



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LIPOPROTEINAS DE ALTA DENSIDAD, A LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DESATURASA $\Delta 5$ Y $\Delta 6$ E ÍNDICES OBTENIDOS A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS EN JÓVENES MEXICANOS SUPLEMENTADOS CON ACEITE DE PESCADO.

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
L.N. JANINE SAGACETA MEJÍA**

**TUTOR
DRA. MA. ELIZABETH TEJERO BARRERA
Instituto Nacional de Medicina Genómica**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. MARICELA RODRÍGUEZ CRUZ
Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Instituto Mexicano del Seguro Social
DRA. MA. TERESA VILLARREAL MOLINA
Instituto Nacional de Medicina Genómica**

Ciudad Universitaria, CD MX MARZO 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

MIEMBROS DEL JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:

DRA. MARICELA RODRÍGUEZ CRUZ
Facultad de Medicina, UNAM

VOCAL:

DR. JORGE MALDONADO HERNÁNDEZ
Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Instituto Mexicano del Seguro Social
Centro Médico Nacional, Siglo XXI

VOCAL:

DR. ARTURO REDING BERNAL
Hospital General De México "Dr. Eduardo Liceaga"

VOCAL:

DRA. MARÍA ELIZABETH TEJERO BARRERA
Instituto Nacional De Medicina Genómica

SECRETARIO:

DRA. LEONOR JACOBO ALBAVERA
Instituto Nacional De Medicina Genómica



El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) en colaboración con la Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Siglo XXI

Contenido

INDICE DE TABLAS	IV
INDICE DE FIGURAS.....	VII
AGRADECIMIENTOS	VIII
ABREVIATURAS	IX
RESUMEN.....	XII
1. ANTECEDENTES	1
1.1 EPIDEMIOLOGIA DE LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES.....	1
1.2 RIESGO CARDIOVASCULAR.....	1
1.2.1 <i>Criterios para establecer Riesgo Cardiovascular (RCV)</i>	2
1.3 LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL).....	3
1.4 COMPOSICIÓN DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL).....	4
1.4.1 <i>Clasificación de las HDL</i>	4
1.4.2 <i>Biogénesis y maduración de las HDL</i>	5
1.4.3 <i>Funciones de las lipoproteínas de alta densidad (HDL)</i>	6
1.4.4 <i>Transporte reverso del colesterol (TRC)</i>	6
1.5 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA (AGPI-CL).....	7
1.5.1 <i>Enzimas desaturasas</i>	8
1.5.2 <i>Índices derivados de ácidos grasos</i>	10
1.6 FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LAS HDL-C, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA D Δ 5, D Δ 6 E ÍNDICES CALCULADOS A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS.....	11
1.6.1 <i>Factores ambientales</i>	12
1.6.2 <i>Factores genéticos</i>	14
1.7 EFECTO DE LA INGESTIÓN DE LOS AGPI-CL SOBRE EL RCV.....	21
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	24
1.8 OBJETIVO GENERAL	24
1.9 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
6. MATERIAL Y METODOLOGÍA	24
1.10 DISEÑO DEL ESTUDIO:.....	25
1.11 LUGAR DEL ESTUDIO:.....	25
1.12 POBLACIÓN DE ESTUDIO:.....	25
1.13 CRITERIOS DE SELECCIÓN:.....	25
1.13.1 <i>Criterios de inclusión</i>	25
1.13.2 <i>Criterios de exclusión</i>	25
1.13.3 <i>Criterios de eliminación</i>	26

1.14	TIPO DE MUESTREO	26
1.15	TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	26
1.16	DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO	26
1.17	SELECCIÓN DE POLIMORFISMOS.....	27
1.18	DEFINICIÓN DE VARIABLES DE INTERÉS DEL ESTUDIO	27
1.19	APEGO A LA SUPLEMENTACIÓN.....	28
1.20	ESTIMACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DESATURASA E ÍNDICES: $\Omega 3$, ARA/EPA, $\Omega 6/ \Omega 3$	29
1.21	TÉCNICAS DE LABORATORIO	29
1.21.1	<i>Análisis de ácidos grasos en plasma y eritrocitos.</i>	29
1.21.1	<i>Determinación de datos antropométricos y bioquímicos.....</i>	32
1.21.2	<i>Cuantificación y pureza de ADN.</i>	32
1.21.3	<i>Genotipificación de SNP</i>	32
1.22	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	33
7.	RESULTADOS	35
1.23	DATOS DESCRIPTIVOS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.	35
1.24	ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS ESTIMADAS: DESATURASA $\Delta 5$ (D $\Delta 5$), DESATURASA AGREGADA 5 (DA $\Delta 5$), DESATURASA $\Delta 6$ (D $\Delta 6$), DESATURASA AGREGADA 6 (DA $\Delta 6$).	37
1.25	ÍNDICES OBTENIDOS A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS EN ERITROCITOS Y EN PLASMA.....	39
1.26	APEGO A LA SUPLEMENTACIÓN.....	39
1.27	FRECUENCIAS GENOTÍPICAS OBSERVADAS EN LA MUESTRA.	41
1.28	CONCENTRACIONES DE COLESTEROL DE ALTA DENSIDAD (HDL-C).	42
1.28.1	<i>Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con las HDL-C al finalizar la suplementación.</i>	42
1.28.2	<i>Variantes genéticas asociadas con la concentración de HDL-C al finalizar la suplementación.</i>	43
1.29	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ESTIMADA DESATURASA $\Delta 5$ (D $\Delta 5$).....	44
1.29.1	<i>Actividad enzimática estimada D$\Delta 5$ a partir de ácidos grasos presentes en eritrocitos.</i>	44
1.29.2	<i>Actividad enzimática estimada D$\Delta 5$ a partir de ácidos grasos presentes en plasma.</i>	46
1.30	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ESTIMADA DESATURASA AGREGADA $\Delta 5$ (DA $\Delta 5$).....	48
1.30.1	<i>Actividad enzimática estimada DA$\Delta 5$ en eritrocitos.</i>	48
1.30.2	<i>Actividad enzimática estimada Desaturasa Agregada $\Delta 5$ (DA$\Delta 5$) en plasma.</i>	50
1.31	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ESTIMADA DESATURASA $\Delta 6$ (D $\Delta 6$).....	51
1.31.1	<i>Actividad enzimática estimada D$\Delta 6$ a partir de ácidos grasos presentes en eritrocitos.</i>	51
1.31.2	<i>Actividad enzimática estimada D$\Delta 6$ a partir de ácidos grasos presentes en plasma.</i>	53
1.32	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ESTIMADA DESATURASA AGREGADA $\Delta 6$ (DA $\Delta 6$).	55
1.32.1	<i>Actividad enzimática estimada DA$\Delta 6$ a partir de ácidos grasos en eritrocitos.....</i>	55
1.32.2	<i>Actividad enzimática estimada DA$\Delta 6$ a partir de ácidos grasos en plasma.</i>	57
1.33	ÍNDICE $\Omega 3$ -HS.....	59
1.33.1	<i>Índice $\Omega 3$-HS en eritrocitos.</i>	59
1.33.2	<i>Índice $\Omega 3$-HS en plasma.....</i>	60

1.34	ÍNDICE ARA/EPA.....	62
1.34.1	<i>Índice ARA/EPA en eritrocitos.</i>	62
1.34.2	<i>Índice ARA/EPA plasmático.</i>	64
1.35	ÍNDICE $\Omega 6/\Omega 3$	65
1.35.1	<i>Índice $\Omega 6/\Omega 3$ en eritrocitos.</i>	65
1.35.2	<i>Índice $\Omega 6/\Omega 3$ en plasma.</i>	65
8.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	67
1.36	CONCENTRACIONES DE HDL-C.....	69
1.36.1	<i>Polimorfismos asociados con las concentraciones HDL-C</i>	70
1.37	ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ESTIMADA DE LAS DESATURASAS.....	72
1.37.1	<i>Polimorfismos asociados con la actividad enzimática estimada.</i>	74
1.38	ÍNDICES OBTENIDOS A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS.....	80
1.38.1	<i>Polimorfismos asociados con los índices estimados a partir de ácidos grasos</i>	82
1.39	FORTALEZAS DEL ESTUDIO	83
1.40	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	83
9.	CONCLUSIONES	84
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
11.	ANEXOS.....	101

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Puntos de corte del perfil de lípidos para el diagnóstico de dislipidemias según la NOM-037-SSA2-2002	2
Tabla 2. Características de las HDL.....	4
Tabla 3. Clasificación de HDL de acuerdo con diversas propiedades.....	5
Tabla 4 Cálculo de la actividad enzimática estimada de las desaturasas en eritrocitos y plasma....	29
Tabla 5 Cálculo de los índices $\Omega 3$ -HS, ARA/EPA y $\Omega 6/\Omega 3$ en eritrocitos y plasma.....	29
Tabla 6 Número de catálogo de las sondas utilizadas para la detección de SNPs.....	32
Tabla 7. Datos descriptivos de parámetros antropométricos y bioquímicos al inicio y término de la suplementación.....	36
Tabla 8. Actividad enzimática estimada de las enzimas desaturasas en eritrocitos y plasma al inicio y final de la intervención por sexo.	38
Tabla 9. Índices obtenidos a partir de ácidos grasos plasmáticos y eritrocitarios por sexo al inicio y al final de la suplementación.	40
Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas observadas en la muestra estudiada.	41
Tabla 11. Frecuencias alélicas observadas en la muestra estudiada y reportadas en distintas poblaciones de acuerdo con 1000 Genomas.	42
Tabla 12. Variantes genéticas asociadas con las concentraciones finales de HDL. Modelo Lineal General (MLG)***	43
Tabla 13. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con las concentraciones de HDL al finalizar la intervención. Modelo Lineal General (MLG)***	44
Tabla 14. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada $D\Delta 5$ eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	45
Tabla 15. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada $D\Delta 5$ eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	46
Tabla 16. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada $D\Delta 5$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	47
Tabla 17. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada $DA\Delta 5$ eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	49
Tabla 18 Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada $DA\Delta 5$ eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.....	50

Tabla 19. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DAA5 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	51
Tabla 20. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo y dominante) asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	52
Tabla 21 Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	54
Tabla 22. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	55
Tabla 23. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DAA6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	56
Tabla 24. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DAA6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	57
Tabla 25. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DAA6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	58
Tabla 26. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DAA6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	59
Tabla 27. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice Ω3-HS eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	60
Tabla 28. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice Ω3-HS plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	61
Tabla 29. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice Ω3-HS plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	62
Tabla 30. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	63
Tabla 31. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	63
Tabla 32. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice ARA/EPA plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.	64

Tabla 33. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice Ω_6/Ω_3 plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	66
Tabla 34. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice Ω_6/Ω_3 plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**	67

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Conversión de ácido linoléico (LN) y ácido linolénico (ALN) a AGPI-CL de la serie $\Omega 3$ y $\Omega 6$ por la acción de las enzimas desaturasas $D\Delta 5$ y $D\Delta 6$	10
Figura 2. Estructura esquemática del grupo de genes <i>FADS</i> humano y ubicación de los polimorfismos estudiados. Modificado de Lattka et al.....	20
Figura 3. Apego a la suplementación de la muestra estudiada representada mediante el Δ índice $\Omega 3$ -HS en eritrocitos.....	39
Figura 4. Análisis de Desequilibrio de Ligamiento para las variantes estudiadas de los genes <i>FADS1</i> y <i>FADS2</i>	76

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutora la Dra. María Elizabeth Tejero por aceptarme y hacerme parte de su equipo de trabajo; así como a cada uno de los integrantes del laboratorio de Nutrigenética y Nutrigenómica quienes me han apoyado y colaborado en mi formación a lo largo de este proceso.

A los integrantes de la Unidad de investigación Médica en Nutrición cuyo apoyo e integración fue crucial para el desarrollo y culminación de este trabajo de investigación.

Al comité tutor e integrantes de jurado por su tiempo, asesoramiento, invaluable aportaciones, correcciones y comentarios.

Gracias a mis compañeros de maestría que durante todo este tiempo hemos crecido juntos, compartiendo un sinnúmero de experiencias, convirtiéndose en una pieza clave en mi vida.

A mis amigos de vida por su apoyo invaluable y palabras de aliento cuando he querido desistir.

A mi familia por estar presente en cada éxito y fracaso, por su apoyo en cada decisión y proyecto, por estar pendiente de cada paso que doy en la vida. Ustedes son una pieza clave en la culminación de este trabajo

No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco por creer en mí y hago presente mi gran afecto hacia ustedes.

ABREVIATURAS

[a]: Modelo de herencia aditivo

[d]: Modelo de herencia dominante

[e]: Eritrocitos

[f]: Final

[i]: Inicial

[p]: Plasma

[r]: Modelo de herencia recesivo

ABCA1: ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter A1

ABCG1: ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter G1

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AGMs: Ácidos grasos monoinsaturados

AGPI-CL: Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga

AHA: Asociación American del Corazón

ALN: ácido alfa-linolénico

ApoA-I: Apolipoproteína A tipo I

ApoE: Apolipoproteína E

ARA: Acido araquidónico

Arg: Arginina

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

Cir.C: Circunferencia de cintura

COX: Ciclooxygenasas

Cys: Cisteína

d: Tamaño del efecto según Cohen

D Δ 5: Desaturasa delta 5

D Δ 6: Desaturasa delta 6

DA Δ 5: Desaturasa Agregada delta 5

DA Δ 6: Desaturasa Agregada delta 6

DGLA: Ácido dihomo- γ -linolénico

DHA: Ácido docosahexaenoico

DL: Desequilibrio de ligamiento
DM1: Diabetes Mellitus tipo 1
DM2: Diabetes Mellitus tipo 2
DO: Dieta occidental
DPA: Ácido docosapentanoico
ECV: Enfermedad cardiovascular
ED1: Dominio extracelular 1
EPA: Ácido eicosapentaenoico
ePON: Enzima paraoxonasa
ER α : Receptor de estrógenos alfa
FADS1: Gen Desaturasa de ácidos grasos 1 (Fatty Acid Desaturases 1)
FADS2: Gen Desaturasa de ácidos grasos 2 (Fatty Acid Desaturases 2)
TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa
GLA: Ácido γ -linolénico
GWAS: Estudio de asociación del genoma completo
HbA1c: Hemoglobina glicosilada
HDL-C: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad
IDL- Lipoproteínas de densidad intermedia
IMC: Índice de masa corporal
INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía
LC: Leucotrienos
LCAT: Lecitin Colesterol Acil Transferasa
LDL-C: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad
LE: Lipasa endotelial
LH: Lipasa hepática
LN: Ácido linoléico
LOX: Lipoxigenasas
LPL: Lipoprotein lipasa
MaLG: Masa libre de grasa
MG: Masa grasa

MLG: Modelo lineal general

OMS: Organización Mundial de la Salud

PC5: Proteína convertasa 5

PCSK5: Proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 5

PLTP: Proteína transportadora de fosfolípidos

PON1: Gen Paraoxonasa 1

PPAR: Receptor Activado por Proliferador de Peroxisomas

PTEC: Proteína transportadora de ésteres de colesterol

RCV: Riesgo cardiovascular

RLDL- Receptor de LDL-C

SCD1- Esterol CoA desaturasa 1

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido

SR-B1: Receptor recolector B1 clase B1

TGL: Triglicéridos

TRC: Transporte reverso del colesterol

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

Ω 3-HS: Índice Omega 3

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la principal causa de muerte y discapacidad a nivel mundial, estas enfermedades se caracterizan por afectar el corazón y los vasos sanguíneos. La probabilidad que tiene un individuo de sufrir alguna ECV dentro de determinado plazo de tiempo, se le denomina riesgo cardiovascular (RCV), y depende fundamentalmente de la cantidad de factores de riesgo presentes.

Uno de los factores de RCV son concentraciones de HDL-C bajas, la actividad enzimática de la desaturasa delta 5 ($D\Delta 5$) y desaturasa delta 6 ($D\Delta 6$), índice $\Omega 3$ -HS, índice $\Omega 6/ \Omega 3$ y ARA/EPA. Los índices y la actividad enzimática son calculados a partir de la proporción de ácidos grasos presentes en membranas celulares y/o en concentraciones plasmáticas.

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar el efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en los genes *FADS1*, *FADS2*, *ABCA1*, *APOE*, *TNF α* , y *PCSK5* sobre las concentraciones de HDL-C, la actividad estimada de las enzimas desaturasas delta 5 ($D\Delta 5$), agregada delta 5 ($DA\Delta 5$), delta 6 ($D\Delta 6$), agregada delta 6 ($DA\Delta 6$) e índices $\Omega 3$, ARA/EPA y $\Omega 6/ \Omega 3$ en eritrocitos y plasma en jóvenes mexicanos metabólicamente sanos suplementados con aceite de pescado. Se incluyeron 191 individuos que fueron suplementados durante 6 semanas con 3 cápsulas de aceite de pescado con EPA y DHA; se realizaron medidas de composición corporal y se tomó muestra de sangre periférica para determinar parámetros bioquímicos y extraer ADN, se cuantificaron los ácidos grasos en plasma y membrana eritrocitaria por medio de cromatografía de gases y se realizó la genotipificación mediante discriminación alélica por la tecnología Taqman.

De acuerdo con los resultados, la actividad enzimática estimada de las $DA\Delta 5$ y $D\Delta 5$ incrementaron mientras que la $D\Delta 6$ disminuyó; de igual forma el índice $\Omega 3$ -HS incremento mientras que los índices ARA/EPA y $\Omega 6/ \Omega 3$ disminuyeron; la magnitud del efecto de la suplementación sobre las enzimas desaturasas e índices estudiados fue grande. El efecto de la suplementación sobre las concentraciones de HDL-C presentaron una tendencia estadísticamente significativa en la disminución de los valores en mujeres e incremento en hombres.

Los SNPs de los genes *ABCA1* y *APOE* se asociaron con menores concentraciones de HDL-C al finalizar la suplementación, los polimorfismos de los genes *FADS* se asociaron a las actividades enzimáticas estimadas, cuyo tamaño del efecto oscila entre pequeño y mediano. Las variantes genéticas que pertenecen a los genes *PCSK5* y *PON1* se asociaron

a los índices plasmáticos mientras que aquellos que pertenecen a los genes *APOE* y *FADS1* mostraron relación con el índice ARA/EPA.

Dado que es la primera vez que se reporta la asociación de estos polimorfismos en jóvenes mexicanos suplementados con aceite de pescado y en algunos casos la potencia estadística de asociación es inferior a la recomendada, es necesaria la validación de estos resultados en una muestra representativa de población mexicana para cada variante genética estudiada.

En conclusión, la suplementación con aceite de pescado mejora de manera considerable el índice Ω 3-HS, los polimorfismos que contribuyen a la variabilidad de las concentraciones de HDL-C son aquellos que forman parte del gen *APOE* y *ABCA1*, mientras que aquellos que contribuyen a la actividad estimada de las enzimas desaturasas son los que forman parte del gen *FADS* y finalmente aquellos que forman parte de los genes *PON1* y *PCSK* contribuyen en la variabilidad de los índices plasmáticos.

1. ANTECEDENTES

1.1 Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un grupo de desórdenes que afectan el corazón y los vasos sanguíneos, que se asocian generalmente con una acumulación de depósitos grasos dentro de las arterias (aterosclerosis) y por consecuencia a un mayor riesgo de formación de coágulos sanguíneos. Estas enfermedades constituyen una de las causas más importantes de discapacidad y muerte prematura en todo el mundo (1).

De acuerdo a los resultados del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) 2017, las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad en México, afectando con mayor frecuencia a hombres y personas mayores de 40 años, en un 65% (2).

1.2 Riesgo cardiovascular.

El riesgo cardiovascular (RCV) es la probabilidad que tiene un individuo de sufrir alguna ECV dentro de determinado plazo de tiempo, y dependerá fundamentalmente de la cantidad de factores de riesgo presentes. Éstos se clasifican en 2 grupos: factores modificables, que como su nombre lo indica, son aquellos en los que se puede intervenir para evitarlos; y no modificables, que son aquellos en los que no se puede intervenir.

Dentro de los factores no modificables se encuentran:

- Edad, sexo, raza, antecedentes familiares y factores genéticos.

Dentro de los factores modificables:

- Enfermedades como hipertensión arterial, síndrome metabólico, diabetes e hipercolesterolemia.
- Sobrepeso y obesidad
- Estilo de vida: tabaquismo, actividad física, consumo de alcohol, ansiedad, estrés y alimentación.

Cuando una persona presenta diversos factores de riesgo, éstos interactúan de forma multiplicativa; por eso es necesario tratar cada uno de ellos con la finalidad de disminuir el RCV (3, 4).

La anormalidad de la concentración sérica de las lipoproteínas asociadas al RCV incluyen la elevación colesterol de baja densidad (LDL-C) y la disminución de la concentración de colesterol de alta densidad (HDL-C); así como las concentraciones de colesterol total y, triglicéridos (TGL) elevadas; para efectos del presente estudio nos enfocaremos en las concentraciones de HDL-C.

1.2.1 Criterios para establecer Riesgo Cardiovascular (RCV).

Existen diferentes organizaciones que establecen las características para establecer riesgo cardiovascular; siendo el principal aquel propuesto por la OMS:

- Cifras de colesterol total (≥ 320 mg/dL), colesterol LDL-C (≥ 240 mg/dL) o una relación CT/HDL-C > 8 , triglicéridos (> 180 mg/dL), concentraciones bajas de colesterol HDL-c (40 mg/dL en los hombres, 50 mg/dL en las mujeres).
- Cifras de tensión arterial permanentemente elevadas ($> 160-170/100-105$ mmHg).
- Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) o tipo 2 (DM2).
- Obesidad (en particular obesidad central).
- Sedentarismo
- Antecedentes familiares de cardiopatía coronaria o ataque apoplético prematuros en familiar de primer grado (hombre < 55 años, mujer < 65 años).

Sin embargo, la Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias establece diferentes puntos de corte para la clasificación de los niveles de lípidos de acuerdo con su concentración sanguínea (Tabla 1). Los puntos de corte son inferiores en comparación con los establecidos por la OMS debido a que las concentraciones de estas lipoproteínas son más bajas en la población mexicana.

Tabla 1. Puntos de corte del perfil de lípidos para el diagnóstico de dislipidemias según la NOM-037-SSA2-2002

	Recomendable	Limítrofe	Alto riesgo	Muy alto riesgo
Colesterol total	< 200 mg/dL	200-239 mg/dL	≥ 240 mg/dL	----
LDL-C	< 130 mg/dL	120-159 mg/dL	≥ 160 mg/dL	≥ 190 mg/dL
Triglicéridos	< 150 mg/dL	150-200 mg/dL	≥ 200 mg/dL	> 1000 mg/dL
HDL-C	> 35 mg/dL	----	< 35 mg/dL	----

Además de las concentraciones de HDL-C se han reportado otros parámetros asociados con ECV. Algunos de estos parámetros son calculados a partir de la proporción de ácidos grasos presentes en membranas celulares o en niveles plasmáticos y se emplean como indicadores de algunas funciones del organismo, e incluso del RCV (5) como son el índice Ω 3-HS, el índice Ω 6/ Ω 3, ARA/EPA (6-9), y la actividad enzimática de la desaturasa delta 5 (D Δ 5) y desaturasa delta 6 (D Δ 6) (10-13). De todos estos, el índice Ω 3-HS es el índice que ha sido mayormente estudiado; por lo que se ha sugerido los puntos de corte de RCV, de tal forma que un valor de este índice $\geq 8\%$ se considera como cardioprotector, mientras que un índice $\leq 4\%$ se asocia con mayor riesgo de presentar ECV (9, 14).

A continuación, se explicarán brevemente algunos de los parámetros asociados con RCV que competen al presente estudio como son las HDL-C, la actividad de las enzimas desaturasas e índices obtenidos a partir de la cuantificación de ácidos grasos.

1.3 Lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Las lipoproteínas son complejos macromoleculares con múltiples componentes proteicos y lipídicos que presentan características comunes; partículas esféricas con una zona central no polar donde se sitúan los lípidos hidrofóbicos (colesterol esterificado y triglicéridos), y una zona periférica formada por elementos hidrosolubles, fosfolípidos, colesterol libre (lípidos anfipáticos) y diversas proteínas específicas (apoproteínas). Su función principal es transportar lípidos a órganos específicos y participar en el metabolismo lipídico; principalmente en la transferencia de una fracción lipoproteica a otra mediante la interacción con receptores celulares y enzimas para el catabolismo de las lipoproteínas (15, 16). Las lipoproteínas clasificadas según su densidad son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), de densidad intermedia (IDL), de baja densidad (LDL), y de alta densidad (HDL) (17).

Las HDL fueron identificadas por medio de técnicas de ultracentrifugación para la separación de lipoproteínas (18). Se definen como la fracción lipoproteica de densidad entre 1.06 y 1.21 g/mL; propiedad que es conferida debido a la elevada proporción de proteínas en su estructura; sin embargo, son un grupo muy heterogéneo de partículas que difieren en densidad, tamaño, morfología, carga superficial, y composición lipídica o apolipoproteica (19, 20).

El hallazgo de que los niveles de HDL-C protegen contra ECV se demostró por primera vez en el estudio de Framingham en los años setentas y ochentas (21). El estudio de cohorte midió el perfil lipídico y el desarrollo de ECV, demostrando que existe RCV determinado por el nivel sérico de HDL-C; de tal forma que los individuos con cifras <35mg/dL de HDL-C tenían mayor riesgo de ECV en comparación con individuos con cifras ≥65mg/dL de HDL-C. La tasa de incidencia de ECV es 8 veces mayor en individuos con bajos niveles de HDL-C (21, 22).

1.4 Composición de las lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Las partículas de HDL consisten de una capa anfipática externa de colesterol libre, fosfolípidos y distintas apolipoproteínas en su superficie, con un núcleo hidrofóbico rico en ésteres de triglicéridos y colesterol (23). Las principales características de las HDL se muestran en la tabla 2; de manera general la parte proteica y lipídica se caracterizan por:

- Parte proteica: este es el principal componente estructural y funcional de las partículas de HDL; éstas se pueden dividir en varios subgrupos principales: apoproteínas, enzimas, proteínas de transferencia de lípidos, proteínas de respuesta de fase aguda, por mencionar algunas (24).
- Lipídica: estructuralmente los fosfolípidos constituyen la monocapa lipídica en la superficie de las HDL, mientras que los ésteres de colesterol y triglicéridos forman el núcleo lipídico hidrofóbico. Los esteroides no esterificados se localizan predominantemente en la monocapa superficial, penetrando parcialmente el núcleo (25).

Tabla 2. Características de las HDL.

Lipoproteínas	Electroforesis	Densidad (g/ml)	Composición	Origen	Apoproteínas
HDL (alta densidad)	Alfa	1.063- 1.21	PROT: 45% TGL: 5-10% COL:15-25% FOSF: 20-30%	Hígado, intestino	A-I, A-II, C, E

Abreviaturas: PROT: proteínas, TGL: triglicéridos, COL: colesterol, FOSF: fosfolípidos Modificado de Pallardo Sánchez.(17)

1.4.1 Clasificación de las HDL.

Como se mencionó anteriormente la molécula de HDL es altamente heterogénea con respecto a densidad, tamaño y composición de sus fracciones lipídicas y proteicas (26). Por lo anterior

se pueden clasificar según sus propiedades fisicoquímicas y composición química, como se muestra en la siguiente tabla (27, 28):

Tabla 3. Clasificación de HDL de acuerdo con diversas propiedades.

Método	Principio	Tipos
Ultracentrifugación	Densidad	HDL2 HDL3
Electroforesis por gradiente de gel de poliacrilamida no-desnaturalizado	Tamaño de partícula	HDL3c HDL3b HDL3a HDL2a HDL2b
Electroinmunodifusión	Composición proteica	ApoA-I ApoA-II A-III
Electroforesis 2D	Tamaño y carga	Pre- β -1 HDL α -4-HDL α -3HDL α -2HDL α -1HDL

Modificado de Robert S. Rosenson, y Rajesh Movva

1.4.2 Biogénesis y maduración de las HDL.

La biogénesis de las HDL ocurre a través de una ruta compleja que involucra el transportador lipídico (ABCA1) y la enzima lecitina colesterol acil transferasa (LCAT) (29). Se ha propuesto que la formación de HDL discoidales inicia con la transferencia de lípidos por los monómeros de ABCA1; una vez realizado esto, el transportador ABCA1 forma un dímero que une dos apoproteínas A-I (ApoA-I) sin lípidos para posteriormente translocarse los lípidos a ApoA-1 y la proteína ABCA1 se disocia en monómeros (30).

Al madurar las partículas de HDL, experimentan cambios conformacionales y funcionales que permiten la interacción con distintas proteínas como la LCAT y el receptor de captación B1 (SR-B1) (31). Las HDL discoidales son sustratos para la LCAT, responsable de la generación de gran parte de los ésteres de colesterol en el plasma; ésta se activa principalmente por la ApoA-I (32). La LCAT media la conversión del colesterol libre en ésteres de colesterol dentro de la partícula HDL, incrementando el tamaño de la partícula y cambiando de forma discoidal a esférica, siendo éstas las predominantes en el plasma sanguíneo y promoviendo de esta forma el flujo continuo de colesterol (30, 33).

1.4.3 Funciones de las lipoproteínas de alta densidad (HDL).

La principal función que ejercen las partículas de HDL es el transporte reverso del colesterol (TRC), donde el colesterol presente en las células de los tejidos periféricos es transportado mediante las partículas de HDL hasta el hígado (34); sin embargo, también ejercen efectos para mantener la hemodinamia endotelial, vital para el desarrollo de ECV, entre los que destacan:

- Vasorelajación, mediante el aumento de la producción de óxido nítrico (ON) vascular (35) y mayor vida media (36).
- Antioxidante, mediante la inhibición de la oxidación de fosfolípidos realizada principalmente por las enzimas paraoxonasas (ePON) (23, 37, 38).
- Antitrombótica, por medio del aumento del flujo sanguíneo y reducción de trombina en las células endoteliales (39).
- Antiinflamatoria a través de la activación de la proteína quinasa Akt limita la expresión de citocinas proinflamatorias (23, 38, 39).

1.4.4 Transporte reverso del colesterol (TRC).

Las HDL facilitan este proceso que consiste en la transferencia del colesterol no esterificado de los tejidos periféricos a las HDL y una vez que éstas llegan al hígado, el colesterol es excretado por la bilis y heces; permitiendo así la homeostasis de colesterol corporal y previniendo el desarrollo de aterosclerosis (28).

El TRC se divide en 3 fases principales:

1. Eflujo de colesterol:

En este proceso las lipoproteínas eliminan el exceso de colesterol de las células mediante distintos mecanismos: específico, por medio de apolipoproteínas específicas (AI, AII, AIV, E) en células que expresan el transportador ABCA1; unidireccional, en células que expresan el transportador de casete de unión a ATP de macrófagos G-1 (ABCG1); bidireccional, en HDL maduras y membranas celulares que expresan el receptor recolector B1 clase B (SR-B1); y por difusión pasiva, entre las membranas celulares a las partículas HDL (37, 40, 41)

2. Remodelado de lipoproteínas:

Durante esta fase, se afecta la estructura y flujo metabólico de las lipoproteínas, generando una mezcla dinámica de subfracciones de HDL; que varían en tamaño,

forma, composición y función. Las principales moléculas que intervienen en la remodelación son:

- Proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC): cataliza el intercambio de ésteres de colesterol por triglicéridos a otras lipoproteínas ricas en triglicéridos (42).
- Proteína transportadora de fosfolípidos (PLTP): transfiere fosfolípidos, diacilglicerol, colesterol libre, R-tocoferol (vitamina E) y lipopolisacáridos de HDL a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (18) y entre diferentes subfracciones de HDL. Además, remodela las HDL en distintos tamaños por medio de la disociación de la ApoA-I pobre o libre en lípidos (43, 44); dando como resultado a partículas de HDL pequeñas y muy pequeñas, que se reutilizan para formar partículas de HDL más grandes o se catabolizan (42).
- Lipasas: enzimas que catalizan la hidrólisis de triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol (44). Las lipasas asociadas a HDL son la lipasa hepática (LH), lipoprotein lipasa (LPL) y lipasa endotelial (LE), cuya diferencia se basa en su actividad hidrolítica (45). La LH hidroliza triglicéridos y fosfolípidos; resultando en la formación de pequeños remanentes de HDL (42). La remodelación de HDL por la acción de la LE implica la hidrólisis de triglicéridos residuales y algunos fosfolípidos de HDL (18), convirtiendo a las HDL₂ ricas en lípidos a HDL₃ más pequeñas y densas (45); y además disocia la ApoA-I; resultando en una disminución del eflujo de colesterol mediado por receptores SR-BI (46).

3. Absorción de lípidos hepáticos:

Las HDL liberan el colesterol al hígado, para ser posteriormente excretado a través de la bilis y heces (18).

1.5 Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL).

Los AGPI-CL son componentes indispensables de los lípidos estructurales y de las membranas celulares (47). De acuerdo a la posición de dobles enlaces de los AGPI-CL, contando a partir del extremo metilo de la molécula del ácido graso (48) existen 3 grupos: $\Omega 9$, $\Omega 6$ y $\Omega 3$ cuyos primeros dobles enlaces se encuentran entre los carbonos 9-10, 6-7 y 3-4 respectivamente.

Los AGPI-CL $\Omega 6$ incluyen los ácidos linoléico (LN), γ -linolénico (GLA) y araquidónico (ARA), presentes en el aceite de girasol, maíz, y cártamo (48). Mientras que los AGPI-CL $\Omega 3$

incluyen el ácido alfa-linolénico (ALN), ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA); el ALN, que es precursor metabólico de EPA y DHA, se obtiene a partir de ciertos aceites vegetales, productos lácteos, semillas de lino y nueces; sin embargo, la conversión de ALN a EPA y DHA en el cuerpo es ineficiente (47, 49) ya que los humanos no tenemos las enzimas necesarias para sintetizar LN y ALN; por lo tanto, estos se consideran ácidos grasos esenciales o indispensables y deben obtenerse a partir de la dieta (48, 50).

El LN y el ALN tienen roles competitivos en la síntesis de eicosanoides. Una ingesta alta de ALN favorece la producción de eicosanoides antiinflamatorios, ya que los AGPI-CL Ω 3 son sustratos preferidos para las enzimas desaturasas y elongasas, enzimas que están involucradas en la biosíntesis de AGPI-CL (48, 50).

1.5.1 Enzimas desaturasas.

Las enzimas desaturasas son oxigenasas que realizan reacciones de deshidrogenación (dos hidrógenos) de una cadena hidrocarbonada (ácido graso), catalizando la formación de un doble enlace en el sustrato. Su principal función es participar, junto con las enzimas elongasas, en la biosíntesis de AGPI-CL a partir de LN y ALN en los microsomas del retículo endoplásmico de los hepatocitos(48).

Dependiendo de la posición de la inserción del doble enlace relativo a uno preexistente en la cadena del ácido graso se pueden referir las desaturasas como “front-end” o “methyl-end” (51). Los humanos no tenemos desaturasas de extremo metilo para producir ácidos grasos esenciales; por lo tanto, se deben de adquirir a través de alimentos o suplementos nutricionales (52). Las enzimas de extremo metilo introducen el doble enlace situado entre el grupo carboxilo y el noveno átomo de carbono metil terminal. En las enzimas “front-end” el doble enlace se introduce en las posiciones D4-D8 siendo esta responsable de la biosíntesis endógena de AGPI-CL (51-53).

Las desaturasas se pueden clasificar en dos grupos: solubles y unidas a membrana; estas últimas a su vez se subdividen en desaturasas acil-lipídicas y coenzima A. Las desaturasas acil-lipídicas se encuentran en membranas de retículo endoplasmático de plantas, cianobacterias y plásmidos; con funcionalidad de extremo metílico; algunas enzimas que entran en este grupo son las desaturasas delta 12 ($D\Delta$ 12) y delta 15 ($D\Delta$ 15).

