



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Nutrición

**EFFECTO DEL CONSUMO DE DIFERENTES TIPOS DE ACEITES EN
EL TNF- α Y LEPTINA EN SUERO DE RATAS WISTAR**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de la

LICENCIATURA EN NUTRICIÓN

Presenta:

Alejandra Sánchez Archundia

Dirigido por:

Dra. Karina de la Torre Carbot

Centro Universitario
Junio 2013,
Querétaro, Qro.
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Nutrición

EFFECTO DEL CONSUMO DE DIFERENTES TIPOS DE ACEITES EN EL TNF- α Y LEPTINA EN SUERO DE RATAS WISTAR

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Nutrición

Presenta:

Alejandra Sánchez Archundia

Dirigido por:

Dra. Karina de la Torre Carbot

SINODALES

Dra. Karina de la Torre Carbot
Presidente

Firma

Dr. Jorge Luis Rosario Loria
Secretario

Firma

Dra. Juana Isela Rojas Molina
Vocal

Firma

Dra. Elsa Gutiérrez Cortez
Suplente

Firma

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Director de la Facultad

Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y
Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Junio de 2013
México

RESUMEN

Actualmente las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Su desarrollo está íntimamente relacionado con diferentes factores modificables. Un factor importante es el tipo de alimentación, así como la cantidad y el tipo de fuentes lipídicas que se consumen. El TNF- α es una citocina implicada en procesos inflamatorios y se ha demostrado que interfiere con la acción de la insulina en el metabolismo hepático de la glucosa y los lípidos. La leptina es una citocina secretada principalmente por los adipocitos, se ha reconocido como producto del gen de la obesidad y reguladora de la saciedad. Ambas están implicadas en diferentes procesos patológicos e involucradas en el riesgo cardiovascular cuando son producidos en exceso. El objetivo principal del presente estudio fue comparar los efectos producidos por el consumo de aceite de aguacate, canola, cártamo, soya, semilla de uva y aceite parcialmente hidrogenado, sobre TNF- α y leptina en suero de ratas Wistar. Este fue un estudio *in vivo*, experimental, paralelo, en el cual cada grupo de experimentación consumió de manera sostenida alguno de estos aceites durante 5 semanas. Se utilizaron 8 ratas por grupo, de 5 semanas de edad con alimentación y agua *ad libitum*. Se llevó a cabo un análisis de esteroles, vitamina E y ácidos grasos en los aceites estudiados. Además de evaluar TNF- α y leptina en suero, se llevaron a cabo pruebas histológicas en tejido adiposo, hígado y corazón. El 75% de las ratas alimentadas con adición de aceite hidrogenado presentaron valores positivos de TNF- α . El 12.5% de las ratas del grupo de aceite de soya y de semilla de uva presentaron valores positivos de este marcador de inflamación. Las ratas alimentadas con el resto de los aceites presentaron valores negativos. La dieta sin adición de aceite mejoró los valores de leptina. El control positivo (aceite parcialmente hidrogenado) presentó la tendencia más desfavorable en relación a los factores estudiados. Podemos concluir que una dieta alta en lípidos mono y poliinsaturados de fuentes vegetales no hidrogenadas industrialmente pueden tener un efecto beneficioso en factores de riesgo cardiovascular, mejorando los valores de adipocitocinas, lo que puede disminuir el riesgo de padecer alguna enfermedad cardiovascular.

Palabras clave: aceites, leptina, ratas, TNF- α .

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are currently the leading cause of death worldwide. Its development is closely related to different modifiable factors. One important factor is the type of food and the amount and type of lipid sources consumed. TNF- α is a cytokine involved in inflammatory processes and has been shown to interfere with the action of insulin in the hepatic metabolism of glucose and lipids. Leptin is a cytokine secreted primarily by adipocytes, has been recognized as gene product of obesity and regulating satiety. Both are implicated in various pathological processes and involved in cardiovascular risk when produced in excess. The main objective of this study was to compare the effects of consumption of avocado oil, canola, safflower, soybean, grape seed and partially hydrogenated oil on TNF- α and serum leptin in Wistar rats. This was an in vivo study, experimental, parallel, in which each group showed steadily consumed any of these oils for 5 weeks. 8 rats were used per group, 5 weeks of age with food and water ad libitum. Carried out an analysis of sterols, vitamin E and fatty acids in the oils studied. Besides evaluating TNF- α and serum leptin, tests were conducted histological adipose tissue, liver and heart. 75% of rats fed hydrogenated oil addition had positive values of TNF- α . The 12.5% of the rats of the soybean oil and grape seed showed positive values of this marker of inflammation. The rats fed with the other oils showed negative values. Diet without added oil improved leptin values. The positive control (partially hydrogenated oil) had the worst tendency regarding the factors studied. We conclude that a diet high in mono and polyunsaturated lipids from plant foods industrially hydrogenated may have a beneficial effect on cardiovascular risk factors, improving adipocytokine values, which may reduce the risk of cardiovascular disease.

Keywords: leptin, oils, rats, TNF- α .

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado con todo mi amor a las personas más importantes en mi vida: mis padres Raúl Sánchez Patiño y Cesárea Archundia Fernández, a mi hermano Raúl y a mi novio Beto Sánchez, porque durante todo este trayecto me han demostrado su apoyo, comprensión y amor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado amor y salud para lograr mis objetivos.

A mi papá Raúl Sánchez. Por los ejemplos de perseverancia y constancia, por sustentar mis estudios y sobre todo por su amor y apoyo para seguir mis sueños.

A mi mamá Cesárea Archundia. Por ser mi mejor amiga, por sus enseñanzas, sus valores, su apoyo y su amor incondicional.

A mi hermano Raúl. Por ser mi compañero durante toda mi vida, por la alegría que me comparte, por su comprensión y su amor.

A Beto Sánchez. Por ser mi apoyo en cada momento, por su compañía, sus palabras de aliento y su amor.

A mi asesora Karina de la Torre. Por sus enseñanzas, cariño, paciencia y dirección de este trabajo.

A mi abuelita, tíos y primos, los cuales han estado presentes para motivarme y demostrarme su amor y su cariño.

A la familia Sánchez Martínez, a mis amigas de toda la vida: Elia, Paulina y Lizbeth, que han estado para escucharme, apoyarme y animarme en cada momento, a mis amigas de la universidad, que con ellas compartí aprendizajes, experiencias y momentos maravillosos.

Finalmente a los maestros, que marcaron cada etapa de mi camino universitario, y a aquellos que colaboraron para la realización de este proyecto: Dr. Jorge Rosado, Dra. Elsa Gutiérrez, Dra. Isela Rojas, M. en C. Mariela Camacho Barrón, Dra. Tere García, Dr. Roberto Ferríz, Lic. Évelin Flores, Dr. Gallegos Corona, M. en C. Rubí Delgado, Dr. Jorge Luis Chávez y a la Dra. Olga García. Gracias a ellos se pudo llevar a cabo este trabajo, con su apoyo y participación.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
INDICE DE CONTENIDO	vii
CONTENIDO DE FIGURAS	x
CONTENIDO DE TABLAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
2.1 Enfermedades cardiovasculares	3
2.2 Tejido adiposo, metabolismo y riesgo cardiovascular	5
2.2.1 Hipertrofia e hiperplasia adiposa	6
2.3 Citocinas	11
2.3.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)	12
2.3.1.1 Generalidades	12
2.3.1.2 Acciones biológicas y mecanismos de acción	12
2.3.1.3 Acciones patógenas y efectos en la salud	14
2.3.2. Leptina	17
2.3.2.1 Generalidades	17
2.3.2.2 Acciones biológicas y mecanismos de acción	17
2.3.2.3 Acciones patógenas y efectos en la salud	18
2.4 Aceites vegetales como fuente de lípidos y su elaboración	20
2.4.1 Extracción de aceites vegetales	21
2.4.2 Refinación	22
	vii

2.5 Componentes de los aceites vegetales	23
2.5.1 Ácidos grasos y acilglicéridos	23
2.5.1.1 Generalidades	23
2.5.1.2 Ácidos grasos, inflamación y enfermedades cardiovasculares	26
2.5.1.3 Métodos de análisis	29
2.5.2 Esteroles	30
2.5.2.1 Generalidades	30
2.5.2.2 Esteroles, inflamación y enfermedades cardiovasculares.	30
2.5.2.3 Métodos de análisis	31
2.5.3 Vitamina E	32
2.5.3.1 Generalidades	32
2.5.3.2 Vitamina E, inflamación y enfermedades cardiovasculares	33
2.5.3.3 Método de análisis	33
2.6 Propiedades de los aceites vegetales	33
2.6.1 Aceite de Aguacate	34
2.6.2 Aceite de semilla de uva	35
2.6.3 Aceite de soya	36
2.6.4 Aceite de canola	37
2.6.5 Aceite de cártamo	38
2.6.6 Aceite parcialmente hidrogenado	38
III. JUSTIFICACIÓN	41
IV. HIPÓTESIS	43
V. OBJETIVOS	43
Objetivo General	43
Objetivos específicos	43
VI. METODOLOGÍA	44
6.1 Tipo de estudio y diseño experimental	44

6.2 Población	45
6.3 Aceites utilizados	45
6.4 Preparación del alimento	46
6.5 Mediciones y análisis	48
6.5.1 Análisis realizados en los aceites estudiados	48
6.5.1.1 Ácidos grasos	48
6.5.1.2 Vitaminas E	48
6.5.1.3 Análisis histológicos en tejido adiposo, hígado y corazón	49
6.5.1.4 Esteroles	49
6.5.1.5 Estudio de adipocitocinas en suero	50
6.5.1.6 Análisis estadístico	50
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
7.1 Análisis realizados en los aceites estudiados	51
7.1.1 Ácidos grasos	51
7.1.2 Esteroles	54
7.1.3 Vitamina E	56
7.2 Análisis histológicos	59
7.2.1 Tejido adiposo	59
7.2.2 Hígado	61
7.2.3 Corazón	62
7.3 Citocinas en suero	63
7.3.1 TNF- α	63
7.3.2 Leptina	65
VIII. CONCLUSIONES	67
IX. LITERATURA CITADA	69
ANEXOS	75

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura		Página
1	Tejido adiposo. Esquema general de las consecuencias de la forma y el sitio de almacén del incremento del tejido adiposo.	22
2	Alteración funcional. Esquema de la alteración funcional del adipocito hipertrófico	23
3	Disfunción del adipocito debido al exceso de nutrimentos	25
4	Estructura del TNF- α	26
5	Descripción de los procesos regulados por el TNF- α	27
6	Acciones biológicas del TNF- α a cantidades bajas, moderadas y elevadas	28
7	Estructura de la leptina	31
8	Diagrama de bloque de extracción de aceites	36
9	Diseño experimental	58
10	Ejemplo de cromatograma. Ácidos grasos estudiados en aceite de uva	65
11	Ejemplo de cromatograma. Composición de esteroides en aceite de uva	68
12	Concentración de esteroides totales en aceites	69
13	Ejemplo de cromatograma. Composición de vitamina E en aceite de soya	70

14	Concentración de vitamina E en aceites	71
15	Tejido adiposo de rata Wistar (Coloración hematoxilina-eosina, 40x)	73
16	Tejido adiposo de rata Wistar (Coloración hematoxilina-eosina, 40x).	73
17	Tejido hepático de rata Wistar. Coloración hematoxilina-eosina, 10x	75
18	Tejido hepático de rata Wistar. (Coloración hematoxilina-eosina 40x).	75
19	Corte histológico de la pared libre del ventrículo izquierdo. (Coloración hematoxilina-eosina 20x).	76
20	Corte histológico de la pared libre del ventrículo izquierdo. (Coloración hematoxilina-eosina 40x).	76
21	Concentración de TNF- α	78
22	Concentración de leptina	80

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla		Página
1	Porcentaje del contenido total de ácidos grasos en aceites vegetales crudos	39
2	Características de los aceites por cada 5g	52
3	Descripción nutrimental de aceites utilizados por cada 5 mL.	59
4	Contenido nutrimental del alimento.	60
5	Contenido nutrimental del alimento modificado	61
6	Contenido de ácidos grasos en aceites (mg/100g)	66
7	Concentración de esteroides en aceites (mg/100g)	69
8	Determinaciones de vitamina E en aceites vegetales.	71
9	Valores de media y desviación estándar para TNF- α en suero de ratas Wistar	77
10	Valores de leptina en suero de ratas Wistar.	79

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Se calcula que en 2004 murieron por esta causa 17,3 millones de personas, lo cual representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo; 7,3 millones de esas muertes se debieron a la cardiopatía coronaria, y 6,2 millones a los accidentes vasculares cerebrales.

Las muertes por enfermedades cardiovasculares afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios. Las enfermedades cardiovasculares son un grupo de padecimientos del corazón y los vasos sanguíneos que incluyen: enfermedad coronaria del corazón, enfermedad cerebrovascular, enfermedades de las arterias periféricas, enfermedad reumática del corazón, trombosis y embolias pulmonares así como todos los defectos congénitos del corazón (OMS, 2011).

Entre los factores de riesgo que derivan principalmente hacia enfermedades obstructivas cardiovasculares se encuentran la hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, microalbuminuria, altos niveles de LDL, disminución y alteración funcional de las partículas de HDL, aumento en la concentración de triglicéridos, alteraciones en la producción y actividad de factores relacionados con la inflamación y adipocitocinas como la leptina, TNF- α , IL-6 y la proteína C reactiva, aumento en la viscosidad sanguínea e hipertrofia ventricular cardíaca, presencia de enzimas que catalizan reacciones de oxidación y reducción empleando oxígeno molecular llamadas oxidasas, entre otras. Esto contribuye a la aparición de un estado proinflamatorio, pro-aterogénico y pro-trombótico (Flores *et al.*, 2011).

El papel de los adipocitos es primordial en este fenómeno y las funciones del tejido adiposo se modifican a medida que los adipocitos aumentan de tamaño.

El tejido adiposo visceral tiene mayor sensibilidad a la insulina, por lo tanto, en este tejido existe mayor actividad lipolítica y mayor liberación de ácidos grasos a la circulación. Existe mayor producción de citocinas pro-inflamatorias y

por tanto mayor producción y expresión de TNF- α . Existe también mayor producción de radicales libres. Por las consecuencias metabólicas que implica esto, es que la presencia de tejido adiposo visceral en exceso se relaciona íntimamente con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

El desarrollo de las enfermedades cardiovasculares está íntimamente relacionado con el tipo de alimentación, mientras algunos factores dietéticos protegen contra el desarrollo de la enfermedad coronaria, otros son capaces de promoverla. Se ha demostrado que el tipo de fuente lipídica consumida es un factor determinante para el desarrollo de factores de riesgo de dicha enfermedad (Connor, 1996).

Se ha demostrado que el consumo de fuentes ricas en ácidos grasos poli-insaturados y mono-insaturados en sustitución de ácidos grasos saturados junto con un consumo adecuado de antioxidantes, entre otros, está relacionado con efectos preventivos (Kris- Etherton *et al.*, 2002).

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Enfermedades cardiovasculares

En México, durante el 2007 poco más de 87 mil personas fallecieron a causa de alguna enfermedad del corazón. En el mundo, las enfermedades cardiovasculares cobran 17.5 millones de vidas al año. En los varones, son mayores los porcentajes de infarto agudo del miocardio y enfermedad isquémica crónica del corazón, en comparación con las mujeres. Sin embargo, en las mujeres, se muestran mayores porcentajes para la hipertensión y otras enfermedades cerebrovasculares, en comparación con los varones (OMS, 2011). De hecho México ha comenzado a enfrentarse de manera alarmante a enfermedades crónicas como la hipertensión y la diabetes mellitus, entre otras (INEGI, 2009).

Las enfermedades cardiovasculares se pueden prevenir al cambiar estilos de vida, eliminar malos hábitos y conductas de riesgo, por lo que resulta imperioso favorecer su prevención.

Las enfermedades cardiovasculares: es decir, del corazón y de los vasos sanguíneos, son:

- La cardiopatía coronaria – enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco (miocardio);
- Las enfermedades cerebrovasculares – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro;
- Las arteriopatías periféricas – enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan los miembros superiores e inferiores;
- La cardiopatía reumática – lesiones del miocardio y de las válvulas cardíacas debidas a la fiebre reumática, una enfermedad causada por bacterias denominadas estreptococos;
- Las cardiopatías congénitas – malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento;

- Las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares – coágulos de sangre (trombos) en las venas de las piernas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones.

Los ataques al corazón y los accidentes vasculares cerebrales suelen ser fenómenos agudos que se deben sobre todo a obstrucciones que impiden que la sangre fluya hacia el corazón o el cerebro. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón o el cerebro. Los accidentes vasculares cerebrales también pueden deberse a hemorragias de los vasos cerebrales o coágulos de sangre (OMS, 2011).

Las lesiones obstructivas son los principales traumas de ECV existentes entre la población.

Los factores de riesgo cardiovascular asociados al acúmulo de grasa son: hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, microalbuminuria, aterosclerosis prematura, altas concentraciones de partículas LDL con mayor susceptibilidad a oxidación, disminución y alteración funcional de las partículas de HDL, aumento en la concentración de triglicéridos, de fibrinógeno, de la producción del inhibidor del activador del plasminógeno, de la proteína C reactiva, de α TNF⁻⁶, de la viscosidad sanguínea e hipertrofia ventricular cardiaca, entre otros.

Entre las causas de enfermedad cardiovascular se encuentran una dieta desfavorable, la inactividad física, el consumo de tabaco y el consumo nocivo de alcohol. Los principales factores de riesgo modificables son responsables de aproximadamente un 80% de los casos de cardiopatía coronaria y enfermedad cerebrovascular.

Está demostrado que el cese del consumo de tabaco, la reducción de la sal de la dieta, el consumo de frutas y verduras, consumo de fuentes lipídicas sanas, la actividad física regular, evitar el consumo de alcohol y la prevención o el tratamiento de la hipertensión, la diabetes y la hiperlipidemia, reducen el riesgo de ECV (OMS, 2012).

La forma obstructiva más común cardiovascular es la arteriosclerosis, que se refiere al engrosamiento y el endurecimiento de las arterias. Es un proceso inflamatorio crónico que afecta a las arterias de diferentes lechos vasculares y que se caracteriza por el engrosamiento de la capa íntima y media con pérdida de la elasticidad. Su lesión básica es la placa de ateroma compuesta fundamentalmente de lípidos, tejido fibroso y células inflamatorias, y pasa por diferentes estadios: Tiende a asentarse en las arterias que irrigan el corazón (coronarias), el cerebro (carótidas, vertebrales y cerebrales) y las extremidades inferiores (iliacas y femorales). Por lo tanto, la presencia de afectación vascular en una localización concreta se asocia con un mayor riesgo de desarrollarla en otros lechos vasculares (Lahoz *et al.*, 2007).

2.2 Tejido adiposo, metabolismo y riesgo cardiovascular

El tejido adiposo es un órgano endocrino con múltiples funciones, las cuales ejerce a través de una gran variedad de hormonas y citocinas denominadas adipocinas, adipocitocinas o también como adipocitoquinas. Sirven de mediadores entre el tejido adiposo y los órganos adyacentes y a distancia como el endotelio, hígado, músculo, páncreas, glándulas suprarrenales y sistema nervioso. Dentro de sus funciones mantiene el balance energético a largo plazo, participa en la termorregulación, en el metabolismo de los lípidos y de la glucosa, además de modular la función hormonal y la reproducción. También participa en la regulación de la presión arterial, en la coagulación sanguínea y en condiciones de alteración funcional contribuye a la inflamación sub-clínica crónica y al estrés oxidativo crónico asociados a padecimientos como es la obesidad y la ECV.

El tejido adiposo de acuerdo al aspecto y características de las células grasas que lo forman se ha dividido en:

- Tejido pardo: Posee un alto contenido de mitocondrias tiene como principal función la termorregulación.

- Tejido blanco: Sirve como reservorio energético y es utilizado en situaciones de desbalance energético.

El tejido adiposo está compuesto por: adipocitos (50%), pre-adipocitos, células del sistema inmune, del sistema nervioso, matriz extracelular y vasos sanguíneos que en conjunto representa el restante 50%. Es esencial para la vida y en exceso provoca alteraciones metabólicas significativas: resistencia a la insulina, diabetes y dislipidemias, incrementando el riesgo de mortalidad (Flores *et al.*, 2011).

Entre la amplia variedad de adipocitoquinas que produce y secreta, se encuentran el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la leptina, la resistina, la adiponectina, y el inhibidor-1 del activador del plasminógeno entre otras (Ferranti *et al.*, 2009).

2.2.1 Hipertrofia e hiperplasia adiposa

El desequilibrio crónico de calorías consumidas vs gastadas causa un aumento en el almacenaje del exceso de energía en forma de depósitos intracelulares de triglicéridos en el adipocito. El incremento en la masa grasa se manifiesta como el aumento de lípidos intracelulares y gran tamaño del adipocito (hipertrofia) y en el número de adipocitos (hiperplasia). La hipertrofia del adipocito, evidente en pacientes con sobrepeso y diabetes tipo 2, fue originalmente considerada como la única ruta por la cual la masa del tejido adiposo aumenta en los adultos; sin embargo, ahora se sabe que la hiperplasia del adipocito contribuye al incremento de la masa de tejido adiposo en la obesidad. Estudios en animales sugieren que la hiperplasia ocurre en dos pasos: un aumento en el número de preadipocitos y la diferenciación de preadipocitos a adipocitos maduros (Ferranti *et al.*, 2009).

Algunos estudios *in vitro* sugieren que algunos factores liberados localmente por los adipocitos hipertrofiados, como el TNF α y el factor de crecimiento insulinoide, estimulan la hiperplasia de manera parácrina (Ferranti *et al.*, 2009).

Cada vez hay más evidencia científica de que la obesidad está relacionada con la diabetes mellitus (DM) tipo 2 y con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV). Esto se relaciona con la capacidad del tejido adiposo para secretar varios factores denominados adipocinas, como la leptina, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina (IL) 6, el inhibidor de plasminógeno activado 1 (PAI-1), la resistina, la adiponectina y la proteína transportadora de retinol 4 (RBP4), entre otras.

Estas adipocinas están relacionadas en su gran mayoría, directa o indirectamente, con procesos inflamatorios y metabólicos que contribuyen a la aterosclerosis, dislipidemias, hipertensión arterial, resistencia insulínica (RI) y DM2, y son un posible nexo entre la adiposidad y sus complicaciones.

La distribución del tejido adiposo es un factor reconocido de incremento en el riesgo cardiovascular. Individuos con distribución central o visceral de la obesidad presentan mayor riesgo de mortalidad general, mayor riesgo de padecer enfermedad arterial coronaria, DM2, hipertensión y dislipidemia comparados con aquellos con distribución periférica o subcutánea de la obesidad. En pacientes con cantidades similares de tejido adiposo corporal total (medidas mediante el índice de masa corporal o porcentaje de grasa), la diferencia en las alteraciones metabólicas la establece la cantidad de tejido adiposo visceral de cada individuo (a mayor cantidad de grasa visceral, mayor alteración metabólica). Aún en sujetos con índice de masa corporal dentro de rangos saludables, el poseer una circunferencia de cintura mayor de 88 cm en mujeres o 102 cm en hombres, representa un riesgo mayor de mortalidad comparada con individuos con IMC normal y circunferencia de cintura normal (Flores *et al.*, 2011).

Esto resalta la importancia del sitio de distribución y la alteración funcional del tejido adiposo en el incremento el riesgo cardiovascular asociado a la obesidad, como lo vemos en la Figura 1 y 2.

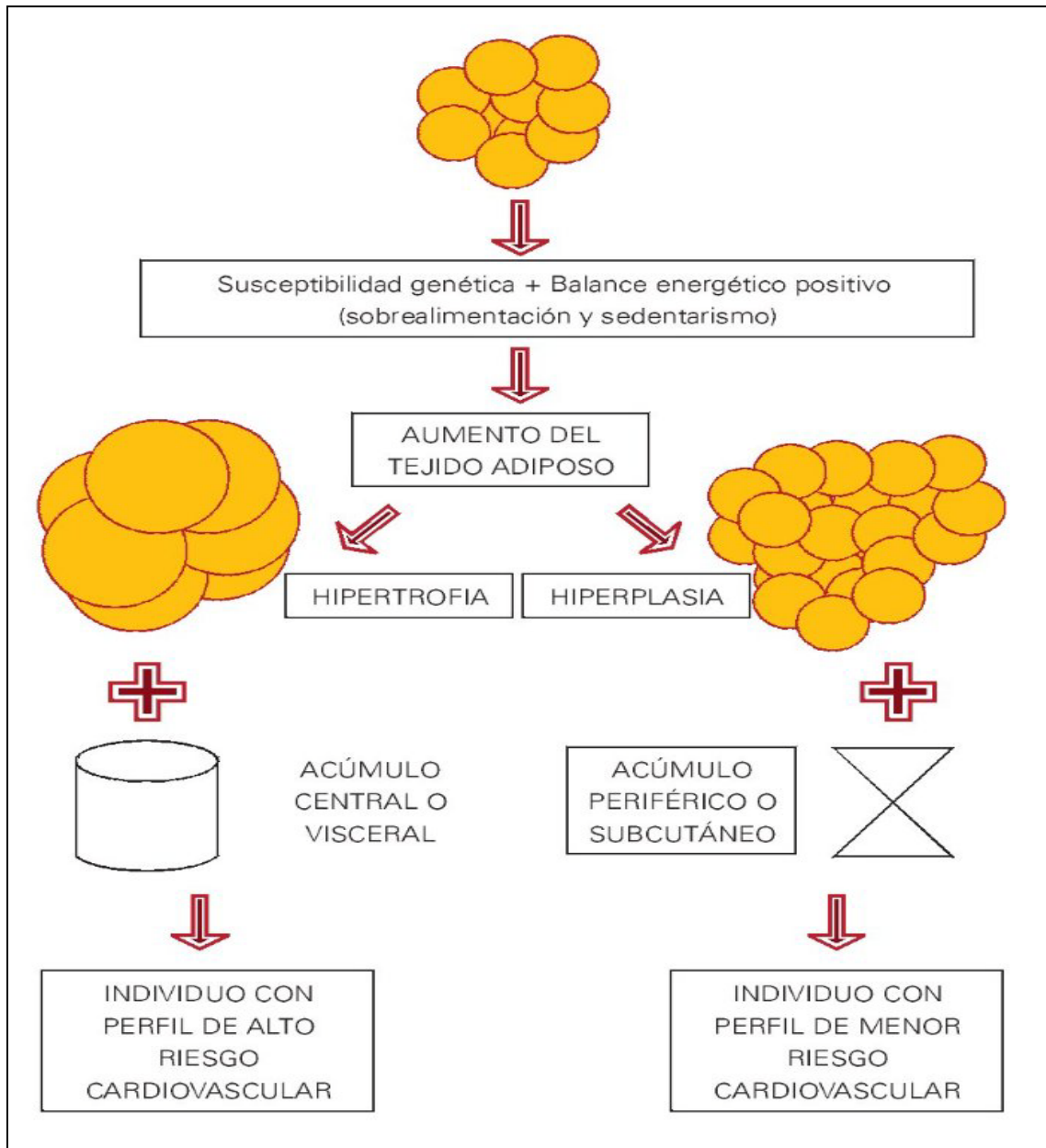


Figura 1. Tejido adiposo. Esquema general de las consecuencias de la forma y el sitio de almacén del incremento del tejido adiposo.

