



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
INSTITUTO DE INVESTIGACION EN NUTRICION  
MAESTRIA EN NUTRICION**



**Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega-3 y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica, en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo**

**BÁRBULA, Junio 2017**

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACION EN NUTRICION**  
**MAESTRIA EN NUTRICION**

**Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega-3 y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica, en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo**

**Autor:**

**Lcdo. Jesus, Jhon Dalton**

**Tutor:**

**Dra. Nelina Ruíz F.**

**BÁRBULA, Junio 2017**

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACION EN NUTRICION**  
**MAESTRIA EN NUTRICION**

**Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega-3 y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica, en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo**

**Autor:**

**Lcdo. Jesus, Jhon Dalton**

**Trabajo de grado presentado ante el área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo para optar al Título de Magister en Nutrición**

**BÁRBULA, Junio 2017**

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACION EN NUTRICION**  
**MAESTRIA EN NUTRICION**  
**ASIGNATURA SEMINARIO II**

**Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega-3 y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica, en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo**

**Autor:**

**Lcdo. Jesus, Jhon Dalton**

**Aprobado en la Facultad de ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo por:**

**Nombre, Apellido y CI:** \_\_\_\_\_

**Nombre, Apellido y CI:** \_\_\_\_\_

**Nombre, Apellido y CI:** \_\_\_\_\_

**BÁRBULA, Junio 2017**



## ACTA DE DISCUSIÓN DE TRABAJO DE GRADO

En atención a lo dispuesto en los Artículos 137, 138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo de Grado titulado:

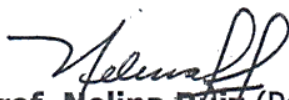
### PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN ERITROCITOS E ÍNDICE OMEGA - 3 Y SU ASOCIACIÓN CON MARCADORES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA EN ESCOLARES DE DOS ESTRATOS SOCIOECONÓMICOS DEL MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO

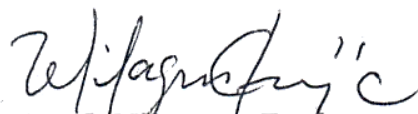
Presentado para optar al grado de **Magíster en Nutrición**, por el (la) aspirante:


**JESUS A., JHON D.**  
C.I. V- 20825070

Habiendo examinado el Trabajo presentado, bajo la tutoría del profesor(a): Nelina Ruiz C.I. 9680781, decidimos que el mismo está **APROBADO**.

Acta que se expide en valencia, en fecha: **13/06/2017**

  
**Prof. Melina Ruiz** (Pdte)  
C.I. 9680781  
Fecha: 13/06/2017

  
**Prof. Milagros Espinoza**  
C.I. 8609833  
Fecha: 13/06/2017

  
**Prof. Alba de Salim**  
C.I. 3315181  
Fecha: 13/06/2017

## **DEDICATORIA**

A Dios padre, por ser mi fuente de fuerza e inspiración diariamente.

A mis padres, por todo su amor y ayuda incondicional que me han prestado desde siempre, les debo la vida y más.

A mis hermanos Johann Jesus y Jackeline Jesus, porque son mi ejemplo a seguir.

A Estefanía Ávila por motivarme, inspirarme y darme diariamente todo el apoyo necesario para culminar y no permitirme desistir.

A Patricia Méndez, Esleiker Amaya, Hanne Campbell y Marianny Arciniegas, por siempre corregirme y creer en mí.

A mis amigos, que estuvieron presentes en todo este camino.

A mis profesores, personal administrativo y obrero de la Escuela de Bioanálisis, por siempre creer en mí; en especial a las profesoras Doris Nobrega, Yuritmia Ruiz, Lisbeth Prada y Maria Rosa Cabrera.

A mis estudiantes de la Escuela de Bioanálisis, por motivarme siempre a continuar.

A todo el personal del Departamento de Parasitología, de la Escuela de Cs. Biomédicas y Tecnológicas, de la Universidad de Carabobo, de quienes aprendo diariamente.

A mi tutora de tesis la Dra. Nelina Ruíz, quien ha sido como una madre, que con su amor, paciencia y conocimientos invaluable, facilito mucho la realización de este trabajo: A ella le debo la culminación del mismo y todo el conocimiento que ahora puedo compartir.

Al Estimado Dr. Edgar Acosta, por haberme motivado en empezar este camino, y por haber sido como un Padre durante este trayecto.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Dra. Nelina Ruíz, por haberme aceptado como su tesista, por todos sus conocimientos, dedicación, paciencia, por su confianza, también por haberme corregido cuando lo amerite y por siempre inspirarme cada día a ser un investigador con conciencia a ayudar a nuestro prójimo a través de la ciencia.
- Al personal docente, de investigación y administrativo del Instituto de Investigaciones en Nutrición, de la Universidad de Carabobo, por ser mi gran apoyo y motivación durante este proceso.
- A personal de las escuelas: Unidad Educativa “Crispina Mercado”, Escuela Básica Nacional Bárbula, Unidad Educativa “Dr. Lisandro Lecuna”, Escuela Básica “María Teresa Coronel”, Escuela Básica “José Félix Sosa” y Escuela Básica “Atanasio Girardot”.
- A los niños y padres que participaron en este estudio, sin ellos esta investigación no hubiera sido posible.
- Al Dr. Virgilio Bosch por brindarme apoyo y asesoría en la Sección de Lipidología del Instituto de Medicina Experimental en la Universidad Central de Venezuela (IME-UCV).
- A la Dra. Hilda Alonso, por su apoyo durante mi estancia en la Sección de Lipidología del IME-UCV.



- A la Licenciada Ninoska García, por todo su apoyo y conocimientos aportados durante el procesamiento de las muestras en la Sección de Lipidología del IME-UCV.
- Al Licenciado Rafael García, por su apoyo técnico en la Sección de Lipidología del IME-UCV-

## INDICE GENERAL

PAGINAS PRELIMINARES.....	i
INDICE GENERAL.....	ix
INDICE DE TABLAS.....	x
INDICE DE FIGURAS.....	x
INDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
CAPITULO I EL PROBLEMA.....	13
1.1. Planteamiento del problema.....	13
1.2. Objetivos de la investigación.....	23
1.3. Objetivo General.....	23
1.4. Objetivos Especificos.....	23
1.5. Justificación.....	24
CAPITULO II EL MARCO TEORICO.....	26
2.1. Antecedentes.....	26
2.2. Bases teóricas.....	30
CAPITULO III EL MARCO METODOLOGICO.....	56
CAPITULO IV RESULTADOS.....	82
4.1. Presentación y Análisis de Resultados.....	82
CAPITULO V DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES...	93
5.1. Discusión.....	93
5.2. Conclusiones.....	110
5.3. Recomendaciones.....	111
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	112
ANEXOS.....	126

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Distribución de la muestra estudiada según la edad, género y estrato socio económico Naguanagua, Estado Carabobo.....</b>	<b>83</b>
<b>Tabla 2. Porcentaje de Ácidos Grasos eritrocitarios en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo...</b>	<b>85</b>
<b>Tabla 3. Sumatorias y Relaciones de los ácidos grasos eritrocitarios en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>86</b>
<b>Tabla 4. Asociación entre estrato socioeconómico y elevación de ácidos grasos eritrocitarios esenciales precursores y sus productos, en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 5. Marcadores de peroxidación lipídica en escolares, según estrato socioeconómico y en la muestra total. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 6. Asociación entre estrato socioeconómico y elevación de los marcadores de peroxidación lipídica, según estrato socioeconómico y en la muestra total. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>89</b>
<b>Tabla 7. Análisis de correlación entre indicadores de peroxidación lipídica, porcentajes de ácidos grasos y relaciones calculadas a partir de los mismos, en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>91</b>
<b>Tabla 8. Predictores de los indicadores de peroxidación lipídica y ácidos grasos eritrocitarios evaluados. Naguanagua, Edo. Carabobo.....</b>	<b>92</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura1. Reacciones básicas que ocurren durante la peroxidación lipídica.</b>	<b>53</b>
--	-----------

## **INDICE DE ANEXOS**

ANEXO A. Consentimiento Informado.....	127
ANEXI B. Encuesta.....	129

## Resumen

**Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega-3 y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica, en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo.**

**Objetivo:** relacionar el perfil de ácidos grasos (AGs) eritrocitarios e índice omega-3 con indicadores plasmáticos de lipoperoxidación en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo. **Métodos:** estudio descriptivo-transversal, no experimental. Muestra conformada por 91 escolares (7-9 años) de estrato III (n=45) y estrato V (n=46) según método de Graffar-Méndez Castellanos, que asistieron a escuelas públicas de Naguanagua, Edo. Carabobo, Venezuela durante 2005-2007. Se determinó el perfil de ácidos grasos en eritrocitos (mol%) y en plasma sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, susceptibilidad de oxidación *in vitro* de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad, LDL oxidada circulante *in vivo* (LDLox) y colesterol total. Se calcularon relaciones y sumatorias de AGs, índice omega-3 (%ácido eicosapentaenoico+%ácido docosahexaenoico) y la relación LDLox/colesterol total. **Resultados:** el porcentaje de ácido eicosapentaenoico fue significativamente mayor en los niños del estrato V, mientras que el índice n-6/n-3 y las relaciones 20:4n-6/20:5n-3, 20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3) fueron significativamente mayores en el estrato III. El índice omega-3 fue bajo (< 4%) en 88% de los niños, sin asociación con el estrato socioeconómico. Los niños de estrato III mostraron niveles significativamente más elevados de LDLox, susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la LDL y colesterol total. La LDL oxidada, susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la LDL y VLDL y la relación n6/n3 fueron predichas por el estrato socioeconómico. **Conclusiones:** el perfil eritrocitario de AGs e indicadores de peroxidación lipídica mostraron diferencias por estratificación socioeconómica en los escolares estudiados. Los hallazgos sugieren la necesidad de intervención con alimentos fortificados con EPA y DHA. Trabajos más amplios deberán confirmar los resultados obtenidos.

**Palabras Clave:** ácidos grasos, eritrocitos, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, LDL oxidada, índice omega-3, escolares, Venezuela.

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA

#### 1.1. Planteamiento del problema

Los lípidos son macronutrientes que forman parte de los tejidos de plantas y animales, están clasificados como: esteroides, fosfolípidos, esfingomielinas, ceras y grasas. A su vez el principal componente de todas las grasas corresponde a los ácidos grasos (AGs), ácidos orgánicos que generalmente contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 8 y 22. Las propiedades biológicas de los AGs dependen del largo de su cadena alifática, del número y posición de sus dobles enlaces y de su configuración *cis/trans*. Los AGs se clasifican en insaturados y saturados, según tengan o no dobles enlaces en su cadena alifática <sup>(1)</sup>.

Los AGs insaturados pueden ser monoinsaturados o poliinsaturados. Dentro de los AGs monoinsaturados se encuentra el ácido oleico perteneciente a la familia n-9 ( $\omega$ -9) de posición *cis*, el cual es el componente fundamental del aceite de oliva. Por su parte, existen dos ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs) también de posición *cis*, conocidos como ácidos grasos esenciales (AGEs) ya que deben obtenerse de la dieta, éstos son el ácido linoleico (AL) y el ácido alfa-linolénico (ALN), los cuales pertenecen respectivamente a la familia de los AGs n-6 o n-3, también conocidos como  $\omega$ -6 u  $\omega$ -3. Estas dos familias se diferencian por la posición del primer doble

enlace, contando a partir del extremo metilo de la molécula del ácido graso. La esencialidad de dichos AGs se debe a que los mamíferos carecen de las enzimas necesarias para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono que están más allá del carbono 9 a partir del carboxilo terminal, a diferencia de la familia  $\omega$ -9 que si puede ser sintetizada <sup>(1)</sup>.

Dentro del organismo, los AGPIs se pueden convertir en otros de cadena larga (AGPIs-CL) con más insaturaciones, como son el ácido araquidónico (AA), el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) los cuales conservan su posición *cis* <sup>(1)</sup>. El AA es el principal AGPI-CL de la familia  $\omega$ -6, se sintetiza a partir del AL a través de una secuencia alterna de desaturaciones y elongaciones (el AA y sus productos finales están involucrados en procesos fisiológicos del cerebro). La misma vía metabólica permite transformar el ALN en DHA y EPA, los cuales son los principales productos de la familia  $\omega$ -3, esto explica la posible competencia metabólica existente ante un desbalance entre las familias  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 <sup>(2,3)</sup>.

El consumo de ambas familias de AGPI  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 debe ser equilibrado para conservar un buen estado de salud, sin embargo, hoy se hace énfasis en la necesidad de ingerir alimentos ricos en  $\omega$ -3, debido a que la dieta actual tiene una deficiencia relativa de  $\omega$ -3 en relación con los  $\omega$ -6 <sup>(4,5)</sup>; este desbalance quizás se deba al consumo de aceites vegetales ricos en  $\omega$ -6, el cual es muy frecuente. Tras la ingesta

de AGs omega-3, la formación preferente de eicosanoides de la familia  $\omega$ -3 (tromboxano  $A_3$  y prostaglandina  $I_3$ ) cuya función neta es de actuar como anti-trombóticos y vasodilatadores, afecta significativamente el balance de eicosanoides de la familia  $\omega$ -6 (tromboxano  $A_2$  y prostaglandina  $I_2$ ), los cuales tienen efectos pro-trombóticos, pro-inflamatorios y vasoconstrictores <sup>(6)</sup>.

Desde algunos años atrás se cuenta con evidencia de que los AGPIs  $\omega$ -3 reducen el riesgo de cardiopatía isquémica <sup>(7)</sup>. La OMS recomienda el consumo mínimo diario de 0,3-0,5 g de EPA y DHA en la población general, mientras que se recomienda la ingesta de 1 g/día de ácidos grasos omega-3 en individuos con antecedentes de enfermedad coronaria <sup>(8)</sup>. El enriquecimiento de los fosfolípidos de las membranas celulares con EPA y DHA puede tener efectos muy importantes. Por su naturaleza altamente insaturada, estos AGs alteran las propiedades de la membrana <sup>(9)</sup>, conduciendo a cambios en el microentorno de las proteínas transmembrana (ej. los receptores), alterando la manera en que éstas interactúan con sus ligandos <sup>(10)</sup>.

La modificación de la composición de los AGs de la membrana también puede afectar la habilidad de las proteínas para asociarse a las membranas y consecuentemente para interactuar con otros complejos multiproteínas que participan en los sistemas de señalización celular <sup>(11,12)</sup>; de esta manera también se ha



comprobado que ejercen potentes efectos anti-inflamatorios a través de la unión a receptores específicos en la membrana de células T, lo cual inhibe su activación <sup>(13,14)</sup>.

Recientemente se ha propuesto un nuevo factor de riesgo de muerte por cardiopatía isquémica con base a los resultados de diversos estudios en los que se demostró una fuerte relación inversa entre el contenido de EPA+DHA de los hematíes y el síndrome coronario agudo <sup>(15,16)</sup>. Este factor de riesgo fue denominado índice omega-3 y se calcula como el porcentaje de EPA+DHA del total de AGs contenidos en los eritrocitos, sugiriéndose puntos de corte de acuerdo con el nivel de riesgo que éste otorga. Se considera nivel cardio-protector cuando el índice omega-3 es del 8% o más. El incremento de riesgo de muerte por cardiopatía isquémica está asociado con un índice menor del 4% y el riesgo intermedio es el que se sitúa entre el riesgo alto y el bajo <sup>(17)</sup>.

