrófagos en el espacio subendotelial, lo que promueve la progresión de la placa aterosclerótica y el riesgo de un evento cardiovascular. Además, la hipertrigliceridemia se relaciona con niveles bajos de C-HDL y elevación de C-LDL, lo que propicia la disminución del eflujo del colesterol desde las placas ateroscleróticas, así como una respuesta antiinflamatoria por HDL disminuida<sup>50, 51, 52</sup>.

Los remanentes de lipoproteínas como quilomicrones y VLDL, generan sustancias tóxicas que podrían dañar el endotelio vascular. De igual forma, las LDL más pequeñas y densas poseen mayor potencial aterogénico, debido a que es más fácil que penetren la pared arterial y sean menos resistentes al estrés oxidante. Asimismo, la apolipoproteína C-III, característica de los quilomicrones, las VLDL y las IDL, inhibe la función de la LPL, además de activar las células endoteliales vasculares y promover factores de adhesión celular<sup>37, 39</sup>.

Por otro lado, la obesidad ha contribuido de forma importante en el aumento de la prevalencia de hipertrigliceridemia, debido a que la acumulación de grasa visceral y disfunción del tejido adiposo se acompañan de un incremento en la liberación de ácidos grasos libres a la circulación, propiciando el desarrollo de hígado graso no alcohólico e incremento de la síntesis hepática de triglicéridos, lo que incrementa el riesgo cardiovascular<sup>37, 53</sup>.

### 1.6.2 Epidemiología de la hipertrigliceridemia

La población mexicana presenta mayor prevalencia de hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia (60.5%) que poblaciones caucásicas (18.7%). En México, las dislipidemias son el factor de riesgo cardiovascular más frecuente. La prevalencia de la hipertrigliceridemia es 31.5% en población mexicana, y es más común en personas que presentan obesidad o diabetes. También, su prevalencia es proporcional a la edad y es más frecuente en el sexo masculino (36.9% en hombres y 26.9% en mujeres) <sup>2, 54</sup>.

La frecuencia de los alelos de susceptibilidad para dislipidemias en población mexicana es mayor que la encontrada en poblaciones europeas para varios de los genes que tienen mayor efecto sobre las concentraciones séricas de triglicéridos o de C-HDL. Tal es el caso de las variantes de *APOA5* y *MLXIPL* para la hipertrigliceridemia. Los genes con las asociaciones más fuertes con las concentraciones de triglicéridos son: *TRIB1*, *ANGPTL3*, *LPL*, *GCKR*, *FADS1-2-3* y *MLXIPL* y de *ABCA1* y *CETP* para la hipoalfalipoproteinemia las variantes R230C del transportador *ABCA1*, un haplotipo de riesgo en *SIK3* y el rs1349411 en *APOBEC1*, que a su vez pueden propiciar modificaciones en el metabolismo de las lipoproteínas <sup>54</sup>.

Dada la importancia de la hipertrigliceridemia sobre el incremento del riesgo cardiovascular, se han explorado diversas terapias dietéticas y farmacológicas. Entre estas destacan los ácidos grasos poliinsaturados, que ejercen un papel cardioprotector y modifican el perfil de lípidos, principalmente disminución la concentración sérica de triglicéridos, así como la progresión de la lesión aterosclerótica <sup>8</sup>.

## 1.7 Ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena larga, de número par de carbonos y que pueden contener insaturaciones; si éstas están presentes, tienen isomería *cis*. Los ácidos grasos se pueden clasificar de acuerdo con el número de insaturaciones en su cadena policarbonada, de los que se derivan <sup>55</sup>.

- Ácidos grasos saturados (sin doble enlace entre sus carbonos).
- Ácidos grasos monoinsaturados (1 solo doble enlace entre sus carbonos).
- Ácidos grasos poliinsaturados (2 o más dobles enlaces entre sus carbonos).

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés), se pueden agrupar en Omega-3, que incluye a los ácidos  $\alpha$ -linolénico (ALA), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) y en omega-6 (n-6), que incluye a los ácidos linoleico (LA) y araquidónico. Su denominación corresponde de acuerdo con la ubicación del primer doble enlace a partir del metilo terminal <sup>55</sup>.

### 1.7.1 Omega-3

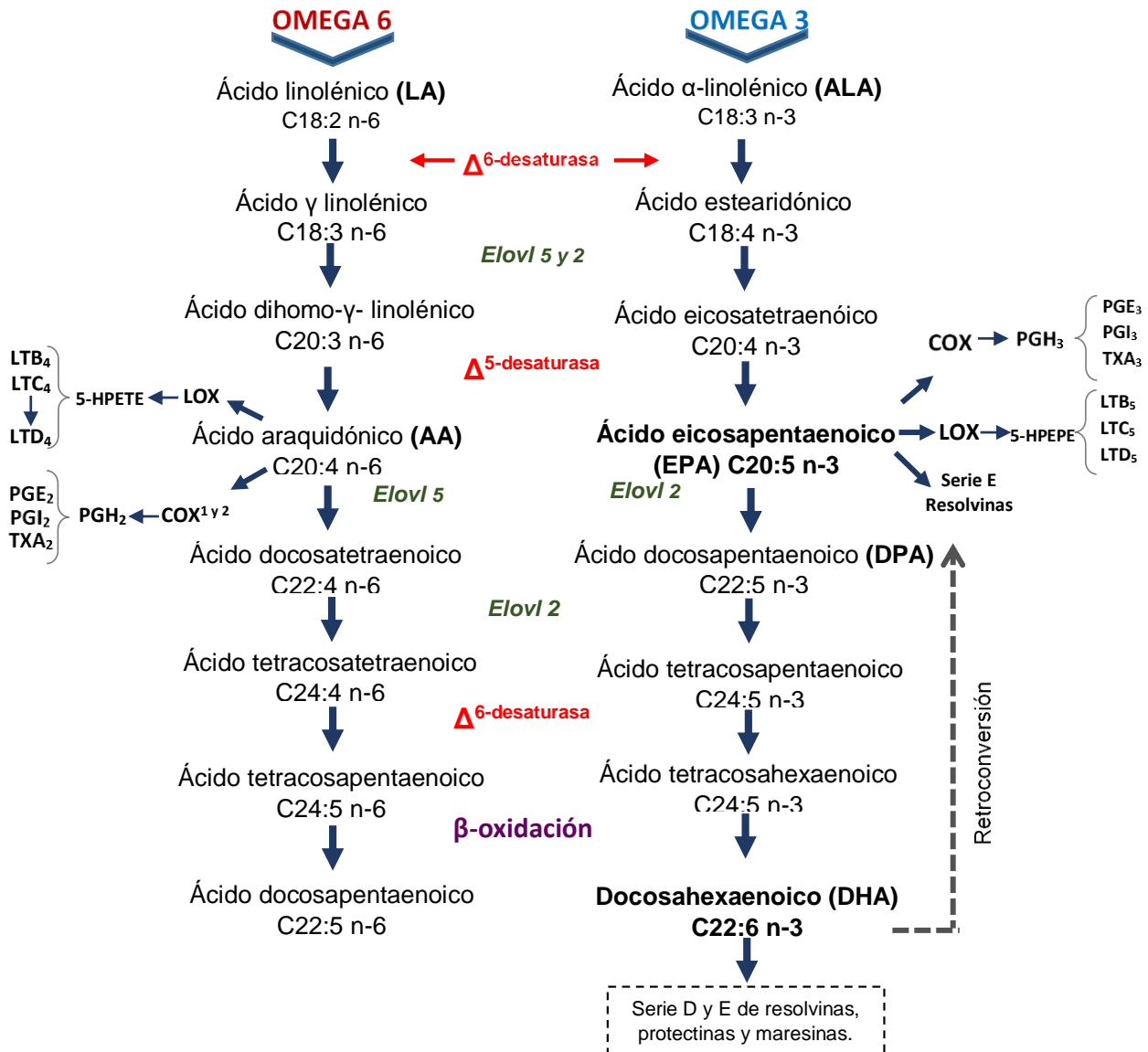
Se denominan esenciales, debido a que el cuerpo humano carece de las enzimas necesarias para añadir un doble enlace en la posición Omega-3 o -6 de la cadena de carbonos, o no los sintetiza en cantidad suficiente para los requerimientos celulares, por lo que deben ser obtenidos de la dieta. El ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) se obtiene principalmente de aceites vegetales como nueces, semillas, chía y linaza, pero la principal fuente de EPA y DHA la constituyen pescados de agua fría y sus aceites, incluyendo el salmón, sardina, atún, así como algunas algas. En los humanos, el consumo de ALA tiene una tasa muy baja de conversión, alrededor del 8% para EPA y menos del 0.1% para DHA, por lo que requieren una ingesta importante de estos productos para cubrir los requerimientos tisulares <sup>55,56</sup>.

### 1.7.2 Metabolismo de Omega-3

Las dos series de PUFAs se derivan de una serie de elongaciones y desaturaciones usando el mismo complejo enzimático para ambas vías, como se muestra en la figura 7. El ALA y LA, comparten vías metabólicas y compiten por la  $\Delta^6$ -desaturasa. Como resultado de este proceso, el ALA es convertido en EPA y DHA y el LA se convierte en ácido araquidónico (AA), que posee un potente efecto proinflamatorio <sup>57</sup>.

Los productos derivados de la conversión del EPA tienen efectos proinflamatorios significativamente menores que los del AA, incluso poseen un efecto inhibitorio competitivo de las citocinas proinflamatorias. El ALA compite por la  $\Delta^6$ -desaturasa con el LA mientras que el EPA compite con el AA por las vías de la ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX). Esta es una de las razones a las que se les atribuye el efecto cardioprotector al EPA y al LA. Además, ALA y EPA conducen a una mayor síntesis de resolvinas, protectinas y lipoxinas, sustancias que actúan como mediadores lipídicos que promueven la vasodilatación y poseen propiedades antiinflamatorias <sup>57, 58, 59, 60, 61</sup>.





**Figura 7. Metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados.** A través de COX y LOX, el AA es convertido en la serie 2 de prostaglandinas, y tromboxanos (TX), la serie 4 de leucotrienos (LT) y lipoxinas. En competencia con LOX y COX, el EPA es convertido a la serie 5 de LT y serie 3 de PG y TX. Entre las prostaglandinas derivadas del AA se encuentra la PGE<sub>2</sub>, que induce inflamación, dolor e incremento en la permeabilidad vascular, así como el tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), que es un potente vasoconstrictor y agregante plaquetario. Asimismo, se derivan leucotrienos que ejercen una acción proinflamatoria, como los leucotrienos B<sub>4</sub> C<sub>4</sub> D<sub>4</sub>. El EPA puede ser convertido mediante COX y LOX a la serie de resolvinas D y E. La prostaglandina E<sub>2</sub> promueve la inflamación y permeabilidad vascular, así como los leucotrienos (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub> y LTD<sub>4</sub>) que estimulan la acción de citoquinas proinflamatorias. Por el contrario, los productos derivados del ALA (TXA<sub>3</sub>, PGI<sub>3</sub>, PGE<sub>3</sub> y LTB<sub>5</sub>) poseen efectos proinflamatorios menos potentes y antagonizan los de los eicosanoides derivados del AA. (Modificado de Cottin, 2011, Valenzuela R, 2011, Wiktorowska, 2015)

### **1.7.3 Omega-3 y enfermedad cardiovascular**

Los patrones dietéticos de la actualidad han ocasionado un cambio en la proporción del consumo de n-6 y n-3, debido al elevado consumo de aceites vegetales y pobre ingesta de productos de origen marino como pescados, mostrando una relación de 12:1 de n-6 y n-3 respectivamente. Sin embargo, en poblaciones donde existe un consumo elevado de productos marinos con contenido elevado de n-3, como en la población japonesa y esquimales, existe significativamente menor incidencia de ECV como hipertensión e infartos<sup>61</sup>. Asimismo, se ha observado menor incidencia de eventos coronarios en el tratamiento combinado de estatinas y n-3 en comparación con los que únicamente llevaban tratamiento farmacológico<sup>7,27</sup>.

Derivado de estas observaciones, se ha investigado el papel de los n-3 como agentes cardioprotectores, particularmente EPA y DHA<sup>15</sup>. Los n-3 se asocian a una menor incidencia de arritmias cardíacas, inhibición de la agregación plaquetaria, disminución de la presión arterial y frecuencia cardíaca, mejora en la función endotelial debido a que promueven la síntesis o liberación de NO<sup>55</sup>, así como efectos antitrombóticos, disminuyen la coagulación al reducir la adherencia de plaquetas en las arterias y regulan procesos inflamatorios, característicos en el desarrollo de EAC<sup>7, 35, 60</sup>. También, se consideran protectores de la aterosclerosis debido a su efecto en la disminución de colesterol plasmático, así como el colesterol VLDL, pero principalmente por la reducción en la concentración de triglicéridos en el plasma<sup>56</sup>.

Se ha observado que el consumo de 0.5 a 1.8 g/día de n-3 reduce significativamente la muerte por enfermedades cardíacas, por lo tanto, se han establecido recomendaciones específicas de consumo para la disminución del riesgo cardiovascular<sup>62</sup>. La Asociación Americana del Corazón recomienda de 2 a 4 g/d de EPA + DHA para la disminución de triglicéridos, logrando una reducción del 20% al 40%. Dosis de 3 a 6 gramos de n-3 han mostrado ser seguras en diversos ensayos clínicos. Esta dosis puede ser obtenida de productos como aceite de pescado o concentrados en forma de cápsulas<sup>62</sup>. Existen diversos mecanismos propuestos para el efecto cardioprotector de los n-3 que se describen a continuación.

### **1.7.4 Omega-3 y protección cardiovascular: mecanismos de acción**

Uno de los mecanismos por los que los n-3 han podrían ejercer efectos cardioprotectores y antitrombóticos es porque se ha mostrado que el EPA y DHA modifican el perfil lipídico, principalmente la reducción en la concentración de triglicéridos plasmáticos<sup>63</sup>.

La administración de concentrados de Omega-3 está indicada principalmente en hipertrigliceridemias graves, y ha mostrado ser una terapia segura, sin efectos secundarios graves<sup>61</sup>; siendo los más comunes la dispepsia, náusea, eructos o distensión abdominal, que disminuyen al administrarse junto con los alimentos. El porcentaje de disminución es dependiente del tiempo de administración, de los valores basales de triglicéridos y la dosis administrada de n-3. Es importante destacar que pacientes con concentraciones menores de triglicéridos experimentarán una disminución menor<sup>63</sup>.

Las modificaciones en las concentraciones de triglicéridos mediados por la administración de Omega-3 se pueden observar en un periodo de 2 a 4 semanas y se necesita el mismo periodo para su eliminación del organismo después de discontinuar su administración. Los

ácidos grasos n-3 son almacenados en el tejido adiposo y las membranas de eritrocitos por un periodo aproximado de 4 meses, sin embargo, sus concentraciones plasmáticas retornan a valores basales a las 2-4 semanas <sup>64</sup>.

Dosis de 4 g disminuyen en un 30% las concentraciones plasmáticas en sujetos con triglicéridos >500 mg/dL. Se ha propuesto que puede ser por medio de la inhibición de la enzima acil-coenzima-A 1,2-diacylglycerol aciltransferasa, disminución en la lipogénesis e incremento en la oxidación mitocondrial y peroxisomal e incremento en la expresión del gen de LPL en el tejido adiposo. También se ha observado que la HMGC<sub>o</sub>-A es inhibida in vitro en hepatocitos por el EPA y DHA <sup>57</sup>.

