



“Efectos de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética frente a la resistencia a la insulina y esteatosis hepática inducida por una dieta alta en grasa en ratón”

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN NUTRICIÓN Y ALIMENTOS MENCIÓN NUTRICIÓN HUMANA

Tesista: Camila Farías Castro.

Director de Tesis: MSc. Ph.D. Rodrigo Valenzuela Báez.

Directora de Tesis: MSc. Ph.D. Loreto Muñoz Hernández.

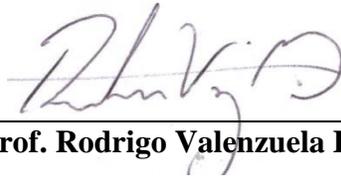
Fuente de financiamiento proyecto FONDECYT 1201489

Marzo de 2023

Santiago-Chile

AUTORIZACIÓN

El siguiente documento presentado como Tesis por la Estudiante Camila Farías Castro ha sido revisado y aprobado por nosotros como Directores de Tesis para la presentación formal ante la Comisión Evaluadora que designará el Comité Académico del Magíster en Nutrición y Alimentos.



Prof. Rodrigo Valenzuela Báez



Prof. Loreto Muñoz Hernández.

Santiago de Chile, 06 de marzo de 2023

1. CUERPO PRELIMINAR

i. Comisión de tesis

Juan Pablo Rodríguez Vives, PhD, Profesor Titular; Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Dr. Fernando Mönckeberg Barros (INTA), Universidad de Chile.

Francisca Echeverría González, PhD, Profesor Asistente; Escuela de Nutrición y dietética, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Rodrigo Troncoso Cotal, PhD, Profesor Asociado; Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Dr. Fernando Mönckeberg Barros (INTA), Universidad de Chile.

ii. Dedicatoria

Dedico esta tesis a todo aquel que optó por el camino de la ciencia,
Para que sigas creyendo en ti hasta el final

Con gratitud

Alguien que sabía muy poco y ahora conoce un poco más

iii. **Agradecimientos**

A Dios y a todas las maravillosas personas que ha puesto en mi vida, en especial:

A mis directores de Tesis, por toda la paciencia que tuvieron conmigo en el desarrollo de este escrito, por la confianza entregada en cada una de las nuevas tareas encomendadas, por enseñarme con amabilidad, regalarme su tiempo en aclarar mis inquietudes, transmitirme serenidad en todo momento, contarme sus experiencias, potenciar mis habilidades y motivarme a continuar.

A mi familia, por siempre estar presente, por tratar de entender qué estaba haciendo, a mi mamá por apoyarme, por cuidar de mi huerto y por creer en mí. A mi papá por enseñarme con su ejemplo a trabajar con esfuerzo por lo que me deslumbra, a mi hermana por darme ideas, escuchar mis experiencias y aconsejarme.

A mis amigos de la vida, por estar presentes en todo, algunos a pesar de la distancia, por tratar de ayudarme, acompañarme, ser mis cables a tierra y alegrarse sinceramente por mis logros.

A las amistades que nacieron en el laboratorio, por todos los momentos vividos, por el apoyo en tiempos de crisis, por todas las horas de aprendizaje que pasamos, el buen ambiente que creamos, espero sinceramente que triunfen en todas sus metas.

Al personal de los laboratorios, profesores y personas que conocí en este proceso, por enseñarme todo, desde lo más básico y responder cada una de mis mil dudas.

A las colegas de mis trabajos en el INTA, gracias por aconsejarme y lograr que mi breve estancia ahí fuera enriquecedora, reconfortante y, sobre todo gratificante.

Y gracias a mí tutor de esa primera unidad de investigación en pregrado, por ampliar mis horizontes, por acercarme a la investigación, mostrarme lo grandioso que puede ser e inspirarme a iniciar este rumbo.

iv. Índice de contenidos

CONTENIDO	N° DE PÁG.
1. CUERPO PRELIMINAR.....	3
i. Comisión de tesis	3
ii. Dedicatoria.....	4
iii. Agradecimientos	5
iv. Índice de contenidos	6
v. Índice de tablas.....	8
vi. Índice de figuras.....	9
viii. Lista de abreviaturas	11
2. RESUMEN.....	13
3. ABSTRACT	14
4. INTRODUCCIÓN.....	15
4.1. Resistencia a la Insulina.....	15
4.3. Esteatosis hepática	16
4.5. Fibra dietética y beneficios para la salud.	17
4.6. Ácido graso α -linolénico y beneficios para la salud.	18
4.7. Formulación general del proyecto.....	20
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	21
Hipótesis.....	21
Objetivo General	21
Objetivos Específicos.....	21
6. METODOLOGÍA.....	22
6.1. Definición de la muestra.....	22
6.2 Definición del diseño de investigación.	22
6.4. Grupos experimentales.....	23
6.5. Definición de variables	23
6.6. Procedimientos y técnicas a utilizar	24
7. RESULTADOS	28
7.1. Análisis proximal la harina de semilla se albahaca rica en fibra dietética y determinación del perfil de ácidos grasos de suplementación	28
7.2. Efecto de las intervenciones en las características generales de los grupos experimentales.	28

7.3. Efecto de las intervenciones en los parámetros relacionadas a RI.....	29
7.4. Efecto de las intervenciones en los parámetros de esteatosis y daño hepático, estrés oxidativo, defensa antioxidante y respuesta inflamatoria.	31
7.5. Contenido de AGPI en tejido adiposo y eritrocitos.....	33
7.6. Rol de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en la producción de AGCC .	34
7.7. Correlaciones entre HOMA-IR, peso corporal, ALT, TNF- α y parámetros de estrés oxidativo.....	35
8. DISCUSIÓN.....	36
8.1. Análisis proximal la harina de semilla se albahaca rica en fibra dietética y determinación del perfil de ácidos grasos.....	36
8.2. Efecto de las intervenciones en las características generales de los grupos experimentales.	36
8.3. Efecto de las intervenciones en los parámetros relacionadas a RI.....	36
8.4. Efecto de las intervenciones en los parámetros de esteatosis, daño hepático, respuesta inflamatoria y estrés oxidativo	37
8.5. Contenido de AGPI en tejido adiposo y eritrocitos.....	40
8.6 Rol de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en el contenido de AGCC	41
8.7 Limitaciones y aportes	42
9. CONCLUSIONES.....	45
10. REFERENCIAS	46
11. ANEXOS	50

v. Índice de tablas

CONTENIDOS	N° DE PÁG.
Tabla 1. Grupos experimentales.....	23
Tabla 2. Variables Independientes.....	23
Tabla 3. Variables Descriptivas.....	23
Tabla 4. Variables Dependientes.....	23
Tabla 5. Composición nutricional harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética y harina avena.....	28

vi. Índice de figuras

CONTENIDOS	N° DE PÁG.
Figura 1. Parámetros metabólicos por grupo experimental.....	30
Figura 2. Histología hepática por grupo experimental.....	31
Figura 3. AGCC presentes en las heces de los ratones intervenidos.....	35
Figura 4. Efectos de la suplementación y posibles mecanismos involucrados en la reversión de IR y esteatosis hepática.....	44

vii. Índice de anexos

CONTENIDOS	N° DE PÁG.
Anexo 1. Protocolo experimental.....	50
Anexo 2. Información nutricional de las dietas experimentales.....	51
Anexo 3. Suplementación según grupo experimental.....	52
Anexo 4. Cantidades de plasma y tejido utilizadas para las distintas mediciones.....	53
Anexo 5. Principales ácidos grasos de las harinas.....	54
Anexo 6. Ingesta dietaría según grupos experimental.....	55
Anexo 7. Evolución ingesta dietaría, ingesta energética e ingesta de agua	56
Anexo 8. Ingesta ácido graso α -linolénico y fibra dietética pre y post suplementación según grupo experimental.....	57
Anexo 9. Características generales de los grupos experimentales.....	58
Anexo 10. Evolución peso corporal, peso hígado y peso tejido adiposo epididimal.....	59
Anexo 11. Peso principales órganos según grupo experimental.....	60
Anexo 12. Parámetros esteatosis hepática.....	61
Anexo 13. Principales AG en hígado según grupo experimental.....	62
Anexo 14. Parámetros de daño hepático.....	63
Anexo 15. Parámetros de estrés oxidativo hepáticos	64
Anexo 16. Parámetros de inflamación	65
Anexo 17. Cuantificación grasa en tejido adiposo y eritrocitos.....	66
Anexo 18. Principales AG tejido adiposo epidídimo por grupo experimental.....	67
Anexo 19. Principales AG eritrocitos por grupo experimental.....	68
Anexo 20. Cuantificación de grasa, humedad y pH en heces según grupo experimental.....	69
Anexo 21. Correlaciones entre ALT, HOMA-IR, grasa hepática y peso corporal.....	70
Anexo 22. Correlaciones entre TNF- α , HOMA-IR y peso corporal.....	71
Anexo 23. Correlaciones entre HOMA-IR y parámetros de estrés oxidativo.....	72

viii. Lista de abreviaturas

AG	Ácidos grasos
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGL	Ácidos grasos libres
AGM	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
ALA	Ácido α - linolénico
ALT	Alanina aminotransferasa
AOAC	Asociación de Comunidades Analíticas
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP	Adenosín trifosfato
HFD	Dieta alta en grasa
CD	Dieta control
DE	Desviación estándar
ChREBP	Proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ECV	Enfermedades cardiovasculares
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
EHGNA	Enfermedad hígado graso no alcohólico
EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
EMAG	Ésteres metílicos de ácidos grasos
EROS	Especies reactivas al oxígeno
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
GGT	Gama glutamil transpeptidasa
H2SO4	Ácido sulfúrico
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HSA	Harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética

HAV	Harina avena
HOMA-IR	Modelo homeostático para la resistencia a la insulina
IL-1β	Interleuquina 1-beta
IL-6	Interleuquina 6
IRS-1	Sustrato 1 del receptor de insulina (del inglés Insulin receptor substrate 1)
LA	Ácido graso linoleico
LDL	Lipoproteína de baja densidad
MAFLD	Disfunción metabólica asociada a enfermedad hígado graso (del inglés Fatty liver associated with metabolic dysfunction)
MDA	Malondialdehído
OMS	Organización Mundial de la Salud
NF-κB	Factor de transcripción nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
PKC	Proteína quinasa C
PPAR-α	Gen peroxisoma proliferador activador del receptor-alfa
RI	Resistencia a la insulina
SM	Síndrome Metabólico
SOD	Superóxido dismutasa
SPS	South Pacific Seeds
SREBP-1c	Proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (del inglés thiobarbituric acid reactive substances)
TG	Triglicéridos
TLC	Cromatografía en capa fina (del inglés thin Layer Chromatography)
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa

2. RESUMEN

Introducción: Actualmente existe un aumento en la incidencia de resistencia a la insulina (RI) y esteatosis hepática en la población. La fibra dietética juega un rol protector en la prevención como tratamiento de estas alteraciones metabólicas, a pesar de ello la ingesta promedio de fibra dietética es menos de la mitad de lo recomendado. La albahaca (*Ocimum basilicum L.*) es una planta que se encuentra en todo el mundo y es utilizada en las industria alimentaria, farmacéutica y cosmética; sin embargo, las propiedades nutricionales de sus semillas son poco conocidas. Las semillas de albahaca tienen un buen aporte de fibra dietética. **Objetivo:** Determinar los efectos de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética frente a la RI, esteatosis hepática inducidos por una dieta alta en grasa y su contribución en el contenido de ácidos grasos polinsaturados n-3 (AGPI n-3) en tejidos y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en ratón. **Métodos:** Estudio experimental, aleatorizado, controlado, prospectivo, en modelo animal (ratones macho C57BL/6J), asignados a 4 grupos experimentales, donde fueron alimentados con una dieta control (CD, 10% de calorías como grasa) o con una dieta alta en grasa (HFD, 60% de calorías como grasa) y suplementados con harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética (HSA) o harina de avena (HAV), por un periodo de 14 semanas. **Resultados:** La dieta HFD indujo RI, esteatosis hepática, un estado proinflamatorio y una disminución significativa en la producción de AGCC. En contraste, la dieta HFD suplementada con HSA logró un efecto protector a través de una menor RI, atenuación de la esteatosis, daño hepático y estrés oxidativo, disminución del estado inflamatorio, un aumento de AGPI n-3 en hígado, adipocitos y eritrocitos, e incremento de AGCC. **Conclusiones:** HSA es un residuo alimentario rico en fibra dietética y ácidos α -linolénico. La suplementación con la HSA atenuó la RI y esteatosis hepática, por lo que este residuo podría considerarse como una potencial línea terapéutica para el manejo de estas patologías y el metabolismo asociado.

3. ABSTRACT

Introduction: Currently there is an increase in the incidence of insulin resistance (IR) and hepatic steatosis in the population. Dietary fiber plays a protective role in the prevention as treatment of these metabolic disorders, despite this the average intake of dietary fiber is less than half of what is recommended. Basil (*Ocimum basilicum* L.) is a plant that is found all over the world and is used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries; however, the nutritional properties of its seeds are little known. Basil seeds have a good contribution of dietary fiber. **Objective:** To determine the effects of basil seed meal rich in dietary fiber against IR, hepatic steatosis induced by a high-fat diet and its contribution to the content of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) in tissues and short-chain fatty acids (SCFA) in mice. **Methods:** Experimental, randomized, controlled, prospective study, in an animal model (C57BL/6J male mice), assigned to 4 experimental groups, where they were fed with a control diet (CD, 10% of calories as fat) or with a high-calorie diet. in fat (HFD, 60% calories as fat) and supplemented with high dietary fiber basil seed meal (HSA) or oat flour (HAV), for a period of 14 weeks. **Results:** The HFD diet induced IR, hepatic steatosis, a proinflammatory state, and a significant decrease in SCFA production. In contrast, the HFD diet supplemented with HSA achieved a protective effect through lower IR, attenuation of steatosis, liver damage and oxidative stress, decreased inflammatory state, increased n-3 PUFA in liver, adipocytes, and erythrocytes. and increase of AGCC. **Conclusions:** HSA is a food residue rich in dietary fiber and α -linolenic acid. HSA supplementation attenuated IR and hepatic steatosis, so this residue could be considered as a potential therapeutic line for the management of these pathologies and associated metabolism.

4. INTRODUCCIÓN

4.1. Resistencia a la Insulina

Durante los últimos 30 años, se ha observado un aumento significativo en la detección de resistencia a la insulina (RI) (1). En la actualidad, la prevalencia de la RI se estima entre el 10 y el 30% de la población y se ha informado que 1 de cada 11 adultos padece diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (2, 3). La RI se define como un estado de respuesta reducida de los tejidos a la insulina, deshabilitando su capacidad para absorber y utilizar la glucosa, lo que expone a los tejidos a desviaciones metabólicas (4). Por consiguiente, la RI es el componente patogénico fundamental de varias enfermedades, incluida la DMT2, enfermedad por hígado graso no alcohólico (EHGNA), enfermedades cardiovasculares (ECV) y trastornos endocrinos (síndrome de ovario poliquístico, hipercortisolemia) (2, 5). Por otro lado, se ha reportado que el estado de RI se desarrolla de una a dos décadas antes del inicio de estas patologías, por tanto, puede ser considerado como un buen predictor (6). La frecuencia de la RI depende de la edad, peso corporal, sexo, predisposición genética, actividad física y alimentación. Esta última, no solo considerando la cantidad de calorías consumidas, sino también el tipo y calidad de la dieta, la frecuencia y el horario de la ingesta de las comidas (2). La RI puede ser determinada mediante un clamp euglicémico-hiperinsulinémico, sin embargo, por su simplicidad y buena correlación, el método más utilizado es el modelo homeostático para la resistencia a la insulina (HOMA-IR) desarrollado por Matthews y cols. (1985), cuyos puntos de corte posteriormente fueron definidos según población (2, 7). El mecanismo fisiopatológico de la RI no ha sido establecido completamente. No obstante, existen varias teorías que dilucidan el desarrollo de RI; una teoría describe que la acumulación de lípidos ectópicos en diferentes tejidos producto de un consumo excesivo de hidratos de simples, grasa saturada, produciría adipocitoquinas, las que viajarían a sitios distantes (músculo, hígado, tejido arterial) y ejercerían efectos deletéreos sobre el metabolismo de glucosa, lípidos y la función vascular (1). Por otro lado, se postula que la lipotoxicidad inducida por la acumulación de intermediarios lipídicos, como diacilgliceroles, ceramidas y triglicéridos (TG), provocaría una RI grave en los tejidos (8), al activar de manera sostenida al receptor de la proteína quinasa C (PKC) el que también alteraría la fosforilación de IRS-1 y, por tanto, disminuiría la señalización de la insulina (6). En cuanto

al tejido muscular, estudios *in vivo* han demostrado que la RI inducida por la lipotoxicidad, se puede atribuir a una señal deficiente de la insulina y a una disminución del transporte de la glucosa por alteración de la translocación del transportador GLUT-4 (8). Además, se postula que la RI en el tejido muscular sería clave en el desarrollo de la hiperglicemia y que perpetuaría la RI en el organismo al ser el tejido que fisiológicamente metabolizaría cerca del 70% de la glucosa plasmática (9).