Las desaturasas acil-coenzima A se encuentran en la membrana del retículo endoplasmático siendo su sustrato el ácido graso acil-coenzima A. Dentro de este grupo, las enzimas son nombradas de acuerdo con la posición donde realizan la inserción del doble enlace (desaturación). En este grupo entran las desaturasas delta 9, delta 6, delta 5 y delta 4 ($D\Delta 9$, $D\Delta 6$, $D\Delta 5$ y $D\Delta 4$) cuyo nombre se debe al número de carbono donde introducen la desaturación (52, 54, 55); de tal forma que las $D\Delta 5$ y $D\Delta 6$ introducen dobles enlaces después del quinto y sexto átomo de carbono, respectivamente, y éstas son enzimas limitantes de la velocidad en la biosíntesis de AGPI-CL $\Omega 3$ y $\Omega 6$ (56).

Cuando los AGPI-CL $\Omega 3$ y $\Omega 6$ son incorporados a la membrana celular tienen la capacidad de regular la función celular y la expresión génica. Los AGPI-CL $\Omega 3$ compiten con los AGPI-CL $\Omega 6$ para su incorporación en las membranas celulares (47, 49).

1.5.1.1 Desaturasas $\Delta 5$ y $\Delta 6$.

Las enzimas $D\Delta 5$ y $D\Delta 6$ catalizan los pasos limitantes en la conversión de ácido linoleico y ácido α -linolénico en AGPI-CL $\Omega 6$ y $\Omega 3$ (Figura 1); estas dos series compiten por las mismas enzimas en la vía biosintética. El primer paso limitante de la biosíntesis de ácidos grasos es la reacción realizada por la $D\Delta 6$ en el que metaboliza ALN (18: 3- $\Omega 3$) y LN (18:2- $\Omega 6$) para formar ácido estearidónico (C18:4- $\Omega 3$) y ácido γ - Linolénico (GLA, C18:3- $\Omega 6$), respectivamente.

El segundo paso limitante es el catalizado por la enzima $D\Delta 5$ que cataliza la formación del EPA (C20:5- $\Omega 3$) y ARA (C20:4- $\Omega 6$) a partir del ácido dihomo- γ -linolénico (DGLA, C20:3- $\Omega 6$) y ácido eicosatetraenoico (C20:4- $\Omega 3$). Por último, la enzima $D\Delta 6$ realiza la última desaturación para producir ácido docosahexaenoico (DHA 22:6- $\Omega 3$) y ácido docosapentaenoico (DPA 22: 5- $\Omega 6$) (52, 55).

Como se mencionó anteriormente, los AGPI-CL $\Omega 6$ y $\Omega 3$ compiten entre ellos; EPA compite con ARA, por la fosfolipasa A2 e inhibe la enzima $D\Delta 5$, enzima que es necesaria para sintetizar ARA y la fosfolipasa A2 libera ARA de sus almacenes; de esta forma EPA juega un papel importante en la disminución del proceso inflamatorio. A su vez, el DHA inhibe a la $D\Delta 6$, enzima necesaria para la producción de GLA y DGLA a partir del LN que es esencial para la fabricación de la membrana celular y favorece el movimiento del líquido a través de la membrana debido al tamaño de los AGPI-CL, haciéndolas de esta forma más flexibles;

esta propiedad es lo que ayuda a DHA a romper los depósitos de lípidos en la membrana celular, evitando que otros agentes inflamatorios se activen (47).

La actividad de las enzimas desaturasas puede estimarse a partir del cálculo de la relación producto-precursor de cada una de ellas en el que los ácidos grasos son previamente identificados (11, 57-59); así mismo, se puede estimar la actividad de desaturación global de la vía metabólica de los ácidos grasos a través de las actividades enzimáticas agregadas (DA Δ 5, DA Δ 6) (57, 60).

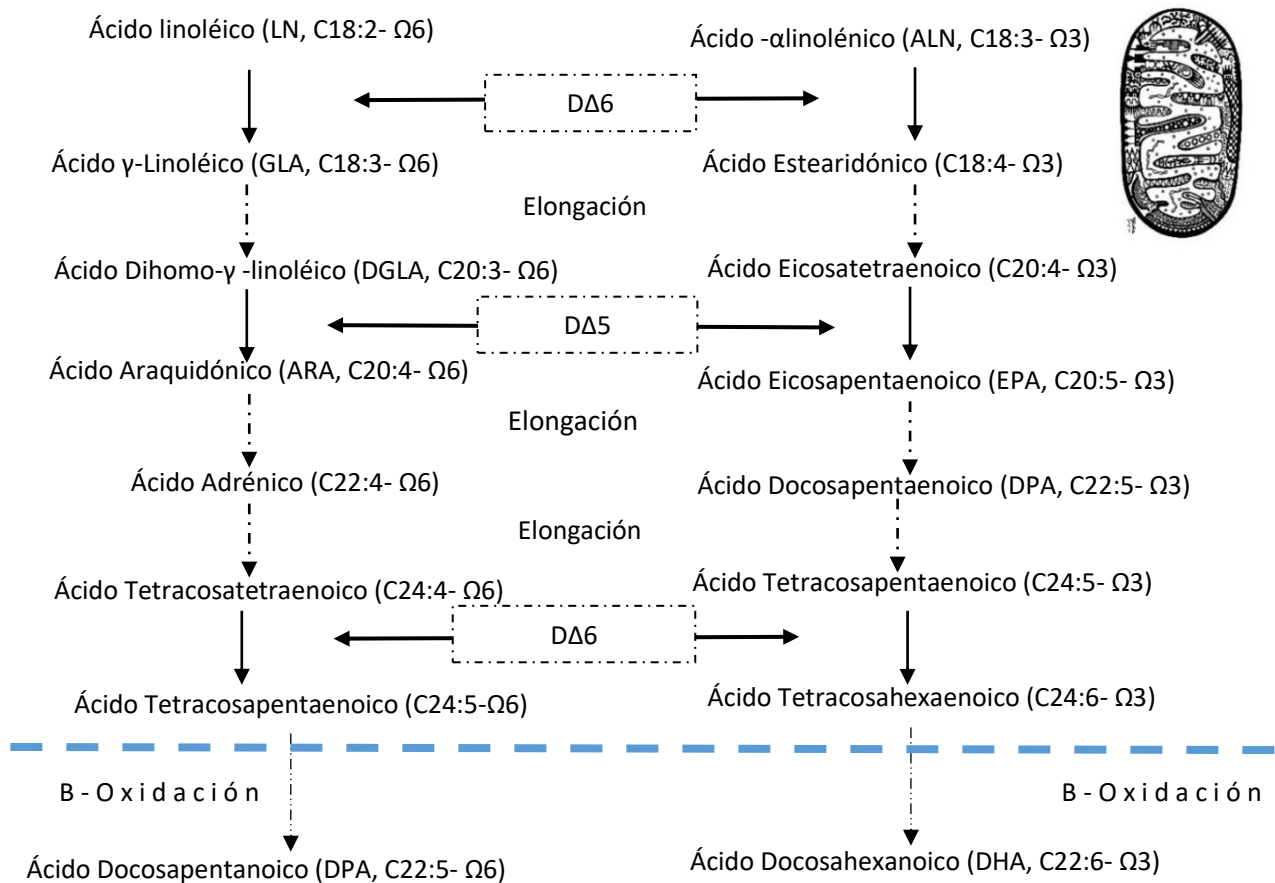


Figura 1. Conversión de ácido linolónico (LN) y ácido linolónico (ALN) a AGPI-CL de la serie Ω 3 y Ω 6 por la acción de las enzimas desaturasas D Δ 5 y D Δ 6

1.5.2 Índices derivados de ácidos grasos.

La composición de los ácidos grasos en el cuerpo refleja la ingesta y metabolismo de los ácidos grasos durante las últimas 2 a 6 semanas (61).

El balance de los ácidos grasos $\Omega 6/ \Omega 3$ es un determinante importante para disminuir el RCV, tanto en la prevención primaria como secundaria (6). Cuando esta proporción es mayor a lo recomendado, los eicosanoides formados a partir del ácido araquidónico (ARA) como son prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, y lipoxinas, se forman en mayores cantidades que los formados a partir de los AGPI-CL Ω -3, específicamente ácido eicosapentaenoico (EPA). Los eicosanoides formados a partir de ARA son biológicamente activos en pequeñas cantidades y si se forman en grandes cantidades, contribuyen a la formación de trombos, ateromas, desarrollo de trastornos alérgicos e inflamatorios, particularmente en personas susceptibles. Por lo tanto, una dieta rica en AGPI-CL $\Omega 6$ cambia el estado fisiológico a uno protrombótico y proagregativo (62). En contraste, los AGPI-CL $\Omega 3$ ayudan a resolver la inflamación y alteran la función de los biomarcadores vasculares, brindando protección contra enfermedades crónicas y metabólicas, entre ellas las ECV (50).

El índice ARA/EPA puede jugar un papel en la regulación de los procesos inflamatorios y el impacto en el desarrollo y la gravedad de las enfermedades inflamatorias, entre ellas las ECV; siendo este una medida de inflamación crónica, de tal forma que una proporción alta corresponde a mayores sustratos para producir metabolitos proinflamatorios (63)

El índice $\Omega 3$ -HS, es la suma de los principales AGPI-CL $\Omega 3$: EPA y DHA presentes en la membrana eritrocitaria y es expresado como un porcentaje del total de ácidos grasos (64) . Stark et al. identificaron países y regiones en potencial riesgo de ECV debido a la cantidad de AGPI-CL $\Omega 3$ medido mediante el índice $\Omega 3$ -HS, evidenciando que la ingesta dietética de AGPI-CL $\Omega 3$ en individuos sanos a nivel mundial es aproximadamente el 20% de la cifra recomendada; porcentaje que corresponde aproximadamente a una ingesta de ≥ 250 mg/día; sin embargo, no hay información reportada de este índice en población mexicana (5) .

1.6 Factores que influyen sobre las HDL-C, actividad enzimática $D\Delta 5$, $D\Delta 6$ e índices calculados a partir de ácidos grasos.

Los niveles plasmáticos de HDL-C y la actividad de las enzimas desaturasas son el resultado de la interacción de numerosos factores ambientales y variantes alélicas de diversos genes (65-67).

1.6.1 Factores ambientales.

Los factores ambientales tienen gran repercusión sobre la salud; éstos se pueden clasificar como biológicos, físicos mecánicos y/o no mecánicos y psicosociales. El estrés, tabaquismo, actividad física y hábitos de alimentación son algunos ejemplos de los factores psicosociales (68, 69).

1.6.1.1 Actividad física.

El riesgo relativo de muerte por ECV en un individuo sedentario en comparación con un individuo activo es 1,9 (4). Datos transversales proporcionan una fuerte evidencia de que individuos físicamente activos tienen niveles más altos de HDL-C. Sin embargo, existe controversia del efecto que tiene la intensidad y tipo de ejercicio sobre estas lipoproteínas (70). De manera general, se ha identificado que el ejercicio moderado-intenso; que consiste en realizar 60 min de ejercicio, 3 veces a la semana (71), o el equivalente de alcanzar una frecuencia cardíaca máxima del 90% (72), es suficiente para elevar los niveles de HDL-C. Es necesario realizar actividad física durante 8 semanas, como tiempo mínimo para que el incremento sea evidente (73). La actividad física también puede modular la síntesis, desaturación y alargamiento de los AGPI-CL, se ha demostrado que el ejercicio crónico incrementa la expresión de las enzimas involucradas en el metabolismo de AGPI-CL (74).

1.6.1.2 Tabaquismo.

El estrés oxidante y la inflamación inducida por el tabaquismo se ha vinculado a una disminución del 5% al 10% en las concentraciones de HDL-C, así como en su función. El abandono de este hábito conlleva a un aumento de ≈ 4 mg/dL de las HDL-C (75). Este hábito también se ha correlacionado con la actividad de las enzimas desaturasas; de manera general se ha correlacionado negativamente con la actividad de las enzimas desaturasas $\Delta 5$ y positivamente con las desaturasas $\Delta 6$ (76, 77).

1.6.1.3 Alimentación.

La alimentación es el principal factor ambiental en la prevención de ECV, ya que las HDL-c y la actividad de las enzimas desaturasas son influenciadas por la dieta. Las guías de alimentación para la prevención de ECV, proponen la ingestión de una dieta saludable que incluye el consumo equilibrado de macronutrientes, entre ellos los AGPI-CL que

frecuentemente son insuficientes en la dieta (78). Éstos tienen un efecto significativo en la salud y, por ende, juegan un papel importante en el desarrollo de enfermedades no transmisibles; en general, coadyuvan a mejorar parámetros de RCV a través de múltiples procesos biológicos como son la regulación de la expresión de genes involucrados en la síntesis, transporte y utilización de lípidos, en el proceso de inflamación, señalización intracelular, entre otros. Algunos efectos reportados son: la reducción de peso corporal, IMC, TGL, LDL-C e incremento de HDL-C (79-81).

La proporción de ingesta de los macronutrientos es importante ya que la restricción de carbohidratos conlleva al aumento en las partículas grandes de HDL (80) y la ingesta proteica está altamente relacionada con la actividad de las enzimas desaturasas (67).

Como consecuencia de los cambios del estilo de vida, la proporción de macronutrientos ingeridos en la dieta ha presentado importantes transiciones; caracterizado por el cambio drástico del contenido nutricional de los alimentos ingeridos (82). Actualmente, el tipo de dieta que predomina es la llamada dieta occidental (DO) caracterizada por una alta ingesta de hidratos de carbono refinados, grasas saturadas, AGPI-CL $\Omega 6$ y grasas trans, así como la disminución de AGPI-CL $\Omega 3$, hidratos de carbono de absorción lenta y fibra (83), teniendo una proporción de ingesta de AGPI-CL $\Omega 6/\Omega 3$ de 15-20 / 1 (6).

Hasta el momento hay pocos reportes del consumo de AGPI-CL en población mexicana; el más reciente es el reportado por Ramírez-Silva y su grupo de trabajo que evidencia la baja ingesta dietética de AGPI-CL $\Omega 3$ y $\Omega 6$ (84); sin embargo, también se ha reportado el consumo de éstos en diversos grupos de distintos estados, por ejemplo: en mujeres embarazadas (85), jóvenes sonorenses (86), mujeres sanas jaliscienses (84, 87); concluyendo que el consumo de EPA+DHA es aproximadamente de 90mg-150mg, cantidades que son inferiores a las recomendadas por distintas organizaciones para adultos sanos que ronda entre 250-500mg (88); este bajo consumo representa un riesgo para la salud de la población mexicana (89).

Dada la naturaleza rápida de estas transiciones y malas adaptaciones, las enfermedades humanas son probablemente el resultado del entorno nutricional actual; por ejemplo, estudios epidemiológicos y clínicos demuestran que los AGMs tienen un efecto protector sobre el RCV por medio del incremento de HDL-C en comparación con las grasas saturadas (90), y se ha observado que la actividad enzimática $D\Delta 5$ es menor en individuos con ECV en comparación con sanos (91).

1.6.2 Factores genéticos.

Los determinantes de lípidos plasmáticos son multifactoriales; sin embargo, diferentes estudios han demostrado que alrededor del 25-80% de la variación interindividual en el fenotipo de lípidos plasmáticos puede ser explicada por polimorfismos genéticos (92, 93).

Como se mencionó anteriormente, las HDL son remodeladas y metabolizadas a través de la interacción con una gran cantidad de proteínas; por lo que variaciones genéticas en éstas pueden conducir a cambios estructurales esenciales; afectando tanto sus funciones como los niveles plasmáticos de las HDL-C (94).

Así mismo, las vías moleculares subyacentes al metabolismo de los lípidos son numerosas y complejas, se ha demostrado que las desaturasas de ácidos grasos desempeñan un papel clave en la determinación de los perfiles de ácidos grasos tanto plasmáticos como tisulares; la evidencia emergente demuestra que la variación en los genes de la desaturasa de ácidos grasos (*FADS*) puede modificar el metabolismo de los lípidos de todo el cuerpo (95). Se han reportado más de 50 diferentes genes que podrían participar en su regulación (93), de los cuales algunos son constantes entre poblaciones mientras que otros difieren en frecuencia, tamaño y dirección del efecto (96).

El tamaño del efecto permite describir la magnitud de las relaciones entre distintos rasgos o variables; esta descripción es independiente de las posibles influencias del tamaño de la muestra, es decir, estudios con diferentes tamaños de muestra, pero con las mismas características descriptivas básicas diferirán en sus valores de significancia estadística (P) pero no en sus estimaciones de tamaño del efecto. En la mayoría de los estudios clínicos, el valor P es el resultado final del análisis de datos; donde un valor de P pequeño se interpreta como una diferencia significativa; sin embargo, el valor P no es suficiente para conocer la diferencia real. Por lo tanto, para compensar la debilidad del valor de P , es ideal informar también el tamaño del efecto para la interpretación de los hallazgos (97, 98). La importancia de conocer el tamaño del efecto yace en que cuando éste es grande, pero no existe significancia estadística se sugiere realizar una investigación con mayor tamaño de muestra, mientras que los efectos que son relativamente pequeños pero estadísticamente significativos debido al gran tamaño de muestra, pueden advertir una posible sobrevaloración del efecto observado (98).

Algunos polimorfismos que se han asociado constantemente con las concentraciones de las HDL-C y con la actividad enzimática desaturasa se describen brevemente en las secciones comprendidas del 1.5.2.1.1 a la 1.5.2.1.9

1.6.2.1 Proteína transportadora ABC dependiente de ATP, subfamilia A miembro 1: ATP Binding Cassete A1 (ABCA1).

La superfamilia del transportador humano ABC consta de 49 miembros que se dividen en 7 subfamilias: A-G. La subfamilia ABCA de 12 miembros que incluye ABCA1 participa en el transporte de lípidos y metabolismo de iones (99, 100). ABCA1 es una proteína integral conformada por 2261 aminoácidos que consta de 12 dominios transmembrana y dos dominios de casete de unión ATP (ABC). La distribución tisular de ABCA1 es ubicua, pero su actividad en hepatocitos y enterocitos es responsable de la producción de HDL en plasma (100, 101).

ABCA1 desempeña un papel clave en el transporte reverso del colesterol y en la biogénesis de las partículas de HDL. Las HDL se originan como partículas discoidales, secretadas en hígado e intestino. La HDL discoidal está formada por moléculas lipídicas (de 100 a 200 aproximadamente) rodeadas por dos moléculas de ApoA-I (102) libres de lípidos (sintetizada por hígado e intestino), fosfolípidos y colesterol no esterificado; estos últimos son obtenidos por la interacción de la HDL discoidal con el transportador lipídico ABCA1 (29, 30).

El gen que codifica esta proteína se encuentra ubicado en el cromosoma 9, región q31; el cual abarca 149 kb y contiene 50 exones (103). Las variaciones genéticas contribuyen a la variabilidad en los niveles plasmáticos de colesterol HDL-C (82), principalmente en la reducción de sus niveles, asociándose con un mayor riesgo de ECV (101).

La variante no sinónima R230C, ubicada en el exón 7 del gen ABCA1 modifica el contexto y la función de la estructura de la proteína ABCA1. Una sustitución de C a T (CGT ⇒ TGT) cambia el aminoácido de arginina a cisteína (R230C) en el dominio extracelular 1 (ED1) del transportador ABCA1 (103).

1.6.2.1.1 Reportes de estudios de asociación.

Esta variante parece ser exclusiva de poblaciones amerindias ya que se ha identificado en mestizos mexicanos, yaquis, purépechas, mazahuas, mayas y Oji-Crees canadienses. En un estudio *in vitro* las células que expresaban el alelo C230 mostraron una reducción del

flujo de colesterol del 27% ($P < 0.001$) (104). En la población mexicana, individuos con genotipos R230C / C230C presentan niveles bajos de HDL-C; además esta variante se ha asociado con obesidad, síndrome metabólico, DM2 e hipertrigliceridemia (105-108). Así, su frecuencia alta en mexicanos mestizos, que es alrededor del 18% de la población mestiza mexicana analizada tiene esta variante en forma heterocigota, y el 2% en forma homocigota. Esta frecuencia podría explicar en parte la alta incidencia de estas enfermedades en nuestra población (107).

1.6.2.2 Proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 5 (PCSK5).

Las proproteínas convertasas (PCSK) pertenecen a una familia de serina endopeptidasas y se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9 (9q21.3) (109). La familia PCSK se compone de nueve miembros: furin, PCSK1, PCSK2, PCSK4, PACE4, PCSK5, S1P, PCSK7 y PCSK9 (110).

Los miembros PCSK escinden residuos de aminoácidos y modulan la actividad de proteínas precursoras y aquellos implicados en el metabolismo de HDL-C son PCSK3, PCSK5 y PCSK6; que inactiva la LE y LPL, enzimas que juegan un papel importante en la remodelación de HDL-C (111) (112).

1.6.2.2.1 Reportes de estudios de asociación.

Byul Jang et al. reportaron la asociación entre la variante genética rs1029035 del gen *PCSK5* y la ingesta dietética de AGPI-CL en coreanos; encontrando una asociación significativa con los niveles de HDL-C en hombres. Además, identificaron la interacción gen-nutriente, en el cual la ingesta de AGPI-CL influyó en las concentraciones séricas de HDL-C en los hombres ($P < 0.001$). El efecto deletéreo del alelo C en las HDL-C séricas estaba presente únicamente cuando la ingesta de AGPI-CL era $< 4.2\%$ del gasto energético total (112).

1.6.2.3 Paraoxonasa/arilestereasa 1 (PON1).

Las enzimas paraoxonasas (ePON) son codificadas por la familia PON, que consta de tres miembros ubicándose uno junto al otro en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21.3-q22.1) (113). Entre ellos presentan homología estructural; diferenciándose PON1 del resto por los tres residuos de nucleótidos adicionales en el exón 4 (114, 115). Las proteínas PON tienen diversos tipos de actividad hidrolítica, que se pueden dividir en actividad lactonasa

(homocisteína, tiolactona), actividad arilesterasa (acetato de fenilo) y actividad de organofosfatasa (paraoxón) (113).

PON es una glicoproteína de 355 aminoácidos, con un peso de 43-45 kDa que contiene cisteína en las posiciones: 42, 284 y 353. La acción protectora de la enzima es atribuida al grupo sulfhidrilo libre ubicado en la posición 284 (116).

Esta enzima es sintetizada principalmente en el hígado y se encuentra en plasma, asociado a las HDL. Se han descrito más de 200 polimorfismos en este gen presentes en los exones (secuencias codificantes), intrones (secuencias no codificantes) o en zonas reguladoras (114-116); de los cuales se han descrito 2 principalmente; uno de ellos localizado en la región codificante: en la posición 192 y el otro en la región promotora, en la posición -107 (T/C). La sustitución de glutamina / arginina en la posición 192 (Q192R) afecta la actividad de PON, en el cual la isoforma Q192 hidroliza paraoxón y metaboliza LDL oxidada con mayor eficacia que la isoforma R192 (113, 114); también se ha asociado a diferencias en las concentraciones de HDL-C, en poblaciones genéticamente homogéneas, como los Hutterites, localizados en Canadá (117).

El polimorfismo en la posición -107 afecta la expresión del gen, su actividad y concentración sérica (114), contribuyendo alrededor del 12% de la variabilidad entre los individuos (118). Se ha establecido que la baja actividad de la paraoxonasa está relacionada con un mayor riesgo de ECV; por lo que es una enzima fisiológicamente importante (114).

1.6.2.3.1 Reportes de estudios de asociación

Se ha observado que homocigotos del alelo C del polimorfismo rs662, específicamente en individuos brasileños y suizos con peso adecuado, presentan mayores concentraciones de HDL-C en contraste con los portadores del alelo T, así como la actividad de ePON (118) (119); este último hallazgo fue replicado en mujeres brasileñas (120). En hombres con ascendencia maya se ha reportado que homocigotos 192RR presentan niveles inferiores de HDL-C en contraste con homocigotos 192QQ (121).

La variante rs705379 también se ha asociado con el consumo de ácidos grasos, donde brasileñas homocigotas del alelo C con una dieta alta en ácidos grasos saturados o con una baja proporción de $\Omega 6 / \Omega 3$ presentan una reducción en la actividad ePON, efecto que no es observado en homocigotos TT (120).

1.6.2.4 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α).

El TNF α es una citoquina proinflamatoria secretada por macrófagos, monocitos, neutrófilos, células T y células NK (122). Las funciones biológicas del TNF α son variadas y complejas, ya que por un lado confiere resistencia a enfermedades y por el otro causa complicaciones patológicas (123). En situaciones agudas la producción de TNF α favorece la eliminación de residuos o agentes infecciosos. (122-124).

Niveles elevados de TNF α han estado involucrados en la patogénesis de distintas enfermedades que implican un proceso inflamatorio (124), entre ellas ECV (125). Además, se encuentra altamente expresado en el tejido adiposo; afectando la lipogénesis y la expresión de genes principales que controlan el metabolismo de la glucosa y de los lípidos (126, 127).

El gen que codifica para el TNF α se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6 (122). Se han identificado diversos polimorfismos dentro del promotor del gen *TNF α* (sitios relativos al inicio del sitio de transcripción); entre estas variantes, aquellos localizados en la posición -308 y -238 afectan directamente la expresión de TNF α (122) y alteran la actividad transcripcional (126). Ambos polimorfismos presentan 2 formas alélicas, una en la que la guanina define el alelo común y el otro en el que se sustituye la guanina por una adenina que define el alelo mutado (122).

1.6.2.4.1 Reportes de estudios de asociación.

Se ha reportado la asociación positiva de la ingesta de AGPI-CL con HDL-C en portadores del alelo A (-238) y en homocigotos GG (-308); así como la interacción de éstos ($P=0.0003$) (128), y la interacción con el consumo de lípidos donde mujeres homocigotas GG (-238) de raza negra con mayor ingesta de AGPI-CL $\Omega 3$ disminuyeron las concentraciones de HDL-C (127). También se ha reportado la asociación con la composición corporal, observando mayor porcentaje de grasa corporal en mujeres de raza negra portadoras del alelo A (-238) (127) y portadoras del alelo A (-308) tienen mayor riesgo de obesidad cuando la ingesta dietética de lípidos corresponde al 30% de la ingesta total de energía en comparación con los homocigotos GG (129).

En mexicanos se ha identificado que los individuos homocigotos GG en la posición -308 presentan niveles bajos de HDL-C; la frecuencia genotípica reportada es del 87% GG (130).

1.6.2.5 Apoproteína E (APOE).

El gen *APOE* codifica para la apoproteína transportadora de lípidos E (ApoE) cuya función es mediar el movimiento del colesterol entre células, promueve la eliminación de las lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos (aquellas que contienen ApoB) de la circulación al hígado y proporciona lípidos esenciales para funciones del sistema nervioso central (SNC) (131, 132). Además, la ApoE también puede unirse a la proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP), VLDL, a la heparina y a proteoglicanos. Al unirse a la heparina y a los glucosaminoglicanos de tipo heparina presentes en la matriz de las paredes arteriales, la ApoE podría desempeñar un papel en el músculo liso mediante la proliferación y migración de las células musculares lisas en la íntima; característica de la enfermedad vascular aterosclerótica (133).

El gen *APOE* se ubica en el cromosoma 19q13.2 y codifica para un polipéptido de 299 aminoácidos y tiene tres variantes alélicas principales E2, E3 y E4. Los individuos poseen dos alelos *APOE*, uno heredado de cada progenitor, resultando en tres genotipos homocigotos: E2E2, E3E3, E4E4 y 3 genotipos heterocigotos: E2E3, E2E4, E3E4 (131, 134). El alelo más común es el E3 y se estima que está presente en el 86% de los individuos de población caucásica, frente al 23% y 14% para los alelos E4 y E2, respectivamente.

El gen *APOE* tiene 4 exones, que comprenden 44, 66, 193 y 860 nucleótidos, del cual más del 80% de la proteína es codificada por el exón 4. Como se indica, el exón 4 contiene los dos SNP comunes asociados con la enfermedad: una mutación puntual T → C produce ApoE4 (Cys112Arg), mientras que la mutación C → T codifica ApoE2 (Arg158Cys) (135, 136). Las variantes que dan origen a estas isoformas son rs429358 para el codón 112 y rs7412 para el codón 158. Las tres isoformas difieren el uno del otro por un reemplazo de cisteína-arginina en las posiciones 112 y 158: ApoE2 (Cys112, Cys158), ApoE3 (Cys112, Arg 158) y ApoE4 (Arg112, Arg158) (132, 137). Una de las características en estas isoformas es que Apo4 se une con mayor afinidad a las lipoproteínas ricas en triglicéridos debido a la presencia de arginina, y por el contrario, las isoformas E2 y E3, que contienen dos y una cisteína, respectivamente, se unen preferentemente a HDL (133).

1.6.2.5.1 Reportes de estudios de asociación.

Este gen es de los más estudiados con respecto al impacto de las variantes genéticas en los niveles de lipoproteínas plasmáticas, determinando que es el principal contribuyente a la heterogeneidad de lípidos plasmáticos.

Existen distintos estudios que evidencian el efecto de la suplementación con aceite de pescado y la respuesta de acuerdo a los genotipos del gen *APOE*; algunos de ellos han encontrado una interacción significativa entre sexo, genotipo y tratamiento; por ejemplo, en hombres portadores del alelo E4 redujeron del 15% y 23% las concentraciones de TGL posterior a la suplementación de aceite de pescado con una dosis 0.7g/d y 1.8g (138) . Así mismo se ha observado que el impacto en las respuestas de la suplementación varía de acuerdo con el genotipo *APOE*, en portadores de la isoforma E4 se ha observado una tendencia estadística en la reducción en las concentraciones de HDL-C en comparación con homocigotos E3, además de que estos individuos suelen presentar niveles basales de HDL-C disminuidos ($P = 0.035$) (139).

1.6.2.6 Actividad de las enzimas desaturasas de ácidos grasos (FADS).

Los genes *FADS* codifican a las enzimas desaturasas. Estos genes se encuentran en el cromosoma 11 (11q12.2-13.1) y hasta el momento se conocen 3: *FADS1*, *FADS2*, *FADS3*. Estos genes se componen de 12 exones y 11 intrones. Los transcritos de *FADS1* y *FADS2* codifican 444 aminoácidos de 1335bp, en una orientación de cabeza a cabeza y forman un grupo de genes junto con un tercer gen, *FADS3* (Figura 2). Se asume que estos tres genes han surgido evolutivamente de la duplicación de genes, debido a su organización similar y grado de homología de secuencia (52, 140, 141). El gen *FADS1* abarca 17.2 kb de ADN genómico, codifica una proteína con 444 aminoácidos con peso molecular de 52 kDa, desaturasa $\Delta 5$ ($\Delta 5$), y comparte el 61% de identidad con *FADS2*. El gen *FADS2* abarca 39.1kb de ADN genómico, codifica una proteína de 444 aminoácidos con una masa molecular de 52.3 kDa, la desaturasa $\Delta 6$ ($\Delta 6$) (53).

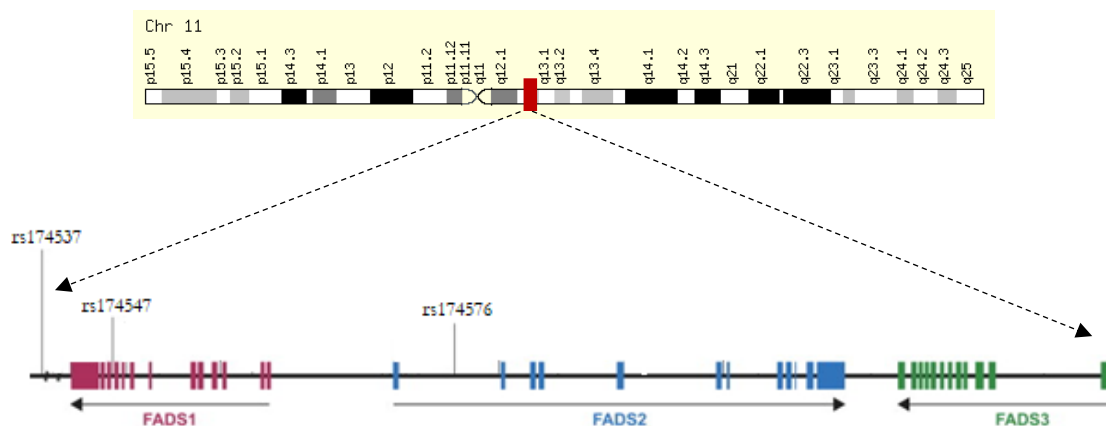


Figura 2. Estructura esquemática del grupo de genes *FADS* humano y ubicación de los polimorfismos estudiados. Modificado de Lattka et al.

La variación genética en *FADS1* y *FADS2* se ha asociado con alteraciones en la composición de ácidos grasos, que a su vez pueden modificar la propensión de un individuo a distintas enfermedades (95) como la modificación en el perfil de lípidos (HDL-C, LDL-C, colesterol, TGL), homeostasis de glucosa, ECV, esquizofrenia y bipolaridad, depresión perinatal, enfermedades atópicas, hiperactividad e inteligencia en niños (53, 91, 140, 142-144).

1.6.2.6.1 Reportes de estudios de asociación.

Diversos estudios han reportado que los alelos menores del gen *FADS* presentan menor actividad enzimática, asociándose con una reducción de la inflamación, colesterol total, LDL-C y riesgo de ECV (145). Diversos autores han encontrado asociaciones constantes con variantes genéticas, como rs174537, rs174547 y rs174576 y alteraciones en la actividad enzimática desaturasa (57, 60, 146-149). Así mismo, estos polimorfismos han presentado diferencias en la actividad enzimática en individuos suplementados con distintas dosis de aceite de pescado (146) o diferencias en la incorporación de algunos ácidos grasos como el EPA (150).

Algunos de estos polimorfismos se han asociado a menores concentraciones de HDL-C (144) dependiendo de la cantidad de ingesta dietética de AGPI-CL Ω 6 (151).

1.7 Efecto de la ingestión de los AGPI-CL sobre el RCV.

El efecto del consumo de los AGPI-CL sobre el RCV, particularmente en el HDL-C es controversial (152, 153). En general, se ha observado un incremento en HDL-C en individuos con determinada patología suplementados con AGPI-CL Ω 3 (154). En individuos metabólicamente sanos existen muy pocos estudios; algunos de ellos han observado un incremento en las concentraciones de HDL-C (155, 156), otros no muestran cambios (157-159), y algunos reportan cambios en las subfracciones de éstas (160, 161). La comparación de los hallazgos se dificulta por diferencias importantes en los estudios como son el grupo etario, población, duración y dosis de suplementación. Hasta el momento, únicamente hay un reporte en población mexicana, realizado por Carvajal y su grupo de trabajo, en el que la población estudiada fue suplementada con 3g de salmón durante 4 semanas y clasificada según su perfil lipídico, al finalizar el estudio se observó que las concentraciones de HDL-C incrementaron en los individuos normolipidémicos (156).

Con relación a la actividad de las enzimas desaturasas; hay reportes de que la suplementación con aceite de pescado modifica su actividad (162); además de que éstas han estado asociadas con fenotipos estrechamente relacionados con el RCV como es el perfil lipídico, entre ellas las concentraciones de HDL-C (10, 13, 140, 163-165). Algunos de los estudios previamente mencionados se resumen en el Anexo I.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en la información previamente plasmada; se aprecia que el efecto de la suplementación con AGPI-CL Ω 3 sobre las concentraciones de HDL-C no es concluyente; además de que únicamente hay un estudio realizado en población mexicana. Con relación a la actividad enzimática de las desaturasas, los reportes en individuos sanos son escasos y no hay reportes en población mexicana, por lo que el presente estudio surge con el propósito de investigar el efecto de la suplementación con aceite de pescado durante 6 semanas sobre las concentraciones de HDL-C, la actividad enzimática $D\Delta 5$, $D\Delta 6$, $DA\Delta 5$, $DA\Delta 6$ y sobre los índices $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$ y ARA/EPA en una muestra de adultos jóvenes mexicanos, aparentemente sanos; así como la asociación de algunas variantes genéticas con estos datos bioquímicos.