Además, los n-3 pueden reducir la síntesis y secreción hepática de triglicéridos y acelerar el aclaramiento de quilomicrones promoviendo la actividad de la LPL. La disminución de la incorporación de triglicéridos a las VLDL reduce la secreción de triglicéridos. Los ácidos grasos, fungen como sustratos para la síntesis de triglicéridos, y son degradados por medio de la  $\beta$ -oxidación. Los n-3 podrían disminuir la lipogénesis hepática, debido a que se ha observado que incrementan la  $\beta$ -oxidación en los peroxisomas y mitocondria, dejando menor disponibilidad de sustrato para la síntesis de triglicéridos e incrementan la degradación de apoB-100 <sup>53</sup>.

También, podría deberse a la reducción de la ApoC-III, un componente de las LRT que eleva los triglicéridos por inhibición de la LPL disminuye su lipólisis y el catabolismo de las lipoproteínas remanentes <sup>65</sup>. Los triglicéridos son transportados en las LRT como VLDL y quilomicrones, que pueden ser aclarados de la circulación en el hígado o en situaciones patológicas, depositarse en la pared arterial, como las LDL, que contribuyen al depósito de colesterol e inflamación vascular, lo que favorece el deterioro de la función endotelial. Cabe destacar que las concentraciones de LRT se consideran como un factor predictivo de eventos cardiovasculares, independientemente de los niveles de C-HDL o C-LDL <sup>35</sup>.

Por otro lado, un mecanismo esencial por los que los n-3 ejercen múltiples efectos metabólicos, es la activación de PPAR's (Peroxisome proliferator-activated receptor), para los que los n-3 actúan como ligandos. Los PPAR's y los SRBEP's (Sterol regulatory element-binding protein) son factores transcripcionales que tienen un papel esencial en el metabolismo de lípidos.

Los SRBEP's regulan la expresión de enzimas para la síntesis de ácidos grasos, triglicéridos y colesterol. La activación de estos factores estimula enzimas involucradas en la síntesis lipídica, tales como la acetil-CoA carboxilasa y la ácido-graso sintetasa. En este contexto, los n-3 suprimen la expresión del factor transcripcional SREBP-1, el cual activa genes involucrados en la síntesis de ácidos grasos, y que a su vez es un proceso regulado por PPAR's, por lo que parecen ser uno de los blancos más importantes para la regulación del metabolismo lipídico por medio de n-3 <sup>66</sup>.

Los PPAR's ejercen efectos distintos de acuerdo con sus diferentes isoformas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ); el EPA se une a todos los subtipos de PPAR. Por ejemplo, el PPAR- $\alpha$  se expresa en tejido adiposo marrón, tejido hepático, cardiaco, renal, intestino y musculo esquelético, e interviene en la regulación de genes del metabolismo de ácidos grasos, su transporte en membranas celulares y regulación de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y peroxisomal <sup>66</sup>.

El PPAR- $\gamma$  regula la diferenciación del tejido adiposo, lipogénesis, sensibilidad a la insulina y expresión de enzimas del metabolismo de lípidos como la LPL, e incrementa el aclaramiento de TG, mediada por la actividad de PPAR- $\gamma$ , estimulada por EPA <sup>57,67</sup>.

El PPAR- $\beta$  actúa como regulador de la oxidación de ácidos grasos en distintos tejidos, regula el metabolismo mitocondrial, interviene en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas, y posee una acción antagónica de la respuesta proinflamatoria <sup>66</sup>.

Ensayos clínicos han comprobado que los PPAR's podrían mediar una respuesta diferencial al tratamiento con n-3. Binia A, *et al* (2012), encontraron en población mexicana sana, que la presencia de los alelos *P12A* para PPAR- $\gamma$  y *L162V* para PPAR- $\alpha$  inducen una mejor respuesta en cuanto la disminución plasmática de triglicéridos en comparación a los sujetos con genotipo distinto, así como efectos diferenciales en otros marcadores metabólicos como adiponectina <sup>68</sup>.

Otro mecanismo de acción propuesto es la regulación del metabolismo mitocondrial vía la enzima carnitin-palmitoil-transferasa-1 (CPT1), que incrementa la oxidación de ácidos grasos en el músculo cardíaco y esquelético, así como en el intestino e hígado, y facilita su transporte en la mitocondria en estos tejidos. Asimismo, la expresión de CPT1 es regulada por los PPAR's, que a su vez son regulados por los n-3 <sup>69</sup>.

Otro de los factores que podrían intervenir en su efecto cardioprotector es su actividad antioxidante; Burillo *et al* (2012), encontraron que la suplementación con n-3 en sujetos fumadores, regula positivamente la expresión de proteínas de HDL como Apo-AI, PON-1 y otras proteínas implicadas en el metabolismo de lípidos, fibrinólisis, señales de transducción y oxidación, aún sin cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos <sup>70</sup>.

Además, los n-3 se encuentran en mayor concentración en los fosfolípidos membranales en comparación con otros compartimentos, y estos responden a su vez de forma rápida a modificaciones dietéticas, por lo que son un buen parámetro para medir el EPA y DHA, que son precursores de metabolitos lipídicos como pro resolvinas especializadas y monoepóxidos generados por citocromo P450, los que podrían contribuir a un menor riesgo cardiovascular <sup>61</sup>. De tal forma, el EPA y DHA inhiben el AA de forma competitiva durante su metabolismo, así como otras moléculas proinflamatorias, como las prostaglandinas, citocinas y leucotrienos. Es posible que la reducción del estrés oxidante y ambiente proinflamatorio mediado por los n-3 resulte en una mejora de la vasodilatación <sup>58</sup>.

Otro mecanismo importante lo constituyen cambios en las lipoproteínas y sus fracciones, mediadas por los n-3; la evidencia actual apunta al gran potencial de los n-3 sobre las enfermedades cardiovasculares, y este mecanismo podría explicarse debido a cambios inducidos sobre los lípidos y lipoproteínas. Existe evidencia de que el ALA mejora el metabolismo de las lipoproteínas, disminuyen la secreción de VLDL e incrementan su conversión a IDL o LDL; sin embargo, se ha observado que estas LDL poseen un mayor tamaño, lo que las convierte en partículas menos aterogénicas <sup>67</sup>.

En un estudio en pacientes con síndrome metabólico, se observó que la suplementación con n-3 purificado durante 6 meses, se asocia con una disminución en el peso corporal, concentraciones de C-LDL y triglicéridos <sup>58</sup>, así como efectos diferenciales en el aumento de tamaño de las partículas de LDL entre el EPA y DHA <sup>71</sup>.

El EPA y DHA no ejercen efectos en los niveles de colesterol total, sin embargo, se observan cambios variables en las fracciones de CT, como C-LDL y C-HDL. Distintos estudios han evidenciado cambios en su concentración, principalmente un incremento significativo de ambas fracciones <sup>57</sup>.

A pesar de que es bien conocido el efecto benéfico de los n-3 sobre el perfil lipídico y su efecto cardioprotector, en la actualidad no existe una caracterización sobre los posibles cambios en la estructura y composición lipídica de las lipoproteínas de alta densidad, así como cambios en su función endotelial que podrían estar relacionados con el papel protector de las HDL contra el desarrollo de la aterosclerosis <sup>72</sup>.

### **1.7.5 Omega 3 y su efecto sobre las HDL**

Existe poca evidencia sobre el efecto que ejercen los n-3 sobre las lipoproteínas, así como en las HDL y su composición, sin embargo, se ha observado que su consumo induce cambios en la distribución de sus subclases. En estudios previos, Mostad *et al* (2008), observaron tras la suplementación de 5.9 g/d de n-3, durante 9 semanas en pacientes con diabetes, una reducción en el tamaño de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y una disminución en la concentración de partículas de HDL pequeñas, sin cambios significativos en LDL <sup>72</sup>. Por otro lado, el consumo de 1.8 g/día de EPA durante 6 meses en sujetos con hipertrigliceridemia indujo un incremento significativo en el tamaño de partículas LDL, sin cambios en la concentración plasmática de C-LDL <sup>73</sup>.

En cuanto al efecto sobre las HDL, Ginsberg *et al* (1994), incrementaron la proporción dietética de ácidos grasos poliinsaturados del 7 al 13% del valor energético total en hombres sanos, y no hallaron diferencias significativas en las subclases <sup>74</sup>. En contraste Martin Petersen *et al* (2002), observaron en pacientes con diabetes cambios en la distribución de las subclases de HDL con una mayor prevalencia de la subclase HDL-2 después de la suplementación con 4g de n-3 durante 9 semanas, acompañado de un incremento significativo en la concentración de C-HDL en estas subfracciones <sup>75</sup>.

También en pacientes con diabetes, después de suplementar 4 g/d de EPA y DHA por 6 semanas, se encontró un incremento significativo de la subclase HDL-2 y una disminución de la subclase HDL-3, sin cambios en la concentración de C-HDL o C-LDL, sin embargo, se reportó un incremento en el contenido de colesterol en la subclase HDL-2 <sup>76</sup>.

En un estudio en pacientes con hiperlipidemia familiar combinada, el consumo de 4 g/d de EPA-DHA durante 8 semanas, mostró un efecto similar en la distribución de subclases de HDL, con un incremento significativo en la subfracción de HDL-2 acompañado de un incremento significativo de colesterol y una disminución de la subclase HDL-3, ambas experimentaron una disminución de triglicéridos en su composición que no alcanzó significancia estadística <sup>77</sup>.

Adicionalmente, tras la suplementación de 4.55 g/día de n-3 durante 42 días, Joshua S *et al* (2009), encontraron en sujetos sanos normolipémicos un enriquecimiento de colesterol de las HDL-2 sin cambios en la concentración de C-HDL<sup>8</sup>. Asimismo, Bogl L *et al* (2011), reportaron en gemelos monocigóticos, una asociación significativa entre el consumo dietario de n-3, y una distribución predominante de partículas grandes de HDL-2b y menor presencia de HDL pequeñas <sup>78</sup>.

En un estudio realizado en Japón por Tanaka *et al* (2014), se observó tras la suplementación de 1.8 g/d de n-3 en sujetos dislipidémicos, una mejora significativa en la función endotelial, antioxidante y antiinflamatoria de las HDL. También, se observó que la suplementación de 4 g/d con aceite de pescado durante 15 semanas, disminuyó la concentración plasmática de triglicéridos, así como modificaciones en el radio de HDL-2 y HDL-3. Un incremento en la subclase HDL-2 fue asociado con disminución de la grasa visceral y función de VLDL modificada <sup>10</sup>.

Aún es controversial el efecto de los n-3 sobre las concentraciones plasmáticas de C-HDL, debido a que en algunos ensayos clínicos no se encontraron diferencias significativas después de la suplementación con EPA y DHA, mientras que otros estudios han puesto en evidencia un incremento significativo en su concentración <sup>79</sup>.

Con base en esta evidencia, los n-3 podrían ejercer su efecto cardioprotector por medio de cambios inducidos en el contenido lipídico de HDL, que difieren en su función de acuerdo a su composición <sup>72</sup>. Por lo anterior, se ha propuesto que las partículas de HDL son macromoléculas complejas que no deben su función antiaterogénica únicamente a su contenido de colesterol, y que este no es un marcador fiable de las funciones de las HDL. En consecuencia, es necesaria la investigación sobre el efecto de los n-3 sobre las HDL, su composición y los efectos sobre su función <sup>72</sup>.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Las ECNT representan un grave problema de salud en la actualidad, principalmente las ECV, que constituyen una de las primeras causas de muerte en México y el mundo, por lo que representan una carga socioeconómica muy elevada para los sistemas de salud. Su magnitud radica en que en sus primeros estadios no producen signos ni síntomas que las hagan evidentes, convirtiéndolas en enfermedades potencialmente peligrosas y mortales, generando en muchos casos discapacidad, invalidez, y marginación laboral debido a la carga de la enfermedad y problemas financieros.

Por lo anterior, es necesaria la implementación de medidas correctivas y preventivas, especialmente sobre las alteraciones en el metabolismo de lípidos, como la hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e hipoalfalipoproteinemia, que son determinantes en el desarrollo y progresión de la EAC. Por lo tanto, es de suma relevancia la exploración y generación de nuevos tratamientos basados en evidencia científica, que ayuden a evitar y disminuir la progresión de las dislipidemias, y sus complicaciones de forma temprana.

Es preciso implementar ensayos clínicos y bioquímicos que permitan conocer el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados sobre las lipoproteínas. Así, la comprensión del papel que juegan los n-3 sobre las HDL en las dislipidemias y su efecto sobre la función endotelial, factor clave en la progresión de las ECV, constituiría una herramienta útil para su tratamiento y prevención.

Aún no se ha establecido si los efectos benéficos asociados a los n-3 sobre el sistema cardiovascular se deben específicamente a la reducción de triglicéridos, a algún mecanismo mediado directamente por el EPA y DHA, o a la mejora en la función antiaterogénica de las HDL.

Los estudios del metabolismo de lípidos, dislipidemias, sus mecanismos y relación con las ECV que se realizan en la actualidad en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, permiten la viabilidad del presente trabajo.

Por lo anterior, el estudio del efecto vascular de las HDL ha adquirido mayor relevancia en la actualidad, debido a que intervienen directamente en la homeostasis del endotelio vascular. El incremento en las concentraciones de C-HDL, ha mostrado no ser un blanco terapéutico suficientemente efectivo para disminuir el riesgo cardiovascular. La comprensión de los mecanismos y nuevas estrategias terapéuticas que mejoren la función endotelial mediada por las HDL y los mecanismos que influyen sobre ésta, podrían representar un blanco terapéutico <sup>30</sup>.

La presencia de hipertrigliceridemia promueve un incremento potencial en el riesgo cardiovascular, además del desarrollo de disfunción endotelial; un paso clave en la aparición de la EAC. Por lo anterior, la mejora en la función endotelial mediada por las HDL podría constituir un nuevo blanco para su prevención y tratamiento.

El incremento de los lípidos plasmáticos, principalmente de triglicéridos implica cambios en la función y composición de las lipoproteínas, cada una relacionada con un potencial aterogénico distinto <sup>50</sup>. Los n-3 podrían estar relacionados a alteraciones en el metabolismo de las HDL y su función endotelial, mediadas por estos ácidos grasos <sup>50</sup>.

Por otro lado, la relación inversa entre las concentraciones de C-HDL y EAC se ha explicado por el papel que desempeñan las HDL en el TRC <sup>25</sup>. No obstante, los ensayos farmacológicos <sup>80</sup> y observaciones clínicas <sup>81, 82, 83</sup>, indican claramente que el TRC no es el único mecanismo por el cual las HDL se asocian inversamente con el riesgo cardiovascular.