4.3. Esteatosis hepática

En 1849, el patólogo austriaco Carl von Rokitansky planteó la hipótesis que la cirrosis podría ser resultado de la acumulación de grasa. Más tarde, entre los años 1980 y 1990 se acuñó por primera vez el término EHGNA y se reconoció como un problema grave para la salud (10). Actualmente, la EHGNA es uno de los trastornos hepáticos más frecuentes en todo el mundo, se estima que la prevalencia global de esta patología es aproximadamente del 25% y se ha observado que aumenta con la edad (10). Además, se calcula que su incidencia es del 75 al 90% en adultos con sobrepeso u obesidad, 72% para pacientes con hiperlipidemia, y un 44% para pacientes con DM2 (11). Cabe destacar, que desde el año 2020 existe un proceso de renombramiento de la EHGNA a disfunción metabólica asociada a enfermedad hígado graso (MAFLD), este nuevo concepto busca reflejar el papel indiscutible de la disfunción metabólica en la patogénesis de la enfermedad, establecer mejores criterios de diagnóstico y factores de riesgo involucrados en el origen como la progresión de la enfermedad, aunque hasta la fecha no existe consenso (12). Se concibe que la esteatosis hepática es el primer espectro de la EHGNA, caracterizada por la acumulación macrovesicular de TG en los hepatocitos en ausencia de las etiologías secundarias de acumulación de grasa hepática (medicamentos, consumo excesivo de alcohol o afecciones hereditarias) (13). Por su parte, la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) es el subtipo inflamatorio de EHGNA, con esteatosis y evidencia de lesión de los hepatocitos e inflamación con o sin fibrosis, que puede progresar a cirrosis, insuficiencia hepática y requerir trasplante (11). El diagnóstico EHGNA ya sea por imagenología o histología requiere la presencia de más del 5% de esteatosis hepática, en ausencia de etiologías secundarias ya mencionadas (13). En general, la enfermedad EHGNA se presenta en una población muy diversa, en la mayoría de los pacientes se asocia con comorbilidades metabólicas propias del síndrome metabólico (SM) como RI, obesidad (abdominal), dislipidemia e hipertensión. Por lo tanto, la EHGNA se

describe a menudo como la manifestación hepática del SM (9). A su vez, existen una serie de causas que conducen al desarrollo como a la progresión de la EHGNA, entre ellos factores ambientales como inactividad física, alteraciones en el microbioma, hábitos alimentarios poco saludables, destacándose un aporte hipercalórico, con exceso de hidratos de carbono, fructosa, grasa saturada y alimentos con procesamiento industrial, aumento de peso y factores genéticos como epigenéticos, dado que se estima que la heredabilidad de la EHGNA oscila entre el 20 al 70%, por tanto, la prevención de esta patología juega un rol preponderante (8, 10, 11). Se cree que eventos paralelos conducen a la patogenia de EHGNA. Anteriormente, la hipótesis de los dos golpes, basada en la exposición del hígado a un primer golpe "esteatosis hepática", que comienza con la acumulación de TG y el desarrollo de RI tanto en el hígado como en el músculo y tejido esquelético (5), impulsado por una mayor ingesta de grasas y carbohidratos que sobrepasan la capacidad metabólica, genética y ambiental del tejido adiposo y conducen a un excedente de AG, un aumento de lipogénesis de *novo*, una disminución de la excreción de TG hepáticos (3, 14). El segundo golpe, el estrés oxidativo, por activación de la peroxidación lipídica y generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) desencadenante de la cascada de disfunción mitocondrial, dado que el aumento TNF- α , es capaz de inhibir la adiponectina, por consiguiente, al gen peroxisoma proliferador activador del receptor-alfa (PPAR- α) necesario para mediar los procesos oxidativos a nivel mitocondrial y peroxisomal (9). No obstante, se cree que la teoría de los dos golpes no lograría explicar la complejidad o heterogeneidad de la EHGNA y se plantea el "modelo de impactos múltiples o continuos", el cual sugiere la existencia de diferentes agresiones, simultáneas y continuas en individuos con alteraciones metabólicas como DM2 o SM debido a las alteraciones inter-orgánicas entre hígado, tejido adiposo, músculo esquelético e intestino (14).

4.5. Fibra dietética y beneficios para la salud.

La fibra dietética es un carbohidrato no digerible por las enzimas del ser humano, generalmente se presenta como polisacáridos (<10 monosacáridos) de origen vegetal. Según su comportamiento con el agua existen dos tipos de fibra dietética: soluble (inulina, pectina y β -glucano) e insoluble (celulosa, la lignina y la hemicelulosa) (15). Las principales fuentes de fibra dietética son las frutas, verduras, cereales como la avena, productos integrales, semillas y legumbres, los que contienen cantidades variables de fibra soluble e insoluble (16).

Algunos tipos de fibra pueden ser considerados como prebióticos al ser un ingrediente fermentado selectivamente por la microbiota intestinal que da como resultado cambios específicos en su composición y/o actividad, otorgando así beneficios a la salud del huésped (17, 18). Aunque la mayor parte de la fibra es fermentada en el intestino grueso, la fermentación de la fibra soluble tiende a ocurrir más fácilmente que las fibras de cereales insolubles (19). La ingesta de fibra dietética está inversamente asociada con el riesgo de obesidad, así como con otras patologías relacionadas con el SM, DM2, ECV y cáncer. Se sugiere que la ingesta de fibra mejora la sensibilidad a la insulina (principalmente fibras solubles), el perfil lipídico, la inflamación crónica y favorece la reducción de peso (3, 19, 20). Los efectos de la fibra se han atribuido a los cambios en la viscosidad intestinal, absorción de nutrientes, retraso del vaciamiento gástrico, regulación del apetito y al aumento en la excreción de sales biliares. Por otro lado, gracias a su acción como prebiótico se ha comprobado que es capaz de proporcionar sustratos no digeribles para la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente butirato, permitiendo el aumento de la viabilidad y diversidad microbiana intestinal de ciertas bacterias gram-positivas de la microbiota (*Bifidobacterium* spp y *Lactobacillus* spp) y disminuyendo el riesgo de presentar una alteración en el equilibrio de la microbiota intestinal conocido como disbiosis intestinal (11, 16, 19). Las recomendaciones actuales para la ingesta de fibra dietética para adultos en la mayoría de los países europeos y en Estados Unidos son entre 30 y 35 g por día para los hombres y entre 25 y 32 g por día para las mujeres. Mientras que la recomendación para la población en general de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) es ≥ 25 g por día, lo que se traduce en 400 g de frutas y verduras (15). Sin embargo, a pesar de las evidencias acumuladas a favor del consumo de fibra, se estima que en los países occidentales la ingesta de fibra está alrededor de un tercio por debajo de las recomendaciones y en Chile su consumo promedio es menos de la mitad según la última Encuesta Nacional de Consumo de Alimentos (15, 20, 21).

4.6. Ácido graso α -linolénico y beneficios para la salud.

Los AGPI incluyen una serie de ácidos grasos n-6 y n-3. El ácido α -linolénico (C18:3n-3, ALA), es un AGPI n-3 con 18 átomos de carbono y 3 dobles enlaces, se encuentra presente en algunos aceites y semillas de origen vegetal (linaza, chía, perilla, albahaca, mosqueta,

raps, soya, nueces, palta) (22) (23) y se le conoce como el precursor esencial de los AGPI n-3 de cadenas más largas al ser la molécula metabólica que, tras una serie de reacciones de elongación y desaturación (Δ -5, Δ -6), se puede obtener ácido eicosapentaenoico (C20:5n-3, EPA) y posteriormente ácido graso docosahexaenoico (C22:6n-3, DHA), siendo este último esencial debido a que no puede sintetizarse de *novo* por falta de enzimas (Δ -9) en los mamíferos, debiendo estar presente en la dieta o suplementarse (24). Por otro lado, se ha estudiado que el destino metabólico del ALA se basa en una necesidad selectiva de tejidos a los AGPI n-3 más largos, en su mayoría (60-85%) sometidos a β -oxidación y reciclaje de carbono para la producción de otras moléculas (ácidos grasos, colesterol, esteroides, etc.) (25). El aumento del consumo de AGPI n-3 se ha relacionado con la reducción de la esteatosis, esteatohepatitis hepática, al disminuir el contenido de TG, LDL plasmáticos y RI, por lo cual, contribuye a reducir la morbilidad y mortalidad en las ECV y cerebrovasculares (5, 23, 26). Además, interactúa con el microbioma intestinal (hongos, bacterias y virus) de tres maneras principales: modulando el tipo y la abundancia de la microbiota intestinal; disminuyendo los niveles de mediadores proinflamatorios, como endotoxinas (lipopolisacáridos) e IL17; y aumentando los niveles AGCC, beneficios abordados previamente. No existe una recomendación específica para el DHA; sin embargo, el Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos (IOM) establece que el 0-10% del requerimiento de ALA puede estar compuesto por EPA y DHA, lo que corresponde a aproximadamente 0-0,12% de calorías, o 0-160 mg/d basado en una dieta de 2000 kcal (24). Por otro lado, la Consulta de Expertos “Grasas y ácidos grasos en nutrición humana” de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), recomienda para la población adulta un consumo de ALA > 0,5% de la energía calórica total/día y de EPA más DHA 0, 250 – 2* g/día (27).

4.7. Semillas de albahaca y beneficios para la salud

La albahaca (*Ocimum basilicum L.*) es una planta medicinal que posee efectos beneficiosos para la salud, se cultiva en todo el mundo y su uso se ha masificado en la industria farmacológica, alimentaria y cosmetológica (23). No obstante, las propiedades nutricionales y funcionales de la semilla de albahaca son poco conocidas y no se utilizan convencionalmente como alimento (28). La semilla de albahaca es ovalada, tiene un color negro y su tamaño varía según lugar de cultivo. Desde el punto de vista tecnológico tiene la

capacidad de formar mucílagos; en cuanto a su composición nutricional, es una buena fuente de carbohidratos (43,9 al 63,8%) y contiene un alto contenido de fibra dietética, entre las que se destaca la celulosa (8,03%) hemicelulosa (9,87%) y la lignina (35,2%) (22). Su aporte proteico oscila entre el 10% al 22,5% y su aporte lipídico, puede llegar al 33%, siendo el ALA su principal ácido graso. En este sentido, en Chile recientemente algunas empresas buscan ingresar en el mercado de la producción de aceites ricos en AGPI n-3 de forma sustentable a partir de semillas, entre ellas de albahaca. Durante el proceso de extracción de aceite por prensado en frío, se genera un expeller con alto contenido de fibra dietética y proteínas, el que puede ser utilizado para la producción de ingredientes funcionales (29). Por otro lado, la literatura coincide que las semillas de albahaca tienen un buen potencial antioxidante aportado principalmente por sus compuestos fenólicos (23). Referente a los beneficios para la salud de las semillas de albahaca, existen escasos estudios, algunos de ellos atribuyen principalmente a sus lípidos propiedades: antimicrobianas, antiinflamatorias, analgésicas, anticancerígenas y anticoagulante (28). Por otra parte, un estudio de Binti Sau (2015), identificó a partir de las semillas de albahaca tres nuevos péptidos bioactivos, con propiedades de antioxidantes y que, además, actuarían como inhibidores de la amilasa, favoreciendo el retraso en la absorción de carbohidratos (28).

4.7. Formulación general del estudio

Estudios epidemiológicos muestran que existe un aumento en la prevalencia y la incidencia de DM2 y la EHGNA, ambas patologías están estrechamente relacionadas pues existe una interacción bidireccional entre sus factores de riesgo. Además, estas patologías comparten múltiples vías de señalización proinflamatorias y profibróticas. Frente a ello, se ha demostrado que la fibra dietética juega un rol protector en la prevención como tratamiento de alteraciones metabólicas. A pesar de ello, su consumo es bajo, en consecuencia, surge la necesidad de encontrar nuevas fuentes de fibra, siendo la fibra contenida en las semillas de albahaca una alternativa al ser obtenida como un subproducto de la producción de aceites sustentables, lo que contribuiría a su vez a minimizar el impacto de la industria en la generación de desechos. Este estudio pretende evaluar los efectos de la harina de semilla de albahaca rica en fibra sobre la RI y esteatosis hepática inducidas por una dieta alta en grasa y su contribución en el contenido de AGPI n-3 en tejidos y AGCC en ratón, centrándose en su capacidad para reducir el índice HOMA-IR y la adiposidad en el hígado.

5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

- La ingesta de harina de semilla de albahaca rica en fibra reduce las alteraciones metabólicas relacionadas a la RI y esteatosis hepática inducidas por una dieta alta en grasa y aumenta el contenido de AGPI n-3 en tejidos y AGCC en ratón.

Objetivo General

- Determinar los efectos de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética frente a la RI, esteatosis hepática inducidos por una dieta alta en grasa y su contribución en el contenido de AGPI n-3 en tejidos y AGCC en ratón.

Objetivos Específicos

- Caracterizar nutricionalmente la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética.
- Evaluar el efecto de reversión de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética sobre las alteraciones metabólicas relacionadas a RI en ratones alimentados con HFD.
- Determinar impacto de la harina de semilla de albahaca rica en fibra en ratones alimentados con HFD, sobre parámetros de esteatosis y daño hepático, estrés oxidativo y respuesta inflamatoria.
- Establecer la contribución de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en ratones alimentados con HFD sobre los AGPI en tejido adiposo y eritrocitos.
- Evaluar el rol de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en la producción de AGCC en ratones alimentados con HFD.

6. METODOLOGÍA

6.1. Definición de la muestra.

El cálculo del tamaño muestral se realizó mediante planilla de la Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, considerando dos variables críticas; la primera el HOMA-IR, con una disminución de $5,64 \pm 2,3$ puntos según datos reportados en la literatura (19) y contemplando los parámetros de significancia estadística de $p < 0,05$, poder de 0,9 y un margen por pérdida del 20%, se estimó que se requieren 4 animales por grupo. La segunda variable, es el cambio en el contenido lipídico hepático, con una reducción del $7,32\% \pm 0,162$ similar a los datos reportados en la literatura (11) y al considerar iguales parámetros previamente mencionados, se calculó que son necesarios 7 animales por grupo. Por tanto, a fin de integrar ambas variables críticas se utilizó este último cálculo.

6.2 Definición del diseño de investigación.

Estudio experimental, aleatorizado, controlado, prospectivo, en modelo animal (ratón). El diseño del estudio fue aprobado por el Comité de Bioética Sobre Investigación en Animales de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (Protocolo CBA 1118 FMUCH).

6.3. Protocolo de intervención

Los ratones macho C57BL/6J de 21 días de edad, obtenidos del Bioterio Central de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile se aclimataron en el bioterio durante una semana en una sala con control de temperatura y luz en un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Luego fueron asignados aleatoriamente en cuatro grupos ($n=6-7$ por grupo) (Tabla 1) cada grupo tuvo acceso a la dieta asignada y agua *ad libitum* durante 10 semanas, posteriormente los grupos 3 y 4 fueron alimentados con pellet mezclados con las harinas correspondientes (20% p/p) durante 4 semanas. En el transcurso de la intervención, se evaluó diariamente ingesta dietética y consumo de agua, mientras que peso corporal y materia fecal, semanalmente. La recolección de muestras se realizó al finalizar el período de intervención de 14 semanas, luego de un ayuno de 8 horas (Anexo 1).

6.4. Grupos experimentales

Tabla 1. Grupos experimentales

Grupos experimentales	Tratamiento
Grupo 1	CD (10% kcal como grasa)
Grupo 2	HFD (60% kcal como grasa)
Grupo 3	HFD + HSA 20%
Grupo 4	HFD + HAV 20%

6.5. Definición de variables

Tabla 2. Variables Independientes

Nº	Variables	Tipo de variable	Clasificación
1	Dieta	Cualitativa, nominal, dicotómica	CD, HFD
2	Suplementación	Cualitativa, nominal, dicotómica	HSA, HAV

Tabla 3. Variables Descriptivas

Variables	Indicadores (unidad de medida)
Análisis proximal harinas	Proteínas (g)
	Lípidos (g)
	Hidratos de carbono (g)
	Fibra dietética total (g)
	Fibra dietética insoluble (g)
	Fibra dietética soluble (g)
	Humedad (%)
	Cenizas (g)
Descripción del modelo	Perfil ácidos grasos (mg/g)
	Humedad (%)
	Peso corporal (g)
	Peso hígado (g)
	Peso tejido adiposo (g)
	Ingesta de alimento (g/día)
	Ingesta de energía (kcal/ día)
Ingesta de agua (ml)	

Tabla 4. Variables Dependientes

Variables	Indicadores (unidad de medida)
Parámetros metabólicos	Glucosa sérica (mg/dL)
	Insulina sérica (uUI/mL)
	Índice HOMA-IR
	Colesterol total sérico (mg/dL)
	TG séricos (mg/dL)
	HDL sérico (mg/dL)
Esteatosis y análisis de ácidos grasos hepáticos	LDL sérico (mg/dL)
	Grasa hepática total (g de grasa/100g de tejido)
	Perfil AG hepáticos (mg/ g de tejido)
	Colesterol total (mg/g hígado)
	TG hepáticos (mg/g de hígado)
Esteatosis hepática (score esteatosis)	

Daño hepático	Niveles séricos de transaminasas AST, ALT y GGT (U/L)
Estrés oxidativo hepático	F8-isoprostanos (pg/mg de tejido) Proteínas carboniladas hepáticas (mmol/ mg de tejido) TBARS hepáticos (µM MDA/mg tejido)
Respuesta Inflamatoria	TNF-α sérico (pg/ml) IL-1β sérica (pg/ml) IL-6 sérica (pg/ml)
Niveles de AGPI otros tejidos	Grasa total tejido adiposo (mg/ g) Perfil AG tejido adiposo (mg/ g) Grasa total eritrocitos (mg/ g) Perfil AG eritrocitos (mg/ g)
Producción AGCC	Humedad fecal (%) pH fecal Grasa en heces (g/100g) AGCC de masa fecal (mM/g)

6.6. Procedimientos y técnicas a utilizar.

6.6.1. Análisis químico proximal de la fracción rica en fibra dietética de las harinas

La HSA y HAV fueron producidas y caracterizadas en el Laboratorio de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Chile. La HSA se obtuvo a partir de semillas de albahaca producidas en Chile por la empresa South Pacific Seeds (SPS). Estas semillas inicialmente fueron desgrasadas por prensado en frío, para luego someter el subproducto (pellet) a una molienda (molino ultracentrífugo ZM 200, Retsch) y posterior fraccionamiento en seco (tamizadora analítica as 200 control, Retsch). La HAV se produjo tras la molienda (molino ultracentrífuga ZM 200, Retsch) de avena tradicional marca Quaker a fin de conseguir un producto comercial alto en fibra dietética similar a la semilla de albahaca. El análisis proximal de HSA y de la HAV se realizó utilizando métodos de la Asociación Americana de Cereales y Granos 44-15A (AACC, 1995)(30) La humedad se determinó por diferencia en peso en un horno por convección de aire (BOV-V70F, Biobase) a 105 °C hasta que las muestras alcanzaron un peso constante; el contenido de proteínas se obtuvo utilizando la técnica Kjeldahl (f: N x 6.5) y el contenido de cenizas se llevó a cabo en un horno de mufla (Nova FurnA2, Senava, Biotech), mediante incineración a 550 ° C por 4 horas. La determinación de fibra dietética total, soluble e insoluble se realizó con el método AOAC 2009.01AACC International Approved Method 32-45.01 empleando un kit para fibra dietética total (Megazyme, Irlanda) (Prosky et al., 1988)(31). Las muestras fueron sometidas a hidrólisis enzimática en un digestor enzimático (GDE, Velp scientifica, Italia) simulando el proceso digestivo desde la parte oral hasta el intestino delgado. Luego de la digestión

enzimática, las muestras fueron filtradas en un analizador de fibra dietética (Velp scientifica, Italia) en el que se obtuvo un precipitado no digerible que contiene fibra dietética, proteínas y material inorgánico. En el caso de la determinación de fibra dietética total, las muestras decantaron en una solución que contiene una relación de 4:1 de etanol (95%) precalentado a 65°C por una hora. El cálculo de fibra dietética corresponde al peso del precipitado no digerible menos el peso determinado de proteínas y material inorgánico. El contenido de lípidos se realizó por extracción con hexano y los carbohidratos totales se determinaron por diferencia. Las determinaciones se realizaron por triplicado y fueron expresados en g/100g en base húmeda, posteriormente se corrigió por cromatografía de gases.

6.6.2. Dietas, suplementación y animales

Las dietas CD (D12450B) y HFD (D12492) se obtuvieron desde el laboratorio Research Diets, Inc. (Anexo 2). La suplementación (Anexo 3) de fibra dietética para los grupos 3 y 4 se calculó en base a estimaciones reportadas en la literatura (11, 15, 19). Posterior a las 14 semanas de intervención y ayuno de 12h, los animales fueron anestesiados con isoflurano inhalatorio, se extrajo la sangre por punción cardiaca. Luego la sangre fue centrifugada a 3500 rpm durante 15 minutos. También, se recolectó y pesó los tejidos requeridos, previo a ser introducidos en nitrógeno líquido. Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta la realización de los análisis posteriores. A excepción de una sección de hígado destinado a histología que fue almacenada en formaldehído. En el anexo 4 se presentan las cantidades de plasma y tejido utilizados para las distintas mediciones.