El índice omega-3 se ha comparado con otros factores de riesgo para enfermedad cardiovascular, encontrándose como predictor de enfermedad coronaria a diferencia de los otros indicadores que tienen significancia pero cuando el proceso aterogénico ya está instaurado, de este modo se ha propuesto su aplicación como indicador temprano para enfermedad cardiovascular <sup>(7)</sup>.

Por otro lado, la configuración de los AGs insaturados tiene importancia biológica, por lo que vale la pena referirse a ésta. Dicha configuración puede ser *cis* o *trans*. Los AGs insaturados naturales tienen casi invariablemente la primera

configuración. Por su parte, los AGs de configuración *trans* son AGs insaturados con al menos un enlace doble, en donde los átomos de hidrogeno sustituyentes unidos a los átomos de carbono que poseen el enlace doble, se encuentran en direcciones opuestas al plano delimitado por el doble enlace ya mencionado <sup>(18)</sup>. La hidrogenación industrial de AGPIs de posición *cis*, muy utilizada para la producción de margarinas, comida rápida, galletas, etc, provoca la formación de AGs *trans*. Otra fuente de origen durante la preparación de alimentos es el proceso de fritura <sup>(19-21)</sup>.

Un alto consumo de AGs *trans* provoca la modificación de las membranas celulares, confiriéndole más rigidez ya que su configuración es similar a la de los AGs saturados <sup>(19,22)</sup>. En este orden de ideas, múltiples estudios realizados desde la década de los noventa han demostrado que la ingesta de AGs *trans* provenientes de los aceites hidrogenados industrialmente tiene efectos adversos sobre los lípidos sanguíneos y son más aterogénicos que los AGs saturados, elevando notablemente la relación LDL colesterol/HDL colesterol <sup>(23)</sup>. El consumo de AGs *trans* también disminuye el tamaño de las lipoproteínas; el predominio en el plasma de LDL pequeña y densa está asociado a un mayor riesgo de ECV por su mayor susceptibilidad de oxidación, entre otras razones <sup>(24-26)</sup>.

Todo lo hasta ahora expuesto hace comprender que la dieta es el factor fundamental que condiciona la composición en AGs que adquieren las células del

organismo, siendo así tan importante la cantidad de grasa ingerida como la calidad de la misma ya que esta última se asocia plausiblemente con diferentes procesos fisiopatológicos. Por mucho tiempo se pensó que esto último era relevante solo para la salud del adulto, sin embargo, las evidencias acumuladas se han encargado de demostrar que también lo es para los niños.

En tal sentido, hoy se reconoce que la dieta es el principal, aunque no el único, determinante del estado nutricional durante el crecimiento y desarrollo. Más aun, el estado nutricional durante la infancia es un fuerte predictor del estado nutricional en la adultez <sup>(27)</sup>. Como se sabe, existen periodos de la vida donde el individuo es más susceptible desde el punto de vista nutricional. Específicamente, los niños durante la edad escolar pueden ser vulnerables a alteraciones nutricionales, bien sea por déficit o por exceso, al atravesar una serie de cambios propios de su edad que incluyen el desarrollo de un grado de independencia que les permite frecuentemente patrones de consumo alimentario que no favorecen el aporte balanceado de nutrientes, presentándose con relativa frecuencia alteraciones, un ejemplo de ello son modificaciones del perfil lipídico asociadas a un alto riesgo cardiovascular <sup>(28)</sup>.

Lo anteriormente expuesto permite proponer a la infancia como una ventana de oportunidades para prevenir los factores de riesgo para enfermedades crónicas no transmisibles relacionados con la dieta, como la aterosclerosis, ya que en muchos casos estos factores aparecen en el niño y persisten en el adulto. Dicho

planteamiento adquiere aún mayor relevancia a la luz de los resultados de diversos trabajos de investigación, como el estudio PDAY “Pathological Determinants of Atherosclerosis in Youth” <sup>(29)</sup>, los cuales han confirmado que el desarrollo de las primeras lesiones ateroscleróticas se inicia precisamente en la infancia.

El rol de las grasas en la aterosclerosis es indiscutible. El aumento de los niveles plasmáticos de colesterol, particularmente en forma de lipoproteína de baja densidad (LDL), es un importante factor pero no el único en la patogénesis de la enfermedad <sup>(30)</sup>. En este sentido, los cambios oxidativos en las LDL constituyen un paso clave en la aterosclerosis. Las LDL oxidativamente modificadas son captadas de forma incontrolada por los macrófagos y células musculares lisas, originándose células espumosas que son base para el desarrollo de la placa de ateroma <sup>(31)</sup>.

Por otra parte, también se concede importancia a las modificaciones oxidativas que pueden sufrir otras lipoproteínas, como la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL). Aunque todavía existe mucho que aclarar sobre este aspecto, se sabe que su oxidación incrementaría la captación de lípidos por parte de las células espumosas. La VLDL se ha encontrado en lesiones ateroscleróticas <sup>(32,33)</sup>, proponiéndose que en situaciones que impliquen aumento de la concentración de triglicéridos es probable que la VLDL contribuya significativamente al riesgo cardiovascular <sup>(34)</sup>.

No existen observaciones extensas sobre la oxidación lipídica en los niños. Un estudio en niños sanos, normo-colesterolémicos y libres de riesgo cardiovascular ha reportado títulos incrementados de anticuerpos contra LDL oxidada, lo cual se correlaciona con la susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la LDL aislada del plasma <sup>(35)</sup>. En niños venezolanos de estrato socioeconómico bajo, se ha informado una gran variabilidad en torno a la susceptibilidad de oxidación de las LDL y VLDL del plasma, encontrando un grupo de niños que no mostró susceptibilidad a oxidación mientras otro sí, lo cual pudiera atribuirse al tipo de dieta mantenida y específicamente a la calidad de los AGs ingeridos y consumo de antioxidantes <sup>(36)</sup>.

En este orden de ideas, una alta proporción de AGPIs en las lipoproteínas les confiere gran susceptibilidad a la oxidación, mientras una alta proporción de AGs monoinsaturados las protege contra ésta. La susceptibilidad a la oxidación de la lipoproteína también es altamente dependiente del contenido de antioxidantes en la lipoproteína. Tanto la composición en AGs como la proporción de antioxidantes son dependientes de la ingesta dietética <sup>(37)</sup>.

Es necesario recordar que la ingesta dietética de un individuo está fuertemente condicionada por diversos factores, entre otros por su situación socioeconómica, estableciéndose una compleja relación entre la dieta, el estrato socioeconómico (ESE) y ciertas enfermedades. Diversas observaciones apuntan a una mayor prevalencia de

obesidad entre los individuos de menores recursos económicos en los países desarrollados <sup>(38)</sup>; mientras que en los países en vías de desarrollo los individuos de mayor ESE serían los más afectados por el sobrepeso <sup>(39)</sup>. Hallazgos epidemiológicos indican que el ESE se asocia de manera inversa con la mortalidad y la morbilidad por enfermedad cardiovascular en los países desarrollados, mientras que la evidencia de esta asociación en los países en vías de desarrollo no es totalmente consistente <sup>(40)</sup>.

En Venezuela no existen datos amplios sobre el patrón de AGs dietarios consumidos en los diferentes estratos socioeconómicos. En tal sentido, la caracterización del perfil de AGs de la leche materna de mujeres venezolanas de bajo estrato socioeconómico demostró un bajo contenido de DHA, no alcanzando los 70 mg/día que se han considerado necesarios para sostener el crecimiento de las estructuras del sistema nervioso y la retina <sup>(41)</sup>. Por el contrario, la familia  $\omega$ -6 se encontró bien representada, debido al alto contenido de AL y a una cantidad de AA parecida a las encontradas en poblaciones con una alimentación más adecuada, sugiriéndose que el alto valor de AL seguramente deriva del uso muy frecuente de aceites vegetales ricos en este ácido graso (soja, girasol, maíz, ajonjolí, maní) para la preparación de los alimentos <sup>(41)</sup>.

Estudios realizados en países latinoamericanos también orientan sobre las posibles diferencias entre estratos socioeconómicos en relación al perfil de AGs consumidos. En la población colombiana, el uso del aceite de girasol, como grasa

principal para cocinar, ha sido asociado positivamente al estatus socioeconómico <sup>(42)</sup>; situación similar se demostró en Costa Rica con el aceite de soja <sup>(43)</sup>. Se conoce que los aceites de mayor consumo en la población venezolana son el aceite de maíz, girasol y soja <sup>(44)</sup>. Tales aceites contienen porcentajes importantes de ácido linoleico (C18:2 n-6), el cual por sus insaturaciones se asocia a un aumento de la susceptibilidad de oxidación de la LDL <sup>(45,46)</sup>.

Considerando que los AGs pueden comportarse como sustratos oxidables, que la dieta constituye su vía de ingreso al organismo y que el nivel socioeconómico del individuo condiciona fuertemente el consumo dietario, es posible plantear las siguientes interrogantes: ¿Existen entre los escolares diferencias en el perfil de AGs eritrocitarios, índice omega-3 y marcadores de peroxidación lipídica según estratificación social?, de existir tales diferencias ¿Qué estrato socioeconómico reflejaría un mejor estado de tales indicadores?, asimismo ¿De qué modo se asocian entre si dichos indicadores en los escolares?. Con el fin de dar respuesta a estas interrogantes, el presente estudio tuvo por finalidad relacionar el perfil de ácidos grasos eritrocitarios e índice omega-3 con indicadores plasmáticos de oxidación lipídica en un grupo de escolares venezolanos de dos estratos socioeconómicos. La información generada permitió aportar información ajustada a la realidad social y nutricional de nuestros escolares.

## 1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.2.1 Objetivo General

Relacionar el perfil de ácidos grasos eritrocitarios e índice omega-3 con indicadores plasmáticos de oxidación lipídica en escolares de dos estratos socioeconómicos del Municipio Naguanagua, Edo. Carabobo.

### 1.2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar el grupo estudiado según edad, sexo y estrato socioeconómico.
2. Determinar el perfil de ácidos grasos eritrocitarios e índice omega-3 en la muestra en estudio.
3. Determinar la susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad del plasma.
4. Determinar la concentración plasmática de LDL oxidada circulante y de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en plasma.
5. Comparar el perfil eritrocitario de ácidos grasos, índice omega-3 e indicadores de peroxidación lipídica según estrato socioeconómico.
6. Asociar las variables estudiadas con el estrato socioeconómico.



### 1.3 JUSTIFICACION

El perfil de AGs en la membrana de los eritrocitos constituye un reflejo representativo de la calidad de la ingesta dietaria, ya que no sólo durante la maduración de reticulocitos en la médula ósea los AGs se van incorporando a esta membrana sino por intercambio directo con el plasma <sup>(47)</sup>, al circular como células maduras, mostrando así el consumo sostenido en los tres meses anteriores y no de una ingesta aguda o puntual. Por su parte, el índice  $\omega$ -3 obtenido a partir de dicho perfil, representa hoy una herramienta de evaluación del riesgo coronario <sup>(15,17)</sup>.

Es justamente durante la etapa pediátrica en la que más interesa ampliar el conocimiento sobre las variaciones de la composición eritrocitaria de AGs, no solo por la poca información con la que se cuenta en niños venezolanos según la revisión bibliográfica realizada, sino también por la vulnerabilidad que desde el punto de vista nutricional se asocia a la edad escolar, ya comentada anteriormente.

Por su parte, siendo la aterosclerosis un proceso que se inicia desde la infancia y la lipoperoxidación un evento clave en el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas que más tarde generaran eventos cardiovasculares, resulta justificada la evaluación de parámetros de oxidación lipídica en escolares. Esto último es

reforzado por el señalamiento que ha hecho la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cual apunta a que las enfermedades cardiovasculares son responsables de 32 millones de eventos coronarios y accidentes cerebro-vasculares, estimando que el problema es mucho mayor en países en vía de desarrollo <sup>(48)</sup>. En Venezuela, durante el año 2012, las enfermedades del corazón ocuparon el primer lugar como causa de muerte, al representar 1 de cada 5 defunciones registradas y en Carabobo se contabilizaron más de 2500 muertes por estas enfermedades en el mismo año <sup>(49)</sup>.

En la actualidad los organismos internacionales vigilantes de la salud mundial promueven con gran énfasis las investigaciones que contribuyan a esclarecer el rol del contexto socioeconómico sobre la salud ya que consideran la equidad de la salud como un derecho fundamental de todos los seres humanos. Bajo tal premisa resulta importante verificar si el perfil de AGs y marcadores de peroxidación lipídica varían con la estratificación en los escolares venezolanos. Más aun, la información aportada por esta investigación sirve como referencia para otros estudios similares ya que las muestras analizadas fueron recolectadas entre 2005 y 2007, años en los cuales la situación alimentaria del país fue diferente a la actual, pues resultan notorios los cambios que se han producido en la disponibilidad de alimentos así como en el poder adquisitivo de la población venezolana al transcurrir una década.

Por último, los resultados de este estudio contribuyen a brindar basamento al futuro desarrollo de recomendaciones nutricionales más acordes con la realidad de los

niños venezolanos a fin de reducir la incidencia futura de enfermedades cardiovasculares en los adultos.

## **2. MARCO TEORICO**

### **2.1 Antecedentes**

En atención a la escasa bibliografía en niños, que refleje la relación entre AGs eritrocitarios, oxidación lipídica y estratificación socioeconómica, se exponen antecedentes bibliográficos que, si bien su fecha de publicación es superior a los cinco previos, muestran hallazgos que se mantienen como bases válidas para el presente trabajo. Asimismo, para lograr una exposición clara de la información, se presentan en primer lugar los antecedentes que abordan la composición eritrocitaria de AGs y el índice omega-3 y en segundo lugar aquellos relacionados con la lipoperoxidación.

En 2008 Cohen y col. <sup>(50)</sup> intentaron comprobar si el estrato socioeconómico bajo se relacionaba con niveles eritrocitarios bajos de AGPIs de familia  $\omega$ -3, en pacientes con enfermedad coronaria. Para ello realizaron un estudio de corte transversal en 987 adultos con enfermedad arterial coronaria estable (EAC), procedentes de clínicas ubicadas en San Francisco, EE.UU. Se estableció el estrato socio-económico considerando los ingresos económicos, educación, ocupación, y vivienda, y se evaluó la cantidad de AGPIs  $\omega$ -3 en eritrocitos, específicamente de DHA y EPA, a través de cromatografía de gas capilar. Los participantes con ingresos

económicos bajos, educación incompleta, ocupación inestable y vivienda en medios urbanos, en general, arrojaron niveles significativamente más bajos de  $\omega$ -3, sin embargo, después del ajuste por los factores demográficos, el estado de vivienda no fue relacionado con los niveles de DHA o EPA. En los pacientes con EAC, los ingresos familiares, la educación, y la ocupación se encontraron relacionados directamente con los niveles eritrocitarios de los AGPIs  $\omega$ -3, confirmando la posibilidad de que la calidad de la ingesta de los AGPIs  $\omega$ -3 podría ser un importante factor en la asociación entre estrato socioeconómico bajo y enfermedad cardiovascular.