Diversos estudios sugieren que una concentración óptima de C-HDL no garantiza la ausencia de eventos cardiovasculares, como se observó en el estudio de Framingham. Se ha evidenciado que el incremento de C-HDL inducido por terapia farmacológica no implica un menor riesgo cardiovascular, probablemente porque no ejercen los efectos adecuados en la estructura y funciones de estas partículas, que poseen una complejidad que sobrepasa únicamente su contenido de colesterol; se ha identificado que transportan distintas especies lipídicas y proteicas, así como microRNA's, lo que las convierte en partículas biológicamente activas, que pueden intervenir en distintos procesos moleculares que determinan su función fisiológica <sup>84, 85</sup>. Por lo anterior, en la actualidad se ha propuesto como nuevo blanco terapéutico la mejora en la función de las HDL, lo que podría disminuir de manera significativa el riesgo cardiovascular de un individuo en comparación a únicamente el aumento en su contenido de colesterol y los ácidos grasos n-3 podrían contribuir a una mejora en su función <sup>86, 87</sup>.

En la actualidad, no existe una caracterización sobre los cambios en la composición lipídica de las HDL mediados por los n-3 y la relación de estos cambios con posibles modificaciones en su función. Estos efectos podrían estar relacionados con sus propiedades antiaterogénicas <sup>88</sup>, principalmente la función endotelial, que se pretende abordar en el presente proyecto de investigación.

El consumo de EPA y DHA, tiene una tasa muy baja de conversión, alrededor del 8% y 0.1% respectivamente, por lo que la suplementación con concentrados en forma de cápsulas a diferencia del consumo dietético, proveen mayor control de la dosis ingerida para la evaluación de su efecto cardioprotector <sup>55, 56</sup>.

El beneficio cardiovascular que aportan los n-3 puede estar relacionado, al menos parcialmente, con la calidad y contenido de lípidos de las HDL; a su vez, las HDL podrían acarrear estos lípidos hacia las células endoteliales favoreciendo una homeostasis vascular adecuada <sup>61</sup>. Asimismo, estudios de nuestro laboratorio y de otros grupos de investigación <sup>33, 51, 61</sup>, sugieren que las HDL son vectores de lípidos del hígado hacia los tejidos. Así, la calidad de los lípidos que transportan las HDL podría repercutir en la función de las membranas de los tejidos periféricos, sin embargo, no existen reportes previos sobre los posibles cambios en la composición y función de las HDL mediados por la permanencia de estos lípidos en las lipoproteínas.

Por otro lado, actualmente no existen terapias que promuevan una mejora en la función de las HDL, por lo tanto, la administración de n-3 parece ser prometedora para promover este efecto <sup>61</sup>. Por todo lo anterior, es necesaria la investigación sobre los posibles cambios en la función endotelial y composición lipídica de HDL mediados por n-3 que podrían constituir una herramienta terapéutica y preventiva de ECV en pacientes dislipidémicos con alto riesgo cardiovascular <sup>50, 67, 89</sup>.



### **3. HIPÓTESIS**

La suplementación con ácidos grasos omega-3 modifica la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad en sujetos con hipertrigliceridemia.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 Objetivo general**

Determinar el efecto de la suplementación de ácidos grasos n-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las HDL en sujetos con hipertrigliceridemia.

#### **4.2 Objetivos específicos.**

1. Determinar cambios en el perfil lipídico de los pacientes (colesterol, triglicéridos, glucosa).
2. Determinar cambios en la composición lipídica de HDL (colesterol-HDL, fosfolípidos-HDL y triglicéridos -HDL) después de la suplementación con ácidos grasos omega-3.
3. Determinar cambios en la función endotelial de los pacientes por medio de la prueba de dilatación mediada por flujo.
4. Determinar cambios en la función endotelial mediada por HDL en ensayos *in vitro* en anillos de aorta de rata Wistar en cámara de órgano aislado.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS.

**Población de estudio:** Hombres de 30 a 65 años con hipertrigliceridemia.

**Tamaño de muestra:** El tamaño muestral fue determinado por conveniencia, con una n final de 18 sujetos.

### **Criterios de inclusión:**

Con base a las indicaciones para prescribir Omacor, se reclutaron 18 sujetos con hipertrigliceridemia (>200 mg/dL), de sexo masculino para evitar variaciones fisiológicas del nivel de triglicéridos plasmáticos asociados al ciclo menstrual o factores hormonales.

### **Criterios de exclusión:**

Eventos cardiovasculares previos, tratamiento con fármacos antilipídicos (fibratos, niacina y estatinas), fármacos anticoagulantes o suplementación reciente con n-3, enfermedad hepática crónica o aguda, enfermedades tiroideas, renales o Diabetes Mellitus.

### **Criterios de eliminación:**

No concluir el estudio o interrumpir el tratamiento.

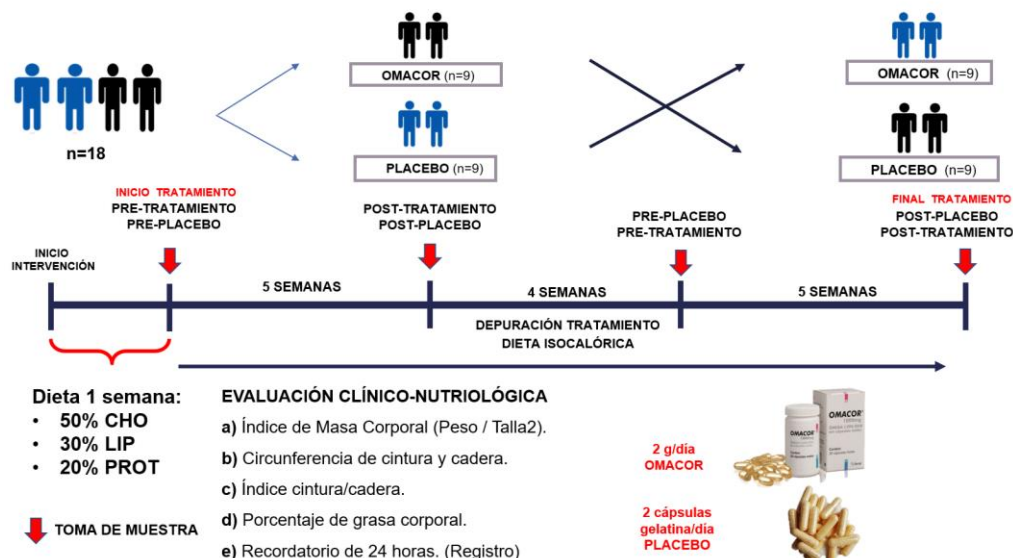
## 5.1 DISEÑO DE ESTUDIO

**Intervención:** Ensayo clínico cruzado aleatorizado, controlado con placebo. Los sujetos de estudio fueron asignados a 2 grupos (n=9), un grupo inició con 2 g/d Omacor (Laboratorio Ferrer, cápsulas blandas de 1000 mg de Omega-3 al 90%, EPA 460 mg, DHA 380 mg) por un periodo de 5 semanas, y el otro grupo inició con la toma de placebo (Cápsulas de gelatina sin azúcar).

**Actividad física:** Se indicó a los pacientes continuar con su actividad física habitual.

**Dieta:** Con el fin de homogeneizar la proporción de macronutrientes y evitar factores dietéticos de confusión, previo a la intervención y toma de muestra, ambos grupos iniciaron por periodo de una semana una dieta isocalórica individualizada, es decir, ajustada a sus necesidades energéticas determinadas por su consumo energético habitual, que fue estimado promediando al menos 3 recordatorios de 24 h. La dieta tenía una distribución de macronutrientes en la que los lípidos corresponden al 30%, los carbohidratos 50% y proteínas 20% del requerimiento calórico total, ajustada a la ingesta calórica promedio del paciente para evitar una disminución o aumento significativo en su consumo calórico. Asimismo, se dio la indicación a los pacientes de evitar el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como oleaginosas, así como alimentos de origen marino como pescados, atún, sardina, algas marinas y alimentos adicionados con n-3 para garantizar que la principal fuente de EPA y DHA fuera únicamente el suplemento administrado. El análisis dietético se realizó con el Software de análisis nutricional AZ Nutrition ® Versión Profesional, que al introducir las raciones de alimentos generó automáticamente el cálculo de macro y micronutrientes, así como su distribución.

**Tratamiento:** Posteriormente, se inició el tratamiento que consistía en la suplementación de 2 g/d de n-3 o 2 cápsulas de placebo durante 5 semanas; al finalizar este tiempo, se procedió a 4 semanas de depuración del tratamiento, en el que los pacientes continuaron únicamente con la dieta isocalórica, sin ningún tratamiento, con el fin de eliminar el efecto del Omacor. Posteriormente se procedió con el cruce de tratamientos, el grupo placebo inició con 5 semanas de suplementación con Omacor y viceversa, como se muestra en la figura 8.



**Figura 8.- Diagrama de intervención del estudio.** Un grupo inició con 2 g/d n-3 (cápsulas de 1000 mg de n-3 al 90%, EPA 460 mg, DHA 380 mg) y el otro grupo inició con placebo. Después de 5 semanas de tratamiento, los sujetos siguieron 4 semanas sin n-3 o placebo para la depuración del tratamiento y posterior cruce de este. Se realizó una evaluación clínico-nutricional y se indicó una dieta isocalórica a lo largo del estudio, con el fin de evitar factores de confusión.

**5.2 Toma de muestras sanguíneas:** Se recolectaron muestras de sangre venosa (10 mL) de los pacientes con un ayuno previo mínimo de 8 horas. Las muestras fueron colectadas en tubos que contenían EDTA como anticoagulante para plasma y centrifugadas a 3000 rpm durante 12 minutos. Posteriormente, se separó el plasma del paquete globular y se almacenó a -70°C hasta el momento de su análisis. Se obtuvieron las siguientes muestras sanguíneas de cada paciente:

1. Pre-Tratamiento
2. Post-Tratamiento
3. Pre-Placebo
4. Post-Placebo

### 5.3 Evaluación nutricional e historia clínica:

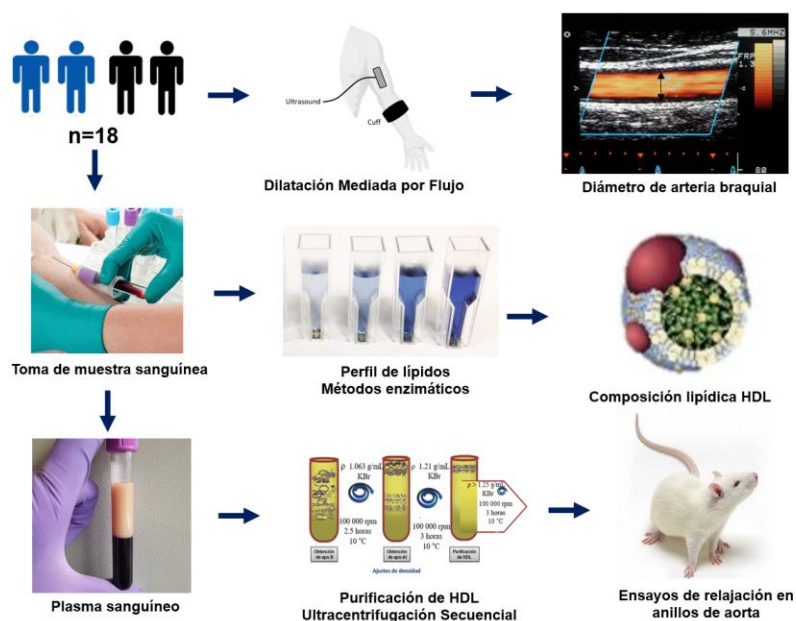
Se aplicó a los sujetos de estudio una historia clínica-nutricional (Anexo 2), que incluye antecedentes personales y familiares, patológicos y no patológicos, así como aspectos dietéticos. Para tener un control sobre la ingesta dietética de los participantes, se aplicó una frecuencia de consumo de alimentos al inicio de la intervención y un recordatorio de 24 horas de 3 días de la semana anterior a la toma de cada muestra, que incluía 2 días de la semana y 1 de fin de semana para conocer el consumo previo antes de la obtención de

muestra sanguínea. Asimismo, se instruyó a los pacientes para llevar el registro de un diario de alimentos durante toda la intervención en un formato proporcionado por los investigadores para conocer su apego a la dieta (Anexo 3).

Como parte de la evaluación se determinaron los siguientes parámetros dietético-antropométricos en cada etapa del estudio (Pre-Tratamiento, Post-Tratamiento, Pre-Placebo y Post-Placebo):

- Peso (kg) (Báscula OMRON®)
- Talla (m) (Estadímetro electrónico SOHENLE®)
- Índice de Masa Corporal (IMC):  $\text{Peso (kg)} / \text{Talla (m}^2\text{)}$
- Circunferencia de Cintura y cadera (Cinta métrica marca SECA®)
- Índice Cintura/Cadera (ICC):  $\text{Circ. cintura (cm)} / \text{Circ. Cadera (cm)}$
- Porcentaje de Grasa Corporal (Medidor de grasa corporal OMRON®)

#### 5.4 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y TÉCNICAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO



**Figura 9. Diagrama de flujo del estudio.**

A los sujetos reclutados se les realizó una prueba de dilatación mediada por flujo, así como toma de muestra sanguínea, que fue utilizada para la determinación de perfil lipídico y composición lipídica de las HDL por métodos enzimáticos colorimétricos. Además del aislamiento y purificación de HDL para ensayos de función endotelial en anillos de aorta.

##### 5.4.1 Determinación de la concentración plasmática de lípidos:

La determinación de la bioquímica sanguínea se realizó a través de métodos enzimáticos colorimétricos comerciales (Randox®, Reino Unido). Para la evaluación del C-HDL, se precipitaron a partir del plasma de manera selectiva, las lipoproteínas que contienen Apo-

B (VLDL, IDL, LDL) con el reactivo comercial de Randox® (sulfato de dextran/magnesio, 100 µL de plasma / 250 µL de reactivo precipitante). Posteriormente, se centrifugó a 1000 g durante 10 minutos. El sobrenadante contiene las HDL totales, las cuales se utilizaron para determinar la concentración de C-HDL y lípidos asociados.

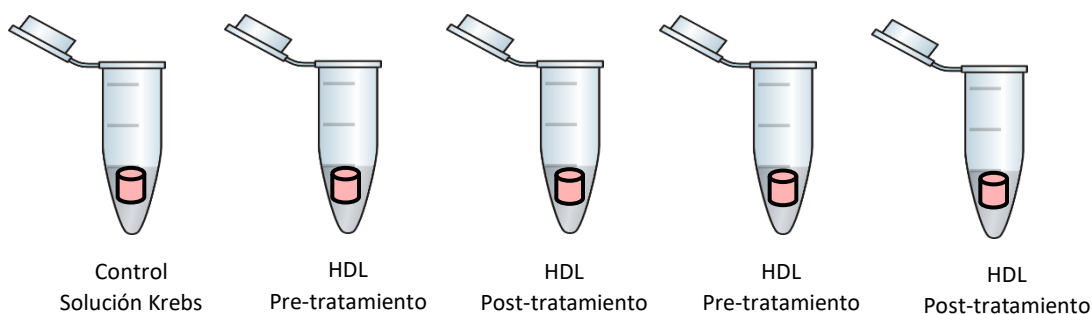
#### 5.4.2 Ultracentrifugación secuencial

Para el aislamiento y purificación de las HDL, se utilizó la técnica de US en una ultracentrífuga Beckman Optimal TLX (Anexo 4). El plasma fue centrifugado en tubos de policarbonato de 3.2 mL de manera secuencial, 3 veces consecutivas a 436 000 g por lapsos de 3 h, a una temperatura de 10 ° C. El producto final obtenido son HDL purificadas. Con esta técnica se logró coleccionar hasta el 85 % de estas moléculas sin contaminación de otras partículas de menor densidad. Para su análisis se utilizó la técnica de electroforesis.