3. JUSTIFICACIÓN

La concentración sérica de HDL-C, la actividad enzimática estimada de $D\Delta 5$, $DA\Delta 5$, $D\Delta 6$, $DA\Delta 6$, y los índices $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$, ARA/EPA son indicadores de RCV. Valores $> 50\text{mg/dL}$ en las concentraciones de HDL-C, un índice $\Omega 3$ -HS >8 , índice $\Omega 6/\Omega 3$ de, y una elevada actividad enzimática $D\Delta 5$ y $DA\Delta 5$ confieren protección contra ECV, enfermedades que constituyen la primera causa de mortalidad en México y a nivel mundial.

De acuerdo con la evidencia científica previamente expuesta; los resultados de la suplementación con aceite de pescado sobre las HDL-C son inconsistentes; aunado a que la información existente en población mexicana es escasa, únicamente se encontró un reporte en el que ningún factor genético fue considerado en su diseño. Con relación a la actividad enzimática estimada de las desaturasas, índice $\Omega 6/\Omega 3$, ARA/EPA e $\Omega 3$ -HS no existen reportes en nuestra población tanto del efecto de la suplementación con aceite de pescado como de polimorfismos asociados.

Múltiples estudios han demostrado que polimorfismos de un solo nucleótido modulan el metabolismo de distintos nutrientes, como los lípidos, jugando un papel crucial en la modificación del riesgo de enfermedades, entre ellas las cardiovasculares. El comportamiento de las variaciones genéticas y factores ambientales, como la ingesta de nutrimentos, pueden ser distintos entre las poblaciones debido a entre otros factores, al fondo genético. Por lo tanto, identificar las variantes genéticas que modulan los niveles plasmáticos de lípidos, y ácidos grasos de importancia es crucial para la comprensión del desarrollo de la enfermedad, así como su comportamiento con la suplementación con aceite de pescado en jóvenes aparentemente sanos, permitiendo proponer recomendaciones en el consumo de AGPI-CL Ω 3 para prevenir ECV. Dado que la población mexicana se caracteriza por un bajo consumo de AGPI-CL Ω 3 y valores inferiores de HDL-C en comparación con otras poblaciones, es de vital importancia conocer el efecto de la suplementación en nuestra población, así como el comportamiento de las variantes genéticas.

4. HIPÓTESIS

Los polimorfismos de un solo nucleótido modificarán la respuesta a la suplementación con aceite de pescado de manera negativa sobre las concentraciones de HDL-C, el índice ARA/EPA, Ω 6/ Ω 3 y de manera positiva sobre la actividad enzimática estimada de las desaturasas y el índice Ω 3-HS en los jóvenes mexicanos aparentemente sanos. El tamaño del efecto, de acuerdo con la d de Cohen, de las variantes genéticas asociadas será pequeño (d 0.2-0.49).

La asociación de los polimorfismos de un solo nucleótido en los genes *ABCA1* (rs9282541), *PCSK5* (rs1029035), *PON1* (rs662, rs705379) y *TNF α* (rs1800629, rs361525) será con las concentraciones de HDL-C, mientras que aquellos presentes en *FADS1* (rs174537 y rs17457), *FADS2* (rs174576) y *APOE* (rs7412, rs429358) será con la actividad enzimática estimada a partir de ácidos grasos en plasma y eritrocitos de las desaturasas (D Δ 5, D Δ 6, DA Δ 5 y DA Δ 6), así como con los índices Ω 3-HS, Ω 6/ Ω 3 y ARA/EPA.

5. OBJETIVOS

1.8 Objetivo general

Evaluar la asociación, contribución y el tamaño del efecto de polimorfismos de un solo nucleótido en los genes *FADS1* (rs174537 y rs17457), *FADS2* (rs174576), *ABCA1* (rs9282541), *TNF α* (rs1800629, rs361525), *PCSK5* (rs1029035), *PON1* (rs662, rs705379) y *APOE* (rs7412, rs429358) sobre las concentraciones de HDL-C, la actividad enzimática estimada $D\Delta 5$, $DA5$, $D\Delta 6$, $DA\Delta 6$ e índices ARA/EPA, $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$ obtenidos a partir de ácidos grasos plasmáticos y eritrocitarios al término de la suplementación con aceite de pescado en población mexicana aparentemente sana.

1.9 Objetivos específicos

1. Analizar los parámetros bioquímicos y antropométricos que se asocian a las concentraciones de HDL-C, actividad enzimática plasmática y eritrocitaria de las enzimas $D\Delta 5$, $DA\Delta 5$, $D\Delta 6$ y $DA\Delta 6$ e índices $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$, ARA/EPA en eritrocitos y plasma al finalizar la intervención en los participantes.
2. Analizar la asociación de los polimorfismos seleccionados con las concentraciones de HDL-C, actividad de las enzimas $D\Delta 5$, $DA\Delta 5$, $D\Delta 6$ y $DA\Delta 6$ plasmáticas y eritrocitarias, así como los índices $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$, ARA/EPA al término de la suplementación en los participantes.
3. Estimar el efecto de los polimorfismos seleccionados sobre la estimación de la actividad de las enzimas desaturasa $\Delta 5$ y $\Delta 6$ e índices $\Omega 3$ -HS, $\Omega 6/\Omega 3$, ARA/EPA en eritrocitos y en plasma al finalizar la suplementación.
4. Comparar las frecuencias alélicas observadas con la reportada en otras poblaciones.

6. MATERIAL Y METODOLOGÍA

El presente estudio surge del trabajo previamente realizado titulado: “Respuesta a la intervención con PUFAs de acuerdo con los genotipos de PPAR α y PPAR γ ” (166); por lo que el diseño y conducción del estudio se llevó a cabo con anterioridad.

1.10 Diseño del estudio:

El estudio es de carácter cuasiexperimental ya que se realiza una intervención no aleatorizada; prospectivo porque los datos se colectan conforme el estudio se va realizando, comparativo debido a que se presentan mediciones en dos tiempos (inicial y final y longitudinal dado que se realiza durante determinado tiempo (6 semanas).

1.11 Lugar del estudio:

Se llevó a cabo en la Universidad Iberoamericana, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) y Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Siglo XXI, ciudad de México.

1.12 Población de estudio:

Individuos adultos mexicanos captados en la Universidad Iberoamericana (UIA) y en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México.

1.13 Criterios de selección:

1.13.1 Criterios de inclusión

- Adultos sanos de entre 18 y 40 años.
- IMC: entre 18.5 y 30 kg/m².
- Hábitos de actividad física: de sedentario a moderado (de acuerdo con la encuesta propuesta).
- Metabólicamente sanos.

1.13.2 Criterios de exclusión:

- Tratamiento concomitante: Consumo de suplementos dietéticos o medicamentos que puedan afectar los resultados del estudio.
- Fumadores activos, sospecha de consumo de alcohol o drogas ilícitas.

- Padecer enfermedad significativa en las dos semanas previas al inicio del estudio, presencia de alguna infección sistémica o cualquier condición médica que requiera tratamiento terapéutico durante el estudio.
- Que presenten alguna condición médica relacionada a la coagulación.
- Sujetos que no puedan adherirse a los procedimientos del estudio, que participen simultáneamente en un estudio clínico o que hayan participado en otro estudio clínico en 4 semanas previas al inicio del estudio.

1.13.3 Criterios de eliminación

- En caso de desarrollar cualquier condición médica, o efectos adversos al producto
- Cuando el individuo lo decida o no cumpla con los procedimientos del estudio.

1.14 Tipo de muestreo

No probabilístico con participación de voluntarios.

1.15 Tamaño de la muestra

La muestra se calculó para responder los objetivos del estudio “Respuesta a la intervención con PUFAs de acuerdo a los genotipos de *PPARα* y *PPARγ*“(166), con una cantidad de 200 participantes de acuerdo con las frecuencias alélicas reportadas en la población mexicana y tomando en consideración estudios previos de los efectos del genotipo sobre los TGL tras la suplementación.

1.16 Descripción general del estudio

Se realizó una intervención con el suplemento Triple Strength Fish Oil, GNC Preventive Nutrition® (647 mg de EPA+253 mg de DHA). La indicación de consumo fue de 3 cápsulas por día (1941mg EPA+759mg DHA) durante 6 semanas, junto con alimentos; de preferencia durante el desayuno.

La conducción del estudio se realizó mediante 3 visitas de los participantes a las clínicas de nutrición localizadas en la UNAM y/o UIA. Las visitas consistían en:

Primera visita: se proporcionó consentimiento informado, se realizaron medidas de composición corporal (peso, talla, masa grasa, masa libre de grasa, IMC), se efectuó una historia clínica, se extrajo sangre para determinar parámetros bioquímicos (glucosa, HDL-C, LDL-C, TGL, HOMA, insulina, HbA1c y se extrajo DNA a partir de buffy coat. Además,

se entregó el suplemento suficiente para consumir durante las siguientes tres semanas y se proporcionó un diario donde los sujetos informaron por escrito cualquier síntoma o efecto adverso, así como la cantidad de cápsulas ingeridas por día durante las primeras 3 semanas.

Segunda visita: se entregaron resultados bioquímicos, antropométricos y se proporcionaron suplementos para consumir durante las siguientes 3 semanas.

Tercera visita: se realizaron mediciones de composición corporal y toma de muestra para la determinación de parámetros bioquímicos.

1.17 Selección de polimorfismos

Los polimorfismos evaluados en este estudio se seleccionaron considerando los siguientes criterios:

- 1) Asociación significativa con las concentraciones de HDL-C y/o con la actividad enzimática estimada de las desaturasas.
- 2) Evidencia de por lo menos 2 estudios independientes.
- 3) Frecuencia alélica en población mexicana mínima del 20% en población mexicana o con gran evidencia del impacto en población mexicana.

1.18 Definición de variables de interés del estudio

Variables independientes:

- Apego a la suplementación (Δ Índice Ω 3-HS): variable cuantitativa continua, indicada como porcentaje.
- Edad: variable cuantitativa discreta medida por años
- Sexo: variable cualitativa codificada como 1 para femenino y 2 masculino
- Parámetros iniciales:
 - Concentraciones de HDL-C: variable cuantitativa continua.
 - Actividades enzimáticas estimadas de 2 muestras biológicas (eritrocitos y plasma): $D\Delta 5$, $DA\Delta 5$, $D\Delta 6$, $DA\Delta 6$: variables cuantitativas expresadas en porcentaje
 - Índices calculados a partir de ácidos grasos de 2 muestras biológicas (eritrocitos y plasma): índice Ω 3-HS, ARA/EPA, $\Omega 6/\Omega 3$: variables cuantitativas expresadas en porcentaje.

- Parámetros finales:
 - Parámetros bioquímicos: concentraciones de triglicéridos, glucosa. HDL-C, LDL-C: variables cuantitativas continuas.
 - IMC: variable cuantitativa.
 - Actividades enzimáticas estimadas DA Δ 5, D Δ 6 (eritrocitos y plasma) y DA Δ 6 (eritrocitos): variables cuantitativas expresadas en porcentaje
- Variantes genéticas: variable nominal codificada según el patrón de herencia:
 - Patrón aditivo: homocigoto del alelo menor: 1, heterocigoto:2, homocigoto del alelo mayor: 3
 - Patrón dominante: homocigoto del alelo mayor +heterocigoto:1, homocigoto del alelo menor:0
 - Patrón recesivo: homocigoto del alelo menor+heterocigoto:0, homocigoto del alelo mayor:1

Variables dependientes:

Valores obtenidos al finalizar la suplementación de:

- Concentraciones de HDL-C: variable cuantitativa continua,
- Actividades enzimáticas estimadas de 2 muestras biológicas (eritrocitos y plasma): D Δ 5, DA Δ 5, D Δ 6, DA Δ 6: variables cuantitativas expresadas en porcentaje
- Índices calculados a partir de ácidos grasos de 2 muestras biológicas (eritrocitos y plasma): índice Ω 3-HS, ARA/EPA, Ω 6/ Ω 3: variables cuantitativas expresadas en porcentaje.

1.19 Apego a la suplementación

Se evaluó la incorporación de los AGPI-CL Ω 3 EPA y DHA mediante el índice Ω 3-HS en eritrocitos. Cuando el sujeto ingiere la cápsula tiene un incremento en este índice; por lo que se comparó el índice Ω 3-HS inicial y el Ω 3-HS final eritrocitario. Dado a que la comparación fue estadísticamente significativa se determinó que la muestra estudiada tuvo apego a la suplementación. Con la finalidad de obtener una cifra que nos aproximara a una magnitud de cambio se realizó la diferencia del índice final y el índice inicial, denominándolo Δ Índice Ω 3-HS.

1.20 Estimación de la actividad enzimática desaturasa e índices: $\Omega 3$, ARA/EPA, $\Omega 6/\Omega 3$

La estimación de la actividad enzimática de las desaturasas se realizó mediante la relación metabolito/precursor (11, 57-59), como se indica en la Tabla 4.

Tabla 4 Cálculo de la actividad enzimática estimada de las desaturasas en eritrocitos y plasma.

Metabolito	Descripción	Fórmula
<i>Desaturasa $\Delta 5$</i>	Razón del ácido Araquidónico y ácido Dihomo- γ -linoleico	$\frac{ARA}{DGLA}$
<i>Desaturasa Agregada $\Delta 5$</i>	Razón del ácido Eicosapentaenoico y ácido α -Linoleico	$\frac{EPA}{LN}$
<i>Desaturasa $\Delta 6$</i>	Razón del ácido γ - linoleico y ácido linoleico	$\frac{GLA}{LA}$
<i>Desaturasa Agregada $\Delta 6$</i>	Razón: ácido Dihomo- γ -linoléico entre ácido Linoleico	$\frac{DGLA}{LA}$

Los índices se calcularon a partir de las mediciones obtenidas de los ácidos grasos en 2 muestras biológicas: eritrocitos y plasma, como se indica en la Tabla 5.

Tabla 5 Cálculo de los índices $\Omega 3$ -HS, ARA/EPA y $\Omega 6/\Omega 3$ en eritrocitos y plasma.

Metabolito	Descripción	Fórmula
<i>Índice $\Omega 3$-HS</i>	Sumatoria del ácido Eicosapentaenoico y Docosahexanoico	$DHA + EPA$
<i>Índice ARA/EPA</i>	Razón ácido Araquidónico y ácido Eicosapentaenoico	$\frac{ARA}{EPA}$
<i>Índice $\Omega 6/\Omega 3$</i>	División de la sumatoria de los AGPI-CL $\Omega 3$ y AGPI-CL $\Omega 6$	$\frac{\Omega 6}{\Omega 3}$
<i>AGPI-CL $\Omega 6$</i>	Sumatoria de los AGPI-CL que pertenecen a la serie $\Omega 6$	$DGLA + GLA + ARA + LN$
<i>AGPI-CL $\Omega 3$</i>	Sumatoria de los AGPI-CL que pertenecen a la serie $\Omega 3$	$ALN + DHA + EPA$

1.21 Técnicas de laboratorio

1.21.1 Análisis de ácidos grasos en plasma y eritrocitos.

La determinación de ácidos grasos presentes en plasma y eritrocitos es esencial para la medición y estimación de distintos parámetros cruciales en el presente estudio como son:

apego a la suplementación, estimación de la actividad enzimática de las desaturasas y cálculo de índice Ω 3-HS, ARA/EPA y Ω 6/ Ω 3.

El análisis de ácidos grasos en eritrocitos y plasma se realizó mediante cromatografía de gases. Esta metodología hace pasar el analito en forma gaseosa a través de la columna, arrastrado por una fase móvil gaseosa llamado gas portador; el cual se separa de acuerdo con el número de carbonos y enlaces que presenta. Para poder realizar el análisis mediante este principio se requieren 2 procesos previos:

1) Extracción de lípidos

La extracción de lípidos se lleva a cabo de manera diferente de acuerdo con el tipo de muestra biológica a tratar. En el caso de eritrocitos se utilizó el método modificado de Hara y Radin (167), y en plasma el método modificado por Folch et al (168). La diferencia se basa en el tipo de solvente utilizado.

Plasma: se agregó 1mL de muestra y se le adicionó cloroformo metanol (2:1); posteriormente se agitó durante 5 minutos y se centrifugó a 2600rpm durante 20min. Al finalizar, la fase acuosa se desechó por vacío; la fase orgánica inferior se recuperó a otro tubo y el solvente se evaporó por medio de una corriente de nitrógeno; se realizó un último lavado para eliminar restos proteicos con isooctano y se colocó en viales; volviendo a evaporar el solvente mediante corriente de nitrógeno. La cantidad de grasa obtenida se cuantificó mediante diferencia de peso de los viales.

Eritrocitos: se colocó 1g de eritrocitos en tubos cónicos de vidrio, se le adicionó isopropano/hexano (4.5:6.0) y se agitó constantemente durante 10min, posteriormente se centrifugó a 2000 RPM durante 15 min. La fase líquida se recuperó y se colocó en un tubo para evaporarse bajo una corriente de nitrógeno. Estos tubos se pesaron nuevamente y se les agregó 900 μ L de hexano para disolver la grasa extraída. La solución de hexano se transfirió a unos viales previamente pesados, se evaporó bajo una corriente de nitrógeno y se pesaron al finalizar la evaporación. La cantidad de grasa obtenida se cuantificó mediante diferencia de peso. Hara y Radin demostraron que estos reactivos pueden penetrar las membranas celulares y disolver diversos lípidos que difieren en sus propiedades de solubilización y no disuelve componentes no lipídicos como en el caso de cloroformo-metanol (169).

2) Preparación de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME)

Existen diversos métodos para la preparación de FAME; el método seleccionado fue aquel descrito por Kramer et al., esta técnica consta de dos reacciones consecutivas: una transesterificación en un medio alcalino seguido de una esterificación acidificada.

A 20 mg de grasa extraída se le agregaron 0.5 mL de tolueno y 1 mL de sodio metanólico 0.5N (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Alemania). Las muestras se agitaron durante 30 segundos y se colocaron en un bloque de calentamiento a 55°C (Reacti-Therm II, Pierce Biotechnology, EE. UU.) durante 15 minutos. Una vez que se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se añadió 1 mL de una solución metanólica que contenía 14% de trifluoruro de boro (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Alemania) y 250 µL de ácido margárico como ácido graso estándar (100 mg / mL de ácido margarán en metanol, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Alemania). Las muestras se agitaron de nuevo durante 30 segundos, se incubaron y se dejaron enfriar en las mismas condiciones anteriormente descritas. Posteriormente, a las muestras se les añadió 1 mL de isooctano (J. T. Baker, EE. UU..) y 4 mL de solución saturada de cloruro de sodio. Después de agitar durante 2 minutos, los viales se centrifugaron a 2500 RPM, a 4°C durante 10 minutos.

La capa orgánica superior se recuperó y se transfirió a viales ámbar (COREX); el disolvente se eliminó mediante corriente de nitrógeno (ultra-alta pureza) y mediante diferencia de peso de los viales ámbar se obtuvo la cantidad de FAME; los viales se almacenaron a -70°C hasta realizar el análisis por cromatografía de gases.

3) Cromatografía de gases

Los esterios metílicos de ácidos grasos fueron separados y analizados en el cromatógrafo de gases 7820a GC System, Agilent Technologies, acoplado a un detector de llama de hidrógeno (FID). Se usó una columna capilar de sílice fundida de 100 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.20 µm de espesor. El volumen de inyección fue de 1 µL. Se utilizó helio como gas acarreador a una tasa de flujo de 1.2 mL/min. La temperatura de ionización de llama se fijó a 270°C y la temperatura del inyector a 250°C. La temperatura del horno se programó inicialmente a 70°C con una velocidad progresiva de 30°C/min hasta alcanzar una temperatura de 175 °C. Posteriormente, la velocidad progresiva fue de 1.2 °C /min hasta alcanzar 230 °C, una vez alcanzada esta temperatura, se mantuvo constante durante 5 min.

Los picos de longitud de cadena de C12 a C24 se identificaron comparándolos con los tiempos de retención de las mezclas estándar de alta pureza (<99%) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 37 FAs mixture) para poder determinar el área bajo la curva de cada pico, con la finalidad de conocer el porcentaje de ácido graso en base a la suma de las áreas de los ácidos grasos identificados; estos son expresados en porcentaje.

1.21.1 Determinación de datos antropométricos y bioquímicos

Como se mencionó anteriormente, las medidas antropométricas: peso (InBody 720®), talla (estadímetro convencional) y bioquímicas: glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol total, LDL-C, HDL.C, HbA1c se determinaron previamente para la realización del estudio “Respuesta a la intervención con PUFAs de acuerdo a los genotipos de *PPARα* y *PPARγ*”(166), por lo que esta metodología esta descrito en el II Anexo.

1.21.2 Cuantificación y pureza de ADN.

La cuantificación del ADN se realizó utilizando el Nanodrop ND 1000, el cual funciona bajo el principio de espectrofotometría (170); éste se basa en la capacidad de los compuestos para absorber energía; en este caso luz ultra violeta (UV) (171). El fundamento de esta metodología se encuentra descrito en el III Anexo.

1.21.3 Genotipificación de SNP

Se evaluaron 11 polimorfismos de un solo nucleótido; de los cuales 2 pertenecen al gen *FADS1*, 1 al gen *FADS2*, 2 al gen *TNFA*, 1 al gen *ABCA1*, 1 al gen *PCSK5*, 2 al gen *PON1* y 2 al gen *APOE*. La genotipificación se realizó mediante discriminación alélica.

1.21.3.1 Discriminación alélica

La discriminación alélica se realizó por PCR en tiempo real con sondas prediseñadas Taqman®; donde la amplificación y detección del genotipo ocurren simultáneamente (IV Anexo). Las sondas utilizadas se muestran en la Tabla 6:

Tabla 6 Número de catálogo de las sondas utilizadas para la detección de SNPs.

Gen/rs	Número de catálogo	Gen/rs	Número de catálogo
FADS1/rs174547	C__2269026_10	APOE/ rs7412	C__904973_10
FADS1/rs174537	C__2292336_10	APOE/ rs429358	C__3084793_20

FADS2/rs174576	C__2575520_10	PON1/ rs662	C__2548962_20
TNFα/rs361525	C__2215707_10	PON1/rs705379	C__11708905_10
TNFα/ rs1800629	C__7514879_10	PCSK5/ rs1029035	C__8765102_10
ABCA1/ rs9282541	C__11720861_10		

1.22 Análisis estadístico.

Se estimaron los valores de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar) de las variables continuas analizadas, y las frecuencias de las variables nominales y categóricas. La prueba de Kolmogórov-Smirnov fue empleada para determinar la normalidad de la distribución de las variables continuas.

Para comparar las variables al inicio y al término de la suplementación se realizó la prueba de comparación de medias (t de Student pareada) si la distribución de datos cumple con la normalidad, o comparación de rangos mediante la prueba de Wilcoxon en caso de no cumplir con la normalidad de los datos. Para determinar las diferencias por sexo y variantes genéticas se utilizó la prueba de comparación para muestras independiente según su distribución: t de Student para datos con distribución gaussiana o U-Mann-Whitney para datos sin distribución gaussiana.

Mediante la prueba exacta de Fisher se compararon las frecuencias alélicas entre la obtenida y la reportada en el Proyecto 1000 Genomas (<http://www.internationalgenome.org/>) (172). Las desviaciones de las frecuencias genotípicas esperadas por el equilibrio de Hardy-Weinberg fueron determinadas por una prueba de *chi* cuadrada.

La codificación de las variantes genéticas se menciona en el apartado de definición de variables de interés. En el caso de la variante genética rs9282541 de *ABCA1* se sumaron la cantidad de homocigotos GG y heterocigotos GA debido a la baja frecuencia del primer genotipo encontrada en la población estudiada; correspondiendo al patrón de herencia dominante. Para las variantes genéticas que pertenecen al gen *APOE*: rs7412 y rs429358 se determinó el genotipo de la isoforma de acuerdo con la siguiente descripción: E4 corresponde a (C; C) del rs7412 y rs429358; E3 (T; T) del rs429358 y (C; C) del rs7412 y E2 (T; T) para el rs7412 y rs429358; para este polimorfismo únicamente se utilizó el patrón de herencia aditivo.

Se realizó la correlación de Spearman (cálculo de Rho) de los ácidos grasos con parámetros bioquímicos y antropométricos, la correlación de parámetros bioquímicos para identificar variables con alta correlación; aquellas que presentaron una correlación alta (≥ 0.8) se descartaron para ser integradas en el modelo general lineal univariado.

La evaluación de los parámetros bioquímicos, antropométricos y genéticos asociados con las variables de interés (concentraciones de HDL-C, la actividad enzimática estimada de D Δ 5, DA Δ 5, D Δ 6, DA Δ 6, índice Ω 3-HS, ARA/EPA al final de la suplementación) se llevó a cabo mediante el modelo lineal general univariado. En caso de no cumplir con el supuesto de normalidad en los residuales la variable dependiente se transformó. Los parámetros: concentraciones de HDL-C, actividad enzimática D Δ 5, DA Δ 5, D Δ 6, DA Δ 6, índice Ω 3-HS, ARA/EPA, índice Ω 6/ Ω 3 se consideraron como variable dependiente; mientras que los parámetros bioquímicos y antropométricos como covariables; las variantes genéticas bajo los distintos patrones de herencia y sexo se consideraron como factores fijos.

Para cumplir con los objetivos establecidos se realizaron tres estrategias: la primera estrategia se llevó a cabo para determinar la asociación de parámetros bioquímicos con la variable dependiente mediante la realización de un modelo general univariado ajustado por sexo, edad, IMC y apego a la suplementación; una vez establecidos los parámetros asociados se lleva a cabo la segunda estrategia con la finalidad de identificar las variantes genéticas con los distintos patrones de herencia (aditivo, recesivo y dominante) asociadas; esta estrategia se llevó a cabo mediante la adición de los parámetros bioquímicos asociados bajo la primera estrategia y la adición de cada polimorfismo con su respectivo patrón de herencia; una vez detectadas las variantes genéticas asociadas y el patrón de herencia, se realiza la tercera estrategia con el objetivo de evaluar el comportamiento simultáneo de los polimorfismos asociados, se adicionaron todos los polimorfismos bajo el patrón de herencia aditivo asociados en la segunda estrategia. En cada prueba de hipótesis se consideró como significativo un valor de $P < 0.05$.

El cálculo del tamaño del efecto se realizó de acuerdo con la d de Cohen; cuando se compararon parámetros iniciales y finales se efectuó mediante la diferencia de medias dividido entre la desviación típica: $d = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s}$; para los modelos generales lineales se transformó la eta parcial cuadrada a d de Cohen mediante la fórmula $d = 2f$, donde $f =$

$\sqrt{\frac{etap^2}{1-etap^2}}$ con ayuda del software Psychometrica(173) de libre acceso. La etapa, es la etapa parcial cuadrada obtenida de los modelos lineales generales. Los puntos de corte para la interpretación de los valores obtenidos son bajo 0.2-0.49, mediano 0.5-0.8 y grande ≥ 0.8 (98, 173). Los análisis estadísticos fueron realizados empleando el software SPSS versión 22 (SPSS Inc. Chicago USA).

7. RESULTADOS

Se evaluó la elegibilidad de 253 individuos, de los cuales sólo 226 cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron participar en la intervención. De estos, 30 participantes abandonaron el estudio: 12 presentaron intolerancia al aceite de pescado, 7 se perdieron en el seguimiento, 6 fueron eliminados del estudio debido a violaciones de los criterios de inclusión del protocolo y 5 decidieron abandonar el estudio. De los 196 individuos que terminaron el seguimiento, 5 participantes se excluyeron por el consumo de medicamentos que podrían interferir con los resultados del estudio quedando un total de 191 participantes. Los efectos secundarios más frecuentes fueron gastrointestinales (informados por el 52% de los participantes suplementados) referidos como eructos con sabor a pescado. No se informaron efectos adversos graves por el consumo del aceite de pescado.

1.23 Datos descriptivos de la población estudiada.

La población estudiada consistió en 191 adultos jóvenes aparentemente sanos; de los cuales el 63.4% son mujeres y el 36.6% son hombres.

Al término de la suplementación las mujeres presentan cambios estadísticamente significativos en los siguientes parámetros: disminución en Hb1Ac, porcentaje de grasa corporal e incremento en masa libre de grasa (MaLG) e IMC; en hombres, se observó una disminución en el porcentaje de grasa corporal, Hb1Ac e insulina en ayuno; e incremento en concentraciones de glucosa sérica. El tamaño del efecto de la suplementación sobre estos parámetros es muy pequeño de acuerdo con el valor de la d de Cohen, con excepción de la glucosa que es pequeño. El cambio en las HDL-C tras la suplementación es diferente por sexo; en mujeres se observa una tendencia a la reducción ($P=0.063$), y en los hombres un incremento ($P=0.095$) (Tabla 7).

Tabla 7. Datos descriptivos de parámetros antropométricos y bioquímicos al inicio y término de la suplementación.

	Total		Mujeres			Hombres		
	Inicial	Final	Inicial	Final	P	Inicial	Final	P
	Media±DE	Media±DE	Media±DE	Media±DE		Media±DE	Media±DE	
Edad (años)	26.6±6.3		26.7±6.2			26.4±6.5		
Talla (cm)	164.4±8.4		159.8±5.6			172.4±6.2		
Peso (kg)	64.4±10.2	64.4±10.1	59.7±8.3	59.9±8.4	0.068 ¹	72.4±7.9	72.3±7.7	0.43 ¹
IMC (kg/cm ²)	23.7±2.6	23.8±2.6	23.4±2.7	23.5±2.7	0.012 * ²	24.4±2.4	24.4±2.4	0.75 ¹
Grasa corporal (%)	28.6±7.3	28.2±7.4	32.3±5.5	31.9±5.7	0.006 * ¹	22.2±5.4	21.4±5.5	0.015 * ¹
MLG (kg)	46.±9.1	46.3±9.1	40.2±4.6	40.5±4.7	0.001 * ¹	56.1±5.3	56.4±5.5	0.07 ¹
Cir.C (cm)	78.5±8.2	78.3±8.1	75.3±7.2	75.1±7.2	0.76 ²	83.99±6.8	83.7±6.7	0.27 ¹
TGL (mg/dL)	98±53.5	93.9±57.9	93.6±49	88.6±52.9	0.063 ²	105.7±60.0	103.2±64.96	0.17 ²
Colesterol (mg/dL)	173.2±31.8	173.7±29.3	174.9±30.5	173.2±27.9	0.4 ¹	170.2±34.0	174.5±31.88	0.15 ¹
LDL-C (mg/dL)	104.6±26.7	106.5±25.6	103.8±25.1	104.8±23.95	0.66 ²	105.9±29.4	109.4±28.2	0.18 ¹
HDL-C (mg/dL)	48.9±11.9	48.6±11.7	52.1±12.4	50.94±12.5	0.063 ²	43.3±8.5	44.5±8.7	0.095 ¹
Glucosa (mg/dL)	84.6±6.97	85.6±7.0	83.5±6.01	83.96±6.5	0.37 ¹	86.6±8.0	88.3±7.1	0.051 ¹
HbA1c (%)	5.1±0.4	5.1±0.4	5.1±0.4	5.0±0.4	0.008 * ²	5.2±0.3	5.1±0.4	0.047 * ²
Insulina (mIU/L)	7.7±11.3	7.2±7.2	7.7±12.7	6.9±5.94	0.34 ²	7.7±8.5	7.5±9.2	0.044 * ²
HOMA	1.6±2.5	1.5±1.6	1.6±2.8	1.4±1.3	0.30 ¹	1.7±2.04	1.7±2.1	0.12 ²

Abreviaturas: DE: desviación estándar, MaLG: masa libre de grasa, Cir.C: circunferencia de cintura, TGL: Triglicéridos, LDL-C: colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, HDL-C: colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad, HbA1c: hemoglobina glucosilada.

¹prueba paramétrica para muestras pareadas: T de Student

²prueba no paramétrica para muestras pareadas: Wilcoxon

*Valor de P<0.05 a dos colas

1.24 Actividades enzimáticas estimadas: desaturasa $\Delta 5$ ($D\Delta 5$), desaturasa agregada 5 ($DA\Delta 5$), desaturasa $\Delta 6$ ($D\Delta 6$), desaturasa agregada $\Delta 6$ ($DA\Delta 6$).

Al finalizar el estudio, la actividad estimada de las enzimas desaturasas estimadas presentan cambios estadísticamente significativos, como es el incremento en $D\Delta 5$ y $DA\Delta 5$, la disminución de $D\Delta 6$ en ambos sexos y muestras biológicas estudiadas y el incremento $DA\Delta 6$ eritrocitaria en mujeres.

Para evaluar si el efecto de la suplementación sobre las actividades enzimáticas es distinto por sexo, se comparó la actividad final de las enzimas; encontrando que el incremento es mayor en mujeres en la $DA\Delta 5$ eritrocitaria ($P=0.027$) que en hombres; mientras que en plasma alcanza un valor limítrofe al punto de corte de significancia estadística ($P=0.05$) (Tabla 8).

El tamaño del efecto de la suplementación sobre la estimación de la actividad enzimática es grande en ambos sexos y muestras biológicas (plasma y eritrocitos) sobre la actividad estimada de la $DA\Delta 5$; mediano en la $D\Delta 5$ plasmática de ambos sexos y en la $D\Delta 6$ plasmática en mujeres; pequeño en la $D\Delta 5$ en eritrocitos en ambos sexos, en la $D\Delta 6$ en hombres de ambas muestras biológicas y en la $DA\Delta 6$ eritrocitaria en mujeres; (Tabla 8).

Tabla 8. Actividad enzimática estimada de las enzimas desaturasas en eritrocitos y plasma al inicio y final de la intervención por sexo.

	Mujeres n=121				Hombres n= 70			
	Inicio	Final	P	d	Inicio	Final	P	d
	Media ± DE	Media ±DE			Media ±DE	Media ± DE		
DΔ5 [e]	8.6 ±2.2	9.7 ±2.5	<0.001* ¹	☉ 0.44	8.4 ± 2.1	9.1 ±2.1	<0.001* ¹	☉ 0.33
DΔ5 [p]	4.4 ± 1.7	5.6 ±2.1	<0.001* ¹	● 0.64	4.6 ± 1.5	5.5 ± 1.8	0.002* ¹	● 0.55
DAA5 [e]	3.1 ± 1.7	15.8 ±6.7	<0.001* ¹	● 2.6	3.1 ± 2.1	13.7 ± 5.3	<0.001* ¹	● 2.7
DAA5 [p]	0.9 ± 1.1	4.5 ±3.3	<0.001* ¹	● 1.5	0.8 ± 0.9	3.6 ± 2.5	<0.001* ¹	● 1.5
DΔ6 [e]	0.005±0.002	0.005 ±0.003	0.001* ¹	0.1	0.006 ± 0.004	0.005 ± 0.003	0.017* ¹	☉ 0.22
DΔ6 [p]	0.013±0.005	0.011 ±0.004	<0.001* ¹	● 0.5	0.013 ± 0.005	0.011 ± 0.004	<0.001* ¹	☉ 0.45
DAA6 [e]	1.3 ±0.2	1.4 ±0.20	0.002* ¹	☉ 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.294 ¹	0.03
DAA6 [p]	0.2 ±0.05	0.2 ±0.06	0.108 ¹	0.13	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.05	0.699 ¹	0.06

Abreviaturas: [e] eritrocitos, [p] plasma, DE desviación estándar

¹prueba no paramétrica para muestras pareadas: Wilcoxon

*Valor de P<0.05 a dos colas

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8 y ●grande >0.8

1.25 Índices obtenidos a partir de ácidos grasos en eritrocitos y en plasma.

Los índices obtenidos a partir de ácidos grasos plasmáticos y eritrocitarios presentan diferencias por sexo al inicio y al término de la suplementación en las muestras estudiadas (Tabla 9). El índice $\Omega 3$ -HS, y $\Omega 6/\Omega 3$ son diferentes entre hombres y mujeres desde el inicio del estudio, mientras que el índice ARA/EPA presenta diferencias únicamente al término de la intervención.