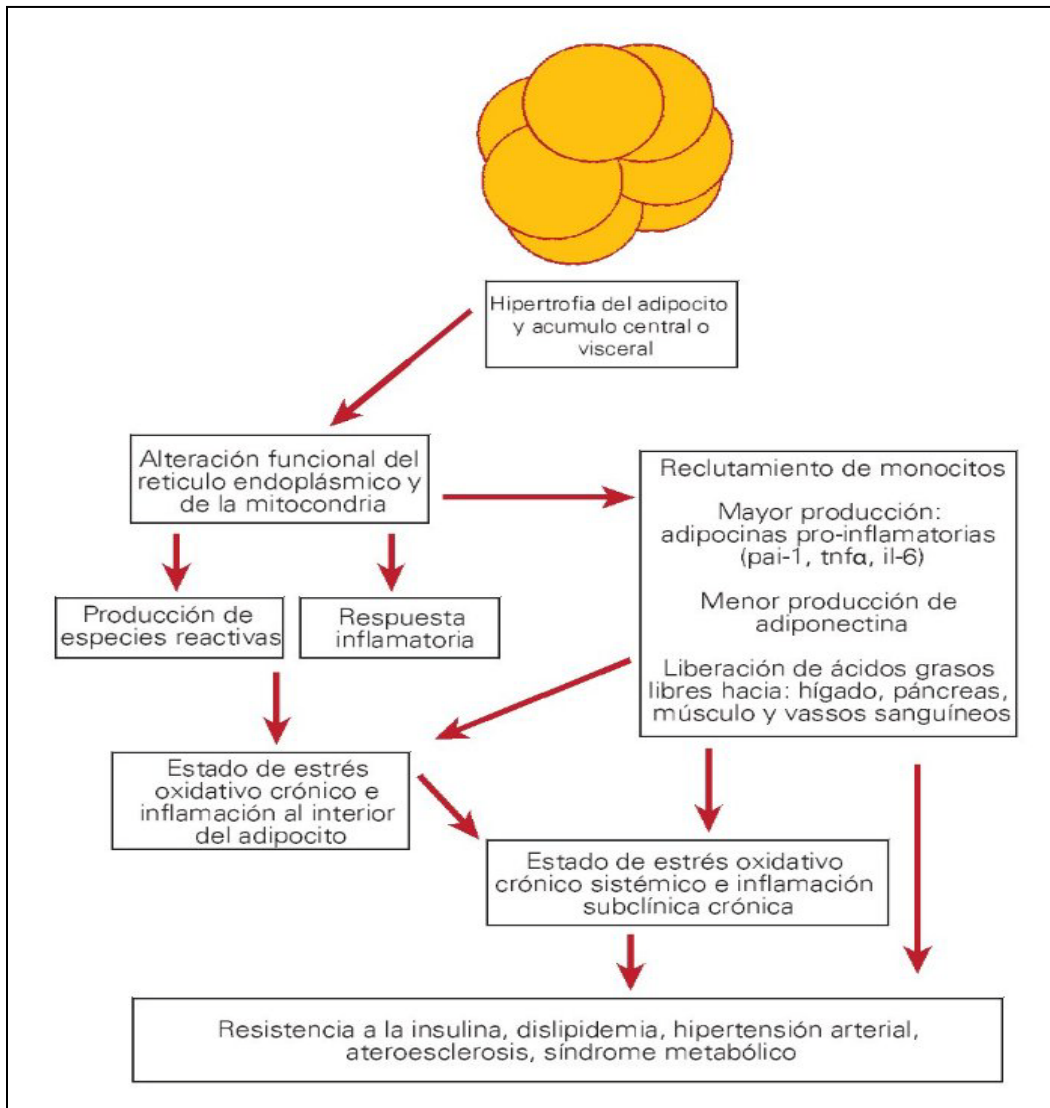


Figura 2. Alteración funcional. Esquema de la alteración funcional del adipocito hipertrófico (Lazaro, 2011).

Los hábitos dietéticos son centrales para la inducción y mantenimiento del estrés del adipocito. La reducción en la ingesta calórica, si se mantiene, es efectiva para la prevención y reversión de la adiposidad y sus consecuencias asociadas a la salud (Berg *et al.*, 2001).

Se han puesto a prueba diferentes dietas que pueden ser efectivas en la reducción del consumo calórico total, incluyendo dietas enfocadas en ingesta de macronutrientes en particular (como de dietas de muy poca grasa hasta dietas de

muy alta grasa/bajos hidratos de carbono) y dietas basadas en el aumento o disminución del consumo de alimentos específicos (Berg *et al.*, 2001).

En ensayos aleatorizados, factores dietéticos específicos impactan en numerosos factores, nuevos y ya establecidos, relacionados con el riesgo cardiovascular y de obesidad; algunos de estos factores dietéticos pueden estar involucrados en la mitigación o reversión de los cambios en el adipocito. En modelos de obesidad en roedores, una dieta alta en ácidos grasos marinos ω -3 reduce la hipertrofia del adipocito; contrariamente, el consumo de ácidos grasos trans puede incrementar el tamaño o número de adipocitos viscerales. Otros ácidos grasos pueden estimular la hiperplasia del adipocito por alteración de la expresión génica para aumentar la proliferación de preadipocitos. El consumo de hidratos de carbono con alto índice glicémico y grasas trans puede particularmente ser perjudicial para el aumento de peso y el estrés del adipocito. Los hábitos dietéticos pueden también interactuar directamente con las adipocinas.

Cambios en los hábitos dietéticos también tienen influencia en los mediadores inflamatorios: Se encontró que en ratas una dieta extremadamente baja en hidratos de carbono (13% de las calorías totales) y alta en grasa (60%) induce pérdida de peso y reducción en TNF- α (Wood *et al.*, 2006).

En la Figura 3, se presentan aspectos de la disfunción del adipocito debida al exceso de nutrimentos. La acumulación de exceso de lípidos lleva a un aumento en la actividad de retículo endoplásmico. El estrés del retículo endoplásmico puede producir estrés oxidativo en la mitocondria, así como la presencia del exceso de ácidos grasos libres (AGL). El estrés oxidativo produce especies reactivas de oxígeno. La producción de TNF- α es estimulada por AGL, que a su vez actúan sobre cinasas para contribuir a la resistencia a la insulina celular (Gregor *et al.*, 2007).

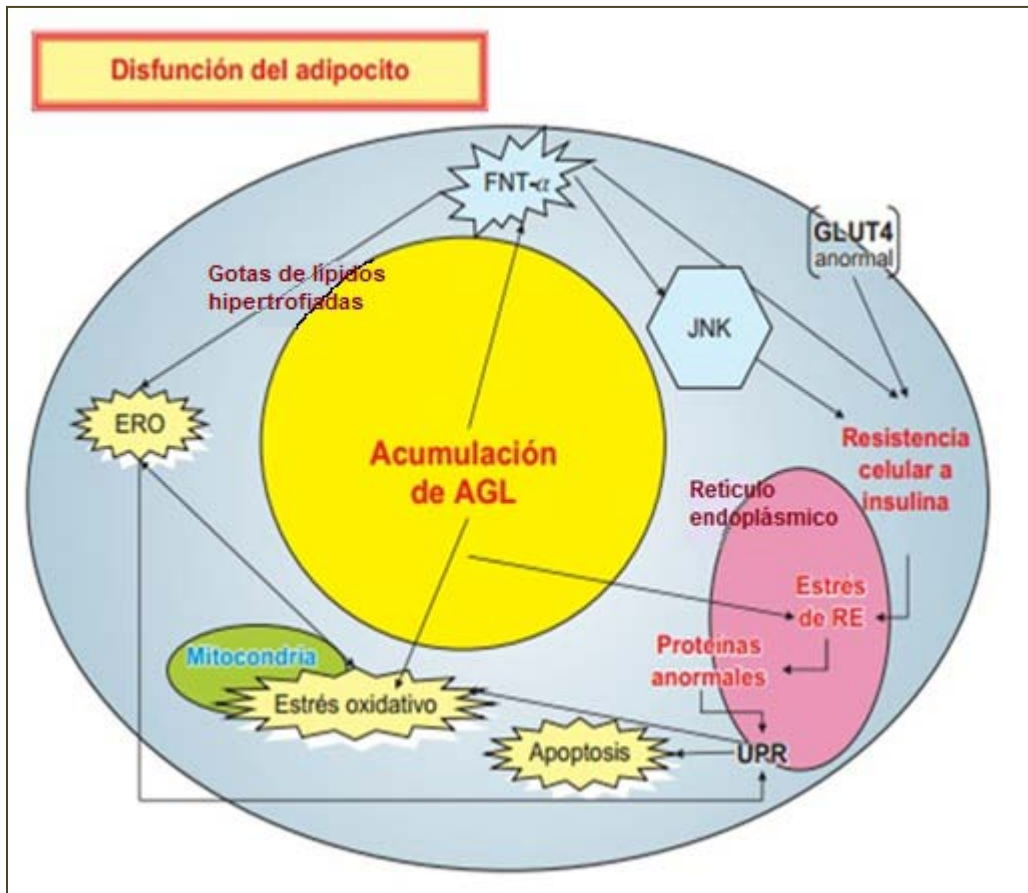


Figura 3. Disfunción del adipocito debido al exceso de nutrientes. Quinasa C-Jun N- terminal (JNK). Retículo endoplásmico (RE). Especies reactivas del oxígeno (ERO). Ácido gamma-linolénico (AGL). Proteína transportadora de glucosa (GLUT4). Respuesta de proteínas desplegadas (UPR).

2.3 Citocinas

Las citocinas son importantes mediadores del sistema inmune y se pueden subdividir en pro y antiinflamatorias. Están involucradas importantemente en procesos patológicos como el edema pulmonar, las anomalías del músculo esquelético, la apoptosis de los miocitos, la disfunción endotelial y diferentes enfermedades cardíacas (Martínez, 2006).

2.3.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

2.3.1.1 Generalidades

El Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α) es una citocina multifuncional expresada por algunas células inmunes como macrófagos, tejido adiposo y músculo esquelético.

En la Figura 4 se muestra la estructura del TNF- α , el cual es una hormona glicopeptídica de 15-30 KDa, formada por 185 aminoácidos, que procede de un propéptido formado por 212 aminoácidos. Algunas células sintetizan isoformas más cortas de la molécula. El gen de TNF- α está ubicado en el cromosoma 7p21 en humanos (Aguilar y Rojas, 2008).

|

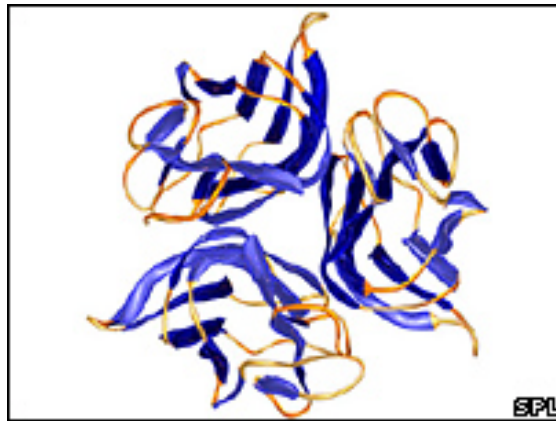


Figura 4. Estructura de TNF- α

2.3.1.2 Acciones biológicas y mecanismos de acción

El TNF- α es producido fundamentalmente por monocitos y macrófagos en respuesta a antígenos bacterianos, siendo esta citocina la principal responsable del shock séptico asociado a bacteriemias; también puede ser producido por linfocitos T y B, células citotóxicas naturales, fibroblastos y mastocitos. Está implicado en los procesos inflamatorios derivados de los procesos infecciosos, elevando la temperatura corporal y produciendo caquexia y sueño al actuar sobre

el sistema nervioso central. Por otra parte, induce la expresión de moléculas de adhesión y estimula la producción de IL-8 por células del endotelio vascular, lo que contribuye a la extravasación de linfocitos, neutrófilos y monocitos (Suarez *et al.*, 2009). En la Figura 5 se presentan los procesos regulados por el TNF- α .

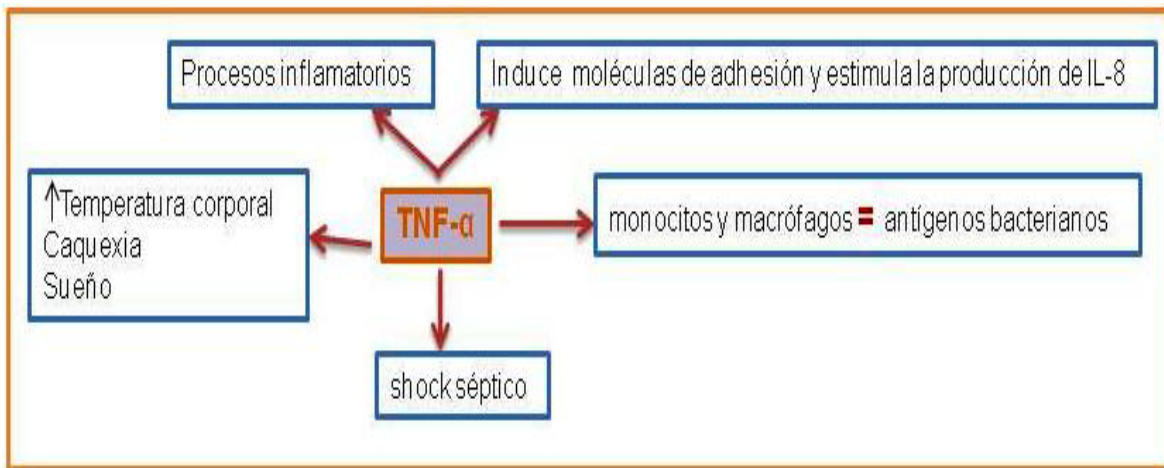


Figura 5. Descripción de los procesos regulados por el TNF- α .

En la Figura 6, se muestran las acciones biológicas del TNF- α . En presencia de cantidades bajas de TNF- α , se manifiesta una inflamación local, en la célula endotelial y en el leucocito. En cantidades moderadas se presentan efectos sistémicos en el sistema neuroendocrino, hipotálamo y cortex adrenal. Como consecuencia hay fiebre. En el hígado hay secreción de reactantes de fase aguda y por tanto se muestran procesos crónicos, en los huesos hay osteolisis y como consecuencia fisiopatológica hay procesos inflamatorios crónicos. En cantidades elevadas se da un shock séptico, hipoglucemia e inhibición de la coagulación (Aguilar y Rojas, 2008).

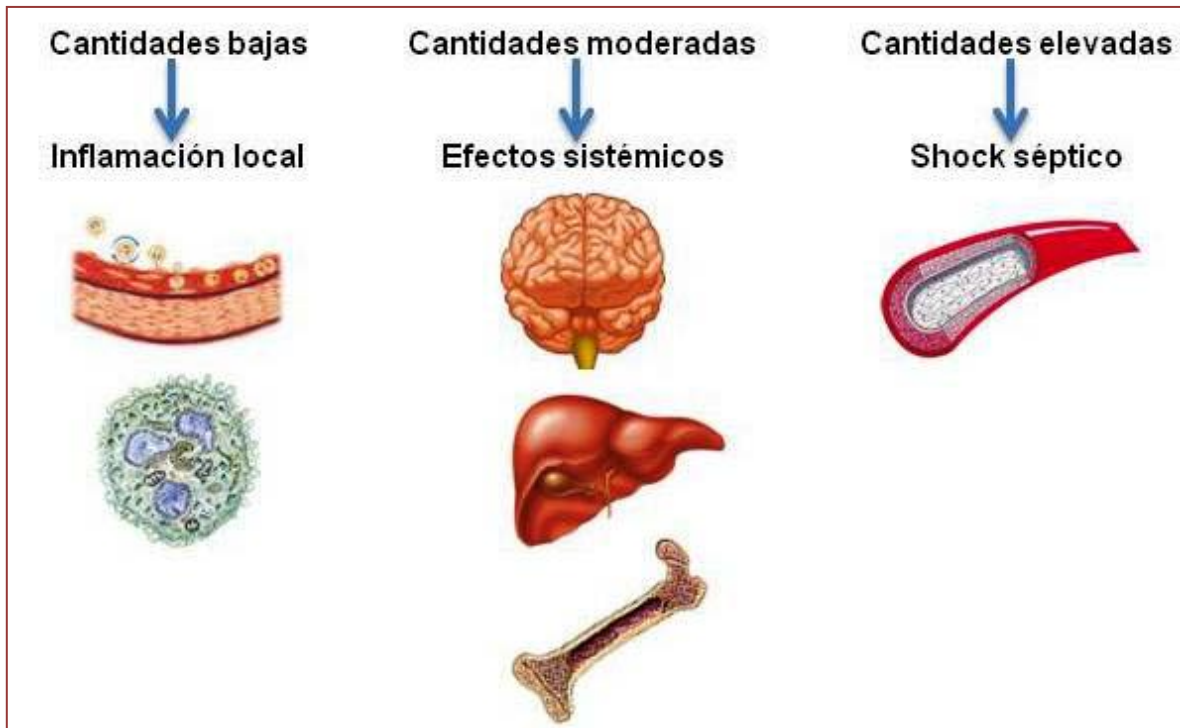


Figura 6. Acciones biológicas del TNF- α a cantidades bajas, moderadas y elevadas (Aguilar y Rojas, 2008).

2.3.1.3 Acciones patógenas y efectos en la salud

TNF- α y cáncer

Se han descrito diversas funciones de TNF- α en el cáncer, según el tipo de tumor, el microentorno tumoral y los niveles de expresión general de TNF- α y la cinética de la expresión (Tilg, 2008).

TNF- α y enfermedad inflamatoria intestinal crónica

Llamada también enfermedad de Crohn, enteropatía inflamatoria, colitis ulcerosa. Se ha relacionado con valores altos de TNF- α . Se demostró un efecto esencial de la actividad de TNF- α /TNF-R1, (receptor que inicia la apoptosis y promueve necrosis) sobre la inducción de la inflamación intestinal crónica. Se ha descrito una sobreexpresión de enteropatía inflamatoria de TNF- α en los monocitos/macrófagos del tejido intestinal.

TNF- α y psoriasis

En los pacientes con psoriasis, se demostró que el TNF- α aumenta en forma generalizada y en el tejido cutáneo. La expresión de TNF- α en las células mononucleares periféricas de la sangre es muy elevada en pacientes en fase activa de la enfermedad y elevada en el caso de la psoriasis crónica. En un modelo animal, se demostró que la activación dependiente de TNF- α de los linfocitos T residentes es fundamental para el desarrollo de la psoriasis (Pietrzak, 2008).

TNF- α y trastornos pulmonares

Algunos trastornos pulmonares graves como la fibrosis quística y el asma se han relacionado con niveles anormales de TNF- α . En la fibrosis quística, se observan altos niveles de TNF- α . Por otro lado el TNF- α se sobre expresa en un asma grave y persistente. En el asma alérgica, con una exposición reducida al antígeno, el TNF- α contribuye a la liberación elevada de histamina. En un modelo de ratones para estudiar el asma, la inflamación de las vías aéreas se produce por la activación mediada de TNF- α de la fosfolipasa A2.

TNF- α y artritis reumatoide, espondilitis anquilosante

El TNF- α tiene efectos estimulantes sobre las proteinasas que degradan la matriz (metaloproteinasa de la matriz), también sobre la renovación del tejido y los osteoclastos, que causan la reabsorción ósea que produce la erosión de las articulaciones. En un modelo de ratones para estudiar la artritis reumatoide, se observaron niveles elevados de TNF- α en la vértebra ósea. Las citocinas, sintetizadas por las células sinoviales activadas por TNF- α demostraron que provocan la artritis reumatoide. En los pacientes con espondilitis anquilosante, se demostró que la concentración de TNF- α era elevada en la articulación sacroilíaca.

TNF- α y enfermedades neurodegenerativas

Altos niveles de TNF- α están relacionados con enfermedades neurodegenerativas (esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad priónica, Parkinson). El TNF- α se produce a partir de unas células pequeñas,

alargadas y de origen mesodérmico que desempeñan una función fagocitaria llamadas microglíocitos activados, y causa degeneración neuronal, apoptosis del tejido neuronal y mayor inflamación.

TNF- α y riesgo cardiovascular

En el tejido adiposo de modelos de roedores para estudiar la obesidad y en personas con tejido adiposo en exceso, se observó el aumento de la expresión de TNF- α . En relación a la presencia de tejido adiposo en exceso y en los casos de resistencia a la insulina, se observa inflamación crónica de bajo grado íntimamente relacionada con TNF- α . Los mayores niveles de TNF- α afectan la regulación del pasaje de insulina (Lorenzo *et al.*, 2008).

Su producción se ha asociado recientemente con obesidad y se ha demostrado que interfiere con la acción de la insulina en el metabolismo hepático de la glucosa y los lípidos (Barrera, 2008).

Estimula la producción de prostaglandinas, aumenta la expresión de moléculas de adhesión endoteliales; a nivel hepático aumenta la expresión de genes relacionados con la síntesis de novo de colesterol y ácidos grasos; regula la captación de glucosa y la oxidación de ácidos grasos, estimula la lipólisis; disminuye la expresión de GLUT 4 y de esta manera genera resistencia insulínica (Brandan, 2008).

Durante la formación de ateromas, están implicados procesos de calcificación arterial. Este fenómeno junto con el engrosamiento de la íntima-media carotídea, trastornos en homeostasis de glucosa y triglicéridos y un mayor riesgo de sufrir infarto al miocardio recurrente se ha relacionado con los niveles circulantes de TNF- α . Los mecanismos inducidos por TNF- α causan mayor acumulación de calcio aórtico en animales con diabetes mellitus tipo 2 (Aggarwal *et al.*, 2006).

2.3.2. Leptina

2.3.2.1 Generalidades

La leptina es una hormona sintetizada y secretada principalmente por los adipocitos. Se ha reconocido como producto del gen de la obesidad y reguladora de la saciedad (García *et al.*, 2007). La leptina es una proteína de la familia de las citocinas, integrada por 146 aminoácidos con un peso molecular de 16 kD. La leptina pertenece a la familia de citocinas de larga cadena helicoidal y es estructuralmente similar a IL-1. En la Figura 7 se observa la estructura tridimensional de la leptina, la cual presenta cuatro hélices alfa y un puente disulfuro entre las cisteínas en posición 96 y 146, siendo este último necesario para la actividad biológica de la hormona (Vega, 2010).

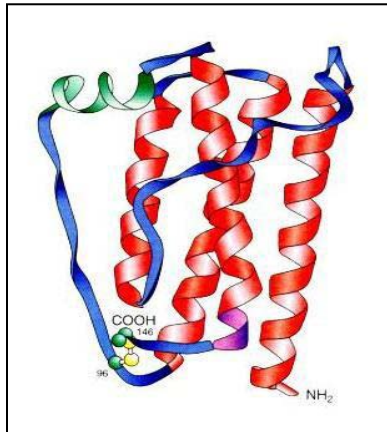


Figura 7: Estructura de la leptina.

2.3.2.2 Acciones biológicas y mecanismos de acción

La leptina participa en la regulación normal a largo plazo de la ingesta de alimentos, del peso corporal, del gasto energético y las funciones neuroendocrinas. A nivel fisiológico, la leptina induce un efecto sensibilizador de insulina, al promover la oxidación de ácidos grasos libres y la reducción de la acumulación de grasa ectópica en tejidos no adiposos. A nivel molecular, este

efecto se encuentra mediado directamente por leptina en el músculo esquelético e indirectamente en el eje del sistema nervioso simpático hipotalámico (Sánchez-Muñoz, 2005).

Se ha visto que el principal determinante de la concentración de leptina circulante es el porcentaje de grasa corporal y defectos en la producción de esta hormona han sido asociados con efectos adversos en el metabolismo de los lípidos (AL- Sowyan, 2009).

Existen varios estudios que han demostrado que el aumento de neuropéptido Y (NPY) lleva a un aumento de la sensación de hambre y con ello a la hiperfagia y obesidad. Existen evidencias de que la leptina actúa a nivel del núcleo arcuato impidiendo la formación de NPY y por tanto, moderando el apetito, y parece que es a través de esta acción de la leptina por la que se produce la activación de las UCPs (proteínas de desacoplamiento), participando así en la modulación de la termogénesis.

El tejido adiposo, aunque difusamente distribuido, es capaz de secretar diversas sustancias y es fundamental en la regulación y almacenamiento de la energía. La leptina se produce fundamentalmente en la grasa blanca y existe una relación entre niveles de leptina y depósitos de grasa, que se relacionan con el IMC.

Los niveles de leptina no cambian con una sobrecarga de glucosa ni con comidas mixtas. Es tan sólo a partir de 6 horas y más claramente tras 12 horas de ayuno o sobrealimentación cuando se ven cambios. Parece ser, por tanto, que los niveles de leptina se relacionan más con los cambios a largo plazo.

2.3.2.3 Acciones patógenas y efectos en la salud

Leptina y obesidad

Una deficiencia congénita de leptina en humanos debida a una mutación en el gen que la produce, determina una obesidad masiva, similar a la que se

produce en los ratones. Estos individuos se caracterizan por presentar profunda hiperfagia y obesidad.

Los niveles hemáticos de leptina pueden estar elevados en la obesidad, por insensibilidad de los receptores hipotalámicos, o por defecto en el sistema de transporte hacia el sistema nervioso central. Una alteración en su producción o una resistencia a su acción en el hipotálamo pueden originar a su vez sobrepeso y obesidad (Morales *et al.*, 2010).

Leptina y riesgo cardiovascular

En la inflamación, la leptina actúa directamente sobre los macrófagos para aumentar su actividad fagocítica y la producción de citocinas proinflamatorias. También se ha involucrado a la leptina en la inflamación asociada con la aterosclerosis y el síndrome metabólico. La leptina actúa como una señal en la regulación de la sensibilidad a la insulina a nivel de todo el organismo. De manera más puntual, la resistencia a la leptina es en sí uno de los factores causales de las complicaciones cardiovasculares en la obesidad (Fiona *et al.*, 2002).