#### 5.4.3 Ensayo de función endotelial en cámara de órgano aislado.

Esta técnica ha sido validada con anterioridad en diversos estudios, y permite conocer la respuesta del endotelio vascular de modelos animales bajo distintos estímulos y condiciones <sup>95</sup>.

Se sacrificaron ratas Wistar macho mediante administración intraperitoneal de pentobarbital y se realizó la disección de la arteria aorta torácica. A continuación, se cortaron 5 anillos de aproximadamente 4 mm de grosor. Posteriormente se incubaron a baño María con una temperatura constante de 37°C y oxigenación regular durante cuatro horas en tubos Eppendorf con solución fisiológica (solución de Krebs), y HDL aisladas a una concentración de 50 mg/dL en un volumen final de 300 µL de la siguiente forma:



**Figura 10. Incubación de anillos de aorta en HDL**

Los anillos de aorta diseccionados fueron incubados durante 1 hora en HDL aislados del suero de los pacientes en los distintos momentos del tratamiento.

Posterior a la incubación, los anillos de aorta fueron montados en 5 cámaras para órgano aislado con 10 mL de solución de Krebs a 37° C, con la ayuda de ganchos especiales para tal efecto, los cuales, tienen un extremo anclado a la cámara de vidrio y otro a un transductor de la señal. Se ajustó la tensión del gancho-transductor de manera que su tensión basal sea de 1 g (40 mm del papel milimétrico utilizado para realizar el registro). Se realizaron lavados con solución de Krebs a cada una de las cámaras a intervalos de quince minutos

durante una hora. Finalmente se dejó estabilizar el tejido durante quince minutos y se procedió a agregar 15  $\mu\text{L}$  de fenilefrina (Phe) 1mM para inducir una pre-contracción en el tejido y así poder evaluar la relajación inducida por la acetilcolina (Ach).

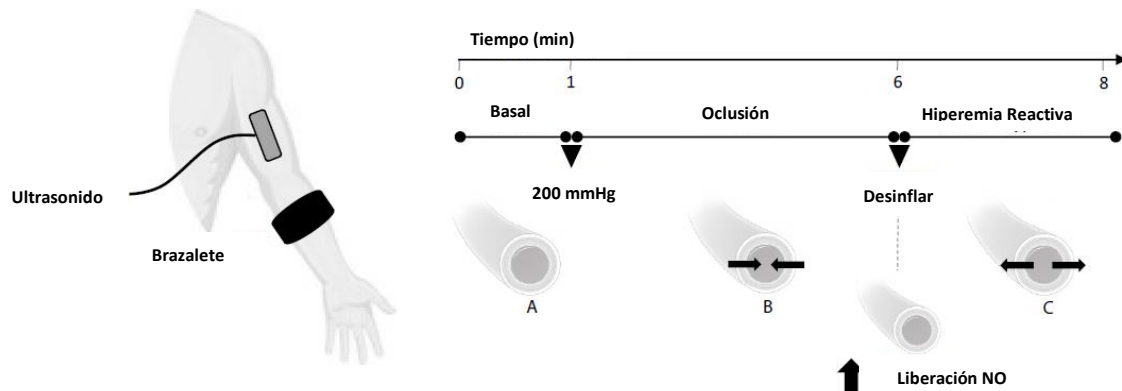
Cuando el registro alcanzó la meseta, se llevó a cabo una curva de Ach con las siguientes concentraciones:

- 1.25  $\mu\text{L}$  Ach [50 $\mu\text{M}$ ]
- 2.5  $\mu\text{L}$  Ach [50 $\mu\text{M}$ ]
- 5  $\mu\text{L}$  Ach [50 $\mu\text{M}$ ]
- 10  $\mu\text{L}$  Ach [50 $\mu\text{M}$ ]
- 20  $\mu\text{L}$  Ach [50 $\mu\text{M}$ ]
- 10  $\mu\text{L}$  Ach [1 mM]
- 1  $\mu\text{L}$  Ach [100 mM]
- 10  $\mu\text{L}$  Ach [100 mM]

Finalmente, se determina el porcentaje de relajación con respecto a los milímetros totales de contracción inducidos por la fenilefrina.

#### 5.4.4 Prueba de dilatación mediada por flujo (DMF):

Se visualizó longitudinalmente la arteria humeral derecha entre 2 y 8 cm por encima del pliegue antecubital. Tras obtener la mejor definición de la pared arterial, se identificó la zona exacta con tiras adhesivas en la piel y se realizó la medición del diámetro basal. Asimismo, el perímetro del brazo es medido en dicho punto. La hiperemia reactiva se provocó con un mango neumático inflado a 200 mmHg durante 5 minutos para su posterior liberación. Tras el desinflado, se midió el diámetro arterial a los 60 y 90 segundos para determinar el diámetro máximo post-hiperemia. La DMF se expresa como el cambio porcentual de diámetro comparado con la medida basal.



**Figura 11. Prueba de Dilatación Mediada por Flujo.** A. Por medio de ultrasonido se mide el diámetro basal de la arteria braquial. B. Durante 5 minutos se infla el baumanómetro a 200 mmHg produciendo la oclusión de la arteria. C. Al quitar la presión induce hiperemia reactiva y liberación de NO produciendo la dilatación de la arteria, para posteriormente medir el porcentaje en el cambio de diámetro. (Modificado de: A. P. Jarrete, A, et al. 2016.)

## **5.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El protocolo fue aprobado por la comisión científica y de bioética del Instituto Nacional de Cardiología (No. De Protocolo 17-996). Todos los pacientes fueron invitados a participar en el protocolo mediante una carta de consentimiento informado (Anexo 1), en la cual se especificó el fundamento, los objetivos y el alcance del protocolo. Asimismo, se detalló en tiempo y forma su participación en el mismo. La información y datos personales recabados de los participantes del estudio se manejaron de forma confidencial y sus identidades se mantuvieron en anonimato.

Los posibles efectos secundarios y riesgos de este proyecto se consideran como mínimos. Es posible que los pacientes sufran de trastornos gastrointestinales, secundarios al consumo de cápsulas de n-3, incluyendo distensión abdominal, estreñimiento, diarrea, dispepsia, flatulencias, eructos, reflujo gastroesofágico, náuseas o vómitos. Derivado de la toma de muestra sanguínea es posible presentar dolor durante la punción y posible formación de hematoma.

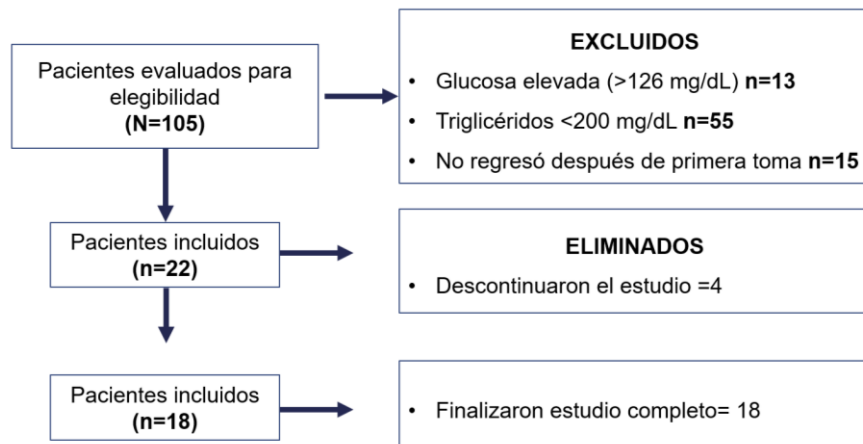
## **5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

La distribución normal de las variables fue evaluada con la prueba de Kolmogorov-Smirnoff. La significancia de las diferencias entre los grupos fue determinada por una prueba T de Student para las variables con distribución normal. Las comparaciones independientes de los grupos para las variables que no tienen distribución normal fueron determinadas por la prueba U de Mann–Whitney.

Los valores con un valor de  $p < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos ( $p < 0.05 = *$ ,  $p < 0.01 = **$ ,  $p < 0.001 = ***$ ) Los valores de las variables con distribución normal fueron expresados con mediana  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico se realizó con el Software GraphPad PRISM. Versión 6.1 (2012).

## 6. RESULTADOS

De 105 pacientes evaluados para elegibilidad, 83 no cumplieron con los criterios de inclusión y 4 discontinuaron el estudio, dejando un total de 18 pacientes incluidos en el estudio, como se muestra en la figura 12.



**Figura 12. Diagrama de flujo de pacientes incluidos en el estudio.**

En las siguientes tablas se muestran las diferencias con respecto al Pre-Tratamiento. Las características de los sujetos de estudio se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3. Características generales de la población**

	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	PRE PLACEBO	POST PLACEBO
<b>Edad (años)</b>	42.83 ± 6.07			
<b>Peso (kg)</b>	87.84 ± 11.05	<b>85.53 ± 11.38***</b>	86.53 ± 10.88	<b>85.35 ± 10.4*</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	31.56 ± 5.03	29.13 ± 4.06	29.23 ± 3.91	29.5 ± 4.6
<b>Cir. Cintura (cm)</b>	102.47 ± 10.05	<b>98.46 ± 8.91***</b>	100.9 ± 9.23	99.4 ± 9.13
<b>Cir. Cadera (cm)</b>	103.69 ± 9.19	<b>101.1 ± 9.26***</b>	104.75 ± 7.26	103.77 ± 7.64
<b>Grasa (%)</b>	30.82 ± 4.89	29.13 ± 4.16	29.38 ± 4.1	28.50 ± 4.71
<b>TAS (mmHg)</b>	117.42 ± 8.24	115.75 ± 7.96	119.54 ± 7.9	115.86 ± 10.5
<b>TAD (mmHg)</b>	81.23 ± 4.11	80.7 ± 5.36	81.14 ± 4.0	82.12 ± 5.20

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. Se encontraron diferencias significativas en las mediciones antropométricas, con una disminución significativa de peso ( $p < 0.001$ ), además de una reducción significativa ( $p < 0.001$ ) en la circunferencia de cintura y de cadera ( $p < 0.001$ ) después del tratamiento con n-3.



Se realizó el análisis del recordatorio de 24 h de los pacientes en las distintas etapas de la intervención. En la tabla 4 se muestra el promedio del consumo energético y gramos de carbohidratos, lípidos y proteína.

**Tabla 4. Análisis de recordatorio de 24 h.**

n=18	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	PRE PLACEBO	POST PLACEBO
Energía (kcal/día)	2213.83 ± 516.11	2089.70 ± 362	2165.10 ± 422.5	2164.96 ± 475.92
Carbohidratos (g/día)	298.21 ± 100.22	281.79 ± 69.27	272.97 ± 67.85	293.91 ± 59.91
Proteína (g/día)	95.81 ± 27.33	86.90 ± 20.21	103.57 ± 51.84	89.31 ± 35.15
Lípidos (g/día)	72.71 ± 23.30	68.66 ± 16.44	73.42 ± 21.97	71.07 ± 25.18

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. En el análisis del recordatorio de 24hrs no se encontraron diferencias significativas en el consumo energético o ingesta de macronutrientes a lo largo del estudio.

Posteriormente se determinó el consumo dietético de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en gramos, así como su consumo en porcentaje a partir de la ingesta total de lípidos, como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Análisis de consumo de ácidos grasos.**

n=18	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	PRE PLACEBO	POST PLACEBO
AGS (g/día)	3.92 ± 3.03	5.83 ± 4.72	6.03 ± 5.18	2.93 ± 2.23
AGPI (g/día)	4.20 ± 4.41	4.87 ± 6.66	4.05 ± 3.92	3.60 ± 3.70
AGMI (g/día)	10.44 ± 9.83	7.98 ± 5.77	9.06 ± 8.02	5.07 ± 5.25*
AGS (%)	1.59 ± 1.34	2.51 ± 1.69	2.50 ± 1.48	1.21 ± 0.81
AGPI (%)	1.70 ± 1.40	2.09 ± 2.63	1.68 ± 1.35	1.49 ± 1.34
AGMI (%)	4.24 ± 2.72	3.39 ± 2.19*	3.76 ± 2.42	2.10 ± 1.98*

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el consumo en gramos y porcentaje de ácidos grasos. Únicamente se encontró una diferencia en el consumo de AGMI en el momento post-placebo con respecto al pre-tratamiento.

A partir del plasma sanguíneo de los pacientes se determinó perfil de lípidos que incluyó triglicéridos, colesterol y glucosa. De igual manera, se determinó el colesterol no HDL, restando el valor de C-HDL de la concentración de colesterol total, como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Resultados de perfil de lípidos**

n=18	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	PRE PLACEBO	POST PLACEBO
Triglicéridos (mg/dL)	454.38 ± 344.2	<b>283.9 ± 208.6*</b>	348.7 ± 245.6	269.0 ± 145.58
Colesterol (mg/dL)	200.4 ± 38.7	227.9 ± 64.4	213.8 ± 66.1	207.4 ± 37.1
Glucosa (mg/dL)	89.0 ± 15.8	92.1 ± 19.9	96.6 ± 15.6	99.8 ± 16.2
Colesterol no HDL (mg/dL)	164.9 ± 40.4	179.5 ± 69.4	170.6 ± 108.1	118.6 ± 83.3

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. Se encontró una disminución significativa en la concentración de triglicéridos después del tratamiento con n-3, sin cambios significativos en los niveles de colesterol, glucosa y colesterol no HDL.

Tras la precipitación de forma selectiva de las HDL del plasma sanguíneo, se determinó su composición lipídica que incluye colesterol, fosfolípidos y triglicéridos de HDL. Los resultados se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Composición lipídica de HDL.**

n=18	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	PRE PLACEBO	POST PLACEBO
C-HDL (mg/dL)	40.03 ± 12.07	<b>56.52 ± 14.02**</b>	41.30 ± 12.69	43.70 ± 11.87
PLP-HDL (mg/dL)	24.61 ± 11.89	<b>41.52 ± 23.17**</b>	28.13 ± 9.16	19.66 ± 10.95
TGL-HDL (mg/dL)	16.72 ± 14.49	<b>9.37 ± 5.67*</b>	14.15 ± 15.20	12.98 ± 13.94

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. Se encontró un cambio en la composición lipídica de las HDL, con un incremento significativo en la concentración de colesterol HDL (C-HDL) y fosfolípidos de HDL (PLP-HDL), así como una disminución en la concentración de triglicéridos de HDL (TGL-HDL), en el momento Post-Tratamiento con respecto al Pre-Tratamiento.

Por medio de la prueba de DMF se determinaron los cambios en la función endotelial de los pacientes. En la tabla 8 se reporta el porcentaje de cambio del diámetro arterial.