Por su parte, los estudios en poblaciones pediátricas no son tan amplios, por ello Orton y col. <sup>(51)</sup> realizaron un estudio de validación de la dieta de cuatrocientos cuatro jóvenes entre 1-11 años, mediante la comparación de la ingesta dietética de ácidos AGs omega-3 y omega-6, evaluada por un cuestionario de frecuencia alimentaria semicuantitativa aplicada a los padres y por el perfil de ácidos grasos eritrocitarios de cada individuo determinado por cromatografía de gas. Utilizaron modelos mixtos para probar la asociación y calcular la correlación entre el perfil de AGs eritrocitarios y la ingesta de AGPIs utilizando todos los registros de consumo para cada joven. Encontraron que el cuestionario de ingesta aplicado a los padres proporcionó estimaciones de la ingesta a mediano largo plazo de AGPIs, que se correlacionaban bien con su estado de AGs en la membrana de los eritrocitos. La

correlación más significativa fue entre la ingesta de pescado por encuesta y el contenido eritrocitario de EPA y DHA.

Burrows y cols. <sup>(52)</sup> en 2011 estudiaron la relación entre el índice de omega-3, el peso y la resistencia a la insulina en niños. La muestra estuvo constituida por 24 niños con edad comprendida de 5 a 12 años de una escuela australiana, los cuales fueron clasificados como obesos y no-obesos, por medio del índice de masa corporal. El consumo de grasas fue evaluado a través de un cuestionario hecho a uno de los padres y se midió perfil de AGs en eritrocito usando cromatografía de gas. Una proporción significativa de los niños obesos (33%) mostraron un índice omega-3 < 4,0% (riesgo alto) comparado con niños no-obesos (17%). Simultáneamente, el número de niños con índice omega-3 alto (6,0-8,0% bajo riesgo) fue más bajo en el grupo de los obesos (13%) versus niños no-obesos (25%). Existió una moderada pero significativa correlación inversa entre el índice omega-3 y el nivel de insulina en ayunas. Los autores concluyeron que el índice omega-3 en niños podría ser un indicador valioso para riesgo cardiovascular y resistencia a la insulina, sin embargo, recomendaron realizar más investigaciones sobre el tema.

En otro orden de ideas, se ha planteado que la peroxidación lipídica junto a la hipercolesterolemia podrían ser factores de riesgo en edades tempranas para el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, generándose interés su estudio. Velásquez y col. <sup>(53)</sup> en 2004 evaluaron las concentraciones vitamina E y la peroxidación lipídica a

través de la concentración de malondialdehído o MDA en 134 niños colombianos de edades comprendidas entre 6 a 9 años, de los cuales, 67 tenían valores de LDL  $\geq$  a 130 mg/dl (hipercolesterolémicos) y otros 67 con niveles de LDL  $<$  130 mg/dl. Los escolares con concentraciones séricas de LDL superiores o iguales a 130 mg/dl presentaron mayor concentración plasmática de MDA que aquellos con LDL inferiores a 130 mg/dl, de este modo, la peroxidación lipídica fue mayor en niños hipercolesterolémicos y aumentó a medida que disminuyó la relación plasmática de alfatocoferol/lípidos totales (mg/g), concluyendo que la hipercolesterolemia y la peroxidación lipídica son factores de riesgo cardiovascular que coexisten y se instauran desde la edad escolar

Por su parte, Ruíz y col. <sup>(36)</sup> en 2006 con el objetivo de relacionar la susceptibilidad a la oxidación a variables antropométricas (peso-talla, talla-edad, área grasa), hematológicas (hemoglobina y hematocrito) y bioquímicas (concentración plasmática de colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicéridos y ferritina), estudiaron 24 niños escolares aparentemente sanos (7 a 9 años de edad) que asistieron a unidades educativas de los Estados Carabobo y Lara (Venezuela) durante el periodo escolar 2003-2004. Los niños pertenecieron a los estratos III, IV y V según Graffar Méndez Castellano. La VLDL y LDL aisladas del plasma se sometieron a oxidación *in vitro* con cobre y se midió la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) luego de tres horas de incubación. En este estudio 50% de los niños evaluados presentó oxidación de la LDL, 62,5% oxidación de la VLDL y 33%

oxidación de ambas lipoproteínas. La susceptibilidad a la oxidación no se encontró asociada a las variables antropométricas y hematológicas estudiadas.

Otro marcador de estrés oxidativo que se ha asociado con la obesidad, resistencia a la insulina, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular en los adultos <sup>(54)</sup>, es la concentración de LDL oxidada circulante en plasma. Sin embargo, poco se conoce acerca de dicho indicador en niños. En 2010 Kelly y col. <sup>(55)</sup> evaluaron en 78 niños la relación entre LDL oxidada circulante, medidas de adiposidad (índice de masa corporal, porcentaje de grasa corporal, circunferencia de cintura, el porcentaje de grasa del tronco, visceral abdominal y la grasa subcutánea) y resistencia a la insulina medida por clamp euglucémico (Mlbm). Los niveles de LDL oxidada fueron significativamente mayores en los niños con sobrepeso/obesidad con respecto a los niños de peso normal y correlacionaron directamente con los indicadores de adiposidad e insulinoresistencia. Los autores concluyeron que la LDL oxidada se asoció significativamente con la adiposidad y con la resistencia a la insulina, independientemente de la grasa corporal, en los niños estudiados.

## **2.2 Bases teóricas**

### ***2.2.1 Ácidos Grasos***

Los principales componentes de todas las grasas son los AGs, que pueden ser saturados e insaturados según la ausencia o presencia de dobles enlaces en su estructura, respectivamente <sup>(1)</sup>.

Los AGs pueden clasificarse en cuatro grupos de acuerdo con la longitud de su cadena <sup>(56)</sup>:

- ❖ AGs de cadena corta (4-6 átomos de carbono)
- ❖ AGs de cadena media (8-12 átomos de carbono)
- ❖ AGs de cadena larga (14-18 átomos de carbono)
- ❖ AG de cadena muy larga (20 o más átomos de carbono)

Los AGs presentes en el organismo se encuentran en su forma saturada, principalmente como ácido palmítico. Por su parte, los AGs insaturados pueden tener un solo doble enlace (monoinsaturados o monoenoicos) o más de un doble enlace (poliinsaturados o polienoicos). El descubrimiento de que algunos AGs pueden actuar como ligandos de factores de transcripción indicó que no son meramente moléculas pasivas que aportan energía sino que también son reguladores metabólicos <sup>(1)</sup>.

Dentro de los AGs monoinsaturados tenemos al ácido oleico de la familia  $\omega$ -9, el cual es el componente fundamental del aceite de oliva. Los AGPIs se encuentran en los aceites vegetales, como el AL de la familia  $\omega$ -6 en los aceites de soya, maíz y girasol, y el ALN de la familia  $\omega$ -3 abundante en los aceites de canola, linaza, colza y



nuez <sup>(57)</sup>. También los pescados de aguas profundas, conocidos como “pescados de carne azul” por el color característico de algunos de sus músculos, son fuente de AGPIs  $\omega$ -3 <sup>(59)</sup>.

Atendiendo a razones fisiológicas, para la nomenclatura de los AGs resulta mucho más útil y simple indicar exclusivamente el número de átomos de carbono, el número de dobles enlaces y la posición del primero de ellos contando a partir del carbono terminal no carboxílico, añadiendo las letras  $\omega$  o n. Como ejemplo, el ácido linolénico se denomina como 18:3 n-3 o 18:3  $\omega$ -3. Se indica así que existe un doble enlace en el carbono 3, contando a partir del metilo terminal y otros dos dobles enlaces situados a partir de éste, de manera no conjugada, quedando siempre un metileno entre ellos; por tanto, el siguiente enlace se encuentra en posición omega-6 ( $\omega$ -6) y el último en omega-9 ( $\omega$ -9) <sup>(1)</sup>.

La presencia de un doble enlace determina que existan dos tipos de configuraciones, la forma *cis* donde los sustituyentes iguales de los átomos de carbono que forman el doble enlace se encuentran situados en el mismo lado con respecto al plano que determina el doble enlace carbono-carbono y la forma *trans* donde los sustituyentes se ubican en lados opuestos <sup>(59)</sup>. Cabe destacar que los dobles enlaces adoptan casi siempre una conformación de tipo *cis*, lo que origina un ángulo de aproximadamente 120° en dicha posición y, por tanto, un acomodamiento de la molécula. Al aumentar el número de dobles enlaces, se origina una importante

curvatura en la molécula del ácido graso con relevantes repercusiones en la conformación de los triglicéridos y fosfolípidos que contienen a estos AGs <sup>(60)</sup>.

Los AGs con dobles enlaces en posición trans proceden de modo natural de la grasa de la leche y de la carne de los rumiantes formados por la microbiota de estos animales. También se pueden originar por transformación química de los AGs de posición cis, en determinados procesos tecnológicos <sup>(44)</sup>. Los AGs con doble enlaces trans son rectos, por lo que sus propiedades biológicas cambian y se relacionan con hipercolesterolemia <sup>(56)</sup>.

## ***2.2.2 Metabolismo Lipídico***

### ***2.2.2.1 Digestión***

La digestión de los lípidos comienza en la boca, donde como respuesta a la masticación y a los estímulos nerviosos se segrega la lipasa lingual, que hidroliza algunos enlaces ésteres de los ácidos grasos de cadena corta y media de los triglicéridos. Éstos pasan al estómago donde interviene la lipasa gástrica. La emulsión formada en el estómago pasa por el píloro al duodeno donde se liberan sales biliares, se favorece una microemulsión y actúa la lipasa pancreática que cataliza la transformación de todos los triglicéridos en AGs libres y 2-monoglicéridos. Además, el jugo pancreático contiene las enzimas: fosfolipasa A2, colesterol esterasa y colipasa, que hidrolizan fosfolípidos y ésteres del colesterol <sup>(61)</sup>.

En el citoplasma del enterocito tiene lugar la reconversión secuencial de los AGs y 2-monoglicéridos en triglicéridos. Estos triglicéridos, junto con otros lípidos resintetizados (fosfolípidos y ésteres de colesterol), migran en forma de vesículas desde la región apical hacia la basal del enterocito (en su tránsito se incorpora una proteína específica, apolipoproteína B-48), hasta formar los quilomicrones. Mediante un proceso de exocitosis, los quilomicrones se segregan a los capilares linfáticos del plexo mesentérico, de donde pasan a los vasos linfáticos y finalmente al torrente sanguíneo donde son transportados hasta los diferentes tejidos, donde son utilizados como fuente de energía, componentes estructurales de las membranas, precursores de metabolitos biológicamente activos o son almacenados como reserva <sup>(62,63)</sup>.

El hígado, músculo esquelético, corazón y corteza renal son los principales aceptores de estos AGs, donde producen energía por oxidación. En el hígado los AGs también pueden participar en la formación de las lipoproteínas de muy baja densidad, regulándose el suministro de AGs a los tejidos extra hepáticos <sup>(62,63)</sup>.

#### ***2.2.2.2 Oxidación de los ácidos grasos***

Los AGs procedentes de la hidrólisis de los triglicéridos se acumulan en el citoplasma celular, mientras que su oxidación se lleva a cabo en la matriz mitocondrial. Los AGs son activados y transportados activamente hasta el interior de la mitocondria. En primer lugar, el AG se transforma en acil-CoA por distintas isoenzimas de la acil-CoA sintetasa. A continuación, se produce una

transesterificación del grupo acilo de este sustrato a la carnitina por la carnitina acil transferasa I, de manera que el producto formado, acil-carnitina, difunde unido al transportador acilcarnitina/carnitina a través de la membrana mitocondrial hacia el interior de la mitocondria donde tiene lugar la liberación del AG, de nuevo en forma de acil-CoA, por la carnitina acil transferasa II <sup>(62)</sup>.

En el interior de la mitocondria, la oxidación de los AGs se produce en tres fases. La primera fase se denomina  $\beta$ -oxidación, y consiste en la eliminación oxidativa de unidades sucesivas de dos átomos de carbono en forma de acetil-CoA a partir del extremo carboxilo de la cadena de ácido graso. En la segunda fase de la oxidación, los residuos acetilo del acetil-CoA se oxidan a  $\text{CO}_2$  por la vía del ciclo del ácido cítrico. Las dos primeras fases de la oxidación de los AGs reducen los transportadores electrónicos a NADH y  $\text{FADH}_2$ , que en la tercera fase donarán sus electrones a la cadena transportadora mitocondrial donde se forma ATP. Así, la energía liberada por la oxidación de los AGs se conserva en moléculas de ATP <sup>(62)</sup>.

Los peroxisomas también contienen enzimas capaces de oxidar los AGs hasta acetil-CoA. La única diferencia significativa radica en la producción de  $\text{FADH}_2$ , que interacciona directamente con una molécula de oxígeno para producir  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Esta molécula es muy reactiva, tiene propiedades oxidativas y se metaboliza rápidamente por la catalasa en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . Por lo tanto, en los peroxisomas, la energía no se conserva en forma de ATP sino que se disipa en forma de calor <sup>(56)</sup>.

La oxidación peroxisomal es fundamentalmente de AGs de corta y media cadena. Un nivel elevado de grasa en la dieta produce un aumento de la síntesis de enzimas de la  $\beta$ -oxidación peroxisómica en el hígado de mamíferos. El acetato producido por la oxidación de los AGs se exporta al exterior de los peroxisomas. Cuando existe exceso de moléculas de acetil-CoA procedentes de la beta-oxidación de los AGs en el hígado se producen los denominados “cuerpos cetónicos”: acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato y acetona (éste último es volátil y se exhala). En los tejidos extrahepáticos, el  $\beta$ -hidroxibutirato puede oxidarse a acetoacetato que se activa en forma de acetoacetil-CoA y se rompe en dos moléculas de acetil-CoA que entran en el ciclo del ácido cítrico, constituyendo una fuente adicional de energía procedente del hígado para las células extrahepáticas <sup>(62)</sup>.

### ***2.2.2.3 Biosíntesis de los ácidos grasos***

Los AGs se sintetizan en el citoplasma de las células, de manera que así se mantienen separados los procesos biosintéticos de los degradativos. La acetil-CoA carboxilasa (enzima limitante) transforma el acetil-CoA en malonil-CoA que es el sustrato de la ácido graso sintasa; este complejo multienzimático detiene su producción cuando el AG formado es de 16 átomos de carbono. El ácido palmítico (16:0) sintetizado podrá participar en diversas rutas metabólicas de elongación y desaturación <sup>(62,63)</sup>.

La elongación del ácido palmítico tiene lugar en el retículo endoplasmático y en las mitocondrias. Las enzimas que participan, son las ácido graso elongasas, estas difieren en términos de especificidad por el sustrato. En el retículo endoplasmático, el proceso consiste en adición de dos átomos de carbono de una molécula de malonil-CoA al extremo carboxilo final del AG “activado” como palmitoil-CoA. Pueden aumentar de tamaño tanto los AGs saturados como insaturados, pero las elongasas prefieren como sustrato a los AG insaturados. En las mitocondrias, para la elongación se utiliza el acetil-CoA como donador de átomos de carbono; es cuantitativamente menos importante que la elongación del retículo endoplasmático y suele funcionar solo cuando el potencial reductor de la mitocondria es alto <sup>(62,63)</sup>.