Leptina e insuficiencia renal crónica

Estos pacientes tienen un aumento de los niveles de leptina, lo cual puede deberse a la disminución de aclaramiento renal. Sin embargo también es posible que la uremia tenga efectos directos sobre la leptina, aunque claramente se necesitan más estudios para confirmar esto y para ver las implicaciones de la hiperleptinemia en la IRC.

Leptina e infección por VIH

Se ha demostrado que, a pesar de que los pacientes con caquexia asociada tienen un IMC menor que los controles, los niveles de leptina sérica son similares, lo que puede implicar un estado de hiperleptinemia posiblemente debido a la activación del sistema inmune y a la producción de diversas citoquinas. Su significado o implicaciones clínicas se desconocen por el momento. Recientemente se ha descrito un síndrome de lipodistrofia con hiperlipemia

asociado al tratamiento de la infección VIH con inhibidores de la proteasa. Estos pacientes, al contrario que en la caquexia, se ha visto que los niveles de leptina están disminuidos con respecto a los controles. Es posible que la leptina pudiera ser un parámetro más para diferenciar la caquexia de la lipodistrofia y así evitar el tratamiento con anabolizantes en estos últimos, ya que podría empeorar la resistencia insulínica que presentan los pacientes con lipodistrofia y desencadenar o empeorar una diabetes mellitus (Bottella, 2001).

2.4 Aceites vegetales como fuente de lípidos y su elaboración

Las principales fuentes alimenticias de ácidos grasos poliinsaturados son los aceites vegetales que se extraen de semillas, cereales y algunos frutos altos en grasa.

Hasta hace poco tiempo, los aceites y grasas comestibles se extraían por operaciones mecánicas aplicando calor externo y no se refinaban. Los beneficios de este tipo de extracción es que no se pierden los nutrientes naturales que contienen, sin embargo, son altamente propensos al enranciamiento. Los principales aceites vegetales consumidos tradicionalmente en muchos países (sin refinamiento) son: de cacahuate, de colza (canola), de mostaza, de palma, de oliva y de sésamo.

En los últimos 50 años, las grasas y aceites vegetales se han obtenido por métodos más eficaces de prensado mecánico y por extracción con disolventes. Entonces los aceites son sometidos a procesos tecnológicos para hacerlos más suaves e incoloros.

La mayoría de los aceites vegetales empleados como alimento humano son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente linoléico, aunque también algunos contienen pequeñas cantidades de ácido linolénico. Estos ácidos grasos pueden auto-oxidarse si no se protegen con antioxidantes adecuados que se adicionan durante la producción. Los aceites vegetales contienen por naturaleza compuestos de la familia de la vitamina E como tocoferoles y

tocotrienoles que funcionan como antioxidantes y estabilizadores bajo condiciones normales de conservación (FAO, 1980).

2.4.1 Extracción de aceites vegetales

Previa a su extracción las semillas oleaginosas deben ser limpiadas y descascarilladas, después son troceadas y molidas.

Los aceites vegetales se extraen principalmente por dos métodos:

- Prensado mecánico: En la extracción mecánica las semillas molidas pasan a un acondicionador para obtener un producto homogéneo que pasa a la prensa de tornillo donde se procede a la separación del aceite a elevadas presiones. El aceite obtenido es limpiado de impurezas gruesas en un tamiz vibratorio, al final el aceite se filtra y se obtiene un aceite crudo filtrado.
- Extracción con disolventes: Durante la extracción por disolventes se parte de semillas oleaginosas o de la torta proteínica (residuo del proceso de extracción mecánico). Si se parte de las semillas éstas se trituran en unos rodillos y después pasan a un acondicionador para homogeneizar el producto, que pasa a un molino con lo que se divide finamente para permitir una mejor extracción del aceite en el extractor. En el extractor un disolvente de las materias grasas las arrastra separándolas en el evaporador (AMV ediciones, 1988).

Los aceites que fueron extraídos por prensado mecánico conservan los nutrimentos naturales, sin embargo junto con estas sustancias nutritivas, también se conservan otras potencialmente tóxicas como aflatoxinas o isoticianatos. Los aceites que se extrajeron con disolventes pueden contener restos de disolventes indeseables. Los aceites extraídos mediante estos métodos pueden tener una serie de defectos importantes como una elevada acidez, olores desagradables o una coloración excesiva y el calentamiento del aceite en estas condiciones a altas temperaturas puede dañar su composición fácilmente, por esta razón los aceites se refinan después de su extracción (FAO, 1980). En la Figura 8 se presenta el proceso de elaboración de aceites.



Figura 8. Diagrama de bloque de extracción de aceites

2.4.2 Refinación

La manera de conseguir un aceite o grasa sin estos inconvenientes es someterlos a un proceso de refinación que puede ser mediante procesos químicos o físicos, y generalmente se combinan ambos procesos.

La refinación física consiste básicamente en:

- Blanqueo o decoloración: consiste en tratar aceites refinados con tierras activadas, el tratamiento se efectúa a 100 °C durante 15 a 30 minutos. Durante este proceso se suprimen la mayoría de los pigmentos restantes como carotenoides o clorofila. Durante este proceso se producen ácidos grasos conjugados derivados de los ácidos poliénicos presentes.
- Destilación al vapor o desodorización: En este proceso se hace pasar vapor por capas de aceite situadas en bandejas, al vacío a 250 °C. Por este medio se arrastran trazas de ácidos grasos libres, productos volátiles procedentes de la grasa degradada por oxidación y otros compuestos olorosos. Las elevadas temperaturas a que se efectúan la desodorización dan lugar a una cierta isomerización, haciendo que la configuración de los ácidos linoléico y linolénico pase de *cis* a *trans*, sin embargo las técnicas modernas de desodorización, hacen el proceso mucho más corto y causan menos alteraciones en los ácidos grasos.
- Hibernación: Después que las impurezas son removidas durante los procesos anteriores de refinado como es el desgomado o blanqueo algunos

de los aceites aún contienen compuestos que causan cierta nebulosidad y opacidad que tienden a precipitarse a bajas temperaturas. De cualquier forma, esto reduce el atractivo a la apariencia del aceite. Mediante este proceso, el aceite es enfriado lentamente y agitado muy suavemente a bajas temperaturas. Mientras tanto los cristales se forman. El proceso se termina con el filtrado de los cristales.

La refinación química básicamente consiste en varias etapas:

- **Desgomado o neutralización:** En este proceso se eliminan fosfolípidos y otros lípidos polares hidratables. Es un tratamiento alcalino que no ejerce efectos sobre los triacilglicéridos del aceite. Este proceso sirve para suprimir los ácidos grasos libres que se encuentren presentes, pero además elimina componentes de valor nutricional como los carotenoides. Sin embargo este proceso es recomendable para prevenir el oscurecimiento del aceite con la posibilidad de añadir los carotenoides después.

2.5 Componentes de los aceites vegetales

2.5.1 Ácidos grasos y acilglicéridos

2.5.1.1 Generalidades

Un ácido graso es una molécula orgánica formada por una larga cadena hidrocarbonada, de número par de átomos de carbono, en cuyo extremo hay un grupo carboxilo. Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo. Al átomo de su extremo le quedan libres tres enlaces que son ocupados por átomos de hidrógeno ($\text{H}_3\text{C}-$). Los demás átomos tienen libres dos enlaces, que son ocupados igualmente por átomos de hidrógeno ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). El grupo carboxilo tiene carácter ácido y el grupo hidroxilo tiene carácter básico o alcalino.

En general, podemos escribir un ácido graso genérico como R-COOH, en donde R es la cadena hidrocarbonatada que identifica al ácido en particular.

Los ácidos grasos son los componentes de algunos lípidos como las grasas, donde el extremo de la molécula donde se encuentra el grupo carboxilo (-COOH) es el que se combina con uno de los grupos hidroxilos (-OH) de la glicerina o propanotriol, reaccionando con él (Sauci *et al.*, 1994).

El tipo de ácido graso y la posición en la cual se esterifica a glicerol determinan las características de los acilglicéridos. Además de los glicéridos que presentan tres ácidos grasos esterificados, los diacilglicéridos (diglicéridos) y los monoacilglicéridos (monoglicéridos) también están presentes en los alimentos crudos o en los ingredientes de los alimentos (García, 2010).

Hay tres tipos principales de ácidos grasos:

- Ácidos grasos saturados (AGS). Sólo tienen enlaces sencillos entre átomos de carbono adyacentes; no contienen dobles enlaces, lo que les confiere una gran estabilidad y la característica de ser sólidos a temperatura ambiente. Los AGS predominan en los alimentos de origen animal, aunque también se encuentran en grandes cantidades en algunos alimentos de origen vegetal. El ácido esteárico (C18:0) es un ejemplo de AGS.

Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) con dos o más dobles enlaces que pueden reaccionar con el oxígeno del aire aumentando la posibilidad de enranciamiento de la grasa. Los pescados y algunos alimentos de origen vegetal, como los aceites vegetales, líquidos a temperatura ambiente, son especialmente ricos en AGPI. Los ácidos grasos de la serie omega 3 y omega 6 son poliinsaturados (tienen varios enlaces dobles). Como ejemplo de ácido graso omega-6 tenemos al ácido linoléico (C18:2) y como ejemplo de ácido graso omega-3 en ácido linolénico. Desde el punto de vista nutricional son importantes los ácidos grasos poliinsaturados de las familias omega-3 (n-3) y omega-6 (n-6), en los que el primer doble enlace está situado junto al tercer átomo de carbono (ácidos grasos omega-3) o junto al sexto átomo de carbono (ácidos grasos omega-6) contando desde el metilo terminal de la cadena.

Los componentes de cada una de estas familias pueden tener diferente número de átomos de carbono y diferente número de dobles enlaces, pero el primer doble enlace siempre está en el carbono 3 o en el 6, respectivamente. Algunos componentes de cada una de las familias son esenciales para el hombre: ácido linoléico (C18:2 n-6) y alfa-linolénico (C18:3 n-3).

- Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) son aquellos ácidos grasos de cadena carbonada por que poseen una sola insaturación en su estructura, es decir, poseen un solo doble enlace carbono-carbono ($-CH=CH-$). Un ejemplo de este tipo de ácidos es el ácido oleico presente en casi todos los aceites naturales, llamado comúnmente omega 9. Varios ácidos grasos de la serie omega 9 son monoinsaturados; el más importante de ellos es el ácido oleico, componente principal de la trioleína, el triglicérido principal del aceite de oliva.

Aunque en todos los alimentos hay mezclas de las tres familias, en los de origen vegetal predominan las grasas insaturadas y en los de origen animal las saturadas y unas y otras, según su grado de saturación, se han relacionado -positiva y negativamente- con las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Manzur *et al.*, 2009).

Los aceites vegetales que se ingieren como alimentos son una mezcla de triacilglicéridos con cantidades menores de otros lípidos. Los ácidos grasos presentes en varias moléculas de lípidos constituyen la parte con mayor interés nutritivo. En la tabla 1 se presentan los porcentajes de los principales ácidos grasos presentes en los aceites estudiados.

Tabla 1. Porcentaje del contenido total de ácidos grasos en aceites vegetales crudos.

Ácido graso	Nombre común	Aceite de pepita de uva ¹	Aceite de canola ²	Aceite de cártamo alto en oleico ²	Aceite de soya ²	Aceite de aguacate ³
C16:0	Palmítico	5.5 - 11.0	2.5 - 6.0	0.1	8.0 - 13.3	11
C18:0	Esteárico	3.0 - 6.0	0.9 - 2.1	1.5 - 2.0	2.4 - 5.4	0.7
C18:1	Oleico	12.0 - 28.0	50.0 - 66.0	74.0 - 80.0	17.7 - 26.1	51.9
C18:2	Linoléico	58.0 - 78.0	18.0 - 30.0	13.0 - 18.0	49.8 - 57.1	14.3
C18:3	Linolénico	ND - 1.0	6.0 - 14.0	ND - 0.1	5.5 - 9.5	1.0
C20:0	Araquídico	ND - 1.0	0.1 - 1.2	0.2 - 0.4	0.1 - 0.6	ND

ND – no detectable, ¹ FAO, 1997, ²Brien, 2004, ³ANIAME, 2002.

2.5.1.2 Ácidos grasos, inflamación y enfermedades cardiovasculares

Los marcadores de la inflamación han sido implicados como factores de riesgo de varias enfermedades degenerativas. Con respecto a las enfermedades cardiovasculares, los datos obtenidos de los estudios de corte transversal y prospectivo proporcionan evidencia de que algunos marcadores son factores de riesgo independientes, y varios marcadores pueden ser modificables a través de estilo de vida, incluyendo el ejercicio, el tabaquismo y dieta. Estudios controlados de intervención dietética han demostrado que determinados ácidos grasos pueden modular marcadores de inflamación (Baer *et al.*, 2004).

En estudios epidemiológicos se ha obtenido una correlación positiva entre la ingesta de ácidos grasos saturados (AGS) y las concentraciones circulantes de PCR.

En pacientes con hipercolesterolemia, una dieta baja en AGS (el 30% del valor calórico total (VCT) en lípidos, de los que el 5% fueran AGS) durante 8 semanas produjo en estos sujetos una reducción significativa de las

concentraciones de PCR respecto a los valores basales. En pacientes con sobrepeso e hipercolesterolemia moderada, la ingesta de una margarina hidrogenada de soja que representaba el 30% del VCT (el 8,5% en AGS; el 6,7% en AGt; el 8,5% en ácidos grasos monoinsaturados y el 6,3% del VCT en ácidos grasos poliinsaturados) llevó a un aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de TNF- α e IL-6 respecto al consumo del mismo contenido calórico en forma de aceite de soja (el 7,3% en AGS; el 0,6% en AGt; el 8,1% en ácidos grasos monoinsaturados y el 12,5% del VCT en ácidos grasos poliinsaturados) tras 32 días de la intervención. De este modo, los AGS y AGt podrían estar involucrados en el desarrollo del proceso proinflamatorio.

La sustitución de los AGS por los AGMI tiene efecto beneficioso en el perfil lipídico, con una reducción de las concentraciones de cLDL y triglicéridos, manteniendo altas las concentraciones de cHDL, y tiene un importante papel en la prevención de la arteriosclerosis. De entre los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), el ácido oleico es el principal componente, y el aceite de oliva y las nueces son importantes fuentes de este ácido graso, principalmente en la dieta mediterránea. Estudios observacionales han descrito una asociación inversa de la ingesta de aceite de oliva con la ganancia de peso en individuos sanos y con la expresión de TNF- α y VCAM-1, así como con el desarrollo de aterosclerosis, en individuos con alto riesgo de ECV (Hermsdorff *et al.*, 2008).

El consumo de alimentos vegetales ricos en ácidos grasos es vital para mantener un nivel de lípidos estable y para suministrar al cuerpo los ácidos grasos esenciales. Los ácidos grasos calificados de esenciales incluyen el omega-3 y omega-6. El cuerpo humano no puede sintetizarlos, o los sintetiza en cantidades insuficientes, es necesaria por tanto una contribución regular por medio de la alimentación.

Se ha observado que concentraciones sanguíneas de diferentes marcadores de la inflamación, como la proteína C reactiva, interleucina 6 y 1, y TNF- α , así como otras citocinas son predictivos del riesgo de enfermedad cardiovascular y se ha propuesto que el efecto protector de los AGPIs para evitar

el desarrollo de enfermedades cardiovasculares es a través de la inhibición de la respuesta inflamatoria, además de la supresión de moléculas de adhesión, de su efecto hipolipidémico y de la alteración de la función electrofisiológica de las células del corazón, de manera que reducen su excitabilidad haciéndolas menos vulnerables a la fibrilación ventricular (Morales, 2010).

Estudios poblacionales en hombres de 25 a 74 años muestran que el consumo dietario de aceite de pescado, se asocia con una disminución del 50% en el riesgo de paro cardíaco. Esto podría estar dado, al menos en parte, por el efecto de los ácidos grasos poli insaturados indispensables (AGPIs) dietarios sobre la composición de los ácidos grasos de la membrana celular de los miocitos cardíacos.

Actualmente existe controversia sobre si el consumo dietario de AGPIs de cadena larga, ácido linoléico reduce la isquemia cardíaca, ya que este efecto no se ha confirmado en humanos. También existe controversia con otras enfermedades cardiovasculares, esto surge a la luz de un estudio reciente realizado *in vitro* en células endoteliales humanas, en donde se observó que el ácido linoléico y en menor grado el ácido alfa linolénico estimulan el desarrollo de un ambiente pro-inflamatorio dentro del endotelio vascular. Estas controversias nos sugieren que el efecto no es el mismo si se consumen diferentes fuentes de AGPIs (Rodríguez *et al.*, 2005).

Algunos investigadores sugieren que el efecto benéfico en la función cardiovascular se debe a la disminución de las grasas. Sin embargo, se ha observado que el consumo de dietas bajas en grasa saturada y poliinsaturada, y altas en hidratos de carbono, reduce la concentración sanguínea de HDL y aumentan los niveles de triacilglicérols, lo que incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, un estudio en 80,082 mujeres entre 34 y 59 años de edad, muestra que el reemplazo de grasa saturada y de ácidos grasos insaturados trans por ácidos grasos no hidrogenados monoinsaturados o poliinsaturados (ácido linoléico) previene el desarrollo de enfermedad coronaria en

mujeres de manera más significativa en comparación al efecto producido con sólo reducir el consumo de grasa saturada (Frank *et al.*, 2004).

Estos resultados sugieren que el consumo adecuado de AGPIs puede utilizarse como una estrategia para disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, este efecto no se ha demostrado en todos los estudios, posiblemente debido a las diferencias en el número de los sujetos estudiados, la inadecuada medición de otros factores en la dieta, que algunos estudios no consideran la cuantificación de los ácidos grasos transinsaturados y las fuentes lipídicas utilizadas que en su conjunto pueden subestimar el efecto benéfico de los AGPIs (Rodríguez *et al.*, 2008).

La recomendación actual sobre el consumo de AGPI se refiere no solo a aumentar su consumo, sino que también se debe optimizar la relación de consumo de ácidos grasos omega-6 respecto al consumo de ácidos grasos omega-3. Esta relación idealmente debe estar entre 5:1 a 10:1 para ambos ácidos grasos. La recomendación actual de consumo de ácidos grasos omega-3 para los adultos está en el rango de 1,2-1,4 g/día (Nieto *et al.*, 2004).

2.5.1.3 Métodos de análisis

Los ácidos grasos de las muestras son separados y cuantificados por cromatografía de gases. La separación y cuantificación de los ácidos grasos constituye un método fiable y rápido para la tipificación y clasificación de compuestos volátiles. La metilación tiene lugar en dos fases; una primera fase consiste en la interacción con metilato de sodio como agente saponificante en medio metanólico (agente esterificante) y una segunda fase mediante la acción del metanol acidificado con ácido clorhídrico (Marrero, 2012).

2.5.2 Esteroles

2.5.2.1 Generalidades

Los esteroles vegetales (fitoesteroles) son miembros de la familia de los triterpenos, su estructura es similar a la del colesterol, pero incluye un grupo metilo o etilo en el C-24. Se encuentran en mayor abundancia en la mayoría de las plantas. Sin embargo, se dice que hay más de 200 estructuras diferentes de esteroles que se han descubierto, siendo el más abundante el campesterol y el estigmasterol (Roberfroid, 2000).

En general se cree que estas sustancias actúan como componentes estructurales de las membranas vegetales a la vez que sirven de intermediarios para la biosíntesis de celulosa y numerosos productos vegetales secundarios, como los alcaloides, entre otros (Hasler, 2002).

Todos los alimentos vegetales contienen cantidades apreciables de esteroles vegetales, por lo que se consideran buena fuente de estos.

2.5.2.2 Esteroles, inflamación y enfermedades cardiovasculares.

Se ha demostrado que el consumo de esteroles produce una disminución del colesterol total plasmático y del colesterol-LDL, sin modificar los niveles del colesterol-HDL. Los fitoesteroles y fitoestanoles constituyen un modelo muy adecuado para el desarrollo de alimentos funcionales. Actualmente en diferentes países se comercializan leches, jugos, yogurt y margarinas que contienen ya sea fitoesteroles o fitoestanoles.

La literatura científico-médica describe para los fitoesteroles y fitoestanoles una gran variedad de efectos fisiológicos. Además de las acciones sobre el metabolismo lipídico, se les atribuye propiedades antiinflamatorias, antitumorales, bactericidas y fungicidas. Sin embargo, el efecto mejor caracterizado y científicamente demostrado, es el efecto hipocolesterolémico,

tanto a nivel del colesterol total como del colesterol-LDL. Trabajos recientes han demostrado que el consumo de margarinas enriquecidas con α -sitosterol, campesterol y stigmasterol o con el derivado hidrogenado sitostanol, administradas a individuos moderadamente hipercolesterolémicos (220-240 mg/dL colesterol), producen reducciones del colesterol circulante de un 10% en promedio y de un 8% en el colesterol-LDL, sin afectar el contenido de colesterol-HDL y el nivel de triglicéridos. El consumo promedio de fitoesteroles en estos estudios fue de 1,5-2,2 g/día y el de sitostanol de 2,0 g/día (Valenzuela y Ronco, 2004).

Debido a su similitud con el colesterol, esta molécula inhibe la absorción de colesterol a nivel intestinal (Moreau *et al.*, 2002).

2.5.2.3 Métodos de análisis

La cromatografía de gases (CG) es el método más común para analizar el contenido y la composición de fitoesteroles. Hay métodos de HPLC para la separación y cuantificación de las diversas formas de fitoesteroles, tales como esteroides libres, ésteres de ácidos grasos, glucósidos estériles, glucósidos acilados estéril, y ésteres de esteroides hidroxicinámico. Sin embargo, con más de 200 estructuras diferentes, la GC, a menudo combinada con espectrometría de masas, es la mejor herramienta y la más ampliamente utilizado para la separación cromatográfica, identificación y cuantificación de fitoesteroles (Palou *et al.*, 2003).

2.5.3 Vitamina E

2.5.3.1 Generalidades

El término general vitamina E se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles (α , β , γ , y δ). Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y disolventes orgánicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlas. Su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades. Para una eficiente absorción por el organismo requieren de la presencia de ácidos grasos, de la bilis, y de enzimas lipolíticas del páncreas y mucosa intestinal. Existe un conjunto de derivados tocoles (tocoferoles y tocotrienoles) que poseen cierta actividad vitamínica, siendo el alfa-tocoferol la forma más activa para el ser humano (Fernández *et al.*, 2002).

No es fácil determinar las necesidades diarias de vitamina E para el ser humano ya que varían según la actividad física, la edad, el estado de salud o enfermedad, el crecimiento, etc., por lo que las recomendaciones en cuanto a su ingesta resultan únicamente orientativas. Debido a la amplia disponibilidad de vitamina E, rara vez se producen carencias.

La vitamina E se encuentra principalmente en los aceites vegetales, granos, plantas y en el tejido adiposo de los animales. Se localiza principalmente en las hojas y partes verdes de las plantas, que contienen más α -tocoferol que las partes amarillas, mientras que el γ -tocoferol se encuentra en bajas concentraciones.

El tocoferol circulante es acumulado lentamente por los diferentes tejidos, incorporándose a las membranas de las células junto al colesterol y los fosfolípidos. Su retención histórica es dependiente de la proteína transportadora y de su actividad biológica.

2.5.3.2 Vitamina E, inflamación y enfermedades cardiovasculares

No existen evidencias concluyentes de que las dosis diarias de vitamina E (100 UI) disminuyan el riesgo de padecer enfermedad cardíaca. Sin embargo, la vitamina E es un antioxidante que puede proteger contra mutaciones celulares potencialmente dañinas. En estudios recientes se ha observado que la vitamina E, puede ayudar a retrasar el inicio de la diabetes mellitus tipo 2, e incluso, mejorar el control de glucosa en sangre. La resistencia de las LDLs a la oxidación, como índice de susceptibilidad a la arteriosclerosis, se asocia con el contenido de vitamina E (Cornejo *et al.*, 2009)

2.5.3.3 Método de análisis

En las últimas décadas, las investigaciones también se han orientado al desarrollo de procedimientos analíticos que permitan la caracterización y autenticación de los aceites, mediante el análisis del contenido total de tocoferoles, así como la diferenciación y determinación de sus diferentes isómeros (Sagayo *et al.*, 2007).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una de las técnicas más empleadas para la separación de las diferentes formas del tocoferol, debido a que no requiere una etapa compleja de preparación de la muestra, sino que en la mayoría de los casos basta con una dilución de la muestra con un disolvente compatible con la fase móvil.

2.6 Propiedades de los aceites vegetales

Los aceites vegetales difieren en su composición de ácidos grasos. Aunque en su mayoría contienen ácidos grasos insaturados, algunas fuentes de lípidos son más ricas en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 o 6 como el caso de los aceites de semilla de uva y soya; y otras fuentes son más ricas en ácido graso oléico como en el aceite de aguacate, canola o cártamo alto en oléico.

La diferencia en composición de los distintos aceites está dada según la fuente de la que provienen y son estas características las que proporcionan beneficios a la salud.

2.6.1 Aceite de Aguacate

El aguacate (*Persea americana*) es un fruto de un árbol que pertenece a la familia de las Lauraceas. Es originario de centro y Sudamérica y existen 3 variedades según su país de origen, la mexicana, la guatemalteca y la del oeste de India. Los países de mayor producción de aguacate son: México, EUA, Chile, Sudáfrica, España e Israel. Los principales usos del aguacate son para consumo humano como alimento fresco, sin embargo el aceite de aguacate es utilizado ampliamente por la industria farmacéutica (Fennema, 1993).

En México la producción de este aceite ha incrementado debido a las propiedades benéficas para la salud cardiovascular que se le han atribuido debido a que tiene características muy similares a las del aceite de oliva (Jiménez *et al.*, 2001).

El Aceite de Aguacate se obtiene de la pulpa del fruto. El contenido de aceite de la pulpa en el aguacate cambia con la variedad y el tiempo de maduración del fruto. Un fruto arrancado precozmente tiene menor contenido de aceite que el fruto que permanece el tiempo adecuado en el árbol.

La composición de este aceite es muy similar a la del olivo. Es un aceite rico en ácido graso monoinsaturado oléico y aunque en menor cantidad también contiene ácidos grasos omega 6 (USDA, 2010).

El contenido de ácidos grasos saturados varía entre 10.1% y 12.3%, mientras que el contenido de ácidos grasos no saturados está entre el 87.7% y el 90%.

El α -tocoferol se encuentra aproximadamente en una cantidad de 12 a 15 mg/g de aceite en el producto obtenido por prensado en frío. Acosta en 2001

encuentra que los niveles de β -sitosterol fueron aproximadamente de 4.5 mg/g de aceite (Acosta, 2011).