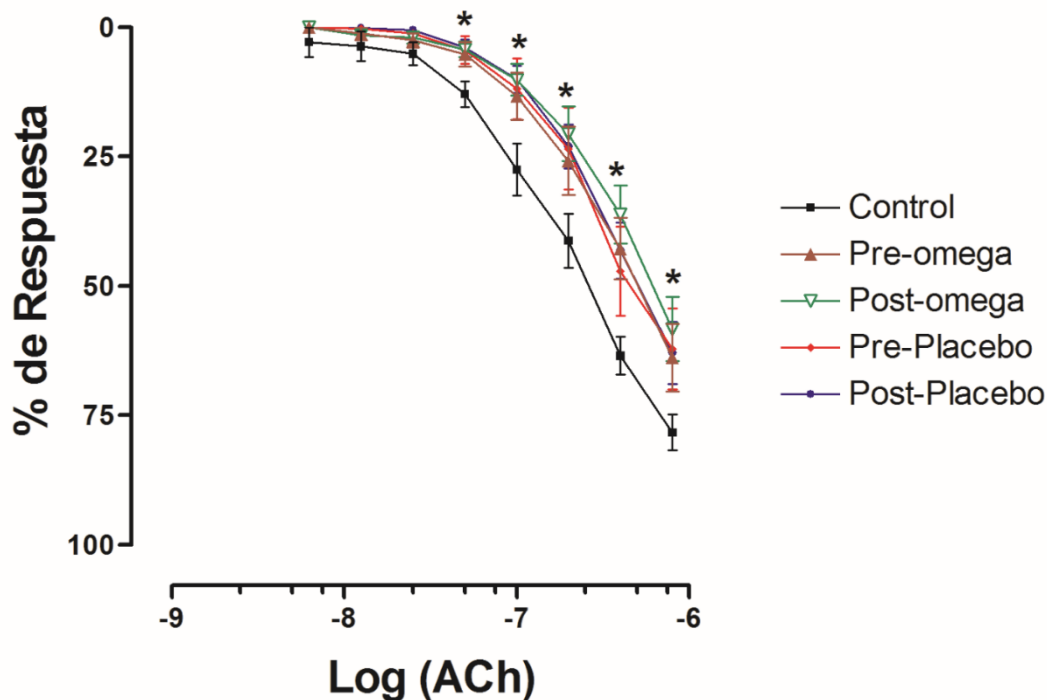
**Tabla 8. Resultados prueba de dilatación mediada por flujo.**

n=18	Pre-Tratamiento	Post-Tratamiento	Pre-Placebo	Post-Placebo
<b>Diámetro inicial (mm)</b>	0.428 ± 0.3	0.447 ± 0.40	0.423 ± 0.40	0.422 ± 0.40
<b>Diámetro post hiperemia (mm)</b>	0.463 ± 0.4	0.496 ± 0.45	0.462 ± 0.30	0.461 ± 0.30
<b>Función endotelial (%)</b>	8.14 ± 4.19	<b>11.03 ± 3.9*</b>	9.47 ± 3.63	9.49 ± 5.03

Los valores representan la media ± DE, se realizó t de Student entre las medias. El porcentaje de diferencia entre el diámetro arterial basal y el diámetro después de la hiperemia inducida por estrés mecánico mostró un incremento significativo en el momento Post-tratamiento en comparación con el Pre-Tratamiento, con un promedio de 11.03%, considerando como función endotelial normal un porcentaje >10% de cambio en el diámetro.

Para detectar posibles cambios en la función endotelial *in vitro* mediada por HDL, se llevó a cabo una curva de relajación por acetilcolina en anillos de aorta de rata Wistar, como se muestra en la figura 13.

**Figura 13. Efecto de las HDL sobre la relajación de anillos de aorta.**



Tras la pre-contracción con epinefrina, se prosigió con una curva de concentración de acetilcolina para inducir la relajación de los anillos de aorta de rata Wistar, incubadas en HDL purificadas, obtenidas de los pacientes en los distintos momentos del tratamiento. No se encontraron cambios significativos en el porcentaje de relajación en ningún momento de la intervención con respecto al Pre-Tratamiento. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en todas las tomas, con respecto a la curva control.

## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El diseño de nuestro estudio corresponde a un ensayo clínico aleatorizado cruzado controlado con placebo. A pesar de que el tamaño de muestra es pequeño y fue determinada por conveniencia, su diseño representa una fortaleza metodológica, debido a que este diseño provee mayor nivel de confianza para valorar la eficacia de un tratamiento y proporciona evidencia de mayor calidad para establecer una relación causal entre el tratamiento y los efectos observados, debido a que el mismo sujeto constituye su propio control al someterse al tratamiento y al placebo. Sin embargo, una desventaja de este diseño es que puede ser difícil controlar un posible efecto de arrastre de la primera fase del estudio. La actividad física de los sujetos es la única variable que no se controló ni midió por lo que no podemos asegurar si ésta pudo tener algún efecto sobre los resultados.

Los 18 pacientes incluidos concluyeron exitosamente las 4 fases en las que consistía la intervención (Pre-tratamiento, Post-tratamiento, Pre-placebo y Post-placebo), y siguieron las indicaciones de los investigadores para incrementar el apego al tratamiento con n-3 que completaron en tiempo y forma.

Se realizó una historia clínica-nutricional que incluyó la evaluación de antecedentes familiares y personales, evaluación bioquímica del perfil de lípidos, dietética con la aplicación de un recordatorio de 24 h, así como la evaluación antropométrica con el peso, talla, IMC, circunferencia de cintura y cadera, y porcentaje de grasa corporal, con el fin de incluir a los candidatos que constituyeran una población homogénea, así como para evaluar y controlar factores externos de confusión.

En cuanto a las características generales de la población de estudio, se incluyeron únicamente sujetos masculinos, que presentaron un promedio de 42 años, con un peso promedio de  $87.84 \pm 11.05$  kg durante el Pre-Tratamiento y un índice de masa corporal promedio de  $31.56 \pm 5.03$  kg/m<sup>2</sup>, por lo que todos los sujetos se clasificaban de acuerdo a su IMC en sobrepeso u obesidad.

En cuanto a los resultados de la evaluación antropométrica, se observó una reducción significativa de peso (-2.62% del peso corporal total) en el momento Post-Tratamiento, lo que concuerda con otros estudios realizados en pacientes con síndrome metabólico que experimentaron una pérdida significativa tras el consumo de 1 g de EPA y DHA durante 6 meses<sup>90</sup>. Sin embargo, estos resultados contrastan con otros estudios en donde no se han encontrado modificaciones en el peso tras la suplementación con n-3<sup>58, 91</sup>. A pesar de que también se encontró una pérdida de peso significativa en el momento Post-Placebo, la fuerza de asociación es menor que con la del momento Post-Tratamiento.

El ATP IV establece una circunferencia de cintura en hombres >102 cm como factor de riesgo cardiovascular; en nuestro ensayo clínico, la población de estudio presentó una circunferencia en el momento de Pre-Tratamiento, por encima de la recomendación establecida que junto con otros factores como la hipertrigliceridemia, incrementa potencialmente su riesgo metabólico<sup>49</sup>. Sin embargo, la pérdida de peso durante la intervención fue acompañada de una reducción significativa en la circunferencia de cintura y cadera en el momento Post-Tratamiento, con una pérdida promedio de 2.59 cm de cadera. A pesar de que en el momento Post-Placebo se experimentó una pérdida significativa de peso, no hubo cambios significativos en la circunferencia de cintura y cadera.

Es por ello que, a pesar de que el porcentaje de grasa corporal total no sufrió cambios significativos en ninguna etapa del estudio, las modificaciones observadas en el peso y circunferencia de cintura en el momento Post-Tratamiento refuerza la evidencia de los efectos benéficos mediados por el consumo de n-3, lo que podría suponer una disminución del riesgo cardiovascular después de la suplementación con Omacor, y pudieran reflejar modificaciones en el tejido adiposo, posiblemente reguladas por el efecto que ejercen los n-3 sobre el metabolismo de lípidos. Los n-3 regulan la síntesis y diferenciación de adipocitos a través de la modulación de PPAR- $\gamma$ ; estos cambios fueron evidenciados en un estudio en ratones con una administración dietética de n-3, donde se observó la pérdida de peso por tejido adiposo a través de la reducción en el número y tamaño de adipocitos, sin embargo, la evidencia aún no es concluyente <sup>91</sup>.

Asimismo, se ha mostrado que los n-3 modulan enzimas que intervienen en la lipólisis, como la LPL; clave para la incorporación de triglicéridos hacia los adipocitos desde las LRT. Por otro lado, los n-3 promueven la  $\beta$ -oxidación mitocondrial, y se asocian con la regulación de algunas adipocinas como la adiponectina y leptina, lo que podría explicar los cambios observados en los pacientes tras la suplementación con n-3 <sup>91</sup>.

A pesar de que se ha documentado el efecto hipotensor de los n-3 <sup>71</sup>, en nuestro estudio sólo se observó una disminución discreta en los valores de presión arterial sistólica y diastólica Post-tratamiento, pero la diferencia con los valores basales no fue estadísticamente significativa, dado que los sujetos incluidos en el estudio son normotensos no esperábamos una reducción importante en los valores de TA.

Por otra parte, una fortaleza de nuestro estudio consistió en la evaluación y seguimiento dietético de los pacientes incluidos a lo largo del estudio, que contribuyó a controlar factores dietéticos de confusión y descartar cambios antropométricos o bioquímicos mediados por cambios en el consumo dietético.

En la mayoría de los estudios previos disponibles sobre suplementación de n-3 y su relación con las lipoproteínas, no se hacen recomendaciones específicas o evaluación sobre la ingesta dietética de los sujetos de estudio, que constituye un factor que podría influenciar de forma muy importante los resultados obtenidos. Por lo anterior, durante la intervención se indicó el auto registro de un recordatorio de 24 h tras instruir a los pacientes a través de un formato la forma de reportar las porciones de alimentos consumidas. Se promediaron 3 días del consumo de cada semana que incluían 1 día del fin de semana para conocer el apego a la dieta isocalórica indicada.

En cuanto al resultado del análisis dietético mostrado en la tabla 4, no se evidenciaron cambios significativos en la ingesta dietética de los participantes a lo largo del estudio en cuanto a consumo energético o de macronutrientes, lo que refleja un apego de los pacientes a la dieta isocalórica indicada durante la intervención; lo anterior nos ayuda a descartar que los cambios observados en el perfil de lípidos, pérdida de peso y circunferencia de cintura sean mediados por cambios el consumo dietético.

De igual forma, se realizó la evaluación del consumo dietético de ácidos grasos de los pacientes (Tabla 5). Según la NOM-037-SSA2-2012, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, el contenido de grasa de la dieta corresponde al 25-30% de las calorías totales ingeridas, de las cuales < 10% corresponde al consumo de grasas

saturadas, 10% grasas monoinsaturadas y 10% poliinsaturadas, así como la recomendación de consumo menor de 300 mg/día de colesterol <sup>92</sup>.

De acuerdo con el análisis del recordatorio de 24 h, el consumo de ácidos grasos de los pacientes se mostró estable, sin diferencias en la ingesta AGPI ni AGS a lo largo del estudio. Sin embargo, se encontró una disminución significativa en el consumo de ácidos grasos monoinsaturados entre el Post-Tratamiento y Post-Placebo.

Por otra parte, se realizó el cálculo del porcentaje de consumo de ácidos grasos, donde se encontró una ingesta de AGPI y AGMI de  $1.70 \pm 1.40\%$  y  $4.24 \pm 2.72\%$  respectivamente de la ingesta calórica total en el periodo Pre-Tratamiento, lo que refleja un consumo muy por debajo del 10% recomendado por la NOM-037. Sin embargo, de acuerdo con el reporte de los pacientes, tuvieron un consumo de AGS de  $1.59 \pm 1.34\%$  en el periodo de Pre-Tratamiento, que se encuentra dentro de las recomendaciones de un consumo <10% de este tipo de ácidos grasos. No se encontraron cambios significativos en el porcentaje de consumo a lo largo del estudio.

De acuerdo con el análisis de la ingesta de ácidos grasos, se puede concluir que los pacientes tienen un consumo muy bajo de AGPI, que no representa una cantidad que pueda contribuir a los efectos derivados de la suplementación de n-3. Además, cabe destacar que el consumo de ALA tiene una tasa muy baja de conversión, alrededor del 8% para EPA y menos del 0.1% para DHA, por lo que requieren una ingesta muy elevada proporcionar efectos biológicos <sup>55,56</sup>.

A pesar de que el recordatorio de 24 horas proporciona información valiosa, se debe tomar en cuenta que es una herramienta sujeta a la memoria del paciente, así como subestimación o sobre estimación de las cantidades reportadas, por lo que los datos presentados podrían variar en comparación al consumo real del reportado por el paciente.

A pesar de que se conoce que el consumo dietético de ácidos grasos modifica significativamente el riesgo cardiovascular, existen estudios que no coinciden con esta afirmación. Estudios previos demuestran que los cambios en el consumo de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados no tiene un efecto clínicamente significativo sobre los lípidos plasmáticos y niveles de lipoproteínas o metabolismo en hombres jóvenes sanos; un aumento en el contenido de grasas poliinsaturadas de la dieta no afectó las concentraciones de LDL-C o HDL-C <sup>74</sup>.

Con relación a los cambios en el perfil lipídico de los pacientes, los resultados en este estudio muestran que una dosis de 2 g de EPA y DHA como lo establece la AHA para el tratamiento de hipertrigliceridemia, durante un periodo de 5 semanas, es suficiente para promover la disminución significativa (-37.52%) en los niveles plasmáticos de triglicéridos con respecto al Pre-Tratamiento, que constituye la principal indicación terapéutica del Omacor. A pesar de las modificaciones en la concentración de triglicéridos, no se observaron cambios significativos en la concentración de colesterol total y glucosa durante el estudio.

Algunos estudios han evaluado cambios en la distribución de sus subclases tras la suplementación con n-3 <sup>72, 75</sup>, y coinciden en un incremento en el número partículas grandes de HDL-2 y una disminución de partículas HDL-3; esta evidencia podría estar relacionada con los cambios en la composición lipídica de HDL hallados en nuestro estudio.

Tras determinar el perfil de lípidos de HDL, se encontró un incremento significativo en la concentración de C-HDL durante el Post-Tratamiento, así como una disminución significativa en la concentración de Triglicéridos-HDL y un aumento de PLP-HDL. El incremento de fosfolípidos podría deberse a la incorporación del EPA y DHA a la partícula, dado que se ha reportado que se encuentran en mayor concentración en los fosfolípidos membranales en comparación con otros compartimentos, y estos responden a su vez de forma rápida a modificaciones dietéticas <sup>61</sup>. Sin embargo, es necesaria la aplicación de otras técnicas para la determinación de ácidos grasos de la partícula, como cromatografía de gases, con el fin confirmar que el EPA y DHA se encuentren integrados en los fosfolípidos de las membranas de HDL.

Los estudios que evalúan los cambios en la distribución de las subclases de HDL mediadas por la suplementación con n-3, hasta la fecha no brindan datos concluyentes sobre cambios en la estructura y composición de estas partículas, y su importancia radica en que se ha propuesto que la función de las HDL puede ser modificada de acuerdo con su contenido lipídico <sup>18, 19, 20, 21</sup>.

En un estudio de nuestro grupo de trabajo, Quintanilla-Cantú *et al* (2018, datos no publicados), demuestran que las HDL enriquecidas con triglicéridos modifican su función endotelial, inhibiendo la relajación por acetilcolina en anillos de rata Wistar <sup>40</sup>. Por lo anterior, la disminución de triglicéridos en la partícula, acompañado de un incremento de fosfolípidos y C-HDL, podrían relacionarse con cambios en su función endotelial; los fosfolípidos de las HDL se encuentran directamente relacionados con la función endotelial y podrían constituir un mecanismo subyacente en el papel cardioprotector de los Omega-3 <sup>93</sup>.