La desaturación se cataliza por las acil-CoA desaturasas en el retículo endoplasmático liso y consiste en una reacción en la que el AG correspondiente como acil-CoA y el NADPH se oxidan por una molécula de oxígeno; además participan el citocromo b5 y la citocromo b5 reductasa. El ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0) son los precursores de los AGs monoinsaturados mayoritarios en nuestras células: el ácido palmitoleico (16:1  $\omega$ -7) y el ácido oleico (18:1  $\omega$ -9). La desaturasa que cataliza este proceso se conoce como  $\Delta$ 9-desaturasa, también conocida como estearoil-CoA-desaturasa1 <sup>(56,62)</sup>.

### ***2.2.3 Ácidos grasos esenciales y posibles mecanismos de acción de AGPIs***

Las células de los mamíferos no tienen las desaturasas capaces de introducir un doble enlace en los átomos de carbono 12 ( $\Delta$ 12-desaturasa) y 15 ( $\Delta$ 15-desaturasa) contando a partir del extremo carboxilo de los AGs; por lo tanto, no pueden sintetizar el AL (18:2  $\omega$ -6) ni el ALN (18:3  $\omega$ -6), respectivamente. Estos AGs se consideran “esenciales” porque tienen que ser incorporados a nuestro metabolismo mediante la ingesta de alimentos que los contienen. La carencia de AGs esenciales en la alimentación de los mamíferos conduce a trastornos en el crecimiento, cambios en la piel, alteraciones inmunológicas, neurológicas, serios cambios conductuales y cardiopatías<sup>(56)</sup>.

Los AGs esenciales se utilizan para la síntesis de otros ácidos grasos poliinsaturados de larga cadena (AGPIs-CL), esta biosíntesis se lleva a cabo en los microsomas del retículo endoplásmico de los hepatocitos; de esta forma, el AL es el precursor de AGs  $\omega$ -6; se transforma en ácido  $\gamma$ -linolénico (18:3  $\omega$ -6) mediante la enzima delta-6-desaturasa ( $\Delta$ -6), éste último se elonga para formar el ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico (20:3  $\omega$ -6), que puede sufrir otra desaturación y convertirse en el ácido araquidónico (AA) (20:4  $\omega$ -6) gracias a la delta-5-desaturasa ( $\Delta$ -5) . Por su parte, el ALN es el precursor de los AGs de la serie  $\omega$ -3, a partir de él se forma el ácido estearidónico (18:4  $\omega$ -3) gracias a la delta-6-desaturasa ( $\Delta$ -6), posteriormente se elonga formando ácido eicosatetraenoico (20:4  $\omega$ -3), el cual mediante la delta-5-desaturasa es convertido en ácido eicosapentaenoico o EPA (20:5  $\omega$ -3), este a su vez mediante dos elongaciones, una desaturación (producida por la delta-6-desaturasa) y

por último la  $\beta$ -oxidación (a nivel peroximal), se transforma en ácido docosaheptaenoico o DHA (22:6  $\omega$  -3) <sup>(1,64,65)</sup>.

El EPA y el DHA son considerados AGs esenciales en etapas tempranas del desarrollo de los mamíferos (periodos prenatal y postnatal temprano), puesto que en estas etapas la síntesis de estos AGs a partir de sus precursores no es suficiente para cubrir los elevados requerimientos de este periodo de desarrollo <sup>(1,65,66)</sup>, por ello los mamíferos recién nacidos necesitan ingerir DHA, bien de la madre o añadido a la fórmula láctea <sup>(56,66)</sup>.

La  $\Delta$ 6-desaturasa es la enzima más importante del proceso y el primer paso limitante de la ruta metabólica en la biosíntesis de los AGPIs-CL. Su actividad, junto con la de la  $\Delta$ 5-desaturasa, se encuentra regulada por múltiples factores y metabolitos, en particular algunas hormonas y por los productos finales del proceso, Así, factores que disminuyen la actividad de la  $\Delta$ 5 y  $\Delta$ 6-desaturasa son, el ayuno, el déficit proteico y el déficit de algunos oligoelementos, como el hierro, zinc, cobre o magnesio, que pueden observarse en situaciones de desnutrición, mientras la insulina puede actuar como activador <sup>(1,56)</sup>.

Por otra parte es importante destacar que el AL y el ALN compiten por las mismas enzimas desaturasas y elongasas, produciéndose el mayor nivel de competición a nivel del AA y del EPA. Estas enzimas, especialmente la  $\Delta$ 6-



desaturasa, tienen una mayor afinidad por los AGs más insaturados, es decir los de la serie  $\omega$ -3. Sin embargo el LA es el AG más abundante en la dieta occidental, por lo que los derivados de la serie  $\omega$ -6 se encuentran en una concentración mayor en los tejidos corporales que los de la serie  $\omega$ -3. El porcentaje de ALA presente en los lípidos tisulares y en plasma supone menos del 0,5% de todos los AGs <sup>(65)</sup>.

La mayor especificidad de la  $\Delta$ 6-desaturasa por el ALA se observa por el hecho de que basta un aporte menor al 2% de las calorías como ALA, para que se inhiba casi totalmente la conversión del LA en sus derivados. Sin embargo, se requiere una concentración diez veces mayor de LA para inhibir totalmente la transformación del ALA. Si se quiere bloquear la transformación de LA en AA en un 50% se necesita un aporte del ALA de solo un 0,5% de las calorías. Sin embargo, para reducir a la mitad la transformación del ALA en EPA se requiere un aporte del LA equivalente a un 7% de las calorías <sup>(1,64)</sup>; esta competencia también pudiera explicar porque el consumo elevado de AL reduce el nivel de síntesis para DHA <sup>(64)</sup>.

Aunque vías de síntesis de AGPIs-CL  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 utilizan las mismas enzimas, no hay reacciones cruzadas entre ellas, por lo que no se produce una conversión de AGs  $\omega$ -6 en  $\omega$ -3 o viceversa <sup>(1)</sup>.

El metabolismo enzimático de los AGs: EPA, ácido dihomo- $\gamma$ -linolénico (DHGLN n-6) y AA, produce una amplia variedad de productos oxidados a los que,

en conjunto, se les denomina eicosanoides <sup>(64)</sup>. Los eicosanoides son ácidos carboxílicos de 20 átomos de carbono, distinguiéndose cuatro tipos: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e hidroxiácidos; los dos primeros presentan una estructura cíclica y los dos últimos lineal. Los eicosanoides derivan de los AGs de veinte carbonos, que se encuentran esterificados en la posición 2 de los fosfolípidos. Este proceso ocurre una vez liberados de los fosfolípidos de membrana que contienen estos AGPIs, por acción de la fosfolipasa A2 <sup>(1,56)</sup>.

Los eicosanoides tienen un importante papel en diferentes procesos como la respuesta a la infección de la actividad inflamatoria y del sistema inmunológico, modulando su intensidad y su duración. Además, están implicados en la agregación plaquetaria, liberación de neurotransmisores, regulación del tono vascular, diferentes acciones del sistema endocrino, regulación de secreciones gastrointestinales y acciones sobre el árbol bronquial entre otras <sup>(1)</sup>.

Se han propuesto varios mecanismos mediante los cuales los AGPIs  $\omega$ -3 podrían ejercer su efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares. Entre ellos se ha descrito la capacidad que tienen para influir en la coagulación sanguínea y la trombosis, la presión sanguínea y la inflamación <sup>(67)</sup>. El EPA y DHA reemplazan parcialmente a los AGs  $\omega$ -6, especialmente al AA en las membranas de varios tipos celulares como son las plaquetas, eritrocitos, células blancas y hepáticas. De esta forma, la síntesis de TXA2 (tromboxano A2, proveniente del AA) se reduce y se

produce TXA<sub>3</sub> (tromboxano A<sub>3</sub>, proveniente del EPA) que tiene menos capacidad pro-agregante, reduciéndose por tanto la agregación plaquetaria y la trombosis; de igual forma la producción de eicosanoides pro-inflamatorios como la PGE<sub>2</sub> (prostaglandina E<sub>2</sub>) y LTB<sub>4</sub> (leucotrieno B<sub>4</sub>) derivados del AA disminuye mientras aumentan los derivados del EPA como la PGE<sub>3</sub> (prostaglandina E<sub>3</sub>) y el LTB<sub>5</sub> (leucotrieno B<sub>5</sub>) con escasa actividad inflamatoria <sup>(68,69)</sup>.

Recientemente se han identificado un grupo nuevo de mediadores conocidos como resolvinas y protectinas, derivados de los AGs  $\omega$ -3. Fueron identificados por primera vez en exudados inflamatorios en fase de resolución y, más tarde, en tejidos enriquecidos con DHA. Estas nuevas moléculas no se parecen estructuralmente a los clásicos eicosanoides, son nuevas sustancias que funcionan como agonistas potentes de la anti-inflamación endógena, a nivel celular y molecular. Se denominan así debido a un importante poder de resolución de la inflamación, estando implicadas en los procesos de curación de heridas y cicatrización, neuroprotectores (neuroprotectinas) e inmunorreguladores. Los que derivan del EPA se designan resolvinas de la serie E. A partir del DHA también se producen moléculas con propiedades antiinflamatorias denominadas docosanoideas, que incluyen resolvinas de la serie D, maresinas y protectinas <sup>(69)</sup>.

Las enzimas responsables de la formación de eicosanoides son las mismas para los  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3, la mayor concentración de sustrato es la que determina la línea de transformación. Por ello dietas ricas en  $\omega$ -6, desviarán la formación de eicosanoides pro-trombóticos, pro-inflamatorios y vasoconstrictores, mientras dietas ricas en  $\omega$ -3 tendrán efectos inversos <sup>(13,14)</sup>.

Un aumento de EPA y DHA en la composición de la membrana de los eritrocitos también tiene efectos beneficiosos sobre la deformabilidad de dichas células, a su vez pueden tener al menos cuatro efectos separados beneficiosos para la salud <sup>(7,68,69)</sup>.

En primer lugar, por su naturaleza altamente insaturada alteran las propiedades de la membrana <sup>(9)</sup>. Esto puede conducir a cambios en el microentorno de las proteínas transmembrana (ej. receptores) que alteran la manera en que estas interactúan con sus ligandos <sup>(10)</sup>. Segundo, estas alteraciones en la composición de los AGs de la membrana pueden afectar también la habilidad de las proteínas asociadas a la membrana para ligarse a la membrana propiamente y consecuentemente interactuar con otros complejos multiproteínas que participan en los sistemas de señalización de la célula <sup>(11)</sup>. Tercero, una variedad de sustancias de la célula (ej. mediadores inflamatorios) interactúan con receptores transmembrana y subsecuentemente inician la respuesta intracelular ligada a la proteína G, una de cuyas respuestas, es la activación de la fosfolipasa A2 (PLA2) <sup>(68)</sup>.

La PLA2 hidroliza las cadenas largas de AGs  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3 de los fosfolípidos, liberándolos y disponiéndolos para su conversión a una amplia variedad de eicosanoides vía cicloxigenasa, lipoxigenasa y monoxigenasa citocromo P-450 <sup>(68)</sup>. Estas moléculas tienen una influencia poderosa sobre el metabolismo celular. Los AGs  $\omega$ -3 liberados por la PLA2 pueden modificar directamente la actividad de los canales iónicos de la propia membrana alterando los potenciales de membrana en reposo <sup>(11)</sup>.

Finalmente, los AG  $\omega$ -3 pueden servir como ligandos para varios receptores nucleares, con el consecuente impacto en las respuestas inflamatorias y el metabolismo lipídico. Las enzimas responsables de la formación de eicosanoides son las mismas para los  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3, la mayor concentración de sustrato es la que determina la línea de transformación. Por ello dietas ricas en  $\omega$ -6, desviarán la formación de eicosanoides pro-trombóticos, pro-inflamatorios y vasoconstrictores, mientras dietas ricas en  $\omega$ -3 tendrán efectos inversos <sup>(13,14)</sup>.

#### ***2.2.4 Relación de ingesta $\omega$ -6 y $\omega$ -3***

Tanto los  $\omega$ -6 como los  $\omega$ -3 son necesarios para conservar un buen estado de salud, sin embargo, hoy se insiste más en la necesidad de ingerir alimentos ricos en  $\omega$ -3 debido a que la dieta moderna, a diferencia de la de nuestros antepasados, tiene

una deficiencia relativa de  $\omega$ -3 en relación con los  $\omega$ -6. Hace 200 años, cuando la caza y la pesca eran el medio de alimentación fundamental, la dieta del hombre tenía una relación de  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 de 1-2/1, mientras esta relación es de 20-30/1 en la dieta moderna. Este incremento relativo de  $\omega$ -6 puede explicarse por el alto consumo de aceites vegetales ricos en  $\omega$ -6 y carentes de colesterol, los cuales han sido promovidos para sustituir las grasas saturadas <sup>(70)</sup>.

El consumo de huevo, carnes rojas y carnes de aves proceden de animales alimentados de piensos con alto contenido de maíz, soya y otros granos ricos en  $\omega$ -6. Por otra parte, la producción de pescado en cultivos y la reducción de la pesca oceánica por el agotamiento de las especies provocada por la contaminación de los mares y la depredación del hombre, disminuyen el consumo de  $\omega$ -3 con el consecuente incremento de proporción de  $\omega$ -6, con respecto a  $\omega$ -3, en la dieta moderna. Cuando las personas ingieren pescado o aceite de pescado, los AGs  $\omega$ -3 ingeridos, EPA y DHA, sustituyen parcialmente los AGs  $\omega$ -6, principalmente el AA de las membranas de las células, especialmente de plaquetas, neutrófilos, eritrocitos, monocitos y hepatocitos <sup>(70)</sup>.

Las especies marinas más ricas en EPA y DHA por cada 100 g de pescado crudo son: sardina 3,3 g, macarela 2,5 g, arenque 1,7 g, anchoa 1,4 g, salmón 1,4 g y sable 1,4 g. Los concentrados de aceites de pescado con mayor contenido en EPA y

DHA por cada 100 g de aceite son: promega 44,2 g, MaxEPA 29,4 g, aceite de salmón 19,9 g, aceite de hígado de bacalao 18,5 g y aceite de arenque 11,4. Por otro lado, algunos vegetales contienen ALN ( $\omega$ -3) por lo que pueden constituir una fuente complementaria de aporte de estos <sup>(70)</sup>.

### ***2.2.5 AGs eritrocitarios e Índice Omega-3***

La recomendación de emplear la composición AGs eritrocitarios como un marcador de la ingesta de los mismos fue propuesta en 1963 <sup>(71)</sup>. Los fosfolípidos contenidos en estas membranas celulares se enriquecen con AGPIs  $\omega$ -3 no sólo durante la maduración de los reticulocitos en la médula ósea sino también a través de intercambio directo en el plasma <sup>(72)</sup>. Dicho enriquecimiento parece ocurrir a través de la transferencia de DHA (y presumiblemente también EPA) contenido en la lisofosfatidilcolina que circula asociada con la albúmina sérica <sup>(73)</sup>, y del que deriva de la hidrólisis AGPIs  $\omega$ -3 de los fosfolípidos de las lipoproteínas. El intercambio con el plasma explica porque los eritrocitos circulantes pueden quedar enriquecidos con AGPI  $\omega$ -3 más rápido de lo que puede enriquecerse un eritrocito durante su formación en medula ósea <sup>(7)</sup>.