2.6.2 Aceite de semilla de uva

La mayoría de la uva cultivada proviene de la especie *Vitis vinifera*, natural de Europa mediterránea y Asia central. En menor cantidad se producen en América y Asia. Según la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción mundial de uva ocupa 75866 kilómetros cuadrados. Aproximadamente el 71% de la producción es usada para vino, 27% consumo fresco y 2% como frutos secos. El terreno dedicado a las viñas crece anualmente alrededor de un 2%. El proceso de extracción del aceite puede hacerse por dos métodos: uno es químico y el otro es mediante el prensado en frío de las semillas. Se han utilizado diferentes métodos para la extracción del aceite de las semillas, sin embargo, actualmente no hay un consenso en cuál es el mejor método. Navas en el 2009 utilizó el método de extracción mecánica a través del prensado de las semillas y obtuvo un rendimiento de 5.7 g de aceite por cada 100 g de semillas. El análisis del aceite extraído de 3 variedades diferentes de semilla de uva (Syrah, Tintorera y una mezcla Syrah-Tempranillo- Merlot) arrojaron valores dentro de los límites propuestos en la norma del Codex alimentarius para aceites vegetales especificados, durante este estudio no se refinó el producto de la extracción.

Su apariencia es la de un aceite de color claro y se describe que tiene un sabor a nueces.

Es una fuente lipídica que recientemente ha cobrado importancia debido a la gran cantidad de subproductos de la industria vinícola. Estos subproductos han alcanzado una gran importancia debido a su utilización como materia prima para la elaboración de suplementos con alto valor nutrimental así como en la industria de cosméticos.

El aceite de semilla de uva puede representar una importante fuente de ingresos para el sector agrícola en países con producción importante de vinos, como España, Francia e Italia.

Asimismo, el aceite destaca por sus propiedades benéficas para la salud cardiovascular. Tiene un alto contenido de fitoesteroles, principalmente β -sitosterol. Provee vitamina E y una alta concentración de ácido linoléico (76%) y linolénico (Navas, 2009).

2.6.3 Aceite de soya

La soya (*Glycine max*) pertenece a la familia de las leguminosas *Fabaceae*. El 40% de su composición son proteínas, el 20% grasas y el resto carbohidratos y agua. Es un cultivo ampliamente utilizado en la alimentación de humanos y animales. La soya es el segundo producto agrícola de Estados Unidos y es el principal cultivo para la producción de aceites abarcando el 90% de la producción de estos. El cultivo a escala masiva de los frijoles de soya no inició sino hasta el siglo 20, una de las razones por las cuales este cultivo ha sido tan exitoso es por la rápida y fácil adaptación de la planta a distintas zonas de cultivo, una mayor rotación de cultivo maíz-soya y al bajo costo de su producción. En Estados Unidos casi toda la producción de soya está destinada a la fabricación de aceite y su consumo representa entre un 55 a 65% del total de aceites hasta el 2005 cuando el consumo de aceite de palma aumentó considerablemente desplazando al aceite de soya (USDA, 2010).

Este aceite ha sido ampliamente estudiado por los efectos que tiene en la salud en general y la salud cardiovascular no ha sido la excepción. Estos efectos se le han atribuido a diferentes compuestos como ácidos grasos insaturados y fitoesteroles. La composición de ácidos grasos poliinsaturados Ω 6: Ω 3 del aceite de soya es de casi 7:1 lo que lo hace un aceite de composición recomendable para prevenir padecimientos cardiovasculares. En comparación con otros aceites vegetales es uno de los que tiene mayor contenido de ácido graso linolénico (54%)

altamente recomendado para mantener la salud cardiovascular (Simopoulos, 1999).

Lamentablemente, es uno de los aceites vegetales que se someten a procesamientos de hidrogenación parcial, con la finalidad de aumentar su vida de anaquel y así disminuir su costo, siendo ampliamente utilizado en la industria alimentaria y en establecimientos fijos de servicios de alimentos.

2.6.4 Aceite de canola

La colza, raps o canola (*Brassica napus*) es una planta cultivada de la familia de las brasicáceas, con flores de color amarillo brillante.

Se cultiva por todo el mundo para producir forraje, aceite vegetal para consumo humano y biodiésel. Los principales productores son la Unión Europea, Canadá, Estados Unidos, Australia, China y la India. En la India ocupa un 13% del suelo cultivable. Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, la colza era la tercera fuente de aceite vegetal en 2000, tras la soya, y la palma, además de la segunda fuente mundial de comida proteínica. En Europa, se cultiva principalmente para alimentar el ganado (por su alto contenido en lípidos y contenido medio en proteínas).

Es extraído de la semilla de planta, usada sobre todo en el norte de Europa como condimento. Es de textura viscosa y color pardoscuro antes de llegar a ser refinado. De este aceite se puede separar estearina sólida (que es un gliceril éster de ácido esteárico. Es utilizado como sebo en la fabricación de velas y jabón). Es el principal aceite de uso alimentario utilizado para la cocina y la fabricación de comida en países europeos como Alemania (Pavlovich, 2009)

México es un mercado importante para la semilla de canola ya que el aceite se fabrica, refina y envasa en México lo que repercute de manera positiva en la economía y en las familias mexicanas. El aceite de canola posee el 30 por ciento del mercado de aceites vegetales en México.

El aceite de canola se caracteriza por un bajo nivel de ácidos grasos saturados (<7%), un nivel relativamente alto de ácidos grasos monoinsaturados, pues contiene aproximadamente un 60% de ácido oleico y una cantidad apreciable de los n-3 ácidos grasos α -linolénico (18:3 n-3).

Posee niveles de α -tocoferol de 27 mg/100 g aproximadamente y un nivel relativamente alto de fitosteroles (892 mg/100 g) (Przybylski, 2005).

2.6.5 Aceite de cártamo

El cártamo o alazor (*Carthamus tinctorius*) es una planta que aunque originalmente era cultivada por sus flores (usadas como colorante), hoy en día se cultiva principalmente por sus semillas, de las cuales se extrae un aceite vegetal comestible. Las plantas llegan a medir de 30 a 150 cm de altura con cabezas florales globulares y comúnmente, de colores brillantes amarillo, naranja o rojo, floreciendo en pleno verano. Cada rama trae de una a cinco capítulos con 15 a 20 semillas por capítulo. Son muy resistentes a la sequía pero bastante susceptibles a las heladas.

Desde 1950, la planta se cultiva para extraer el aceite vegetal extraído de sus semillas. Los países con mayor producción de aceite de cártamo en el mundo son México, India y Estados Unidos. Siguen Etiopía, Kazajistán, China, Argentina y Australia.

Hay dos tipos de cártamo que producen diferentes tipos de aceite: uno alto en ácido graso monoinsaturados (ácido oleico) y otro alto en ácido graso poliinsaturados (ácido linoléico) (Zohary y Hopf, 2000).

2.6.6 Aceite parcialmente hidrogenado

La hidrogenación, como proceso industrial, comenzó a utilizarse en los inicios del siglo 20 a partir del trabajo del químico alemán Wilhelm Normann, quien obtuvo en 1903 una patente en la *British Patent Office*, para convertir ácidos grasos insaturados en compuestos saturados.

La principal materia prima para el proceso industrial de hidrogenación son los aceites vegetales. La transformación de productos líquidos e inestables, por su susceptibilidad a la oxidación, en productos sólidos o semi-sólidos, estables y de manejo más fácil, permite utilizarlos como sustitutos de las mantecas o sebos animales, y particularmente de la mantequilla. La hidrogenación se realiza bajo presión y temperatura, y en presencia de un catalizador metálico (generalmente níquel), burbujeando gas de hidrógeno en el aceite. En estas condiciones, los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados experimentan varias modificaciones estructurales: El doble enlace puede ser hidrogenado y transformado en un enlace simple (saturado); la localización del doble enlace puede ser modificada (formación de isómeros posicionales) y; el doble enlace puede cambiar su configuración espacial, dando origen a isómeros trans (formación de isómeros geométricos). Cuando el proceso de hidrogenación se realiza en forma intensa, se obtiene un producto 100% saturado y de alto punto de fusión, que no presenta isómeros cis y trans. Cuando la hidrogenación se realiza bajo condiciones controladas (hidrogenación parcial), se obtiene una mezcla de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, y pequeñas cantidades de poliinsaturados, con isomería cis y trans. El AGT que se forma en mayor proporción en la hidrogenación parcial de aceites vegetales es el ácido oleico. En los aceites marinos, se forma una variedad mucho más compleja de isómeros trans, debido al alto grado de poliinsaturación de sus ácidos grasos (hasta seis dobles enlaces) y al tamaño de cadena de estos (hasta C20 y C22).

En la tabla 2 se muestran las características de los aceites por cada 5 gramos, de acuerdo a la etiqueta nutrimental.

Tabla 2. Características de los aceites por cada 5g

Características	Aceite					
	Aguacate	Canola	Cártamo alto en ácido oleico	Soya	Semilla de uva	Parcialmente hidrogenado
Nombre comercial	Ahuacatlán	Canoil	Oleico	Nutriolli	Borges	Ultra-Fray
Origen	Aguacate	Canola	Cártamo alto en oleico	Soya	Semilla de uva	Mezcla de oleína de palma (10%), aceite de soya parcialmente hidrogenado (10%) y aceite de soya sin hidrogenar (80%)
Porción(mL)	5	5	5	5	5	5
Energía (Kcal)	45	45	41.4	40.9	45	42
Grasa (g)	4.6	5	4.6	4.5	5	4.7
AGS(g)	0.7	0.4	0.3	0.7	0.5	ND
AGMI(g)	3.2	3.1	3.5	1.1	0.9	ND
AGPI(g)	0.7	1.6	0.7	2.8	3.6	ND
Acido oleico (g)	ND	3.0	ND	ND	ND	ND
Omega 6(g)	ND	0.6	ND	03	ND	ND
Omega 3(g)	ND	1.1	ND	2.4	ND	ND

Valores encontrados en las etiquetas de los aceites. ND: dato no encontrado. AGS: ácidos grasos saturados. AGM: ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

III. JUSTIFICACIÓN

La alta incidencia y prevalencia de enfermedades crónico degenerativas, principalmente de enfermedades cardiovasculares se presenta un problema grave de salud pública. Se calcula que en 2030 morirán cerca de 23,6 millones de personas en el mundo por enfermedades cardiovasculares, sobre todo por cardiopatías y accidentes vasculares cerebrales y se prevé que sigan siendo la principal causa de muerte a nivel mundial.

En América Latina y el Caribe las enfermedades cardiovasculares representan el 31% del total de las defunciones.

En México las enfermedades del corazón constituyen la primera causa de muerte y anualmente ocurren cerca de 70 mil defunciones por este motivo, siendo 26 mil por enfermedades cerebrovasculares (OMS, 2011).

En diferentes estudios se ha demostrado la implicación de factores de inflamación en el desarrollo de diferentes enfermedades. El TNF- α y la leptina, son dos citocinas que se encuentran elevadas en patologías como la obesidad y RCV, enfermedades que cursan con inflamación sistémica y discreta.

El consumo de lípidos es necesario para mantener la vida y la salud. Los aceites son fuente de ácidos grasos esenciales para el organismo. Dichos ácidos grasos participan en un sin número de reacciones bioquímicas a nivel celular y en otros mecanismos, tales como la formación de tejido conjuntivo y producción hormonal.

Debido a que el consumo inadecuado de fuentes de lípidos, tanto en términos cuantitativos como cualitativos, está íntimamente relacionado con el desarrollo de enfermedades, se torna imprescindible buscar fuentes lipídicas saludables para el consumo.

El tejido adiposo visceral contiene adipocitos con menor sensibilidad a la insulina, con mayor liberación de ácidos grasos a la circulación, mayor producción de citocinas pro-inflamatorias y radicales libres. Debido a la implicación que tiene el tejido adiposo en la producción de citocinas y al papel que juegan dichas

citocinas en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas, se torna importante evaluar el efecto que tiene el consumo de diferentes aceites sobre el desarrollo del tejido graso y producción de estas sustancias.

Actualmente en nuestro país se están produciendo aceites vegetales relativamente nuevos y están surgiendo nuevas tecnologías para su aprovechamiento integral, por lo que es necesario llevar a cabo investigaciones para estudiar el efecto del consumo de estos aceites en marcadores de inflamación y otras enfermedades relacionadas con riesgo cardiovascular y por tanto determinar el efecto benéfico atribuible. Estos marcadores no se han estudiado simultáneamente en investigaciones comparativas después de un consumo sostenido de los aceites.

El aceite de aguacate y el aceite de semilla de uva, son dos aceites que no llevan mucho tiempo en el mercado, pero podría estimularse su producción y abaratar su costo de venta, ya que México es un país productor de aguacate.

Por otro lado, algunos aspectos de la composición de estos últimos aceites mencionados no han sido ampliamente estudiados.

IV. HIPÓTESIS

Después del periodo de intervención, las concentraciones de TNF- α y leptina en suero se verán aumentadas en el grupo tratado con aceite parcialmente hidrogenado, en comparación con los otros grupos de estudio.

El grupo tratado con aceite parcialmente hidrogenado presentará un significativo aumento en los adipocitos, tanto en cantidad como en tamaño, al comparar las muestras de los grupos que consumieron el resto de los aceites.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

Comparar los efectos producidos por el consumo de aceite de aguacate, canola, cártamo, soya, semilla de uva y aceite parcialmente hidrogenado, sobre el factor de necrosis tumoral alfa y leptina en la concentración de suero de ratas Wistar.

Objetivos específicos

1. Determinar y comparar las concentraciones de TNF- α en suero, después de la ingesta de los diferentes aceites.
2. Determinar y comparar las concentraciones de leptina en suero, después de la ingesta de los diferentes aceites.
3. Determinar la existencia de daño estructural en tejido adiposo, hígado y corazón, después de la ingesta de los diferentes aceites.
4. Determinar el contenido de ácidos grasos de los aceites utilizados.
5. Determinar el contenido de esteroides en los aceites utilizados.
6. Determinar el contenido de tocoferoles en los diferentes tipos de aceites utilizados.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Tipo de estudio y diseño experimental

Estudio in vivo experimental, paralelo controlado en el cual se pusieron a prueba los efectos producidos por el consumo sostenido de diferentes tipos de aceites con respecto a TNF- α y leptina en suero (Figura 9).

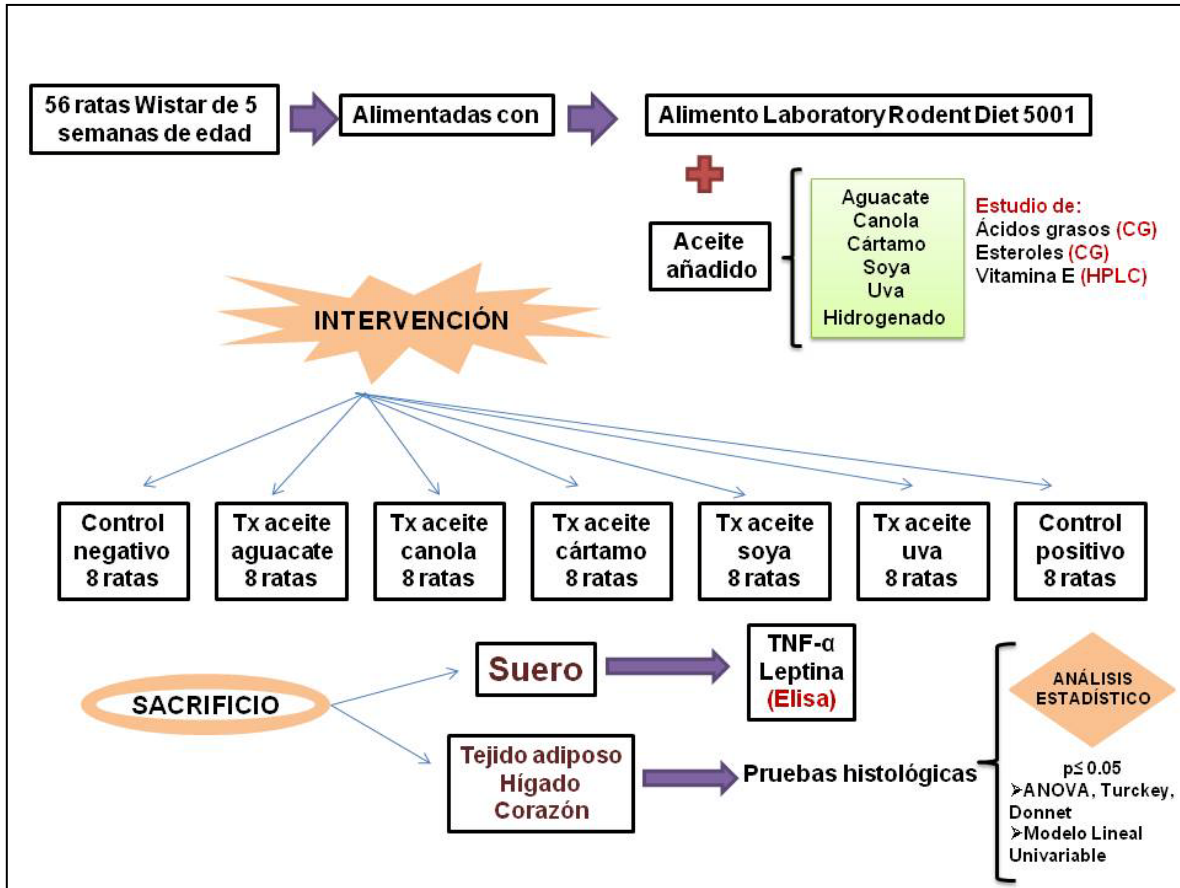


Figura 9. Diseño experimental. Intervención de 38 días. Control negativo: Grupo tratado con alimento Laboratory Rodent Diet 5001 sin adición de aceite. Control positivo: grupo control tratado con aceite parcialmente hidrogenado. Tx: tratamiento. CG. Cromatógrafo de gases. HPLC: cromatógrafo de líquidos. TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa

6.2 Población

Se utilizaron 56 ratas Wistar macho, de 5 semanas de edad con alimentación y agua ad libitum y se ajustaron al ciclo circadiano de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Después de un periodo de adaptación de una semana se formaron los grupos de estudio aleatoriamente.

6.3 Aceites utilizados

Se utilizaron: aceite de aguacate, canola, cártamo alto en oleico, soy, semilla de uva y un aceite el cual, como parte de su composición contenía aceite de soya parcialmente hidrogenado.

La información nutrimental de los aceites utilizados, según lo mostrado en el etiquetado, se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Descripción nutrimental de aceites utilizados por cada 5 mL.

Características	Aceite					
	Aguacate	Canola	Cártamo alto en ácido oleico	Soya	Semilla de uva	Parcialmente hidrogenado
Nombre comercial	Ahuacatlán	Canoil	Oleico	Nutriolli	Borges	Ultra-Fray
Origen	Aguacate	Canola	Cártamo alto en oleico	Soya	Semilla de uva	Mezcla de oleína de palma (10%), aceite de soya parcialmente hidrogenado (10%) y aceite de soya sin hidrogenar (80%)
Porción(mL)	5	5	5	5	5	5
Energía (Kcal)	45	45	41.4	40.9	45	42
Grasa (g)	4.6	5	4.6	4.5	5	4.7
AGS(g)	0.7	0.4	0.3	0.7	0.5	ND
AGMI(g)	3.2	3.1	3.5	1.1	0.9	ND
AGPI(g)	0.7	1.6	0.7	2.8	3.6	ND
Acido oleico (g)	ND	3.0	ND	ND	ND	ND
Omega 6(g)	ND	0.6	ND	03	ND	ND
Omega 3(g)	ND	1.1	ND	2.4	ND	ND

Valores encontrados en las etiquetas de los aceites. ND: dato no encontrado. AGS: ácidos grasos saturados. AGM: ácidos grasos monoinsaturados. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

6.4 Preparación del alimento

El alimento proporcionado a las ratas durante el estudio fue el alimento *rodent labchow 5001* con las características nutrimentales que se observan en la tabla 4:

Tabla 4. Contenido nutrimental del alimento. Laboratory Roden Diet 5001 (información nutrimental declarada por el fabricante)

	ALIMENTO RODENT LAB CHOW 5001		
	g/100g	Aporte Calórico (Kcal)/100 g	Aporte Calórico Total (%)
Proteínas	23.9	95.6	30%
Elementos Libres de Nitrógeno	48.7	194.8	58%
Fibra	5.1	0	0%
Grasa Total	4.5	40.5	13%
Grasa contenida en el alimento	4.5	40.5	13%
Aceite adicionado	0	0	0%
Agua	17.8		
Total	100	322.5	100%

Para las dietas del tratamiento se utilizó el mismo alimento (*rodent labchow 5001*) adicionado con un aceite diferente asignado a cada grupo. El alimento para los tratamientos se elaboró en el laboratorio.

Durante el experimento se registraron los datos del consumo de alimento dos veces por semana y el peso de las ratas de manera semanal así como alguna sintomatología asociada a algún padecimiento o cambios en el comportamiento de los animales.

Primero se pulverizó el alimento original usando un molino, dejando la partícula sumamente fina para poder facilitar la adición de los aceites. Posteriormente se agregó al polvo de alimento el aceite según el tratamiento, a cada 25 gramos de alimento se le agregaron 5 mL de aceite (de aguacate, semilla de uva, soya o parcialmente hidrogenado de soya), para facilitar la

homogenización de la mezcla se hidrató el polvo con agua purificada, hasta lograr una mezcla homogénea del polvo con el aceite de tratamiento. Una vez que se obtuvo una mezcla homogénea se pasó por un extrusor para formar pequeños *pellets*, durante este paso se siguió humedeciendo la mezcla para facilitar la formación de los mismos. Una vez terminada la extrusión, se colocaron los *pellets* en hornos de aire forzado para su secado a baja temperatura (40 °C) para evitar la modificación en la composición del alimento. Se descartaron aquellos que mostraban un color dorado o quemado. Durante la duración del experimento el alimento se almacenó en cámaras frías.

El alimento modificado proporcionó alrededor del 35% de la energía total en forma de lípidos, y el aceite añadido a los tratamientos y al control positivo, representaba un 26% de la energía total del alimento. Las características nutrimentales del alimento adicionado con aceite se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Contenido nutrimental del alimento modificado

	TRATAMIENTOS Y DIETA CONTROL POSITIVA		
	g/100g	Aporte Calórico (Kcal)	Aporte Calórico Total (%)
Proteína	21.27	85.08	22%
ELN	41.48	165.92	43%
Fibra	5.34	0	0%
Grasa contenida en el alimento	4	36	9%
Aceite adicionado	11	99	26%
Grasa Total	15	135	35%
Agua			
Total	100	386	100%

6.5 Mediciones y análisis

Al final de los tratamientos todos los animales se sometieron a una necropsia gruesa por decapitación. Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos sin anticoagulante. El suero fue obtenido por centrifugación de la sangre a 3000 rpm a 7 °C por 5 minutos. Las alícuotas de suero se almacenaron a -80 °C hasta su análisis. Toda determinación se hizo por duplicado.

6.5.1 Análisis realizados en los aceites estudiados

6.5.1.1 Ácidos grasos

Se determinaron por cromatografía de gases. Brevemente se pesaron 100 mg de muestra en un tubo de 20 mL (con tapón de rosca). Posteriormente se disolvió la muestra en 10 mL de hexano y 100 µL de 2 N de hidróxido de potasio en metanol (11,2 g en 100 ml). Se cerró el tubo y se agitó 30 segundos en el vórtex. Posteriormente se centrifugó y transfirió el sobrenadante a un vial de 2 mL. Finalmente se inyectó al cromatógrafo de gases. La determinación de los ácidos grasos se muestra detalladamente en el **anexo 1**.

6.5.1.2 Vitaminas E

Brevemente se determinó por cromatografía de líquidos de alta resolución. Se preparó la sustancia de referencia pesando 0.01 g en un matraz volumétrico de 100 mL, se aforó con etanol. Se tomaron alícuotas de 50, 200, 800, 1500, 2500 y 4000 µL y se sirvieron en matraces aforados de 10 mL, se aforaron con etanol. Se realizó la curva de calibración. Posteriormente de la muestra se tomaron 200 µL de aceite y se depositaron en un microtubo ámbar. Se evaporó con gas nitrógeno hasta sequedad, se adicionaron 100 µL de etanol y se agitó por 30 segundos el tubo. La muestra obtenida se pasó a un inserto y a un vial para cromatografía. Finalmente se inyectó al equipo. La determinación de la vitamina E se muestra detalladamente en el **anexo 2**.

6.5.1.3 Análisis histológicos en tejido adiposo, hígado y corazón

Se determinaron por la técnica de hematoxilina y eosina. Brevemente se tomaron las muestras de órganos (previamente fijadas en formol al 10% a un pH de 7,1). Se cortaron en el micrótopo a un espesor de 2 a 4 μm . Se fijaron las muestras en formalina al 10%, amortiguada a pH de 7.2. Luego se lavó el tejido para quitar el exceso de fijador. Se deshidrató el tejido, empleando diferentes soluciones de alcohol de concentración creciente. Se substituyó el alcohol por un disolvente de parafina (xilol). Se colocó en parafina líquida formando bloques de parafina dentro de los cuales están las muestras a estudiar. Se pusieron a enfriar en un congelador y se hicieron cortes histológicos de 8 micras. Se colocaron los cortes en un baño de flotación y se colocaron en un portaobjetos. Se etiquetaron y se les dio un baño de agua destilada, para quitar el exceso de parafina. Finalmente se observaron al microscopio. La determinación de los análisis histológicos se muestra detalladamente en el **anexo 3**.

6.5.1.4 Esteroles

Se determinaron por cromatografía de gases. Brevemente se pesaron 300 mg de muestra, se añadieron 50 μL de solución etanólica DHC 250 ppm, 8 mL de solución etanólica de pyrogallol al 3%, 0.5 mL de solución de hidróxido de potasio saturado, se agitó durante 1 minuto en el vórtex, se introdujeron a un baño maría a 80 °C durante 30 minutos, se dejaron enfriar a temperatura ambiente (20-30 min aproximadamente), se agregaron 6 mL de agua desionizada y 5 mL hexano, se agitó 5 minutos en el vórtex, se esperó a que se separen las fases y se obtuvo el sobrenadante en otro tubo, estos lavados se repitieron dos veces más, pero únicamente con hexano, posteriormente se evaporó la muestra con el nitrógeno y se le agregaron 250 μL de la solución derivatizante y se agitaron durante un minuto, después se colocaron a baño maría a 70 °C durante 30 minutos. Finalmente se pasaron las muestras a los tubos para inyectar esto al

cromatógrafo de gases. La determinación de los esteroides se muestra detalladamente en el **anexo 4**.