Al finalizar la suplementación el índice $\Omega 3$ -HS incrementa mientras que los índices ARA/EPA y $\Omega 6/\Omega 3$ disminuyen; cambios estadísticamente significativos con magnitud grande en hombres y mujeres y muestras biológicas estudiadas.

1.26 Apego a la suplementación

Como se mencionó anteriormente el índice $\Omega 3$ -HS incrementa al finalizar la suplementación, infiriendo que la muestra estudiada se apegó a la suplementación. La diferencia entre el índice inicial y final (Δ índice $\Omega 3$ -HS) nos indica la cantidad absoluta del cambio; observando que fue heterogéneo (Figura 3); se aprecia que la mayoría de los participantes tuvo un cambio positivo, excepto 4 casos que presentaron un cambio negativo. La media del cambio del índice (Δ índice $\Omega 3$ -HS) total es de 2.66%; teniendo una media de 2.83% en mujeres y 2.36% en hombres.

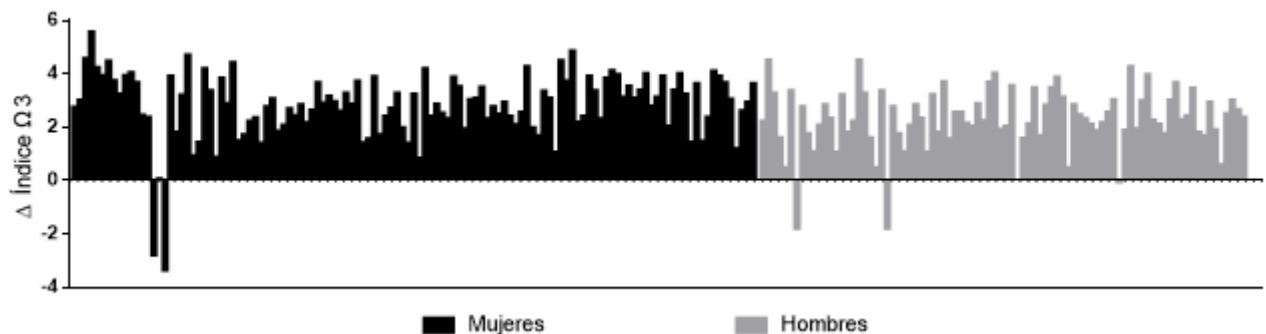


Figura 3. Apego a la suplementación de la muestra estudiada representada mediante el Δ índice $\Omega 3$ -HS en eritrocitos.

Tabla 9. Índices obtenidos a partir de ácidos grasos en plasma y eritrocitos por sexo al inicio y al final de la suplementación.

	Mujeres				Hombres				P [i]	P [f]
	Inicial	Final	P	d	Inicial	Final	P	d		
	Media±DE	Media±DE			Media±DE	Media±DE				
Índice Ω3-HS [e]	5±1.3	7.8±1.2	<0.001* ¹	●2.3	4.6±1.2	6.9±1.2	<0.001* ¹	●1.9	0.004* ²	<0.001* ²
Índice Ω3-HS [p]	2.1±1.3	5.6±2.6	<0.001* ¹	●1.7	1.9±0.97	4.6±1.9	<0.001* ¹	●1.8	0.027* ²	0.007* ²
ARA/EPA [e]	44.1±16.3	8.8±5.7	<0.001* ¹	●2.9	48.8±19.9	10.8±5.9	<0.001* ¹	●2.6	0.181 ²	<0.001* ²
ARA/EPA [p]	18.5±9.9	3.8±5	<0.001* ¹	●1.9	19.5±10.4	4.4±4.9	<0.001* ¹	●1.9	0.323 ²	0.011* ²
Ω6/Ω3 [e]	6.5±1.6	3.7±0.8	<0.001* ¹	●2.2	7.1±1.6	4.3±0.94	<0.001* ¹	●2.1	0.003* ²	<0.001* ²
Ω6/Ω3 [p]	17.6±6.3	8.1±4.5	<0.001* ¹	●2.04	18.5±4.8	9±3.5	<0.001* ¹	●2.7	0.038* ²	0.004* ²

Abreviaturas: [e] eritrocitos, [p] plasma, [i] inicial, [f] final, DE desviación estándar

¹ prueba no paramétrica para muestras pareadas: Wilcoxon

² prueba no paramétrica para muestras independientes: U de Man Whitney

*Valor de p<0.05 a dos colas

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ●grande >0.8

1.27 Frecuencias genotípicas observadas en la muestra.

Las frecuencias genotípicas de las variantes estudiadas que se observaron en la muestra estudiada se encuentran en la Tabla 10. Todas las variantes se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg con excepción del rs1800629 (*TNF α* , $P=0.01$); y la variante rs174547 (*FADS1*) cuyo valor de P fue límite ($P= 0.05$).

Tabla 10. Frecuencias genotípicas y alélicas observadas en la muestra estudiada.

Gen	rs	n	Genotipos						Alelos				
			H. alelo mayor		Heterocigoto		H. alelo menor		A. Mayor	A. Menor			
			n	%	n	%	n	%	%	%			
<i>PCSK5</i>	1029035	191	TT	71	37	TG	96	50.2	GG	24	13	T: 62	G: 38
<i>ABCA1</i>	9282541	191	GG	163	85	GA	26	13.6	AA	2	1	G: 93	A:7
<i>FADS1</i>	174537	191	TT	92	48	TG	80	41.9	GG	19	9.9	T: 69	G: 31
	174547	191	CC	49	26	CT	82	42.9	TT	60	31	C: 47	T: 53
<i>FADS2</i>	174576	191	AA	92	48	AC	76	39.8	CC	23	12	A: 68	C: 32
	361525	191	GG	164	86	GA	27	14.1	AA	0	0	G: 93	A: 7
<i>TNFα</i>	1800629	191	GG	175	92	GA	14	7.3	AA	2	1	G: 95	A: 5
	705379	191	GG	43	23	GA	93	48.7	AA	55	29	G: 47	A: 53
<i>PON1</i>	662	191	CC	55	29	CT	90	47.1	TT	46	24	C:52	T:46
	7412	191	CC	182	95	CT	9	4.7	TT	0	0	C:98	T:9.2
<i>APOE</i>	429358	191	TT	160	84	TC	30	15.7	CC	1	0.5	T:92	C:8

Abreviaturas: n: cantidad de individuos observados, H.: Homocigoto, A.: Alelo

En la tabla 11 se muestra la comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados con las reportadas en el Proyecto 1000 Genomas (172); el cual representa la diversidad genética a nivel mundial. Se identificaron diferencias significativas entre las frecuencias observadas en el presente estudio y las reportadas en las poblaciones africana, europea, asiáticos del este y sudeste para el SNP rs9282541 (*ABCA1*); con asiáticos del sudeste para el rs1029035 (*PCSK5*); con la africana en los polimorfismos rs705379 (*PON1*) y rs429358 (*APOE*); la variante rs7412 (*APOE*) es diferente de la africana y asiática del este, mientras que el rs662 es diferente comparada con las dos poblaciones anteriormente mencionadas y además, con europeos. Las variantes rs174576 (*FADS2*) y rs174537 (*FADS1*) muestran frecuencias distintas a las reportadas en africanos, europeos y asiáticos del sudeste; el rs174547 (*FADS1*) con africanos y asiáticos del sudeste. Las frecuencias de los polimorfismos rs361525 y rs1800629 (*TNF α*) fueron similares al resto de las poblaciones.

Tabla 11. Frecuencias alélicas observadas en la muestra estudiada y reportadas en distintas poblaciones de acuerdo con 1000 Genomas.

Gen	rs	Alelos	MEX	AFR	P	AMR	P	EUR	P	EAS	P	SAS	P
PCSK5	1029035	T	62	49	0.065	64	0.77	55	0.31	64	0.77	46	0.023*
		G	38	51		36		45		36		54	
ABCA1	9282541	G	93	100	0.007*	96	0.353	100	0.007*	100	0.007*	100	0.007*
		A	7	0		4		0		0		0	
FADS1	174537	T	69	2	<0.001*	59	0.141	35	<0.001*	57	0.079	16	<0.001*
		G	31	98		41		65		43		84	
FADS1	174547	C	47	2	<0.001*	59	0.09	35	0.085	43	0.489	14	<0.001*
		T	53	98		41		65		59		86	
FADS2	174576	A	68	25	<0.001*	61	0.302	36	<0.001*	57	0.109	14	<0.001*
		C	32	75		39		64		43		86	
TNF- α	361525	G	93	96	0.353	92	0.78	94	0.774	97	0.195	89	0.324
		A	7	4		8		6		3		11	
TNF- α	1800629	G	95	88	0.077	93	0.552	87	0.664	94	0.757	95	1
		A	5	12		7		6		6		5	
PON1	705379	G	47	93	<0.001*	56	0.204	51	0.572	55	0.322	59	0.09
		A	53	7		44		49		45		41	
PON1	662	C	52	75	0.001*	50	0.667	29	0.001*	67	0.046*	42	0.12
		T	46	25		50		71		33		58	
APOE	7412	C	98	90	0.017*	95	0.249	94	0.149	90	0.017*	96	0.408
		T	2	10		5		6		10		4	
APOE	429358	T	92	73	<0.001*	90	0.622	84	0.082	91	0.8	91	0.8
		C	8	27		10		16		9		9	

Abreviaturas: MEX: Mexicanos, AFR: Africanos, AMR: Amerindios, EUR: Europeas, EAS: Asiáticos del Éste, SAS: Asiáticos del Sur

1.28 Concentraciones de colesterol de alta densidad (HDL-C).

Al finalizar la suplementación las HDL-C reducen en promedio 1.17mg/dL en mujeres e incrementan en los hombres 1.23mg/dL; cambios que presentaron una tendencia a la significancia estadística: $P=0.063$ y $P=0.095$, respectivamente.

1.28.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con las HDL-C al finalizar la suplementación.

Como se mencionó en la metodología; para determinar los parámetros asociados a las HDL-C posteriores a la intervención con aceite de pescado se realizó un modelo lineal general; obteniendo que los TGL y la actividad enzimática estimada DA Δ 6 eritrocitaria se asocian de manera inversamente proporcional, y las HDL-C iniciales de manera directamente proporcional. Estos parámetros explican el 58.6% de la variación sobre las

HDL-C al finalizar la suplementación. El tamaño del efecto de los parámetros mencionados es pequeño, con excepción de las HDL-C basales, que como es esperado, es grande ($d=$) (VI Anexo Tabla 1).

1.28.2 Variantes genéticas asociadas con la concentración de HDL-C al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con las HDL-C al finalizar la intervención son rs9282541 (*ABCA1*) y rs7412+rs429358 (*APOE*). El incremento promedio observado en los individuos portadores del alelo A del rs9282541 es de 3.26 mg/dL y en los portadores del gen *APOE* de la isoforma E2 es de 7.42 mg/dL. Ambos polimorfismos presentan una magnitud del efecto pequeña (Tabla 12). Con la inclusión de las variantes genéticas, la varianza de las HDL-C explicada por el modelo se ubica entre el 0.8% -1.4%.

Tabla 12. Variantes genéticas asociadas con las concentraciones finales de HDL. Modelo General Lineal (MGL)***

SNP/GEN	Genotipo	β	p	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs9282541 [d] <i>ABCA1</i>	AA+GA GG	3.26 0 ^a	0.037*	0.31	0.55	0.594
rs7412+ rs429358 <i>APOE</i>	E2 E3 E4	7.42 -0.84 0 ^a	0.010* 0.578	0.39 0.09	0.73 0.09	0.60

***MGL ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), HDL-C inicial, y parámetros bioquímicos finales: TGL y DAΔ6 eritrocitaria

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Tamaño del efecto (d) según Cohen: 0=pequeño 0.2-0.5

La asociación estadísticamente significativa del polimorfismo rs9282541 (*ABCA1*) se pierde al evaluar las variantes genéticas simultáneamente. Bajo este abordaje, el 2.3% de la variabilidad de las HDL-C es atribuida a los polimorfismos (Tabla 13).

Tabla 13. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con las concentraciones de HDL al finalizar la intervención. Modelo Lineal General (MLG)***

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
AA+GA ABCA1 (rs9282541)	2.75	0.074	0.27	0.431
GG ABCA1 (rs9282541)	0 ^a			
E2 APOE (rs7412+rs429358)	7.08	0.014*	0.37	0.698
E3 APOE (rs7412+rs429358)	-0.67	0.654	0.06	0.073
E4 APOE (rs7412+rs429358)	0 ^a			

R² ajustada = 0.609

** MGL ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), HDL-C inicial, y parámetros bioquímicos finales: TGL y DA Δ 6 eritrocitaria

*Valor de p<0.05 a dos colas

a. Este parámetro está establecido en cero porque es redundante.

b. Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: 0 pequeño 0.2-0.5

1.29 Actividad enzimática estimada Desaturasa Δ 5 (D Δ 5).

1.29.1 Actividad enzimática estimada D Δ 5 a partir de ácidos grasos presentes en eritrocitos.

Como se mencionó anteriormente, la actividad estimada de la D Δ 5 a partir de los ácidos grasos presentes en eritrocitos incrementa al finalizar la suplementación en ambos sexos y tipos de muestras con diversos tamaños del efecto.

1.29.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada D Δ 5 en eritrocitos al finalizar la suplementación.

La actividad enzimática inicial, el apego a la suplementación y el IMC se asocian con la actividad enzimática D Δ 5 estimada eritrocitaria al finalizar la suplementación; con efecto directamente proporcional, con excepción del IMC. La magnitud del efecto de las variables es grande con excepción del IMC, cuyo efecto es pequeño. Estos parámetros explican el 85% de la varianza de la actividad enzimática D Δ 5 estimada al finalizar la intervención (VI Anexo Tabla 2).

1.29.1.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada D Δ 5 en eritrocitos al finalizar la suplementación.

Los polimorfismos asociados a la actividad enzimática son aquellos que pertenecen a los genes *FADS* (rs174537 y rs174576) con tamaño del efecto pequeño. La variabilidad de la actividad enzimática estimada explicada por las variantes genéticas oscila entre el 0.3% - 0.7%, según la variante y patrón de herencia estudiado (Tabla 14).

Los patrones de herencia asociados son el aditivo y dominante para ambas variantes; además del recesivo para el polimorfismo rs174537 (*FADS1*). El comportamiento de los genotipos de ambas variantes es aditivo, es decir, la disminución de la actividad enzimática estimada es proporcional a la cantidad de copias del alelo T en el caso del rs17437 (*FADS1*) y del alelo A en el caso del rs174576 (*FADS2*).

Tabla 14. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada D Δ 5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d'	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	-0.035	0.003*	○0.44	0.85	0.856
	TG	-0.022	0.035*	○0.31	0.56	
	GG	0 ^a				
rs174537[d] <i>FADS1</i>	GG	0.025	0.014*	○0.36	0.70	0.854
	TT+TG	0 ^a				
rs174537[r] <i>FADS1</i>	TT+TG	0.017	0.019*	○0.35	0.65	0.853
	GG	0 ^a				
rs174576[a] <i>FADS2</i>	AA	-0.031	0.001*	○0.48	0.90	0.857
	AC	-0.028	0.003*	○0.44	0.84	
	CC	0 ^a				
rs174576[d] <i>FADS2</i>	CC	0.027	0.002*	○0.45	0.86	0.856
	AA+AC	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante, [r] patrón de herencia recesivo

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), D Δ 5 inicial; la variable dependiente (Desaturasa Δ 5) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^a Parámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d') según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49

La asociación con el rs174537 (*FADS1*) se pierde al evaluar el comportamiento simultáneo de las variantes genéticas previamente mencionadas bajo el patrón de herencia aditivo; manteniéndose la asociación con el heterocigoto de la variante rs174576 (*FADS2*); este cambio podría ser atribuido a un probable efecto colineal entre las variantes (Tabla 15).

Tabla 15. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	p	d	Potencia observada ^b
AA <i>FADS2</i> (rs174576)	-0.021	0.105	⊖ 0.24	0.37
AC <i>FADS2</i> (rs174576)	-0.035	0.014*	⊖ 0.37	0.69
CC <i>FADS2</i> (rs174576)	0 ^a			

R² ajustada = 0.859

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DΔ5; la variable dependiente (Desaturasa Δ 5) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de $p < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ⊖pequeño 0.2-0.5

1.29.2 Actividad enzimática estimada DΔ5 a partir de ácidos grasos presentes en plasma.

La actividad enzimática estimada DΔ5 a partir de ácidos grasos presentes en plasma incrementa al término de la suplementación, con un tamaño del efecto grande.

1.29.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada DΔ5 en plasma al finalizar la suplementación.

La actividad enzimática plasmática estimada DΔ6 presenta asociación inversamente proporcional con la actividad DΔ5 plasmática, la HbA1c presenta una aproximación estadística, mientras que la actividad enzimática inicial e índice Ω 3-HS presentan asociación directamente proporcional a ésta. La magnitud del efecto de los parámetros es pequeña en la HbA1c, mediana en la actividad DΔ6 e índice Ω 3-HS, y grande para la actividad enzimática inicial. El modelo estadístico explica el 42.8% de la varianza de la actividad enzimática plasmática al final de la suplementación (VI Anexo Tabla 3).

1.29.2.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ5 en plasma al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ5 al término de la suplementación (Tabla 16) son aquellas que pertenecen a los genes *FADS1* y *2*

(rs174537, rs174547 y rs174576); explicando entre el 4.5% y 6.9% de la variabilidad de la actividad enzimática; fluctuación que depende del polimorfismo y patrón de herencia analizado.

La actividad enzimática estimada disminuye en presencia del homocigoto del alelo T para la variante rs174537 (*FADS1*) y homocigoto del alelo A del rs174576 (*FADS2*); mientras que el comportamiento del polimorfismo rs174547 (*FADS1*) es atípico, ya que el heterocigoto bajo el patrón de herencia aditivo se asocia con mayor actividad enzimática, mientras que bajo el patrón de herencia dominante el homocigoto CC presenta menor actividad. La magnitud del efecto de los genotipos es pequeña en los genotipos asociados bajo el patrón de herencia aditivo y dominante, y de tamaño mediano en el recesivo.

Tabla 16. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada $\Delta 5$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	-1.26	0.002*	○0.48	0.89	0.475
	TG	-0.35	0.348	0.14	0.15	
	GG	0 ^a				
rs174537[r] <i>FADS1</i>	GG+GT	0.92	<0.001*	●0.60	0.98	0.473
	TT	0 ^a				
rs174547[a] <i>FADS1</i>	TT	0.43	0.153	○0.21	0.30	0.450
	CT	0.83	0.003*	○0.45	0.85	
	CC	0 ^a				
rs174547[d] <i>FADS1</i>	CC	-0.62	0.014*	○0.37	0.69	0.444
	CT+TT	0 ^a				
rs174576[a] <i>FADS2</i>	AA	-1.08	0.002*	○0.46	0.87	0.469
	AC	-0.27	0.438	0.11	0.12	
	CC	0 ^a				
rs174576[r] <i>FADS2</i>	AC+CC	0.82	<0.001*	●0.54	0.95	0.464
	AA	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante, [r] patrón de herencia recesivo

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS) y actividad enzimática inicial

*Valor de P<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8 y ●grande >0.8

Al evaluar la contribución simultánea de los tres polimorfismos previamente mencionados bajo el patrón de herencia aditivo, las asociaciones estadísticas se pierden, efecto que es atribuido a una posible redundancia entre las variantes genéticas.

1.30 Actividad enzimática estimada Desaturasa Agregada $\Delta 5$ (DA $\Delta 5$).

1.30.1 Actividad enzimática estimada DA $\Delta 5$ en eritrocitos.

La actividad enzimática DA $\Delta 5$ estimada en eritrocitos incrementa al finalizar la suplementación, en hombre y mujeres. El tamaño del efecto de la intervención sobre ésta es grande.

1.30.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada DA $\Delta 5$ en eritrocitos al finalizar la suplementación.

Los parámetros asociados a este fenotipo explican el 62.1% de la variabilidad de la actividad enzimática definida por las concentraciones de triglicéridos, con una asociación negativa; la DA $\Delta 6$, el apego a la suplementación y la actividad enzimática DA $\Delta 5$ inicial con una asociación positiva. La magnitud del efecto que ejercen los triglicéridos y la actividad DA $\Delta 6$ estimada es pequeña mientras que el apego a la suplementación y la actividad enzimática inicial es grande (VI Anexo Tabla 4).

1.30.1.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DA $\Delta 5$ en eritrocitos al finalizar la suplementación.

Los polimorfismos asociados con la actividad enzimática DA $\Delta 5$ (Tabla 17) estimada son rs174537(*FADS1*), rs662 (*PON1*), rs7412+rs429358 (*APOE*) y rs705379 (*PON1*); este último con asociación cercana a la significancia estadística. La magnitud del efecto de los genotipos sobre la actividad enzimática es pequeña. Estos polimorfismos atribuyen entre el 0.4% al 0.8% de la variabilidad de la actividad enzimática; valor que depende de la variante y patrón de herencia analizado.

Las asociaciones de los genotipos de las variantes genéticas son atípicas ya que los heterocigotos presentan mayor (rs174537, *FADS1*) o menor (rs662, *PON1*) actividad, en contraste con los homocigotos, con excepción de la isoforma E2 del gen *APOE* que presenta menor actividad enzimática (Tabla 17).

Tabla 17. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DAΔ5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	1.60	0.109	0.24	0.36	0.629
	TG	2.39	0.015*	0.36	0.68	
	GG	0 ^a				
rs174537[d] <i>FADS1</i>	GG	-2.32	0.012*	0.38	0.71	0.632
	TG+GG	0 ^a				
rs662[a] <i>PON1</i>	CC	-0.22	0.776	0.00	0.06	0.628
	CT	-1.45	0.040*	0.31	0.54	
	TT	0 ^a				
rs705379[a] <i>PON1</i>	GG	-0.22	0.783	0.00	0.06	0.625
	GA	-1.24	0.066	0.27	0.45	
	AA	0 ^a				
rs7412+ rs429358 <i>APOE</i>	E2	-3.15	0.035*	0.31	0.56	0.626
E3	-0.61	0.439	0.11	0.12		
E4	0 ^a					

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3), actividad enzimática estimada inicial DAΔ5 y parámetros bioquímicos finales: triglicéridos y DAΔ6

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: 0 pequeño 0.2-0.49

Los polimorfismos previamente identificados al ser analizados simultáneamente bajo el patrón de herencia aditivo mantienen las asociaciones previamente descritas. Bajo este abordaje se explica el 65.1% de la variabilidad de la actividad enzimática, del cual, el 3% corresponde al componente genético (Tabla 18).

Tabla 18 Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
TT <i>FADS1</i> (rs174537)	1.64	0.096	0.26	0.38
TG <i>FADS1</i> (rs174537)	2.67	0.007*	☉ 0.41	0.78
GG <i>FADS1</i> (rs174537)	0 ^a			
GG <i>PON1</i> (rs705379)	-0.19	0.807	0.00	0.06
GA <i>PON1</i> (rs705379)	-1.29	0.048*	☉ 0.30	0.51
AA <i>PON1</i> (rs705379)	0 ^a			
CC <i>PON1</i> (rs662)	-0.61	0.434	0.13	0.12
CT <i>PON1</i> (rs662)	-1.73	0.014*	☉ 0.38	0.70
TT <i>PON1</i> (rs662)	0 ^a			
E2 <i>APOE</i> (rs7412+rs429358)	-3.20	0.027*	☉ 0.34	0.60
E3 <i>APOE</i> (rs7412+rs429358)	-0.36	0.634	0.06	0.08
E4 <i>APOE</i> (rs7412+rs429358)	0 ^a			

R² ajustada = 0.651

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 5 y parámetros bioquímicos finales: TGL, y DA Δ 6

*Valor de P<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

1.30.2 Actividad enzimática estimada Desaturasa Agregada Δ 5 (DA Δ 5) en plasma.

La actividad enzimática DA Δ 5 estimada a partir de ácidos grasos presentes en plasma incrementa al finalizar la suplementación en ambos sexos; cambio que se considera grande de acuerdo con la d de Cohen.

1.30.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con actividad enzimática estimada DA Δ 5 al finalizar la suplementación en plasma.

Los TGL se asocian de manera inversa con la actividad enzimática DA Δ 5 y el apego a la suplementación, por el contrario, de manera directamente proporcional. La magnitud del efecto de los TGL es mediana mientras que el apego a la suplementación es pequeña; estos fenotipos explican únicamente el 13.1% de la variabilidad de la actividad enzimática (VI Anexo Tabla 5).

1.30.2.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 5 en plasma al finalizar la suplementación.

La única variante genética asociada con la actividad enzimática es rs662 (*PON1*), con tamaño del efecto pequeño. El heterocigoto, bajo el patrón de herencia aditivo, presenta menor actividad enzimática en comparación con los homocigotos; mientras que, en el patrón de herencia dominante, los portadores del alelo C se asocian con mayor actividad enzimática (Tabla 19). La variabilidad de la actividad enzimática explicada por este polimorfismo es del 3.8%.

Tabla 19. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 5 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs662 [a] <i>PON1</i>	TT	-0.247	0.062	○0.28	0.46	0.169
	CT	-0.364	0.002*	○0.48	0.89	
	CC	0 ^a				
rs662 [d] <i>PON1</i>	CC+CT	0.324	0.002*	○0.45	0.86	0.169
	TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA5 y parámetro bioquímico final: triglicéridos. La variable dependiente (DA Δ 5) se convirtió a raíz cuadrada

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49

1.31 Actividad enzimática estimada Desaturasa Δ 6 (D Δ 6).

1.31.1 Actividad enzimática estimada D Δ 6 a partir de ácidos grasos presentes en eritrocitos.

La actividad enzimática D Δ 6 se reduce al final de la intervención en ambos sexos; a pesar de que estos cambios son estadísticamente significativos, el tamaño del efecto varía según el sexo.

1.31.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada DΔ6 en eritrocitos al finalizar la suplementación.

La actividad enzimática estimada inicial es el único parámetro asociado, con efecto directamente proporcional y magnitud mediana. El IMC, sexo, edad y apego a la suplementación no presentan asociación; sin embargo, los dos últimos presentan un tamaño del efecto pequeño. Este modelo estadístico explica el 11.5% de la variabilidad enzimática (VI Anexo Tabla 6).

1.31.1.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ6 en eritrocitos al finalizar la suplementación.

El único polimorfismo asociado con la actividad enzimática DΔ6 es el rs174537 (*FADS1*); con tamaño del efecto pequeño. Los homocigotos TT bajo el patrón de herencia aditivo presentan menor actividad enzimática (Tabla 20). Esta variante explica el 1.2% de la variabilidad de este fenotipo.

Tabla 20. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo y dominante) asociadas con la actividad enzimática estimada DΔ6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	-0.11	0.04*	⊖0.31	0.55	0.127
	TG	-0.08	0.14	⊖0.22	0.32	
	GG	0 ^a				
rs174537[d] <i>FADS1</i>	GG	0.092	0.063	⊖0.28	0.460	0.127
	TG+TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω3-HS), actividad enzimática estimada inicial DΔ5; la variable dependiente (DΔ6) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ⊖pequeño 0.2-0.49

1.31.2 Actividad enzimática estimada D Δ 6 a partir de ácidos grasos presentes en plasma.

La actividad enzimática D Δ 6 estimada disminuye al término de la suplementación en ambos sexos.

1.31.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada D Δ 6 en plasma al finalizar la suplementación.

El modelo analizado explica el 35.2% de la variabilidad de la actividad enzimática (VI Anexo Tabla 7). La asociación de la actividad enzimática DA Δ 5 y apego a la suplementación es inversamente proporcional, mientras que la actividad enzimática inicial es directamente proporcional con la actividad D Δ 6. La magnitud del efecto es pequeña para el apego a la suplementación, mediana para la actividad D Δ 5 y grande para la actividad enzimática inicial.

1.31.2.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada D Δ 6 en plasma al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática son aquellas que se encuentran en los genes *FADS* (rs174537, rs174547, rs174576) y *PON1* (rs705379) (Tabla 21). Dependiendo de la variante genética y el patrón de herencia estudiado, el componente genético es responsable del 1.1% al 8.2% de la varianza de la actividad enzimática.

La magnitud del efecto de los genotipos asociados es pequeña en los polimorfismos rs174547 (*FADS1*), rs705379 (*PON1*) y rs174537 (*FADS1*) bajo el patrón de herencia dominante; mediana en el rs174576 (*FADS2*) y el rs174537 (*FADS1*) bajo el patrón de herencia aditivo y recesivo.

La actividad enzimática estimada es menor en los homocigotos del alelo T del rs174537 (*FADS1*) bajo el patrón de herencia aditivo; y homocigotos CC del rs174547 (*FADS1*) bajo el patrón de herencia recesivo. Para el resto de las variantes genéticas (rs174547, rs174576 y rs705379) el comportamiento es peculiar ya que los heterocigotos, bajo el patrón de herencia aditivo, presentan mayor actividad enzimática en comparación con los homocigotos; y en el polimorfismo rs174576 (*FADS2*) el incremento de actividad se presenta en portadores del alelo C bajo el patrón de herencia recesivo.

Tabla 21 Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada $D\Delta 6$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	-0.015	<0.001*	● 0.58	0.97	0.434
	TG	-0.004	0.263	○ 0.17	0.20	
	GG	0 ^a				
rs174537[d] <i>FADS1</i>	GG	0.007	0.042*	○ 0.30	0.53	0.363
	TG+TT	0 ^a				
rs174537[r] <i>FADS1</i>	GG+TG	0.011	<0.001*	● 0.74	1.00	0.426
	TT	0 ^a				
rs174547[a] <i>FADS1</i>	CC	-0.001	0.742	○ 0.06	0.06	0.380
	CT	0.007	0.011*	○ 0.38	0.73	
	TT	0 ^a				
rs174547[d] <i>FADS1</i>	CC	-0.005	0.039*	○ 0.31	0.54	0.364
	CT+TT	0 ^a				
rs174576[a] <i>FADS2</i>	CC	0.005	0.126	○ 0.23	0.33	0.395
	AC	0.009	<0.001*	● 0.57	0.97	
	AA	0 ^a				
rs174576[r] <i>FADS2</i>	CC+AC	0.008	<0.001*	● 0.57	0.97	0.397
	AA	0 ^a				
rs705379[a] <i>PON1</i>	GG	0.000	0.873	○ 0.00	0.05	0.376
	GA	0.006	0.016*	○ 0.36	0.68	
	AA	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante, [r] patrón de herencia recesivo
 **MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS), actividad enzimática estimada inicial $D\Delta 6[i]$ y parámetros finales: $D\Delta 5$; la variable dependiente ($D\Delta 6$) se convirtió a raíz cuadrada: $\sqrt{D\Delta 6}$

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

Cuando los polimorfismos previamente identificados se analizan simultáneamente bajo el patrón de herencia aditivo, permanecen las asociaciones y tamaños del efecto en las variantes rs705379 (*PON1*) y rs174537 (*FADS1*), mientras que se pierde la asociación significativa en el resto de los polimorfismos. Bajo este abordaje el porcentaje de la varianza de la actividad enzimática explicada es del 45.2%, del cual el 10% corresponde a los polimorfismos (Tabla 22).

Tabla 22. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada $D\Delta 6$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
TT <i>FADS1</i> (rs174537)	-0.019	<0.001*	● 0.57	0.97
TG <i>FADS1</i> (rs174537)	-0.006	0.436	○ 0.11	0.12
GG <i>FADS1</i> (rs174537)	0 ^a			
GG <i>PON1</i> (rs705379)	0.001	0.693	○ 0.06	0.07
GA <i>PON1</i> (rs705379)	0.006	0.010*	● 0.39	0.73
AA <i>PON1</i> (rs705379)	0 ^a			

R² ajustada = 0.452

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS), actividad enzimática estimada inicial $D\Delta 6[i]$ y parámetros finales: $D\Delta 5$. La variable dependiente ($D\Delta 6$) se convirtió a raíz cuadrada: $\sqrt{D\Delta 6}$

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

1.32 Actividad enzimática estimada Desaturasa Agregada $\Delta 6$ ($DA\Delta 6$).

1.32.1 Actividad enzimática estimada $DA\Delta 6$ a partir de ácidos grasos en eritrocitos.

La actividad enzimática $DA\Delta 6$ estimada en eritrocitos incrementa al finalizar la intervención, cambio con tamaño del efecto pequeño y es estadísticamente significativo únicamente en mujeres.

1.32.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada $DA\Delta 6$ en eritrocitos al finalizar la suplementación.

La actividad enzimática $DA\Delta 5$ y la actividad inicial presentan asociación directamente proporcional, sus tamaños del efecto es grande y pequeño respectivamente. Las concentraciones de glucosa e IMC presentan asociación con tendencia a la significancia estadística ($P=0.06$, $P=0.054$). Estos parámetros son responsables del 58.6% de la variabilidad de la estimación de la actividad enzimática $DA\Delta 6$ al término de la suplementación (VI Anexo Tabla 8).

1.32.1.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 en eritrocitos al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con la DA Δ 6 estimada son rs1029035 (*PCSK5*) y rs174576 (*FADS2*); con tamaño del efecto pequeño. Los patrones de herencia asociados son el aditivo y recesivo para el polimorfismo rs1029035 (*PCSK5*) y el dominante para el rs174576 (*FADS2*); el patrón aditivo de este último no alcanza significancia estadística (Tabla 23). Dependiendo del polimorfismo y patrón de herencia estudiado, la variabilidad de la actividad enzimática es explicada entre el 0.4% y 0.9%.

Tabla 23. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs1029035[a] <i>PCSK5</i>	GG	0.004	0.651	0.06	0.07	0.596
	TG	0.015	0.017*	☉0.36	0.67	
	TT	0 ^a				
rs1029035[r] <i>PCSK5</i>	GG+TG	0.013	0.032*	☉0.32	0.57	0.595
	TT	0 ^a				
rs174576[a] <i>FADS2</i>	AA	-0.017	0.065	☉0.28	0.46	0.591
	AC	-0.016	0.100	☉0.25	0.38	
	CC	0 ^a				
rs174576[d] <i>FADS2</i>	CC AC+AA	0.017 0 ^a	0.042*	☉0.31	0.53	0.594

Abreviaturas: D [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante, [r] patrón de herencia recesivo

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 6[i], parámetros finales: glucosa y DA Δ 5; la variable dependiente (DA Δ 6) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^a Parámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

En el rs1029035 (*PCSK5*) los heterocigotos bajo el patrón de herencia aditivo presentan mayor actividad enzimática en comparación con los homocigotos; mientras que en el patrón de herencia recesivo son los portadores del alelo G. En la variante rs174576 (*FADS2*) los homocigotos CC, bajo el patrón de herencia dominante, son los que presentan mayor actividad enzimática (Tabla 21).

Al evaluarse las variantes genéticas previamente mencionadas bajo el patrón de herencia aditivo de manera simultánea, la asociación y el tamaño del efecto se mantienen. Bajo este

abordaje, se explica el 60.1% de la varianza de la actividad enzimática; del cual, el 1.5% es atribuido por los polimorfismos (Tabla 24).

Tabla 24. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
AA FADS2 (rs174576)	-0.017	0.060	☉ 0.29	0.468
AC FADS2 (rs174576)	-0.017	0.066	☉ 0.28	0.453
CC FADS2 (rs174576)	0 ^a			
GG PCSK5 (rs1029035)	0.004	0.637	0.06	0.076
TG PCSK5 (rs1029035)	0.015	0.014*	☉ 0.28	0.696
TT PCSK5 (rs1029035)	0 ^a			

R² ajustada = 0.601

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 6[i], parámetros finales: glucosa y DA Δ 5; la variable dependiente (DA Δ 6) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

1.32.2 Actividad enzimática estimada DA Δ 6 a partir de ácidos grasos en plasma.

La estimación de la actividad enzimática de DA Δ 6 a partir de ácidos grasos presentes en plasma disminuye al finalizar la intervención; sin embargo, este cambio que no es estadísticamente significativo. El tamaño del efecto de la suplementación sobre la actividad enzimática DA Δ 6 estimada presenta una amplia variación predominando el efecto nulo.