6.6.3. Parámetros Metabólicos

- Glucosa sérica: Se cuantificó usando kit de glicemia (Wiener lab, Argentina, ref. 1400060) y fotómetro clínico (BioSystems BTS-350).
- Insulina sérica: Mediante kit ultra-anti-ratón Elisa (Mercodia, ref. 10-1249-01) y la densidad óptica de los pocillos de cada placa se leyó en el lector de placas (Bio-Rad® 550 ELISA).
- Determinación de RI: Mediante ecuación (Insulina en Ayuno (uU/mL) x Glucosa en Ayuno (mmol/L))/22.5) de Matthews et al. 1985 (7).
- Perfil lipídico sérico: Los niveles de TG se determinaron usando kits específicos (Wiener Lab, Argentina, ref. 18044) y fotómetro clínico (BioSystems BTS-350). Los niveles de colesterol total como HDL se midieron utilizando tiras reactivas (KENSHIN-2, lot PJ2A76)

y un analizador de química seca (SPOTCHEM EZ SP-4430), el LDL se determinó aplicando la fórmula de Friedewald 1972 $((\text{Colesterol total} - \text{HDL}) - \text{TG}/5)$.

6.6.4. Esteatosis hepática y análisis de ácidos grasos hepáticos, adiposo y eritrocitos

- Evaluación histológica: La evaluación cuantitativa, se realizó determinando la acumulación hepática de lípidos como porcentaje de células con infiltración de vesículas lipídicas en secciones de hígado teñidas con hematoxilina-eosina; la evaluación cualitativa consideró la presencia de esteatosis hepática macro y microvesicular según Brunt y cols., 1999 (32).

- Contenido lipídico: La grasa total de las muestras de hígado se extrajo de acuerdo con Bligh y Dyer (1959) y se cuantificó mediante determinación gravimétrica (33).

- Análisis de ácidos grasos: Antes del análisis cromatográfico, las muestras de lípidos se derivatizaron a ésteres metílicos de ácidos grasos (EMAG) con BF_3 (solución de metanol al 20%) Morrison & Smith, 1964 (34). Los EMAG se analizaron mediante cromatografía gas-líquido (GC) en un equipo GC Agilent (7890A), utilizando una columna capilar (Agilent HP-88,60mx0,25mm; identificación. 0,25mm) y un detector de ionización de llama. Se utilizó C23:0 (Nu-Check Prep, EE. UU.) como estándar interno.

- TG y colesterol total: Fueron medidos por un kit enzimático específico (Wiener Lab, Argentina y ref. 18044 ref. 1220114, respectivamente) y fotómetro clínico (BioSystems BTS-350).

6.6.5. Daño hepático

- Niveles séricos de transaminasas (AST, ALT y GGT): fueron medidos a través de tiras reactivas (KENSHIN-2, Lot PJ2A76) y un analizador de química seca (SPOTCHEM EZ SP-4430).

6.6.6. Estrés oxidativo

- Niveles hepáticos de F8-isoprostanos y proteínas carboniladas: Mediante kit (Cayman Chemical, EE. UU. No. 516351 y No. 10005020, respectivamente) y lector de placas Bio-Rad® 550 ELISA.

- Niveles hepáticos de TBARS: Por kit colorimétrico (R&D Systems, EE. UU., ref. 849754) y lector de placas Bio-Rad® 550 ELISA.

6.6.7. Respuesta inflamatoria

- Niveles séricos de TNF- α , IL-6 e IL1 β : Mediante kits ELISA (R&D Systems, EE. UU.) (Ratón TNF-alfa, catálogo de kits de ELISA MTA00B; IL-6, catálogo kits de ELISA M6000B; IL-1B, catálogo de kits de ELISA MLB00C) y el lector de placas Bio-Rad® 550 ELISA.

6.6.8. Peso corporal e ingesta dietética

- Peso corporal, ingesta dietética y de agua: Se midió por medio de una báscula y probeta, respectivamente.

6.6.9. Análisis fecal

- Contenido de grasa en deposiciones: La grasa total de las muestras se extrajo de acuerdo con Bligh y Dyer, 1959, y se cuantificó mediante determinación gravimétrica (33).

- Humedad fecal: Se realizó según Tirado et al., 2014 (35).

- pH fecal: Las muestras fecales se homogenizaron con agua destilada y posteriormente se midió su pH con un peachimetro (Meter jenway 3510).

- Análisis AGCC: Las muestras fecales se tomaron una vez a la semana, y se congelaron a -20 °C para su análisis posterior. Previo al análisis, las muestras se prepararon según la metodología propuesta por García et al., 2012 (36). Los AGCC se determinaron de acuerdo con Sasaki et al., 2018 (18). Las muestras se analizaron mediante GC en un equipo GC Agilent (7890A), utilizando una columna capilar (Agilent HP-88,60mx0,25mm; identificación. 0,25mm) y un detector de ionización de llama. Se utilizó C₆H₁₂O₂ (Sigma-Aldrich, EE. UU.) como estándar interno.

6.7. Elaboración del plan de análisis y técnicas estadísticas de análisis

El procesamiento de los datos se realizó por medio de STATA en su versión 15,0. Para los análisis estadísticos se considerará un nivel de significancia de $\alpha=0,05$ y un intervalo de confianza (IC) del 95%. Se empleó prueba de Shapiro Wilk para verificar la normalidad de la distribución de la muestra. El análisis proximal y perfil de ácidos grasos se expresó como media \pm DE y se aplicó Test T. Los resultados del modelo animal fueron expresados como medianas y rangos intercuartílicos y se realizó prueba Kruskal-Wallis para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, seguido de una prueba post-hoc Dunn's para ver específicamente entre qué grupos se produjo dichas diferencias. La correlación se evaluó aplicando la prueba de Spearman.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis proximal a la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética y determinación del perfil de ácidos grasos de suplementación

La HSA se destacó por contener cerca de un 59% de fibra dietética, siendo en su mayoría fibra insoluble (52,42%). El contenido de proteínas alcanzó un 18,49% en base húmeda, mientras que la cantidad de grasa presente en la harina fue un 5,8% (Tabla 5). Posteriormente, la composición de ácidos grasos arrojó un total de 7,12% de lípidos, con un 3,7% de AGPI, correspondiente a 2,03% de ALA y 1% a ácido linoleico (C18:2n-6, LA), seguido de un 3% AGS y en menor proporción AGM con un 0,46%. Por otra parte, HAV presentó un 10,13% de lípidos, con un 4% AG saturados, un 3,08% AGM y un 3,01% de AGPI (Anexo 5). Al comparar ambas harinas, tanto en el análisis proximal como en el perfil de ácidos grasos presentaron diferencias significativas (Anexo 5).

Tabla 5. Composición nutricional harina de semilla de albahaca rica en fibra en 100g

Composición (g/100g)	Harina de semilla de albahaca rica en fibra	Harina de Avena**
Proteínas (%N x 6.25)	18,49 ± 0,36 ^a	11.31 ± 0.09 ^b
Lípidos	5,80 ± 0,25 ^a	8.77 ± 0.58 ^b
Hidratos de carbono*	0 ^a	68.53 ^b
Fibra dietética total	59,09 ± 2,62 ^a	11.54 ± 0.05 ^b
Soluble*	5,67 ^a	4.09 ± 0.12 ^b
Insoluble	53,42 ± 0,44 ^a	6.87 ± 0.15 ^b
Cenizas	9,05 ± 0,04 ^a	3.67 ± 0.03 ^b
Humedad	7,58 ± 0,03 ^a	10.02 ± 0.12 ^b
Energía	244,34 ^a	421.37 ^b

Datos presentados como media ± desviación estándar en base húmeda. *Calculados por diferencia.

*Laboratorio de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Chile. Test T, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

7.2. Efecto de las intervenciones en las características generales de los grupos experimentales.

7.2.1. Ingesta de alimento, energía y agua.

La ingesta alimentaria (g/día) en los diferentes grupos no mostró diferencias significativas (Anexo 6). A diferencia de la ingesta energética, donde se observó un consumo estadísticamente menor en los alimentados con dieta control (CD) v/s los grupos con dieta alta en grasa (HFD) y suplementados con harina HSA o HAV. Algo similar ocurre con la ingesta proteica y lipídica al evidenciarse que el grupo CD tuvo una ingesta

significativamente menor que los otros grupos. A diferencia del consumo de hidratos de carbono con un consumo significativamente mayor en el grupo CD v/s los otros grupos. En cuanto al consumo de agua, fue variable en todo el periodo siendo el grupo HAV quien presentó una ingesta significativamente inferior en comparación con los otros grupos (Anexo 7). Respecto a la fibra, al comparar las medianas del consumo de este nutriente pre-suplementación (1 – 10 semanas) no se observaron diferencias significativas. Por el contrario, al comprar las medianas post suplementación (11-14 semanas) si se observan diferencias significativas, con un consumo mayor en los ratones suplementados con HSA en comparación con ratones HFD, CD y HAV (Anexo 8), caso similar ocurre con la ingesta ALA.

7.2.2. Peso corporal, hígado y tejido adiposo

Las características generales de los grupos experimentales se muestran en el anexo 9. La tendencia en el aumento de peso corporal fue constante durante todo el periodo de intervención en todos los grupos (Anexo 10). Los ratones con HFD suplementados con HSA y HAV fueron quienes mostraron un incremento de peso corporal atenuado en comparación con los ratones HFD, el grupo HSA fue el más eficaz en contraste con los suplementados con HAV. Respecto al peso del hígado el grupo CD presentó un peso menor ($p < 0,005$) que el grupo HFD y el grupo suplementado con HAV. En cuanto al tejido adiposo, los grupos HFD y suplementados con HSA y HAV tuvieron un incremento significativamente mayor de tejido adiposo que los animales alimentados con CD (Anexo 9). Respecto al peso de sus otros órganos solo se observaron diferencias significativas en corazón y riñones, entre CD v/s HFD y CD v/s HFD y suplementado con HAV respectivamente (Anexo 11).

7.3. Efecto de las intervenciones en los parámetros relacionadas a RI

7.3.1 Parámetros metabólicos

7.3.1.1 Glucosa, Insulina

La intervención más eficaz para mejorar los niveles de glucosa plasmática fue el grupo suplementado con HAV seguido de HSA (Figura 1), caso similar sucedió con la insulina y, por consiguiente, con el índice HOMA-IR en comparación con el grupo HFD.

7.3.1.2 Perfil lipídico

En la medición de TG, se observó que el grupo HSA como HAV logró atenuar este parámetro en comparación con el grupo HFD (Figura 1). Curiosamente el grupo con HSA exhibió una menor cantidad de TG en comparación con el grupo CD. Por otro lado, en los niveles de colesterol total se encontraron diferencias significativas solo entre los grupos CD v/s HFD (Figura 1). Mientras que el colesterol HDL y LDL fue menor en los grupos suplementados v/s HFD, confirmando la eficacia potencial como hipolipemiente de la HSA y HAV, destacándose HSA por un efecto mayor en la reducción de dichos parámetros.

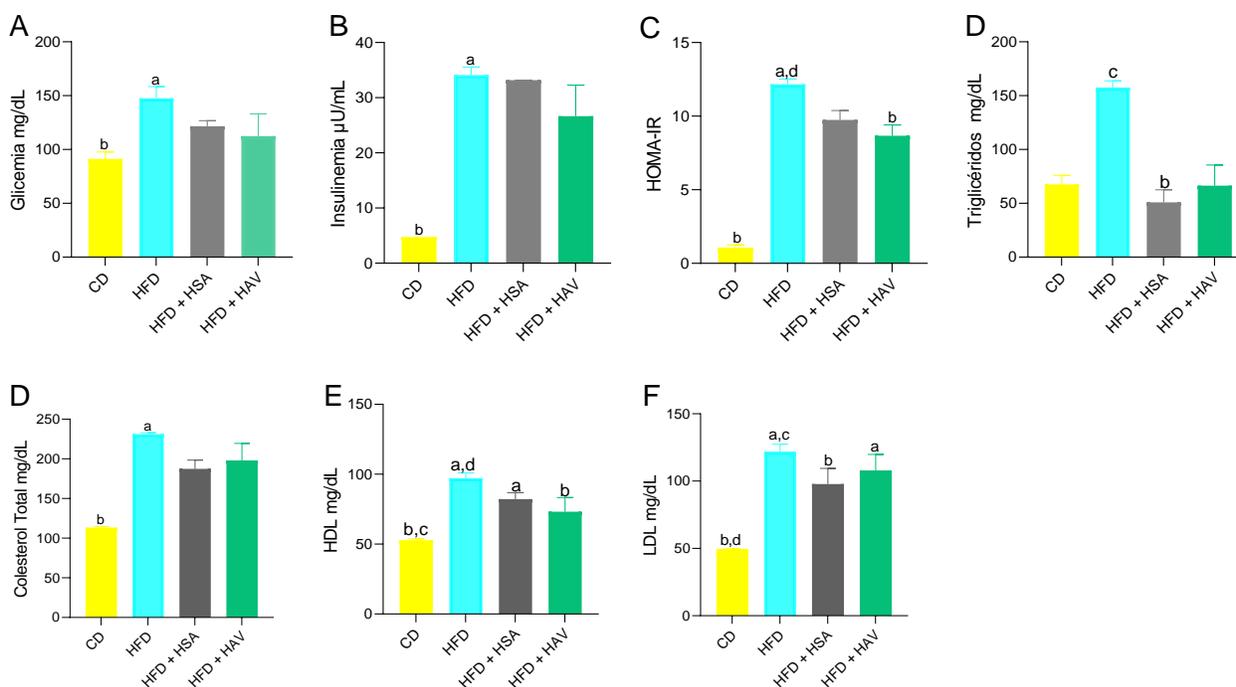


Figura 1. Parámetros metabólicos por grupo experimental. Los valores se representan como medianas y rangos intercuartílicos. n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HSA (c), HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

En la medición de TG, se observó que el grupo HSA como HAV logró atenuar este parámetro en comparación con el grupo HFD (Figura 1). Curiosamente el grupo con HSA exhibió una menor cantidad de TG en comparación con el grupo CD. Por otro lado, en los niveles de

colesterol total se encontraron diferencias significativas solo entre los grupos CD v/s HFD (Figura 1). Mientras que el colesterol HDL y LDL fue menor en los grupos suplementados v/s HFD, confirmando la eficacia potencial como hipolipemiante de la HSA y HAV, destacándose HSA por un efecto mayor en la reducción de dichos parámetros.

7.4. Efecto de las intervenciones en los parámetros de esteatosis y daño hepático, estrés oxidativo, defensa antioxidante y respuesta inflamatoria.

7.4.1 Parámetros hepáticos

7.4.1.1 Análisis Histológico

El análisis de placas histológicas hepáticas de los grupos experimentales se presenta en el (Figura 2). Los grupos alimentados con CD presentaron una histoarquitectura normal, sin presencia de focos de esteatosis hepática. Por su parte, en los alimentados con HFD durante 14 semanas se indujo un cuadro de esteatosis hepática micro y macrovesicular con migración de núcleos hacia la periferia de los hepatocitos, presentando importantes focos de esteatosis (90-100%) en la totalidad del tejido. Respecto a los grupos suplementados con HSA y HAV, se aprecian sectores con una atenuación de esteatosis, entre un 30 y 20% respectivamente, en los campos estudiados. El score de esteatosis muestra una tendencia a la disminución en los grupos suplementados con HSA o HAV en comparación del grupo HFD (Figura 2).

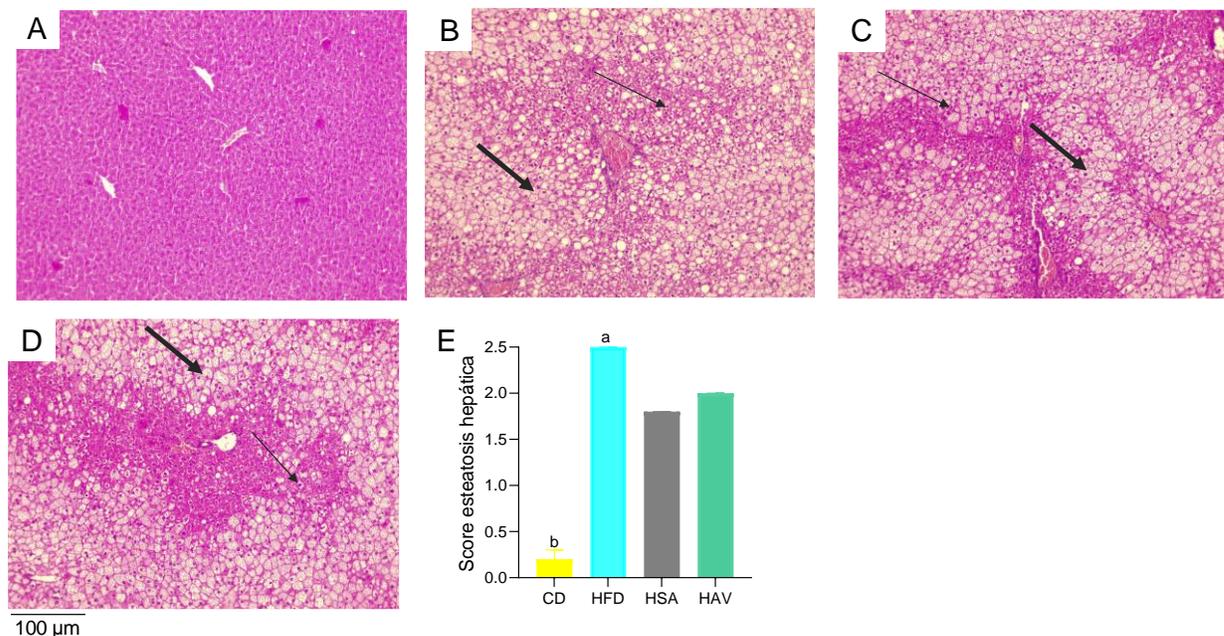


Figura 2. Histología hepática por grupo experimental. Ratones con dieta control (A), con dieta alta en grasa

(B), con dieta alta en grasa y harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética (C) con dieta alta en grasa y harina de avena (D). n=6-7. Los cortes fueron fijados en formaldehído y teñidos con hematoxilina eosina (10X de aumento), las flechas gruesas (→) indican esteatosis macrovesicular y flechas delgadas (→) indican esteatosis microvesicular. Score de esteatosis (E) Datos presentados como mediana y rango intercuartílico. N= 6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, Dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples; valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HSA (c), HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

7.4.1.2. Grasa hepática Total

En el anexo 12 se presenta el contenido de grasa hepática total en el hígado de los diferentes grupos. Se aprecia la tendencia presentada previamente, en la cual el grupo HSA evidencia una cantidad menor ($p < 0,05$) de grasa en comparación con los grupos HFD y HAV.