La determinación de los AGs en eritrocitos sirve como indicador de ingesta AGs a largo plazo, esto se debe al tiempo de vida del eritrocito (120 días aproximadamente), tiempo en el cual este va incorporando AGs por el intercambio con el plasma, mientras que la determinación de AGs en plasma solo refleja la ingesta

inmediata de ácidos grasos <sup>(7)</sup>. Katan y col. <sup>(74)</sup> demostraron claramente que la incorporación de EPA en los esteres de colesterol séricos fue de 4,8 días y la concentración de dicho AG alcanza su máximo, después de uno a dos meses de suplementación con aceite de pescado. En contraste, en eritrocitos la incorporación de EPA fue de 4 semanas y la máxima concentración se alcanzó a los seis meses de la suplementación. Los autores concluyeron que los eritrocitos pueden reflejar la ingesta sostenida en los meses anteriores.

Por su parte, se ha informado una fuerte correlación de los AGs  $\omega$ -3 de origen marino y de los AGs *trans* eritrocitarios con la ingesta dietética evaluada a través de frecuencia de consumo, hallazgo que no se observa para los AGs saturados y monoinsaturados eritrocitarios, probablemente debido a que ambas clases de AGs pueden ser endógenamente sintetizados a partir de carbohidratos <sup>(75)</sup>. Por su parte, también se ha demostrado que el DHA total eritrocitario parece ser un buen biomarcador del estado de dicho AG, sugiriéndose que existe una dosis-respuesta entre ingesta de DHA y su porcentaje en glóbulos rojos <sup>(76)</sup>.

Recientemente se ha propuesto el "índice omega-3", un indicador que se obtiene de la suma de los porcentajes de EPA y DHA presentes en las membranas eritrocitarias. Se estima que el índice omega-3 debe ser de aproximadamente 8% para considerarse como cardio-protector, por el contrario, cuando se encuentra por debajo de 4% se asocia a aumento del riesgo de muerte por enfermedad coronaria <sup>(7)</sup>.



El valor predictivo relativo para muerte súbita a través de la medición de las concentraciones sanguíneas de AGs  $\omega$ -3, en comparación con otros factores de riesgo establecidos para enfermedad coronaria se estimó mediante dos informes que se realizaron sobre la salud de una población de médicos <sup>(77,78)</sup>. Sólo dos factores de riesgo demostraron relaciones estadísticamente significativas con el riesgo de muerte súbita cardíaca después de ser controlados por edad y hábito tabáquico: PCR y AGs  $\omega$ -3 pero solo el contenido de AGs  $\omega$ -3 sanguíneo se relacionó con el riesgo de una manera dosis-dependiente <sup>(77,78)</sup>. Además, la reducción del riesgo en los niveles más altos del índice de omega-3 (90%) fue mayor que la asociada con las concentraciones más bajas de proteína C reactiva (65%) <sup>(78)</sup>.

El índice omega-3, incluso en etapas tempranas de la enfermedad coronaria, parece cumplir muchos de los requisitos para ser un factor de riesgo putativo (marcador) de utilidad clínica <sup>(79)</sup>. Los datos epidemiológicos, entre y dentro de poblaciones, de cohortes, de estudios prospectivos y de estudios de casos/controles han arrojado evidencias muy fuertes en este sentido. Actualmente, el mecanismo de acción que explica la relación entre el contenido eritrocitario de EPA+DHA y los niveles de riesgo de muerte cardíaca súbita, se basa en una reducción en la susceptibilidad a las arritmias letales de miocardio <sup>(12,80)</sup>. Además, EPA+DHA pueden mejorar la estabilidad de la placa de ateroma y puede ser anti-ateroesclerótica a través de una variedad de mecanismos <sup>(81)</sup>.

El índice omega-3 es modificable mediante el aumento de los niveles en la dieta de ácidos grasos omega-3 y se ha demostrado que se correlaciona con el contenido de AGs  $\omega$ -3 en el miocardio humano <sup>(82)</sup>. El índice omega-3 también parece ser independiente de otros factores de riesgo conocidos <sup>(15,17,73)</sup>. Finalmente, quizás la pregunta más importante que se debe tomar en cuenta de un posible factor de riesgo, es, si el cambio altera resultados de la enfermedad. En respuesta a esta pregunta, los ensayos de intervención que se han descrito anteriormente indican que el índice omega-3 puede cumplir este criterio crítico.

#### ***2.2.6 Papel de los Ácidos Grasos trans en la enfermedad cardiovascular***

La biohidrogenación en el rumen de ganado bovino u ovino y la hidrogenación industrial de aceites vegetales convierten algunos de los AGs insaturados *cis* en ácidos grasos en configuración *trans*. La hidrogenación industrial consiste en la adición directa de hidrógeno a los enlaces dobles de los AGs insaturados de aceites vegetales con el objeto de modificar su punto de fusión, haciéndolos sólidos o semisólidos a temperatura ambiente. Durante la hidrogenación los AGs *cis* con una estructura química flexible pueden ser transformados en sus isómeros *trans* los cuales, como se dijo anteriormente, tienen una estructura más rígida, similar a la de los AGs saturados y su presencia contribuye a la solidificación de las grasas que los contienen <sup>(59)</sup>.

Múltiples estudios realizados desde la década de los noventa han demostrado que la ingesta de los AG *trans* provenientes de los aceites hidrogenados industrialmente tiene efectos adversos sobre los lípidos sanguíneos y son más aterogénicos que los AGs saturados, ya que estos no solo aumentan la concentración de colesterol total (CT), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y triglicéridos, sino que disminuyen la concentración de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumentan notablemente la relación LDLc/HDLc, la cual es un marcador fuerte de riesgo de ECV, a diferencia de los AGs saturados que sólo elevan la concentración de colesterol LDL sin reducir el colesterol HDLc <sup>(59,83)</sup>.

Recientes investigaciones señalan que el consumo de AG *trans* no solamente afecta la concentración de LDLc sino también afecta el tamaño de las lipoproteínas <sup>(59)</sup>. Un predominio en el plasma de LDL pequeña y densa está asociado con un mayor riesgo de ECV <sup>(59)</sup>. El Estudio Cardiovascular Québec indicó que hombres con LDL pequeñas y densas tienen mayor riesgo de ECV comparados con hombres con LDL grandes y menos densas, independientemente de la concentración de colesterol total, LDLc, triglicéridos y de la relación CT/HDLc <sup>(84)</sup>.

El tamaño y composición de las lipoproteínas secretadas es afectada por el tratamiento con estos AGs, resultando significativamente más pequeñas las lipoproteínas secretadas por las células preincubadas con ácido elaídico, comparadas con las secretadas por células tratadas con oleico o linoleico. Esto sugiere, que estos

AG *trans* promueven la secreción hepática de lipoproteínas pequeñas que contienen apo B, lo cual puede conducir a incrementar la producción de partículas de LDL pequeña y densa, con una capacidad aterogénica relativa, independiente de la concentración de LDLc <sup>(59)</sup>.

### ***2.2.7 Peroxidación lipídica y sus efectos dañinos***

Todos los organismos aerobios requieren oxígeno para la producción eficiente de energía, sin embargo, el oxígeno puede resultar tóxico en concentraciones elevadas e incluso en concentraciones similares a las del aire. La toxicidad del oxígeno no se debe a la propia molécula sino a la producción a partir del oxígeno de especies parcialmente reducidas altamente reactivas, conocidas también como radicales libres, los cuales son indispensables en muchos procesos, como por ejemplo, en la degradación de la bilirrubina del recién nacido por la luz, en el tratamiento de la psoriasis o de ciertos tipos de cáncer de piel, en la fagocitosis etc. Ahora bien cuando estas especies reactivas se producen en exceso o cuando los sistemas de sistema antioxidante fallan para eliminarlas (ingesta baja de alimentos con capacidad antioxidante), los radicales libres pueden reaccionar con los diferentes componentes celulares provocando daño oxidativo <sup>(85)</sup>.

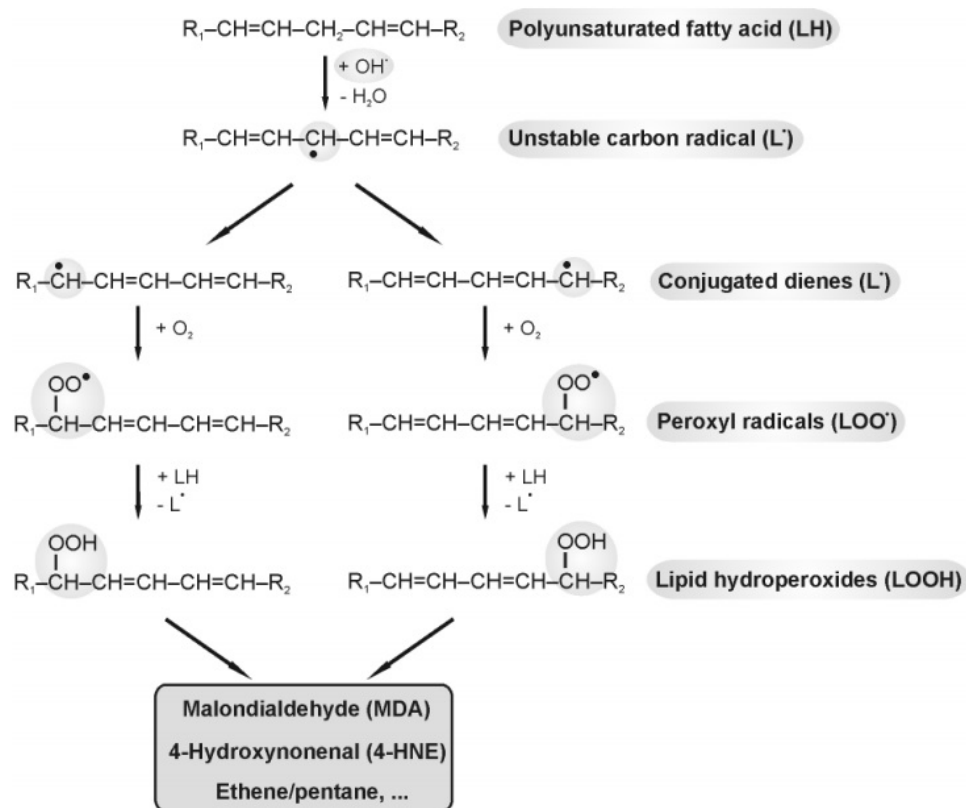
Aunque la reactividad de los radicales libres es variable, la mayor parte de ellos son extremadamente reactivos e inestables. Debido a su reactividad los radicales libres se encuentran en bajas concentraciones y no viajan lejos del lugar donde se

forman. No obstante, cuando un radical libre reacciona con un compuesto no radical libre, otros radicales libres pueden formarse. De este modo es posible que se induzcan reacciones de cadena que pueden dar lugar a daños celulares lejos de donde inicialmente se originó el radical. La peroxidación lipídica es un ejemplo claro de este hecho <sup>(85)</sup>.

Los radicales libres pueden reaccionar con los AGPIs de los lípidos de membrana, provocando el deterioro oxidativo de estos. Este fenómeno, conocido como peroxidación lipídica, es el responsable, por ejemplo, de la alteración oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La oxidación de los AGPIs de estas lipoproteínas las modifica de tal manera, que las hace susceptibles de ser captadas incontroladamente por los macrófagos de intima arterial, iniciándose así el proceso aterosclerótico <sup>(85)</sup>.

La peroxidación lipídica puede ser iniciada por los radicales hidroxilo e hidroperoxilo, pero no por el radical superóxido. En la Figura 1 se puede observar la secuencia de reacciones implicadas en el proceso oxidativo. La oxidación de los lípidos comienza cuando el radical libre quita un átomo de hidrogeno ( $H\cdot$ ) de un grupo metileno ( $-CH_2-$ ) para rendir un radical libre lipídico ( $L\cdot$ ). La presencia de un doble enlace en el ácido graso debilita los enlaces C-H del átomo de carbono adyacente a ese doble enlace, de esta manera, facilita la liberación del  $H\cdot$  <sup>(85)</sup>.

El radical lipídico formado tiende a estabilizarse por medio de un reajuste molecular que produce un dieno conjugado, el cual entonces reacciona con oxígeno molecular para originar un radical peroxilo ( $\text{ROO}\cdot$ ). El radical peroxilo puede remover un átomo de hidrogeno de otra molécula lipídica para convertirse en un hidroperoxilo ( $\text{ROOH}$ ) y formar un nuevo radical libre lipídico. Este radical libre lipídico puede reaccionar con oxígeno molecular y así puede establecerse una cadena de propagación del daño oxidativo. Por su parte, el hidroperóxido en presencia de metales de transición como el hierro y el cobre, puede descomponerse para dar lugar a más radicales libres que estimularan la reacción de cadena de la peroxidación lipídica. Algunos radicales peroxilo forman endoperóxidos que tienen el mismo destino que los hidroperóxidos <sup>(85)</sup>.



**Figura 1. Reacciones básicas que ocurren durante la peroxidación lipídica.**

Tomado de Silva y Countinho <sup>(86)</sup>.

Cuando en una membrana se está produciendo la peroxidación lipídica, los radicales que se forman pueden reaccionar unos con otros mediante la formación de enlaces covalentes lípido-lípido. Estos radicales libres también pueden quitar átomos de hidrogeno de las proteínas de membrana y así, los radicales aminoacídicos que se originan pueden formar puentes disulfuro y otros enlaces covalentes proteína-proteína y lípido-proteína. Las reacciones de los hidroperóxidos con los metales de transición

en estado reducido liberan frecuentemente gases como el etano, el etileno o el pentano y otros compuestos de cadena corta que pueden ejercer sus efectos dentro de la membrana que se está peroxidando y en cualquier otro sitio de la célula <sup>(85)</sup>.

El malondialdehído, un importante indicador de la peroxidación lipídica, es un aldehído bifuncional que puede reaccionar con los grupos sulfhidrilo y amino de las proteínas y producir entrecruzamiento y agregación de estas. El malondialdehído puede también unirse al grupo amino de la fosfatidiletanolamina o a moléculas de fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina o a proteínas. Además, puede difundir y reaccionar con las bases nitrogenadas de DNA <sup>(85)</sup>.

Se puede deducir de lo anteriormente expuesto que los efectos perjudiciales de la peroxidación lipídica para la célula son múltiples. La alteración de la membrana provoca una disminución de su fluidez y la inactivación de las enzimas ligadas a ella. Una fragmentación continuada de las cadenas de los AGs puede incluso dar lugar a la completa pérdida de integridad de esa membrana. Los ribosomas se separan de retículo endoplásmico, el transporte mitocondrial se deteriora y las mitocondrias se lisan; los lisosomas también se lisan y su contenido enzimático se vierte al citosol. La membrana peroxidada también libera aldehídos de bajo peso molecular que pueden inhibir la síntesis de proteínas y tener efectos mutagénicos si reaccionan con las bases de DNA <sup>(85)</sup>.