1.32.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 en plasma al finalizar la suplementación.

Los parámetros asociados con la actividad DA Δ 6 plasmática al finalizar la intervención son: la actividad enzimática DA Δ 5, y la actividad DA Δ 6 inicial; ambos con asociación directamente proporcional y magnitud del efecto grande; y el apego a la suplementación con asociación inversamente proporcional y magnitud pequeña. Estos parámetros explican el 52.3% de la variabilidad de la actividad DA Δ 6 estimada al término del estudio (VI Anexo Tabla 9).

1.32.2.2 Variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 en plasma al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con la actividad enzimática son aquellas que pertenecen a los genes *FADS*: rs174547, rs174537 (*FADS1*), rs174576 (*FADS2*); con magnitud del efecto pequeña (Tabla 25). Siendo responsables del 1% al 2.4% de la varianza de la actividad enzimática, fluctuación que depende del polimorfismo y patrón de herencia analizado. El comportamiento de los genotipos de los polimorfismos estudiados es aditivo; es decir, la disminución de la actividad enzimática es proporcional al número de copias de los alelos T para el rs174537 (*FADS1*), del alelo A para el rs174576 (*FADS2*) y del alelo C para el rs174547 (*FADS1*); todos ellos bajo el patrón de herencia aditivo.

Tabla 25. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	-0.022	0.050	☉ 0.29	0.50	0.533
	TG	-0.008	0.478	0.11	0.11	
	GG	0 ^a				
rs174537[r] <i>FADS1</i>	GG+TG	0.015	0.021*	☉ 0.35	0.64	0.534
	TT	0 ^a				
rs174576[a] <i>FADS2</i>	AA	-0.033	0.001*	☉ 0.49	0.90	0.547
	AC	-0.018	0.072	☉ 0.27	0.44	
	CC	0 ^a				
rs174576[d] <i>FADS2</i>	CC	0.021	0.024*	☉ 0.34	0.62	0.533
	AC+AA	0 ^a				
rs174576[r] <i>FADS2</i>	CC+AC	0.017	0.008*	☉ 0.40	0.76	0.538
	AA	0 ^a				
rs174547[a] <i>FADS1</i>	CC	-0.024	0.004*	☉ 0.43	0.83	0.544
	CT	-0.002	0.767	0.00	0.06	
	TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante, [r] patrón de herencia recesivo

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 6[i], parámetros finales: DA Δ 5; la variable dependiente (DA Δ 6) se convirtió a raíz cuadrada

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

El efecto grupal de los polimorfismos previamente identificados bajo el patrón de herencia aditivo cambia ligeramente en el SNP rs174576 (*FADS2*); además de la asociación con el

homocigoto se asocia el heterocigoto, y el tamaño del efecto incrementa de pequeño a mediano para el homocigoto. En este modelo la varianza de la actividad enzimática explicada por los parámetros asciende al 56.6%, del cual el 4.3% es atribuible al componente genético (Tabla 26).

Tabla 26. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d'	Potencia observada ^b
AA <i>FADS2</i> (rs174576)	-0.033	0.001*	● 0.50	0.91
AC <i>FADS2</i> (rs174576)	-0.028	0.047*	○ 0.30	0.51
CC <i>FADS2</i> (rs174576)	0 ^a			
CC <i>FADS1</i> (rs174547)	-0.024	0.003*	○ 0.44	0.84
CT <i>FADS1</i> (rs174547)	0.000	0.995	0.00	0.05
TT <i>FADS1</i> (rs174547)	0 ^a			

R² ajustada = 0.566

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 6[i], parámetros finales: DA Δ 5; la variable dependiente (DA Δ 6) se convirtió a raíz cuadrada

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d') según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

1.33 Índice Ω 3-HS.

1.33.1 Índice Ω 3-HS en eritrocitos.

El tamaño del efecto de la suplementación sobre el índice Ω 3-HS es grande, ya que incrementa en promedio el 2.82% en mujeres y 2.36% en hombres al finalizar la suplementación.

1.33.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice Ω 3-HS al finalizar la suplementación en eritrocitos.

Las concentraciones de HDL-C y TGL se asocian de manera inversa con el índice Ω 3-HS tras la suplementación, mientras que el IMC y el índice Ω 3-HS inicial se asocian de manera directamente proporcional, además, las mujeres presentan mayor índice. Estos parámetros explican el 43.3% de la varianza del índice Ω 3-HS (VI Anexo Tabla 10).

1.33.1.2 Variantes genéticas asociadas con el índice Ω3-HS eritrocitaria al finalizar la suplementación.

Ninguna variante genética estudiada presentó asociación con el índice Ω3-HS, únicamente se presentaron efectos que se aproximan a la significancia estadística en los polimorfismos localizados en el gen *FADS1* (rs174537 y rs174547), polimorfismos que mantienen el comportamiento al ser evaluados de forma simultánea (Tabla 27).

Tabla 27. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice Ω3-HS eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
TT <i>FADS1</i> (rs174537)	0.061	0.803	0.00	0.06
TG <i>FADS1</i> (rs174537)	0.972	0.089	⊙ 0.26	0.40
GG <i>FADS1</i> (rs174537)	0 ^a			
CC <i>FADS1</i> (rs174547)	-0.015	0.935	0.00	0.05
CT <i>FADS1</i> (rs174547)	-0.896	0.090	⊙ 0.26	0.40
TT <i>FADS1</i> (rs174547)	0 ^a			

R² ajustada = 0.43

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice Ω3-HS[i]) y parámetros finales: triglicéridos y HDL-C,

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ⊙pequeño 0.2-0.49

1.33.2 Índice Ω3-HS en plasma.

El índice Ω3-HS incrementa al finalizar la suplementación; cambio que es constante por sexo. La magnitud del efecto de la suplementación sobre el índice Ω3-HS es grande.

1.33.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice Ω3-HS al finalizar la suplementación en plasma.

Los parámetros asociados al índice Ω3-HS plasmático son sexo, concentraciones de TGL, LDL-C e índice inicial. Las concentraciones de LDL-C y el índice Ω3-HS inicial se asocian de una forma directamente proporcional, mientras que con los TGL es inversamente proporcional; además, las mujeres presentan mayor índice. El 20.3% de la varianza del índice Ω3-HS plasmático es explicada por estos parámetros (VI Anexo Tabla 11).

1.33.2.2 Variantes genéticas asociadas con el índice Ω 3-HS plasmático al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con el índice Ω 3-HS son rs662 (*PON1*) y rs1029035 (*PCSK5*), bajo los patrones de herencia aditivo y dominante. Dependiendo del polimorfismo y patrón de herencia analizado se explica entre el 1.8%-3.7% de la variabilidad del índice Ω 3-HS postsuplementación (Tabla 28).

El comportamiento de los genotipos del polimorfismo rs1029035 (*PCSK5*) es aditivo, de tal forma que el aumento de la actividad enzimática es proporcional al número de copias del alelo T; mientras que en el polimorfismo rs662 (*PON1*) ocurre en los homocigotos del alelo C.

Tabla 28. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice Ω 3-HS plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs1029035[a] <i>PCSK5</i>	TT	0.235	0.035*	☉ 0.31	0.56	0.221
	TG	0.262	0.015*	☉ 0.36	0.69	
	GG	0 ^a				
rs1029035[d] <i>PCSK5</i>	GG	-0.251	0.015*	☉ 0.36	0.69	0.225
	TG+TT	0 ^a				
rs662[a] <i>PON1</i>	CC	0.191	0.037*	☉ 0.31	0.55	0.237
	CT	-0.057	0.499	0.11	0.10	
	TT	0 ^a				
rs662[d] <i>PON1</i>	CC	0.228	0.002*	☉ 0.46	0.87	0.240
	CT+TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice Ω 3-HS[i]) y parámetros finales: TGL, LDL-C.

La variable dependiente se convirtió a raíz cuadrada.

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

Cuando las variantes genéticas previamente identificadas son evaluadas simultáneamente bajo el patrón de herencia aditivo cambian las asociaciones, de tal forma que permanece únicamente la asociación con el heterocigoto del rs1029035 (*PCSK5*). Este modelo explica el 24.9% de la variabilidad del índice Ω 3-HS, del cual el 4.6% corresponde a los polimorfismos (Tabla 29).

Tabla 29. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice Ω 3-HS plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
TT <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0.198	0.073	0.27	0.44
TG <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0.227	0.032*	0.32	0.58
GG <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0 ^a			
CC <i>PON1</i> (rs662)	0.178	0.051	0.29	0.50
CT <i>PON1</i> (rs662)	-0.050	0.553	0.09	0.09
TT <i>PON1</i> (rs662)	0 ^a			

R² ajustada = 0.249.

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice Ω 3-HS[i]) y parámetros finales:TGL, LDL-C.

La variable dependiente se convirtió a raíz cuadrada.

*Valor de P<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: 0.2-0.49

1.34 Índice ARA/EPA.

1.34.1 Índice ARA/EPA en eritrocitos.

El índice ARA/EPA disminuye al finalizar la suplementación en ambos grupos de sexo. El efecto de la suplementación sobre este fenotipo es grande en toda la muestra estudiada.

1.34.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación.

Las HDL-C, TGL y sexo presentan asociaciones estadísticamente significativas y las concentraciones de LDL-C una tendencia estadística. En este modelo estadístico se efectuó la conversión del índice ARA/EPA a su valor inverso; por lo que la interpretación del efecto (β) es opuesta al obtenido, de tal forma que el efecto de las HDL-C y TGL es directamente proporcional, y las mujeres presentan menor índice. El tamaño del efecto de las LDL-C y HDL-C es pequeño, mientras que el sexo y TGL tienen efecto mediano. Estos parámetros explican el 16% de la variabilidad del índice al finalizar la suplementación (VI Anexo Tabla 12).

1.34.1.2 Variantes genéticas asociadas con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación.

Los polimorfismos asociados con el índice ARA/EPA son rs174537 (*FADS1*) y rs7412+rs4293588 (*APOE*); con tamaños del efecto pequeños (Tabla 30); explicando entre el 0.5% y 1.6% de la variabilidad del índice ARA/EPA, fluctuación que depende de la

variante genética y patrón de herencia estudiado. Los individuos que presentan menor índice ARA/EPA son los homocigotos GG de la variante rs174537 (*FADS1*) bajo el patrón de herencia dominante y con la isoforma ApoE3 del rs7412+429358.

Tabla 30. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs174537[a] <i>FADS1</i>	TT	0.020	0.059	☉ 0.29	0.47	0.167
	TG	0.016	0.124	☉ 0.23	0.34	
	GG	0 ^a				
rs174537[d] <i>FADS1</i>	GG	-0.021	0.034*	☉ 0.32	0.57	0.176
	TT+TG	0 ^a				
rs429358+ rs7412 <i>APOE</i>	E2	-0.008	0.632	0.06	0.08	0.17
	E3	-0.017	0.043*	☉ 0.30	0.53	
	E4	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice ARA/EPA[i] y parámetros finales: TGL, HDL-C, LDL-C. La variable dependiente se convirtió a inversa: $\frac{1}{(ARA/EPA)}$

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

Las asociaciones de las variantes genéticas bajo el patrón de herencia aditivo previamente mencionadas pierden significancia al analizarse de manera simultánea (Tabla 31).

Tabla 31. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
TT <i>FADS1</i> (rs174537)	0.018	0.096	☉0.25	0.32
TG <i>FADS1</i> (rs174537)	0.014	0.180	☉0.20	0.20
GG <i>FADS1</i> (rs174537)	0 ^a			
E2 <i>APOE</i> (rs429358+rs7412)	-0.008	0.602	0.09	0.09
E3 <i>APOE</i> (rs429358+rs7412)	-0.016	0.065	☉0.28	0.47
E4 <i>APOE</i> (rs429358+rs7412)	0 ^a			

R² ajustada = 0.174

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice ARA/EPA[i] y parámetros finales: TGL, HDL-C, LDL-C. La variable dependiente se convirtió a inversa: $\frac{1}{(ARA/EPA)}$

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^a Parámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

1.34.2 Índice ARA/EPA plasmático.

El índice ARA/EPA disminuye al finalizar la suplementación en ambos sexos. El tamaño del efecto de la suplementación es grande en la población estudiada.

1.34.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice ARA/EPA plasmático al finalizar la suplementación.

Los TGL, sexo e IMC se asocian al índice ARA/EPA; con magnitud del efecto pequeña. Dado que el índice ARA/EPA se transformó a su valor inverso para el análisis estadístico, la interpretación del efecto (β) es opuesto al obtenido; de tal forma que la asociación con los TGL es directamente proporcional, el IMC es inversamente proporcional y las mujeres presentan menor índice ARA/EPA; explicando el 5.3% de la variabilidad del índice ARA/EPA plasmático (VI Anexo Tabla 13).

1.34.2.2 Variantes genéticas asociadas con el índice ARA/EPA plasmático al finalizar la suplementación.

La variante genética rs662 (*PON1*) es el único polimorfismo asociado con el índice ARA/EPA al término de la suplementación; su tamaño del efecto es pequeño. Los homocigotos del alelo C presentan menor índice; tanto en el patrón de herencia aditivo y dominante; explicando entre el 4.1% y 4.5% de la variabilidad del índice ARA/EPA (Tabla 32).

Tabla 32. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice ARA/EPA plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	P	d	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs662[a] <i>PON1</i>	CC	0.093	0.016*	☉ 0.36	0.68	0.094
	CT	-0.007	0.838	0.00	0.05	
	TT	0 ^a				
rs662[d] <i>PON1</i>	CC	0.098	0.002*	☉ 0.47	0.89	0.098
	CT+TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice ARA/EPA[i] y parámetros finales: TGL. La variable dependiente se convirtió a raíz cuadrada y posteriormente se obtuvo su inversa: $\frac{1}{\sqrt{\text{ARA/EPA}}}$

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

1.35 Índice $\Omega 6/\Omega 3$.

1.35.1 Índice $\Omega 6/\Omega 3$ en eritrocitos.

El índice $\Omega 6/\Omega 3$ disminuye al finalizar la intervención en toda la muestra; el tamaño del efecto de la suplementación sobre el índice $\Omega 6/\Omega 3$ es grande.

1.35.1.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ eritrocitario al finalizar la suplementación.

Las HDL-C, TGL, el índice inicial, IMC y sexo se asocian con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ final. Esta variable también fue transformada a su valor inverso, por lo tanto, la interpretación del efecto (β) es opuesto al observado; la asociación con TGL, HDL-C e índice inicial es directamente proporcional, mientras que con el IMC es inversamente proporcional; además, las mujeres presentan un índice menor. El tamaño del efecto del IMC y HDL-C es pequeño, mediano para TGL y sexo, y grande para el índice inicial. El 39.4% de la variabilidad del índice al término de la suplementación es explicada por este modelo (VI Anexo Tabla 14).

1.35.1.2 Variantes genéticas asociadas con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ eritrocitario al finalizar la suplementación.

Ninguna variante genética estudiada presenta asociación con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ en eritrocitos al término de la suplementación.

1.35.2 Índice $\Omega 6/\Omega 3$ en plasma.

Al finalizar la suplementación con aceite de pescado el índice $\Omega 6/\Omega 3$ plasmático disminuye, en hombres y mujeres, con magnitud del efecto grande.

1.35.2.1 Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ plasmático al finalizar la suplementación.

Los parámetros asociados con el índice plasmático final son las LDL-C, el índice inicial y sexo. Dada la transformación del índice $\Omega 6/\Omega 3$ a su valor inverso para el análisis estadístico; la interpretación del efecto (β) es opuesto al obtenido; de tal forma que la asociación de las LDL-C es inversamente proporcional, el índice inicial directamente proporcional y las mujeres presentan menor índice. El tamaño del efecto de las LDL-C y

sexo es pequeño, mientras que para el índice inicial es grande. Estos parámetros explican el 17.9% de la variabilidad del índice Ω_6/Ω_3 plasmático (VI Anexo Tabla 15).

1.35.2.2 Variantes genéticas asociadas con el índice Ω_6/Ω_3 plasmático al finalizar la suplementación.

Las variantes genéticas asociadas con el índice Ω_6/Ω_3 son rs1029035 (*PCSK5*) y rs662 (*PON1*); con tamaño del efecto pequeño. La variabilidad del índice Ω_6/Ω_3 explicada por el componente genético oscila entre los valores de 0.9% y 3.2%, dependiendo del polimorfismo y patrón de herencia analizado.

Los genotipos del rs1029035 (*PCSK5*) presentan menor índice en presencia del alelo T; disminución que no es proporcional a la cantidad de copias de alelos. En cambio, el comportamiento de los genotipos del polimorfismo rs662 (*PON1*) es peculiar ya que los heterocigotos presentan mayor índice en comparación con los homocigotos (Tabla 33).

Tabla 33. Variantes genéticas con los patrones de herencia (aditivo, dominante y recesivo) asociadas con el índice Ω_6/Ω_3 plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

SNP/GEN	Genotipo	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b	R ² ajustada
rs1029035[a] <i>PCSK5</i>	TT	0.040	0.015*	○ 0.36	0.69	0.208
	TG	0.046	0.004*	○ 0.43	0.84	
	GG	0 ^a				
rs1029035[d] <i>PCSK5</i>	GG	-0.043	0.004*	○ 0.43	0.83	0.211
	TG+TT	0 ^a				
rs662[a] <i>PON1</i>	TT	-0.016	0.252	0.17	0.21	0.188
	CT	-0.024	0.044*	○ 0.30	0.52	
	CC	0 ^a				
rs662[d] <i>PON1</i>	CC	0.021	0.057	○ 0.29	0.48	0.190
	CT+TT	0 ^a				

Abreviaturas: [a] patrón de herencia aditivo, [d] patrón de herencia dominante

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial Ω_6/Ω_3 [i]; parámetros finales: LDL. La variable dependiente (Ω_6/Ω_3) se convirtió a inversa y se obtuvo raíz cuadrada: $\sqrt{\frac{1}{(\Omega_6/\Omega_3)}}$

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49

Al analizar los polimorfismos previamente identificados bajo el patrón de herencia aditivo de manera simultánea, únicamente se mantiene la asociación con el rs1029035 (*PCSK5*). En este abordaje la variabilidad del índice $\Omega6/\Omega3$ atribuida al componente genético es del 3.2% (Tabla 34).

Tabla 34. Variantes genéticas con el patrón de herencia aditivo asociadas con el índice $\Omega6/\Omega3$ plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
TT <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0.036	0.029*	☉ 0.33	0.59
TG <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0.042	0.007*	☉ 0.40	0.77
GG <i>PCSK5</i> (rs1029035)	0 ^a			
TT <i>PON1</i> (rs662)	-0.013	0.351	0.14	0.15
CT <i>PON1</i> (rs662)	-0.020	0.097	☉ 0.25	0.38
CC <i>PON1</i> (rs662)	0 ^a			

R² ajustada = 0.211.

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial $\Omega6/\Omega3$ [i]; parámetros finales: LDL. La variable dependiente ($\Omega6/\Omega3$) se convirtió a inversa y se sacó raíz cuadrada: $\sqrt{\frac{1}{(\Omega6/\Omega3)}}$

*Valor de $P < 0.05$ a dos colas

^aParámetro de referencia, establecido como 0

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los efectos de los AGPI-CL $\Omega3$ sobre los fenotipos relacionados con enfermedades metabólicas han sido ampliamente estudiados; sin embargo, debido a los diferentes resultados obtenidos(155-161), existen controversias sobre el efecto de su uso. En el presente estudio los efectos de la suplementación con aceite de pescado se muestran en varios de los fenotipos estudiados, con algunas diferencias entre los grupos por sexo. Los cambios en los parámetros bioquímicos y antropométricos sugieren una disminución muy discreta en la grasa corporal, así como la disminución estadísticamente significativa de los triglicéridos y efectos en indicadores del metabolismo de la glucosa representados por los cambios en la insulina en ayuno, índice HOMA y la HbA1c. Este conjunto de hallazgos sugiere que, en general, hay un aumento de la sensibilidad a la insulina. Un posible mecanismo que explica el cambio en las concentraciones de insulina en ayuno es que, los ácidos grasos al ser incorporados a las membranas celulares afectan su permeabilidad y propiedades funcionales, así como de algunas moléculas que se encuentran en estas (62); modificando la señalización de la insulina y las afinidades de unión a su receptor. Además, los AGPI-CL pueden servir como reguladores de factores de transcripción, como la proteína

de unión a elementos reguladores de esteroides 1 (SREBP1) y los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) que regulan la actividad de genes involucrados en la lipogénesis, la oxidación y homeostasis de ácidos grasos y colesterol (174, 175).

Con relación al mecanismo subyacente a la reducción de triglicéridos, se sabe que los AGPI-CL Ω 3 previenen e invierten rápidamente la hipertrigliceridemia inducida por carbohidratos; y en estudios cinéticos se ha demostrado que el aceite de pescado aumenta la tasa catabólica fraccional de VLDL (62); resultando en disminución de triglicéridos séricos. Además, participan en la interacción con los receptores PPAR α , que regulan la expresión de genes involucrados en la producción de partículas de HDL y en la oxidación de ácidos grasos (174, 176, 177). Por otra parte, los AGPI inhiben la expresión y activación del factor de transcripción SREBP1c, que regula la expresión de genes lipogénicos; por lo tanto, se activa la oxidación de lípidos y disminuye la síntesis de éstos (174).

Con respecto a la variación genética estudiada, es importante mencionar que las frecuencias genéticas y alélicas observadas del SNP rs662 y rs705379 (*PON1*) son similares a las reportadas en estudios previos realizados en mexicanos jóvenes y niños de la ciudad de México (178), niños residentes de Morelos (179), San Luis Potosí, Querétaro, Tijuana y Guanajuato. Las frecuencias de las variantes rs361525 y rs1800629 (*TNFA*) también coinciden con las reportadas en jaliscienses (180) y en mexicanos mestizos (181); así como del SNP rs9282541 (*ABCA1*) (106). En relación con los polimorfismos que pertenecen a los genes FADS, existe poca información sobre las frecuencias alélicas en mexicanos (182-184); los estudios disponibles muestran frecuencias que no pueden ser comparadas con las del presente trabajo ya que la población de estudio corresponde a mujeres con hiperlipidemia familiar combinada (183).

Usualmente se realizan pruebas de hipótesis con el fin de obtener conclusiones en base a los valores establecidos de *P* la cual representa la probabilidad de obtener un resultado debido al azar cuando la hipótesis nula es verdadera. Sin embargo, este valor no es suficiente para conocer la magnitud de una diferencia; para resolver esta debilidad y analizar con mayor precisión los resultados obtenidos, se calculó el tamaño del efecto (97). Este puede ser calculado de distintas formas, por motivos de practicidad y uniformidad se decidió trabajar con la *d* de Cohen.

El tamaño del efecto de la suplementación sobre el perfil de ácidos grasos en plasma y eritrocitos entra dentro de la categoría grande, según la d' de Cohen, confirmando que la dosis y tiempo de intervención fueron suficientes para modificar el principal indicador de exposición al tratamiento, que es el índice Ω 3-HS; cambios similares en las muestras biológicas estudiadas. Estos resultados concuerdan con lo reportado en adultos jóvenes que fueron suplementados o tuvieron una ingestión de AGPI-CL similar a la dosis proporcionada en el presente estudio (150, 158, 159, 185-187).

El presente trabajo es el primer reporte del efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre la actividad enzimática estimada de las enzimas desaturasas $D\Delta 5$, $DA\Delta 5$, $D\Delta 6$ y $DA\Delta 6$ en población mexicana, así como las concentraciones de HDL-C y los índices Ω 3, ARA/EPA, Ω 6/ Ω 3.

1.36 Concentraciones de HDL-C

Existen resultados controversiales del efecto que tiene la suplementación con aceite de pescado sobre las HDL-C en individuos sanos. Algunos estudios han reportado el incremento de estas lipoproteínas como efecto de la ingestión de AGPI-CL (188), mientras que otros estudios muestran resultados sin cambio en las concentraciones totales, pero sí en las subfracciones (incremento en HDL_2 y disminución de HDL_3) (160), y que además el cambio es mayor según el tiempo de suplementación (138). La controversia en los resultados puede ser atribuida a la gran variedad de factores en el diseño de los estudios como son: dosis, relación EPA: DHA de la dosis proporcionada, tiempo de intervención, y edad de los participantes. En el presente estudio se observó una reducción de HDL-C en promedio de 1.17mg/dl en mujeres y un incremento de 1.23mg/dl en hombres; hallazgos que difieren con el único estudio realizado previamente en mexicanos (156) donde observaron un incremento de 7.92mg/dL en participantes normolipidémicos suplementados con 3g de aceite de salmón (0.36g de EPA y 0.3g de DHA) durante 4 semanas (156); sin embargo, el número de participantes fue muy pequeño (14 individuos) con una media de edad bastante diferente (47 años) a la del presente trabajo; características que podrían explicar la diferencia de resultados.

Se esperaba que las mujeres presentaran mayores concentraciones de HDL-C en comparación con hombres ya que se sabe que los receptores de estrógenos alfa ($ER\alpha$) hepáticos intervienen en el eflujo del colesterol, promoviendo la absorción de colesterol

hepático y la capacidad de éstas para la absorción de colesterol de macrófagos cuando los niveles de estrógeno son altos. También, la diferencia en las concentraciones de HDL-C está asociada al incremento de la tasa de síntesis de ApoA-1(189). Esta apoenzima promueve el eflujo del colesterol a través del transportador ABCA1, y la ingesta de AGPI-CL Ω 3 inducen la expresión de estas apoproteínas (190). Sin embargo, también se sabe que la proporción de macronutrientes ingeridos a través de la dieta (lípidos, carbohidratos y proteínas) puede modular el patrón metabólico (191), así como las partículas de HDL(154); y que éstos interaccionan con algunos polimorfismos (127, 192-194) en especial con el SNP rs9282541 (*ABCA1*) (195), que es frecuente en población mexicana(105, 108), por lo que se requiere estudiar la existencia de la interacción del componente dietético y éste polimorfismo para elucidar la posible causa de la disminución de las concentraciones de HDL-C en mujeres.

Uno de los objetivos secundarios del trabajo es identificar parámetros bioquímicos y/o antropométricos que influyen sobre los niveles de HDL-C; obteniendo que las concentraciones iniciales de HDL-C es la principal variable que determina de manera proporcional los niveles de HDL-C al finalizar la suplementación; además, los TGL ejercen un efecto inversamente proporcional, como se ha descrito en la literatura. Uno de los principales hallazgos obtenidos es la asociación de las HDL-C con la actividad enzimática estimada DA Δ 6 eritrocitaria; enzima que cataliza la conversión del ácido LA al ácido ARA; que es un precursor de distintos sustratos potencialmente inflamatorios. Esta asociación se ha reportado en otros estudios (163); sugiriendo que la actividad enzimática DA Δ 6 está estrechamente relacionada con las HDL-C, que son uno de los principales criterios de RCV.

1.36.1 Polimorfismos asociados con las concentraciones HDL-C

Hasta el momento, este es el primer estudio donde se evalúa el efecto de polimorfismos genéticos sobre las HDL-C en individuos suplementados con AGPI-CL- Ω 3. De los polimorfismos evaluados en los genes *FADS1* (rs174537 y rs17457), *FADS2* (rs174576), *ABCA1* (rs9282541), *PCSK5* (rs1029035), *PON1* (rs662, rs705379) y *APOE* (rs7412, rs429358) sobre las HDL-C; se encontró que las variantes genéticas rs9282541 (*ABCA1*) y rs7412+rs429358 (*APOE*) contribuyen del 0.8 al 1.4% de la varianza de las concentraciones de HDL-C, porcentaje que asciende al 2.3% cuando se evalúan de manera conjunta.

El incremento promedio (3.26mg/dL) observado en individuos con el genotipo GG+GA del rs9282541 (*ABCA1*), que son equivalentes a R230C y C230C. Se ha reportado que la sustitución de arginina por cisteína ocasionada por el cambio de la base A por G, como

ocurre en individuos con el genotipo R230C y C230C reduce la actividad del transportador ABCA1, provocando una disminución del transporte reverso del colesterol (106, 196). Además, estudios *in vitro* han demostrado que EPA tiene un efecto negativo sobre el transportador ABCA1 a través de la vía de señalización de la proteína quinasa A (190, 197), afectando el transporte reverso del colesterol mediado por ABCA1 en macrófagos humanos primarios (185). En individuos sanos con monoterapia de DHA o EPA se ha observado que los niveles de HDL-C incrementan cuando se proporciona DHA (191); de tal forma que la proporción de estos AGPI-CL también es determinante para los niveles HDL-C. Como se mencionó anteriormente, las concentraciones iniciales de HDL-C influyen en gran medida en las concentraciones posteriores a la suplementación; se sabe que la población mexicana presenta menores niveles de HDL-C en contraste con otras poblaciones; causadas por la variante genética rs9282541 (*ABCA1*) cuyo efecto sobre éstas se ha demostrado ser relevante (104-107).

En portadores de la isoforma ApoE2 se observó un incremento promedio del 7.42mg/dL; hallazgo que no se ha replicado en otros estudios con características similares (198, 199). La discrepancia puede ser atribuida a la diferencia del abordaje estadístico, ya que la comparación es realizada entre genotipos E3E3 y E3E4 (199), o se realiza la codificación como variable dicotómica (portador o no portador de E4) (198); y además, se emplea una proporción de ácidos grasos distinta (199). La isoforma E2 difiere de la isoforma E3 (isoforma común o silvestre) por el intercambio de una arginina por una cisteína en la posición 158 de la proteína, que está cerca de la región de unión al receptor de lipoproteínas LDL (RLDL). Esta sustitución de aminoácidos elimina un puente salino entre Arg158 y el ácido aspártico (Asp) 154, presente en ApoE3, y conduce a la formación de un puente salino diferente entre Asp158 y Arg150 en ApoE2. Este nuevo puente de sal altera la conformación de Arg150 de modo que ya no interactúa con el RLDL, reduciendo así la capacidad de ApoE2 para unirse al receptor (200); por ende se ha asociado con una menor producción de partículas de LDL, mayor catabolismo de LDL y la reducción de los niveles de LDL-C (201). La isoforma E2 no es completamente inocuo, ya que se ha relacionado con propensión a la hipertrigliceridemia en varias investigaciones (202). En cambio, la isoforma E4 tiene mayor afinidad a partículas lipídicas creando un complejo que inhibe la liberación de colesterol (203) y, por ende, menores concentraciones de HDL-C.

Los hallazgos encontrados brindan una evidencia nutrigenética para la población mexicana, ya que la suplementación con aceite de pescado en individuos portadores del genotipo R230R del gen *ABCA1*, así como E4E4 del gen *APOE* parece contribuir con la disminución de la concentración de HDL-C.

1.37 Actividad enzimática estimada de las desaturasas.

Las enzimas desaturasas son enzimas limitantes en la biosíntesis de AGPI-CL, su actividad puede ser estimada mediante la razón de producto-precursor (204). La enzima $\Delta 5$ cataliza la desaturación del ácido dihomo- γ -linoléico (DGLA) formando ácido ARA (53, 205).

La actividad enzimática $\Delta 5$ evalúa la vía total de la desaturación de AGPI-CL $\Omega 3$; de tal manera que los individuos con mayor actividad enzimática presentan mayor proporción de EPA en la membrana celular o en plasma, dependiendo de la muestra biológica estudiada; y aquellos con actividad enzimática estimada disminuida presentan mayor cantidad de ALN.

La actividad enzimática estimada $\Delta 6$ indica la conversión del precursor, el ácido LN, a su producto, el ácido GLA; estos ácidos grasos forman parte de los AGPI-CL $\Omega 6$. Una menor actividad enzimática $\Delta 6$ implica la disminución en la biosíntesis de ácido ARA a partir del ácido LN. El ARA es esencial para el desarrollo y el rendimiento óptimo del sistema nervioso, principalmente funciones del cerebro y cognitivas; músculo esquelético y sistema inmunológico (206); sin embargo, también es sustrato para las enzimas ciclooxigenasa (COX), lipoxigenasa (LOX), que forman distintos eicosanoides como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) principalmente de la serie 2, y leucotrienos (LT) de la serie 4 que actúan como mediadores y reguladores de los procesos inflamatorios (207).

Una actividad enzimática $\Delta 6$ elevada se ha asociado a un mayor riesgo de presentar sobrepeso (76), enfermedad coronaria (11, 91), síndrome metabólico (208), esteatosis hepática (209) y adiposidad abdominal (210); mientras que una actividad enzimática $\Delta 5$ disminuida se ha asociado con resistencia a la insulina, DM2 (140, 204, 211), concentraciones de HDL-C disminuidas (140) porcentaje de grasa corporal (212), mayor RCV (13), esteatosis hepática (209, 213), síndrome metabólico (208) y adiposidad abdominal (210). Por lo tanto, una mayor actividad enzimática $\Delta 5$ podría ser protectora ante distintas enfermedades metabólicas.

El cambio de las actividades enzimáticas estimadas al finalizar la suplementación (incremento de la actividad enzimática $\Delta 5$ y reducción de la $\Delta 6$) son similares a los obtenidos por Cormier et al donde la dosis y tiempo de exposición (162) fueron iguales a

las realizadas en este trabajo, y por Al-Hilal et al en el que utilizaron distintas dosis de suplementación (0.45, 0.9, y 1.8 g/día) durante 6 meses (146). Hasta el momento, no hay reportes en la literatura del efecto de la suplementación sobre la evaluación de la vía global de biosíntesis AGPI-CL Ω 3 y Ω 6, representados por la actividad enzimática $DA\Delta$ 5 y $DA\Delta$ 6; sin embargo, dado que los sustratos compiten por estas enzimas, y al haber mayor cantidad de AGPI-CL Ω 3; la reducción y/o mantenimiento de la $DA\Delta$ 6 así como el incremento de aproximadamente 4 veces el valor inicial de la $DA\Delta$ 5 en ambas muestras biológicas tienen sustento biológico.

En la actividad enzimática estimada $DA\Delta$ 5 se presentó una diferencia en la respuesta a la suplementación por sexo; la mayor respuesta obtenida representada por un mayor incremento en esta actividad enzimática en las mujeres es atribuida a las hormonas sexuales. Se sabe que las hormonas sexuales modifican la capacidad para sintetizar AGPI-CL Ω 3 a partir de ALN, de tal forma que la progesterona incrementa la capacidad de conversión de EPA y los estrógenos la conversión de DHA (214, 215); además, se ha observado una relación significativa entre la composición de ácidos grasos (en plasma y tejidos) y las concentraciones séricas de estas hormonas, sugiriendo en términos generales, que el estrógeno estimula y la testosterona inhibe la conversión de ácidos grasos esenciales (LN y ALN) en sus metabolitos de cadena más larga (216).

Como objetivo secundario se estudiaron los parámetros bioquímicos y antropométricos asociados a las actividades enzimáticas; se encontró que la actividad enzimática inicial y el apego al tratamiento influyen de manera importante (determinado por el tamaño del efecto según d' Cohen) sobre la respuesta de la suplementación con aceite de pescado en la actividad enzimática estimada de las $D\Delta$ 5 y $DA\Delta$ 5 en eritrocitos y de las $D\Delta$ 6 y $DA\Delta$ 6 en plasma; explicando alrededor del 50% de la actividad enzimática estimada al finalizar la intervención; mientras que la $D\Delta$ 6 en eritrocitos y $DA\Delta$ 6 en plasma están definidas solamente por su actividad inicial. La $DA\Delta$ 5 es la única desaturasa que está definida exclusivamente por el apego a la suplementación.

Además del apego y/o la actividad enzimática inicial, hubo algunos fenotipos que de acuerdo al modelo estadístico, ejercieron influencia sobre las actividades enzimáticas estudiadas; en la $D\Delta$ 5 eritrocitaria, el IMC ejerció un efecto (β) negativo que es consistente con otros reportes (217-219); en la $D\Delta$ 5 plasmática los parámetros que ejercieron influencia fueron el índice Ω 3-HS final plasmático, que refleja el apego a la suplementación a nivel

plasmático; y por último los triglicéridos influyeron sobre la actividad DA Δ 5 en ambas muestras biológicas.