7.4.1.3. TG y colesterol hepáticos

Las concentraciones hepáticas de TG y colesterol fueron significativamente mayores en el grupo HFD v/s CD. No obstante, los ratones suplementados mostraron un aumento menor de estos parámetros, destacándose los HSA al presentar diferencias menores ($p < 0,05$) que HFD (Anexo 12).

7.4.1.4. Perfil de ácidos grasos hepáticos

El análisis del perfil de los ácidos grasos hepáticos relevantes en los grupos experimentales se detalla en el anexo 13. Como era de esperar, en todos los grupos alimentados con HFD (suplementados o no) se observó una cantidad significativamente mayor de AGS, AGM y AGPI en comparación CD. El grupo suplementado con HSA, presentó un contenido mayor ($p < 0,05$) de DHA y EPA en comparación con el grupo CD.

7.4.1.5. Transaminasas

Al cuantificar los niveles de transaminasas plasmáticas (AST, ALT y GGT) en los ratones intervenidos se detectaron diferencias significativas entre el grupo CD y los grupos HFD y HAV. Demostrando el potencial de la HSA en la reversión del daño hepático (Anexo 14).

7.4.2. Parámetros de estrés oxidativo

7.4.2.1 TBARS

Los niveles de TBARS hepáticos mostraron niveles superiores ($>0,05$) en HFD y HFD suplementados con HAV en comparación con el grupo CD. Además, se destaca que la suplementación con HSA logró normalizar hasta los niveles de TBARS del grupo CD (Anexo 15).

7.4.2.2 F8 - isoprostanos

Este estudio evidenció que los niveles de F8-isoprostanos, disminuían con la suplementación HSA al no presentar diferencias significativas con el grupo CD, a diferencia de los grupos HFD y suplementado con HAV (Anexo 15).

7.4.2.3 Proteínas carboniladas

Como se muestra en el anexo 15, los ratones con HFD tenían niveles hepáticos de proteínas carboniladas significativamente más altos en comparación con el grupo CD. Sin embargo, la magnitud del aumento fue menor en los grupos suplementados (HSA y HAV).

7.4.4. Parámetros de inflamación

7.4.4.1 TNF- α , IL-6, IL-1 β

En cuanto a la evaluación de los parámetros de inflamación, nuestros resultados revelaron que la suplementación con HSA provocó una disminución estadísticamente significativa en TNF- α plasmático e IL-6 asemejándose con resultados obtenidos de CD, mientras que los suplementados con HAV mostraron una mejor eficiencia en el control a la baja de IL-1 β en comparación con el grupo HFD (Anexo 16).

7.5. Contenido de AGPI en tejido adiposo y eritrocitos

7.5.1. Cuantificación de grasa y perfil de ácidos grasos tejido adiposo y eritrocitos

Respecto a la cantidad de grasa en el tejido adiposo y eritrocitos, no se observaron diferencias entre los grupos (Anexo 17). Por su parte, el tejido adiposo tampoco evidenció diferencias entre sus AG (Anexo 18). Sin embargo, se apreció una cantidad estadísticamente mayor de ALA en los grupos CD y HSA en contraste con el grupo HFD. Mientras que en eritrocitos (Anexo 19), el perfil de AG arrojó diferencias entre AGS y AGPI en el grupo HFD,

suplementado con HAV y CD, caso similar ocurrió con ALA y EPA, en el caso del DHA las diferencias fueron con grupo suplementado con HSA.

7.6. Rol de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en la producción AGCC

7.6.1 Grasa, humedad y pH en heces

La grasa en heces pre-suplementación mostró diferencias ($P < 0.05$) entre el grupo suplementado con HAV v/s HFD y CD, mientras que post suplementación, los grupos HSA y HAV expusieron una baja de grasa en heces con diferencias significativas en los grupos con HFD y CD, respectivamente (Anexo 20). La humedad de las heces pre-suplementación no evidenció diferencias significativas entre los grupos. No obstante, post suplementación (HSA o HAV) se observa un aumento considerable en la capacidad de retención de agua de las heces, presentando ambas diferencias significativas con el grupo CD, y en el caso de HSA tuvo una humedad en heces significativamente mayor al grupo HFD. Como se observa en el anexo 16, el pH en las heces de los grupos con HFD con o sin suplementación es estadísticamente inferior al pH del grupo CD previo a la suplementación. Dicha diferencia es mantenida al finalizar la intervención de 14 semanas solo en los grupos suplementados, lo que da indicios que la suplementación promueve, como era de esperar, una mayor capacidad fermentativa.

7.6.2. Contenido de AGCC

En los ratones intervenidos se obtuvo que pre-suplementación no hubo diferencias significativas en la concentración de AGCC, mientras que post suplementación el grupo CD y HSA mostró un aumento de AGCC estadísticamente superior al grupo HFD (Figura 3). Al analizar los 6 AGCC estudiados (ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, valérico e isovalérico), se encontró que el ácido acético es el más abundante en todos los grupos, seguido del propiónico y butírico, en el caso de los ratones suplementados con HSA.

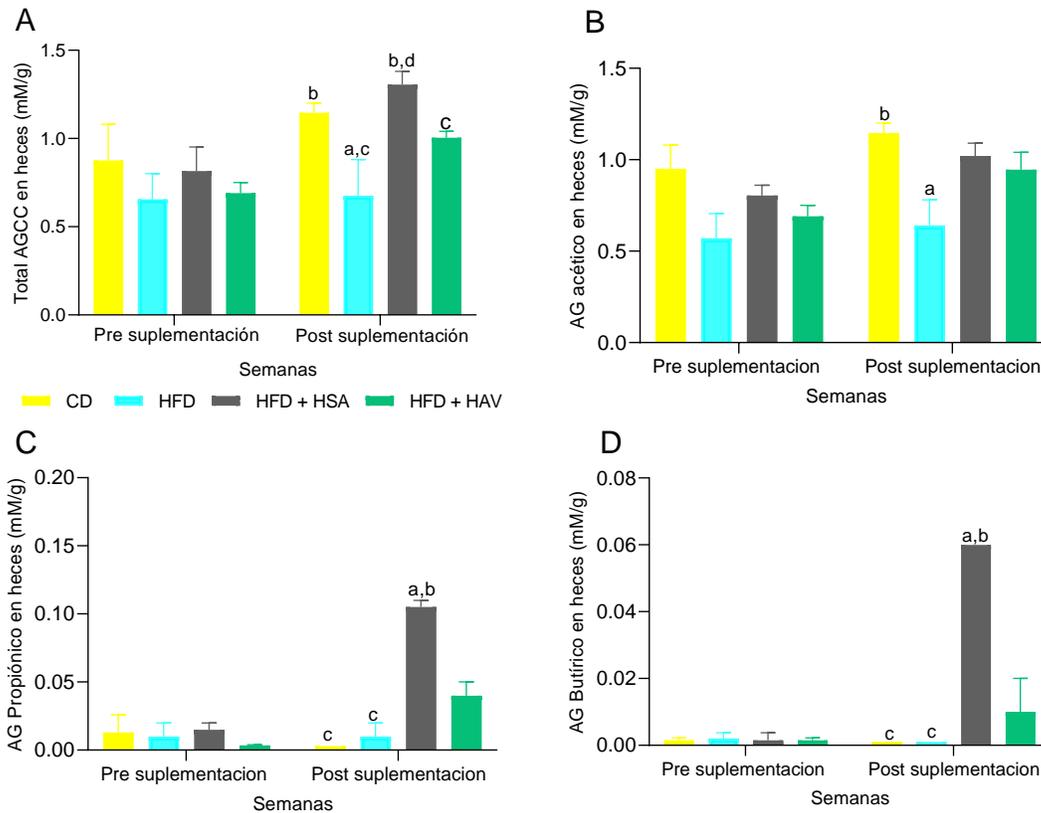


Figura 3. AGCC presentes en las heces de los ratones intervenidos (mM/g). Los valores se representan como medianas y rangos intercuartílicos. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena; AGCC, ácidos grasos de cadena corta; AG, ácidos grasos. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HFD + HSA (c), HFD + HAV (d). representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

7.7. Correlaciones entre HOMA-IR, peso corporal, ALT, TNF- α y parámetros de estrés oxidativo

Se encontró una correlación positiva fuerte significativa, entre HOMA-IR, peso corporal, grasa hepática, transaminasas (ALT), F8- isoprostanos y proteínas carboniladas y una correlación positiva moderada significativa entre HOMA-IR, peso corporal, TNF- α y TBARS hepáticos a las 14 semanas de intervención (Anexo 21, 22, 23).

8. DISCUSIÓN

8.1. Análisis proximal la harina de semilla se albahaca rica en fibra dietética y determinación del perfil de ácidos grasos

En la presente investigación, se determinó la composición nutricional de la HSA, debido a que no existen estudios previos sobre la caracterización de HSA, siendo necesario verificar algunos nutrientes de esta semilla como la fibra dietética (soluble e insoluble) y ALA (23). El análisis proximal reveló que la HSA posee $59,09 \pm 2,62$ g de fibra por cada 100g de harina, lo que permitiría en Chile catalogarlo como un alimento “excelente fuente de fibra” (al considerar 50g como porción de consumo habitual) (22). Por otro lado, se demostró que, a pesar del prensado en frío para la extracción y obtención del aceite de semilla de albahaca, el pellet resultante, que posteriormente es triturado y tamizado para elaborar la HSA, aún conserva un 7,12% de lípidos, de los cuales 2,03% corresponden a ALA y 1% a LA, sin menospreciar el aporte proteico que entrega (9 g de proteína por cada 50g de harina).

8.2. Efecto de las intervenciones en las características generales de los grupos experimentales

Algunos estudios han observado que la ingesta de aislados de fibra dietética mejora la adiposidad en ratones alimentados con una dieta alta en grasa (11, 19). Aquí, se muestra que con 4 semanas de suplementación con HAV y/o HSA al 20% en ratas macho adultas con esteatosis hepática, y pese a que no se generó cambios en la ingesta de alimentos, la ingesta energética como era de esperar si presentó cambios significativos al comparar los grupos CD con HFD y suplementados. De forma similar a lo observado por Palou et al, la suplementación con fibra (HSA o HAV) da como resultado un peso corporal más bajo en comparación con su control HFD; en particular, la inclusión de HSA, tras exhibir un efecto mayor (19). Por el contrario, a lo reportado en estos estudios (11, 19), el peso del tejido adiposo epididimal no difirió en los ratones con HFD con o sin suplementación (11, 19), presumiblemente debido a que ambos estudios actuaban desde la prevención y no desde la reversión, como la presente investigación.

8.3. Efecto de las intervenciones en los parámetros relacionadas a RI

Como un componente crítico, la RI promueve fuertemente la esteatosis hepática y existe evidencia para apoyar una asociación entre la ingesta de fibra dietética y una mejora en la RI

(3, 9, 20). En la presente investigación se mostró que los ratones suplementados (HSA y/o HAV) atenúan la RI, al presentar una reducción de los parámetros de insulina y glicemia en comparación con HFD. Por otra parte, al comparar los parámetros lípidos en sangre (TG, colesterol total, HDL y LDL), el grupo HSA mostró una atenuación significativa en comparación con HFD en TG y LDL. En este sentido, en un estudio realizado por Kim JK et al, mostró que ratas alimentadas con un 10% con aceite de perilla, caracterizado por poseer un alto contenido de ALA (60%), durante 4 semanas, es capaz de reducir los niveles de TG y colesterol en plasma (25). Por tanto, se podría presumir que, el ALA aportado por la HSA post suplementación (33 mg) podría explicar en parte los resultados vistos en la presente investigación en conjunto con la fibra dietética, nutriente en común que comparten las suplementaciones cuyo efecto, posiblemente, se debe a la capacidad de aumentar la excreción de sales biliares (16) y regulación del apetito, dado que el exceso de calorías es un determinante en el desarrollo de la RI (11, 37). Además, la ingesta de fibra dietética se ha descrito previamente para reducir los TG en ratas debido a una disminución en la síntesis de ácidos grasos de *novo* en el hígado a través de la de la inhibición de enzimas lipogénicas (19), destacándose la presencia de β -glucanos; contenidos en la avena y semillas de albahaca; vinculados a frenar también los niveles de colesterol total y LDL al influir en la absorción de carbohidratos y colesterol en el intestino (16, 38). Sumado a ello, un estudio mostró que las semillas de albahaca contenían péptidos con actividad antioxidante e identificaron con éxito las actividades inhibitorias de la amilasa, al participar como análogos en la red de enlaces de hidrógeno en el sitio activo del complejo amilasa/sustrato, inhibiendo así el proceso de hidrólisis (28, 38).

8.4. Efecto de las intervenciones en los parámetros de esteatosis, daño hepático, respuesta inflamatoria y estrés oxidativo

La alimentación rica en grasas en roedores causa esteatosis hepática marcada y resistencia producto de un desajuste entre la captación de lípidos hepáticos y la exportación de lípidos (13). En las histologías, particularmente en los ratones suplementados, se observó una disminución de esteatosis hepática, lo que fue corroborado con score de esteatosis, la cantidad de grasa en el tejido, por medio de gravimetría, TG y colesterol hepático. Además, en este estudio se identificó y cuantificó el perfil de ácidos grasos del tejido hepático dando como

resultado una mayor cantidad de ALA, EPA y DHA en los ratones alimentados con HSA v/s CD. Esto presumiblemente por la cantidad de ALA contenida en la suplementación HSA y debido a que en hígado el ALA se convierte de forma más eficiente en DHA (25). El DHA aumenta la actividad de PPAR- α , capaz de inhibir el factor de transcripción nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B), restaurar la β -oxidación y mediar los procesos oxidativos y peroxisomal (9, 39), contribuyendo a revertir el daño mitocondrial y aumentar la producción de ATP. Además, disminuye la acumulación de intermediarios metabólicos el estrés en el retículo endoplásmico. Por consiguiente, favorece la reversión de la EHGNA y el daño hepatocelular (5). Sumado a ello, AGPI n-3 ejercen efectos sobre la expresión génica mediante la regulación de otros dos factores nucleares lipogénicos, la proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono (ChREBP) y de la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides (SREBP-1c), por consiguiente, es capaz de inhibir la síntesis de *novo* de ácidos grasos (27).

Por otro lado, si bien el grado en el que se elevan las aminotransferasas no se correlaciona con el diagnóstico de EHGNA, la gravedad de la fibrosis o la gravedad de la inflamación. Los niveles elevados de ALT se han asociado a la RI y el grado de esteatosis hepática en pacientes con EHGNA (13). En los ratones intervenidos, el índice HOMA-IR y la esteatosis evidenciaron el mismo panorama al correlacionarse positivamente con los niveles aumentados de ALT ($p < 0,0001$). Adicionalmente, se ha visto que la EHGNA en pacientes obesos puede predecir un peor pronóstico a largo plazo debido a niveles más altos de transaminasas, en relación con la EHGNA no obesa (5). Concordante con ello, en esta investigación se encontró que el peso corporal se correlacionó de forma positiva con los niveles de ALT ($p < 0,0001$). Además, los ratones con HFD exhibieron niveles de transaminasas (AST, ALT y GGT) significativamente mayor en comparación con los ratones con CD; en cuanto a las suplementaciones solo el grupo HSA logró atenuar el daño hepático al no presentar cambios significativos con CD.

Los modelos de roedores obesos con resistencia a la insulina también han demostrado un aumento de TNF- α en tejido adiposo. La expresión de TNF- α también incrementa en el tejido adiposo de personas con obesidad; esto se relaciona con la RI y disminuye con la reducción de peso (8). En los ratones intervenidos, los niveles plasmáticos de TNF- α y otras citoquinas

inflamatorias (IL-6, IL-1 β) aumentaron de forma significativa luego de 14 semanas con HFD, siendo atenuado en los ratones suplementados en comparación con HFD, al relacionar los niveles de TNF- α con el índice HOMA-IR y peso corporal se encontró una correlación positiva moderada ($p=0,0002$, $p=0,0077$ respectivamente). En consecuencia, la HFD incrementa el riesgo de complicaciones metabólicas debido a que en humanos el exceso de tejido lipídico sería susceptible a la infiltración de células mononucleares y a la secreción de citoquinas proinflamatorias tales como TNF- α , IL1- β , IL-6 y resistina (4, 6, 9). En este contexto, se plantea que estas citoquinas pueden inducir RI, al activar varias vías de serina-treonina quinasa, como el factor de transcripción NF- κ B que, a su vez, fosforila en serina o treonina al sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1) conduciendo a la degradación del IRS, afectando la cascada de señalización río abajo de la insulina y por consiguiente, suprime la localización de GLUT4 en las membranas celulares al alterar la señalización de la insulina, favoreciendo una menor capacidad de absorción y utilización de glucosa por las células (4, 6, 9).

Otro evento clave en la patogenia de la EHGNA es la formación de EROS durante la inflamación, sumando al daño mitocondrial, perpetúan la acumulación de intermediarios metabólicos e inducen al estrés en el retículo endoplásmico y en el tiempo inducen la producción exacerbada de EROS (5). Los radicales libres se producen continuamente en el curso del metabolismo normal y juegan un papel destacado en la señalización celular. Sin embargo, cuando se produce una sobrecarga de producción, se desarrolla estrés oxidativo (4). Como era de esperar, el grupo HFD exhibió un aumento ($p<0,05$) de TBARS e isoprostanos hepáticos, marcadores que evalúan la peroxidación lipídica; curiosamente a pesar de que el grupo HSA fue el grupo con mayor cantidad de DHA; AG sensible a la oxidación por presentar mayor cantidad de doble enlaces; fue el grupo con menores niveles de TBARS presentando diferencias significativas con el grupo HFD, protección atribuida a la acción de la actividad de PPAR- α y de los péptidos con actividad antioxidante comentados previamente (38). Además, se ha visto que los productos derivados de la peroxidación lipídica son altamente reactivos y capaces de modificar residuos nucleofílicos de lisina, cisteína e histidina en las proteínas, predominante en estadios más tardíos de la EHGNA (40). En este sentido, el grupo HSA presentó una cantidad menor significativa en carbonilos proteicos en contraste con el grupo HFD, indicando que la suplementación atenuó la producción de EROS

y por tanto la oxidación de lipídica como proteica, de modo que, la peroxidación lipídica/proteica es marcador validado de estrés oxidativo (40). Incluso, se plantea que el estrés oxidativo también favorece la aparición de RI, al alterar la transducción de la señal de la insulina y traslocación de GLUT-4 (4, 6, 9). Debido a ello, se ha visto que el estrés oxidativo y la RI también están estrechamente relacionados (4, 8). En esta investigación los niveles hepáticos de TBARS, F8-isoprostanos y carbonilos proteicos de igual modo se correlacionaron positivamente con la RI ($p=0,0002$, $p<0,0001$, respectivamente).