6.5.1.5 Estudio de adipocitocinas en suero

TNF α : Se llevó a cabo por inmunoensayo (Elisa). La base de este método es formar un complejo de TNF α con un anticuerpo Anti-TNF α , luego unir este complejo a una peroxidasa (Horseradish) unida a un Anti-TNF α , para que finalmente con la unión de un cromógeno se pueda medir la actividad enzimática de la TNF α . Se utilizó el equipo Multiskan Ascent ELISA y los kits TNF α (Mouse/Rat) ELISA. ALPCO Immunoassays. 22-LEPMS para TNF α (Rat) ELISA. ALPCO Immunoassays.

Leptina: Se analizó mediante el método ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción ligado a enzimas) utilizando el equipo Multiskan Ascent ELISA y los kits Leptin (Mouse/Rat) ELISA. ALPCO Immunoassays. 22-LEPMS para leptina (Rat) ELISA. ALPCO Immunoassays.

6.5.1.6 Análisis estadístico

Se llevó a cabo la comparación y análisis estadísticos correspondientes para determinar las diferencias significativas entre los grupos de tratamiento y los grupos control. Para los valores de leptina se utilizó análisis de varianza (ANOVA) para comparar medias de todos los grupos control, con el método Turkey para comparación entre tratamientos, y de Dunnet para comparación entre cada tratamiento con los controles. La diferencia significativa se definió como $p \leq 0.05$ (a dos colas). También se utilizó la prueba del Modelo Lineal Univariable para comparar varianzas dependiente de un factor, tomando en cuenta el consumo diario promedio del alimento. Los resultados positivos de TNF- α se presentan en porcentaje. El análisis estadístico se hizo con el programa SPSS versión 17.0.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis realizados en los aceites estudiados

7.1.1 Ácidos grasos

Estudiar ácidos grasos en aceites se torna importante ya que son un componente importante en nuestro organismo.

Los valores de ácidos grasos en aceite, se estudiaron por cromatografía de gases debido a que separa y analiza mezclas de sustancias volátiles basándose en la distribución de los componentes, que permite su posterior detección por separado.

En la Figura 10, se puede apreciar un cromatograma ejemplo en el que se presentan los picos separados correspondientes a cada ácido graso estudiado en el aceite de uva. El pico más alto es de linoléico (TR: 14.1), seguido del oléico (TR: 13.3), palmítico (TR: 10.7), esteárico (TR: 13.0) y linolénico (TR: 15.1).

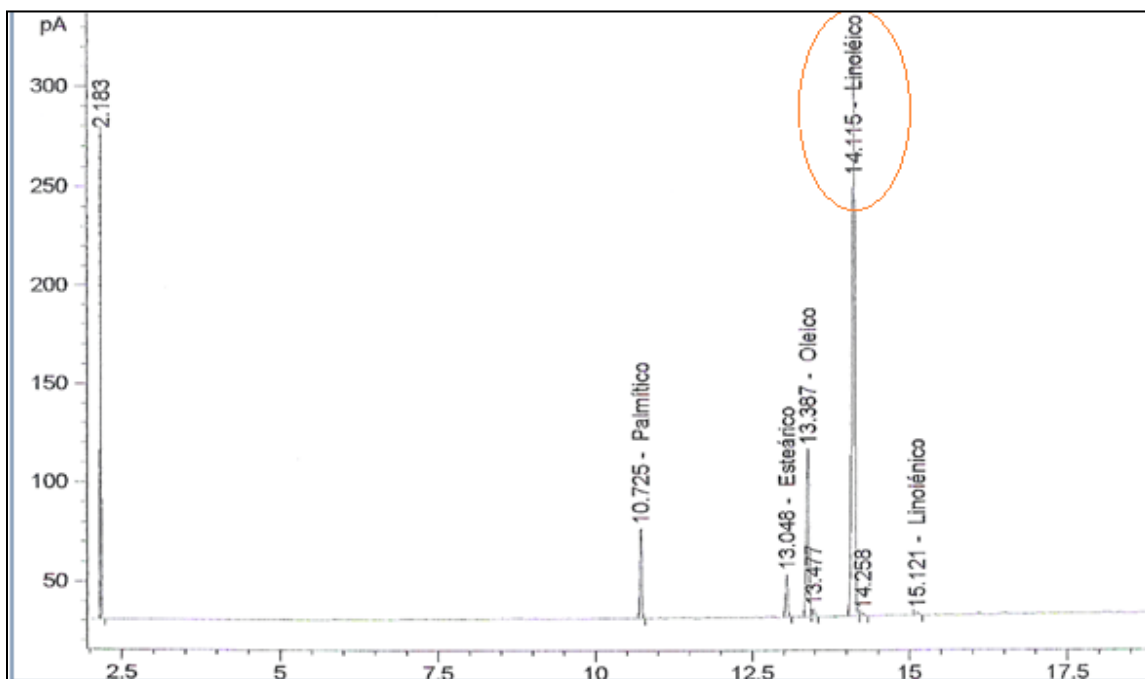


Figura 10. Ejemplo de cromatograma. Ácidos grasos estudiados en aceite de uva.

Los valores para los ácidos grasos se muestran en la Tabla 6, donde se presentan las concentraciones de ácidos grasos estudiados para cada aceite vegetal.

Tabla 6. Contenido de ácidos grasos en aceites (mg/100g)

Ácido graso	C:dobles enlaces	Aguacate mg/100g	Canola mg/100g	Cártamo mg/100g	Soya mg/100g	Uva mg/100g	Parcialmente Hidrogenado mg/100g
Mirístico	14:0	ND	0.06	ND	ND	ND	0.65
Palmítico	16:0	6.70	4.80	4.65	10.15	6.75	23.16
Esteárico	18:0	2.57	2.30	3.52	3.80	4.02	5.10
Oleico	18:1	56.59	45.86	59.33	14.71	11.96	22.69
Linoléico	18:2	23.49	23.00	15.37	56.36	69.02	34.71
Linolénico	18:3	2.02	7.84	ND	8.23	0.42	4.38
Araquídico	20:4	0.50	0.67	0.17	0.29	0.21	0.35
Relación ω-3:ω-6		12:1	3:!	-	7:1	165:1	8:1

ND: no detectado.

La fuente principal del Omega-3 se puede encontrar en algunas semillas en su forma de ácido linolénico. Los ácidos grasos Omega-6, por su parte, se encuentran en aceites de origen vegetal, como ácido linoléico, precursor del ácido araquidónico (Valenzuela, 2001).

Las concentraciones de los diferentes ácidos grasos variaron en todos los tipos de aceites. Sin embargo podemos decir que el aceite de aguacate, canola y cártamo son ricos en oleico y el aceite de soya y uva son altos en linoléico. Siendo el aceite de uva quien presento valores más altos de ácido linoléico (69.02 mg). El aceite parcialmente hidrogenado obtuvo concentraciones más elevadas en el mirístico (0.65 mg), palmítico (23.16 mg) y esteárico (5.10 mg) lo que representa una alta concentración de AGS, esto debido a que en su composición tiene oleína de palma y aceite de soya parcialmente hidrogenado.

Los resultados obtenidos coinciden con otros estudios en que el aceite de canola es el que presenta mayoritariamente ácido oleico en su composición (Rodríguez *et al.*, 2012).

Un estudio en 2003 afirmó que el ácido linoleico está presente en la gran mayoría de los aceites vegetales, principalmente en el aceite de maíz, con algunas excepciones como el aceite de oliva, el de palma, o el aceite de coco (Sanhueza *et al.*, 2003). De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, los aceites con mayor presencia de este ácido graso son el aceite de soya y el de semilla de uva.

Un artículo publicado en 2008 mencionó que el ácido palmítico es el ácido graso mayoritario en el aceite de palma (80%) (Valenzuela, 2008). El aceite parcialmente hidrogenado, cuyo análisis de composición se llevó a cabo en este estudio, fue quien obtuvo mayor concentración de ácido graso palmítico en comparación con los demás aceites vegetales estudiados.

7.1.2 Esteroles

La importancia del estudio de esteroides en aceites comestibles radica en la participación de los esteroides en las diferentes funciones bioquímicas y hormonales.

Para estudiar los esteroides el análisis se llevó a cabo por cromatografía de gases debido a que es el método más común para analizar el contenido y la composición de estos compuestos. Se decidió llevar a cabo el análisis de campesterol y estigmasterol por ser los dos esteroides mayoritarios en aceites vegetales.

En la Figura 11, se presenta un ejemplo de cromatograma en el que se presentan los picos de campesterol (TR: 30.56) y estigmasterol (TR: 31.52). A un tiempo de retención de 24.90 min, se presenta el pico de dehidrocolesterol, que fue el estándar empleado. Los demás picos presentes se deben a otros posibles esteroides presentes en el aceite, los cuales no fueron determinados en este estudio.

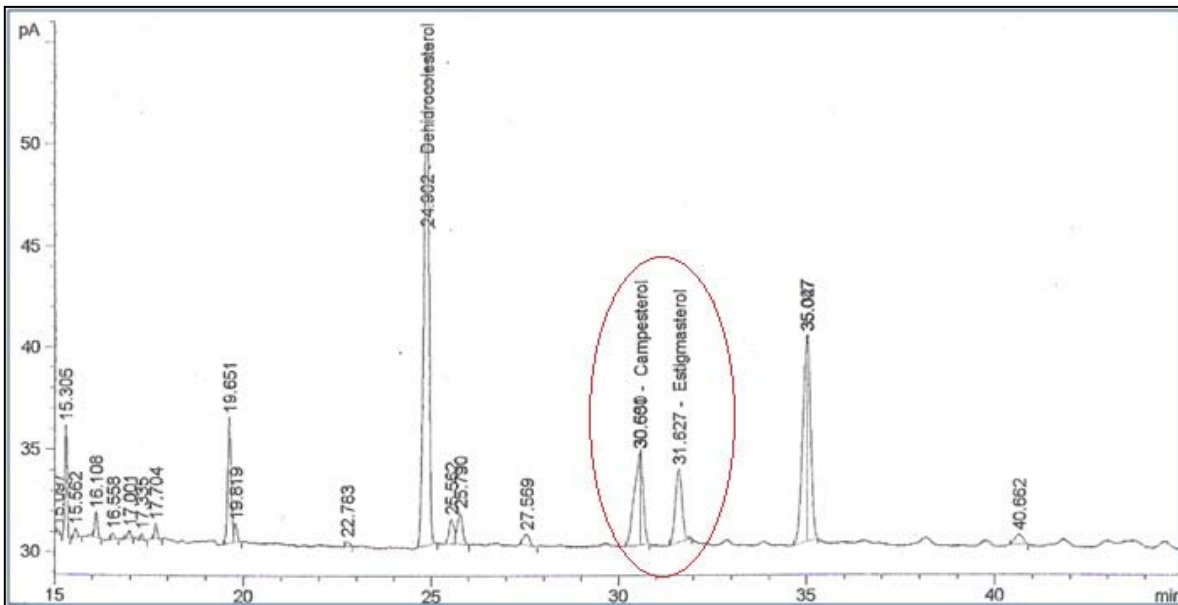


Figura 11. Ejemplo de cromatograma. Composición de esteroides en aceite de uva.

Los valores para los esteroides se muestran en la Tabla 7, donde se observan los diferentes esteroides estudiados que contienen los aceites vegetales utilizados en el estudio. Siendo el aceite de canola el que tuvo mayor concentración de esteroides totales (149.9 mg).

Tabla 7. Concentración de esteroides en aceites (mg/100g)

Aceite	Campesterol mg/100 g	Estigmasterol mg/100 g	Totales
Uva	19.9	15.2	35.1
Oleico	16.4	18.9	35.3
Parcialmente Hidrogenado	31.7	25.9	57.6
Soya	41.2	47.5	88.7
Aguacate	38.0	14.3	52.3
Canola	146.6	3.3	149.9

El aceite de canola fue quien presentó mayor concentración de campesterol (146.6 mg) y el aceite de soya tuvo mayor concentración de estigmasterol (47.5 mg), comparado con los otros aceites vegetales estudiados. En la Figura 12 se observan las barras que representan la suma de la concentración de campesterol y estigmasterol (mg/ 100 g) de cada aceite vegetal.

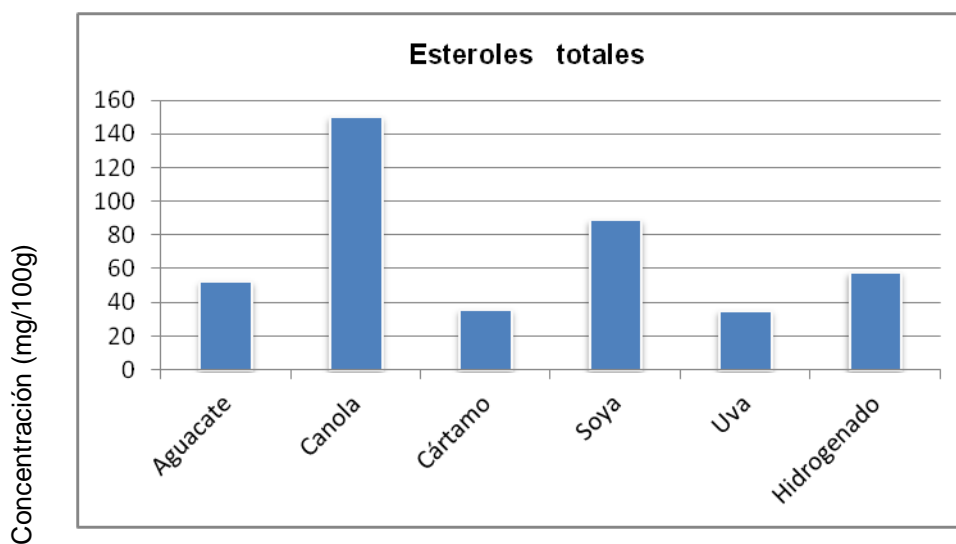


Figura 12. Concentración de esteroides totales en aceites.

En estudio previo ha evaluado el contenido de esteroides de 334 muestras de aceite de oliva virgen comercial, como era de esperarse en el aceite de oliva, los esteroides mayoritarios son el β - sitoesterol y campesterol (Aranda *et al.*, 2003).

7.1.3 Vitamina E

El interés por la vitamina E ha aumentado en los últimos años debido a su potente poder antioxidante y a su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares.

El uso de Cromatografía Líquida de alta eficacia es útil para poder estudiar este tipo de componentes ya que permite la separación, identificación y cuantificación de los compuestos orgánicos más complejos.

En la Figura 13, se muestra un cromatograma ejemplo donde se representa al δ - β - y γ - tocoferol presentes en el aceite de soya. Los picos señalados representan δ - tocoferol (TR: 3.88), β - γ - tocoferol (TR: 4.35) y α - tocoferol (TR: 4.94). Siendo el α - tocoferol el que mostró mayor concentración en este aceite (74.9 mg/100 g).

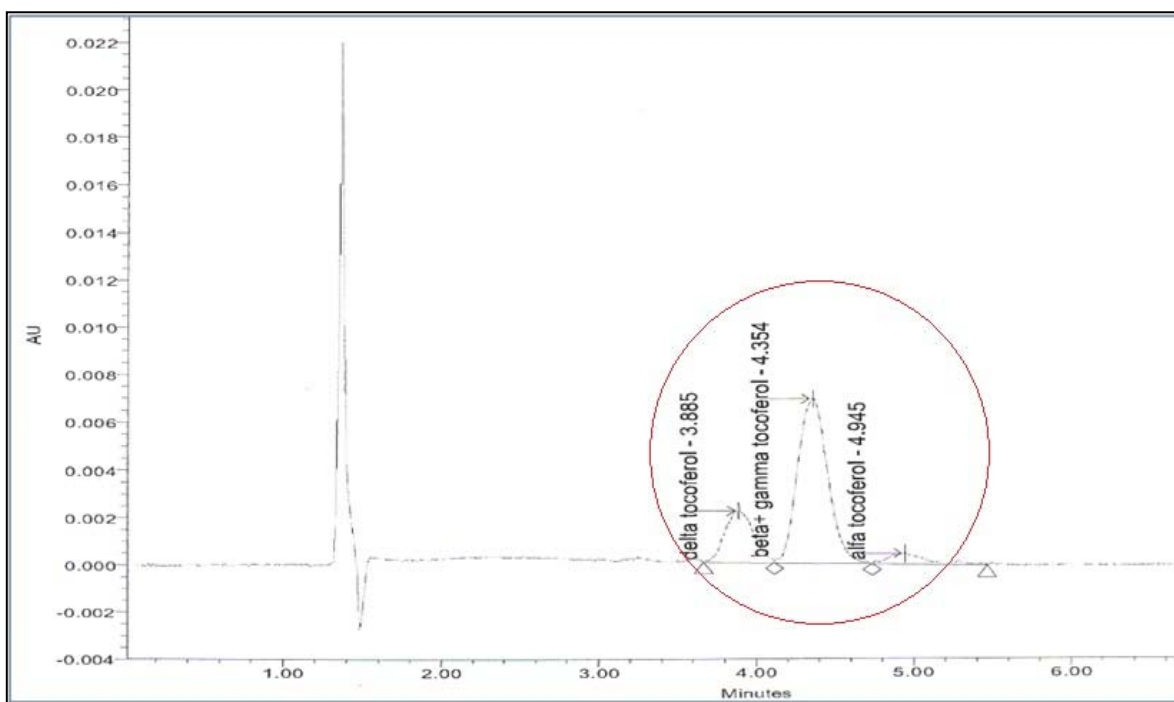


Figura 13. Ejemplo de cromatograma. Composición de vitamina E en aceite de soya.

Los valores para los tocoferoles se muestran en la Tabla 8, donde se observan las concentraciones de las diferentes formas mayoritarias de vitamina E que contienen los aceites vegetales estudiados.

Tabla 8. Determinaciones de vitamina E en aceites vegetales.

Aceite	α tocoferol mg/100 g	($\beta + \gamma$) tocoferol mg/100 g	δ tocoferol mg/100 g	Tocoferoles totales mg/100 g
Uva	22.1	ND	ND	22.1
Oleico	26.7	ND	ND	26.7
Parcialmente Hidrogenado	14.8	36.7	13.9	65.5
Soya	14.5	74.9	29.9	119.3
Aguacate	29.9	6.6	ND	36.5
Canola	17.0	41.2	ND	58.2

ND. No Detectable

En lo que respecta a tocoferoles totales el aceite de soya presenta mayor concentración (119.3 mg/100g) comparado con los demás aceites estudiados. En la Figura 14 se observan las barras que representan la concentración de tocoferoles totales de vitamina E (mg/100 g) de cada aceite vegetal.

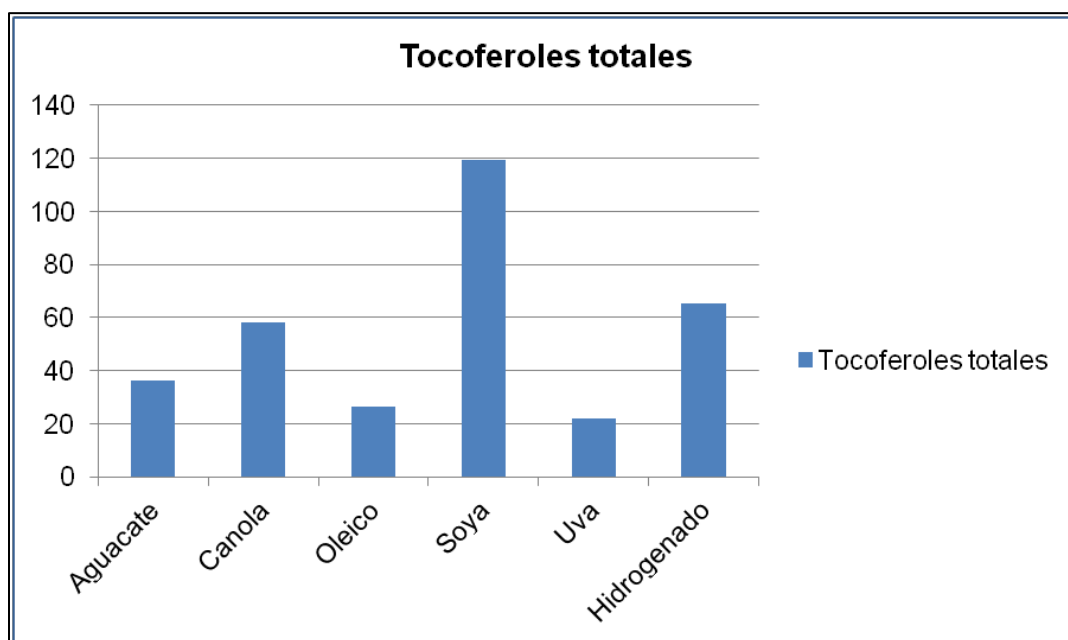


Figura 14. Concentración de vitamina E en aceites.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos afirmar que los aceites vegetales son una fuente importante de vitamina E para el organismo, esto coincide con otros estudios realizados anteriormente (Sayago, 2007).

Estudios previos de vitamina E en aceites vegetales demostraron que había una mayor concentración de δ - β - y γ - tocoferol en los aceites de soya. (Ayala, et. al., 2005). Lo que va de acuerdo con nuestros resultados ya que el aceite de soya contiene mayor concentración de β + γ (74.9 mg) y δ tocoferol (29.9 mg). Sin embargo la forma biológicamente más activa para el ser humano es el α - tocoferol (Katan, 2003). El aceite que obtuvo mayores concentración fue el de aguacate (29.9 mg), esto puede representar una diferencia importante ya que a pesar de que otros aceites tienen mayor cantidad de tocoferoles totales, es probable que la vitamina E contenida en el aguacate, sea la que tiene mayor actividad en el organismo después de su consumo.

Otros estudios con aceites vegetales demostraron que la vitamina E se encuentra principalmente en el aceite de soya, maíz, algodón y girasol y que el γ - tocoferol se encuentra en bajas concentraciones (Gerald y Combs, 1992).

7.2 Análisis histológicos

Se llevaron a cabo análisis histológicos en tejido, debido a que es de nuestro interés estudiar el efecto que pueda presentar el tejido adiposo, hígado y corazón, después de consumo de aceite. La técnica utilizada fue la técnica de hematoxilina y eosina, debido a que nos permite analizar muestras de tejido bajo un microscopio y ver a detalle la estructura. Para su análisis se eligieron de forma aleatoria el 50% de muestras de cada grupo; tejido adiposo central, hígado, corazón.

7.2.1 Tejido adiposo

Para el estudio histológico de tejido adiposo se cuantificaron los adipocitos y se realizaron mediciones de cada uno de ellos, se observó que no existe daño estructural en el tejido adiposo y tampoco hay diferencia significativa en relación a hiperfagia e hiperplasia. En la Figura 15 y 16 se muestran imágenes ejemplo de cortes histológicos de tejido adiposo de ratas Wistar del grupo control negativo y grupo control positivo. El número promedio de adipocitos por muestra fue de 40 y el tamaño promedio fue 5.7 cm, observado en un microscopio a 40x. Todas las muestras estaban dentro del promedio, por lo que no hubo diferencia entre los grupos y tampoco entre los dos controles.

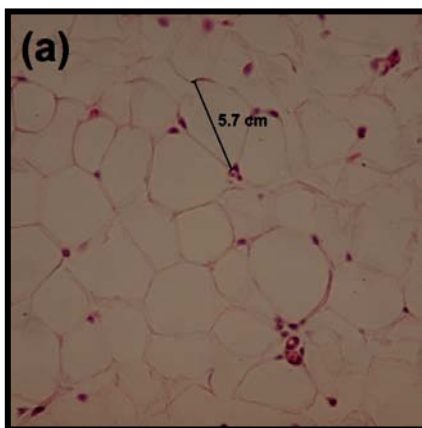


Figura 15. Tejido adiposo de rata Wistar (Coloración hematoxilina-eosina, 40x). Grupo control negativo (a).

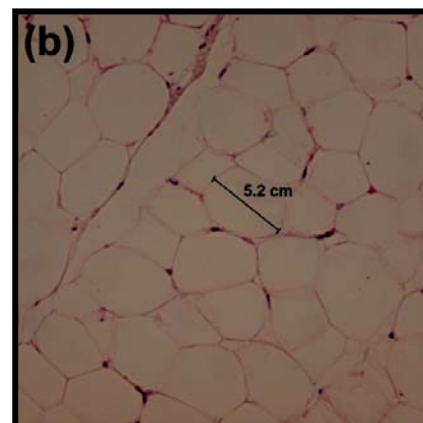


Figura 16. Tejido adiposo de rata Wistar (Coloración hematoxilina-eosina, 40x). Grupo control positivo (b).

En un reporte previo (Delgado. 2011) se presentaron los valores del consumo diario promedio en gramos de estas mismas ratas, que fue significativamente menor ($p \leq 0.05$) en todos los grupos de tratamiento, incluyendo el grupo control positivo, comparándolos con el grupo control negativo. Sin embargo al analizar el aporte calórico promedio de las dietas, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Esto debido a que la densidad energética del alimento no es igual en el alimento adicionado con aceite, que el alimento utilizado para el control negativo (que no contiene aceite adicionado).

Esto sugiere que la rata modifica su consumo de acuerdo al contenido calórico del alimento, el consumo de ninguno de los aceites en sí, tampoco ocasionó alguna diferencia al respecto, podemos decir que ninguno de los 6 aceites vegetales estudiados ocasionaron un crecimiento o desarrollo anormal durante las 5 semanas de intervención.

7.2.2 Hígado

Se llevaron a cabo análisis de la histopatología del hígado de las ratas Wistar. El hígado de los animales se mostró constituido por hepatocitos, sinusoides, vena central y mitocondrias con características normales, al igual que los espacios porta sin presentar diferencias entre los grupos (Gallegos, 2012). En las Figuras 17 y 18 se presenta un corte histológico de hígado del grupo control negativo (10x) y del grupo control positivo (40x) respectivamente.

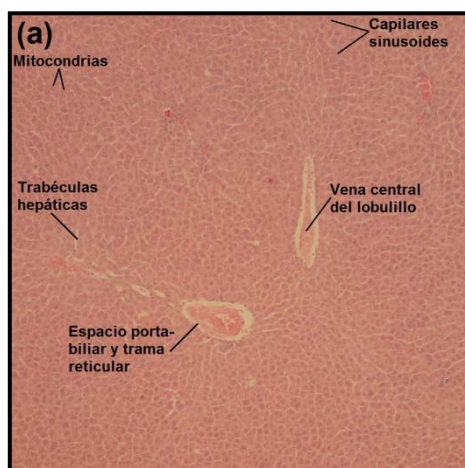


Figura 17. Tejido hepático de rata Wistar. Coloración hematoxilina-eosina, 10x). Grupo control negativo (a).