También se encontró que las actividades enzimáticas se relacionan entre ellas; se esperaba que esta fuese inversamente proporcional como el obtenido entre la D Δ 5 y D Δ 6 plasmática, sin embargo, la DA Δ 6 eritrocitaria se asocia de manera directamente proporcional con la DA Δ 5 en ambos sustratos biológicos estudiados, relación replicado únicamente en la DA Δ 5 eritrocitaria. Una posible explicación de esto es que, a pesar de que estas enzimas compiten entre ellas, es necesario mantener un balance, ya que el ácido ARA confiere fluidez y flexibilidad a las membranas celulares, que es esencial para el mantenimiento e integridad de las células; y de manera circulante, el ARA modula la función de los canales iónicos, receptores y/o enzimas, algunas de ellas involucrados en la respuesta inmune tipo 2 (206).

1.37.1 Polimorfismos asociados con la actividad enzimática estimada.

Dentro del objetivo principal del presente trabajo está evaluar el efecto de SNPs en los genes *FADS1* (rs174537 y rs17457), *FADS2* (rs174576), *ABCA1* (rs9282541), *PCSK5* (rs1029035), *PON1* (rs662, rs705379) y *APOE* (rs7412, rs429358) sobre las actividades enzimáticas plasmáticas y eritrocitarias estudiadas. Encontramos asociaciones principalmente en aquellas variantes que pertenecen a los genes *FADS*, como ya se ha reportado previamente (60, 146, 148, 150, 220, 221) y, además con las variantes que pertenecen a los genes *PON1* y *PCSK5*, cuyas asociaciones no han sido reportadas. El tamaño del efecto obtenido en los polimorfismos asociados es pequeño, con excepción de los polimorfismos rs174537 (*FADS1*) y rs174576 (*FADS2*) cuya magnitud es mediana sobre la actividad enzimática D Δ 6 y D Δ 5 plasmáticas bajo el patrón de herencia aditivo y recesivo respectivamente. También, se identificó que los polimorfismos contribuyen en menor proporción a la variabilidad en la actividad enzimática eritrocitaria estimada en comparación con la plasmática. Por ejemplo, la variabilidad atribuida del componente genético en las enzimas D Δ 5, DA Δ 5, D Δ 6 eritrocitarias es < 1%; con una cifra máxima de 1.8% en la enzima DA Δ 6. Por el contrario, en plasma corresponde alrededor del 4.5% y 7% en las enzimas D Δ 5, D Δ 6; 4% en DA Δ 5 y cifras aún menores en la DA Δ 6; estas cifras se ubican en el rango de variabilidad considerable. Estas diferencias observadas según las muestras biológicas se atribuyen al tiempo de exposición; ya que se requiere mayor tiempo de exposición para que los ácidos grasos se incorporen a la membrana celular, como ocurre en los eritrocitos; en comparación con el consumo reciente que es reflejado por los ácidos grasos en plasma.

1.37.1.1 FADS

La asociación obtenida de los homocigotos TT del polimorfismo intrónico rs174537 (*FADS1*) con menor actividad enzimática D Δ 5, D Δ 6 (eritrocitaria y plasmática) y DA Δ 6 plasmática; tiene sentido biológico ya que se sabe que la regulación de estas enzimas es por “feedback” o retroalimentación, y que los AGPI-CL compiten por estas enzimas (51, 55). Además, estas asociaciones concuerdan con lo reportado en caucásicos y hombres coreanos portadores del alelo T que presentan menor actividad DA Δ 6 eritrocitaria y plasmática respectivamente (148, 220, 221), y en londinenses homocigotos GG suplementados durante 6 meses que presentaron mayor actividad D Δ 5 en contraste con los individuos portadores del alelo T en eritrocitos (146).

La interpretación biológica de la asociación de los heterocigotos con las actividades enzimáticas obtenidas: TG del SNP rs174537 (*FADS1*) con mayor actividad enzimática DA Δ 5 eritrocitaria, (CT) del polimorfismo rs174547 (*FADS1*) con mayor actividad enzimática D Δ 5 plasmática y (AC) del rs174576 (*FASD2*) con mayor actividad plasmática D Δ 6, es complicada ya que no se cumple con el supuesto de gradiente biológico relacionado con el número de alelos. Para descartar que estas asociaciones sean al azar, se observó la potencia de asociación obtenida en estos genotipos; encontrando que la potencia de asociación es menor a la recomendada únicamente en el heterocigoto (TG) del rs174537, por lo que podría tratarse de una asociación al azar. En el resto de los heterocigotos la potencia de asociación se ubica dentro de la cifra recomendada, que es >80%; por lo que estadísticamente se cumple con los supuestos que aseguran que los hallazgos no son al azar, aunque la interpretación biológica es poco común. Para corroborar esta asociación es necesario realizar análisis funcionales.

Los hallazgos encontrados en el heterocigoto TG del rs174537 (*FADS1*) no coinciden con lo reportado en hombres jóvenes canadienses portadores del alelo T suplementados durante 12 semanas que tuvieron menor incorporación de EPA en eritrocitos (150). Cuando la actividad enzimática DA Δ 5 se encuentra disminuida, existe una menor cantidad de EPA en eritrocitos; sin embargo, es importante mencionar que el tamaño de muestra está compuesto únicamente por 12 individuos; por lo que se requiere estudiar más individuos y/o comparar con otros estudios para confirmar este hallazgo.

Los reportes del polimorfismo rs174547 (*FADS1*) son controversiales ya que el alelo asociado a una disminución enzimática varía según la población y muestra biológica estudiada; por ejemplo, en caucásicos (220) y chinos (212) la asociación con menor actividad enzimática es en portadores del alelo C; asociación que es obtenida en el presente estudio. Por otro lado, en coreanos(148) y caucásicos (60) la menor actividad enzimática se ha asociado al alelo T. Algunos factores que pueden intervenir en esta discrepancia de hallazgos es la edad. Para esclarecer la consistencia de estos resultados es necesario estudiar con mayor precisión este polimorfismo. La asociación obtenida con los homocigotos CC del rs174547 (*FADS1*) con menor actividad D Δ 6 plasmática sugiere, contrario a lo observado en las asociaciones de la variante rs174537 (*FADS1*) que el polimorfismo ejerce un papel inverso entre las enzimas D Δ 5 y D Δ 6 plasmáticas ya que los homocigotos CC presentan menor actividad D Δ 6 y existe una tendencia a que los portadores de un alelo C, presenten mayor actividad D Δ 5 plasmática; dado que el genotipo asociado es un heterocigoto, la disminución no es proporcional a la cantidad de alelos presentes.

La asociación de los homocigotos AA de la variante intrónica rs174576 (*FADS2*) es similar a la obtenida con el polimorfismo rs174537(*FADS1*); esta consistencia sugiere que esta variante se encuentra en desequilibrio de ligamiento (DL) y que, a nivel funcional el efecto de ambos polimorfismos tiene una direccionalidad y magnitud uniforme sobre las enzimas D Δ 5 y DA Δ 6 en ambas muestras biológicas.

Para corroborar si estas variantes se encuentran en desequilibrio de ligamiento se realizó el análisis pertinente encontrando que estas variantes presentan un $D' = 83$ (Figura 4), equivalente a una R^2 de 0.65. Esta cifra indica que las variantes rs174537 y rs174576 se encuentra en DL.

No se encontraron reportes que evalúen la asociación del polimorfismo rs174576 con la actividad enzimática DA Δ 6 y D Δ 5; sin embargo, se ha reportado la asociación de portadores del alelo menor de polimorfismos que pertenecen al

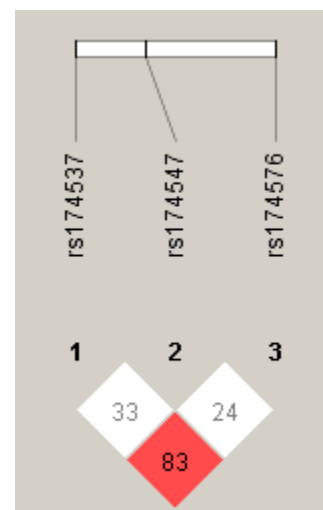


Figura 4. Análisis de Desequilibrio de Ligamiento para las variantes estudiadas de los genes *FADS1* y *FADS2*.

gen *FADS*, no estudiados en el presente estudio, con menor actividad enzimática D Δ 5 al finalizar la suplementación (162).

Dado a que la actividad enzimática D Δ 6 basal es el principal determinante de la actividad enzimática D Δ 6 postsuplementación, los reportes de asociación de la variante genética con la actividad basal nos podría sugerir alguna tendencia en el comportamiento de sus genotipos; de tal forma que caucásicos portadores del alelo A (60) y hombres canadienses (149) presentaron menor actividad enzimática plasmática y eritrocitaria, respectivamente; comportamiento que también fue encontrado en el presente estudio.

En resumen, las asociaciones obtenidas sugieren que las variantes que pertenecen a los genes *FADS*: rs174537, rs174547 y rs174576 ejercen variabilidad en la actividad enzimática estimada de las desaturasas estudiadas posterior a la suplementación con aceite de pescado. El mecanismo por el cual los AGPI-CL afectan la actividad de las desaturasas aún no se ha elucidado. Se cree que el efecto de los AGPI-CL es indirecto a través de la activación de los factores de transcripción PPAR- α y SRBP1c previamente mencionados. El SRBP1c activa distintos genes involucrados en la síntesis de ácidos grasos en hígado, incluidos las desaturasas, funciones que son inhibidas por los AGPI-CL. Por el otro lado, el factor de transcripción PPAR α induce la expresión de enzimas desaturasas a través de mecanismos indirectos; de primera instancia los AGPI-CL a través de este factor inducen la oxidación de ácidos grasos por lo que el aumento de la degradación de ácidos grasos insaturados resulta en la inducción de desaturasas; además se ha observado que la inducción de ARNm para las enzimas D Δ 6 y D Δ 5 es más tardía en comparación con las enzimas involucradas en la oxidación de ácidos grasos, como la acil CoA oxidasa y la carnitina palmitoiltransferasa-1 (CPT-1) (55, 222).

1.37.1.2 APOE

La isoforma E2 del gen *APOE* se asoció con menor actividad enzimática eritrocitaria D Δ 5 (β -1.24). Se sabe que ApoE interactúa con los AGPI-CL de la dieta, en el transporte y la absorción de las lipoproteínas. Además, se ha demostrado que ApoE influye en la respuesta de los lípidos plasmáticos posterior a la intervención de EPA y DHA; con evidencia de que portadores del alelo E4 tienen mayor capacidad de respuesta. El mecanismo de acción de la contribución del genotipo ApoE en la desregulación del metabolismo de EPA y DHA aún no se conoce, sin embargo, el reemplazo de cisteína por arginina en las posiciones 112 y 158 (Cys112, Cys158) puede generar distintas interacciones con los metabolitos (132, 203). También se ha atribuido la capacidad de respuesta por las características individuales de

los genotipos; por ejemplo, los individuos portadores de la isoforma E4 presentan mayores concentraciones de LDL-C y de TGL en comparación con el resto de las isoformas (223), por lo que al consumir AGPI-CL, específicamente aceite de pescado, se observarán mayores beneficios.

La gran cantidad de estudios realizados a la fecha han sido con individuos que cursan con alguna enfermedad (224); sin embargo, los pocos reportes realizados en individuos sanos suplementados con aceite de pescado sugieren que el genotipo ApoE interviene en el metabolismo de éstos (202). En hombres londinenses portadores de la isoforma ApoE4 presentaron mayor cantidad de EPA en plasma ($P=0.004$) comparados con los portadores de la isoforma ApoE2 (225); los hallazgos del presente estudio concuerdan con los resultados de dicho reporte.

1.37.1.3 PON1

El gen *PON1* codifica para la enzima paraoxonasa, una enzima que se encuentra asociada principalmente a HDL(114) y tiene funciones citoprotectoras, ya que hidroliza productos de peroxidación de fosfolípidos y LDL-C. A diferencia del resto de las desaturasas; la mayoría de las asociaciones genotípicas de la actividad enzimática $DA\Delta 5$ fue con heterocigotos que forman parte del gen *PON1* y no del gen *FADS*, como se esperaba. La direccionalidad consistente (β -1.24, β -0.364) obtenida en la asociación con menor actividad enzimática $DA\Delta 5$ en ambas muestras biológicas sugiere que la asociación no es al azar; a pesar de ser asociaciones de difícil interpretación. Además, se asociaron con menor actividad enzimática $DA\Delta 5$ eritrocitaria y mayor actividad $D\Delta 6$ plasmática; es importante mencionar que estas asociaciones no han sido reportadas hasta el momento. No obstante, se ha estudiado el efecto de algunos AGPI-CL sobre la actividad paraoxonasa. En modelos animales se ha observado que la actividad sérica paraoxonasa disminuye después del consumo de aceite de pescado (226). Un mecanismo propuesto es que los AGPI-CL son reconocidos por el sitio activo de PON, inhibiendo de forma competitiva la actividad enzimática de PON; además, esta unión cambia la conformación de la proteína, evitando la unión con los ácidos grasos monoinsaturados y saturados, mecanismo por el cual aumenta la susceptibilidad de inactivación de la paraoxonasa por oxidación (227); por otro lado, se ha propuesto que la disminución de la actividad paraoxonasa es provocada por el incremento en la producción de radicales libres a consecuencia de la suplementación con AGPI-CL $\Omega 3$ (228), efecto no comprobado en humanos (229).

La variante rs662 es un polimorfismo no sinónimo; el alelo silvestre A codifica para una glutamina (R), y el alelo mutado G codifica para una arginina (Q) en la posición 192; esta alteración disminuye la función de la enzima paraoxonasa, de tal manera que el homocigoto RR (AA) tiene menor capacidad de hidrólisis (179, 230). Dados los efectos reportados de la suplementación con AGPI-CL Ω 3 sobre la actividad enzimática paraoxonasa y la naturaleza en la disminución en individuos homocigotos RR; el decremento de la actividad enzimática paraoxonasa en estos individuos podría ser mayor. Un estudio que concuerda con esta inferencia es el realizado en griegos sin indicio de enfermedad metabólica, donde los homocigotos QQ (codificado por el alelo G) presentaron mayor incorporación de EPA en adipocitos en contraste con los homocigotos RR (codificado por el alelo G) ($P=0.039$)(231) ; si bien, la actividad enzimática desaturasa no fue estimada, ésta puede ser inferida por la cantidad de producto incorporado, de tal forma que cuando hay una mayor incorporación del producto, en este caso EPA, la actividad enzimática de la $DA\Delta 5$ es mayor y viceversa. Sin embargo, en mexicanos se ha reportado que la actividad de ePON en homocigotos QQ (AA) es menor en contraste con los portadores de RR (GG) (232), lo cual es contrario a lo reportado en otras poblaciones. Los hallazgos encontrados indican que los heterocigotos presentan menor actividad enzimática, por ende, menor incorporación de EPA; dado que el poder estadístico de esta asociación entra dentro del rango recomendado (89%), se descarta una asociación al azar; por lo que se requiere mayor cantidad de estudios para evidenciar el comportamiento de la incorporación de EPA de acuerdo con el genotipo.

También se han reportado algunas correlaciones de la ingesta de ácidos grasos con la actividad paraoxonasa; entre ellas la ingesta elevada de LA disminuye su actividad (233) y que el ácido DGLA se correlaciona positivamente con ésta en hombres (234); estos reportes sugieren que los ácidos grasos, específicamente aquellos involucrados en la actividad enzimática $D\Delta 6$ modifican la actividad de ePON.

En relación con el polimorfismo rs705379, que está localizado en la posición -107, río arriba del gen *PON1*; no se encontraron reportes de su asociación con la actividad enzimática estimada. La potencia de asociación con este polimorfismo fue $< 80\%$, por lo que podría tratarse de una asociación al azar. Sin embargo, se sabe que esta variante genética es uno de los principales determinantes de la actividad de ePON, donde individuos homocigotos CC presentan mayor actividad ePON, la cual aunada al efecto del consumo de aceite de pescado, previamente comentado, podría favorecer la disminución de la actividad de ePON

(226) de una forma aún mayor. No obstante, se requiere más estudios para confirmar este hallazgo y elucidar su mecanismo biológico.

1.37.1.4 PCSK5

El rs1029035 es un polimorfismo que se encuentra en una región intrónica del gen *PCSK5*; este gen que codifica para la proteína PC5. Los polimorfismos localizados en las regiones intrónicas puede regular la transcripción del gen o algún otro proceso de la proteína (235).

El poder estadístico obtenido de la asociación de los heterocigotos (TG) con mayor actividad enzimática DA Δ 6 eritrocitaria, es inferior al recomendado; por lo que este hallazgo se debe tomar con precaución. Además, al no encontrar estudios que reportaran asociaciones con la actividad enzimática; este hallazgo no puede ser comparado; sin embargo, podría existir una posible explicación biológica a través de la activación de PPAR α por consecuencia de la ingesta de ácidos grasos. Este factor de transcripción promueve a su vez la expresión de la proteína convertasa 5 (PC5) (236).

Los hallazgos encontrados en este estudio brindan evidencia nutrigenética para la población mexicana, donde los individuos homocigotos TT (rs174537) y AA (rs174576) es posible que se beneficien del consumo de aceite de pescado ya que la actividad DA Δ 6 en estos individuos es menor, así como los portadores de la isoforma E4 del gen *APOE*, portadores del alelo T del rs174537 (*FADS1*) que presentan mayor actividad DA Δ 5.

1.38 Índices obtenidos a partir de ácidos grasos

Los índices obtenidos a partir de ácidos grasos eritrocitarios y plasmáticos reflejan la cantidad y tipo de lípidos a través de la ingesta dietética, así como su metabolismo (61), por lo que su valor puede dar información relevante del tipo de dieta y proporción de consumo a largo y corto plazo. Los índices estudiados en el presente trabajo son el índice Ω 3-HS, que refleja la proporción de EPA y DHA con relación a otros ácidos grasos, el índice ARA/EPA se ha asociado a inflamación e indica el equilibrio entre los AGPI-CL en el cuerpo humano (237) y, finalmente, el índice Ω 6/ Ω 3 que refleja el balance de consumo de estos nutrientes, siendo importante en la prevención primaria y secundaria del riesgo de ECV (6).

El índice Ω 3-HS obtenido a partir de la composición de ácidos grasos en eritrocitos al inicio de la suplementación, según la Asociación Americana del Corazón (AHA, por sus siglas en

inglés), corresponde a la categoría de riesgo moderado, mientras que, este índice en plasma corresponde a un riesgo elevado. Un índice ARA/EPA alto, se considera perjudicial para la salud ya que se tiene mayor disponibilidad de ARA en diversos tejidos para la producción de prostaglandinas y eicosanoides altamente inflamatorios, los cuales pueden ser bloqueadas por los AGPI-CL Ω 3 formando productos proinflamatorios de menor actividad (238-240); además se ha asociado con mayor contenido de grasa corporal en distintas poblaciones (241), entre ellas la mexicana (242). Finalmente, una proporción alta de AGPI-CL Ω 6/AGPI-CL Ω 3 también es considerada perjudicial por la mayor disponibilidad de metabolitos proinflamatorios como el ARA; de tal manera que un índice cercano a 1 se considera protector contra las ECV. El índice obtenido al inicio de la suplementación en eritrocitos refleja la proporción de consumo de ácidos grasos de una dieta tipo occidental, que oscila entre 15:1 - 20:1 (243).

Los resultados del presente trabajo muestran que al finalizar las 6 semanas de suplementación los índices cambian; caracterizados por un incremento de gran magnitud en el índice Ω 3-HS aunque no se alcanzaron las cifras recomendadas por la AHA (>8%) para la prevención de ECV; cuya posible causa sea el tiempo de suplementación empleado; ya que se ha reportado que en jóvenes sanos estadounidenses suplementados durante 5 meses con la mitad de la dosis empleada en el presente estudio (1800mg), el índice Ω 3 alcanzó cifras >8% (185), o en su defecto, una dosis equivalente a la ingesta de 5 porciones de pescado a la semana (244), que corresponde aproximadamente a 2700mg. Los índices ARA/EPA y Ω 6/ Ω 3 se redujeron, alcanzando cifras <10% siendo la recomendada para la prevención de ECV; reducciones similares han sido reportadas al finalizar la suplementación con aceite de pescado (187, 245).

Al igual que lo observado en las enzimas desaturasas, el factor o la característica individual determinado por el índice inicial, es el principal determinante del índice Ω 3-HS y el índice Ω 6 / Ω 3 en ambas muestras biológicas.

A diferencia de lo observado en las actividades enzimáticas estudiadas, en los índices influyeron mayor cantidad de parámetros bioquímicos y antropométricos como son las concentraciones de TGL, HDL-C, LDL-C e IMC. En general, los TGL tuvieron un efecto negativo sobre el índice que refleja el estatus de los AGPI-CL Ω 3 en las muestras biológicas estudiadas y un efecto positivo sobre aquellos que reflejan la cantidad de AGPI-CL Ω 6 en plasma (índice ARA/EPA y Ω 6 / Ω 3); estos hallazgos que concuerdan con la literatura (7, 152, 188, 190, 241). En cambio, las asociaciones con las concentraciones de HDL-C, LDL-

C (190) e IMC (50, 152, 242) son contrarias a lo reportado; en el caso de las HDL-C, éstas tuvieron un efecto negativo con el índice Ω 3-HS y positivo sobre los índices que reflejan la cantidad de AGPI-CL Ω 6, y en el caso de las concentraciones de LDL-C e IMC, presentaron asociación positiva con los índices que reflejan mayor consumo de AGPI-CL Ω 6. La discrepancia en estos hallazgos puede ser atribuida en parte a la población estudiada; ya que en su mayoría son individuos de mayor grupo etario y con algún proceso patológico.

Finalmente, las mujeres presentaron mayor índice Ω 3-HS, y menor índice en aquellos que reflejan los AGPI-CL Ω 6 como son el ARA/EPA y Ω 6 / Ω 3, en las muestras biológicas estudiadas; esto es debido a que las hormonas sexuales femeninas (progesterona y estrógenos) incrementan la capacidad de conversión de EPA y DHA respectivamente (214, 215).

1.38.1 Polimorfismos asociados con los índices estimados a partir de ácidos grasos

Al igual que lo observado en las enzimas desaturasas, los polimorfismos en los índices también explican en mayor proporción los índices plasmáticos en contraste con los eritrocitarios, siendo alrededor del 1.8% al 3.7% de los índices Ω 3-HS y Ω 3/ Ω 6 plasmáticos y del 4% del índice ARA/EPA.

Dado que los polimorfismos que pertenecen a los genes *FADS* determinan la actividad enzimática estimada de $DA\Delta 5$, que cataliza la conversión de EPA y éste forma parte de los índices estudiados, se esperaba que estas variantes genéticas también se asociaran con los índices; sin embargo, únicamente el índice ARA/EPA eritrocitario presentó asociación con el SNP rs174537 (*FADS1*) y rs7412+rs429358 (*APOE*). En plasma los polimorfismos asociados a los índices fueron rs1029035 (*PCSK5*) y rs662 (*PON1*). La magnitud de las asociaciones obtenidas es pequeña según la *d* de Cohen; magnitudes que se esperaban así ya que se sabe que el principal determinante de estos es la ingesta dietética de lípidos (6, 246, 247). No se encontraron reportes de la asociación de alguna variante genética con los índices estudiados; por lo que las asociaciones obtenidas con mayor índice Ω 3-HS, ARA/EPA y menor índice Ω 6/ Ω 3 en homocigotos CC (rs662) y TT (rs1029035) no pueden ser comparadas.

Se esperaba que la isoforma E2 del gen *APOE* se asociara con el índice ARA/EPA eritrocitario de manera negativa; ya que previamente se mostró la asociación de la isoforma E4 con mayor actividad enzimática estimada $DA\Delta 5$, enzima limitante de la biosíntesis de

EPA; sin embargo, la isoforma asociada fue ApoE3. Esta discrepancia es atribuida a la pequeña cantidad de individuos portadores de la isoforma E2.

Los mecanismos biológicos subyacentes al efecto de la ingesta de AGPI-CL y al gen *PCSK5*, como se mencionó con anterioridad, no se han elucidado. El posible mecanismo de modulación del polimorfismo rs1029035 (*PCSK5*) y la ingesta de AGPI-CL pudiera ser a través de la activación de PPAR α (236).

Como se mencionó anteriormente hay pocos estudios que evalúan el efecto de los AGPI-CL y la actividad enzimática de ePON en individuos sanos, el efecto positivo observado se replica con lo reportado en hombres iraníes; donde la actividad de ePON se correlacionó directamente con DGLA (AGPI-CL Ω 6) de las partículas de HDL (248); esto puede ser comparable ya que la composición de lipoproteínas y lípidos séricos reflejan la ingesta dietética de ácidos grasos. El efecto negativo observado en modelos animales con el polimorfismo rs662 (*PON1*) (228), no ha sido comprobado en humanos (229), pero se ha evidenciado que una alta ingesta de ácido linoleico durante 6 semanas disminuye la actividad de ePON (229); esto sugiere que la actividad de ePON es modificada por la composición dietética. Sin embargo, se requieren mayor cantidad de estudios para elucidar el efecto que tiene el consumo específicamente de EPA y DHA con la actividad enzimática de ePON.

1.39 Fortalezas del estudio

La principal fortaleza de este trabajo de investigación es que es el primer estudio que evalúa el efecto de algunos polimorfismos en individuos mexicanos suplementados con aceite de pescado y analizó el impacto sobre indicadores del metabolismo de lípidos. El tamaño de muestra nos permitió identificar las asociaciones y efectos de mayor magnitud

La medición directa de los ácidos grasos permitió tener datos cuantitativos del componente dietético, que es más fidedigno que los datos cualitativos.

1.40 Limitaciones del estudio

El presente estudio tiene varias limitaciones que deben considerarse. Primeramente, en el caso de algunos genotipos de baja frecuencia, el poder estadístico fue insuficiente.

Además, la realización de pruebas múltiples aumenta la probabilidad de encontrar resultados falsos positivos y no se realizó una prueba de ajuste por múltiples comparaciones. Por otra parte, con base en la relación entre la dosis y el tiempo de suplementación, se puede esperar un efecto moderado. A pesar de que la dosis es modesta, varios participantes consideraron que les causaba algunas molestias menores, y esto impactó negativamente la adherencia al tratamiento.

Otra limitación del estudio es la falta de la inclusión del componente dietético ya que nos puede ayudar a dilucidar de mejor manera distintas asociaciones e interacciones.

Finalmente, otra limitación es la falta de medición de las subfracciones de HDL, y que se analizaron solo algunos indicadores del metabolismo de la glucosa y sensibilidad a la insulina, para elucidar algunos de los mecanismos reportados en la literatura relacionados tanto con el metabolismo de las HDL.

9. CONCLUSIONES

En el presente estudio se documenta el efecto benéfico de la suplementación con aceite de pescado en jóvenes mexicanos sin indicios de enfermedad metabólica representado por el incremento en las enzimas desaturasas D Δ 5, DA Δ 5 y el índice Ω 3-HS alcanzando cifras del índice que corresponden a riesgo cardiovascular bajo, según la AHA, y por consecuencia la disminución de las enzimas desaturasas D Δ 6, DA Δ 6 e índices ARA/EPA y, Ω 6/ Ω 3 a cifras recomendables (<10) para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Así mismo, los efectos de la suplementación varían entre los grupos de acuerdo con el sexo de manera importante sobre las concentraciones de HDL-C, sugiriendo que es benéfico en hombres y deletéreo en mujeres.

Por otro lado, se identificó que el factor individual es crucial para la determinación de los fenotipos, con excepción de la actividad enzimática DA Δ 5 cuyo principal determinante es el apego a la suplementación. La identificación de la asociación de la actividad enzimática DA Δ 6, que cataliza la bioconversión del ARA, y las concentraciones de HDL-C es de vital importancia para la prevención de enfermedades cardiovasculares.

También se identificó que las variantes en los genes *ABCA1* y *APOE* contribuyen a la variabilidad de las concentraciones de HDL-C postsuplementación y que aquellas que pertenecen a los genes *FADS1* y *FADS2* son los principales polimorfismos que

proporcionan variabilidad en las actividades enzimáticas estimadas, con tamaño del efecto pequeño-mediano; junto con los polimorfismos de los genes *PON1* y *PCSK5* cuyo tamaño del efecto es pequeño. Por otro lado, los principales polimorfismos que contribuyen a la variación de los índices de ácidos grasos plasmáticos son el rs662 (*PON1*) y rs1029035 (*PCSK5*); y los polimorfismos rs174537 (*FADS1*) y rs429358+rs7412 (*APOE*) explican una pequeña proporción de la variabilidad del índice eritrocitario ARA/EPA.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gómez LA. Las enfermedades cardiovasculares: un problema de salud pública y un reto global. *Biomédica*. 2011;31(4).
2. INEGI. INEGI2017.
3. Álvarez Cosmea A. Las tablas de riesgo cardiovascular: Una revisión crítica. *Medifam*. 2001;11:20-51.
4. Donnel CJ, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Revista Española de Cardiología*. 2008;61(3):299-310.
5. Stark KD, Van Elswyk ME, Higgins MR, Weatherford CA, Salem N. Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. *Progress in Lipid Research*. 2016;63:132-52.
6. Simopoulos AP. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2008;17 Suppl 1:131-4.
7. Ohnishi H, Saito Y. Eicosapentaenoic acid (EPA) reduces cardiovascular events: relationship with the EPA/arachidonic acid ratio. *J Atheroscler Thromb*. 2013;20.
8. Nelson JR, Raskin S. The eicosapentaenoic acid:arachidonic acid ratio and its clinical utility in cardiovascular disease. *Postgraduate medicine*. 2019:1-10.
9. Harris WS, Von Schacky C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Preventive medicine*. 2004;39(1):212-20.
10. Li SW, Lin K, Ma P, Zhang ZL, Zhou YD, Lu SY, et al. FADS gene polymorphisms confer the risk of coronary artery disease in a chinese han population through the altered desaturase activities: based on high-resolution melting analysis. *PloS one*. 2013;8.
11. Martinelli N, Girelli D, Malerba G, Guarini P, Illig T, Trabetti E, et al. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(4):941-9.
12. Kwak JH, Paik JK, Kim OY, Jang Y, Lee SH, Ordovas JM, et al. FADS gene polymorphisms in Koreans: association with omega6 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids, lipid peroxides, and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2011;214(1):94-100.
13. Lu Y, Vaarhorst A, Merry AH, Dolle ME, Hovenier R, Imholz S, et al. Markers of endogenous desaturase activity and risk of coronary heart disease in the CAREMA cohort study. *PloS one*. 2012;7(7):e41681.
14. Harris WS, Del Gobbo L, Tintle NL. The Omega-3 Index and relative risk for coronary heart disease mortality: Estimation from 10 cohort studies. *Atherosclerosis*. 2017;262:51-4.
15. Devlin TM. *Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas*: Reverté; 2004.
16. Portillo JD, Barrio MTF, Salido FP. *Aspectos básicos de bioquímica clínica*: Díaz de Santos; 1997.
17. Sánchez LFP. *Endocrinología clínica*: Ediciones Díaz de Santos, S.A.; 2013.
18. Kontush A, Chapman MJ. *High-Density Lipoproteins: Structure, Metabolism, Function and Therapeutics*: Wiley; 2012.
19. Garda HA, Toledo JD, González MC, Prieto ED, Cuellar LÁ, Cabaleiro LV, et al. Apolipoproteína A-I y lipoproteínas de alta densidad: Estructura y rol en la homeostasis del colesterol celular. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2013;47(2):327-41.
20. Karathanasis SK, Freeman LA, Gordon SM, Remaley AT. The Changing Face of HDL and the Best Way to Measure It. *Clin Chem*. 2017;63(1):196-210.

21. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *The American journal of medicine.* 1977;62(5):707-14.
22. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *Jama.* 1986;256(20):2835-8.
23. Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM, Navab M, Fonarow GC. High-density lipoprotein function recent advances. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(10):1792-8.
24. Kontush A, Lindahl M, Lhomme M, Calabresi L, Chapman MJ, Davidson WS. Structure of HDL: Particle Subclasses and Molecular Components. In: von Eckardstein A, Kardassis D, editors. *High Density Lipoproteins: From Biological Understanding to Clinical Exploitation.* Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 3-51.
25. Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ. Unraveling the complexities of the HDL lipidome. *J Lipid Res.* 2013;54(11):2950-63.
26. Rosales C, Davidson WS, Gillard BK, Gotto AM, Jr., Pownall HJ. Speciated High-Density Lipoprotein Biogenesis and Functionality. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(5):25.
27. Rosenson RS, Brewer HB, Jr., Chapman MJ, Fazio S, Hussain MM, Kontush A, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem.* 2011;57(3):392-410.
28. Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem.* 2008;54(5):788-800.
29. Tsompanidi EM, Brinkmeier MS, Fotiadou EH, Giakoumi SM, Kypreos KE. HDL biogenesis and functions: role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2010;208(1):3-9.
30. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J Lipid Res.* 2009;50 Suppl:S195-200.
31. Arora S, Patra SK, Saini R. HDL-A molecule with a multi-faceted role in coronary artery disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2016;452:66-81.
32. Asztalos BF, Schaefer EJ, Horvath KV, Yamashita S, Miller M, Franceschini G, et al. Role of LCAT in HDL remodeling: investigation of LCAT deficiency states. *J Lipid Res.* 2007;48(3):592-9.
33. Bhatt A, Rohatgi A. HDL Cholesterol Efflux Capacity: Cardiovascular Risk Factor and Potential Therapeutic Target. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(1):2.
34. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96(12):1221-32.
35. Triolo M, Annema W, Dullaart RP, Tietge UJ. Assessing the functional properties of high-density lipoproteins: an emerging concept in cardiovascular research. *Biomarkers in medicine.* 2013;7(3):457-72.
36. Tran-Dinh A, Diallo D, Delbosc S, Varela-Perez LM, Dang QB, Lapergue B, et al. HDL and endothelial protection. *British journal of pharmacology.* 2013;169(3):493-511.
37. Rye KA, Barter PJ. Cardioprotective functions of HDLs. *J Lipid Res.* 2014;55(2):168-79.
38. Lowenstein CJ, Cameron SJ. High-density lipoprotein metabolism and endothelial function. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity.* 2010;17(2):166-70.
39. Zhou L, Li C, Gao L, Wang A. High-density lipoprotein synthesis and metabolism (Review). *Molecular medicine reports.* 2015;12(3):4015-21.
40. Yancey PG, Bortnick AE, Kellner-Weibel G, de la Llera-Moya M, Phillips MC, Rothblat GH. Importance of different pathways of cellular cholesterol efflux. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(5):712-9.