8.5. Contenido de AGPI en tejido adiposo y eritrocitos

Hay estudios limitados que abordan el impacto de la cantidad de ALA en la dieta sobre su propia acumulación y conversión a AGPI n-3 de cadena más larga. Siendo relevante estudiar debido a que su almacenamiento (tejido adiposo) puede representar un depósito de ALA de liberación lenta que otros tejidos utilizan con el tiempo (ejemplo cerebro) (24). Así como, por los mediadores lipídicos que se pueden generar en la conversión de ALA a DHA con doble bioactividad antiinflamatoria y proresolutiva (SPMs), incluidas resolvinas, protectinas y marecinas, capaces de modular la función de las células endoteliales y sistema inmunitario (41). Junto con ello, fundamentales para contrarrestar los efectos nocivos de altas ingestas de hidratos de carbono y ácido palmítico (C:16:0), dado que inducen inflamación vascular al activar el sistema inmune (TLR 2 y 4), en consecuencia, precursores de intermediarios lipídicos como ceramidas y aumento en la producción del NF- κ B e IL-6, representando un mecanismo por el cual EHGNA promueve el desarrollo de daño vascular y aterosclerosis (8, 14, 42). En este contexto, un estudio en el que se alimentó a hámsteres con diferentes cantidades de ALA durante 5 semanas (entre 1 y 40 g de ALA/100 g de ácidos grasos totales), indicaron que el contenido de ALA aumenta drásticamente en el tejido adiposo del epidídimo, pero en una medida mucho menor en los glóbulos rojos, aunque el contenido de DHA no cambió (25). Con los resultados de la presente investigación se corroboró que en particular el ALA (2,6g/100g de harina) contenido en la suplementación con HSA aumentó los niveles de ALA en tejido adiposo epididimal y en eritrocitos. No obstante, en estos ratones inesperadamente existió un incremento significativo de DHA en los fosfolípidos de eritrocitos en comparación con el grupo HFD. Además, este incremento podría ser mayor en mujeres dado que existe evidencia de que pueden ocurrir cambios significativos en el estado de DHA independientemente de los cambios en la ingesta de PUFA n-3, probablemente a

través de una mayor expresión hepática de desaturasas (Δ -5, Δ -6) que se ha observado en roedores hembras en comparación con machos (24).

8.6 Rol de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética en el contenido de AGCC

En este estudio, se analizó la composición lipídica en las heces de los ratones, observándose que los ratones con dieta HFD tienen una cantidad significativamente mayor que el grupo CD y HSA. Este hallazgo ha sido poco estudiado en la literatura por lo cual sería novedoso seguir profundizando sobre el perfil de ácidos grasos. Junto con ello, las heces de los ratones HSA tenían una mayor humedad post suplementación en comparación con los grupos controles (CD y HFD) producto de la capacidad de retención de agua principalmente de la fibra soluble y acción de los AGCC que regulan la absorción de agua y minerales (43, 44). Por otro lado, el análisis del pH reflejó una disminución en los grupos suplementados, presumiblemente, a la producción de AGCC, dado que, al ser ácidos débiles, son capaces de disminuir el pH colónico y, como resultado el de las heces. Siendo una ventaja potencial al inhibir el crecimiento de bacterias patógenas sensibles a pH bajo (Ej: *Enetrobacteraciae*) y promover el crecimiento de bacterias beneficiosas (44). Este último, relevante en la patogenia de la EHGNA debido a que una disbiosis intestinal podría alterar la producción de bacterias y metabolitos como triptófano, lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y con ello desregular la activación inflamatoria de las células de Kupffer, cambiar la circulación enterohepática de ácidos biliares, provocar inflamación y finalmente esteatosis hepática (3). También, se postula que estos metabolitos podrían contribuir en la progresión de la EHGNA a través de la activación de complejos de proteínas clave del inflamasoma encargados de procesar prointerleuquinas inflamatorias a sus formas activas, gatillar una sobreproducción de leptina y regular a la baja la producción de adiponectina (3, 14). Como resultado, las terapias de EHGNA bajo exploración actual tienen una amplia gama de objetivos entre ellos las alteraciones en el microbioma y la permeabilidad intestinal (13). La evidencia destacada, además, el papel beneficioso de los AGCC derivados de la microbiota intestinal en el manejo de la homeostasis energética al regular PPAR- α y enzimas que participan en la oxidación lipídica mitocondrial (acetil-CoA carboxilasa y carnitina-palmitotransferasa 1)(17).

En este estudio, el análisis del perfil de AGCC en muestras de heces de ratón identificó que el grupo HSA contribuía de forma significativamente post suplementación en la producción de AGCC seguido de los alimentados con HAV, destacándose el acético, propiónico y butírico. Al igual que otros datos encontrados en la literatura, que detectaron aumento significativo de estos AGCC, tanto modelo *in vitro*, ratones y humanos (11, 18, 36). Siendo el ácido butírico el más relevante debido a sus efectos supresores sobre la respuesta inflamatoria excesiva, como la inhibición de NF- κ B y efectos potenciadores en la función de barrera intestinal, así como su influencia en el eje intestino-cerebro, reducción del estrés oxidativo dentro del colon a través de los efectos sobre la expresión génica implicada en el metabolismo del glutatión y del ácido úrico (17, 18, 20). Por otro lado, se plantea que la fibra dietética contenida en las suplementaciones podría ser considerada como un prebiótico, ya que se sabe que las bacterias pertenecientes al filo Bacteroidetes, constituyen una gran proporción de la microbiota intestinal y producen principalmente propionato junto con acetato (18). También, el efecto específico de la avena en los resultados previamente mencionados podría fundamentarse, en lo publicado recientemente por Gao et al. (2022), al reportar que la suplementación con fibra de avena es capaz de bloquear la vía de la señal TLR4 y disminuir la expresión del factor NF- κ B p65 en los tejidos intestinales de ratones macho. Además, indicaron que la fibra de avena aumenta la expresión de proteínas de unión estrecha, incluidas ZO-1 y ocludina, contribuyendo así a mantener la integridad de la barrera intestinal (45).

8.7 Limitaciones y aportes

Existen algunas limitaciones en el presente estudio. En primer lugar, los AGCC fueron medidos considerando un pool de heces recolectadas directamente desde las jaulas, a fin de determinar la producción pre y post suplementación a diferencia de otros estudios que consideran una medición final en contenido cecal. No obstante, igualmente las mediciones realizadas permitieron dar un panorama general de la repercusión de las suplementaciones sobre AGCC, pH, humedad y grasa en heces. Sumado a lo anterior, sería interesante que la investigación a futura considerara el análisis del perfil de AG de las heces para identificar la variabilidad en la distribución de AG. En segundo lugar, la presente investigación no determinó ni cuantificó los polifenoles que podrían estar presentes en la HSA cuya

biodisponibilidad por los procesos de molienda para la obtención de la para harina podría ser facilitada, siendo tema para la generación de nuevas discusiones al aislar sus efectos.

En general, en este estudio caracterizó nutricionalmente una harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética, un subproducto de la industria de aceite a partir de una semilla comestible que hasta la fecha no había sido investigada, contribuyendo a la revalorización de este producto. Además, se evaluó sus efectos a nivel metabólico en un modelo animal, donde se obtuvo resultados favorables para la incorporación de la HSA en contextos de dieta rica en grasas. Los mecanismos por el cual la HSA y HAV pueden reducir la RI y la esteatosis, mencionados en la discusión, se resumen en la figura 4.

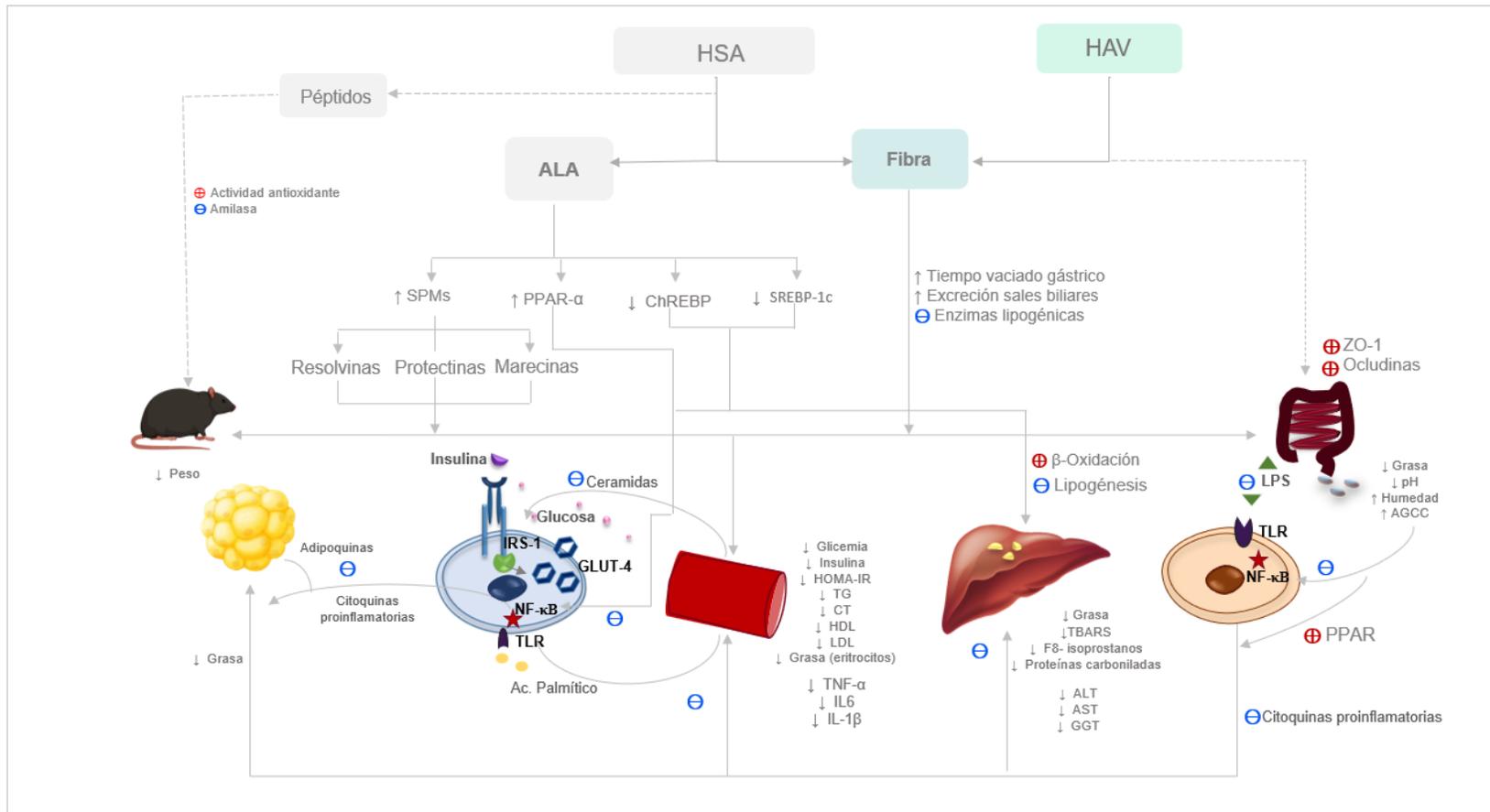


Figura 4. Resumen los efectos de la suplementación con HSA y HAV y las posibles vías metabólicas o mecanismos involucrados en la reversión de RI y esteatosis hepática.

9. CONCLUSIONES

Esta investigación buscó determinar los efectos de la harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética frente a la RI, esteatosis hepática inducidos por una dieta alta en grasa y su contribución en el contenido de AGPI n-3 en tejidos y AGCC en ratón. La dieta HFD indujo RI, esteatosis hepática, estado proinflamatorio, oxidativo y una disminución significativa en la producción de AGCC. En contraste, la dieta HFD suplementada con HSA y en menor medida con HAV logró un efecto protector al exhibir una mejoría en los parámetros relacionados a RI, atenuación en la esteatosis, daño hepático y estrés oxidativo, así como, disminución del estado inflamatorio, aumento de AGPI n-3 en hígado, adipocitos y eritrocitos e incremento de AGCC. Teniendo en cuenta ello, la suplementación con HSA ejerció una protección, por lo cual este producto podría ser considerado como una potencial línea terapéutica para el manejo de la RI, la reversión en esteatosis hepática. Además, este estudio permitió revalorizar residuos industriales de la producción de aceite de semilla de albahaca emergente en el mercado, al comprobar que los pellets obtenidos pueden convertirse en un producto excelente fuente de fibra dietética, en particular, fibra insoluble y un 2,6 % de ALA. Aún queda para futuras investigaciones determinar y cuantificar los polifenoles que pudieran permanecer en el producto dado que existe la posibilidad que pudieran contribuir o explicar la disminución de complicaciones metabólicas estudiadas.

10. REFERENCIAS

1. Lee SH, Park SY, Choi CS. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J.* 2022;46(1):15-37.
2. Gołabek KD, Regulska-Ilow B. Dietary support in insulin resistance: An overview of current scientific reports. *Adv Clin Exp Med.* 2019;28(11):1577-85.
3. Tanase DM, Gosav EM, Costea CF, Ciocoiu M, Lacatusu CM, Maranduca MA, et al. The Intricate Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Insulin Resistance (IR), and Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *J Diabetes Res.* 2020;2020:3920196.
4. Yaribeygi H, Farrokhi FR, Butler AE, Sahebkar A. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):8152-61.
5. Cariou B, Byrne CD, Loomba R, Sanyal AJ. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes Obes Metab.* 2021;23(5):1069-83.
6. da Silva Rosa SC, Nayak N, Caymo AM, Gordon JW. Mechanisms of muscle insulin resistance and the cross-talk with liver and adipose tissue. *Physiol Rep.* 2020;8(19):e14607.
7. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
8. Yazıcı D, Sezer H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:277-304.
9. Fujii H, Kawada N, Japan Study Group Of Nafld J-N. The Role of Insulin Resistance and Diabetes in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11).
10. Cotter TG, Rinella M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease. *Gastroenterology.* 2020;158(7):1851-64.
11. Abernathy BE, Schoenfuss TC, Bailey AS, Gallaher DD. Polylactose Exhibits Prebiotic Activity and Reduces Adiposity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats Fed a High-Fat Diet. *J Nutr.* 2021;151(2):352-60.
12. Eslam M, George J. MAFLD: A holistic view to redefining fatty liver disease. *J Hepatol.* 2021;74(4):983-5.

13. Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *Jama*. 2020;323(12):1175-83.
14. Dewidar B, Kahl S, Pafili K, Roden M. Metabolic liver disease in diabetes - From mechanisms to clinical trials. *Metabolism*. 2020;111s:154299.
15. Samarasinghe K, Dharmadasa, C., Waisundara, V. Agrawaly R., Dorcas O., Aderonke G., y cols. *Dietary Fibers* Dietary Fibers 1st ed. ed. London: IntechOpen; 2022. p. 94.
16. Shah BR, Li B, Al Sabbah H, Xu W, Mráz J. Effects of prebiotic dietary fibers and probiotics on human health: With special focus on recent advancement in their encapsulated formulations. *Trends Food Sci Technol*. 2020;102:178-92.
17. Moszak M, Szulińska M, Bogdański P. You Are What You Eat-The Relationship between Diet, Microbiota, and Metabolic Disorders-A Review. *Nutrients*. 2020;12(4).
18. Sasaki D, Sasaki K, Ikuta N, Yasuda T, Fukuda I, Kondo A, et al. Low amounts of dietary fibre increase in vitro production of short-chain fatty acids without changing human colonic microbiota structure. *Scientific Reports*. 2018;8(1):435.
19. Palou M, Sánchez J, García-Carrizo F, Palou A, Picó C. Pectin supplementation in rats mitigates age-related impairment in insulin and leptin sensitivity independently of reducing food intake. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59(10):2022-33.
20. Barber TM, Kabisch S, Pfeiffer AFH, Weickert MO. The Health Benefits of Dietary Fibre. *Nutrients*. 2020;12(10):3209.
21. Amigo H. BP, Pino P., y cols. Encuesta Nacional de Consumo de Alimentos - Informe Final In: *Nutrición Dd*, editor. Santiago2014. p. 329.
22. Salud Md. Reglamento Sanitario de los Alimentos. 2022.
23. Calderón Bravo H, Vera Céspedes N, Zura-Bravo L, Muñoz LA. Basil Seeds as a Novel Food, Source of Nutrients and Functional Ingredients with Beneficial Properties: A Review. *Foods*. 2021;10(7).
24. Domenichiello AF, Kitson AP, Bazinet RP. Is docosahexaenoic acid synthesis from α -linolenic acid sufficient to supply the adult brain? *Prog Lipid Res*. 2015;59:54-66.
25. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research*. 2009;48(6):355-74.

26. Fu Y, Wang Y, Gao H, Li D, Jiang R, Ge L, et al. Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity. *Mediators Inflamm.* 2021;2021:8879227.
27. FAO. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos [Internet]. Estudio FAO nutrición y alimentación. 2010. p. 1–204 p.
28. Afifah NH, Gan C-Y. Antioxidative and Amylase Inhibitor Peptides from Basil Seeds. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics.* 2015;22.
29. Agricultura Md. Desarrollo de ingredientes funcionales a partir de semillas de Chia, Albahaca y Viborera producidas en Chile 2018 [Available from: <https://www.opia.cl/601/w3-article-92469.html>].
30. AACC. Approved methods of the American association of cereal chemists. AACC USA. 1995.
31. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, DeVries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem.* 1988;71(5):1017-23.
32. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol.* 1999;94(9):2467-74.
33. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8):911-7.
34. Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride--methanol. *J Lipid Res.* 1964;5:600-8.
35. Tirado DF, Montero PM, Acevedo D. Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias. *Información tecnológica.* 2015;26:03-10.
36. García-Villalba R, Giménez-Bastida JA, García-Conesa MT, Tomás-Barberán FA, Carlos Espín J, Larrosa M. Alternative method for gas chromatography-mass spectrometry analysis of short-chain fatty acids in faecal samples. *J Sep Sci.* 2012;35(15):1906-13.
37. Kojta I, Chacińska M, Błachnio-Zabielska A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients.* 2020;12(5).

38. Farías C, Cisternas C, Morales G, Muñoz L, Valenzuela R. Albahaca: Composición química y sus beneficios en salud. *Revista chilena de nutrición*. 2022;49:502-12.
39. Shi Y, Zou Y, Shen Z, Xiong Y, Zhang W, Liu C, et al. Trace Elements, PPARs, and Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020;21(7).
40. Shearn CT, Saba LM, Roede JR, Orlicky DJ, Shearn AH, Petersen DR. Differential carbonylation of proteins in end-stage human fatty and nonfatty NASH. *Free Radic Biol Med*. 2017;113:280-90.
41. Markworth JF, Kaur G, Miller EG, Larsen AE, Sinclair AJ, Maddipati KR, et al. Divergent shifts in lipid mediator profile following supplementation with n-3 docosapentaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *Faseb j*. 2016;30(11):3714-25.
42. Kasper P, Martin A, Lang S, Kütting F, Goeser T, Demir M, et al. NAFLD and cardiovascular diseases: a clinical review. *Clinical Research in Cardiology*. 2021;110(7):921-37.
43. Almeida-Alvarado SL, Aguilar-López T, Hervert-Hernández D. La fibra y sus beneficios a la salud. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 2014;27:73-6.
44. Sasaki D, Sasaki K, Ikuta N, Yasuda T, Fukuda I, Kondo A, et al. Low amounts of dietary fibre increase in vitro production of short-chain fatty acids without changing human colonic microbiota structure. *Sci Rep*. 2018;8(1):435.
45. Gao H, Song R-J, Jiang H, Zhang W, Han S-F. Oat fiber supplementation alleviates intestinal inflammation and ameliorates intestinal mucosal barrier via acting on gut microbiota-derived metabolites in LDLR^{-/-} mice. *Nutrition*. 2022;95:111558.

ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo experimental.

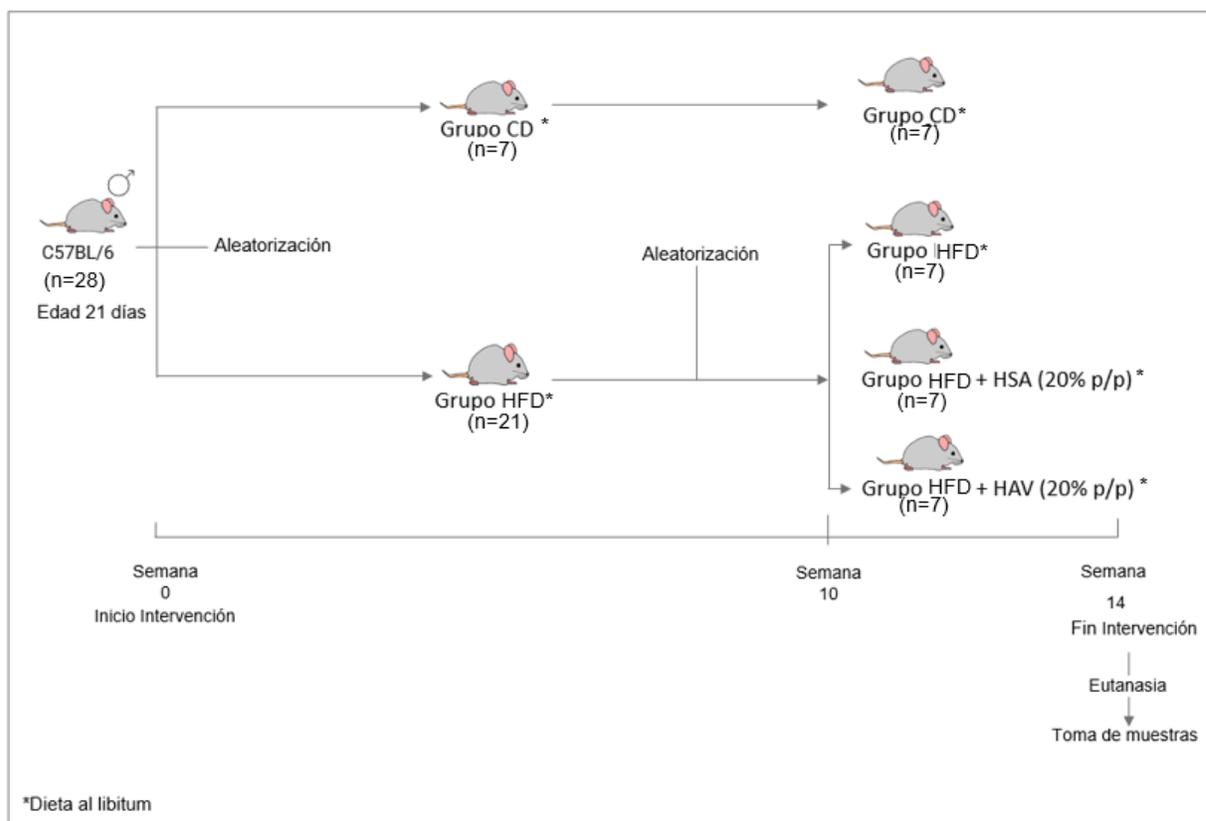


Figura. Protocolo experimental. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena.

ANEXO 2. Información nutricional de las dietas experimentales.

Tabla. Aporte nutricional y composición de dietas

	Dieta control		Dieta alta en grasa	
	Research Diet INC, rodent diet with 10% Kcal% fat, product data D12450B.USA (Kcal/g 3.85)		Research Diet INC, rodent diet with 60% Kcal% fat, product data D12492. USA. (Kcal/g 5,24)	
Macronutrientes	% g totales	% kcal totales	% g totales	% kcal totales
Proteínas	19,2	20	26,2	20
Hidratos de carbono	67,3	70	26,3	20
Lípidos	4,3	10	34,9	60
Ingredientes	g	Kcal	g	Kcal
Caseína	200	800	200	800
L-Cistina	3	12	3	12
Maicena	315	1260	0	0
Maltodextrina	35	140	125	500
Sacarosa	350	1400	68,8	275,2
Celulosa	50	0	50	0
Aceite de soja	25	225	25	225
Manteca de cerdo	20	180	245	2205
Mezcla de minerales	10	0	10	0
Fosfato dicálcico	13	0	13	0
Carbonato de calcio	5,5	0	5,5	0
Citrato de potasio	16,5	0	16,5	0
Mezcla de vitaminas	10	40	10	40
Bitartrato de colina	2	0	2	0
Tartrazina	0,05	0	0,05	0
Total	1.055,05	4057	773,85	4.057

Fuente: etiquetado nutricional del producto.

ANEXO 3. Suplementación según grupo experimental

Tabla. Composición de alimentación y suplementación según grupo experimental en 100g

Nutriente (g)	CD		HFD		HFD 80% + HSA 20%		HFD 80% + HAV 20%	
	g	kcal	g	kcal	g	kcal	g	kcal
Proteínas	19,20	76,80	26,20	104,80	24,61	98,44	22,93	91,73
Lípidos	4,30	38,70	34,90	314,10	29,33	263,93	29,69	267,19
AGS	1,01	23,50	11,24	101,16	9,59	86,29	9,70	87,27
AGM	1,28	11,52	12,53	112,77	10,11	91,02	10,56	95,05
AGPI	2,01	18,09	11,13	100,17	9,62	86,62	9,43	84,86
C18:2n-6	1,70	15,30	9,39	84,51	7,72	69,45	8,01	72,05
C18:3n-3	0,09	0,81	0,66	5,94	1,04	9,37	0,54	4,89
Hidratos de carbono disponibles	67,30	269,20	26,30	105,20	21,04	84,16	33,00	131,99
Fibra dietética total	5,00	10,00	5,00	10,00	15,66	31,33	6,01	12,03
Fibra Soluble	0,00	0,00	0,00	0,00	1,12	2,24	0,71	1,43
Fibra insoluble	5,00	10,00	5,00	10,00	14,54	29,09	5,20	10,40
Ceniza	ND		ND		1,79	0,00	0,64	0,00
Humedad	ND		ND		1,50	0,00	1,75	0,00
TOTAL	96	395	92	534	94	478	94	503

Datos presentados como media en base húmeda. DC, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra; dietética HAV, harina de avena. ND, sin datos; Ácidos grasos (AG) corresponden a C4:0, C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-6, C18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C22:0, C22:1n-9, C22:2, C24:0. AG saturados (AGS) corresponden a C4:0, C14:0, C16:0, C18:0, C22:0, C24:0, AG monoinsaturados (AGM) corresponden a C16:1, C18:1n-9, C22:1n-9, AG poliinsaturados (AGPI) corresponden a C18:2n-6, C18:3n-6, C18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C22:2.

ANEXO 4. Cantidades de plasma y tejido utilizadas para las distintas mediciones

Tabla. Cantidades de plasma y tejido utilizadas para las distintas mediciones

	Medición	Cantidad de muestra
Muestras de Hígado	Histología	150 mg
	Grasa total/ perfil ácidos grasos	150 mg
	TG	15 mg/ 5µL
	Colesterol	15 mg/ 5 µL
	TBARS	100 mg/ 50 µL
	Proteínas carboniladas	100 mg/ 50 µL
	F8-isoprostanos	50 mg/ 50 µL
Muestras de Plasma	Glicemia	20 µL
	Insulina	20 µL
	TG	20 µL
	Colesterol Total	15 µL
	HDL	15 µL
	LDL	15 µL
	ALT	15 µL
	AST	15 µL
	GGT	15 µL
	TNF- α	20 µL
	IL-6	20 µL
IL-1 β	20 µL	
Muestras de tejido adiposo	Grasa total/ perfil ácidos grasos	100 mg
Muestras Eritrocitos	Grasa Total/ perfil ácidos grasos	250 mg
Muestras de heces	pH	50 mg
	Humedad	100 mg
	Grasa total	50 mg
	AGCC	200 mg

ANEXO 5. Principales ácidos grasos de las harinas

Tabla. Principales ácidos grasos de las harinas en 100 g

Ácidos grasos	Harina de semilla de albahaca rica en fibra	Harina de avena
	dietética g/100g	g/100g
Total AG	7,212 ± 0,02 ^a	10,13 ± 0,05 ^b
Total AGS	3,06 ± 0,03 ^a	4,04 ± 0,09 ^b
Total AGM	0,46 ± 0,01 ^a	3,08 ± 0,00 ^b
Total AGPI	3,70 ± 0,01 ^a	3,01 ± 0,04 ^b
C18:2n-6 (LA)	1,05 ± 0,01 ^a	2,83 ± 0,02 ^b
C18:3n-3 (ALA)	2,63 ± 0,02 ^a	0,01 ± 0,01 ^b

Datos presentados como media ± desviación estándar en base húmeda. Ácidos grasos (AG) corresponden a C4:0, C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-6, C18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C22:0, C22:1n-9, C22:2, C24:0. AG saturados (AGS) corresponden a C4:0, C14:0, C16:0, C18:0, C22:0, C24:0, AG monoinsaturados (AGM) corresponden a C16:1, C18:1n-9, C22:1n-9, AG poliinsaturados (AGPI) corresponden a C18:2n-6, C18:3n-6, C18:3n-3, C20:2, C20:3n-6, C22:2. Test T, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 6. Ingesta dietaría según grupos experimental

Tabla. Ingesta dietaría según grupos experimental

	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
Ingesta dietaría (g/día)	2,63 (2,45 -2,97)	2,65 (2,5-2,9)	2,53 (2,35 – 2,8)	2,56 (2,4-2,98)
Ingesta energética (kcal/ día)	10,39 (9,68-11,73) ^{b, c,d}	14,15 (13,35-15,49) ^a	13,51 (12,39-14,24) ^a	13,67 (12,82-15,06) ^a
Ingesta de proteínas (g/día)	0,50 (0,47-0,57) ^{b, c,d}	0,69 (0,66-0,76) ^a	0,66 (0,62-0,70) ^a	0,67 (0,63-0,70) ^a
Ingesta de lípidos (g/día)	0,11 (0,11-0,13) ^{b, c,d}	1,16 (1,10-1,27) ^{a,c,d}	1,05 (0,95-1,12) ^{a,b}	1,05 (0,91-1,12) ^{a,b}
AGPI (g/día)	0,05 (0,05-0,06) ^{b, c,d}	0,29 (0,28-0,032) ^{a,c,d}	0,28 (0,26-0,29) ^{a,b}	0,28 (0,27-0,29) ^{a,b}
ALA (mg/día)	2,37 (2,21-2,67) ^{b, c,d}	17,49 (16,50-19,14) ^{a,d}	17,00 (15,84-26,31) ^{a,d}	16,43 (15,84-17,03) ^{a,b,c}
Ingesta de carbohidratos (g/día)	1,77 (1,65-2,00) ^{b, c,d}	0,70 (0,66-0,76) ^{a,c}	0,65 (0,60-0,68) ^{a,b,d}	0,67 (0,63-0,98) ^{a,c}
Ingesta de fibra dietética (g/día)	0,13 (0,12-0,15)	0,13 (0,13-0,15)	0,13 (0,12-0,40)	0,13 (0,12-0,18)
Fibra soluble (g/día)	0,00 ^{c,d}	0,00 ^{c,d}	0,00 (0,00-0,03) ^{a,b}	0,00 (0,00 – 0,02) ^{a,b}
Fibra insoluble (g/día)	0,13 (0,12-0,15)	0,13 (0,13-0,15)	0,13 (0,12-0,37)	0,13 (0,12-0,15)
Ingesta de agua (ml/día)	3,75 (3,48 – 4,00) ^d	3,87 (3,39-4,4) ^d	3,64 (3,39 -4) ^d	3,18 (2,93-3,52) ^{a,b,c}

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico). (n=6-7). CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn´s para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa (p<0,05).

ANEXO 7. Evolución ingesta dietaría, ingesta energética e ingesta de agua.

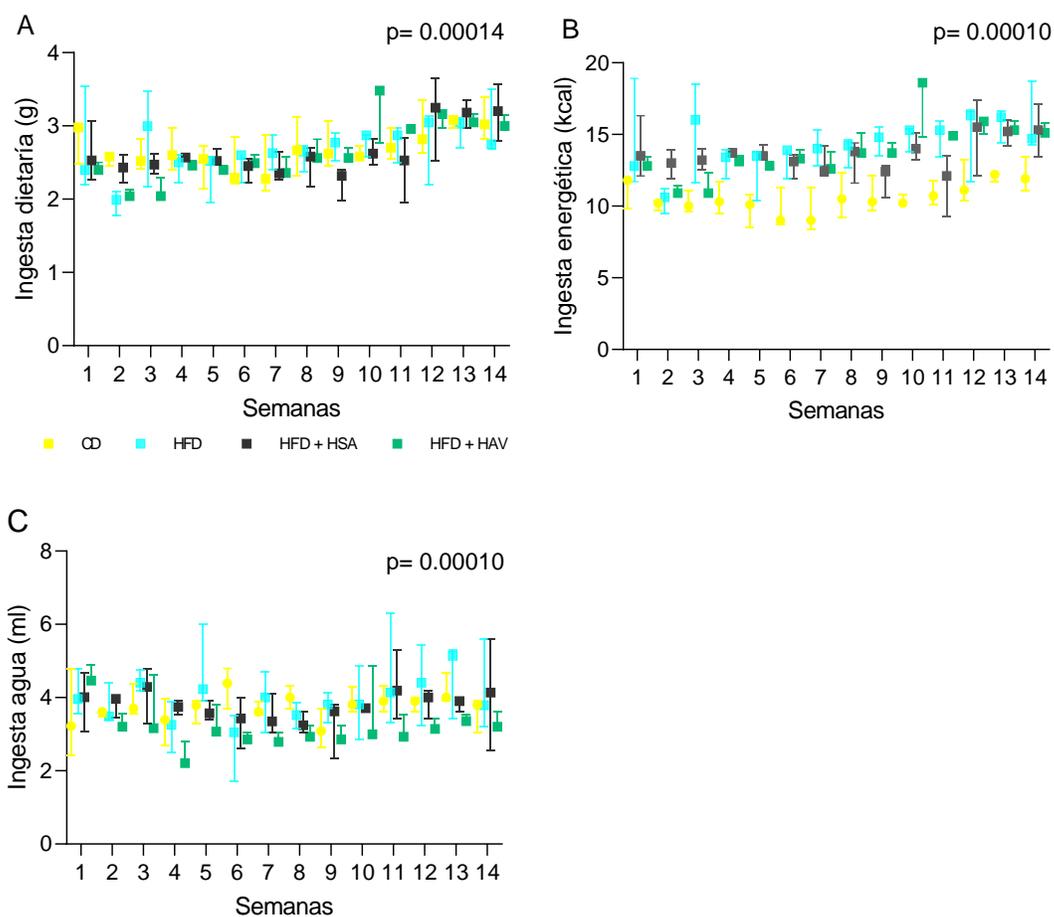


Figura. Ingesta dietaría (g/día) (A), ingesta energética (kcal/día) (B), ingesta de agua (ml/día) (C). Los valores se representan como medianas y rangos intercuartílicos. CD, Dieta control; HFD, Dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 8. Ingesta ácido graso α -linolénico y fibra dietética pre y post suplementación según grupo experimental.

Cambiar puntos por comas en los números con decimales

Tabla. Ingesta ácido graso α -linolénico y fibra dietética pre y post suplementación según grupo experimental

	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
Ácido graso α -linolénico (mg)				
Pre suplementación	2,32 (2,09 – 2,46) ^{b, c, d}	17,16 (14,72 – 18,94) ^a	16,30 (15,31– 17,16) ^a	16,43 (15,58 – 17,03) ^a
Post suplementación	2,67 (2,43 – 2,77) ^{b, c, d}	19,67 (17,75 – 20,46) ^{b, c, d}	33,07 (29,12 – 33,8) ^{a, b, d}	16,34 (16,10- 17,04) ^{a, b, c}
Fibra dietética total (g)				
Pre suplementación	0,13 (0,12-0,14) ^{c, d}	0,13 (0,11- 0,14)	0,12 (0,12-0,13) ^a	0,12 (0,12-0,13) ^a
Post suplementación	0,15 (0,14- 0,15) ^{c, d}	0,15 (0,13 – 0,16) ^{c, d}	0,50 (0,44 – 0,51) ^{a, b, d}	0,18 (0,18 – 0,19) ^{a, b, c}
Fibra dietética soluble (g)				
Pre suplementación	0,00 (0,00 – 0,00)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,00 (0,00 – 0,00)	0,00 (0,00 – 0,00)
Post suplementación	0,00 (0,00 – 0,00) ^{c, d}	0,00 (0,00 – 0,00) ^{c, d}	0,04 (0,03 – 0,04) ^{a, b, d}	0,02 (0,02 – 0,02) ^{a, b, c}
Fibra dietética insoluble (g)				
Pre suplementación	0,12 (0,12-0,14) ^{c, d}	0,13 (0,11 – 0,14)	0,12 (0,12 – 0,13) ^a	0,12 (0,12 – 0,13) ^a
Post suplementación	0,15 (0,14 – 0,15) ^{c, d}	0,15 (0,13 – 0,16) ^{c, d}	0,46 (0,41 – 0,47) ^{a, b, d}	0,16 (0,15 – 0,16) ^{a, b, c}

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico). n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por

test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 9. Características generales de los grupos experimentales

Tabla. Características generales de los grupos experimentales

	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
Peso corporal inicial (g)	22 (20,4 - 22,7)	23 (22,6 - 24,3)	23 (22- 23,6)	23,2 (22,2 - 23,2)
Peso corporal final (g)	27,1 (25 - 28,9) ^b	46,8 (44,8- 50,3) ^a	44,3 (43,2 - 45)	46,5 (45,3-47,8)
Ganancia peso corporal final (g)	6,3 (5- 6,7) ^{b,d}	23,3 (22,4-25,3) ^a	21,3 (20,4 - 21,9)	23,4 (23,2-24,6) ^a
Peso hígado (g)	1,06 (0,94 - 1,27) ^{b,d}	2,72 (2,38-3,52) ^a	2,14 (1,52 - 2,26)	2,59 (2,34-2,85) ^a
Peso tejido adiposo epididimal (g)	0,57 (0,51 - 0,67) ^{b, c,d}	2,06 (1,71-2,23) ^a	2,14 (1,78 - 2,22) ^a	2,11 (1,95-2,62) ^a
Relación peso hígado (g)/peso corporal final (g)	0,04 (0,03 - 0,05) ^{b,d}	0,06 (0,05-0,07) ^{a,c}	0,05 (0,04 -0,05) ^b	0,06 (0,05-0,06) ^a
Relación peso tejido adiposo epididimal (g)/peso corporal final (g)	0,02 (0,02 - 0,02) ^{b, c}	0,04 (0,04-0,05) ^a	0,05 (0,04- 0,05) ^a	0,05 (0,04-0,05)

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico). $n=6-7$. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 10. Evolución peso corporal, peso hígado y peso tejido adiposo epididimal.