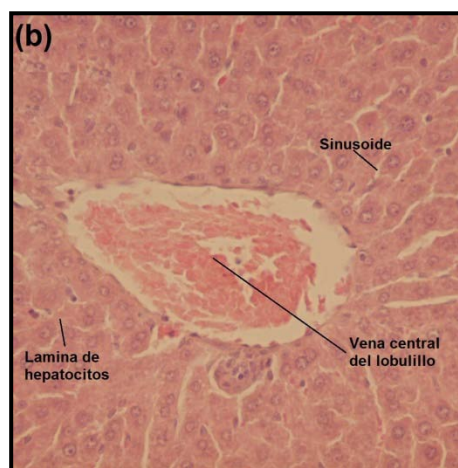


Figura 18. Tejido hepático de rata Wistar. (Coloración hematoxilina-eosina 40x). Grupo control positivo (b).

En este estudio, no se observó ninguna anomalía. Probablemente si el estudio se hubiera llevado a cabo por 6 meses más, los cortes histológicos del hígado presentarían daños estructurales.

Las principales afectaciones del hígado relacionadas con un consumo excesivo de lípidos o con la obesidad suelen ser la esteatosis hepática no alcohólica (hígado graso), esteatohepatitis y la cirrosis hepática. La grasa anormal acumulada en exceso libera una gran cantidad de ácidos grasos a la sangre. La llegada masiva de estos ácidos por la vena porta al hígado, incrementa la síntesis de triglicéridos en este órgano y su almacenamiento en exceso, con la aparición del hígado graso. El incremento de la grasa hepática favorece la inflamación y fibrosis del órgano, con la aparición de cirrosis a largo plazo (Soca, 2009).

7.2.3 Corazón

El corte histológico corresponde a una muestra de corazón de la rata Wistar. En el epicardio se pueden apreciar arteriolas de igual tamaño, vénulas y capilares. Los vasos en el espesor del tejido conectivo intersticial del miocardio se observan sin evidencia de inflamación (Gallegos, 2012). En las Figuras 19 y 20 se presenta un corte histológico de corazón, el cual no presenta anomalías en su estructura.

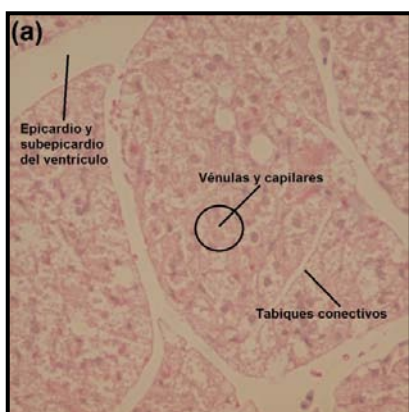


Figura 19. Corte histológico de la pared libre del ventrículo izquierdo. (Coloración hematoxilina-eosina 20x).

Grupo control negativo (a).

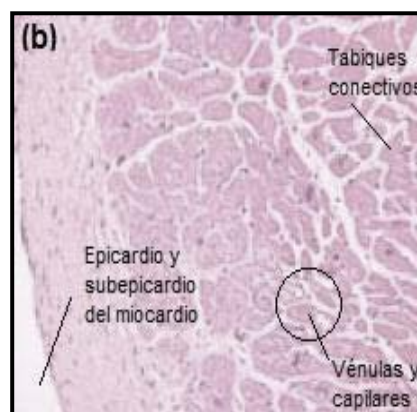


Figura 20. Corte histológico de la pared libre del ventrículo izquierdo. (Coloración hematoxilina-eosina 40x).

Grupo control positivo (b).

Los ácidos grasos en el corazón producen lipotoxicidad (daño) en modelos animales. Además de los ácidos grasos, el tejido adiposo libera adipocinas que pueden favorecer la formación de coágulos en los vasos sanguíneos (trombosis) y un bajo grado de inflamación crónica que acelera la aterosclerosis, es decir, el depósito de placas de ateromas en los vasos, lo que dificulta el flujo de sangre a los tejidos. Cuando este proceso ocurre en las arterias coronarias que irrigan al corazón se produce la cardiopatía isquémica (Soca, 2009).

En este estudio se hubieran esperado daños estructurales, sin embargo debido al poco tiempo de intervención de las ratas no fue posible apreciar cambios en la estructura del tejido.

7.3 Citocinas en suero

7.3.1 TNF- α

El TNF- α es una citocina proinflamatoria con múltiples actividades biológicas y con un potente efecto inotrópico negativo. Entre las funciones biológicas descritas para el TNF- α se encuentran la producción de otras citocinas, proteínas de fase aguda, aumento en la expresión de moléculas de adhesión, activación de neutrófilos y coestimulador de activación de células T. En la tabla 9 se observan la media, desviación estándar y el porcentaje de TNF- α presente en los diferentes grupos de estudio.

Tabla 9. Valores de media y desviación estándar para TNF- α en suero de ratas Wistar.

	Media	Desviación estándar	TNF- α
Control negativo	0.35	5.93439E-17	0.0%
Aguate	3.50E-01	5.93E-17	0.0%
Canola	0.35	5.9344E-17	0.0%
Cártamo	3.50E-01	5.93E-17	0.0%
Soya	0.93125	1.64402327	12.5%
Uva	5.56E-01	5.83E-01	12.5%
Control positivo	4.03571429	3.29455033	75.0%

En la Figura 21 se observa la concentración de TNF- α . Las líneas representan la media \pm desviación estándar por grupo n=8 ratas por grupo. Control negativo: grupo alimentado sin adición de aceite. Control Positivo: grupo alimentado con adición de aceite parcialmente hidrogenado.

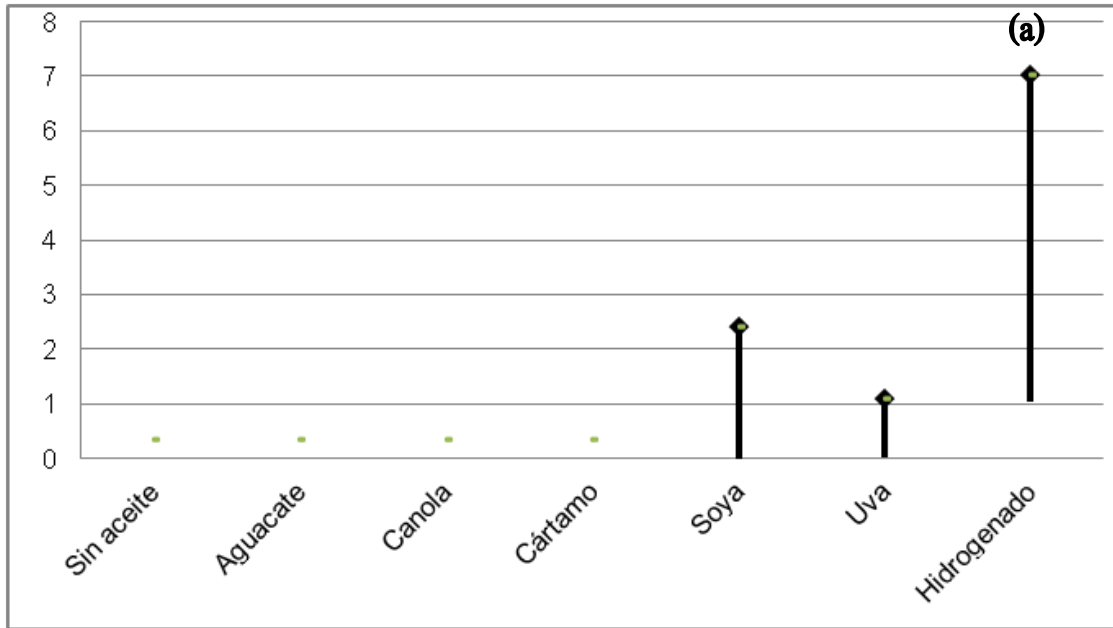


Figura 21. Concentración de TNF- α . ^a: Diferencia significativa con los demás grupos de estudio.

Los resultados reflejan un papel protector del consumo de aceites vegetales sin modificación en la producción de TNF- α . El grupo control positivo tratado con aceite parcialmente hidrogenado presentó la tendencia más desfavorable en relación a los factores estudiados, ya que el grupo control positivo presentó un 75% de TNF- α y el grupo tratado con aceite de soya y de semilla de uva obtuvieron un 12.5% de TNF- α .

Como el TNF- α influye en la patogénesis de la aterosclerosis debido a que está involucrado en la síntesis de proteínas de fase aguda, actúa como factor de riesgo en enfermedades cardiovasculares (Fragoso, 2009), podemos decir que los resultados de este estudio sugieren que la presencia de ácidos grasos trans en la dieta podría influir de una manera desfavorable en relación al riesgo cardiovascular ya que aumenta el TNF- α como factor de inflamación.

7.3.2 Leptina

La leptina tiene un papel muy importante en el desarrollo del proceso inflamatorio, ayuda a la regulación del apetito y termogénesis en sujetos con pesos normales. En sujetos que presentan sobrepeso u obesidad se ha desarrollado una resistencia a la acción de esta citocina, lo que en consecuencia incrementa la síntesis de ácidos grasos, de triacilglicéridos y resistencia a la insulina (García, 2007). En la tabla 10 se muestran los valores de leptina en suero de ratas Wistar, donde el grupo control positivo muestra una diferencia significativa ante los otros grupos de estudio.

Tabla 10. Valores de leptina en suero de ratas Wistar.

Parámetro	Leptina (pg/mL)
Control negativo	61.3667 ± 25.4677
Aguacate	130.8429 ± 110.7059
Canola	162.1000 ± 109.2010
Cártamo	224.8625 ± 208.3624
Soya	167.5750 ± 98.5837
Semilla de uva	112.0143 ± 102.9951
Control positivo	390.4750 ± 276.5587

En la Figura 22 las barras representan la media ± desviación estándar por grupo n=8 ratas por grupo. Donde las ratas del grupo de aceite parcialmente hidrogenado presentaron los valores más altos de leptina (390.47±276.55 µg/ml).

Todos los grupos demostraron concentraciones significativamente menores de leptina que el grupo control positivo. Esto sugiere que un consumo sostenido de aceite parcialmente hidrogenado aumenta los niveles de leptina en ratas con peso normal lo que, a largo plazo, podría provocar una consecuente resistencia a esta hormona ocasionando un desequilibrio entre el peso, consumo y otros desordenes metabólicos.

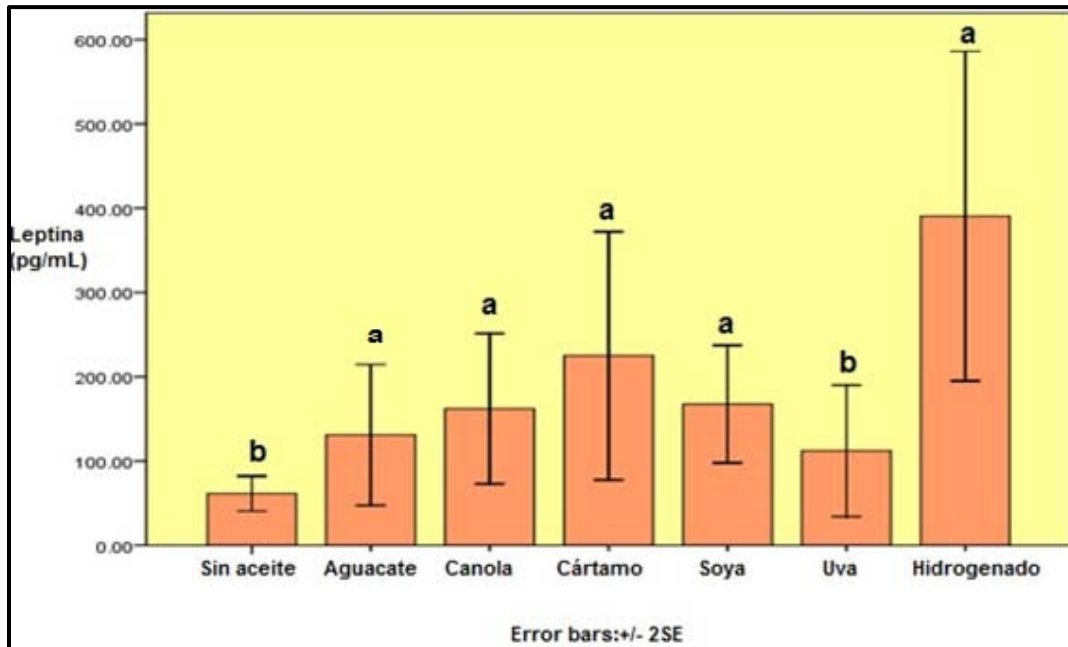


Figura 22 Concentración de leptina. ^a: Diferencia significativa con el grupo control negativo. ^b: Diferencia significativa con el grupo control positivo.

Los valores más bajos los obtuvo el grupo control negativo (61.36 ± 25.4), por lo que una dieta sin adición de aceite mejoró los valores de leptina mostrando diferencia significativa con el grupo de aceite parcialmente hidrogenado, aceite de canola, cártamo y soya.

El control positivo (con aceite parcialmente hidrogenado) presentó la tendencia más desfavorable mostrando diferencia significativa con el control negativo y el aceite de uva (112.01 ± 102.99). Podemos decir que el aceite de uva y aguacate fueron los aceites que produjeron una liberación de leptina similar a la del grupo sin adición de aceite, por lo que dichos aceites fueron los que presentaron un efecto protector más marcado al respecto.

VIII. CONCLUSIONES

El aceite de aguacate y aceite de semilla de uva, los cuales se consideran relativamente “novedosos” o alternativos en el mercado mexicano, presentan características en su composición, como vitamina E y ácidos grasos que permiten considerarla como una fuente lipídica saludable.

Los aceites de semilla de uva y soya son una buena fuente de ácidos grasos poliinsaturados, mientras que el aceite de aguacate, cártamo alto en oleico y canola se pueden considerar como buenas fuentes de ácidos grasos monoinsaturados.

El aceite de canola es un aceite con alto contenido de esteroides y el aceite de soya es un aceite con alto contenido de esteroides y vitamina E.

La adición de los aceites estudiados durante un periodo de intervención de 5 semanas no produjo daños estructurales en hígado y corazón. Todos los tejidos adiposos se mostraron constituidos por estructuras con características físicas normales al final del estudio.

La adición de los aceites estudiados durante el periodo de intervención de 5 semanas no produjo un incremento en el número o tamaño de los adipocitos.

El consumo sostenido de aceite de uva y aguacate produjeron valores similares de leptina en suero al compararlos con el control negativo, siendo el aceite de uva el que presentó los valores más parecidos, esto sugiere un efecto protector de estos aceites en relación a la producción y liberación de esta citocina.

El control positivo (con aceite parcialmente hidrogenado) presentó la tendencia más desfavorable en relación a las dos citocinas, es decir, mostró valores elevados en las citosinas estudiadas, por lo que su uso debe ser desaconsejado y se deben tomar medidas a nivel salud pública que prohíba su uso en la industria alimentaria.

Una dieta que incluya cantidades moderadas de aceites vegetales no industrialmente hidrogenados en cuya composición se presenten ácidos grasos mono y poliinsaturados como los aceites de semilla de uva, aguacate, soya,

cártamo o de canola puede tener un efecto beneficioso en factores de riesgo cardiovascular, lo que puede disminuir el riesgo de padecer alguna enfermedad cardiovascular.

Es probable que cada aceite ofrezca diferentes beneficios, los cuales se verán reflejados en estos parámetros estudiados tras el consumo moderado de esta fuente acompañados de una dieta variada y equilibrada.

IX. LITERATURA CITADA

- Acosta, M. 2011. Evaluación y escalamiento del proceso de extracción de aceite de aguacate utilizando tratamiento enzimático. Tesis de investigación de grado de maestría. Universidad Nacional de Bogotá.
- Aggarwal, B., Shishodia, S., Takada, Y., Jackson-Bernitsas, D., Ichikawa H. 2006. TNF blockade: an inflammatory tissue. *Found Workshop*; 56:161-86.
- Aguilar, Y., Rojas, M. 2008. Relación entre las concentraciones de citocinas factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 1, interleucina 6 y la proteína C reactiva ultrasensible en pacientes con sepsis. Tesis de grado de licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C.
- AL- Sowyan, N. 2009. Difference in Leptine hormone response to nutritional status in normal adult male albino rats. *Pak J Biol Sci.* 12: 119- 126.
- Azain, M. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *J Anim Sci.* 82: 916-24.
- Barrera, M.P., Análida, E., Pinilla, E. 2008. Síndrome metabólico: una mirada interdisciplinaria. *Rev. Col. CarD.* 15: 3.
- Baer, D., Judd, J., Beverly, A., Russell, P. 2004. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr*; 79:969–73.
- Berg, A.H., Combs, T.P., Scherer, P,E. 2001. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.*7: 947-53.
- Botella, C., Iledín, B., Valero, G. 2001. Revisión de conjunto. Leptina: implicaciones fisiológicas y clínicas. *An. Med. Interna (Madrid)* 18:3
- Brandan, N.C. 2008. Tejido Adiposo como Órgano Endocrino. Cátedra de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNNE.
- Connor, W.E. 1996. The decisive influence of diet on the progression and reversibility of coronary heart disease. *Am.J.Clin.Nutr.* 64: 253-54.

- Cornejo, V., Aguilera, G., Hamilton, V. 2009. Fenilquetonuria e ingesta de selenio, zinc y vitamina E. *Rev. Chil Nutr* 36:2.
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., García, B., Díaz, G. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *REB* 25(3): 72-793: 72-79.
- Domínguez, C. 2007. Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Rev. End.y Nut.* 3: 149-155.
- Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., Etherton, T.D. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med.* 99:113
- FAO. 1980. Las grasas y aceites en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 48- 54.
- Febles, C., Soto C., Saldaña, A., García, T. 2002. Funciones de la vitamina E. *Act. Rev. Cub. Est.* 39: 1.
- Fennema, O. 1993. Química de los Alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Ferranti, D.M. 2009. La tormenta perfecta: obesidad, disfunción del adipocito y consecuencias metabólicas. *Bioq.*34: 95-108.
- Fiona, C., Buchanan, C., Fitzsimmons, A.G., Van, K., Tracey, T. 2007. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin. *Genet.sel.Evol.*34: 105 – 116.
- Flores, L., Rodríguez, E., Rivas, A. 2011. Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. *Rev Med Hosp Gen Mex* 74:157-65.
- Fragoso, J.M., Ramírez, J., Cruz, D., Robles, O. Peña, A. Vargas, G. 2005. Marcadores pro y antiinflamatorios en la enfermedad arterial coronaria y el síndrome isquémico coronario agudo. *Biom.* 25:1.

García, G. 2010. Obtención de diglicéridos a partir de ácidos grasos mediante catálisis enzimática. Tesis de licenciatura. Ingeniería química. Universidad rey Juan Carlos. Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología. Madrid España.

García, N. 2007. Leptina. Rev. End. y Nut. 15(3): 132- 137.

Gregor, M.F., Hotamisligil, G.S. 2007. Thematic review series: Adipocyte Biology. Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. J Lipid Rev. 48: 1905-14.

Hasler, C.M. 2002. Functional foods: Benefits, concerns and challenges-a position paper from the American council on science and health. J Nutr; 132: 3772-381.

Hermsdorff, H. Zulet, Á., Bressan, J., Martínez, A. 2008. Efecto de la dieta en la inflamación crónica y de bajo grado relacionada con la obesidad y el síndrome metabólico. End. Nutr. 2008; 55:409-19

Herrera, E., Rodríguez, H. 2002. Importancia del factor de necrosis tumoral alfa en la patogenia de la insuficiencia cardíaca. Rev Esp Card. 55(1):61-66

Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI. 2009. Estadísticas a propósito del día mundial del corazón. Disponible en:

<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2009/corazon09.asp?s=inegi&c=2740&ep=21>

Jiménez, E., Aguilar, M., Zambrano, I., Kolar, E. 2011. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. Jour. Mex. Chem. Soc. 45 (2): 89-92.

Lahoz, C., Mostaza, J. 2007. La aterosclerosis como enfermedad sistémica Unidad de Arteriosclerosis. Rev. Esp Card. 60:184-95.

Lorenzo, M., Fernández, V., Bedmar, R., García, A., Nieto, I. 2008. Insulin resistance induced by tumor necrosis factor-alpha in myocytes and brown adipocytes. J Anim Sci. 86: 94-104.

Manzur, F., Ciro, A., Alayón, A. 2009. Consumption of trans fatty acids and cardiovascular risk. Rev. Colom. Cardiol.16: 3

Marrero, D. 2012. Determinación de alcoholes grasos en el ingrediente activo D004 por cromatografía de gases-espectrometría de masas. Rev Cub. Plant vol.17, n.1.

Márquez, M., Yépez, C., Sutil-Naranjo, R., Rincón, M. 2002. Aspectos Básicos Y Determinación De Las Vitaminas Antioxidantes. Invest. Clín. Vol.43, N.3

Martinez, M. 2006. Cardiac remodeling and inflammation. Cardiol. Méx. 76:4.

Morales, J.A. 2010. Obesidad Un enfoque multidisciplinario. Universidad Autónoma de Hidalgo.

Morales, M., Carvajal, G. 2010. Obesity and leptin resistance. Tren. End. Metab. 21(11): 643–651.

Moreau, R.A., Whitaker, B.D., Hicks, K.B. 2002. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. Prog Lipid Res. 41: 457-500.

Navas, P.T.2009. Composición química del aceite virgen obtenido por extracción mecánica de algunas variedades de uva (*Vitis vinifera*) con énfasis en los componentes minoritarios. ALAN. 59: 214-219

Nieto, S., Valenzuela, A., Golusda, C., Muñoz, P., Corvari, A. 2005. Fat composition and omega-6/omega-3 fatty acid ratio of the most frequently consumed sausages in the region metropolitana de Chile: a reevaluation year 2004. Rev Chil Nutr.32:1

Organización mundial de la salud (Online). 2012. Enfermedades cardiovasculares. Disponible en:

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/s317>

Paracchini, V., Pedotti, P., Taioli, E. 2005. Genetics of Leptin: a huge review. Am J Epidemiol. 162: 101- 114.

Pavlovich-abril, A. 2009. Efectos de una mezcla de estearina de palma y aceite de canola sobre los parámetros reológicos de la masa de trigo y características del pan. INCI. vol.34, n.8 pp. 577-582 .

Pietrzak, A.T., Zalewska, A., Chodorowska, G., Krasowsk, D., Michalak, S., Nockowski, P., Osemlak, P., Paszkowski, T., Rolinski, J. 2008. Cytokines and anticytokines in psoriasis. Clin Chim.Acta 394:7-21.

Poveda, E, Ayala, P., Rodríguez, M., Ordóñez, E., Baracaldo, C., Delgado, W., Guerra, M. 2009. Efecto del suplemento de aceites vegetales sobre el perfil lipídico en ratas Wistar. Bio.79:1.

Przybylski, T., Mag, N., Eskin, B.E. 2005. Canola Oil. University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada. 6:7

Rhul, C.E., Everhart, J.E. 2001. Leptin concentration in the United States: relations with demographic and antropometric measures. Am J Clin Nutr. 74: 295- 301.

Roberfroid, M.B. 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. Nut; Brit. Jour. of Nut..16: 689-691.

Rodríguez, C. 2012. Determinación de las propiedades físicas y carga crítica del aceite vegetal jatropha curcas I. Ing. Mec. vol.15, n.3

Rodríguez, C., Tovar, A., Prado, M., Torres, N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. Rev Cub. End. 15:3

Sánchez, F., García, R., Alarcón, F., Cruza, M. 2005. Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

Sanhueza, C., Nieto, K., Valenzuela, B. Ácido Linoleico Conjugado: Un Ácido Graso Con Isomería Trans Potencialmente Beneficioso. *Rev. Chil. Nutr.* Vol.29, N.2.

- Sayago, A., Marín, M.I., Aparicio, R., Morales, M.T. 2007. Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites* 58: 74- 86.
- Simopoulos, A.P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr.* 70: 560-569.
- Soca, M., Aluett, N.P. 2009. Consecuencias de la obesidad. *ACIMED.* 20: 4.
- Suárez, A., Mozo, L., Gutiérrez, M. 2009. Citocinas y quimiocinas. Disponible en: http://www.uco.es/grupos/inmunologia molecular/texto_pdf/tema
- Tilg, H., Moschen, A.R. 2008. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med;* 14:222- 231.
- United States Department of Agriculture USDA. 2010. Statements About Omega Fatty Acid Contents on the Labeling of Meat and Poultry Products Disponible en: <http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navid>
- Valenzuela, A. 2008. Ácidos grasos con isomería trans ii: situación de consumo en Latinoamérica y alternativas para su sustitución. *Rev. chil. nutr.* vol.35, n.3
- Valenzuela, A., Nieto, S. 2001. Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-infantil. *Rev. méd. Chil* vol.129, n.10.
- Valenzuela, A., Ronco, A.M. 2004. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud. *Rev. Chil Nutr.* 21: 161-169.
- Vega, G.B. 2010. Inmunología para el médico general. El adipocito y la respuesta inmune. *Rev. Fac Med UNAM.* 53: 1
- Wood, R.J., Volek, J.S., Davis, S.R., Dell'Ova, C., Fernandez, M.L. 2006. Effects of a carbohydrate-restricted diet on emerging plasma markers for cardiovascular disease. *Nutr Metab.* 3: 19
- Yohany, D., Rodríguez, A., Coutin, G., González, M. 2004. Factores de riesgo asociados con la maloclusión. *Rev. Cub. Est.* 41:1
- Zohary, D., Hopf, M. 2012. Domestication of plants in the Old World. The Origin and Spread of Domesticated Plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. *Oxf. Uni. Pres.* Mar 1, 2012 p.211.

ANEXOS

Anexo 1

Determinación de ácidos grasos en aceites vegetales por cromatografía de gases

Principio:

Técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte.

Materiales y equipos:

- Tubos de 20 mL (con tapón de rosca)
- Viales de 2 ML
- Pipeta de 100 μ L
- Vórtex. Marca: Scientific Industries. Modelo: G560
- Cromatógrafo de gases. Marca: FID or Agilent 5973 MSD

Reactivos:

- Hexano grado HPLC
- 2 N de hidróxido de potasio

Desarrollo del proceso:

1. Pesar 100 mg de muestra en un tubo de 20 mL (con tapón de rosca)
2. Disolver la muestra en 10 mL de hexano y 100 μ L de 2 N de hidróxido de potasio en metanol (11,2 g en 100 ml).
3. Cerrar el tubo y agitar 30 segundos en el vórtex
4. Posteriormente centrifugar y transferir el sobrenadante a un vial de 2 mL.
5. Inyectar al cromatógrafo de gases.