A pesar de que existe una controversia en cuanto al efecto del consumo de n-3 sobre modificaciones en la concentración de C-HDL, en nuestro estudio encontramos cambios relevantes. El incremento significativo de C-HDL, podría explicar los cambios reportados en la distribución de las subclases de HDL a partículas de mayor tamaño, como las HDL-2 después de la suplementación con n-3 <sup>72, 75, 76, 77</sup>, dado que estas partículas se caracterizan por un mayor contenido de colesterol en comparación con las HDL-3 de reciente formación. Además, el incremento en la concentración de C-HDL, ha sido un objetivo deseable durante décadas, por su relación con un menor riesgo cardiovascular <sup>87</sup>, lo que podría representar una mejora mediada por n-3 para pacientes con hipertrigliceridemia, que aunada a otros factores poseen un riesgo cardiovascular elevado.

Cabe destacar que el cambio observado en la composición de HDL únicamente se presentó en el Post-Tratamiento, lo que sugiere la posible incorporación de los ácidos a la partícula y que estos cambios tienen lugar únicamente durante la duración de la suplementación, para posteriormente volver a sus valores basales. Esto refuerza reportes previos, en los que se estima que los ácidos grasos n-3 son almacenados en el tejido adiposo y las membranas de eritrocitos por un periodo aproximado de 4 meses, pero que sus niveles plasmáticos retornan a valores basales a las 2-4 semanas <sup>64</sup>.

La modificación de la composición de lípidos HDL, coincide con los cambios observados durante el tratamiento en cuanto al perfil lipídico, medidas antropométricas y función endotelial y que después del periodo de lavado de 4 semanas se acercaron a sus valores basales. Lo anterior podría sugerir que los cambios en la composición lipídica de HDL subyacen los cambios metabólicos y antropométricos observados en los sujetos de estudio.

En cuanto a la evaluación de la función endotelial por la prueba de DMF, se observó un cambio significativo en el porcentaje de cambio de diámetro tras la aplicación de un estrés mecánico, que es un reflejo directo de la respuesta mediada por el endotelio de la arteria braquial y la liberación de NO en respuesta a la hiperemia reactiva. El promedio del porcentaje basal de función endotelial indica una función endotelial anormal o disminuida en los sujetos de estudio (< 10%). Sin embargo, en la fase de Post-Tratamiento, se observó un incremento significativo con respecto al Pre-Tratamiento; esto coincide con hallazgos de diversos estudios, que muestran una mejora en la función endotelial después de la suplementación con EPA y DHA, principalmente en sujetos con alto riesgo cardiovascular, así como un incremento de la vasodilatación mediada por endotelio, determinada por DMF en sujetos con hipertrigliceridemia <sup>36, 57</sup>.

Se sabe que los n-3 disminuyen el NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor Kappa light-chain enhancer of activated B cells), que regula la expresión de moléculas de adhesión, citocinas proinflamatorias y agentes vasoconstrictores, lo que conlleva a menor adhesión de monocitos, menor inflamación endotelial, menos vasoconstricción y disminución en la síntesis de ROS, lo que contribuye a su acción protectora del endotelio <sup>36,93</sup>. Estos mecanismos podrían explicar la mejora en la prueba de DMF después de la suplementación con n-3, debido a que la incorporación del DHA a la membrana endotelial podría estimular la liberación de ATP del endotelio, lo que a su vez promueve la liberación de NO y favorece la vasodilatación <sup>36</sup>.

Sin embargo, aún existe controversia en cuanto al efecto de los n-3 sobre la función endotelial; Skulas-Ray *et al* (2015), no encontraron cambios significativos en la prueba de DMF en sujetos con hipertrigliceridemia tras una suplementación de 3.4 g/d de EPA y DHA por un periodo de 8 semanas, independientemente de una reducción significativa del 27% en la concentración plasmática de triglicéridos <sup>63</sup>.

Para conocer si las mejoras en la función endotelial de los pacientes se relacionaban con las HDL y su contenido lipídico tras la suplementación de omega-3, se llevaron a cabo pruebas *in vitro* de función endotelial en cámara de órgano aislado, en donde se incubaron anillos de aorta de rata Wistar con HDL aisladas de los pacientes, por medio de ultracentrifugación secuencial.

Derivado de las observaciones en estudios previos, así como de nuestro grupo de investigación, se conoce que las HDL enriquecidas en triglicéridos pueden generar daño en la relajación endotelial mediada por acetilcolina, posiblemente debido a la estrecha relación de estas partículas en la homeostasis de este tejido. Muñoz-Vega *et al* (2018), evidenciaron que las HDL podrían funcionar como vectores lipídicos a las células endoteliales, por lo que se propuso que el enriquecimiento de las lipoproteínas de alta densidad con n-3 y su incorporación a las células endoteliales, podría favorecer la homeostasis vascular y mediar de forma directa una mejora en su función <sup>33</sup>.

Se encontraron diferencias significativas en 5 puntos de la curva de relajación en todas las fases del tratamiento (Pre-tratamiento, Post-tratamiento, Pre-placebo y Post-placebo) con respecto al control, lo que refleja una menor respuesta al estímulo de relajación por acetilcolina en los anillos de aorta incubados con HDL, así como una relajación total menor. Sin embargo, en este estudio no se encontraron modificaciones de la función endotelial mediada por las HDL Post-Tratamiento, ni en ninguna otra etapa del estudio. Esto podría



sugerir que la mejora en la función endotelial después del tratamiento con n-3 observada en la DMF, no es mediada por las HDL, sino por mecanismos independientes. Sin embargo, no existen reportes previos sobre la función endotelial en anillos de aorta mediada por HDL enriquecidas con n-3, por lo que no existen antecedentes que provean una referencia sobre nuestros resultados, en consecuencia, son necesarios más estudios en esta área.

No obstante, Limbu R, *et al* (2018), evidenció que los n-3 tienen un papel directo sobre la vasorelajación en anillos de aorta, ya que al añadir EPA y DHA en una curva de concentración en aortas pre contraídas con distintos agentes vasoconstrictores, promovían directamente la relajación del tejido. De forma interesante, se repitió el estudio bajo las mismas condiciones, a excepción de que el endotelio de la aorta fue removido de forma mecánica con un raspado del tejido. Tras llevar a cabo la curva de EPA y DHA, el tejido siguió presentando una respuesta de vasorelajación, lo que podría indicar un mecanismo vasodilatador de EPA y DHA independiente del endotelio <sup>94</sup>.

Una posible explicación es que los n-3 se podrían incorporar a los fosfolípidos de la membrana del endotelio, desde donde podrían ser metabolizados o incorporados de forma directa al músculo liso, sin necesidad de mediadores endoteliales, como las HDL <sup>94</sup>. Por lo tanto, al ser posiblemente captados e incorporados en las HDL, no estarían en contacto directo con el endotelio, impidiendo su acción directa, lo que explicaría la nula respuesta en la función endotelial mediada por HDL en los anillos de aorta observada en nuestro estudio.

Por otra parte, los n-3 pueden ser metabolizados por diversas vías, como la de COX, LOX y AA, por medio de las cuales, se obtienen derivados que funcionan como metabolitos bioactivos, tales como las maresinas, lipoxinas o prostaglandinas. Una de estas vías es la del CYP450, de la que a partir del EPA se derivan ácidos epoxieicosatrienoicos (EETS), que ejercen diversos efectos antiinflamatorios y sobre el tono vascular, pero también actúan a nivel endotelial, promoviendo la acción de la eNOS. Además, se ha propuesto que los EETS pueden ejercer un papel vaso relajante directamente sobre el músculo liso, sin necesidad de interactuar con el endotelio vascular <sup>94</sup>.

También se hipotetiza que los EETS modulan los canales de calcio dependientes de potasio, que a través de una hiperpolarización causan la relajación de las células musculares lisas <sup>94</sup>.

Sin embargo, aunque no se observó una mejora en la respuesta de función endotelial mediada por HDL en los anillos de aorta después del tratamiento con n-3, debemos resaltar que a pesar de que las condiciones *in vitro* simulan una respuesta fisiológica, existe una gran diversidad de factores que podrían influir en los resultados observados *in vivo*. En el ensayo en cámara de órgano aislado, la interacción durante la incubación del tejido endotelial con las HDL de pacientes tratados con n-3, es por un tiempo limitado y podría no ser suficiente para observar el efecto que experimentaron los pacientes en la prueba de DMF, en donde se encontró una mejora significativa en la función endotelial, posiblemente porque el endotelio podría estar en contacto por mayor tiempo durante las 5 semanas de suplementación con el EPA y DHA, para mediar cambios en la función endotelial.

Tanaka *et al* (2014), comprobaron que en sujetos con dislipidemia, la suplementación con 1.8 g/día durante 4 semanas indujo mejoras en la función antioxidante y antiinflamatoria de las HDL, así como una mejora en el eflujo de colesterol desde los macrófagos. Lo anterior

refuerza la hipótesis de que el EPA y DHA podrían mejorar la función de las lipoproteínas de alta densidad <sup>10</sup>.

Finalmente, es importante resaltar que las ECV son prevenibles cuando se actúa sobre los factores de riesgo. Su desarrollo se encuentra estrechamente relacionado con la nutrición. A pesar de que el factor genético es clave en el desarrollo de las ECNT, es reconocida la influencia de factores ambientales, entre los cuales destaca el tabaquismo, el sedentarismo, hipertensión arterial, sobrepeso, obesidad e hiperglucemia, determinantes para su aparición o progresión y su importancia radica en que son factores de riesgo modificables. La OMS recomienda el incremento en la actividad física y modificaciones en el estilo de vida, que pueden constituir una herramienta accesible y económica para su prevención. Asimismo, la implementación de políticas nacionales de salud dirigidas a la población en general y a personas en riesgo, que disminuyan la incidencia de las ECV <sup>95</sup>.

Además, cabe resaltar que este es el primer estudio de este tipo realizado en población mexicana y hasta la fecha no existen reportes de cambios en la función de HDL relacionadas a cambios en su composición lipídica mediada por n-3, por lo que constituye aporte innovador que podría sentar las bases para futuras investigaciones que evalúen la relación de los n-3 sobre el metabolismo de las HDL.

Adicionalmente, no existen terapias capaces de mejorar la función de las HDL; de esta forma, los n-3 podrían constituir una herramienta terapéutica y preventiva que favorezca cambios en la composición y función de las HDL para la disminución y progresión de las ECV. Son necesarios más estudios que nos acerquen a descifrar el papel de las lipoproteínas de alta densidad sobre la función endotelial y su relación con los ácidos grasos omega-3.

Hasta la fecha, ningún estudio ha investigado el impacto independiente de EPA y DHA en el metabolismo de las lipoproteínas; tales estudios podrían aclarar sus efectos modificadores de lípidos y el potencial terapéutico de consumir aceites ricos en EPA o DHA. Este conocimiento enfatiza la importancia de regular el metabolismo de las lipoproteínas como un modo de mejorar los lípidos plasmáticos y potencialmente el riesgo de ECV <sup>88</sup>.

Por todo lo anterior, se puede concluir que por lo menos en este estudio, la suplementación con n-3 medio cambios significativos antropométricos, como pérdida de peso, circunferencia de cintura y cadera, así modificaciones en el perfil lipídico, principalmente disminución de los triglicéridos plasmáticos, acompañada de un incremento en la función endotelial de los pacientes medida por la prueba de DMF.

La participación de las HDL en procesos biológicos fundamentales que son relevantes para la salud genera un gran esfuerzo de investigación por parte de muchos grupos de estudio alrededor del mundo. La investigación se ha dirigido recientemente a probar la nueva información sobre la calidad y función de HDL en relación con el riesgo de ECV y cómo las funciones de HDL pueden convertirse en pruebas clínicas para estimar el riesgo cardiovascular o que puedan utilizarse en la evaluación de nuevos desarrollos farmacológicos.

## **8. CONCLUSIÓN**

La suplementación con EPA y DHA en humanos induce cambios significativos en la composición de las HDL, con una disminución de triglicéridos e incremento de colesterol y fosfolípidos en la partícula. Sin embargo, no se observaron modificaciones en la función endotelial de anillos de aorta de rata Wistar mediadas por HDL, a pesar de una mejora significativa en la función endotelial de los pacientes en la prueba de DMF después del tratamiento. Estos resultados sugieren un efecto benéfico de los n-3 sobre la función endotelial por medio de un mecanismo independiente de las HDL.

## 9. ANEXOS

### ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ  
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN  
PROPUESTA DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



#### Carta de consentimiento informado.

Ciudad de México a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_.

Por medio de la presente yo, \_\_\_\_\_ autorizo mi participación en el proyecto de investigación titulado “Efecto de la suplementación de ácidos grasos omega-3 sobre la estructura y función de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia”.

El objetivo de este estudio es analizar cambios en la función de las HDL después de la suplementación con ácidos grasos omega-3. Se me ha explicado y he comprendido que mi participación consistirá en asistir en ayuno al Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cardiología, en donde se me tomarán 10 mL de sangre y posteriormente, se me indicará una dieta isocalórica que seguiré durante 1 semana. A continuación, se me indicó la toma de 3 cápsulas de omega-3 al día por un periodo de 8 semanas, que serán proporcionadas por el investigador y transcurrido este tiempo, asistiré para la toma de muestra final. Me han informado que la realización de este estudio me permitirá conocer mis niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre, y mis medidas antropométricas (peso, talla, índice de masa corporal). Asimismo, se me realizará una valoración clínico-nutricional, con lo cual se determinará mi riesgo cardiovascular y al finalizar el estudio se me harán las recomendaciones dietéticas y nutricionales pertinentes. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes y molestias derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes; como consecuencia del consumo de cápsulas de omega-3, es probable que sufra de trastornos gastrointestinales (incluyendo distensión abdominal, dolor abdominal, estreñimiento, diarrea, dispepsia, flatulencias, eructos, reflujo gastroesofágico, náuseas o vómitos) y derivado de la toma de sangre, dolor durante la punción y posible formación de hematoma en el sitio de la misma. Los posibles efectos secundarios y riesgos por el volumen de sangre colectado son considerados como mínimos. Con lo anterior, se generará información para determinar el efecto de los omega-3 sobre la estructura y función de las HDL. Entiendo que conservo el derecho de retirarme o retirar mi muestra biológica del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente. Los investigadores en cargo; Dra. Azucena Salazar Piña y Dr. Oscar Pérez Méndez, han confirmado que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma absolutamente confidencial. Para cumplir con lo anterior, el investigador utilizará para la creación de base de datos (que tendrá mi información clínica, así como las respuestas del cuestionario acerca de mis datos que se me aplicará), número de folio (no empleará mi nombre) para identificarme y de esa forma conservar mi anonimato.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador encargado.

\_\_\_\_\_  
Testigo 1. Nombre y firma

\_\_\_\_\_  
Testigo 2. Nombre y firma

## ANEXO 2. HISTORIA CLÍNICA NUTRIOLÓGICA

### PROTOCOLO: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 SOBRE LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN ENDOTELIAL DE LAS HDL EN SUJETOS CON HIPERTRIGLICERIDEMIA.