De manera general, la oxidación de las LDL juega un importante papel en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis <sup>(87)</sup>. La composición de los principales AGs de la dieta afecta a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Las LDL enriquecidas con AGs monoinsaturados derivados del aceite de oliva son más resistentes a la oxidación que las LDL enriquecidas con AGPIs <sup>(56)</sup>. También se ha observado, que las LDL aisladas de sujetos sanos después de una dieta enriquecida en ácido oleico producen menos quimiotaxis y reducen la adhesión de los monocitos cuando se compararon a las LDL de una dieta enriquecida en ácido linoleico <sup>(56)</sup>.

## **CAPITULO III**

### **3. MARCO METODOLOGICO**

#### **3. 1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Estudio descriptivo correlacional, de tipo transversal de campo no experimental donde el perfil de ácidos grasos eritrocitarios e índice omega-3 se relacionaron con los marcadores plasmáticos de peroxidación lipídica en escolares, en un momento determinado del tiempo sin involucrar seguimiento de los mismos, obteniéndose los datos en forma directa de la realidad donde se presentaron.

### **3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA**

Los sujetos de estudio de la presente investigación formaron parte de un grupo de escolares que se evaluaron en el marco de un proyecto de tesis doctoral titulado “Caracterización del balance prooxidante/antioxidante en niños escolares venezolanos de dos estratos socioeconómicos”<sup>(88)</sup>, cuyo lapso de ejecución fue entre 2005-2007, contándose con la recolección de muestras de glóbulos rojos que fueron pre-tratadas y almacenadas adecuadamente hasta el momento de su análisis bioquímico. Los resultados obtenidos en dicho proyecto doctoral permitieron plantear la necesidad de profundizar los mismos a través de la evaluación del perfil de AGs eritrocitarios para conocer su asociación con el estrato socioeconómico y los marcadores de lipoperoxidación, por tanto, el presente estudio representa una extensión de sus hallazgos de dicho proyecto doctoral.

La población objeto del estudio estuvo constituida por los niños de edad escolar entre 7 a 9 años que asistieron a unidades educativas públicas ubicadas en el

municipio de Naguanagua, del Edo. Carabobo durante los periodos escolares 2005-2006 y 2006-2007.

Para facilitar la ubicación de los niños de los dos estratos socioeconómicos a evaluar, se seleccionaron por conveniencia seis unidades educativas ubicadas en comunidades con predominio de individuos de clase media o de bajo estrato, que fueron: Unidad Educativa “Dr. Lisandro Lecuna”, Escuela Básica “José Félix Sosa”, Escuela Básica “Atanasio Girardot”. Unidad Educativa “Crispina Mercado”, Escuela Básica Nacional Bárbula y Escuela Básica “María Teresa Coronel”. Las tres últimas se encuentran dentro de comunidades de baja condición socioeconómica.

Es importante destacar el basamento para la selección específica de los estratos III (clase media) y V (pobreza crítica) como objeto de estudio. En primer lugar por el hecho de que la mayoría de los estudios se han interesado por establecer comparaciones extremas entre los estratos I-II con respecto al estrato V, olvidando que en nuestro país la clase media puede ser vulnerable por estar integrada por sujetos con un nivel de enseñanza secundaria incompleta o técnica media (8 a 9 años de estudio), que aunque implique mayor nivel educativo y poder adquisitivo con respecto a los estratos inferiores no necesariamente es suficiente para condicionar el consumo de una dieta adecuada en cantidad y calidad. En segundo lugar, el estrato V constituye el más vulnerable en todos los estratos pues representa la población en pobreza extrema cuyo máximo grado de marginación social involucra condiciones de

vida deficientes en todo sentido, lo cual impone que se realicen esfuerzos de investigación para plantear medidas que mejoren su situación de salud.

A partir de la base de datos de escolares incluidos en el proyecto de tesis doctoral original se escogieron aleatoriamente 45 niños de estrato III y 46 de estrato V, para un total de 91 escolares que representaron la muestra del presente trabajo. Este tamaño muestral se estableció atendiendo a criterios de factibilidad relacionados al alto costo de reactivos e insumos requeridos para los análisis bioquímicos.

El proyecto doctoral original aplicó un muestreo de tipo no probabilístico opinático, para el cual se obtuvo un registro escrito de todos los alumnos matriculados en las escuelas. A partir de dicho registro, utilizando el programa Microsoft Excel 2003, se creó una base de datos integrada solamente por aquellos niños cuyas edades oscilaron para el momento de la selección entre 7 y 9,99 años, desde la cual se seleccionaron aleatoriamente los niños que se evaluaron una vez verificados los siguientes criterios de inclusión:

- Edad comprendida entre 7,00 y 9,99 años.
- Para el momento de la evaluación, aparentemente sano, sin diagnóstico médico de proceso infeccioso-inflamatorio agudo (ej. bronquitis, amigdalitis/faringitis, otitis, neumonía, asma, hepatitis, varicela o lechina,

sarampión), sin antecedentes personales de patologías como enfermedades neurológicas, diabetes mellitus, hipertensión arterial y enfermedad renal.

- Pertenecer al estrato III (clase media) o al estrato V (pobreza crítica) según la metodología de Graffar modificada por Méndez-Castellano.
- No presentar el día de la evaluación fiebre, tos con expectoración, respiración forzada, lesiones eruptivas cutáneas, dolor de garganta o de oído, piel icterica ni inasistencia a la unidad educativa por causa de enfermedad dentro de los siete días previos a la aplicación del protocolo de estudio.

### **3.3 MÉTODOS**

Para la realización de este estudio se cumplieron los acuerdos de la declaración de Helsinki vigentes para el momento de la recolección la muestra. Los directores de escuelas, maestros y representantes de los niños recibieron, en forma oral y por escrito, detalles del protocolo y objetivo del estudio. Se contó con la aprobación de los directores de escuela para la ejecución del trabajo. Los representantes de los niños seleccionados recibieron una forma de consentimiento firmado y citación (Anexo A) donde se les solicitó que acudieran en fecha y hora señalada acompañados de sus representados para realizar la evaluación prevista la cual incluyó una entrevista que incluyó un cuestionario que permitió no sólo verificar los criterios de inclusión sino también el estrato socioeconómico, entre otros datos.

### ***3.3.1 Instrumento de Recolección de Datos***

Este instrumento fue aplicado por un entrevistador entrenado para tal fin y permitió obtener de parte del representante del niño la siguiente información: datos personales del niño (fecha de nacimiento, edad cronológica, dirección actual, nombre del representante), datos socio-demográficos (lugar de nacimiento, nivel de educación que cursa), datos socioeconómicos (estrato socioeconómico) y antecedentes biomédicos (antecedentes médicos personales y enfermedades actuales así como historia familiar de enfermedad arterial coronaria) (Anexo B).

### ***3.3.2 Determinación de Estrato Socioeconómico***

Se determinó aplicando el Método de Graffar-modificado para Venezuela por Hernán Méndez Castellano <sup>(89)</sup>. Este método consta de cuatro variables a evaluar: profesión del jefe de familia, nivel de instrucción de la madre, fuente principal de ingreso de la familia, condiciones de la vivienda (Anexo B). Cada variable está integrada su vez por 5 ítems de posibles respuestas, los cuales le corresponde una ponderación decreciente del 1 al 5. La suma de la ponderación obtenida en las cuatro variables evaluadas determina el estrato al cual pertenece el niño de acuerdo a la escala de ponderación que provee el método (Cuadro 1).

#### **Cuadro 1. Escala del Método de Graffar modificado por Méndez Castellano.**

<b>Ponderación Total</b>	<b>Estrato Social</b>
4 a 6	I o Clase Alta
7 a 9	II o Clase Media Alta
10 a 12	III o Clase Media Media
13 a 16	IV o Clase Obrera (pobreza relativa)
17 a 20	V o Pobreza critica

Tomado de Méndez Castellano H. <sup>(89)</sup>.

Al establecerse que el niño cumplía con los criterios de inclusión y no presentaba causas de exclusión, se pasó inmediatamente a la siguiente fase de estudio que consistió en la evaluación bioquímica, la cual en el presente estudio constó de las determinaciones de:

- Perfil de ácidos grasos eritrocitarios.
- Indicadores de peroxidación lipídica: susceptibilidad de oxidación *in vitro* de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad del plasma, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico o TBARS y lipoproteína de baja densidad oxidada circulante en plasma.

### ***3.4 Análisis Bioquímicos***

Para llevar a cabo esta evaluación se solicitó la colaboración del representante a fin de que el día de la cita el niño permaneciera en condiciones de ayuno de 12 horas previas, ingiriendo una cena ligera. Se extrajeron 6 mL de sangre por punción

venosa en el pliegue del codo, distribuyéndose en dos tubos de vidrio Vacutainer® (Becton Dickinson, USA) con EDTA (etilen diamino-tetracetato).

Mediante centrifugación por 10 min a 1000 g se separaron el plasma y los glóbulos rojos (GR). El paquete globular fue lavado tres veces con solución salina fisiológica, cuidando de eliminar completamente después de cada lavado el sobrenadante y la capa superficial del paquete globular a fin de asegurar la extracción de cualquier elemento diferente a los GR. El paquete final de GR fue almacenado a -20°C hasta su posterior análisis, mientras que al plasma se realizó la determinación de TBARS, susceptibilidad de oxidación *in vitro* de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad y de la concentración de LDL oxidada circulante.

A continuación se describen las técnicas de laboratorio que se emplearon para medir los indicadores de bioquímicos ya señalados:

#### ***3.4.1 Perfil de Ácidos grasos***

Por razones de costo del análisis, el perfil eritrocitario de AGs se determinó en una sub-muestra de 42 niños seleccionados al azar a partir del grupo total de 91 niños estudiados, en la que permanecieron representados en forma equitativa ambos estratos estudiados y rango etario (7, 8 y 9 años).



Siguiente el método aplicado por Klingler y col. <sup>(90)</sup>, a 500  $\mu$ L de glóbulos rojos se le agregó 1,3 mL de metanol, se colocó en un baño de agua y fueron sonicados a 35KHZ, 120 Watts, por 20 min. Las proteínas precipitadas se separaron por centrifugación a 3000 g/20min a 40°C. El sobrenadante contentivo de los glicerofosfolípidos fue transferido a un frasco ámbar y se agregó 50  $\mu$ L de una solución de metóxido de Na 25% por peso en metanol (#156256 Sigma- Aldrich. USA), para transesterificar los AGs. La reacción se detuvo a los 4 min con 150  $\mu$ L de HCl 3M en metanol. Los metil ésteres de AGs (MAG) se extrajeron dos veces con 600  $\mu$ L de hexano, se colocaron en tubos de rosca y se preservaron a 4°C, para el análisis cromatográfico <sup>(90)</sup>.

**Análisis Cromatográfico:** se realizó en los laboratorios de la sección de Lipidología del Instituto de Medicina Experimental, UCV. La separación de los AGs se llevó a cabo en un cromatógrafo AGILENT (USA) modelo 6890 Series Plus, con una columna capilar de cianopropil (fase estacionaria), dimensión 60 m x 0,25 mm x 250  $\mu$ m. El gas transportador fue el helio. La temperatura del inyector y detector fue de 250°C y 280°C, respectivamente. El aumento de temperatura del horno se programó de la siguiente forma: 120°C por un minuto, 10°C por min hasta alcanzar 175°C durante 10 minutos, 5°C por minuto hasta 210°C durante 5 minutos y 5°C por minuto hasta 230°C por 5 minutos. Las áreas correspondientes a los AGs se identificaron mediante un patrón de Sigma Aldrich #1819 (Cuadro 2),

cuantificándose mediante el programa Agilent ChemStation, USA. Cada AG identificado se expresó como el porcentaje encontrado en la muestra en mol%, de la misma forma que lo hicieron previamente Bosh y col <sup>(91)</sup>.

#### ***3.4.1.1 Sumatorias y relaciones calculadas a partir del porcentaje de ácidos grasos***

Para lograr una evaluación integral de los AGs eritrocitarios se calcularon sumatorias a partir de los porcentajes individuales de los AGs identificados, que se detallan en el Cuadro 3.

Asimismo se obtuvieron relaciones entre AGs individuales o entre sus grupos. A continuación se describen cada una de ellas.

- **Relación PUFA/SFA:** evalúa el equilibrio de las de los AGPIs frente a los AGs saturados. Las concentraciones plasmáticas de colesterol aumentan con el consumo de alta AGs saturados (SFA por sus siglas en inglés) pero disminuyen con dietas de alto contenido de AGPIs (PUFA por sus siglas en inglés) reduciendo el riesgo cardiovascular y proporcionando membranas celular más fluidas. Se considera favorable un valor mayor  $> 1:1$  <sup>(92,93)</sup>.

**Cuadro 2. Composición de ácidos grasos del patrón Sigma Aldrich #1819.**

<b>Nomenclatura</b>	<b>Nombre Común</b>	<b>Nombre según IUPAC</b>	<b>Tipo de Ácido Graso</b>
<b>12:0</b>	Ácido láurico	Ácido dodecanoico	Saturado
<b>14:0</b>	Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	Saturado
<b>15:0</b>	Ácido pentadecáclico	Ácido pentadecanoico	Saturado
<b>16:0</b>	Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico	Saturado
<b>17:0</b>	Ácido margárico	Ácido heptadecanoico	Saturado
<b>18:0</b>	Ácido esteárico	Ácido octadecanoico	Saturado
<b>20:0</b>	Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	Saturado
<b>24:0</b>	Ácido lignocérico	Ácido tetracosanoico	Saturado
<b>16:1 n-7</b>	Ácido palmitoleico	Ácido cis-9-hexadecanoico	Monoinsaturado/cis
<b>18:1 n-9 (trans)</b>	Ácido elaidico	Ácido trans-9-octadecenoico	Monoinsaturado/trans
<b>18:1 n-9</b>	Ácido oleico	Ácido cis-9-octadecanoico	Monoinsaturado/cis
<b>20:1 n-9</b>	Ácido eicosenoico	Ácido cis-11-eicosenoico	Monoinsaturado/cis
<b>18:2 n-6</b>	Ácido linoleico	Ácido cis-9,12-octadecadienoico	Poliinsaturado/cis
<b>18:3 n-6</b>	Ácido gamma-linolénico	Ácido cis-6,9,12-octadecatrienoico	Poliinsaturado/cis
<b>20:3 n-6</b>	Ácido dihomo-gamma-linolénico	Ácido cis-8,11,14-eicosatrienoico	Poliinsaturado/cis
<b>20:4 n-6</b>	Ácido araquidónico	Ácido cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico	Poliinsaturado/cis
<b>18:3 n-3</b>	Ácido alfa-linolénico	Ácido cis-5,12,15-octadecatrienoico	Poliinsaturado/cis
<b>20:3 n-3</b>	Ácido eicosatrienoico	Ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico	Poliinsaturado/cis
<b>20:5 n-3</b>	Ácido eicosapentaenoico	Ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	Poliinsaturado/cis
<b>22:6 n-3</b>	Ácido docosahexaenoico	Ácido cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	Poliinsaturado/cis

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.