***Condiciones del CG:

Método DB-Wax. Instrumentación del sistema cromatográfico:

- Entrada: Agilent 6890 GC
- Detector: Split/splitless
- Muestreador automático: FID or Agilent 5973 MSD
- Liner: Split liner 8part no. 5183-4647)
- Columna: 30-m x 0.25 mm id x 0.25 - μ m DB-Wax (part no. 122-7032)

Condiciones experimentales GF / FID

- Temperatura Inlet: 250 °C
- Volumen de inyector: 1 μ L
- Split ratio: 1/50
- Transporte de gas: hidrógeno
- Carga de presión: estearato de metilo.
- Tiempo de retención: cerrado a 14,000 min.
- Modo de presión constante (presión de aproximadamente 53 kPa a 50 °C, 36 cm / s al 50 °C)
- Temperatura del horno: 50 °C, 1 min, 25 °C/min to 200 °C, 3 °C/min to 230 °C, 18min
- Temperatura del detector: 280 °C

Gases del detector:

- Hidrógeno → 40 mL/min
- Aire → 450 mL/min
- Helio → 30 mL/min

***Método de calibrado:

Para realizar el cálculo de composición, se inyectan masas exactas de los ácidos grasos puros al cromatógrafo y se determina el área. Se realiza un gráfico relacionando el área de pico con la masa, se obtendrá entonces una curva de calibración que debe ser lineal y pasar por el origen. La concentración es de 1 gr en 100 mL de etanol.

La ecuación de esta curva vendrá dada entonces por:

$$A = mW$$

Donde:

A= área

m= masa

W= peso

***Método de cuantificación:

Se mide la altura del pico cromatográfico a la mitad ($W_{1/2}$), el producto de este valor por su altura: $A = W_{1/2} \cdot h$

Entonces se inyecta una masa exacta de la muestra (W_{inj}) y se determina el área del componente a analizar y después se aplica la siguiente ecuación:

$$\%W_A = (W_A / W_{inj}) \times 100$$

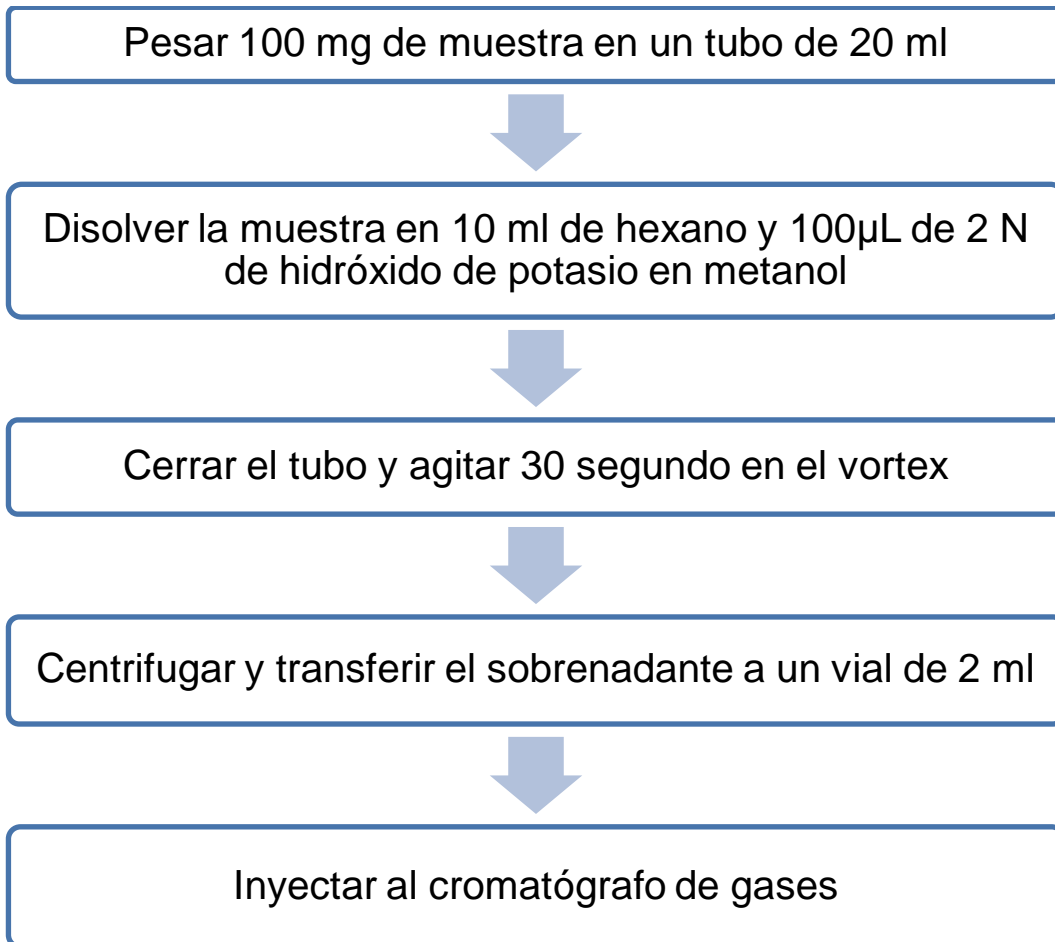
Donde W_A = peso de área

W_{inj} = peso del inyector

***Tiempos de retención de los ácidos grasos:

Pico	Compuesto	Tiempo de retención (min)
1	Mirístico	9.04
2	Palmítico	10.72
3	Esteárico	13.04
4	Oleico	13.38
5	Linoléico	14.25
6	Linolénico	15.12
7	Araquídico	16.10

Diagrama de bloques



Anexo 2

Cuantificación de Vitamina E en aceites vegetales por cromatografía de líquidos de alta resolución

Principio:

Técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

Materiales y equipos:

- Frascos para fase móvil de 2 L
- Membranas de nylon, 0.45 μm para filtración de fase móvil, marca WATERS.
- Espátula y papel aluminio
- Matraces aforados de 10, 50 y 100 mL
- Micropipetas de 50-1000 μL
- Probeta Graduada de 500 y 1000 mL
- Vasos de precipitados 50 y 100 mL
- Puntas para micropipetas de 100 y 1000 μL
- Tubos de ensaye de vidrio de 75 X 10 mm
- Insertos de 150 μL
- Viales ámbar y tapas para vial de 10 ml
- Bomba de vacío
- Balanza analítica
- Sonicador
- Potenciómetro
- Centrífuga
- Equipo de evaporación con gas nitrógeno
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución equipado con detector de arreglo de diodos, bomba binaria e inyector automático (Waters, modelos 2996, 1525 y 717, respectivamente)

Reactivos:

- Estándar de vitamina E (USP)
- Vitamina E (α , β , γ -tocoferol)
- Agua destilada y grado HPLC
- Metanol HPLC
- Etanol HPLC
- Hexano HPLC

Desarrollo del proceso:

1. Preparación de la muestra:

- 1.1 Se toman 200 μ L de aceite y se depositan en un microtubo ámbar.
- 1.2 Se le adicionan 200 μ L de metanol y se agita por 5 segundos.
- 1.3 Se le adicionan 800 μ L de hexano y se agitan en un vórtex durante 2 minutos.
- 1.4 Se centrifuga a 4000 g X 10 minutos.
- 1.5 Una vez centrifugado, se separa la fase orgánica y se depositan en un tubo de ensaye previamente forrado con papel aluminio.
- 1.6 Se le adicionan nuevamente al microtubo 800 μ L de hexano y se repite el mismo procedimiento hasta separar la fase orgánica y adicionarla en el tubo de ensaye. Una vez realizado el procedimiento de extracción de vitaminas, el hexano se evapora con gas nitrógeno hasta sequedad.
- 1.7 Posteriormente se adicionan 100 μ L de etanol y se agita por 30 segundos el tubo.
- 1.8 La muestra obtenida se pasa a un inserto y un vial para cromatografía y se inyecta en el equipo, con las siguientes condiciones cromatográficas:

2. Preparación de la fase móvil:

La fase móvil utilizada es metanol al 100 %. Se filtra con un filtro tamaño de poro de 0.45 μ m y se desgasifica con el sonicador durante 5 minutos.

3. Preparación de la solución de lavado del inyector

Medir 800 mL de metanol y mezclar con 200 mL de agua. Mezclar, filtrar y desgasificar.

4. Preparación de la sustancia de referencia:

Pesar 0.01 g de vitamina E en un matraz volumétrico de 100 mL, aforar con etanol. Tomar alícuotas de 50, 200, 800, 1500, 2500 y 4000 μ L y servir en matraces aforados de 10 mL. Aforar con etanol. Realizar la curva de calibración.

Condiciones cromatográficas

- Columna Resolve C18, 90 A, 5 μ m, 3.9 X 150 mm. No. Parte: 186002560 WATERS
- Fase móvil: Metanol 100 %
- Flujo: 1 mL/min
- Temperatura: 40 °C
- Longitud de onda: 300 nm

***Método de cuantificación:

Se mide la altura del pico cromatográfico a la mitad ($W_{1/2}$), el producto de este valor por su altura:

$$A = W_{1/2} \cdot h$$

Entonces se inyecta una masa exacta de la muestra (W_{inj}) y se determina el área del componente a analizar y después se aplica la siguiente ecuación:

$$\%W_A = (W_A / W_{inj}) \times 100$$

Donde:

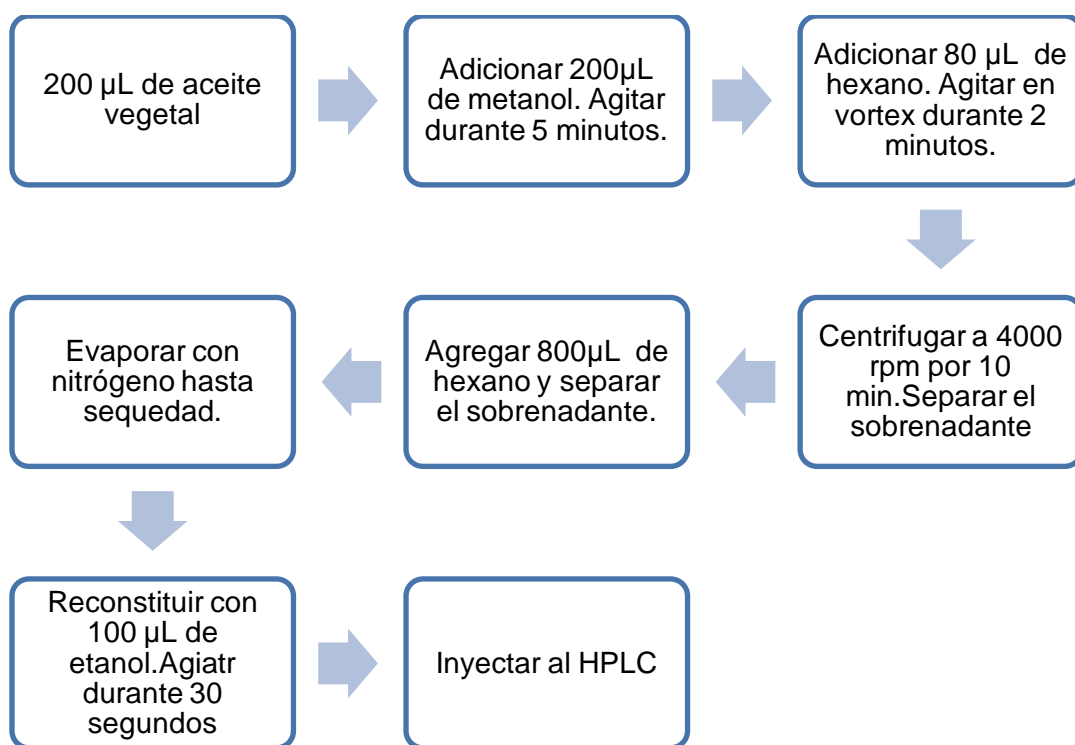
W_A = peso de área

W_{inj} = peso del inyector

***Tiempos de retención de los ácidos grasos:

Pico	Compuesto	Tiempo de retención (min)
1	Delta tocoferol	3.88
2	Beta+gamma tocoferol	4.35
3	Alfa tocoferol	4.94

Diagrama de bloques



Anexo 3

Determinaciones histológicas por la técnica de hematoxilina y eosina

Principio:

El método supone la aplicación de la tinción de hematoxilina, que por ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (acidófilos) en tonos de colorrosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma.

Materiales y equipos:

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microtomo Marca: Microm

Reactivos:

- Agua destilada
- Formaldehído 37-40%
- Parafina
- Alcohol
- Xilol
- Ácido clorhídrico

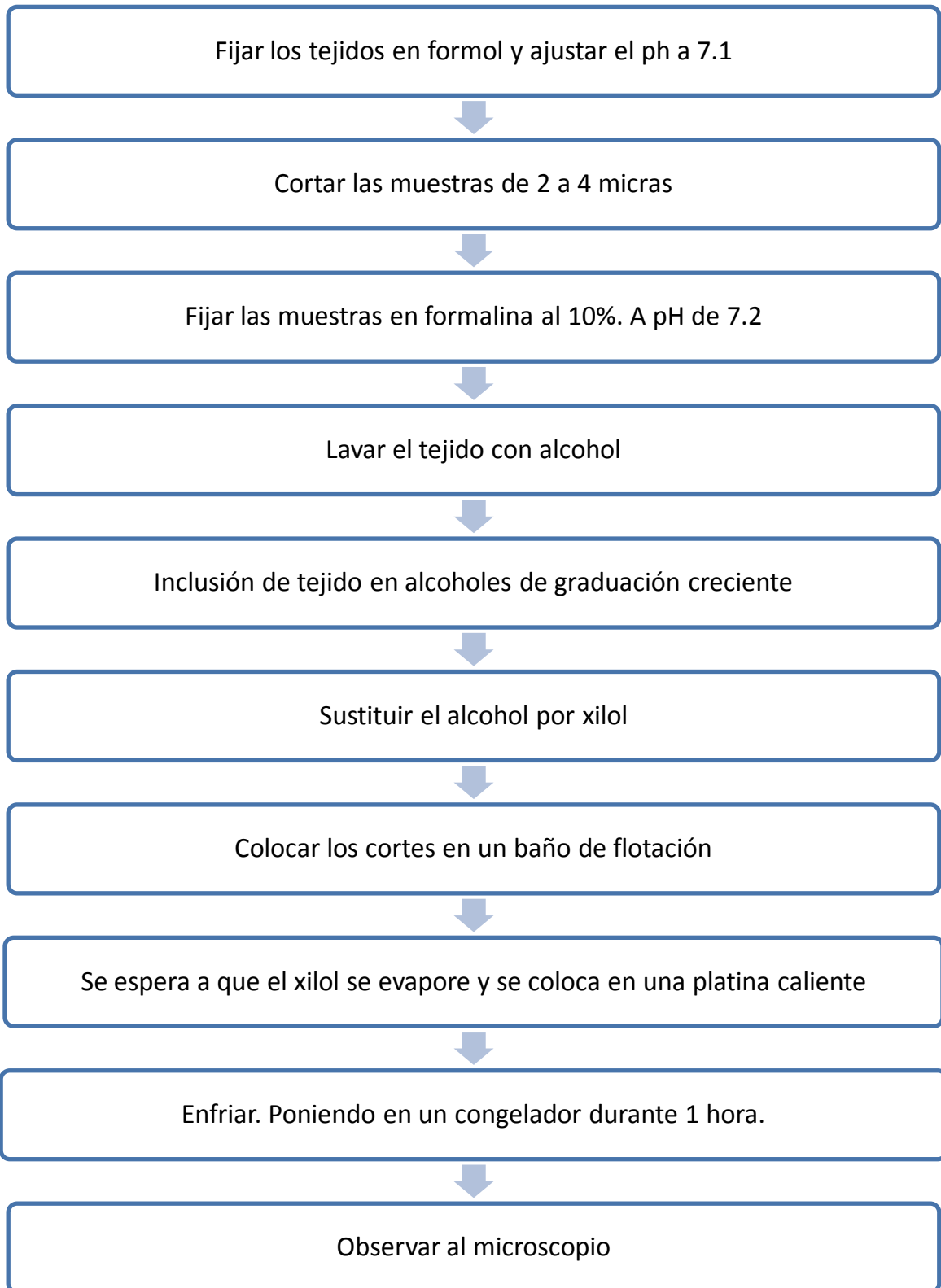
Desarrollo del proceso:

1. Realizar una fijación colocando el tejido en formol al 10%, ajustado a un pH de 7.1 con ácido clorhídrico y con ayuda de un potenciómetro
2. Tomar muestras de los diferentes órganos, cortándolas en el micrótopo a un espesor de 2 a 4 μm

3. Fijar las muestras en formalina al 10%, a un pH de 7.2. La formalina es un fijador que tiene como componente activo el formaldehído.
4. Al concluir la fijación, el fijador debe ser eliminado de las muestras. Para tal fin se procede al lavado de los tejidos con una piseta con alcohol. Se evita, así, que los tejidos se endurezcan demasiado o que ciertos componentes del fijador introduzcan modificaciones en los tejidos e impidan una adecuada obtención de secciones delgadas o la coloración correcta de sus componentes celulares.
5. Se realiza la inclusión del tejido, para que el material tenga la suficiente firmeza al cortarse. El agua que contiene el tejido se sustituye por una sustancia que le da rigidez y evita que se deforme. Esto se logra introduciendo el material a procesar en alcoholes de graduación creciente, lo que irá sustituyendo el agua por el alcohol.
6. Después el alcohol es sustituido por un solvente orgánico como es el xilol, para de esta forma terminar incluyendo el tejido en una sustancia que es miscible en este solvente orgánico.
7. Estas sustancias son la parafina, que se utiliza en microscopía óptica, y las resinas sintéticas, que se utilizan en microscopía electrónica.
8. Los cortes se extienden al depositarlos sobre la superficie del líquido extendedor contenido en un recipiente denominado "baño de flotación" éste mantiene la temperatura entre 40 o a 45 grados. Las secciones se depositan en el líquido procurando que la superficie brillante (aquella correspondiente al filo de la navaja) se ponga en contacto con el líquido caliente. En caso que ciertas arrugas persistan, se emplean unas pinzas finas o un pincel de pelo de camello, para ejercer una ligera tracción entre los extremos de los cortes y así desarrugarlos totalmente
9. A continuación se deja que el xilol se evapore, y la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente (45 o 50 °C) durante 24 a 48 horas.
10. Poner a enfriar en un congelador durante 1 hora.

11. Los cortes para su observación al microscopio óptico, se montan en una lámina de vidrio llamada portaobjetos.
12. Para el estudio de cortes al microscopio óptico de campo brillante es necesario colorear previamente la muestra con diferentes compuestos químicos (colorantes), que tienen la capacidad de reaccionar con los diversos componentes de las estructuras celulares.
13. Observar al microscopio

Diagrama de bloques



Anexo 4

Determinación de esteroides en aceites vegetales cromatografía de gases

Principio:

Técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte.

Materiales y equipos:

- Matraz de 50 mL color ámbar
- Matraz de 100mL
- Matraz de 10 mL
- Puntas
- Tubos de 20 mL con tapón de rosca
- 2 vasos de precipitados de 40 mL
- 1 vaso de precipitados de 80 ML
- 3 frascos de 5 mL color ámbar
- Pipeta de 1-5 mL
- Pipeta de 10 – 100 µL
- Pipeta de 1000
- 1 Vórtex
- 1 baño maría superficie suficiente para (si es necesario) para matraces Erlenmeyer y tomas de nitrógeno
- Un aparato de capa de nitrógeno con conectores apropiados para proveer de una atmosfera constante de nitrógeno
- 1 cromatógrafo de gases
- Columna

Reactivos:

- Agua desionizada
- Estigmasterol
- Campesterol
- Dihidrocolesterol
- Pyrogallol

Para 2 muestras=0.6g de pyrogallol

Para 4 muestras=1.2g de pyrogallol

Para 6 muestras=1.5g de pyrogallol

- Hidróxido de potasio
 - Saturar KOH (20 g) en etanol (200 ml) y dejar enfriar
- Agua desionizada
- Hexano
- Solución derivatizante
 - 2 muestras= 500 µL de solución derivatizante
 - 4 muestras= 1000µL de solución derivatizante
 - 6 muestras= 1500µL de solución derivatizante
- Nitrógeno

Desarrollo del proceso:

Día 1

1. Pesar 300 mg de muestra
2. Añadir 50 µL de solución etanólica DHC 250 ppm
 - Pesar .025 g de DHC y aforar en 100 mL de etanol
3. Añadir 8 mL de solución etanólica de pyrogallol al 3%
4. Añadir 0.5 mL de solución de hidróxido de potasio saturado
5. Agitar durante 1 minuto en el vórtex
6. Introducir a un baño maría a 80 °C durante 30 minutos
7. Dejar enfriar a temperatura ambiente (20-30 min aproximadamente)
8. Agregar 6 mL de agua desionizada y 5 mL hexano
9. Agitar 5 minutos en el vórtex
10. Esperar a que se separen las fases
11. Separar el sobrenadante en otro tubo, para ir recopilando la muestra para llevar a cabo su análisis
12. Repetir dos veces más el lavado con hexano, y volver a separar el sobrenadante. Colocar en el mismo tubo, donde se recopiló la anterior.
13. Evaporar con nitrógeno
14. Forrar los tubos con papel aluminio y refrigerar

Día 2

1. Sacar los tubos del refrigerador
2. Preparar la solución derivatizante (Ya antes mencionada)
3. Agregar 250 μL de esta solución a cada tubo
4. Agitar 1 minuto en el vórtex
5. Colocar los tubos en un baño maría a 70 °C durante 30 minutos
6. Pasar las muestras a los tubos para posteriormente inyectar al cromatógrafo de gases

***Condiciones del CG:

Método DB-Wax. Instrumentación del sistema cromatográfico:

- Entrada: Agilent 6890 GC
- Detector: Split/splitless
- Muestreador automático: FID or Agilent 5973 MSD
- Liner: Split liner 8part no. 5183-4647)
- Columna: 30-m x 0.25 mm id x 0.25 μm DB-Wax (part no. 122-7032)

Condiciones experimentales GF / FID

- Temperatura Inlet: 250 °C
- Volumen de inyector: 1 μL
- Split ratio: 1/50
- Transporte de gas: hidrógeno
- Carga de presión: estearato de metilo.
- Tiempo de retención: cerrado a 14,000 min.
- Modo de presión constante (presión de aproximadamente 53 kPa a 50 °C, 36 cm / s al 50 °C)
- Temperatura del horno: 50 °C, 1 min, 25 °C/min to 200 °C, 3 °C/min to 230 °C, 18min
- Temperatura del detector: 280 °C

Gases del detector:

- Hidrógeno \rightarrow 40 mL/min

- Aire → 450 mL/min
- Helio → 30 mL/min

***Método de cuantificación:

Se mide la altura del pico cromatográfico a la mitad ($W_{1/2}$), el producto de este valor por su altura:

$$A = W_{1/2} \cdot h$$

Entonces se inyecta una masa exacta de la muestra (W_{inj}) y se determina el área del componente a analizar y después se aplica la siguiente ecuación:

$$\%W_A = (W_A / W_{inj}) \times 100$$

Donde:

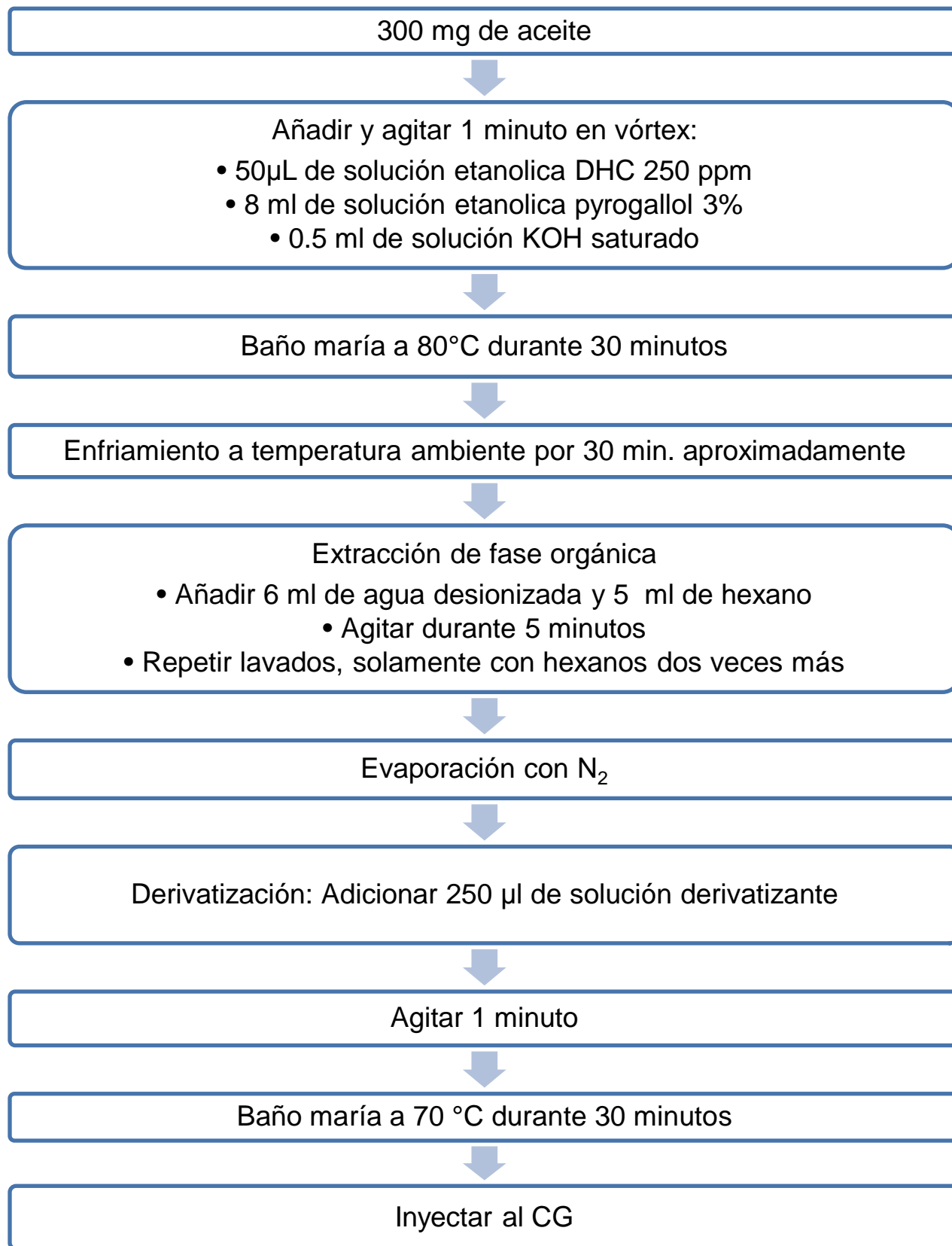
W_A = peso de área

W_{inj} = peso del inyector

***Tiempos de retención de los ácidos grasos:

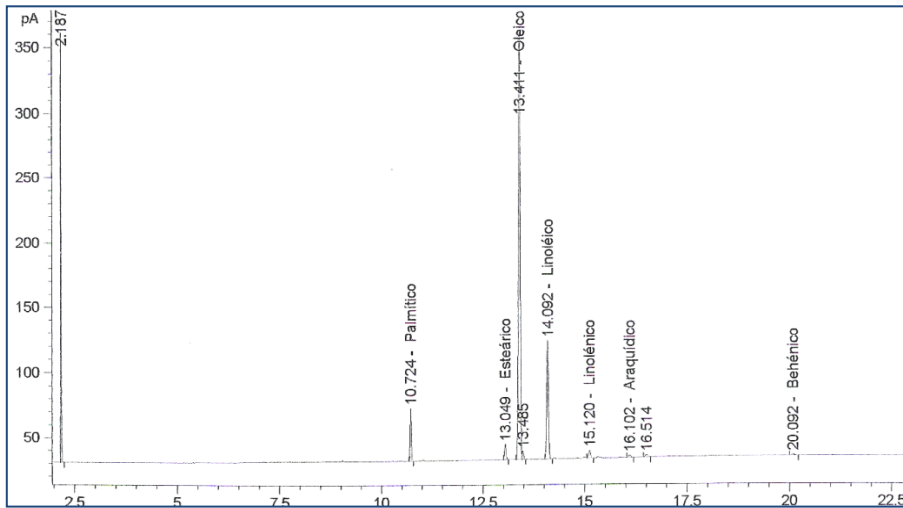
Pico	Compuesto	Tiempo de retención (min)
1	Campesterol	30.56
2	Estigmasterol	31.52