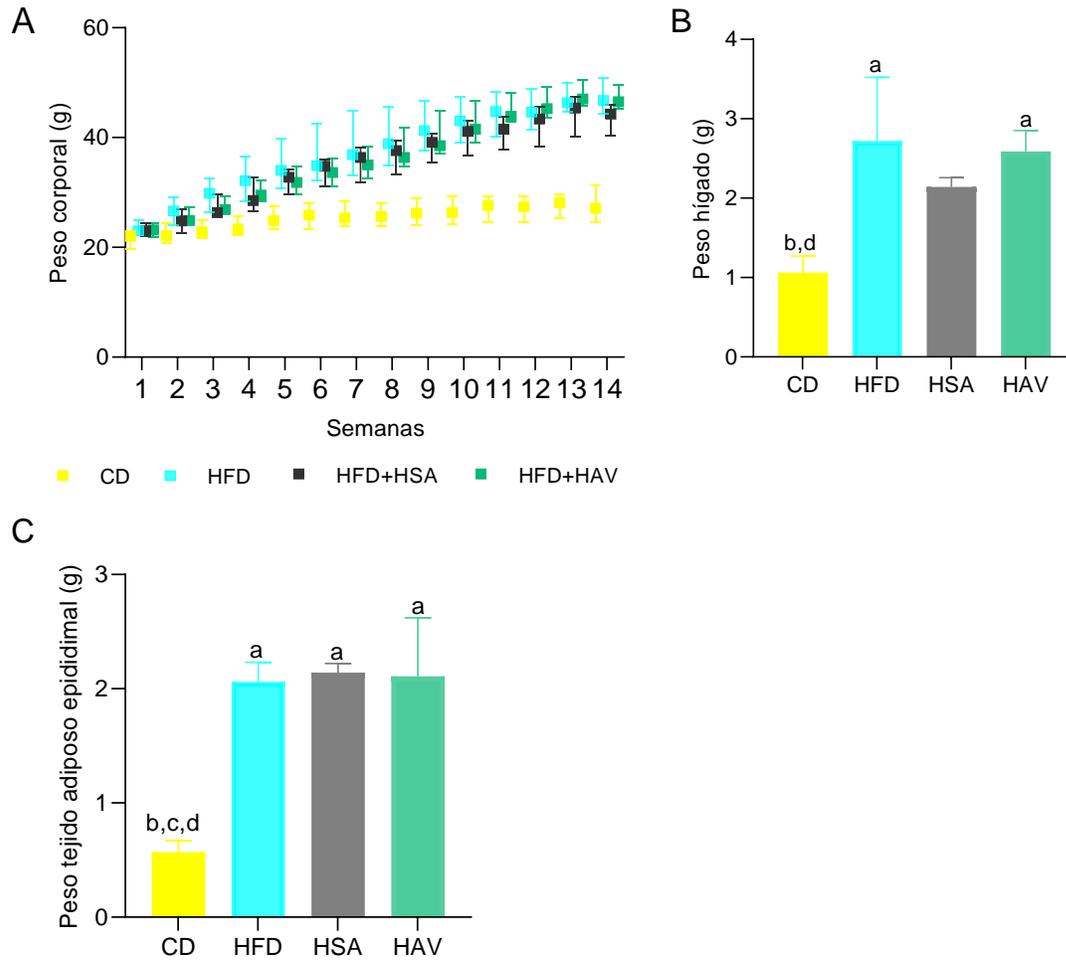


Figura. Características generales del modelo, según grupo experimental. Los valores se representan como medianas y rangos intercuartílicos. n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn´s para comparaciones múltiples, valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HSA (c), HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 11. Peso principales órganos según grupo experimental

Tabla. Peso principales órganos según grupo experimental (g)

	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
Cerebro	0,41 (0,38 – 0,42)	0,43 (0,41 – 0,45)	0,43 (0,38-0,44)	0,45 (0,42 – 0,45)
Corazón	0,13 (0,12 – 0,14) ^b	0,17 (0,15 – 0,18) ^a	0,16 (0,13 – 0,17)	0,15 (0,14 – 0,16)
Pulmón	0,15 (0,11 – 0,16)	0,16 (0,14 – 0,17)	0,15 (0,13 – 0,16)	0,16 (0,15 – 0,19)
Riñones	0,33 (0,32 – 0,33) ^{b, c}	0,36 (0,35 - 0,37) ^a	0,35 (0,35 – 0,37) ^b	0,37 (0,36 – 0,37) ^a
Testículos	0,22 (0,19 - 0,25)	0,21 (0,20-0,23)	0,22 (0,21 – 0,23)	0,21 (0,20 – 0,24)

Datos presentados como mediana y rango intercuartílico n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples; valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 12. Parámetros esteatosis hepática

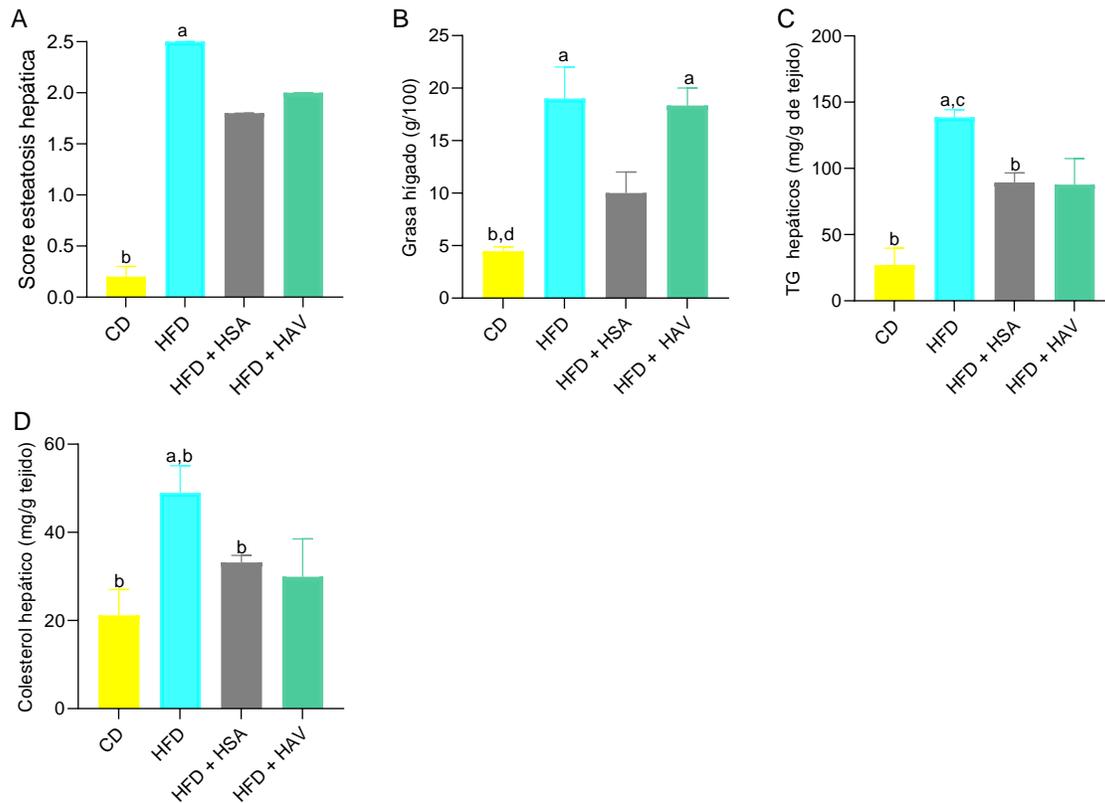


Figura. Parámetros esteatosis hepática. Datos presentados como mediana y rango intercuartílico n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn´s para comparaciones múltiples; valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HSA (c), HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 13. Principales AG en hígado según grupo experimental

Tabla. Principales AG (mg/g) en hígado según grupo experimental

AG	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
C16:0	0,38 (0,28-0,63) ^{b,c}	4,86 (4,83-4,90) ^a	4,48 (3,78-5,19) ^a	4,15 (3,85-4,44)
C18:0	0,15 (0,11-0,23) ^b	0,60 (0,58-0,63) ^a	0,47 (0,39-0,56)	0,28 (0,11-0,45)
C18:1n-9	0,59 (0,36-0,87) ^b	8,35 (8,20-8,49) ^a	5,62 (4,73-6,51)	6,00 (5,23-6,77)
C18:2 n-6 (LA)	0,16 (0,13-0,26) ^{b,c}	2,21 (2,18-2,23) ^a	2,52 (2,18-2,85) ^a	1,80 (1,74-1,86)
C18:3 n-3 (ALA)	0,00 (0,00-0,00) ^{b,c}	0,05 (0,05-0,05) ^a	0,11 (0,09-0,12) ^{a,d}	0,05 (0,04-0,05) ^c
C20:4 n-6 (AA)	0,17 (0,08-0,26) ^a	0,63 (0,63-0,64) ^b	0,58 (0,43-0,73)	0,47 (0,47-0,47)
C20:5 n-3 (EPA)	0,00 (0,00-0,00) ^{b,c}	0,07 (0,07-0,07) ^a	0,14 (0,12-0,15) ^{a,d}	0,05 (0,05-0,05) ^c
C22:6 n-3 (DHA)	0,12 (0,07-0,15) ^{b,c}	0,43 (0,43-0,44) ^a	0,46 (0,34-0,57) ^a	0,28 (0,28-0,29)
Total AG	1,67 (1,15-2,54) ^{b,c}	17,88 (17,39-18,36) ^a	18,30 (16,12-20,48) ^a	15,45 (14,96-15,94)
Total AGS	0,62 (0,42-0,90) ^{b,c}	5,79 (5,77-5,81) ^a	5,38 (4,62-6,15) ^a	4,86 (4,56-5,17)
Total AGM	0,65 (0,40-0,99) ^{b,d}	9,02 (8,91-9,14) ^a	6,45 (5,33-7,58)	6,78 (6,15-7,41) ^a
Total AGPI	0,43 (0,26-0,69) ^{b,c}	3,61 (3,58-3,64) ^a	3,73 (3,24-4,23) ^a	2,82 (2,74-2,90)
Total AGPI n-6	0,32 (0,15-0,56) ^b	2,84 (2,81-2,88) ^a	3,10 (2,63-3,43)	2,27 (2,21-2,33)
Total AGPI n-3	0,12 (0,07-0,15) ^{b,c}	0,55 (0,54-0,56) ^a	0,70 (0,55-0,80) ^a	0,38 (0,37-0,39)
Ratio n-6/ n-3	3,43 (2,92-3,66)	5,23 (5,17-5,25)	3,84 (3,14-3,87)	6,26 (5,93-6,29)

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico) en mg/g de hígado. n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena; AG, Ácidos grasos. AG totales corresponden a C14:1, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3n-6, C20:0, C18:3 n-3, C20:1n-9, C20:2, C22:0, C20:3n-3, C20:4 n-6, C22:1n-9, C22:2, C20:5n-3, C24:0, C22:6n-3. AG saturados (AGS) corresponden a C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C22:2, AG monoinsaturados (AGM) corresponden a C14:1, C15:1, C16:1, C17:1, C18:1n-9, C20:1n-9, C22:1n-9. AG poliinsaturados (AGPI) corresponden a C18:2 n-6, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:1 n-9, C20:3n-3, C20:4n-6, C20:5 n-3, C24:0, C22:6n-3. AGP n-6 corresponden a C18:2n-6, C20:4n-6, AGP

n-3 corresponden a C18:3n-3, C20:5n-3, C22:6n-3. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 14. Parámetros de daño hepático

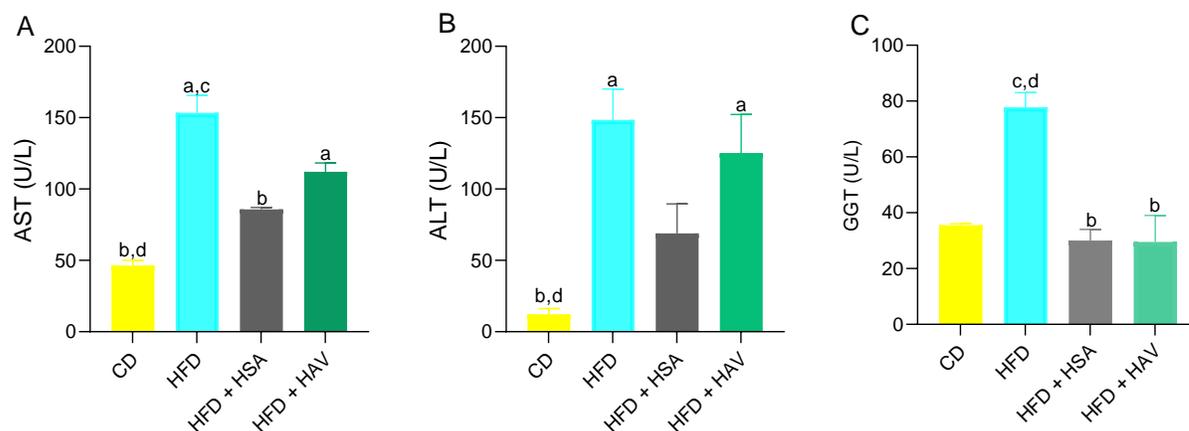


Figura. Parámetros de daño hepático. Datos presentados como mediana y rango intercuartílico n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, dieta alta en grasa más harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, dieta alta en grasa más harina de avena. AST, aspartato amino transferasa; ALT, alanino amino transferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples; valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HSA (c), HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 15. Parámetros de estrés oxidativo hepático

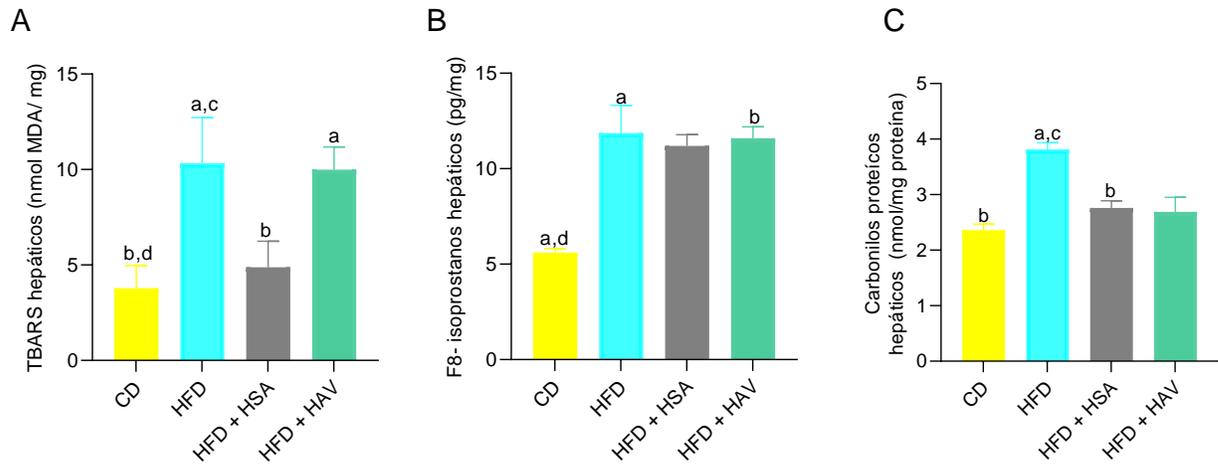


Figura. Parámetros de estrés oxidativo hepático. DC, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena. Datos presentados como mediana \pm rango intercuartílico. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HFD + HSA (c), HFD + HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 16. Parámetros de inflamación

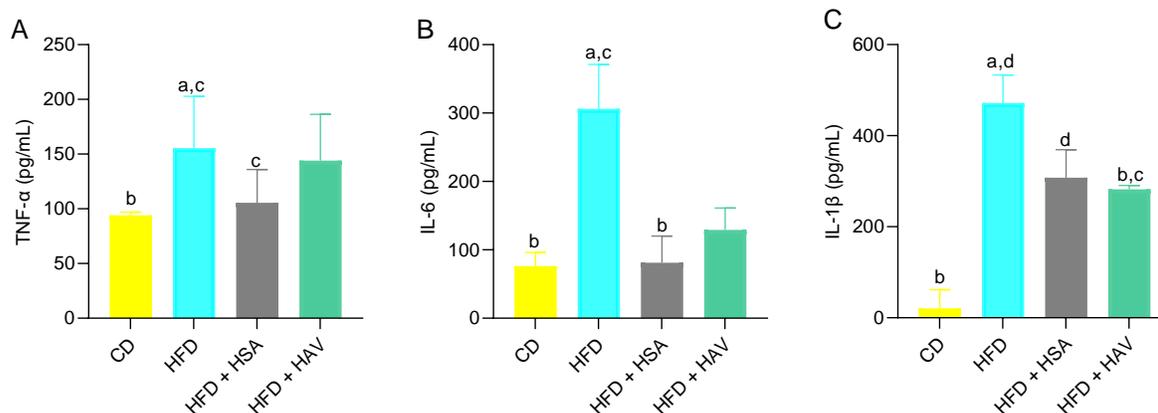


Figura. Parámetros de inflamación. DC, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena. Datos presentados como mediana \pm rango intercuartílico. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HFD + HSA (c), HFD + HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 17. Cuantificación grasa en tejido adiposo y eritrocitos.