Fecha: \_\_\_\_\_ No. De Expediente: \_\_\_\_\_

#### I. Datos Generales

Nombre: \_\_\_\_\_ Genero: F  M  Edad: \_\_\_\_\_  
 Estado Civil: Soltero  Casado  Viudo  Divorciado  Fecha de nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Domicilio: \_\_\_\_\_  
 C.P. \_\_\_\_\_ Tel. \_\_\_\_\_ Correo electrónico: \_\_\_\_\_

#### II. Datos Socioeconómicos

Ocupación: \_\_\_\_\_ Horario: \_\_\_\_\_  
 Ingreso Mensual aproximado \_\_\_\_\_ ¿Cuánto destina a la compra de alimentos? \_\_\_\_\_

#### III. Antecedentes Fisiopatológicos

	Personal	Familiar		Personal	Familiares
3.1 Diabetes tipo _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.7 Trastorno Hormonal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.2 Hipertensión Arterial	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.8 Cáncer _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.3 Obesidad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.9 Enfermedades tiroideas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.4 Cardiopatía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.9.1 Gastritis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.5 Enfermedad Renal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.9.2 Colitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.6 Enfermedad Hepática	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3.9.2 Ulceras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Trastornos de la alimentación Sí  No  ¿Cuál? \_\_\_\_\_

Padecimiento Actual: \_\_\_\_\_

Prescripción Médica: \_\_\_\_\_

#### IV. Datos Clínicos

Digestivos	Cardiovascular	Otros
4.1 Apetito satisfactorio: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2 Edema: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3 Nicturia: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.1 Pirosis: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2.1 Mareo: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3.1 Poliuria: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.2 Meteorismo: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2.2 Visión Borrosa: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3.2 Polidipsia: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.3 Distensión: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2.3 Zumbido de oídos: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3.3 Polifagia: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.4 Flatulencias: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2.4 Cefalea: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3.4 Insomnio: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.5 Vómito: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.2.5 Disnea: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	4.3.5 Depresión: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
4.1.6 Estreñimiento: Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>		

#### V. Estilo de Vida

5.1 Actividad física: Sí  No

5.1.1 Tipo: Aeróbica  Anaeróbica

5.1.2 Frecuencia: <2 veces/semana  3-5 veces/semana  >6 veces/semana

5.2 Horas sueño: <5 horas  6-8 horas  >8 horas

5.3 Horas trabajo y / o escuela: <5 horas  6-8 horas  >8 horas

5.4 ¿Consume alcohol? Sí  No  Cantidad:

5.4.1 Frecuencia: <2 veces/semana  3-5 veces/semana  >6 veces/semana

5.5 ¿Fuma? Sí  No  Cantidad:

5.5.1 Frecuencia: <2 veces/semana  3-5 veces/semana  >6 veces/semana

6.1 No de Comidas al día: <2 comidas  3-5 comidas  >6 comidas

6.1.2 ¿Cuáles? Desayuno  Colación  Comida  Colación  Cena

6.3 ¿Cuánto tiempo tarda en comer?: \_\_\_\_\_ 6.4 ¿Quién prepara? \_\_\_\_\_

6.5 ¿Dónde y con quién ingiere los alimentos?: \_\_\_\_\_

6.6 ¿Ha realizado algún tipo de dieta? Sí  No  Duración: \_\_\_\_\_

6.7 Consistía en: \_\_\_\_\_

¿Ha presentado incremento o pérdida de peso recientes? \_\_\_\_\_

¿Cuántos kilogramos y en qué tiempo? \_\_\_\_\_

IX. Datos Antropométricos

	Medición	Referencia
9.1	Peso actual (kg)	
9.2	Talla (m)	
9.3	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	18.5-24.9
9.4	Peso Ideal (kg)	
9.5	Grasa (%)	6-18%
9.6	Circunferencia cintura (cm)	<102 cm
9.7	Circunferencia cadera (cm)	
9.7.1	Índice cintura cadera	< 1
9.8	Presión Arterial (mmHg)	< 120-80 mmHg
9.9	Riesgo Cardiovascular	

X. Datos Bioquímicos.

Dato Bioquímico	Resultado	Valor de Referencia*
10.1	Glucosa en ayuno	60-120 mg/dL
<b>PERFIL DE LÍPIDOS</b>		
10.2.1	Colesterol total	< 200 mg/dL
10.2.2	HDL colesterol	29 - 71 mg/dL
10.2.3	LDL colesterol	72 - 100 mg/dL
10.2.4	Triglicéridos	< 150 mg/dL

\* Referencia: "laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico"

La historia clínica refiere \_\_\_\_\_, con una distribución de grasa de tipo \_\_\_\_\_ y riesgo \_\_\_\_\_ de padecer enfermedades de tipo \_\_\_\_\_, relacionado a su peso (\_\_\_\_kg), evidenciado por un Índice de Masa Corporal de \_\_\_\_\_kg/mts<sup>2</sup> y la relación cintura-cadera.

Se diagnóstica un requerimiento calórico máximo de \_\_\_\_\_ Kcal, para reducir cualquier riesgo nutricional y de salud.

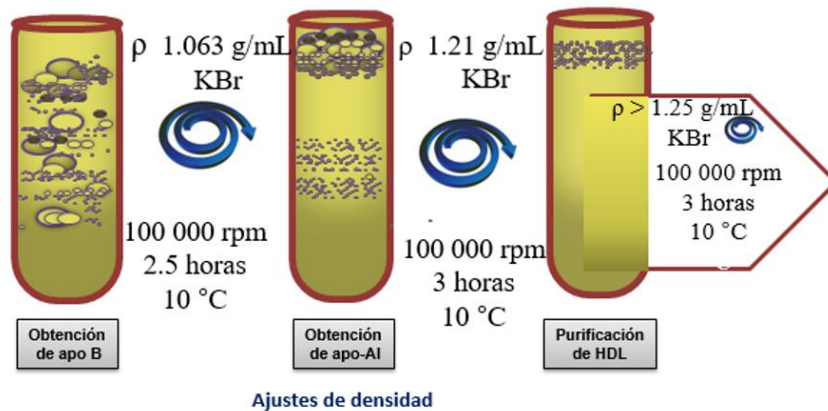




## ANEXO 4. ULTRACENTRIFUGACIÓN SECUENCIAL PARA OBTENCIÓN Y PURIFICACIÓN DE HDL

El proceso de US se llevó a cabo conforme al siguiente protocolo:

- 1) Se ajustó la densidad de 1 mL de plasma ( $d$  1.005) a una densidad de 1.063 g/mL con bromuro de potasio sólido (KBr).
- 2) Se ultracentrifugó durante 2:35 h a una velocidad de 100,000 g. En este paso se separaron por flotación las lipoproteínas que contienen apo B (VLDL, LDL, IDL).
- 3) Se retiró el sobrenadante (lipoproteínas que contienen apo B) y se recuperó el pellet (sedimento) del tubo.
- 4) Se cuantificó el volumen recuperado y se ajustó la densidad del plasma a 1.21 g/mL con KBr sólido en un tubo limpio. Se centrifugó a 100,000 g por 3:05 h. En estas condiciones se recuperó entre el 80 % y 85 % de la apolipoproteína Apo A-I del total del plasma por flotación.
- 5) Por último, se ajustó la densidad del sobrenadante con solución de KBr a 1.25 g/mL y se volvió a centrifugar por 3 h a 100,000 g para disminuir la cantidad de albúmina residual presente en la muestra.
- 6) De forma posterior al aislamiento, las HDL recuperadas se colocaron en membranas de diálisis Spectrum Labs® para ser dializadas en solución amortiguadora de TBE (Tris 0.09 M, ácido bórico 0.08 M, EDTA 3 mM, pH= 8.4), con el fin de retirar de la muestra el KBr restante.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Organización Mundial de la Salud. (enero, 2015). Enfermedades no transmisibles. Octubre, 2016, de OMS. Sitio web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/>
- 2) Barquera S, Campos I. (2009). Dislipidemias: epidemiología, adherencia, evaluación y tratamiento. (3a Ed.). INSP. México.
- 3) Lairon D, Lopez-Miranda J, Williams C. (2007). Methodology for studying postprandial lipid metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 61 (10): 1145-61.
- 4) Argüelles A. (2007). Riesgos cardio y cerebrovasculares. Academia Nacional de las Ciencias de Buenos Aires. 2-8.
- 5) Fause-Attie, Rosas-Peralta M. (2007). Enfermedad cardiovascular. Primera causa de muerte en adultos de México y el mundo. *Arch Cardiol Mex.* 77: 91-93.
- 6) Córdova-Villalobos JA, Barriguete-Meléndez JA, Lara-Esqueda A. (2008). Chronic non-communicable diseases in Mexico: epidemiologic synopsis and integral prevention. *Salud Pública Mex;* 50: 419-427.
- 7) GISSI-Prevenzione Investigators, Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial, *Lancet* 354 (1999) 447-455.
- 8) Wooten SJ, Biggerstaff DK, Ben-Ezra Joshua S. Wooten, Kyle D. Biggerstaff, and Ben-Ezra V. Responses of LDL and HDL particle size and distribution to omega-3 fatty acid supplementation and aerobic exercise. *J Appl Physiol.* (2009); 107: 794–800.
- 9) Pérez-Méndez O, Carreón-Torres JE, Franco M, Juárez-Oropeza MA. HDL physiochemical characteristics as determinants of their plasma concentrations: what we have learned about thiazolidinediones. HDL and LDL Cholesterol Physiology. (2009); 2-20.
- 10) Tanaka N, Ishida T, Nagao M, Mori T, Monguchi T, Sasaki M, Mori K, Kondo K, Nakajima H, Honjo T, Irino Y, Toh R, Shinohara M, Hirata K. Administration of high dose eicosapentaenoic acid enhances anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein in Japanese patients with dyslipidemia. *Atherosclerosis.* 2014 Dec; 237(2):577-83.
- 11) Errico TL, Xiangyu Ch, Martin Campos JM, Julve J, Joan Carles Escolà-Gil JC, Francisco Blanco-Vaca F. (2013). Mecanismo básico: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas. *Clin Invest Arterioscl.* 25: 98-103.
- 12) Toledo-Ibelles P, García-Sánchez C, Avila-Vazzini N, Carreón-Torres E, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G, Pérez-Méndez O. (2010). Enzimatic assement of cholesterol on electrophoresis gels for estimating HDL size distribution and plasma concentrarions of HDL subclasses. *J Lipid Res.* 51 (6): 1610-7.

- 13) Pérez-Méndez O, Luc G, Posadas-Romero C. Low concentrations of high-density lipoproteins (HDL) in plasma and coronary artery disease. (2000). *Arch Inst Cardiol Mex.*70(3):312-21.
- 14) García-Sánchez C, Torres-Tamayo M, Juárez-Meavepeña M, López-Osorio C, Toledo-Ibelle P, Monter-Garrido M, Cruz-Robles D, Carreón-Torres E, Vargas-Alarcón G, Pérez-Méndez O. (2011). Lipid plasma concentrations of HDL subclasses determined by enzymatic staining on polyacrylamide electrophoresis gels in children with metabolic syndrome. *Clinica Chimica Acta* 412: 292–298.
- 15) Torrejon C, Jung U.J, Deckelbaum R.J. N-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Actions and Molecular Mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* (2007); 77(5-6): 319–326.
- 16) Rizzo M, Otvos J, Nikolic D, Montalto G, Toth PP, Banach M. (2014). Subfractions and subpopulations of HDL: an update. *Curr Med Chem.* 21 (25): 2881-91.b
- 17) Rye KA, Barter PJ. Cardioprotective functions of HDL. (2013). *J Lipid Res.* <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.R039297>.
- 18) Kosmas CE, Martínez I, Sourlas A, Bouza KV, Campos FN, Torres V, Montan PD, Guzman E. High-density lipoprotein (HDL) functionality and its relevance to atherosclerotic cardiovascular disease. *Drugs in Context* 2018; 7: 212525
- 19) Riwanto M, Landmesser U. High density lipoproteins and endothelial functions: mechanistic insights and alterations in cardiovascular disease. *J. Lipid Res.* 2013, 54: 2031–2033.
- 20) Aguilar-Salinas C, Melgarejo-Hernández MA. Análisis de la composición y de la función de las HDL, ¿un estudio para el clínico del futuro? *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2011;19(3):113-122
- 21) Carnuta MG, Stancu CS, Toma L, Sanda GM, Niculescu LS, Deleanu M, Popescu AC, Popescu MR, Vlad A, Simionescu M, Sima AV. Dysfunctional high-density lipoproteins have distinct composition, diminished anti-inflammatory potential and discriminate acute coronary syndrome from stable coronary artery disease patients. (2017) *Scientific reports* | 7: 7295.
- 22) Favari E, Thomas MJ, Sorci-Thomas MG. HDL Functionality as a New Pharmacological Target on CVD: Unifying Mechanism That Explains HDL Protection Towards The Progression of Atherosclerosis. (2018) *Journal of Cardiovascular Pharmacology.*
- 23) Natarajan P, Ray KK, Cannon CP. High-Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. *Current and Future Therapies.* (2010). *JACC* 55(13) :1283–99.

- 24) Pérez-Méndez O, González-Pacheco H, Martínez-Sánchez C, Franco M. (2014). HDL-cholesterol in coronary artery disease risk: function or structure? *Clin Chim Acta*. 429 (15): 111–122.
- 25) Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. (2011). HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat Rev Cardiol*. (4): 222-32.
- 26) Libby P, Okamoto Y, Rocha VZ, Folco E. (2010). Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ J*. 74 (2): 213-20.
- 27) M. Yokoyama, H. Origasa, M. Matsuzaki, Y. Matsuzawa, Y. Saito, Y. Ishikawa, et al., Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomized open-label, blinded endpoint analysis, *Lancet* 369 (2007) 1090-1098.
- 28) Rasmussen JG, Eschen RB, Aardestrup IV, Dethlefsen C, Griffin. BA, Schmidt EB. (2008). Flow-mediated vasodilatation: variation and interrelationships with plasma lipids and lipoproteins. *Scand J Clin Lab Invest*. 20: 1-5.
- 29) Wiktorowska-Owczarek A, Berezińska M, Nowak JZ. PUFAs: structure, metabolism and functions. *Adv Clin Exp Med*. (2015); 24 (6), 931–941.
- 30) Kratzer A, Giral H, Landmesser U. (2014). High-density lipoproteins as modulators of endothelial cell functions: alterations in patients with coronary artery disease. *Cardiovascular Research*, 103, 350–361.
- 31) Acosta AG, Áñez VJ, Andara CV, Bermúdez PV, Bermúdez AF. (2006). Mecanismos moleculares de la disfunción endotelial: de la síntesis a la acción del óxido nítrico. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 25, (2).
- 32) Dihn T, Diallo D, Delboc S, Varela Pérez M, Dang QB, Lapergue B, et al. HDL and endothelial protection. *British Journal of Pharmacology* (2013) 169 493–511.
- 33) Muñoz-Vega M, Massó F, Páez A, Carreón-Torres E, Cabrera-Fuentes HA, Pérez-Hernández N, Martínez LO, Najib S, Vargas-Alarcón G, Pérez-Méndez Ó. Characterization of immortalized human dermal microvascular endothelial cells (HMEC-1) for the study of HDL functionality. (2018). *Lipids Health Dis*. 9;17(1):44. doi: 10.1186/s12944-018-0695-7.
- 34) Jarrete AP, Zanesco A, Delbin MA. Assessment of endothelial function by flow-mediated dilation in diabetic patients: Effects of physical exercise. (2016). *Motriz, Rio Claro*, v.22 n.1, p.3-11.
- 35) Borow KM, Nelson JR, Mason RP. Biologic plausibility, cellular effects, and molecular mechanisms of eicosapentaenoic acid (EPA) in atherosclerosis. (2015). *Atherosclerosis* 242 (2015) 357e366.
- 36) Dessi M, Noce A, Bertucci P, et al. Atherosclerosis, Dyslipidemia, and Inflammation: The Significant Role of Polyunsaturated Fatty Acids. (2013). *ISRN Inflamm*. 12; 2013:191823. doi: 10.1155/2013/191823.