**Cuadro 3. Sumatorias calculadas a partir de los ácidos grasos determinados.**

Sumatoria calculada	Ácidos grasos de los cuales se compone la sumatoria
$\Sigma$ SFA	(12:0+14:0+15:0+16:0+17:0+18:0+20:0+24:0)
$\Sigma$ UFA	(16:1 n-7+18:1 n-9+20:1 n-9+18:2 n-6+18:3 n-6+20:3 n-6+20:4 n-6+18:3 n-3+20:3 n-3+20:5 n-3+22:6 n-3)
$\Sigma$ MUFA	(16:1 n-7+18:1 n-9+20:1 n-9)
$\Sigma$ PUFA	(18:2 n-6+18:3 n-6+20:3 n-6+20:4 n-6+18:3 n-3+20:3 n-3+20:5 n-3+22:6 n-3)
$\Sigma$ n-9	(18:1 n-9+20:1 n-9)
$\Sigma$ n-6	(18:2 n-6+18:3 n-6+20:3 n-6+20:4 n-6)
$\Sigma$ n-3	(18:3 n-3+20:3 n-3+20:5 n-3+22:6 n-3)
<b>Índice Omega-3</b>	<b>(20:5n-3+22:6n-3)</b>

SFA: ácidos grasos saturados; UFA: ácidos grasos insaturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

- **UFA/SFA:** un valor menor de 2:1 está relacionado con mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares, e indica la necesidad de aumentar la ingesta de vegetales, grasas vegetales saludables (frutos secos, semillas, canola, soja u otros aceites) y de pescado o aceite de pescado <sup>(94)</sup>.
- **n-6/n-3:** Las recomendaciones nutricionales actuales sugieren una relación  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 puede oscilar en el rango 5:1 a 10:1, considerando como ideal 1:1 <sup>(95)</sup>.
- **16:1n-7/16:0:** esta relación estima la producción de ácido palmitoleico a partir del ácido palmítico por parte de la enzima esteroil-CoA-desaturasa1 ( $\Delta$ 9-desaturasa) <sup>(96)</sup>.

- **18:1n-9/18:0:** estima la producción de ácido oleico a partir del ácido esteárico por acción de la enzima estearoil-CoA-desaturasa I ( $\Delta 9$ -desaturasa) <sup>(97)</sup>.
- **18:3n-6/18:2n-6:** estima la producción de ácido gamma-linolénico a partir del ácido linoleico por parte de la enzima  $\Delta 6$ -desaturasa <sup>(96,98)</sup>.
- **20:4n-6/18:2n-6:** estima la producción de ácido araquidónico a partir del ácido linoleico por parte de las enzimas  $\Delta 6$ -elongasa y  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$  desaturasas <sup>(97)</sup>.
- **20:5n-3/18:3n-3:** estima la producción de ácido eicosapentaenoico a partir del ácido alfa-linolénico por la acción de las enzimas  $\Delta 6$ -elongasa y  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$  desaturasas <sup>(97)</sup>.
- **22:6n-3/18:3n-3:** estima la producción de ácido docosahexaenoico a partir del ácido alfa-linolénico por la acción de las  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$  elongasas y de las  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$ ,  $\Delta 4$  desaturasas <sup>(99)</sup>.
- **22:6n-3/20:5n-3:** estima la producción de ácido docosahexaenoico a partir del ácido eicosapentaenoico por parte de la  $\Delta 5$ -elongasa y  $\Delta 4$ -desaturasa <sup>(97)</sup>.
- **20:4n-6/20:3n-6:** estima la producción de ácido araquidónico a partir del ácido dihomo-gamma-linolénico, por parte de la enzima  $\Delta 5$ -desaturasa <sup>(96,98)</sup>.
- **20:4n-6/20:5n-3:** relación entre la producción de AGs de cadena larga (20 átomos de carbono) omega-6, específicamente el ácido araquidónico (AA), y la de AGs de omega-3 como lo es el ácido eicosapentaenoico (EPA). Esta relación es una expresión aproximada para la distribución entre los ácidos grasos vegetales y los ácidos grasos de pescado en la dieta consumida. Un

exceso de ácidos grasos vegetales omega-6 promueve la producción de derivados pro-inflamatorios y pro-coagulantes. La relación de omega-6 (AA) y omega-3 (EPA) se sugiere debe ubicarse preferiblemente por debajo de 3:1 <sup>(100,101)</sup>.

- **20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3)**: la relación entre el AA (omega-6) y los ácidos grasos EPA y DHA (omega-3), debería mantenerse inferior a 1:1; un valor por encima de 1:1 se ha visto asociado con déficit de aprendizaje y memoria, así como depresión del estado de ánimo <sup>(102,103)</sup>.
- **ΣSFA/(20:5n-3+22:6n-3)**: la relación entre los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA); es indicativa de la fluidez de membrana celular. Los AGs saturados producen una membrana más rígida. Por el contrario, los AGPIs proporcionan una membrana más fluida y un mejor metabolismo celular. Este índice se sugiere debe ser inferior a 4:1 <sup>(104,105)</sup>.

#### ***3.4.2 Susceptibilidad de oxidación in vitro de las LDL y VLDL en plasma***

Los pasos que se siguieron para determinar la susceptibilidad a la oxidación de la LDL y VLDL se describen a continuación:

##### **❖ Separación de la VLDL y LDL del plasma:**

El fraccionamiento de las lipoproteínas estudiadas se llevó a cabo aplicando la técnica de ajuste de densidad y ultracentrifugación <sup>(36)</sup>. Para ello se llevaron 1,5 a 2 mL de plasma a 8 mL de volumen total con solución salina ajustada a  $d=1,006$  g/mL,

ultracentrifugándose por 24 horas a 105.000 g en una ultracentrífuga marca Beckman (L5-65, USA). Del sobrenadante se tomó 1 mL, lo cual correspondió a la VLDL. Se descartó el volumen de líquido restante hasta la marca en el tubo que indicó el volumen inicial de plasma empleado. El infranadante (LDL+HDL) se maceró con ayuda de varilla de vidrio hasta convertirlo en una solución homogénea. En otro tubo de ultracentrífuga se colocó 1-2 mL de infranadante, se añadió bromuro de potasio (KBr) sólido en proporción de 0,080056 g/mL de plasma, se agitó suavemente, y se completó el volumen total a 8 mL con solución de KBr ajustada a  $d=1.063$  g/mL. Se llevó a ultracentrífuga 24 horas a 105.000 g. Se retiró 1,5 mL del sobrenadante obtenido lo cual correspondió a la LDL.

❖ **Desalinización de las lipoproteínas separadas:**

La desalinización de las lipoproteínas o eliminación del KBr se logró mediante cromatografía de exclusión en columnas comerciales de 5 cm de altura empacada con Sephadex G-25 M (GE Healthcare Bio-sciences AB) equilibrada con disolución buffer (trizma base 10mM-NaCl 0,14 M, pH=7,2). La cromatografía de exclusión consiste en que la muestra se distribuye entre el líquido que está dentro de las partículas de gel (sephadex) y el líquido que está fuera de éstas. Aquellas moléculas cuyo tamaño sea menor que el de los poros del gel, podrán difundir al interior de las esferas y retardaran su recorrido a través de la columna, mientras que las moléculas de mayor tamaño a los poros quedaran excluidas de las esferas del gel y recorrerán la columna junto con el eluyente. Las moléculas eluyen de la columna en

orden decreciente de peso molecular, las más grandes eluyen primero y luego las más pequeñas <sup>(106)</sup>.

En primer lugar se equilibró la columna haciendo pasar a través de ésta 25 mL de disolución buffer. Se descartó el eluyente. Luego se hizo pasar por la columna 2 mL de la lipoproteína a desalinizar, descartándose el efluente. En caso de que el volumen de muestra fuese menor a 2 mL este fue completado con disolución buffer. Para eluir la muestra de la columna se hizo pasar 2 mL de buffer. Este último efluente obtenido correspondió a la lipoproteína desalinizada, la cual se almacenó a 4°C hasta su procesamiento por un periodo no mayor de tres días.

❖ **Determinación de proteínas en las lipoproteínas separadas:**

Para estandarizar la cantidad de lipoproteína a oxidar se midió previamente el contenido de proteínas de cada una mediante el método de Lowry modificado por Schacterle y Pollack <sup>(107)</sup>. El principio del método se encuentra basado en que bajo condiciones alcalinas el ión  $\text{Cu}^{+2}$  forma un complejo con los enlaces peptídicos, reduciéndose a  $\text{Cu}^{+1}$ . El  $\text{Cu}^{+1}$  y los grupos radicales de la tirosina, triptófano y cisteína presentes en la proteína reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu produciendo un cromógeno azul de molibdeno/tungsteno. El Cuadro 4 resume el protocolo empleado.



**Cuadro 4. Protocolo para proteínas según el método de Lowry modificado por Shacterle y Pollack.**

REACTIVO	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
Buffer trizma base-NaCl, pH=7.2 (μL)	100	100	50
Patrón (μL)	----	50	----
Muestra (μL)	----	----	50
SDS al 1% (μL)	400	350	400
Reactivo de cobre* (μL)	500	500	500
Mezclar en vórtex, y dejar a temperatura ambiente por 10 min.			
Reactivo de Folin-Ciocalteau diluído (mL)	2	2	2
Mezclar en vórtex, llevar a Baño María a 56°C por 5 min			
Leer en espectrofotómetro a 650 nm, llevando a cero el aparato con agua destilada.			

\* Reactivo de cobre = solución de sulfato de cobre en hidróxido de sodio, tartrato de potasio sódico y carbonato de sodio anhidro. SDS= sodio dodecil sulfato.

Se utilizó como patrón seroalbúmina bovina a 310,2 μg/mL. La dilución del reactivo de Folin-Ciocalteau se preparó en función del volumen de reactivo requerido en cada ensayo guardando la siguiente proporción: 12,5 mL de reactivo por cada 200 mL de agua destilada. Las lecturas se efectuaron por duplicado en todos los casos y se promediaron. La concentración de proteína se expresó como μg/mL utilizando el siguiente factor de calibración:

$$\text{Factor de calibración (Fc)} = (15,51\mu\text{g} / 50\mu\text{L}) / (\text{Ap} - \text{Ab})$$

Donde:

Ap= absorbancia del patrón.

Ab= absorbancia del blanco.

15,51 μg =alícuota del patrón encontrada en 50 μL

$$\text{Concentración de Proteínas } (\mu\text{g/mL}) = (A_m - A_b) * F_c * 20$$

Donde:

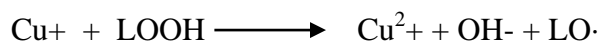
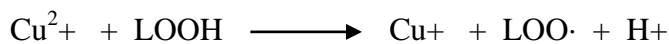
$A_m$ = absorbancia de la muestra

$F_c$ = factor de calibración.

20= factor para llevar de  $\mu\text{g}/50\mu\text{L}$  a  $\mu\text{g/mL}$

#### ❖ Oxidación *in vitro* de las lipoproteínas VLDL y LDL:

El ensayo aplicado se basó en el método propuesto por Thomas y Jackson <sup>(108)</sup>, el cual se trata de una oxidación *in vitro* mediada por ión metálico (cobre) donde:



La acción del ión cúprico sobre el hidroperóxido lipídico presente dentro de la lipoproteína provoca su clivaje y formación del radical peroxil ( $\text{LOO}\cdot$ ) y del ión cuproso. El ión cuproso, en una reacción similar a la reacción de Fenton actuando sobre otra molécula de hidroperóxido lipídico, da a lugar a la formación del radical alcóxil ( $\text{LO}\cdot$ ) más ión cúprico; los radicales producidos son muy reactivos y permiten propagar el proceso oxidativo <sup>(109)</sup>.

Para aplicar el protocolo se dispuso, en tubos con tapa, alícuotas de VLDL o LDL desalinizadas que contuvieran 25  $\mu\text{g}$  <sup>(110)</sup> ó 100  $\mu\text{g}$  de proteína <sup>(111)</sup>, respectivamente. Se dispensó la cantidad necesaria de buffer trizma base-NaCl para alcanzar un volumen final de 0,550 mL. Se añadió un volumen de sulfato de cobre

500  $\mu\text{M}$  de tal manera de obtener una concentración final de 17,5  $\mu\text{M}$  para el caso de la oxidación de la VLDL <sup>(110)</sup> y de 7  $\mu\text{M}$  para la LDL <sup>(111)</sup>. Los tubos se llevaron a incubación en agitación constante a 37°C por 3 horas para asegurar la oxidación total de la alícuota. Inmediatamente después se añadió a cada tubo 10  $\mu\text{L}$  de una disolución del antioxidante BHT (2-6 diterbutil p-cresol) 10  $\mu\text{M}$  en etanol con el propósito de detener la reacción de peroxidación.

❖ **Grado de oxidación de las lipoproteínas estudiadas:**

El grado de oxidación de las lipoproteínas estudiadas se midió a través del método propuesto por Kosugi y col. <sup>(112)</sup>, el cual se fundamenta en la reacción química entre el ácido tiobarbitúrico y los productos formados durante la peroxidación de los lípidos, originándose un pigmento rosado cuya máxima absorbancia se observa a 532 nm.

Para esta determinación se dispensó en el tubo que contenía la lipoproteína oxidada, 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico al 1%, más 0,5 mL de tricloroacético al 25%. Los tubos se llevaron a incubación en Baño María a 90-95°C por 40 min. Inmediatamente después los tubos se sumergieron en baño de hielo para evitar la formación de cromógenos de naturaleza no lipídica. Se añadió a cada tubo 0,1 mL de SDS al 20% para eliminar la turbidez y se centrifugó a 1000 g por 10 min. Ajustando a cero absorbancia con agua destilada se leyó en un espectrofotómetro la absorbancia

de los sobrenadantes a 532 nm y 600 nm, esta última lectura sirvió para restar interferencias por turbidez. Todas las muestras se procesaron por duplicado, y de igual manera el blanco y los patrones. El blanco consistió de 0,550 mL de buffer trizma base-NaCl. La concentración de TBARS se obtuvo a partir de una curva de calibración de equivalentes de malondialdehído generado por hidrólisis ácida del 1,1,3,3 tetrametoxipropano, expresándose como nmol TBARS/mg proteína. La curva de calibración se preparó como se muestra en el Cuadro 5.

**Cuadro 5. Curva de calibración para TBARS en lipoproteínas.**

<b>PATRONES</b>	<b>Volumen de buffer trizma base-NaCl (mL)</b>	<b>Volumen de 1,1,3,3 tetrametoxipropano*(<math>\mu</math>L)</b>
S1 (0,5 nmol)	0,5375	12,5
S2 (1 nmol)	0,525	25
S3 (2 nmol)	0,500	50
S4 (3 nmol)	0,475	75
S5 (4 nmol)	0,450	100

\*Preparado en concentración de 1 nmol/25 $\mu$ L.

Aquellas muestras que no presentaron algún grado de oxidación fueron reanalizadas en otras dos oportunidades y en lotes distintos de análisis para así asegurar el resultado.