41. Ayaori M, Kusuhara M, Ohsuzu F. New insights into the regulation of cellular cholesterol efflux and high-density lipoprotein metabolism. *Future Lipidology*. 2006;1(4):477-86.
42. Tani M, Horvath KV, Lamarche B, Couture P, Burnett JR, Schaefer EJ, et al. High-density lipoprotein subpopulation profiles in lipoprotein lipase and hepatic lipase deficiency. *Atherosclerosis*. 2016;253:7-14.
43. Settasatian N, Duong M, Curtiss LK, Ehnholm C, Jauhiainen M, Huuskonen J, et al. The mechanism of the remodeling of high density lipoproteins by phospholipid transfer protein. *J Biol Chem*. 2001;276(29):26898-905.
44. Meurs I, Van Eck M, Van Berkel TJ. High-density lipoprotein: key molecule in cholesterol efflux and the prevention of atherosclerosis. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(13):1445-67.
45. Annema W, Tietge UJ. Role of hepatic lipase and endothelial lipase in high-density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep*. 2011;13(3):257-65.
46. Pierart Z C, Serrano L V. Lipasa endotelial y su relación con la enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2. *Revista médica de Chile*. 2012;140:373-8.
47. Singh S, Arora RR, Singh M, Khosla S. Eicosapentaenoic Acid Versus Docosahexaenoic Acid as Options for Vascular Risk Prevention: A Fish Story. *American journal of therapeutics*. 2016;23(3):e905-10.
48. Rodríguez-Cruz M, Tovar AR, Prado Md, Torres N. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigación Clínica*. 2005;57:457-72.
49. Bradberry JC, Hilleman DE. Overview of omega-3 Fatty Acid therapies. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management*. 2013;38(11):681-91.
50. Saini RK, Keum Y-S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sciences*. 2018;203:255-67.
51. Meesapyodsuk D, Qiu X. The front-end desaturase: structure, function, evolution and biotechnological use. *Lipids*. 2012;47(3):227-37.
52. Lee JM, Lee H, Kang S, Park WJ. Fatty Acid Desaturases, Polyunsaturated Fatty Acid Regulation, and Biotechnological Advances. *Nutrients*. 2016;8(1).
53. Zhang JY, Kothapalli KS, Brenna JT. Desaturase and elongase-limiting endogenous long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2016;19(2):103-10.
54. Lee H, Park WJ. Unsaturated fatty acids, desaturases, and human health. *Journal of medicinal food*. 2014;17(2):189-97.
55. Nakamura MT, Nara TY. Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Annual review of nutrition*. 2004;24:345-76.
56. Voet D, Voet JG. *Bioquímica: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2006*.
57. Merino DM, Johnston H, Clarke S, Roke K, Nielsen D, Badawi A, et al. Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter desaturase activity in young Caucasian and Asian adults. *Molecular genetics and metabolism*. 2011;103.
58. Bokor S, Dumont J, Spinneker A, Gonzalez-Gross M, Nova E, Widhalm K, et al. Single nucleotide polymorphisms in the FADS gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios. *J Lipid Res*. 2010;51.
59. Huang T, Sun J, Chen Y, Xie H, Xu D, Huang J, et al. Genetic variants in desaturase gene, erythrocyte fatty acids, and risk for type 2 diabetes in Chinese Hans. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 2014;30(7-8):897-902.
60. Abdelmagid SA, Clarke SE, Roke K, Nielsen DE, Badawi A, El-Sohehy A, et al. Ethnicity, sex, FADS genetic variation, and hormonal contraceptive use influence delta-5- and delta-6-desaturase

- indices and plasma docosahexaenoic acid concentration in young Canadian adults: a cross-sectional study. *Nutrition & metabolism*. 2015;12:14.
61. Steffen LM, Vessby B, Jacobs Jr DR, Steinberger J, Moran A, Hong CP, et al. Serum phospholipid and cholesteryl ester fatty acids and estimated desaturase activities are related to overweight and cardiovascular risk factors in adolescents. *International Journal Of Obesity*. 2008;32:1297.
 62. Simopoulos AP. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;70(3):560s-9s.
 63. Nelson JR, Raskin S. The eicosapentaenoic acid:arachidonic acid ratio and its clinical utility in cardiovascular disease. *Postgraduate medicine*. 2019;131(4):268-77.
 64. Harris WS. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(6):1997S-2002S.
 65. Alfonso JEF, Ariza IDS. Elevando el colesterol HDL: ¿Cuál es la mejor estrategia? *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2008;54:369-76.
 66. Mathias RA, Pani V, Chilton FH. Genetic Variants in the FADS Gene: Implications for Dietary Recommendations for Fatty Acid Intake. *Current nutrition reports*. 2014;3(2):139-48.
 67. Novak EM, Innis SM. Dietary long chain n-3 fatty acids are more closely associated with protein than energy intakes from fat. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 2012;86(3):107-12.
 68. Troncoso P C, Amaya P JP. FACTORES SOCIALES EN LAS CONDUCTAS ALIMENTARIAS DE ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS. *Revista chilena de nutrición*. 2009;36:1090-7.
 69. Romero Placeres M, Álvarez Toste M, Álvarez Pérez A. Los factores ambientales como determinantes del estado de salud de la población. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2007;45:0-.
 70. Kodama S, Tanaka S, Saito K, Shu M, Sone Y, Onitake F, et al. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2007;167(10):999-1008.
 71. Stasiulis A, Mockiene A, Vizbaraitė D, Mockus P. Aerobic exercise-induced changes in body composition and blood lipids in young women. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2010;46(2):129-34.
 72. Musa DI, Adeniran SA, Dikko AU, Sayers SP. The effect of a high-intensity interval training program on high-density lipoprotein cholesterol in young men. *Journal of strength and conditioning research*. 2009;23(2):587-92.
 73. Spate-Douglas T, Keyser RE. Exercise intensity: its effect on the high-density lipoprotein profile. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 1999;80(6):691-5.
 74. Mika A, Macaluso F, Barone R, Di Felice V, Sledzinski T. Effect of Exercise on Fatty Acid Metabolism and Adipokine Secretion in Adipose Tissue. *Frontiers in Physiology*. 2019;10(26).
 75. Khera AV, Plutzky J. Management of low levels of high-density lipoprotein-cholesterol. *Circulation*. 2013;128(1):72-8.
 76. Warensjö E, Öhrvall M, Vessby B. Fatty acid composition and estimated desaturase activities are associated with obesity and lifestyle variables in men and women. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2006;16(2):128-36.
 77. Yary T, Voutilainen S, Tuomainen T-P, Ruusunen A, Nurmi T, Virtanen JK. Serum n-6 polyunsaturated fatty acids, $\Delta 5$ - and $\Delta 6$ -desaturase activities, and risk of incident type 2 diabetes in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2016;103(5):1337-43.
 78. Mertens E, Markey O, Geleijnse JM, Givens DI, Lovegrove JA. Dietary Patterns in Relation to Cardiovascular Disease Incidence and Risk Markers in a Middle-Aged British Male Population: Data from the Caerphilly Prospective Study. *Nutrients*. 2017;9(1):75.

79. Harvey C, Schofield GM, Zinn C, Thornley SJ, Crofts C, Merien FLR. Low-carbohydrate diets differing in carbohydrate restriction improve cardiometabolic and anthropometric markers in healthy adults: A randomised clinical trial. *PeerJ*. 2019;7:e6273.
80. Finelli C, Crispino P, Gioia S, La Sala N, D'Amico L, La Grotta M, et al. The improvement of large High-Density Lipoprotein (HDL) particle levels, and presumably HDL metabolism, depend on effects of low-carbohydrate diet and weight loss. *EXCLI Journal*. 2016;15:166-76.
81. Dansinger ML, Gleason JA, Griffith JL, Selker HP, Schaefer EJ. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. *Jama*. 2005;293(1):43-53.
82. Chilton FH, Dutta R, Reynolds LM, Sergeant S, Mathias RA, Seeds MC. Precision Nutrition and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: A Case for Personalized Supplementation Approaches for the Prevention and Management of Human Diseases. *Nutrients*. 2017;9(11).
83. Sanz París A, Marí Sanchis A, García Malpartida K, García Gómez MC. Propuesta de perfil de ácidos grasos omega 3 en nutrición enteral. *Nutricion hospitalaria*. 2012;27:1782-802.
84. Ramirez-Silva I, Villalpando S, Moreno-Saracho JE, Bernal-Medina D. Fatty acids intake in the Mexican population. Results of the National Nutrition Survey 2006. *Nutrition & metabolism*. 2011;8(1):33.
85. Miriam Álvarez JMC, Virginia Robinson, Jesús Alveano. CONSUMO DE PESCADO Y OMEGA-3 EN GESTANTES SANAS. *SALUD FÍSICA Y MENTAL DEL BINOMIO MADRE-HIJO*.
86. Rubi Vargas M, Gonzalez Lomeli D, Terrazas Medina EA, Peralta Pena SL, Jordan Jinez ML, Ruiz Paloalto ML, et al. [CONSUMPTION OF OMEGA-3 FATTY ACIDS AND DEPRESSIVE SYMPTOMS IN COLLEGE STUDENTS FROM SONORA, MEXICO]. *Nutricion hospitalaria*. 2015;32(4):1744-51.
87. Obdulia Graciela Dávila Díaz BMT-M, Luis Javier Barajas Figueroa, Blanca Mildred Vázquez-Torres, Eduardo Vázquez-Valls. Asociación del consumo de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados con cáncer de mama. *El Residente*. 2011;VI(1-2011).
88. Castellanos T L, Rodriguez D M. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Revista chilena de nutrición*. 2015;42:90-5.
89. Torres-Castillo N, Silva-Gómez JA, Campos-Perez W, Barron-Cabrera E, Hernandez-Cañaveral I, Garcia-Cazarin M, et al. High Dietary ω -6: ω -3 PUFA Ratio Is Positively Associated with Excessive Adiposity and Waist Circumference. *Obesity Facts*. 2018;11(4):344-53.
90. Katcher HI, Hill AM, Lanford JL, Yoo JS, Kris-Etherton PM. Lifestyle approaches and dietary strategies to lower LDL-cholesterol and triglycerides and raise HDL-cholesterol. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2009;38(1):45-78.
91. Li SW, Wang J, Yang Y, Liu ZJ, Cheng L, Liu HY, et al. Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter plasma fatty acids and desaturase levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Journal of translational medicine*. 2016;14:79.
92. Ahmazdazeh A, Azizi F. Genes associated with low serum high-density lipoprotein cholesterol. *Archives of Iranian medicine*. 2014;17(6):444-50.
93. Villarreal-Molina MT. Bases genéticas de la variación en los niveles plasmáticos de HDL-colesterol. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2008;1:32-41.
94. Ossoli A, Gomasaschi M, Franceschini G, Calabresi L. Genetic determinants of HDL metabolism. *Current medicinal chemistry*. 2014;21(25):2855-63.
95. Merino DM, Ma DW, Mutch DM. Genetic variation in lipid desaturases and its impact on the development of human disease. *Lipids in health and disease*. 2010;9:63.
96. Dumitrescu L, Carty CL, Taylor K, Schumacher FR, Hindorff LA, Ambite JL, et al. Genetic determinants of lipid traits in diverse populations from the population architecture using genomics and epidemiology (PAGE) study. *PLoS genetics*. 2011;7(6):e1002138.

97. Kim H-Y. Statistical notes for clinical researchers: effect size. *Restor Dent Endod*. 2015;40(4):328-31.
98. Fritz CO, Morris PE, Richler JJ. Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation. *Journal of experimental psychology General*. 2012;141(1):2-18.
99. Qian H, Zhao X, Cao P, Lei J, Yan N, Gong X. Structure of the Human Lipid Exporter ABCA1. *Cell*. 2017;169(7):1228-39.e10.
100. Wang S, Smith JD. ABCA1 and nascent HDL biogenesis. *BioFactors (Oxford, England)*. 2014;40(6):547-54.
101. Phillips MC. Is ABCA1 a lipid transfer protein? *J Lipid Res*. 2018;59(5):749-63.
102. Nagata KO, Nakada C, Kasai RS, Kusumi A, Ueda K. ABCA1 dimer–monomer interconversion during HDL generation revealed by single-molecule imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(13):5034-9.
103. Haerian BS, Haerian MS, Roohi A, Mehrad-Majd H. ABCA1 genetic polymorphisms and type 2 diabetes mellitus and its complications. *Meta Gene*. 2017;13:104-14.
104. Acuna-Alonzo V, Flores-Dorantes T, Kruit JK, Villarreal-Molina T, Arellano-Campos O, Hunemeier T, et al. A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Human molecular genetics*. 2010;19(14):2877-85.
105. Gamboa-Melendez MA, Galindo-Gomez C, Juarez-Martinez L, Gomez FE, Diaz-Diaz E, Avila-Arcos MA, et al. Novel association of the R230C variant of the ABCA1 gene with high triglyceride levels and low high-density lipoprotein cholesterol levels in Mexican school-age children with high prevalence of obesity. *Archives of medical research*. 2015;46(6):495-501.
106. Villarreal-Molina T, Posadas-Romero C, Romero-Hidalgo S, Antunez-Arguelles E, Bautista-Grande A, Vargas-Alarcon G, et al. The ABCA1 gene R230C variant is associated with decreased risk of premature coronary artery disease: the genetics of atherosclerotic disease (GEA) study. *PLoS one*. 2012;7(11):e49285.
107. Villarreal-Molina MT, Aguilar-Salinas CA, Rodriguez-Cruz M, Riano D, Villalobos-Comparan M, Coral-Vazquez R, et al. The ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant affects HDL cholesterol levels and BMI in the Mexican population: association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes*. 2007;56(7):1881-7.
108. Aguilar-Salinas CA, Canizales-Quinteros S, Rojas-Martinez R, Mehta R, Rodriguez-Guillen R, Ordonez-Sanchez ML, et al. The non-synonymous Arg230Cys variant (R230C) of the ATP-binding cassette transporter A1 is associated with low HDL cholesterol concentrations in Mexican adults: a population based nation wide study. *Atherosclerosis*. 2011;216(1):146-50.
109. van de Loo JWHP, Creemers JWM, Kas K, Roebroek AJM, Van de Ven WJM. Assignment of the human proprotein convertase gene PCSK5 to chromosome 9q21.3. *Cytogenetic and Genome Research*. 1996;75(4):227-9.
110. Jin W, Wang X, Millar JS, Quertermous T, Rothblat GH, Glick JM, et al. Hepatic proprotein convertases modulate HDL metabolism. *Cell metabolism*. 2007;6(2):129-36.
111. Choi S, Korstanje R. Proprotein convertases in high-density lipoprotein metabolism. *Biomarker research*. 2013;1(1):27.
112. Jang HB, Hwang JY, Park JE, Oh JH, Ahn Y, Kang JH, et al. Intake levels of dietary polyunsaturated fatty acids modify the association between the genetic variation in PCSK5 and HDL cholesterol. *Journal of medical genetics*. 2014;51(12):782-8.
113. Kulka M. A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. *Polish journal of veterinary sciences*. 2016;19(1):225-32.

114. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vascular health and risk management*. 2018;14:137-43.
115. Marsillach J, Costa LG, Furlong CE. Paraoxonase-1 and Early-Life Environmental Exposures. *Annals of Global Health*. 2016;82(1):100-10.
116. Kowalska K, Socha E, Milnerowicz H. Review: The role of paraoxonase in cardiovascular diseases. *Annals of clinical and laboratory science*. 2015;45(2):226-33.
117. Maria Manresa J, Tomás M, Ribes E, Pi-Figueras M, Aguilera A, Sentí M, et al. Polimorfismo 192 del gen de la paraoxonasa 1, actividad física y lipoproteínas de alta densidad en la mujer. *Medicina Clínica*. 2004;122(4):126-9.
118. Uliano G, Muniz LC, Barros CC, Schneider A, Valle SC. Association between paraoxonase 1 (PON1) enzyme activity, PON1 C(-107)T polymorphism, nutritional status, and lipid profile in children. *Nutrire*. 2016;41(1):20.
119. Blatter Garin MC, Moren X, James RW. Paraoxonase-1 and serum concentrations of HDL-cholesterol and apoA-I. *J Lipid Res*. 2006;47(3):515-20.
120. Santos FG, Becker MK, Correa VS, Garcia DN, Vale SC, Crespo-Ribeiro JA, et al. The effect of the paraoxonase 1 (PON1) T(-107)C polymorphism on serum PON1 activity in women is dependent on fatty acid intake. *Nutrition research (New York, NY)*. 2016;36(1):9-15.
121. Perez-Herrera N, May-Pech C, Hernandez-Ochoa I, Castro-Mane J, Rojas-Garcia E, Borja-Aburto VH, et al. PON1Q192R polymorphism is associated with lipid profile in Mexican men with Mayan ascendancy. *Experimental and molecular pathology*. 2008;85(2):129-34.
122. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF- α gene polymorphisms and expression. *SpringerPlus*. 2016;5(1):1508-.
123. Elahi MM, Asotra K, Matata BM, Mastana SS. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: An analysis of association with health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2009;1792(3):163-72.
124. CUENCA J, PÉREZ CA, AGUIRRE AJ, SCHIATTINO I, AGUILLÓN JC. Genetic polymorphism at position -308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): Implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in the Chilean population. *Biological Research*. 2001;34:237-41.
125. Herrmann, Ricard, Nicaud, Mallet, Arveiler, Evans, et al. Polymorphisms of the tumour necrosis factor- α gene, coronary heart disease and obesity. *European Journal of Clinical Investigation*. 1998;28(1):59-66.
126. Yu G-I, Ha E, Park S-H, Park J-H, Jang H-S, Bae J-H, et al. Association of tumor necrosis factor- α (TNF- α) promoter polymorphisms with overweight/obesity in a Korean population. *Inflammation Research*. 2011;60(12):1099-105.
127. Joffe YT, van der Merwe L, Evans J, Collins M, Lambert EV, September A, et al. The tumor necrosis factor-alpha gene -238G>A polymorphism, dietary fat intake, obesity risk and serum lipid concentrations in black and white South African women. *European journal of clinical nutrition*. 2012;66(12):1295-302.
128. Fontaine-Bisson B, Wolever TM, Chiasson JL, Rabasa-Lhoret R, Maheux P, Josse RG, et al. Genetic polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha modify the association between dietary polyunsaturated fatty acids and fasting HDL-cholesterol and apo A-I concentrations. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;86(3):768-74.
129. Joffe YT, van der Merwe L, Collins M, Carstens M, Evans J, Lambert EV, et al. The -308 G/A polymorphism of the tumour necrosis factor-alpha gene modifies the association between saturated fat intake and serum total cholesterol levels in white South African women. *Genes & nutrition*. 2011;6(4):353-9.

130. Parra-Rojas I, Ruiz-Madrigal B, Martinez-Lopez E, Panduro A. Influence of the -308 TNF-alpha and -174 IL-6 polymorphisms on lipid profile in Mexican subjects. *Hereditas*. 2006;143(2006):167-72.
131. O'Donoghue MC, Murphy SE, Zamboni G, Nobre AC, Mackay CE. APOE genotype and cognition in healthy individuals at risk of Alzheimer's disease: A review. *Cortex*. 2018;104:103-23.
132. Marais AD. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health and cardiovascular disease. *Pathology*. 2019;51(2):165-76.
133. Ashavaid TF, Todur SP, Nair KG. Apolipoprotein E polymorphism and coronary heart disease. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2003;51:784-8.
134. Viiri LE, Loimaala A, Nenonen A, Islam S, Vuori I, Karhunen PJ, et al. The association of the apolipoprotein E gene promoter polymorphisms and haplotypes with serum lipid and lipoprotein concentrations. *Atherosclerosis*. 2005;179(1):161-7.
135. Papaioannou I, Paul Simons J, S Owen J. Targeted In Situ Gene Correction of Dysfunctional APOE Alleles to Produce Atheroprotective Plasma ApoE3 Protein 2012. 148796 p.
136. Zhong L, Xie Y-Z, Cao T-T, Wang Z, Wang T, Li X, et al. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism 2016.
137. Moriarty P. Association of ApoE and HDL C with cardiovascular and cerebrovascular disease: potential benefits of LDL-apheresis therapy. *Clinical Lipidology*. 2009;4(3):311-29.
138. Caslake MJ, Miles EA, Kofler BM, Lietz G, Curtis P, Armah CK, et al. Effect of sex and genotype on cardiovascular biomarker response to fish oils: the FINGEN Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(3):618-29.
139. Minihiene AM, Khan S, Leigh-Firbank EC, Talmud P, Wright JW, Murphy MC, et al. ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(8):1990-7.
140. Huang MC, Chang WT, Chang HY, Chung HF, Chen FP, Huang YF, et al. FADS Gene Polymorphisms, Fatty Acid Desaturase Activities, and HDL-C in Type 2 Diabetes. *International journal of environmental research and public health*. 2017;14(6).
141. Lattka E, Illig T, Heinrich J, Koletzko B. Do FADS genotypes enhance our knowledge about fatty acid related phenotypes? *Clinical Nutrition*. 2010;29(3):277-87.
142. Cormier H, Rudkowska I, Thifault E, Lemieux S, Couture P, Vohl MC. Polymorphisms in Fatty Acid Desaturase (FADS) Gene Cluster: Effects on Glycemic Controls Following an Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) Supplementation. *Genes*. 2013;4(3):485-98.
143. Kroger J, Schulze MB. Recent insights into the relation of Delta 5 desaturase and Delta 6 desaturase activity to the development of type 2 diabetes. *Curr Opin Lipidol*. 2012;23.
144. Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka K, et al. A single nucleotide polymorphism in the FADS1/FADS2 gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle. *Human genetics*. 2010;127(6):685-90.
145. O'Neill CM, Minihiene AM. The impact of fatty acid desaturase genotype on fatty acid status and cardiovascular health in adults. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2017;76(1):64-75.
146. Al-Hilal M, Alsaleh A, Maniou Z, Lewis FJ, Hall WL, Sanders TA, et al. Genetic variation at the FADS1-FADS2 gene locus influences delta-5 desaturase activity and LC-PUFA proportions after fish oil supplement. *J Lipid Res*. 2013;54(2):542-51.
147. Klingel SL, Valsesia A, Astrup A, Kunesova M, Saris WHM, Langin D, et al. FADS1 genotype is distinguished by human subcutaneous adipose tissue fatty acids, but not inflammatory gene expression. *International journal of obesity (2005)*. 2018.

148. Hong SH, Kwak JH, Paik JK, Chae JS, Lee JH. Association of polymorphisms in FADS gene with age-related changes in serum phospholipid polyunsaturated fatty acids and oxidative stress markers in middle-aged nonobese men. *Clinical interventions in aging*. 2013;8:585-96.
149. Roke K, Jannas-Vela S, Spriet LL, Mutch DM. FADS2 genotype influences whole-body resting fat oxidation in young adult men. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2016;41(7):791-4.
150. Roke K, Mutch DM. The role of FADS1/2 polymorphisms on cardiometabolic markers and fatty acid profiles in young adults consuming fish oil supplements. *Nutrients*. 2014;6(6):2290-304.
151. Lu Y, Feskens EJ, Dolle ME, Imholz S, Verschuren WM, Muller M, et al. Dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid intake interacts with FADS1 genetic variation to affect total and HDL-cholesterol concentrations in the Doetinchem Cohort Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2010;92(1):258-65.
152. Rangel-Huerta OD, Gil A. Omega 3 fatty acids in cardiovascular disease risk factors: An updated systematic review of randomised clinical trials. *Clinical Nutrition*. 2018;37(1):72-7.
153. Manuelli M, Della Guardia L, Cena H. Enriching Diet with n-3 PUFAs to Help Prevent Cardiovascular Diseases in Healthy Adults: Results from Clinical Trials. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1552.
154. Siri PW, Krauss RM. Influence of dietary carbohydrate and fat on LDL and HDL particle distributions. *Curr Atheroscler Rep*. 2005;7(6):455-9.
155. Bona KH, Bjerve KS, Nordoy A. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids in plasma phospholipids are divergently associated with high density lipoprotein in humans. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*. 1992;12(6):675-81.
156. Carvajal O, Angulo O. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on the lipidic profile of healthy Mexican volunteers. *Salud publica de Mexico*. 1997;39(3):221-4.
157. Jannas-Vela S, Roke K, Boville S, Mutch DM, Spriet LL. Lack of effects of fish oil supplementation for 12 weeks on resting metabolic rate and substrate oxidation in healthy young men: A randomized controlled trial. *PloS one*. 2017;12(2):e0172576.
158. Zulyniak MA, Perreault M, Gerling C, Spriet LL, Mutch DM. Fish oil supplementation alters circulating eicosanoid concentrations in young healthy men. *Metabolism: clinical and experimental*. 2013;62(8):1107-13.
159. Zulyniak MA, Roke K, Gerling C, Logan SL, Spriet LL, Mutch DM. Fish oil regulates blood fatty acid composition and oxylipin levels in healthy humans: A comparison of young and older men. *Molecular nutrition & food research*. 2016;60(3):631-41.
160. Blonk MC, Bilo HJ, Nauta JJ, Popp-Snijders C, Mulder C, Donker AJ. Dose-response effects of fish-oil supplementation in healthy volunteers. *The American journal of clinical nutrition*. 1990;52(1):120-7.
161. Sacks FM, Hebert P, Appel LJ, Borhani NO, Applegate WB, Cohen JD, et al. The effect of fish oil on blood pressure and high-density lipoprotein-cholesterol levels in phase I of the Trials of Hypertension Prevention. *Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group. Journal of hypertension Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*. 1994;12(7):S23-31.
162. Cormier H, Rudkowska I, Lemieux S, Couture P, Julien P, Vohl MC. Effects of FADS and ELOVL polymorphisms on indexes of desaturase and elongase activities: results from a pre-post fish oil supplementation. *Genes & nutrition*. 2014;9(6):437.
163. Do HJ, Chung HK, Moon J, Shin M-J. Relationship between the estimates of desaturase activities and cardiometabolic phenotypes in Koreans. *J Clin Biochem Nutr*. 2011;49(2):131-5.

164. Aslibekyan S, Jensen MK, Campos H, Linkletter CD, Loucks EB, Ordovas JM, et al. Fatty Acid desaturase gene variants, cardiovascular risk factors, and myocardial infarction in the costa rica study. *Frontiers in genetics*. 2012;3:72.
165. Liu F, Li Z, Lv X, Ma J. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid intakes modify the effect of genetic variation in fatty acid desaturase 1 on coronary artery disease. *PloS one*. 2015;10(4):e0121255.
166. Binia A, Vargas-Martinez C, Ancira-Moreno M, Gosoniu LM, Montoliu I, Gamez-Valdez E, et al. Improvement of cardiometabolic markers after fish oil intervention in young Mexican adults and the role of PPARalpha L162V and PPARgamma2 P12A. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2017;43:98-106.
167. Hara A, Radin NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*. 1978;90(1):420-6.
168. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957;226(1):497-509.
169. Radin NS. Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity. *Methods in enzymology*. 1981;72:5-7.
170. Desjardins P, Conklin D. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*. 2010(45).
171. Hernández ÁG. *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*: Elsevier España, S.A.; 2010.
172. The Genomes Project C, Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Abecasis GR, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526:68.
173. Lenhard WL, A. Calculation of Effect Sizes. 2016 [Available from: https://www.psychometrica.de/effect_size.html].
174. Clarke SD. Polyunsaturated Fatty Acid Regulation of Gene Transcription: A Molecular Mechanism to Improve the Metabolic Syndrome. *The Journal of nutrition*. 2001;131(4):1129-32.
175. Georgiadi A, Kersten S. Mechanisms of gene regulation by fatty acids. *Adv Nutr*. 2012;3(2):127-34.
176. Uauy D R, Martínez A JI, Rojas B CV. Nutrición molecular, papel del sistema PPAR en el metabolismo lipídico y su importancia en obesidad y diabetes mellitus: regulation of lipid metabolism by peroxisome proliferator activated receptors (PPAR). Their relationship to obesity and diabetes mellitus. *Revista médica de Chile*. 2000;128:437-46.
177. Mogilenko DA, Shavva VS, Dizhe EB, Orlov SV, Perevozchikov AP. PPARgamma activates ABCA1 gene transcription but reduces the level of ABCA1 protein in HepG2 cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;402(3):477-82.
178. Rojas-Garcia AE, Solis-Heredia MJ, Pina-Guzman B, Vega L, Lopez-Carrillo L, Quintanilla-Vega B. Genetic polymorphisms and activity of PON1 in a Mexican population. *Toxicology and applied pharmacology*. 2005;205(3):282-9.
179. Martínez-Salazar MF, Almenares-López D, García-Jiménez S, Sánchez-Alemán MA, Juantorena-Ugás A, Ríos C, et al. Relationship between the paraoxonase (PON1) L55M and Q192R polymorphisms and obesity in a Mexican population: a pilot study. *Genes & nutrition*. 2011;6(4):361-8.
180. Sanchez-Leyva M, Sanchez-Zazueta JG, Osuna-Ramos JF, Rendon-Aguilar H, Felix-Espinoza R, Becerra-Loaiza DS, et al. Genetic Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha and Susceptibility to Dengue Virus Infection in a Mexican Population. *Viral immunology*. 2017;30(8):615-21.

181. Vargas-Alarcon G, Ramírez-Bello J, Juárez-Cedillo T, Ramírez-Fuentes S, Carrillo-Sánchez S, Fragoso JM. Distribution of the IL-1RN, IL-6, IL-10, INF- γ , and TNF- α Gene Polymorphisms in the Mexican Population. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2012;16(10):1246-53.
182. Gonzalez-Casanova I, Rzehak P, Stein AD, Garcia Feregrino R, Rivera Dommarco JA, Barraza-Villarreal A, et al. Maternal single nucleotide polymorphisms in the fatty acid desaturase 1 and 2 coding regions modify the impact of prenatal supplementation with DHA on birth weight. *The American journal of clinical nutrition*. 2016;103(4):1171-8.
183. Plaisier CL, Horvath S, Huertas-Vazquez A, Cruz-Bautista I, Herrera MF, Tusie-Luna T, et al. A systems genetics approach implicates USF1, FADS3, and other causal candidate genes for familial combined hyperlipidemia. *PLoS genetics*. 2009;5(9):e1000642.
184. Vazquez-Vidal I, Voruganti VS, Hannon BA, Andrade FCD, Aradillas-García C, Nakamura MT, et al. Serum Lipid Concentrations and FADS Genetic Variants in Young Mexican College Students: The UP-AMIGOS Cohort Study. *Lifestyle Genomics*. 2018;11(1):40-8.
185. Flock MR, Skulas-Ray AC, Harris WS, Etherton TD, Fleming JA, Kris-Etherton PM. Determinants of erythrocyte omega-3 fatty acid content in response to fish oil supplementation: a dose-response randomized controlled trial. *Journal of the American Heart Association*. 2013;2(6):e000513-e.
186. Kirkhus B, Lamglait A, Eilertsen KE, Falch E, Haider T, Vik H, et al. Effects of similar intakes of marine n-3 fatty acids from enriched food products and fish oil on cardiovascular risk markers in healthy human subjects. *The British journal of nutrition*. 2012;107(9):1339-49.
187. Ramprasath VR, Eyal I, Zchut S, Jones PJ. Enhanced increase of omega-3 index in healthy individuals with response to 4-week n-3 fatty acid supplementation from krill oil versus fish oil. *Lipids in health and disease*. 2013;12:178.
188. Song J, Hu M, Li C, Yang B, Ding Q, Wang C, et al. Dose-dependent effects of fish oil on cardio-metabolic biomarkers in healthy middle-aged and elderly Chinese people: a double-blind randomized controlled trial. *Food & function*. 2018;9(6):3235-43.
189. Palmisano BT, Zhu L, Eckel RH, Stafford JM. Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism. *Molecular Metabolism*. 2018;15:45-55.
190. Pizzini A, Lunger L, Demetz E, Hilbe R, Weiss G, Ebenbichler C, et al. The Role of Omega-3 Fatty Acids in Reverse Cholesterol Transport: A Review. *Nutrients*. 2017;9(10).
191. Yanai H, Katsuyama H, Hamasaki H, Abe S, Tada N, Sako A. Effects of Dietary Fat Intake on HDL Metabolism. *J Clin Med Res*. 2015;7(3):145-9.
192. Nettleton JA, Steffen LM, Ballantyne CM, Boerwinkle E, Folsom AR. Associations between HDL-cholesterol and polymorphisms in hepatic lipase and lipoprotein lipase genes are modified by dietary fat intake in African American and White adults. *Atherosclerosis*. 2007;194(2):e131-e40.
193. Paradis M-E, Couture P, Bossé Y, Després J-P, Pérusse L, Bouchard C, et al. The T111I mutation in the EL gene modulates the impact of dietary fat on the HDL profile in women. *Journal of lipid research*. 2003;44(10):1902-8.
194. Junyent M, Parnell LD, Lai C-Q, Lee Y-C, Smith CE, Arnett DK, et al. Novel variants at KCTD10, MVK, and MMAB genes interact with dietary carbohydrates to modulate HDL-cholesterol concentrations in the Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;90(3):686-94.
195. Jacobo-Albavera L, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G, Romero-Hidalgo S, Posadas-Sánchez R, González-Salazar MDC, et al. Dietary fat and carbohydrate modulate the effect of the ATP-binding cassette A1 (ABCA1) R230C variant on metabolic risk parameters in premenopausal women from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) Study. *Nutrition & metabolism*. 2015;12:45-.

196. Yan H, Cheng L, Jia R, Yao H, Wu H, Shen Y, et al. ATP-binding cassette sub-family a member1 gene mutation improves lipid metabolic abnormalities in diabetes mellitus. *Lipids in health and disease*. 2019;18(1):103-.
197. Fournier N, Sayet G, Védie B, Nowak M, Allaoui F, Solgadi A, et al. Eicosapentaenoic acid membrane incorporation impairs cholesterol efflux from cholesterol-loaded human macrophages by reducing the cholesteryl ester mobilization from lipid droplets. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2017;1862(10, Part A):1079-91.
198. Olano-Martin E, Anil E, Caslake MJ, Packard CJ, Bedford D, Stewart G, et al. Contribution of apolipoprotein E genotype and docosahexaenoic acid to the LDL-cholesterol response to fish oil. *Atherosclerosis*. 2010;209(1):104-10.
199. Chouinard-Watkins R, Conway V, Minihane AM, Jackson KG, Lovegrove JA, Plourde M. Interaction between BMI and APOE genotype is associated with changes in the plasma long-chain-PUFA response to a fish-oil supplement in healthy participants. *The American journal of clinical nutrition*. 2015;102(2):505-13.
200. Phillips MC. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life*. 2014;66(9):616-23.
201. Wilson PW, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16(10):1250-5.
202. Thifault E, Cormier H, Bouchard-Mercier A, Rudkowska I, Paradis AM, Garneau V, et al. Effects of Age, Sex, Body Mass Index and APOE Genotype on Cardiovascular Biomarker Response to an n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation. *Lifestyle Genomics*. 2013;6(2):73-82.
203. Moriarty P. Association of ApoE and HDL.C with cardiovascular and cerebrovascular disease:potential benefits of LDL-apheresis therapy. *Clinical Lipidology*. 2009;4:3:311-29.
204. Imamura S, Morioka T, Yamazaki Y, Numaguchi R, Urata H, Motoyama K, et al. Plasma polyunsaturated fatty acid profile and delta-5 desaturase activity are altered in patients with type 2 diabetes. *Metabolism - Clinical and Experimental*. 2014;63(11):1432-8.
205. Zak A, Slaby A, Tvrzicka E, Jachymova M, Macasek J, Vecka M, et al. [Desaturases of fatty acids (FADS) and their physiological and clinical implication]. *Casopis lekaru ceskych*. 2016;155(2):15-21.
206. Tallima H, El Ridi R. Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits – A review. *Journal of Advanced Research*. 2018;11:33-41.
207. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2018;132:41-8.
208. Yary T, Voutilainen S, Tuomainen TP, Ruusunen A, Nurmi T, Virtanen JK. Omega-6 polyunsaturated fatty acids, serum zinc, delta-5- and delta-6-desaturase activities and incident metabolic syndrome. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*. 2017;30(4):506-14.
209. Hua MC, Su HM, Yao TC, Kuo ML, Lai MW, Tsai MH, et al. Alternation of plasma fatty acids composition and desaturase activities in children with liver steatosis. *PLoS one*. 2017;12(7):e0182277.
210. Saito E, Okada T, Abe Y, Odaka M, Kuromori Y, Iwata F, et al. Abdominal adiposity is associated with fatty acid desaturase activity in boys: Implications for C-reactive protein and insulin resistance. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2013;88(4):307-11.
211. Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. *The British journal of nutrition*. 2000;83 Suppl 1:S91-6.
212. Guo H, Zhang L, Zhu C, Yang F, Wang S, Zhu S, et al. A Single Nucleotide Polymorphism in the FADS1 Gene is Associated with Plasma Fatty Acid and Lipid Profiles and Might Explain Gender Difference in Body Fat Distribution. *Lipids in health and disease*. 2017;16(1):67.