Diagrama de bloques

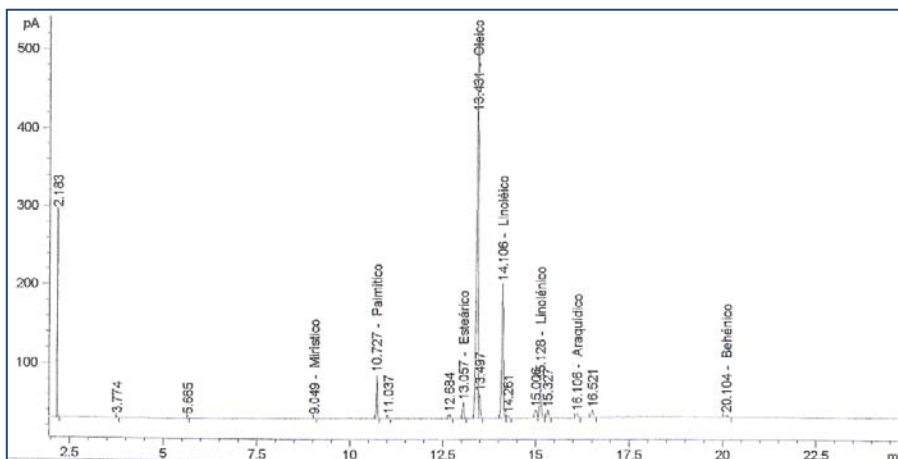


Anexo 5

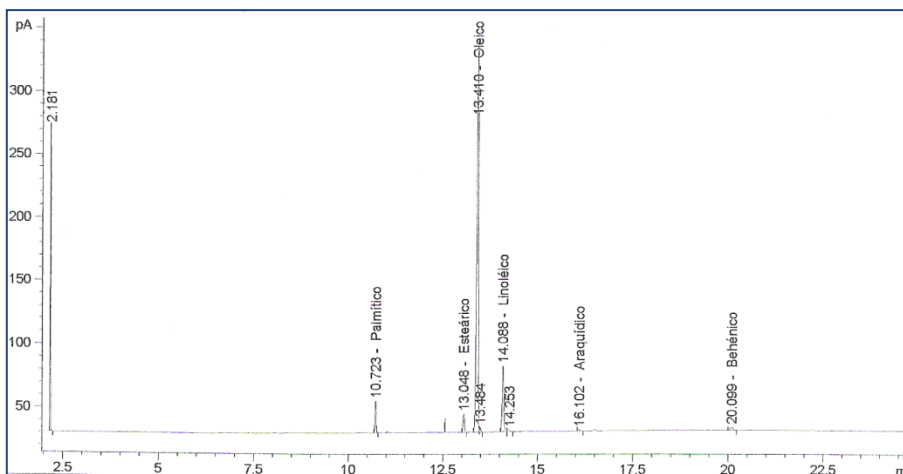
Cromatogramas de gases de ácidos grasos



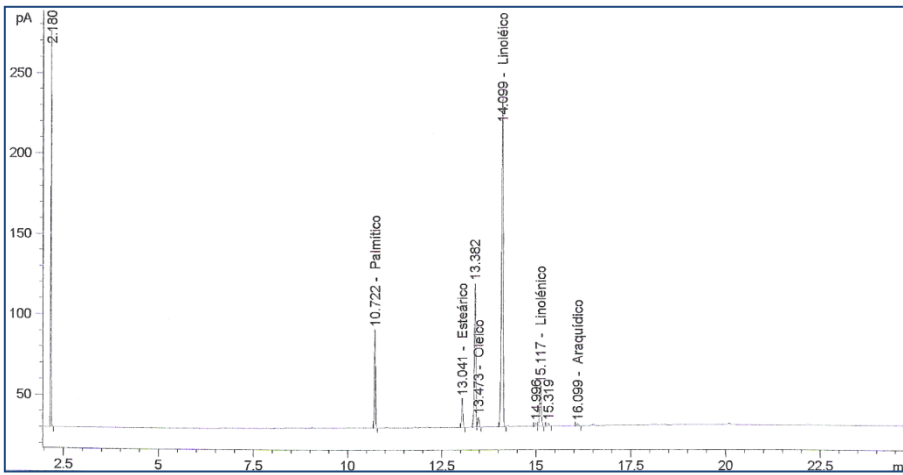
Composición de ácidos grasos en aceite de aguacate



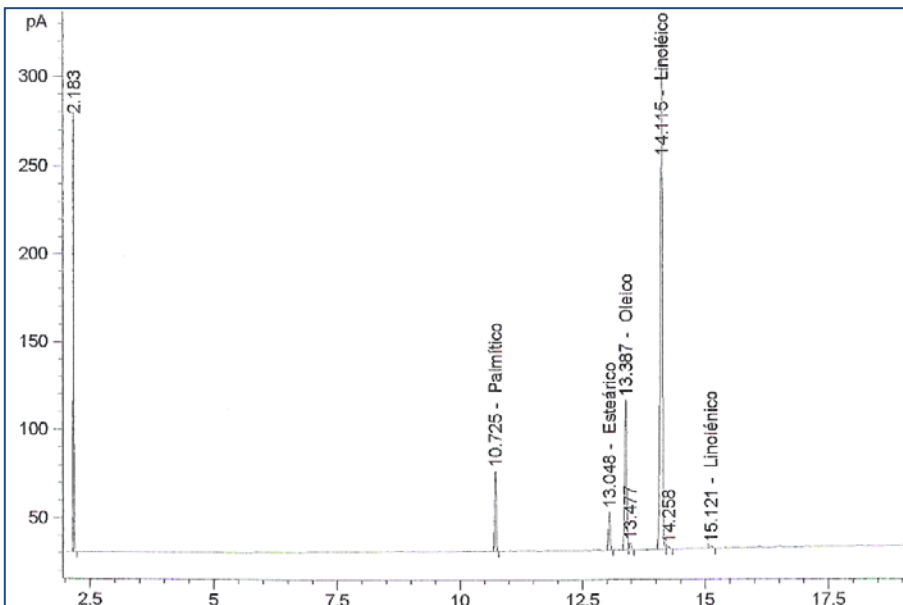
Composición de ácidos grasos en aceite de canola



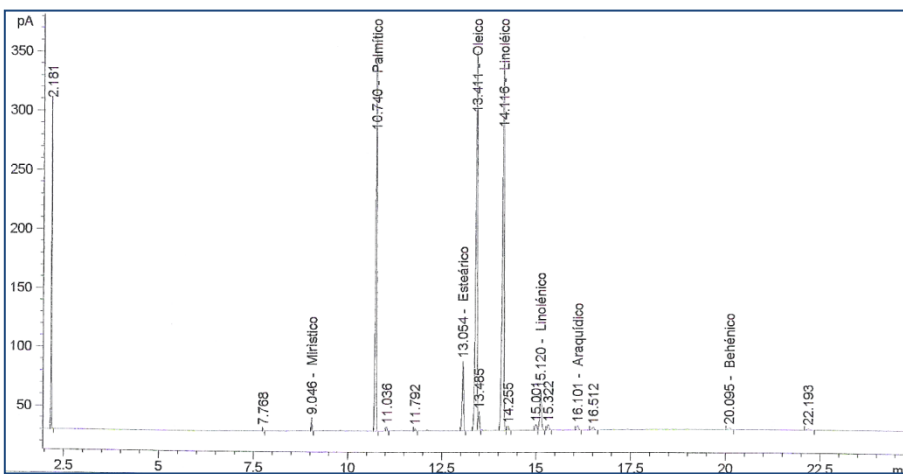
Composición de ácidos grasos en aceite oleico



Composición de ácidos grasos en aceite de soja



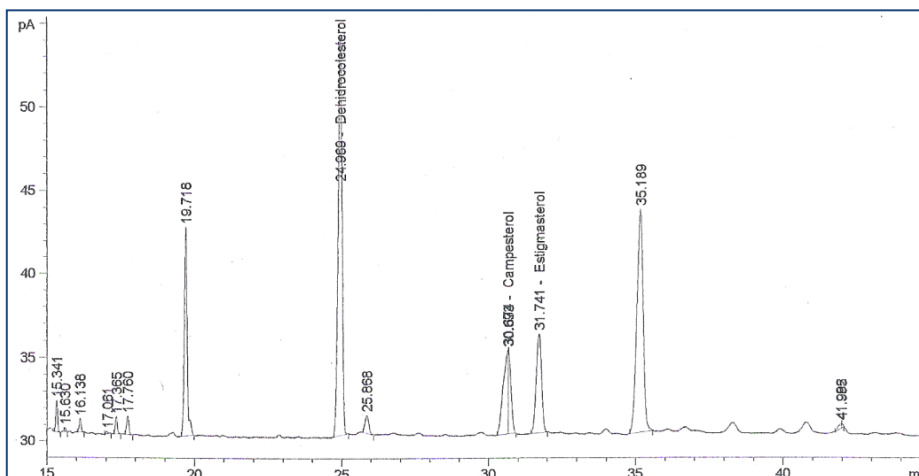
Composición de ácidos grasos en aceite de uva



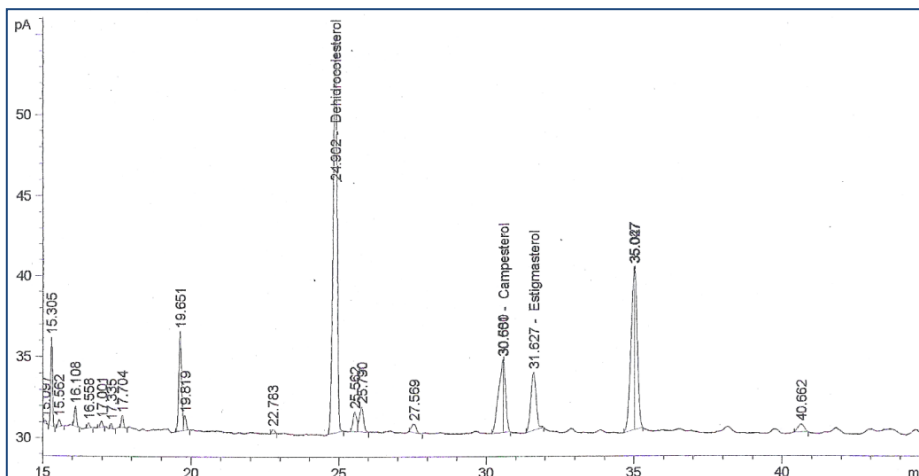
Composición de ácidos grasos en aceite parcialmente hidrogenado

Anexo 6

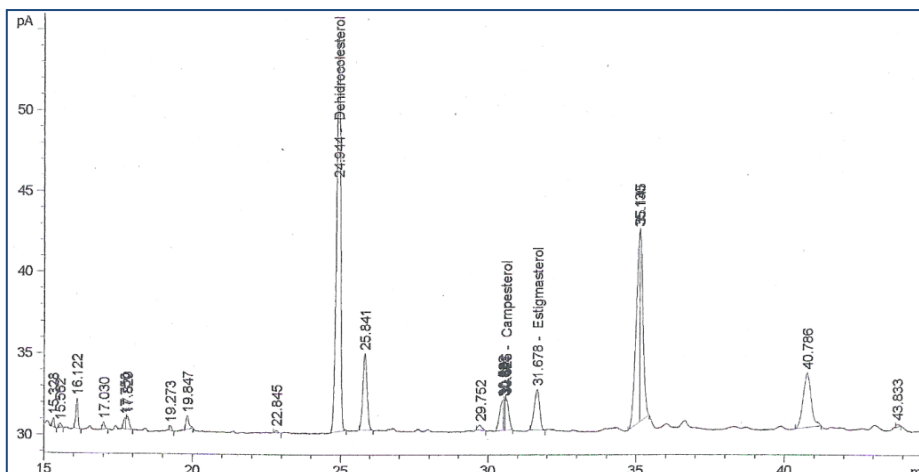
Cromatogramas de gases de esteroides en aceites vegetales



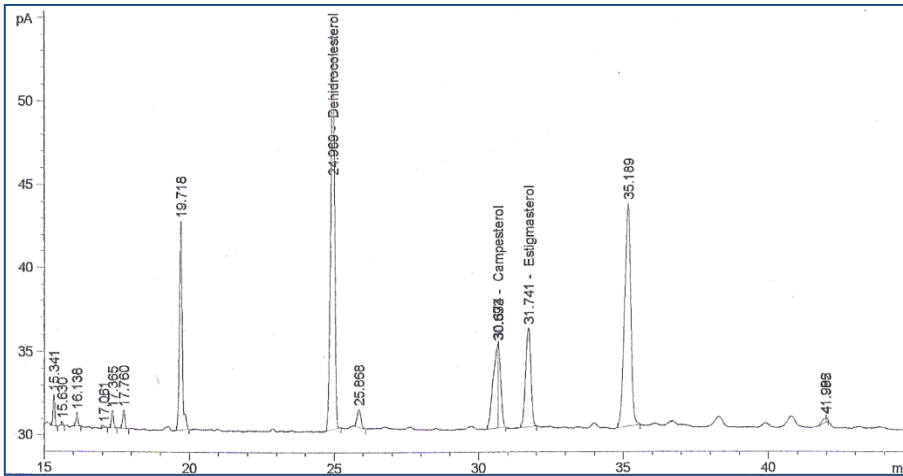
Determinación de esteroides en aceite oleico.



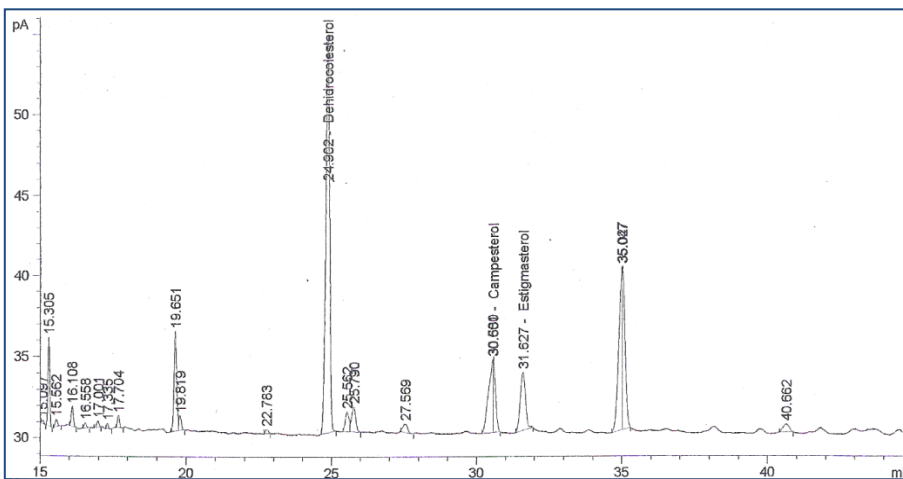
Determinación de esteroides en aceite de soya.



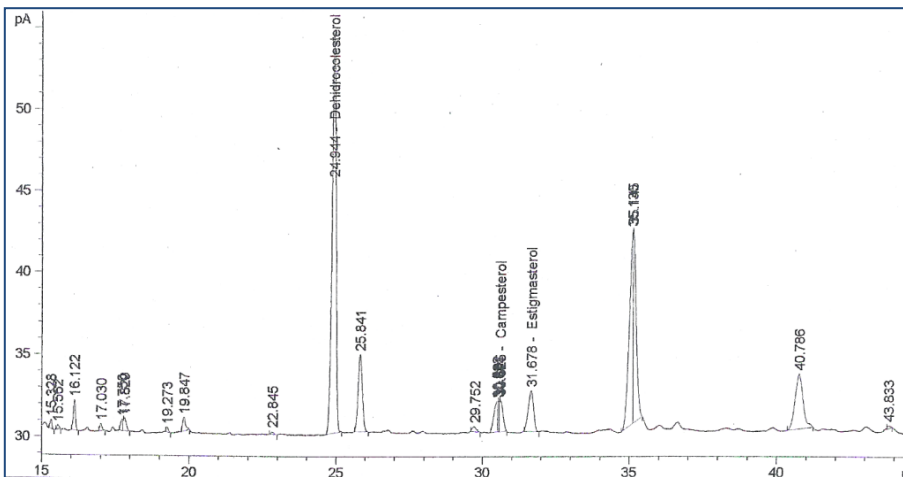
Determinación de esteroides en aceite de uva.



Determinación de esteroides en aceite oleico.



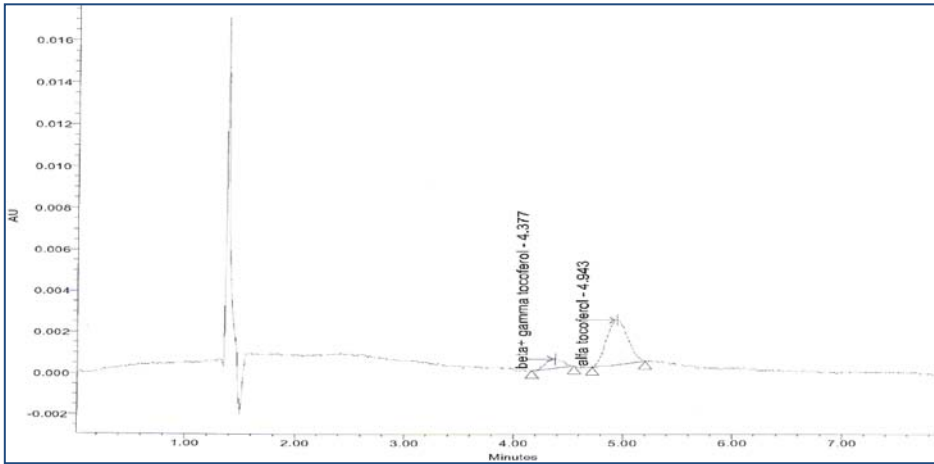
Determinación de esteroides en aceite de soja.



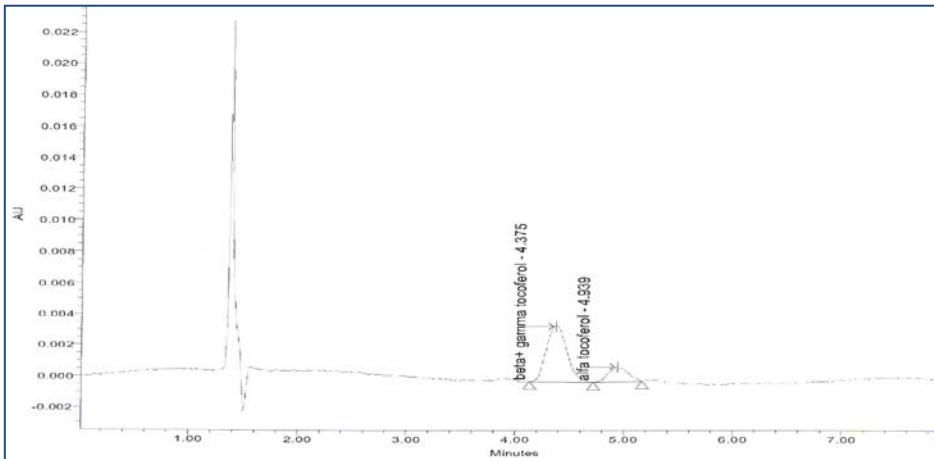
Determinación de esteroides en aceite de uva.

Anexo 7

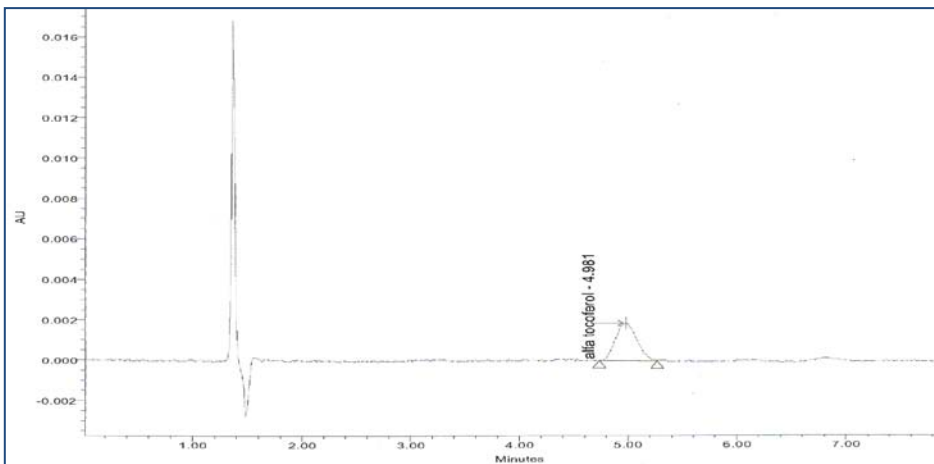
Cromatogramas de líquidos de alta eficacia de aceites vegetales



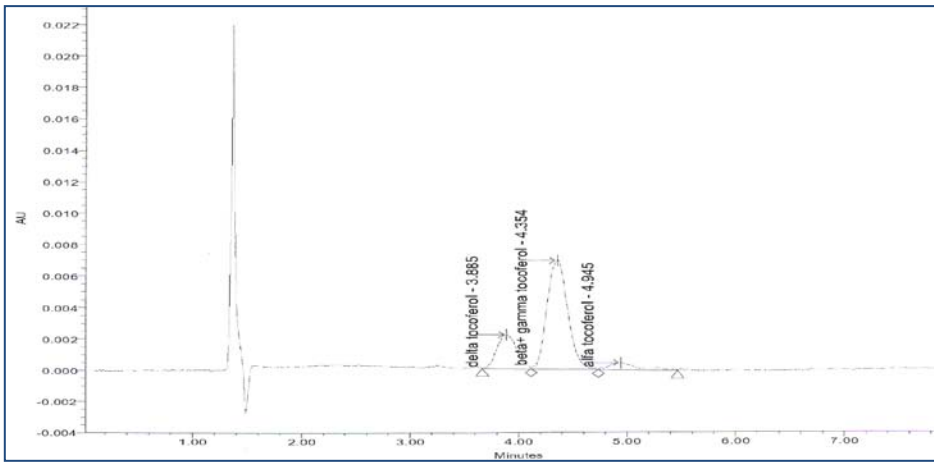
Tocoferoles
en aceite de
aguacate



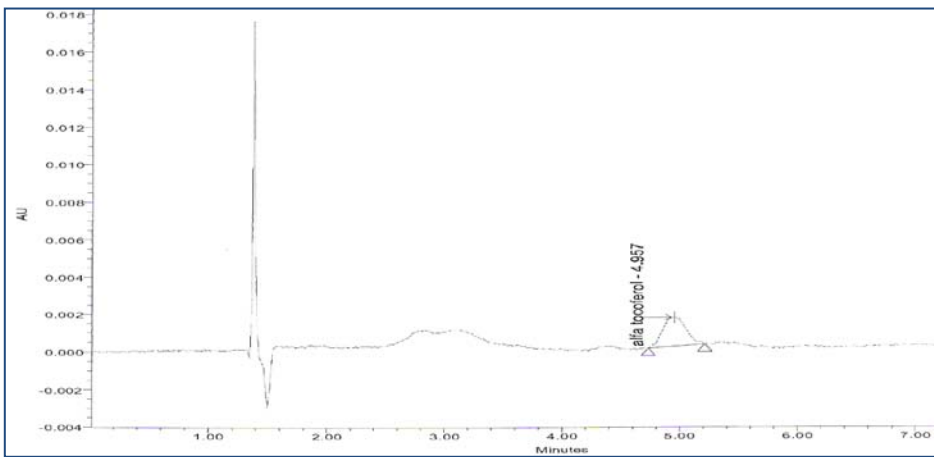
Tocoferoles
en aceite de
canola



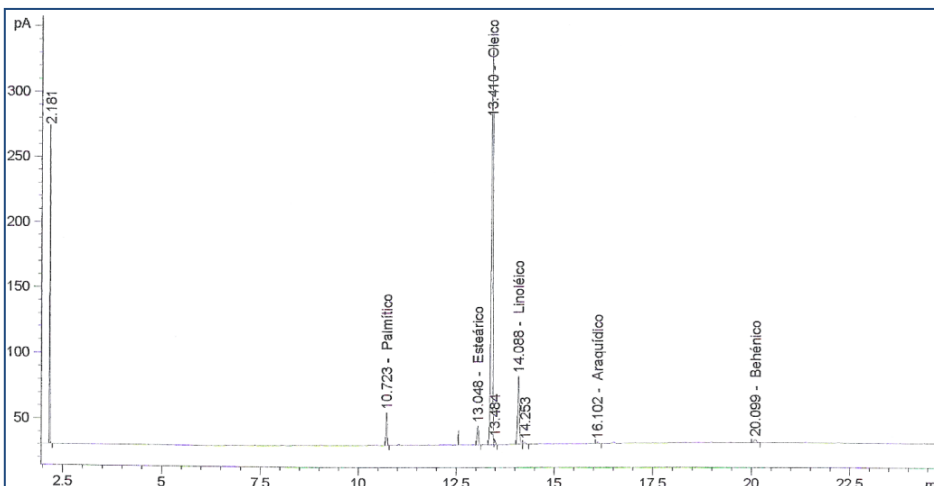
Tocoferoles
en aceite
oleico



Tocoferoles
en aceite de
soya



Tocoferoles
en aceite de
uva



Tocoferoles
en aceite
parcialmente
hidrogenado