- 37) Hanefeld M, The metabolic vascular syndrome - guide to an individualized treatment. *Rev Endocr Metab Disord* (2016) 17:5–17. DOI 10.1007/s11154-016-9345-4.
- 38) Lucero D, et al., Alterations in triglyceride rich lipoproteins are related to endothelial dysfunction in metabolic syndrome, *Clin Biochem* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.04.016>
- 39) Peng J, Luo F, Ruan G, Peng R, Li X. Hypertriglyceridemia and atherosclerosis. (2017). *Lipids in Health and Disease* (2017) 16:233.
- 40) Quintanilla-Cantú A, Peña-de-la-Sancha P, Flores-Castillo C, Mejía-Domínguez AM, Posadas-Sánchez R, Pérez-Hernández N, Bautista-Pérez R, Enriquez-Calderón RE, Juárez-Oropeza MA, Fragoso JM, Vargas-Alarcón G, Pérez-Méndez O. Small HDL subclasses become cholesterol-poor during postprandial period after a fat diet intake in subjects with high triglyceridemia increases. (2017). *Clin Chim Acta*. 2017 Jan; 464:98-105. doi: 10.1016/j.cca.2016.11.018.
- 41) Litvinova L, Atochin D, Fattakhov N, Vasilenko M, Zatolokin P, Kirienkova E. (2015). Nitric oxide and mitochondrial in metabolic syndrome. *Mitochondrial Research*. 6 (20): 1-10.
- 42) Ghiadoni L, Salvetti M, Muiesan ML. Evaluation of Endothelial Function by Flow Mediated Dilation: Methodological Issues and Clinical Importance. 2014. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. DOI 10.1007/s40292-014-0047-2
- 43) INEGI. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido. (2016). Sitio Web: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>
- 44) Escott-Stump S. (2012). *Nutrition and Diagnosis-Related Care*. 7° Ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- 45) Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, Mauriège P, Després JP. (1998). Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes*. 47 (6): 953-60.
- 46) Alcalá-Díaz JF, Delgado-Lista J, Pérez-Martínez P, García-Ríos A, Marín C, Quintana-Navarro GM, Gómez-Luna P, Camargo A, Almaden Y, Caballero J, Tinahones FJ, Ordovás JM, Pérez-Jiménez F, López-Miranda J. (2014). Hypertriglyceridemia influences the degree of postprandial lipemic response in patients with metabolic syndrome and coronary artery disease: from the cordioprev study. *PLoS One*. 9 (5): 96-97
- 47) Oliveira CP, Sánchez PL, Oliveira de EA, Marcadenti A. (2015). Nutrition and Physical Activity in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Diabetes Research*. Vol. 2016: 1-12.

- 48) Lu W, Li S, Li J, Wang J, Zhang R, Zhou Y, Yin Q, Zheng Y, Wang F, Xia Y, Chen K, Liu T, Lu J, Zhou Y, Guo C. (2016). Effects of Omega-3 Fatty Acid in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Gastroenterology Research and Practice*. Vol. 2016, Article ID 1459790: 1-11.
- 49) Executive Summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). (2002). Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): final report. US Department of Health and Human Services; Public Health Service. National Institutes of Health; National Heart, Lung, Blood Institute. *Circulation*. 106: 3143-420.
- 50) Rubiés-Prat J, Botet JP. Hipertrigliceridemia como factor de riesgo cardiovascular. ¿Fin de la controversia?. *Med Clin (Barc)* 2003;120(8):303-7.
- 51) Patel AA, Budoff MJ. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on lipoproteins in hypertriglyceridemia. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2016, 23:145–149 DOI:10.1097/MED.0000000000000233.
- 52) Backes J, Anzalone D, Hillerman D, Catini J. The clinical relevance of omega-3 fatty acids in the management of hypertriglyceridemia. (2016). *Lipids in Health and Disease*.15:118.
- 53) Skulas-Ray AC, West SG, Davidson MH, Kris-Etherton PM. Omega-3 fatty acid concentrates in the treatment of moderate hypertriglyceridemia. *Expert Opin. Pharmacother.* (2008) 9(7):1237-1248.
- 54) Aguilar-Salinas, Melgarejo MA. Genética de las dislipidemias en México. *Mensaje bioquímico*, (2016). vol. XL 125-142.
- 55) Coronado HM, Vega LS, Gutiérrez TR, García FB, Díaz GG. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *Universidad Autónoma Metropolitana*. (2006); 25 (3): 72-79.
- 56) Castro González MI. (2002). Ácidos Grasos Omega-3. Beneficios y Fuentes. *Interciencia*, vol. 27, núm. 3, pp. 128-136.
- 57) Cottin SC, Sanders TA, Hall WL. The differential effects of EPA and DHA on cardiovascular risk factors. (2011). *Proceedings of the Nutrition Society* (2011), 70, 215–231.
- 58) Poudyal H, Panchal SK, Diwan V, Brown L. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effects and emerging mechanisms of action. *Progress in Lipid Research* 50 (2011) 372–387.
- 59) Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease. Effects on Risk Factors, Molecular Pathways, and Clinical Events. (2011). *JACC*. 58: 2047–67.
- 60) Endo J, Arita M. Cardioprotective mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acids. (2016) *Journal of Cardiology* 67:22–27.

- 61) Jump DB, Depner CM, Tripathy S. Omega-3 fatty acid supplementation and cardiovascular disease. *J. Lipid Res.* 2012. 53: 2525–2545.
- 62) Penny MK, Harris SW, Appel JL. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease New Recommendations from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* (2003); 23:151-152.
- 63) Skulas-Ray AC, Khris-Erthon P, Harris WS, Vanden-Heuvel JP. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:243–52.
- 64) Skulas R, Alaupovic P, West SG. Dose Response Effects of Marine Omega-3 Fatty Acids on Apolipoproteins, Apolipoprotein-Defined Lipoprotein Subclasses, and Lp-PLA2 in Individuals with Moderate Hypertriglyceridemia. (2015). *J Clin Lipidol.* 2015; 9(3): 360–367.
- 65) Khetarpal S, Qamar A, Millar J, Rader D. Targeting ApoC-III to Reduce Coronary Disease Risk. (2016). *Curr Atheroscler Rep* 18:54.
- 66) Rodríguez-Cruz M, Serna DS. Nutrigenomics of omega-3 fatty acids: regulators of the master transcription factors. *Nutrition.* 2017 Sep; 41:90-96.
- 67) Bays HE, Tighe AP, Prescription omega-3 fatty acids and their lipid effects: physiologic mechanisms of action and clinical implications. Harold E. Bays. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 6(3), 391-409 (2008).
- 68) Binia A, Vargas-Martínez C, Ancira-Moreno M, *et al.* Improvement of cardiometabolic markers after fish oil intervention in young Mexican adults and the role of PPAR $\alpha$  L162V and PPAR $\gamma$ 2 P12A. (2012). *Journal of Nutritional Biochemistry* 43: 98–106.
- 69) Du Z, Ma T, Liaset B, Keenan AH, Araujo P. (2013). Dietary eicosapentaenoic acid supplementation accentuates hepatic triglyceride accumulation in mice with impaired fatty acid oxidation capacity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1831 (2013) 291–299.
- 70) Burillo E, Martín-Fuentes P, Mateo-Gallego R, Baila-Rueda M, Cenarro A, Ros E. Omega-3 Fatty Acids and HDL. How do they work in the prevention of cardiovascular risk? *Current Vascular Pharmacology*, 2012, 10, 432-441.
- 71) Mori TA, Burke V, Watts G, *et al.* Purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. (2000). *Am J Clin Nutr*; 71:1085–94
- 72) Mostad IL, Bjerve KS, Lydersen S, Gril V. Effects of marine n-3 fatty acid supplementation on lipoprotein subclasses measured by nuclear magnetic resonance in subjects with type II diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition.* (2008); 62, 419–429.

- 73) Tani S, Nagao K, Matsumoto M, *et al.* Highly Purified Eicosapentaenoic Acid May Increase Low-Density Lipoprotein Particle Size by Improving Triglyceride Metabolism in Patients with Hypertriglyceridemia. (2013). *Circ J*; 77: 2349 – 2357.
- 74) Ginsberg HN, Karmally W, Barr SL, *et al.* Effects of Increasing Dietary Polyunsaturated Fatty Acids Within the Guidelines of the AHA Step 1 Diet on Plasma Lipid and Lipoprotein Levels in Normal Males. *Arterioscler Thromb.* 1994 June; 14(6): 892–901.
- 75) Petersen M, Pedersen H, Major-Pedersen Atheline, Jensen T, Marckmann P. Effect of Fish Oil versus Corn Oil Supplementation on LDL and HDL Subclasses in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* (2002); 25:1704–1708.
- 76) Woodman RJ, Mori TA, Burke V, *et al.* Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:1007–15.
- 77) Calabresi L, Villa B, Canavesi M, *et al.* An w-3 Polyunsaturated Fatty Acid Concentrate Increases Plasma High-Density Lipoprotein 2 Cholesterol and Paraoxonase Levels in Patients With Familial Combined Hyperlipidemia. *Metabolism*, Vol 53, No 2 (February), 2004: pp 153-158.
- 78) Bogl HL, Maranghi M, Rissanenc A, Kaprio J, Marja-Riitta T, Pietiläinen HK. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid intake is related to a protective high-density lipoprotein subspecies profile independent of genetic effects: A monozygotic twin pair study. *Atherosclerosis.* (2011); 219: 880–886.
- 79) Valenzuela R, Tapia G, González M, Valenzuela A. Omega-3 fatty acids (EPA AND DHA) and its application in diverse clinical situations. *Rev Chil Nutr.* 38 (3): 356-367.
- 80) Ranalletta, M., *et al.*, Biochemical characterization of cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *J Lipid Res*, 2010. 51(9): p. 2739-52.
- 81) Negi, S.I., *et al.*, A novel mutation in the ABCA1 gene causing an atypical phenotype of Tangier disease. *J Clin Lipidol*, 2013. 7(1): p. 82-7.
- 82) Brooks-Wilson, A., *et al.*, Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet*, 1999. 22(4): p. 336-45.
- 83) Klein, H.G., *et al.*, Fish eye syndrome: a molecular defect in the lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) gene associated with normal alpha-LCAT-specific activity. Implications for classification and prognosis. *J Clin Invest*, 1993. 92(1): p. 479-85.
- 84) Annemma W, Von-Eckardstein A. Dysfunctional high-density lipoproteins in coronary heart disease: implications for diagnostics and therapy. (2016). *Transl Res*; 173:30-57.
- 85) Vitali C, Khetharpal S, Rader D. HDL Cholesterol Metabolism and the Risk of CHD: New Insights from Human Genetics. *Curr Cardiol Rep* (2017) 19:132
- 86) Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. High-density lipoprotein as a therapeutic target: a systematic review. *JAMA.* 2007 Aug 15;298(7):786-98.



- 87) Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. (1977). High-density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med*; 62:707–14.
- 88) Ooi EM, Watts G, Theodore WK, Barret H. Effect of Dietary Fatty Acids on Human Lipoprotein Metabolism: A Comprehensive Update. *Nutrients* 2015, 7, 4416-4425; doi:10.3390/nu7064416.
- 89) Kuang YL, Paulson KE, Lichtenstein AH, Lamon-Fava S. Regulation of the expression of key genes involved in HDL metabolism by unsaturated fatty acids. *British Journal of Nutrition* (2012), 108, 1351–1359.
- 90) Ebrahimi M, Mobarhan MG, Rezaiean M. Omega-3 fatty acid supplements improve the cardiovascular risk profile of subjects with metabolic syndrome, including markers of inflammation and auto-immunity. *Acta Cardiol* 2009; 64(3): 321-327.
- 91) Leyre MF, Laiglesia AE. Omega-3 fatty acids and adipose tissue function in obesity and metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2018, 27;58:1-16.
- 92) NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.
- 93) Zanetti M, Grillo A, Losurdo P, Panizon E, et al. (2015). Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Structural and Functional Effects on the Vascular Wall. *Biomed Res Int*. 2015; 2015:791978.
- 94) Limbu R, Cottrell GS, McNeish AJ (2018) Characterisation of the vasodilation effects of DHA and EPA, n-3 PUFAs (fish oils), in rat aorta and mesenteric resistance arteries. *PLoS ONE* 13(2): e0192484.
- 95) Mendis S, Puska P, Norrving B. (2011). *Global Atlas On Cardiovascular Disease Prevention and Control*. World Health Organization.



**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**

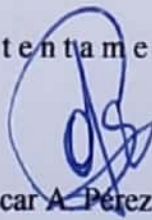
**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la C. Paola Patricia Peña de la Sancha, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título "Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dr. Óscar A. Pérez Méndez

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 26 días del mes de Noviembre del 2018



**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**


**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la C. Paola Patricia Peña de la Sancha, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título "Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente :

**La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.**

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dra. Azucena Salazar Piña

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 26 días del mes de Noviembre del 2018



**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**

**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la C. Paola Patricia Peña de la Sancha, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título “Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia” ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente (elegir la que compete):

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dra. Margarita Ramos García

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 26 días del mes de Noviembre del 2018



**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**

**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la C. Paola Patricia Peña de la Sancha, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título "Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 03 días del mes de Diciembre del 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**

**COMISIÓN ACADÉMICA.  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN  
P R E S E N T E:**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la **C. Paola Patricia Peña de la Sancha**, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título "Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente (elegir la que compete):

- I. La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 26 días del mes de Noviembre del 2018.

Atentamente

  
Dr. David Martínez Duncker R.  
PITC DEFINITIVO TITULAR A

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.  
Formato. Voto Sinodal.**

**COMISIÓN ACADÉMICA DE  
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS  
DE LA NUTRICIÓN  
PRESENTE**

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por la C. Paola Patricia Peña de la Sancha, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160508, y que lleva por título “Efecto de la suplementación de ácidos grasos Omega-3 sobre la composición lipídica y función endotelial de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos con hipertrigliceridemia” ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comisión Revisora comunicar lo siguiente:

La tesis se aprueba, dado que reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente



Dra. Ana Laura Guadarrama López

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 26 días del mes de Noviembre del 2018

Calle Iztaccihuatl Núm. 100 Col. Los Volcanes, Cuernavaca, Mor., C.P. 62350  
Tel. (777) 329 70 00, Ext. 7951 315 04 35 / academicanutricion@uaem.mx