213. Matsuda M, Kawamoto T, Tamura R. Predictive value of serum dihomo-gamma-linolenic acid level and estimated Delta-5 desaturase activity in patients with hepatic steatosis. *Obes Res Clin Pract.* 2017;11(1):34-43.
214. Sibbons CM, Brenna JT, Lawrence P, Hoile SP, Clarke-Harris R, Lillycrop KA, et al. Effect of sex hormones on n-3 polyunsaturated fatty acid biosynthesis in HepG2 cells and in human primary hepatocytes. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids.* 2014;90(2-3):47-54.
215. Giltay EJ, Gooren LJ, Toorians AW, Katan MB, Zock PL. Docosahexaenoic acid concentrations are higher in women than in men because of estrogenic effects. *The American journal of clinical nutrition.* 2004;80(5):1167-74.
216. Lohner S, Fekete K, Marosvölgyi T, Decsi T. Gender Differences in the Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Status: Systematic Review of 51 Publications. *Annals of Nutrition and Metabolism.* 2013;62(2):98-112.
217. Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Watanabe T, Kohri T, et al. Lower estimates of delta-5 desaturase and elongase activity are related to adverse profiles for several metabolic risk factors in young Japanese women. *Nutrition research (New York, NY).* 2008;28(12):816-24.
218. Warensjo E, Rosell M, Hellenius ML, Vessby B, Faire U, Riserus U. Associations between estimated fatty acid desaturase activities in serum lipids and adipose tissue in humans: links to obesity and insulin resistance. *Lipids in health and disease.* 2009;8.
219. Wolters M, Schlenz H, Bornhorst C, Rise P, Galli C, Moreno LA, et al. Desaturase Activity Is Associated With Weight Status and Metabolic Risk Markers in Young Children. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2015;100(10):3760-9.
220. Cribb L, Murphy J, Froud A, Oliver G, Bousman CA, Ng CH, et al. Erythrocyte polyunsaturated fatty acid composition is associated with depression and FADS genotype in Caucasians. *Nutritional neuroscience.* 2017:1-13.
221. Hester AG, Murphy RC, Uhelson CJ, Ivester P, Lee TC, Sergeant S, et al. Relationship between a common variant in the fatty acid desaturase (FADS) cluster and eicosanoid generation in humans. *J Biol Chem.* 2014;289(32):22482-9.
222. Li Y, Nara TY, Nakamura MT. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha is required for feedback regulation of highly unsaturated fatty acid synthesis. *J Lipid Res.* 2005;46(11):2432-40.
223. Minihihane AM. Impact of Genotype on EPA and DHA Status and Responsiveness to Increased Intakes. *Nutrients.* 2016;8(3).
224. Harris WS, Pottala JV, Thiselton DL, S AV, Baedke AM, Dayspring TD, et al. Does APOE genotype modify the relations between serum lipid and erythrocyte omega-3 fatty acid levels? *Journal of cardiovascular translational research.* 2014;7(5):526-32.
225. Fisk HL, Irvine M, Miles EA, Lietz G, Mathers JC, Packard CJ, et al. Association of oily fish intake, sex, age, BMI and APOE genotype with plasma long-chain n-3 fatty acid composition. *The British journal of nutrition.* 2018;120(1):23-32.
226. Lou-Bonafonte JM, Gabas-Rivera C, Navarro MA, Osada J. PON1 and Mediterranean Diet. *Nutrients.* 2015;7(6):4068-92.
227. Kim DS, Maden SK, Burt AA, Ranchalis JE, Furlong CE, Jarvik GP. Dietary fatty acid intake is associated with paraoxonase 1 activity in a cohort-based analysis of 1,548 subjects. *Lipids in health and disease.* 2013;12:183.
228. Varatharajalu R, Garige M, Leckey LC, Gong M, Lakshman MR. Betaine Protects Chronic Alcohol and ω -3 PUFA-Mediated Down-Regulations of PON1 Gene, Serum PON1 and Homocysteine Thiolactonase Activities With Restoration of Liver GSH. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 2010;34(3):424-31.

229. Freese R, Alfthan G, Jauhiainen M, Basu S, Erlund I, Salminen I, et al. High intakes of vegetables, berries, and apples combined with a high intake of linoleic or oleic acid only slightly affect markers of lipid peroxidation and lipoprotein metabolism in healthy subjects. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;76(5):950-60.
230. Zhang Z, Ou J, Cai P, Niu B, Li J. Association between the PON1 Q192R polymorphism and coronary heart disease in Chinese: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(26):e11151-e.
231. Zafiroopoulos A, Linardakis M, Jansen EH, Tsatsakis AM, Kafatos A, Tzanakakis GN. Paraoxonase 1 R/Q alleles are associated with differential accumulation of saturated versus 20:5n3 fatty acid in human adipose tissue. *J Lipid Res*. 2010;51(7):1991-2000.
232. Gamboa R, Regalado JC, Huesca-Gómez C, Posadas-Romero C, Verdejo Paris J, Vargas-Alarcón G, et al. Actividades paraoxonasa y arilesterasa bajas en sujetos mexicanos con enfermedad arterial coronaria. *Archivos de cardiología de México*. 2008;78:360-8.
233. Rasic-Milutinovic Z, Popovic T, Perunicic-Pekovic G, Arsic A, Borozan S, Glibetic M. Lower Serum Paraoxonase-1 Activity Is Related to Linoleic and Docosahexanoic Fatty Acids in Type 2 Diabetic Patients. *Archives of medical research*. 2012;43(1):75-82.
234. Boshtam M, Razavi AE, Pourfarzam M, Ani M, Naderi GA, Basati G, et al. Serum paraoxonase 1 activity is associated with fatty acid composition of high density lipoprotein. *Dis Markers*. 2013;35(4):273-80.
235. Chorev M, Carmel L. The function of introns. *Frontiers in genetics*. 2012;3:55-.
236. Kourimate S, Le May C, Langhi C, Cardou AI, Ouguerram K, Zair Y, et al. Dual Mechanisms for the Fibrate-mediated Repression of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 92008. 9666-73 p.
237. Nagata M, Hata J, Hirakawa Y, Mukai N, Yoshida D, Ohara T, et al. The ratio of serum eicosapentaenoic acid to arachidonic acid and risk of cancer death in a Japanese community: The Hisayama Study. *Journal of Epidemiology*. 2017;27(12):578-83.
238. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2002;56(8):365-79.
239. Simopoulos AP, DiNicolantonio JJ. The importance of a balanced ω -6 to ω -3 ratio in the prevention and management of obesity. *Open Heart*. 2016;3(2):e000385.
240. Simopoulos AP. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*. 2016;8(3):128.
241. Caspar-Bauguil S, Fioroni A, Galinier A, Allenbach S, Pujol MC, Salvayre R, et al. Pro-inflammatory phospholipid arachidonic acid/eicosapentaenoic acid ratio of dysmetabolic severely obese women. *Obesity surgery*. 2012;22(6):935-44.
242. Karmina Sánchez Meza CETP, Carmen Alicia Sánchez Ramírez, Roberto Muñiz Valencia, Mario Del Toro Equihua. The serum arachidonic acid/eicosapentaenoic acid ratio in children with healthy weight and obesity. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2018;68(1).
243. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology*. 2009;77(6):937-46.
244. Jackson KH, Polreis JM, Tintle NL, Kris-Etherton PM, Harris WS. Association of reported fish intake and supplementation status with the omega-3 index. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2019;142:4-10.
245. Weaver KL, Ivester P, Seeds M, Case LD, Arm JP, Chilton FH. Effect of dietary fatty acids on inflammatory gene expression in healthy humans. *J Biol Chem*. 2009;284(23):15400-7.
246. Gómez Candela C, Bermejo López LM, Loria Kohen V. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health: Nutritional recommendations. *Nutricion hospitalaria*. 2011;26:323-9.

247. Simopoulos AP. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk. *Exp Biol Med* (Maywood). 2010;235.
248. Srinivasan SR, Li S, Chen W, Tang R, Bond MG, Boerwinkle E, et al. Q192R polymorphism of the paraoxanase 1 gene and its association with serum lipoprotein variables and carotid artery intima-media thickness in young adults from a biracial community. The Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis*. 2004;177(1):167-74.
249. Hernandez-Avila M, Romieu I, Parra S, Hernandez-Avila J, Madrigal H, Willett W. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud publica de Mexico*. 1998;40(2):133-40.
250. Gallagher SR. Quantitation of DNA and RNA with Absorption and Fluorescence Spectroscopy. *Current protocols in immunology*. 2017;116:A.3I.1-a.3I.14.
251. Inc. TFS. NanoDrop 1000 Spectrophotometer V3.7 User's Manual. In: Scientific T, editor. USA2008.
252. Scientific TF. NanoDrop 1000 Spectrophotometer V3.7 User's Manual. 2008:105.
253. McGuigan FE, Ralston SH. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatric genetics*. 2002;12(3):133-6.
254. México INdMG. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE LA UNIDAD DE SECUENCIACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS. 2008:38.

11. ANEXOS

I. ANEXO Efecto de la ingestión de AGPI-CL Ω 3 sobre el RCV

Autores/Año	Diseño de estudio	Población	Dosis/ Duración	Resultados
Jannas-Vela et al. (157) 2017	Experimental aleatorio controlado	26 hombres sanos de 22±3 años	12 semanas 2g EPA + 1g de DHA 3g de aceite de oliva	Sin cambios en colesterol total y HDL-c en ningún grupo
Zulyniak et al. (159) 2016	Experimental controlado con placebo	15 hombres (18-30 años) y 17 mujeres (60-74 años) de Guelph (Canadá)	2g EPA + 1g DHA 3 meses	En ambos grupos: ↓TGL Sin cambio HDL-c
Zulyniak et al. (158) 2013	Experimental	12 hombres sanos de 18 a 30 años de la Universidad de Guelph (Canadá)	2g EPA + 1g DHA 3 meses	↓TGL ↑ razón Colesterol total/HDL Sin cambio HDL-c
Sacks et al.(161) 1994	Experimental aleatorio	350 hombres y mujeres sanos de 30 a 54 años	Aceite de pescado: 6 capsulas/d (240mg EPA, 160mg DHA, 100 DPA) = 3g/d Placebo: Aceite de oliva 6 meses	Aceite de pescado: ↑ HDL ₂ ↓HDL ₃
Carvajal et al.(156) 1997	Experimental	45 mexicanos (23 mujeres y 22 hombres)	3g salmón: 6 cápsulas/d durante 4 semanas	Normolipidémicos: HDL-c: ↑ 7.9%
Bønaa KH et al.(155) 1992	Experimental aleatorio	146 hombres y mujeres sanos de 34 a 60 años en Noruega (Tromsø).	Aceite de pescado: 3.3g EPA + 1.8G DHA Aceite de maíz: 3.4g linoleico 10 semanas	Aceite de pescado: ↑ HDL-c Aceite de maíz: ↑HDL-c ↑ Apo A-I
Blonk et al. (160) 1990	Experimental aleatorizado, controlado en el efecto dosis respuesta	45 hombres sanos de 33±6 años de Amsterdam	Aceite de pescado: 300mgEPA+200mgDHA+1mg vit E 0,3,6 y 12 capsulas durante 12 semanas	Respuesta dosis dependiente de: ↑ HDL ₂ ↓HDL ₃ ↓TGL

II. ANEXO Metodología previa

Datos clínicos

Se elaboró una historia clínica con el fin de obtener un panorama general del estado de salud de cada sujeto de estudio. Los datos que se recolectaron son: datos demográficos, antecedentes patológicos familiares y personales, información sobre consumo de medicamentos, presencia de alergias, aspectos ginecológicos (en el caso de las mujeres) y algunas preguntas sobre estilo de vida (hábitos de alcoholismo y tabaquismo).

Datos Antropométricos

La evaluación antropométrica se determinó mediante técnicas previamente estandarizadas para reducir la variabilidad intra e intersujeto; estas medidas fueron realizadas en estado de ayuno:

Peso: se utilizó el analizador de composición corporal InBody720®.

Talla: se determinó utilizando un estadímetro convencional tomando en cuenta el plano de Frankfort para una correcta medición.

Circunferencia de cintura:

Recolección de los datos dietéticos

Se utilizó el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos elaborado y avalado por el Instituto Nacional de Salud Pública (SNUT), ésta herramienta permite adquirir datos cualitativos y semicuantitativos de la dieta habitual de cada sujeto del estudio (249).

Muestra sanguínea

Se tomaron muestras sanguíneas (~5ml) en condiciones de ayuno (8 horas) al inicio y al final de la suplementación. Las muestras fueron recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA y posteriormente fueron sometidas a centrifugación para obtener componentes de interés (plasma, buffy coat, células mononucleares).

Datos bioquímicos

Los parámetros determinados a partir de plasma sanguíneo en ayunas son: glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol total, LDL-C, HDL-C, HbA1c. Estos análisis se realizaron mediante métodos enzimáticos estandarizados en un laboratorio independiente.

Intervención

El producto utilizado para realizar la intervención fue Triple Strength Fish Oil, GNC Preventive Nutrition®. La cápsula contiene 647 mg de EPA y 253 mg de DHA.

La forma de consumo fue oral y la dosis fue de 1941mg EPA y 759mg DHA. La indicación de consumo fue de 3 cápsulas por día durante 6 semanas, junto con alimentos; de preferencia durante el desayuno.

Extracción de ADN

El ADN fue extraído a partir de la capa leucoplaquetaria (buffy-coat) obtenida de aproximadamente 5 ml de sangre total, utilizando el QIAamp DNA blood mini kit® de QIAGEN. Durante este procedimiento el ADN se une de manera específica a una membrana de sílica-gel mientras que los contaminantes pasan a través de ella. Inhibidores de PCR, como cationes divalentes y proteínas son removidos a partir de lavados con buffers (QIAGEN 2013).

Una vez obtenido el ADN, fue eluído en agua libre de nucleasas.

III. ANEXO Fundamento y protocolo de medición de ácidos nucleicos

Las bases púricas y pirimidícas del ADN tienen la propiedad de absorber la luz UV a la longitud de onda de 260nm.

Las fuentes comunes de contaminantes asociados a las técnicas específicas de aislamiento de ácidos nucleicos incluyen; proteínas, fenoles, carbohidratos. Para obtener el tipo y grado de impurezas se utilizan dos razones:

- 260/280: con esta razón se estima el grado de impurezas de origen proteico ya que la longitud de onda máxima de absorción de proteínas es a 280nm. Un valor de ~ 1.8 es considerado como puro.
- 260/230: nos ayuda a evaluar el nivel de sales que tiene el DNA purificado. Los hidratos de carbono, fenoles, EDTA, compuestos aromáticos tienen una longitud de onda máxima de absorción a 230nm; entre menor sea la razón será mayor la cantidad de sales presentes, el rango deberá ser de 1.8-2.2 (250, 251).

Procedimiento de medición de ácidos nucleicos en el Nanodrop de acuerdo al manual de usuario(252):

1. Se limpió el nanodrop con 2 μ l de agua de grado molecular (Accugene) con una micropipeta y se limpió con una toallita industrial (Kimwipe). Una vez limpio el nanodrop se abrió el software asociado (ND-1000 3.3.0) y se seleccionó el tipo de muestra a cuantificar (ácidos nucleicos).
2. Posteriormente se volvió a colocar agua de grado molecular (Accugene) y se blanqueó, una vez blanqueado se limpió el nanodrop.
3. Se colocó el ID correspondiente a la muestra, se depositó 1 μ l de muestra en el pedestal inferior empleando una micropipeta, se cerró el pedestal superior y se inició la medida espectral empleando el software asociado al equipo (ND-1000 3.3.0). Se limpió la muestra con una toallita industrial (Kimwipe).
4. Al finalizar la medición se limpió el nanodrop con 2 μ l de agua de grado molecular (Accugene) y se guardaron las mediciones realizadas.

IV. ANEXO. Fundamento sondas TAQMAN

Las sondas que se utilizaron para realizar discriminación alélica son Taqman (Applied Biosystems) el cual se basan en el método FRET; transferencia de energía fluorescente mediante la resonancia entre dos moléculas. Estas moléculas son 2 tipos de fluorocromos unidos al extremo 5' (VIC® de la sonda del alelo 1 y FAM™ unido al extremo del alelo 2), el cual uno actúa como donador y el otro fluorocromo como aceptor y un quencher o silenciador unido al extremo 3'. El principio se basa en que una molécula de alta energía (fluorocromo) cerca a otra de baja energía (quencher) promueve una transferencia energética sin emisión de fluorescencia. Una vez que se separan estas moléculas se emite la fluorescencia, que es captada el lector del equipo mediante luz láser.

Durante la fase de extensión de la reacción de PCR la DNA polimerasa rompe la sonda hibridada con el DNA molde, separando el fluorocromo del quencher y detectándose emisión de fluorescencia de la(s) sonda(s) que hibridaron; el cual, dependiendo de la fluorescencia que genera la amplificación de PCR indica qué alelos hay en la muestra. (253)

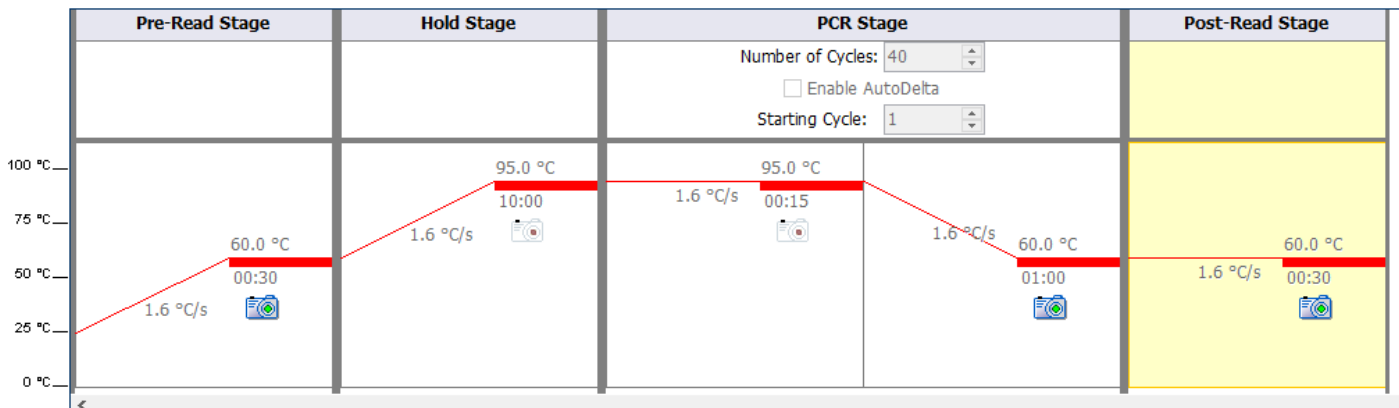
141. McGuigan FE, Ralston SH. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatric genetics*. 2002;12(3):133-6.

PROTOCOLO TIEMPO REAL

Para llevar a cabo la PCR tiempo real se siguió el protocolo establecido del INMEGEN(254) que se menciona a continuación:

1. Se descongelaron los reactivos a temperatura ambiente; cubrieron con aluminio los reactivos que contengan fluorocromos (sondas Taqman) y se mantuvieron todos los reactivos en hielo. Durante este lapso rotular adecuadamente la placa de 96 pozos.
2. Se preparó la mezcla de reacción tomando en consideración la concentración de la sonda (40x), número de muestras y réplicas, con roles endógenos, controles negativos y positivos. Para una placa de 96 pozos se utilizaron los siguientes reactivos: Universal PCR Master Mix; 225.0µL, sonda (40x): 5.5µL y H2O grado Biol Mol 295µL.
3. Se mezclaron los reactivos 4 veces por pipeteo y se dio un pulso en la picofuga.
4. Se alicuotó 61 µL de la mezcla de reacción en tubos para PCR de 8 tiras y se dispensó 5 µL de la mezcla de reacción con una pipeta multicanal a cada hilera de la placa de PCR.
5. Se dispensó 1µl de muestra a una concentración de 15ng/µl a cada pozo de la placa, posteriormente se adicionó la mezcla de reacción y se mezcló por pipeteo.

6. Se selló la placa con una cubierta óptica, se eliminaron las burbujas en caso de que existieron y se centrifugó la placa.
7. Finalmente, la placa se cubrió con aluminio y se entregó al personal calificado de la Unidad de Alta Tecnología del INMEGEN para programar el equipo QuantStudio Flex System de Applied Biosystem. Los ciclos de PCR quedaron de la siguiente manera:



8. Los resultados se observaron en el software QuantStudio TM Real-Time PCR Software v1.3.

142. México INdMG. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE LA UNIDAD DE SECUENCIACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS. 2008:38.

V. ANEXO. Perfil de ácidos grasos eritrocitarios y plasmáticos al inicio y termino de la suplementación por sexo

	Mujeres n=121				Hombres n=70				P [i]	P [f]
	Inicial	Final	P	d	Inicial	Final	P	d		
	Mediana±Rango	Mediana±Rango			Mediana±Rango	Mediana±Rango				
Saturados										
Mirístico [e]	0.25±0.37	0.25±0.68	0.12 ¹	0.03	0.24±0.26	0.22±0.24	0.051	0.23	0.007* ¹	<0.001* ¹
Palmitico [e]	20.9±4.4	21±4.7	0.031* ¹	0.13	20.8±2.95	21±2.8	0.16	0.14	0.14 ¹	0.17 ¹
Esteárico [e]	16.2±11.3	16.3±11.4	<0.001* ¹	0.08	16.6±9.7	16.8±9.8	<0.001*	0.05	0.025* ¹	0.058 ¹
TOTAL	37.4±10.8	37.8±10.2			37.60±9.54	37.8±9.8				
Mirístico [p]	0.9±2.2	0.84±2.2	0.45 ¹	0.12	0.85±2.15	0.82±1.6	0.21	0.16	0.51 ¹	0.36 ¹
Palmitico [p]	21.1±22.2	21.3±24.7	0.65 ¹	0.05	21.3±27.8	21±16.1	0.54	0.08	0.87 ¹	0.80 ¹
Esteárico [p]	6.1±3.5	6.2±4.5	0.074 ¹	0.14	5.86±4.52	6.03±4.7	0.18	0.12	0.069 ¹	0.28 ¹
TOTAL	27.96±21.2	28.5±23.1			27.61±30.48	27.8±15.9				
Monoinsaturados										
Palmitoleico [e]	0.2±0.7	0.2±0.6	<0.001* ¹	0.42	0.2±0.4	0.2±0.4	<0.001*	0.52	0.02* ¹	0.062 ¹
Oléico [e]	14.3±5.2	13.9±5.6	<0.001* ¹	0.37	14.2±4.3	13.90±4.1	<0.001*	0.37	0.55 ¹	0.75 ¹
TOTAL	14.6±5.4	14.1±5.9			14.3±4.1	14.11±4.1				
Palmitoleico [p]	1.9±4.9	1.7±5.1	0.004* ¹	0.15	1.7±2.6	1.5±2.4	0.027*	0.3	0.086 ¹	0.073 ¹
Oléico [p]	22.9±13.8	21.9±14.1	<0.001* ¹	0.49	23.6±10.9	22.2±12.6	<0.001*	0.63	0.018* ¹	0.15 ¹
TOTAL	24.9±15.3	23.6±15.3			25.5±11.9	23.95±14.				
Poliinsaturados Ω6										
Linoleico [e]	12.4±8.1	11.2±6	<0.001* ¹	0.91	12.8±6.1	11.6±7.3	<0.001*	0.67	0.58 ¹	0.027* ¹
γ-linoleico [e]	0.06±0.12	0.04±0.25	<0.001* ¹	0.28	0.06±0.43	0.05±0.23	<0.001*	0.3	0.53 ¹	0.28 ¹
Eicosadienoico [e]	0.31±0.45	0.29±0.2	<0.001* ¹	0.39	0.33±0.22	0.29±0.22	<0.001*	0.41	0.82 ¹	0.89 ¹
DGLA [e]	1.9±1.9	1.6±1.7	<0.001* ¹	0.84	2.0±1.8	1.7±1.3	<0.001*	0.77	0.38 ¹	0.043* ¹
Araquidónico [e]	16.6±6.6	15.3±6.4	<0.001* ¹	0.95	16.4±5.6	15.4±5.6	<0.001*	0.83	0.88 ¹	0.61 ¹
TOTAL	31.8±9.9	28.6±9.4			32±9.2	29.5±10.7				
Linoleico [p]	35.3±23.4	33.5±19.6	<0.001* ¹	0.42	35.3±18.3	34.8±15.4	0.041*	0.23	0.79 ¹	0.082 ¹
γ-linoleico [p]	0.4±0.8	0.34±0.7	<0.001* ¹	0.66	0.41±0.79	0.34±0.50	<0.001*	0.54	0.93 ¹	0.39 ¹
Eicosadienoico [p]	0.2±0.6	0.21±0.32	<0.001* ¹	0.44	0.24±0.45	0.21±0.37	<0.001*	0.4	0.83 ¹	0.92 ¹
DGLA [p]	1.5±3.7	1.11±2	<0.001* ¹	1.01	1.4±2.04	1.2±2.1	<0.001*	0.76	0.084 ¹	0.29 ¹
Araquidónico [p]	6.7±10.9	6.18±10.8	<0.001* ¹	0.29	6.4±11.9	5.95±7.5	0.081	0.23	0.59 ¹	0.74 ¹
TOTAL	44.6±22.2	41.38±22.02			44.6±24.2	42.9±18.2				
Poliinsaturados Ω3										
α-linoleico [e]	0.15±0.27	0.13±0.27	0.001* ¹	0.33	0.14±0.14	0.13±0.15	0.031*	0.25	0.006* ¹	0.023* ¹
EPA [e]	0.40±2.8	2.11±3.2	<0.001* ¹	3.22	0.38±1.7	1.7±2.7	<0.001*	3.04	0.11 ¹	<0.001* ¹
DHA [e]	4.5±5.7	5.65±5.1	<0.001* ¹	1.21	4±7	5.1±5.1	<0.001*	1.07	0.004* ¹	<0.001* ¹
TOTAL	4.9±8.1	7.90±6.7			4.4±7.0	6.8±5.8				
α-linoleico [p]	0.66±1.	0.69±1.4	0.33	0.1	0.67±1.02	0.7±1.2	0.46	0.14	0.89 ¹	0.69 ¹
EPA [p]	0.38±5.6	2.9±10.3	<0.001* ¹	1.78	0.32±2.9	2±6.9	<0.001*	1.82	0.31 ¹	0.023* ¹
DHA [p]	1.6±5.1	2.6±6.2	<0.001* ¹	1.22	1.3±4	2.2±3.7	<0.001*	1.25	0.03* ¹	0.002* ¹
TOTAL	2.7±11.1	6.3±16			2.3±6.5	5±8.4				

Abreviaturas: [e] eritrocitos, [f]: final, [i]: inicial, [p]: plasma, DGLA: Dihomo-γ-linoleico

¹Prueba no paramétrica para muestras pareadas: Wilcoxon

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ● mediano 0.5-0.79 y ● grande >0.8

VI. ANEXO. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con los fenotipos: concentraciones de HDL-C, actividades enzimáticas estimadas en eritrocitos y plasma (DΔ5, DAΔ5, DΔ6, DAΔ6) e índices (Ω3-HS, ARA/EPA, Ω6/Ω3). Modelos Lineales Generales (MLG).

*Tabla 1. Parámetros bioquímicos y antropométricos asociados con las concentraciones finales de HDL-C. Modelo Lineal General (MLG)**.*

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
HDL-C [i] (mg/dL)	0.71	<0.001*	●1.95	1.00
Triglicéridos (mg/dL)	-0.03	0.015*	○0.36	0.68
DAΔ 6 [e]	-6.54	0.030*	○0.33	0.59

R² ajustada = 0.586

MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω3-HS) y concentraciones iniciales de HDL-C.

*Valor de p<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49 y ● grande >0.8

*Tabla 2. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada DΔ5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.*

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Δ Índice Ω3-HS	0.016	<0.001*	● 0.95	1.000
IMC	-0.003	0.029*	○ 0.33	0.592
DΔ5 [i]	0.044	<0.001*	● 4.58	1.000

R² ajustada = 0.85

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω3-HS) y actividad enzimática inicial

*Valor de p<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ● grande >0.8

*Tabla 3. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada DΔ5 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**.*

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
DΔ5 [i]	0.55	<0.001*	● 1.14	1.00
HbA1c	-0.59	0.055	○ 0.29	0.48
DΔ6	-162.01	<0.001*	● 0.79	1.00
Índice Ω3-HS	0.24	<0.001*	● 0.74	1.00

R² ajustada = 0.428

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω3-HS) y actividad enzimática inicial

*Valor de p<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ● mediano 0.5-0.8 y ● grande >0.8

Tabla 4. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada DA Δ 5 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
Δ Índice Ω 3-HS	4.24	<0.001*	● 2.15	1.00
DA Δ 5 [i]	1.37	<0.001*	● 1.09	1.00
Triglicéridos (mg/dL)	-0.01	0.009*	☉ 0.39	0.75
DA Δ 6	4.77	0.002*	☉ 0.45	0.86

R² ajustada = 0.621

** MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS) y actividad enzimática inicial

*Valor de P<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●grande >0.8

Tabla 5. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada DA Δ 5 plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
Δ Índice Ω 3-HS	0.134	0.002*	☉ 0.46	0.88
DA Δ 5 [i]	0.079	0.104	☉ 0.24	0.37
Triglicéridos (mg/dL)	-0.003	0.001*	● 0.52	0.94

R² ajustada = 0.131

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial DA Δ 5; la variable dependiente (DA Δ 5) se convirtió a raíz cuadrada.

*Valor de P<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

Tabla 6. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada D Δ 6 eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	p	d	Potencia observada ^b
Δ Índice Ω 3-HS	-0.019	0.146	☉0.21	0.31
Edad (años)	0.004	0.115	☉0.23	0.35
D Δ 6[i]	23.176	<0.001*	●0.66	0.99

R² ajustada = 0.115

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice Ω 3-HS), actividad enzimática estimada inicial D Δ 6; la variable dependiente (D Δ 6) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de p<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

Tabla 7. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada $D\Delta 6$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Δ Índice $\Omega 3$ -HS	-0.002	0.008*	☉ 0.39	0.76
IMC	0.001	0.070	☉ 0.27	0.44
$D\Delta 6[i]$	1.770	<0.001*	● 1.22	1.00
$D\Delta 5$	-0.002	<0.001*	● 0.58	0.97

R² ajustada = 0.352

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS), actividad enzimática estimada inicial $D\Delta 6[i]$ y parámetros finales: $D\Delta 5$; la variable dependiente ($D\Delta 6$) se convirtió a raíz cuadrada: $\sqrt{D\Delta 6}$

*Valor de *P* < 0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8 y ●grande >0.8

Tabla 8. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada $DA\Delta 6$ eritrocitaria al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
IMC	0.002	0.054	☉ 0.29	0.49
$DA\Delta 6[i]$	0.231	<0.001*		1.00
Glucosa (mg/dL)	-0.001	0.060	☉ 0.28	0.47
$DA\Delta 5$	0.002	0.002*	☉ 0.46	0.87

R² ajustada = 0.587

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS), actividad enzimática estimada inicial $DA\Delta 6 [i]$; la variable dependiente ($DA\Delta 6$) se convirtió a logaritmo base 10

*Valor de *p* < 0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49

Tabla.9 Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con la actividad enzimática estimada $DA\Delta 6$ plasmática al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Δ Índice $\Omega 3$ -HS	-0.007	0.017*	☉ 0.36	0.67
$DA\Delta 6[i]$	0.683	<0.001*	● 1.69	1.00
$DA\Delta 5$	0.007	<0.001*	● 0.97	1.00

R² ajustada = 0.523

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, apego a la suplementación (Δ índice $\Omega 3$ -HS), actividad enzimática estimada inicial $DA\Delta 6[i]$; la variable dependiente ($DA\Delta 6$) se convirtió a raíz cuadrada

*Valor de *P* < 0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ☉pequeño 0.2-0.49, ●grande >0.8

Tabla 10. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice Ω3-HS eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	P	d	Potencia observada ^b
Femenino	0.770	<0.001*	● 0.75	1.00
Edad (años)	0.021	0.076	○ 0.26	0.43
IMC	0.071	0.014*	○ 0.36	0.69
Índice Ω3-HS [i]	0.516	<0.001*	● 1.29	1.00
Triglicéridos (mg/dL)	-0.006	<0.001*	● 0.65	0.99
HDL-C (mg/dL)	-0.019	0.004*	○ 0.43	0.82

R² ajustada = 0.433

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice Ω3-HS[i])

*Valor de P<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8 y

●grande >0.8

Tabla 11. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice Ω3-HS plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	p	d	Potencia observada ^b
Femenino	0.151	0.035*	○ 0.31	0.56
Índice Ω3-HS [i]	0.160	<0.001*	● 0.80	1.00
Triglicéridos (mg/dL)	-0.002	0.001*	● 0.50	0.92
LDL-C (mg/dL)	0.003	0.014*	○ 0.37	0.70

R² ajustada = 0.203

****MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice Ω3-HS[i]); la variable dependiente se convirtió a raíz cuadrada

*Valor de P<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

Tabla 12. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice ARA/EPA eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	p	d	Potencia observada ^b
Femenino	0.029	<0.001*	● 0.66	0.99
Triglicéridos (mg/dL)	-0.0002	<0.001*	● 0.61	0.98
LDL-C (mg/dL)	0.0002	0.081	○ 0.26	0.42
HDL-C (mg/dL)	-0.001	0.037*	○ 0.31	0.55

R² ajustada = 0.16

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (índice ARA/EPA[i]). La variable dependiente

se convirtió a inversa: $\frac{1}{(ARA/EPA)}$

*Valor de P<0.05 a dos colas

^bSe ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (d) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49, ●mediano 0.5-0.8

Tabla 13. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice ARA/EPA plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Femenino	0.079	0.008*	○ 0.39	0.76
IMC	0.013	0.027*	○ 0.33	0.60
Triglicéridos (mg/dL)	-0.001	0.039*	○ 0.31	0.54

R² ajustada = 0.053

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial (ARA/EPA [i]); la variable dependiente

(ARA/EPA) se convirtió a inversa y se sacó raíz cuadrada: $\frac{1}{\sqrt{\text{ARA/EPA}}}$

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ○pequeño 0.2-0.49

Tabla 14. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ eritrocitario al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Femenino	0.031	<0.001*	● 0.72	1.00
IMC	0.003	0.037*	○ 0.31	0.55
Índice $\Omega 3/\Omega 6$ [i]	-0.016	<0.001*	● 1.19	1.00
Triglicéridos (mg/dL)	-0.0002	<0.001*	● 0.60	0.98
HDL-C (mg/dL)	-0.001	0.009*	○ 0.39	0.75

R² ajustada = 0.394

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial ($\Omega 6/\Omega 3$ [i]); la variable dependiente

($\Omega 6/\Omega 3$) se convirtió a inversa: $\frac{1}{\frac{\Omega 6}{\Omega 3}}$

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ●pequeño 0.2-0.49

Tabla 15. Asociación de parámetros bioquímicos y antropométricos con el índice $\Omega 6/\Omega 3$ plasmático al finalizar la suplementación. Modelo Lineal General (MLG)**

Parámetro	β	<i>P</i>	<i>d</i>	Potencia observada ^b
Femenino	0.029	0.007*	○ 0.40	0.77
Índice $\Omega 6/\Omega 3$ [i]	-0.005	<0.001*	● 0.87	1.00
LDL-C (mg/dL)	0.0004	0.037*	○ 0.31	0.55

R² ajustada = 0.179

**MLG ajustado por sexo, edad, IMC, índice inicial ($\Omega 6/\Omega 3$ [i]); la variable dependiente ($\Omega 6/\Omega 3$)

se convirtió a inversa y se sacó raíz cuadrada: $\frac{1}{\sqrt{\Omega 6/\Omega 3}}$

*Valor de *P*<0.05 a dos colas

^b Se ha calculado utilizando alfa = 0.05

Interpretación del tamaño del efecto (*d*) según Cohen: ●pequeño 0.2-0.49