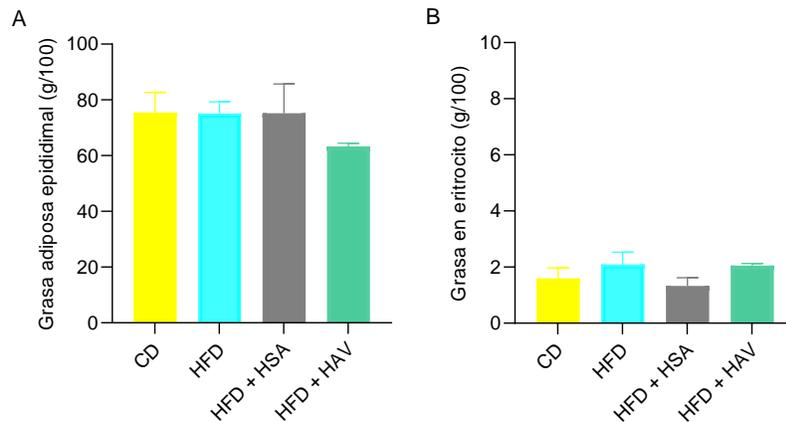


Figura. Cuantificación grasa en tejido adiposo y eritrocitos. Datos presentados como mediana y rango intercuartílico. n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena. Diferencias significativas según Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples; valores con letras distintas CD (a), HFD (b), HFD + HSA (c), HFD + HAV (d) representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 18. Principales AG tejido adiposo epidídimo por grupo experimental

Tabla. Principales AG (mg/g) tejido adiposo epidídimo por grupo experimental

AG	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
C16:0	10,99 (9,11-13,19)	10,08 (8,19-11,74)	9,78 (8,99-10,56)	11,89 (10,96-12,73)
C18:0	0,97 (0,88-1,05) ^{b, d}	2,03 (1,72-2,28) ^a	1,79 (1,62-1,94)	2,25 (2,09-2,30) ^a
C18:1n-9	26,66 (24,67-30,17)	26,51 (21,72-30,89)	28,02 (25,49-28,31)	30,54 (27,41-33,21)
C18:2n-6 (LA)	9,67 (8,81-10,50)	9,46 (7,57-11,08)	9,78 (8,92-10,50)	10,33 (9,83-11,44)
C18:3n-3 (ALA)	0,50 (0,48-0,55) ^b	0,28 (0,22-0,32) ^{a, c}	0,52 (0,39-0,66) ^b	0,35 (0,34-0,36)
C20:4n-6 (AA)	0,26 (0,26-0,27)	0,18 (0,17-0,18)	0,18 (0,14-0,21)	0,21 (0,20-0,23)
C20:5n-3 (EPA)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)
C22:6n-3 (DHA)	0,10 (0,09-0,10) ^d	0,03 (0,00-0,04)	0,05 (0,01-0,06)	0,00 (0,00-0,04) ^a
Total AG	56,16 (50,54-64,38)	51,85 (42,33-60,27)	56,89 (49,53-57,11)	60,98 (54,78-63,56)
Total AGS	12,93 (10,85-15,30)	12,89 (10,50-14,89)	12,49 (11,33-13,24)	14,79 (13,95-15,88)
Total AGM	32,28 (29,69-36,46)	28,66 (23,46-33,40)	30,22 (27,62-30,72)	33,26 (29,76-35,96)
Total AGPI	10,95 (10,00-11,92)	10,31 (8,54-11,92)	11,75 (9,91-12,22)	11,49 (10,72-12,44)
Total AGPI n-6	9,93 (9,07-0,10,77)	9,64 (7,73-10,36)	9,96 (9,06-10,70)	10,54 (10,2-11,29)
Total AGPI n-3	0,60 (0,57-0,66) ^d	0,31 (0,22-0,35)	0,57 (0,41-0,72)	0,35 (0,34-0,39) ^a
Ratio n-6/ n-3	16,7 (16,11-16,70) ^d	23,05 (21,66-26,32)	18,98 (14,97-21,5) ^d	28,75 (25,47-29,9) ^{a, c}

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico) en mg/g de tejido adiposo; n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena; AG, Ácidos grasos. AG totales corresponden a C14:1, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3n-6, C20:0, C18:3 n-3, C20:1n-9, C20:2, C22:0, C20:3n-3, C20:4 n-6, C22:1n-9, C22:2, C20:5n-3, C24:0, C22:6n-3. AG saturados (AGS) corresponden a C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C22:2, AG monoinsaturados (AGM) corresponden a C14:1, C15:1, C16:1, C17:1, C18:1n-9, C20:1n-9, C22:1n-9. AG poliinsaturados (AGPI) corresponden a C18:2 n-6, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:1 n-9, C20:3n-3, C20:4n-6, C20:5 n-3, C24:0, C22:6n-3. AGP n-6 corresponden a C18:2n-6, C20:4n-6, AGP n-3 corresponden a C18:3n-3, C20:5n-3,

C22:6n-3. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa (p<0,05).

ANEXO 19. Principales AG (% mmol) en eritrocitos según grupo experimental

Tabla. Principales AG (% mmol) en eritrocitos según grupo experimental

AG	CD (a)	HFD (b)	HFD + HSA (c)	HFD+HAV (d)
C16:0	38,86 (36,98-39,24) ^{b,d}	48,02 (45,92-49,59) ^a	38,63 (38,17-41,84) ^d	49,03 (45,96-49,75) ^{a,c}
C18:0	15,73 (15,09-16,25)	17,66 (17,10-19,07)	17,09 (16,89-17,52)	16,64 (14,45-16,80)
C18:1n-9	15,38 (14,84-16,16)	15,94 (15,63-16,71)	16,82 (16,20-17,38)	15,41 (15,02-16,62)
C18:2n-6 (LA)	2,06 (1,64-2,41) ^{b,d}	0,00 (0,00-0,00) ^a	0,88 (0,84-1,05)	0,00 (0,00-0,44) ^a
C18:3n-3 (ALA)	1,46 (1,40-1,57) ^{b,d}	0,67 (0,16-0,77) ^a	0,85 (0,76-1,06)	0,80 (0,20-0,82) ^a
C20:4n-6 (AA)	19,41 (18,52-20,49)	17,14 (14,53-18,54)	17,26 (17,11-18,13)	16,39 (15,26-18,52)
C20:5n-3 (EPA)	3,62 (2,44-4,85) ^{b,d}	0,00 (0,00-0,00) ^a	0,81 (0,33-1,28)	0,00 (0,00-0,00) ^a
C22:6n-3 (DHA)	2,54 (1,61-3,36)	0,00 (0,00-0,00) ^c	4,80 (3,67-5,79) ^{b,d}	0,00 (0,00-0,00) ^c
Total AGS	54,59 (52,07-55,49) ^{b,d}	65,68 (63,02-68,66) ^a	55,72 (55,06-59,36)	65,67 (60,41-66,55) ^a
Total AGM	15,38 (14,84-16,16)	15,94 (15,63-16,71)	16,82 (16,20-17,38)	15,41 (15,02-16,62)
Total AGPI	29,10 (25,61-32,68) ^{b,d}	17,82 (14,69-19,32) ^a	24,59 (22,72-27,32)	17,18 (15,46-19,78) ^a

Datos presentados como mediana (rango intercuartílico) en % mmol en eritrocitos, n=6-7. CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa; HSA, harina de semilla de albahaca rica en fibra dietética; HAV, harina de avena; AG, Ácidos grasos. AG totales corresponden a C14:1, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C17:0, C17:1, C18:0, C18:1 n-9, C18:2 n-6, C18:3n-6, C20:0, C18:3 n-3, C20:1n-9, C20:2, C22:0, C20:3n-3, C20:4 n-6, C22:1n-9, C22:2, C20:5n-3, C24:0, C22:6n-3. AG saturados (AGS) corresponden a C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C22:2, AG monoinsaturados (AGM) corresponden a C14:1, C15:1, C16:1, C17:1, C18:1n-9, C20:1n-9, C22:1n-9. AG poliinsaturados (AGPI) corresponden a C18:2 n-6, C18:3 n-6, C18:3 n-3, C20:1 n-9, C20:3n-3, C20:4n-6, C20:5 n-3, C24:0, C22:6n-3. AGP n-6 corresponden a C18:2n-6, C20:4n-6, AGP n-3 corresponden a C18:3n-3, C20:5n-3, C22:6n-3. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa (p<0,05).

ANEXO 20. Cuantificación de grasa, humedad y pH en heces según grupo experimental

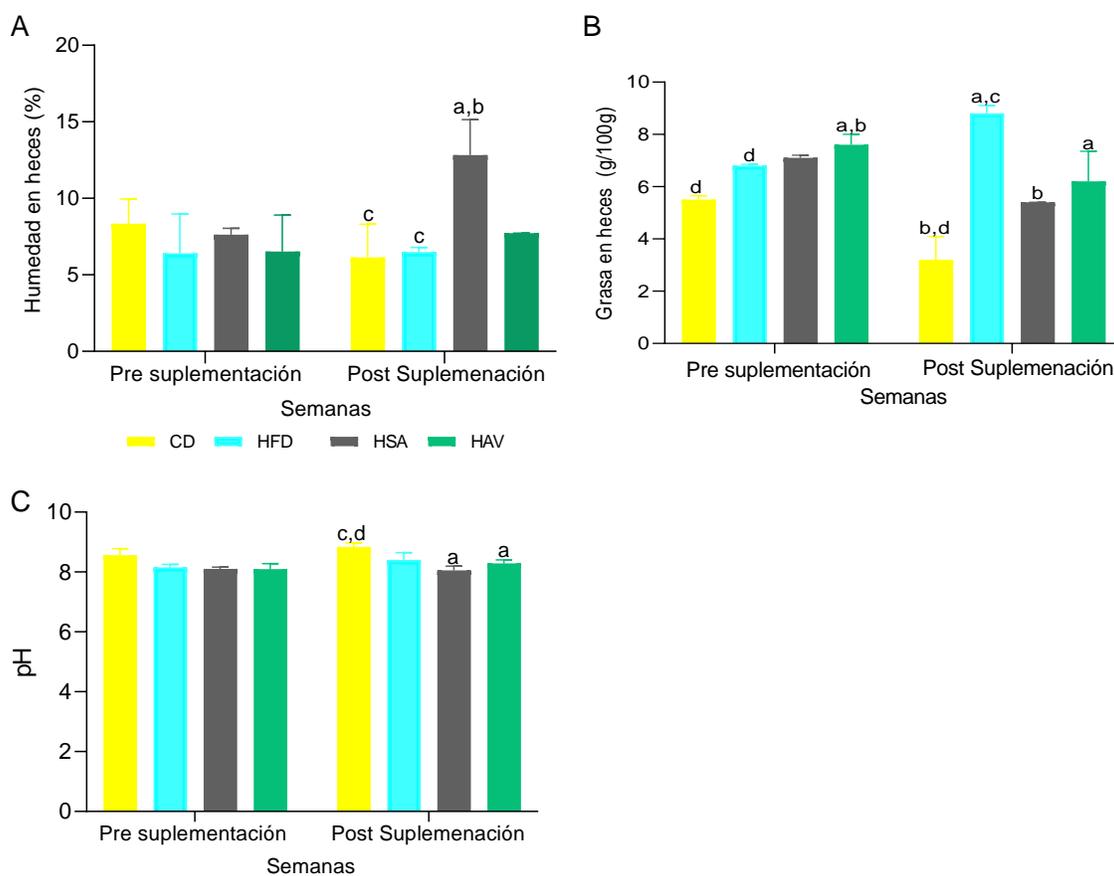


Figura. Características generales de las heces según grupo experimental. Datos presentados como mediana (rango intercuartílico). n=6-7. Test Kruskal Wallis, seguido por test Dunn's para comparaciones múltiples, valores con letras distintas representan diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 21. Correlaciones entre ALT, HOMA-IR, grasa hepática y peso corporal

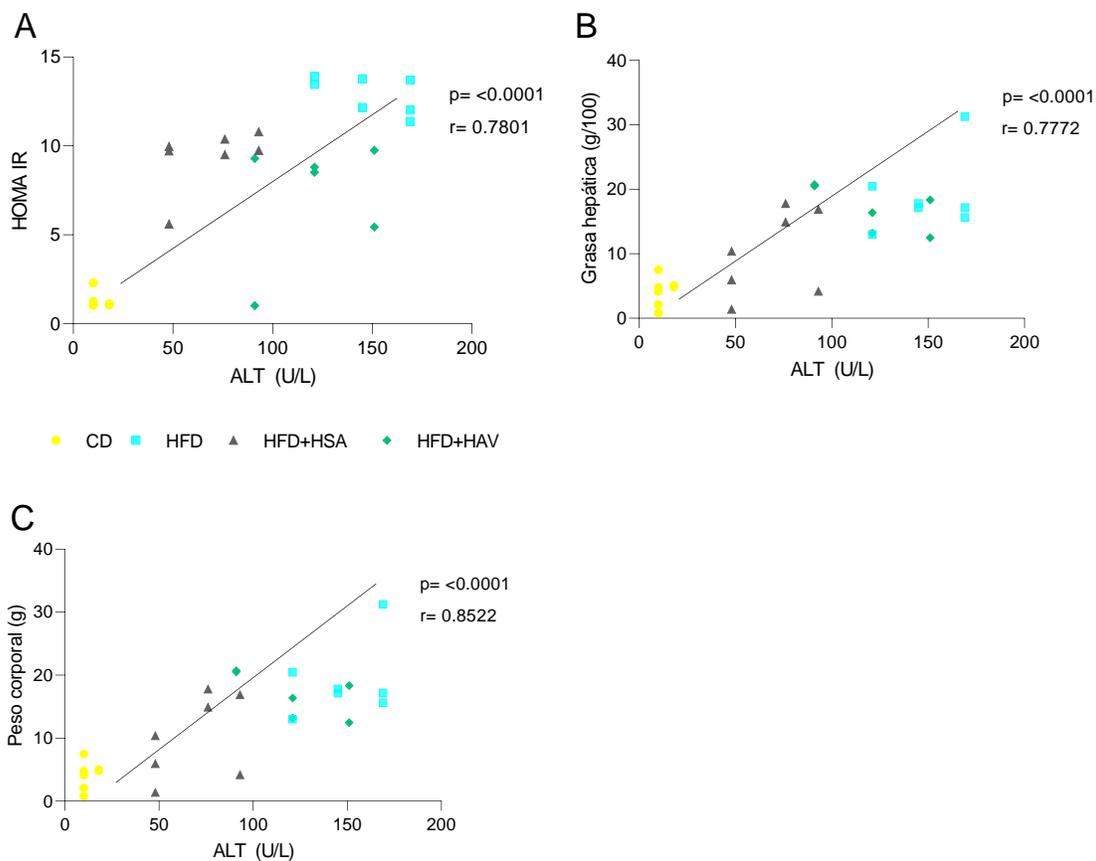


Figura. Correlación niveles plasmáticos de ALT y HOMA-IR (A); niveles plasmáticos de ALT y grasa hepática (B); niveles plasmáticos de ALT y entre peso corporal luego de 14 semanas de tratamiento (C). Análisis estadístico: test de correlación de Spearman, diferencia significativa ($p < 0,05$).

ANEXO 22. Correlaciones entre TNF- α , HOMA-IR y peso corporal.

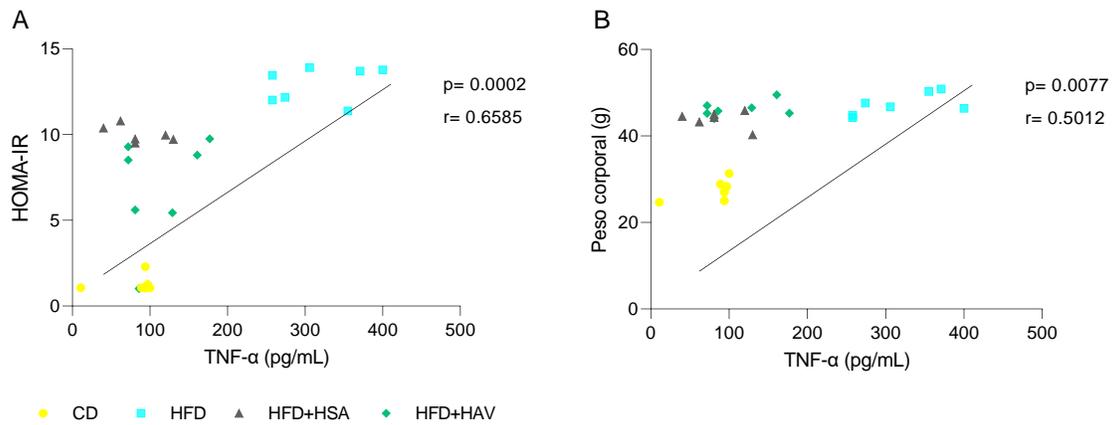


Figura. Correlación niveles plasmáticos de TNF- α y HOMA-IR (A); niveles plasmáticos de TNF- α y peso corporal luego de 14 semanas de tratamiento (B). Análisis estadístico: test de correlación de Spearman, diferencia significativa ($p<0,05$).

ANEXO 23. Correlaciones entre HOMA-IR y parámetros de estrés oxidativo.

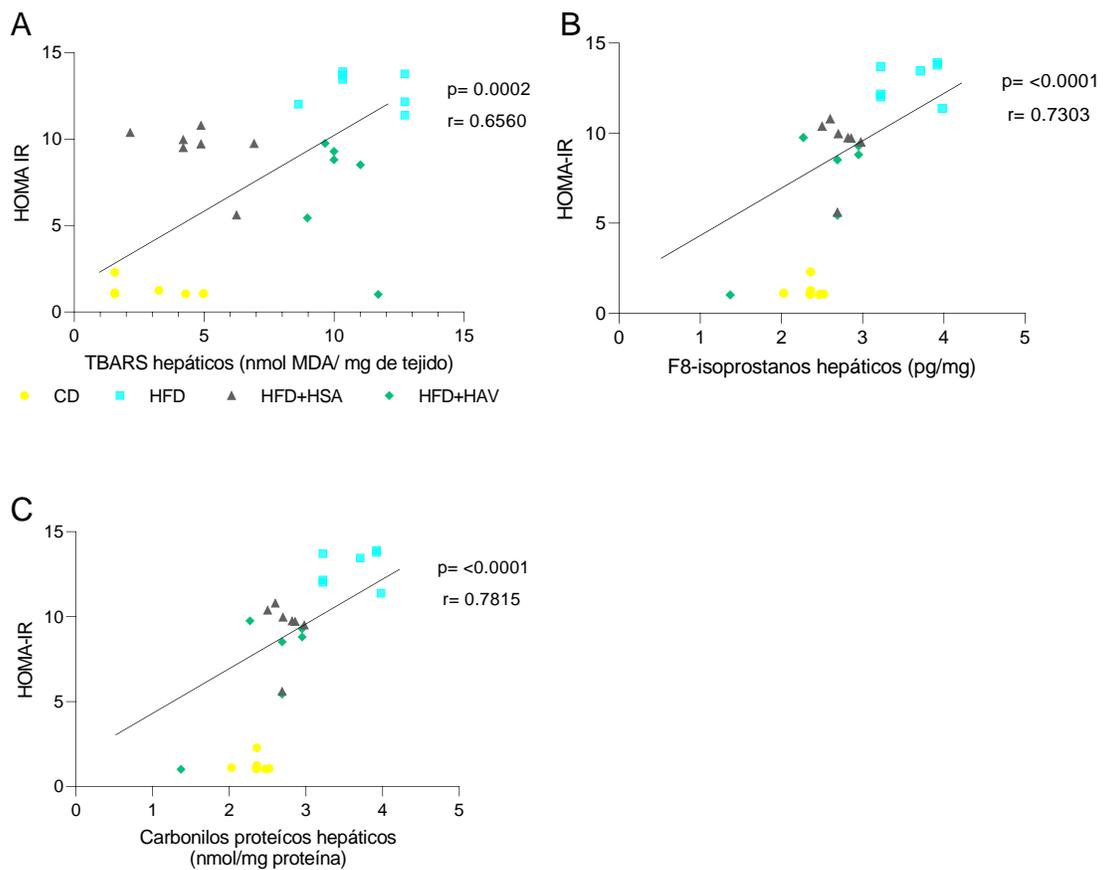


Figura. Correlación niveles plasmáticos de HOMA-IR y TBARS hepáticos (A), HOMA-IR y F8- isoprostanos hepáticos (B), HOMA-IR y proteínas carboniladas hepáticas luego de 14 semanas de tratamiento (C). Análisis estadístico: test de correlación de Spearman, diferencia significativa ($p<0,05$).