### ***3.4.3 Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en plasma***

La medición de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se realizó siguiendo lo propuesto por Esterbauer y Cheeseman <sup>(113)</sup>, y Armstrong y Browne <sup>(114)</sup>. El ácido tiobarbitúrico (TBA) es un reactivo sensible para la detección de peróxidos lipídicos. Los especímenes biológicos contienen una mezcla de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, de las cuales la más abundante es el malondialdehído (MDA), un producto de la peroxidación lipídica que se produce naturalmente. El método se fundamenta en que la reacción del MDA con el TBA forma un aducto MDA-TBA bajo condiciones ácidas y de alta temperatura que se mide colorimétricamente a 530-540 nm. Para ello se pre-trató la muestra de la siguiente manera: 200  $\mu$ L de plasma obtenido con EDTA mezclado con 400  $\mu$ L de ácido tricloroacético al 10% frío, se incubara por 15 min. en hielo y se centrifugó por 15 min. a 2000 g. Se obtuvo un sobrenadante libre de proteínas que se procesó según el protocolo que a continuación se detalla en el Cuadro 6.

La concentración de TBARS en la muestra analizada se obtuvo a través de una curva de calibración multiplicando por el factor de dilución de la muestra (1/3). Para la construcción de la curva de calibración (Cuadro 7) se preparó diariamente una solución madre de 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP) 0,01M, una solución intermedia de TMP (125 nmol/mL) y patrones de trabajo.

**Cuadro 6. Protocolo para determinar TBARS en plasma.**

<b>REACTIVO</b>	<b>BLANCO</b>	<b>PATRÓN</b>	<b>MUESTRA</b>
H <sub>2</sub> O desmineralizada (mL)	0,200	---	---
Patrón (mL)	---	0,200	---
Sobrenadante (mL)	---	---	0,200
TBA 0,67% (mL)	0,200	0,200	0,200
SDS 8,1% (μl)	27	27	27
Mezclar, llevar a baño de agua hirviente por 10 min.			
Enfriar en hielo, leer a 532 nm.			

TBA: ácido tiobarbitúrico. SDS: sódio dodecil sulfato.

Para la preparación de los patrones de trabajo se emplearon las siguientes proporciones:

**Cuadro 7. Curva de calibración para TBARS en plasma.**

<b>Patrón de Trabajo</b>	<b>Concentración equivalente (nmol/mL)</b>	<b>Volumen de solución intermedia de TMP (μL)</b>	<b>Volumen de agua desmineralizada (mL)</b>
<b>1</b>	0,625	10	1,990
<b>2</b>	1,25	20	1,980
<b>3</b>	2,5	40	1,960
<b>4</b>	5	80	1,920
<b>5</b>	10	160	1,840
<b>6</b>	25	400	1,600

#### ***3.4.4 Determinación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas in vivo circulante***

Este análisis permitió determinar cuantitativamente la concentración de las lipoproteínas de baja densidad presentes en el plasma que han sido oxidadas *in vivo*.

El método consiste en un inmunoensayo enzimático de fase sólida de dos puntos, manufacturado por Merckodia AB (Uppsala, Suecia), aplicando la técnica de sándwich directo, según la cual dos anticuerpos monoclonales se dirigen contra determinantes antigénicos distintos de la molécula de LDL oxidada (LDLox). Durante la incubación, la LDLox de la muestra reacciona con los anticuerpos anti-LDLox unidos al pocillo de microtitulación. El otro anticuerpo marcado o conjugado con enzima no unido se elimina mediante lavado. El conjugado unido se detecta por reacción con el sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). La reacción se detiene añadiendo ácido para dar punto final colorimétrico que se lee espectrofotométricamente a 450 nm<sup>(115)</sup>.

El anticuerpo unido a la placa de microtitulación es el anticuerpo monoclonal específico murino 4E6. Dicho anticuerpo está dirigido contra un epítipo conformacional en la molécula apo B-100 de la LDL que es generado como consecuencia de la sustitución aldehídica de los residuos de lisina de la apo B-100. El segundo anticuerpo corresponde a un anticuerpo monoclonal de ratón conjugado con peroxidasa anti-apoB C humana<sup>(115)</sup>.

El procedimiento incluyó los siguientes pasos, de acuerdo a las especificaciones del fabricante <sup>(115)</sup>:

- Diluir seriadamente la muestra de la siguiente manera: se prepara una dilución 1/81 (25  $\mu$ L de plasma + 2000  $\mu$ L de buffer de muestra) que se diluye nuevamente en proporción 1/81. Como resultado las muestras se diluirán 1/6561.
- Pipetear 25  $\mu$ L de cada patrón, control y muestra diluida en los pocillos correspondientes.
- Añadir 100  $\mu$ L de buffer de ensayo a cada pocillo e incubar en un agitador de placa durante 2 horas a temperatura ambiente (18-25°C).
- Lavar 6 veces con lavador automático o aspirar el volumen de reacción. Añadir 350  $\mu$ L de buffer de lavado a cada pocillo. Aspirar completamente y repetir 5 veces más.
- Añadir 100  $\mu$ L de conjugado a cada pocillo e incubar en un agitador de placas durante 1 hora a temperatura ambiente (18-25°C).
- Lavar de la forma descrita anteriormente.
- Añadir 200  $\mu$ L de sustrato TMB e incubar durante 15 min. a temperatura ambiente.
- Añadir 50  $\mu$ L de solución de ácido sulfúrico a cada pocillo. Colocar la placa en agitador durante aprox. 15 segundos para asegurar el mezclado.
- Leer absorbancia óptica a 450 nm dentro de los 30 minutos siguientes.



- Calcular la concentración a partir de la curva de calibración y multiplicar por el factor de dilución (x 6561).

### **3.5 VALORES DE REFERENCIA Y/O PUNTOS DE CORTE PARA LAS VARIABLES ESTUDIADAS**

- **Perfil de ácidos grasos en eritrocitos:** en la actualidad no existen valores de referencia para los porcentajes de AGs obtenidos en eritrocitos, por lo que se calculó el percentil 75 de los ácidos grasos esenciales y sus productos principales, definiéndose como elevados todo porcentaje que se encontró por encima de dicho percentil.
- **Índice omega-3** se categorizó según lo siguiente: “alto o cardio-protector” cuando el índice omega-3 sea igual a 8% o más, entre 4% y 8% “intermedio” y “bajo” cuando se ubique por debajo de 4% <sup>(17)</sup>.
- **Susceptibilidad de oxidación *in vitro* de VLDL y LDL, TBARS, LDL oxidada circulante en plasma:** en vista de que no existen valores normales para estas variables en población pediátrica y que éstos, en muchos casos, también dependen de la metodología empleada para su medición, se definió como elevada aquella concentración que se ubicase por encima del percentil

75 calculado a partir del conjunto de valores obtenidos para cada variable en el grupo total de niños evaluados.

### **3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Empleando el paquete estadístico SPSS versión 20.0 y de acuerdo a los objetivos planteados en esta investigación se aplicaron los siguientes métodos de análisis estadístico:

- Medidas de tendencia central y dispersión, frecuencias absolutas y relativas, para describir las variables estudiadas.
- Prueba de t-student no pareada o Prueba de Mann-Whitney, según el caso. Estas pruebas permitieron comparar los promedios de las variables estudiadas según género y estrato socioeconómico.
- Prueba de Chi-cuadrado, para asociar las frecuencias de las variables categorizadas al estrato socioeconómico.
- Análisis de Correlación, a través del Coeficiente de Pearson o Rho de Spearman según el caso, para relacionar los porcentajes de AGs y los valores absolutos de los indicadores de lipoperoxidación determinados.
- Análisis de Regresión múltiple, para conocer los predictores de los AGs eritrocitarios e indicadores de peroxidación lipídica en el grupo de

escolares estudiados. Para la introducción/remoción de las variables se empleó el método de pasos sucesivos. El estrato socioeconómico se codificó de la siguiente manera: Estrato III= 1, Estrato V=0.

Antes de aplicar las pruebas estadísticas nombradas todos los datos fueron probados, para conocer si siguieron la distribución normal, utilizando para ello la Prueba de Shapiro Wilk. Se probó la homogeneidad de varianza con el test de Levene. Se consideró  $p < 0,05$  como nivel de significancia.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1 Presentación de resultados

La muestra quedó conformada por 91 escolares de ambos sexos con edad promedio de  $7,93 \pm 0,84$  años (mediana= 8,00 años; 95% IC: 7,76-8,11). La Tabla 1 presenta la distribución del grupo evaluado según edad, sexo y estrato socioeconómico. El mayor porcentaje de niños se encontró dentro del grupo de 7 años de edad (38,5%). Con respecto al género 58,2% de la muestra eran niñas. La distribución por grupos de edad no difirió por sexo ( $\chi^2=4,192$ ;  $p=0,123$ ). La muestra estuvo constituida por 49,5% de individuos que pertenecían al estrato III (clase media media) y 50,5% al estrato V (pobreza crítica).

Específicamente, en la sub-muestra ( $n=42$ ) seleccionada para determinar el perfil de ácidos grasos eritrocitarios, el porcentaje de niños con 7, 8 y 9 años fue idéntico (33,3%). De acuerdo al sexo quedó conformada por 23 varones (54,8%) y 19 hembras (45,2%), mientras que según estrato socioeconómico, 21 niños pertenecieron al estrato III y 21 al estrato V. La distribución por grupos de edad fue similar entre sexos en la sub-muestra ( $\chi^2=3,652$ ;  $p=0,161$ ).

**Tabla 1. Distribución de la muestra estudiada según la edad, sexo y estrato socio económico Naguanagua, Estado Carabobo.**

<b>Variables</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Edad (años)</b>		
<b>7</b>	35	38,5
<b>8</b>	37	29,7
<b>9</b>	29	31,9
<b>Genero</b>		
<b>Masculino</b>	53	41,8
<b>Femenino</b>	38	58,2
<b>Estrato socioeconómico</b>		
<b>III (Clase Media Media)</b>	45	49,5
<b>V (Pobreza crítica)</b>	46	50,5

n= 91.

En la Tabla 2, se muestran los valores promedio y mediana de los ácidos grasos eritrocitarios. En total se detectaron 20 AGs que presentaron señales claramente visibles por encima de la línea de base y con tiempos de retención reconocibles por los patrones utilizados. En el perfil de la sub-muestra (n=42) se observó que el ácido palmítico (16:0) representó la mayor proporción dentro de familia de los ácidos grasos saturados, seguido por el ácido esteárico (18:0). Dentro de la familia de monoinsaturados, el ácido oleico (18:1n-9) fue el ácido graso de mayor proporción mientras que el ácido linoléico (18:2n-6) y el ácido araquidónico (20:4n-6) representaron el mayor porcentaje dentro de la familia de poliinsaturados. Los niños del estrato V presentaron porcentajes de ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3)

significativamente mayores con respecto a los niños de estrato III ( $p=0,046$ ). Por su parte, los niños en pobreza crítica tendieron a presentar valores más elevados de ácido docosahexaenoico (22:6 n-3), ácido eicosenoico (20:1 n-9) y de ácido linoléico (18:2 n-6).

Las sumatorias y relaciones de los ácidos grasos eritrocitarios en escolares, según estrato socioeconómico se muestran en la Tabla 3. La sumatoria total de n-3 ( $\Sigma n-3$ ) y el índice omega-3 tendieron a ser mayores en el estrato V con respecto al otro estrato en estudio. Las relaciones de productos/sustratos para los AGPIs n-6 y n-3 que se calcularon con el fin de estimar la actividad de las elongasas ( $\Delta 5$  y  $\Delta 6$ ) y desaturasas ( $\Delta 4, \Delta 5, \Delta 6$  y  $\Delta 9$ ) resultaron similares para ambos estratos, a excepción del indicador  $22:6n-3/18:3n-3$ , que tuvo una tendencia a ser mayor en el estrato V. El índice  $n-6/n-3$  y las relaciones de los productos omega-6/omega-3, tales como,  $20:4n-6/20:5n-3$  y  $20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3)$ , fueron significativamente mayores en el estrato III ( $p=0,040$ ,  $p=0,038$  y  $p=0,007$ , respectivamente). El índice de fluidez de membrana celular ( $\Sigma SFA/(20:5n-3+22:6n-3)$ ) tendió a ser más elevado en los niños de clase media (estrato III).

En cuanto a la asociación entre el estrato socioeconómico y el estado de los ácidos grasos eritrocitarios esenciales y sus productos principales, se puede notar en la Tabla 4 que la frecuencia de niños con valores de ácido linoléico (18:2 n-6) por

**Tabla 2. Porcentaje de Ácidos Grasos eritrocitarios en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Ácidos Grasos mol %	Sub-muestra (42)		Estrato socioeconómico				p
			III (21)		V (21)		
	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	
12:0	0,05	0,06±0,07	0,04	0,05±0,04	0,06	0,08±0,08	0,143
14:0	0,54	0,73±0,73	0,56	0,60±0,37	0,51	0,85±0,97	0,505
15:0	0,37	0,50±0,45	0,37	0,43±0,23	0,38	0,56±0,59	0,642
16:0	30,50	30,81±5,02	31,05	30,40±5,71	30,50	31,22±4,33	0,990
17:0	0,47	0,45±0,20	0,49	0,44±0,21	0,44	0,47±0,21	0,850
18:0	18,59	18,46±2,77	19,25	19,04±3,03	18,32	17,88±2,41	0,180
20:0	0,01	0,06±0,15	0,02	0,07±0,19	0,00	0,04±0,08	0,382
24:0	0,75	0,81±0,46	0,65	0,72±0,52	0,95	0,90±0,38	0,196
16:1 n-7	0,42	0,49±0,29	0,43	0,49±0,24	0,42	0,49±0,34	0,473
18:1 n-9 ( <i>trans</i> )	0,17	0,18±0,10	0,17	0,20±0,12	0,16	0,17±0,08	0,222
18:1 n-9	17,66	18,91±5,53	17,88	19,62±6,66	16,98	18,19±4,15	0,624
20:1 n-9	0,16	0,15±0,08	0,14	0,13±0,08	0,18	0,17±0,07	<b>0,068</b>
18:2 n-6	14,87	14,78±2,17	13,93	14,29±1,83	15,42	15,25±2,39	<b>0,089</b>
18:3 n-6	0,13	0,21±0,19	0,13	0,20±0,15	0,13	0,22±0,22	0,753
20:3 n-6	1,58	1,46±0,61	1,56	1,42±0,67	1,59	1,50±0,56	0,672
20:4 n-6	8,37	8,07±3,70	6,75	7,63±4,20	9,43	8,50±3,17	0,453
18:3 n-3	0,21	0,26±0,18	0,19	0,27±0,23	0,21	0,25±0,12	0,419
20:3 n-3	0,00	0,02±0,03	0,00	0,01±0,02	0,00	0,02±0,04	0,336
20:5 n-3	0,21	0,21±0,12	0,16	0,18±0,14	0,22	0,24±0,08	<b>0,046</b>
22:6 n-3	2,26	2,28±1,35	1,69	1,91±1,26	2,68	2,65±1,37	<b>0,077</b>

n entre paréntesis. DE: desviación estándar. Prueba t de student no pareada y U de Mann-Whitney, según el caso, para las diferencias entre estratos.

encima del percentil 75 (> 16,49 mol%), fue significativamente mayor en los escolares de estrato V, con respecto a los escolares de estrato III (p=0,040). Por su

**Tabla 3. Sumatorias y Relaciones de los ácidos grasos eritrocitarios en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico.**

**Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Sumatoria o Relación	Sub-muestra (42)		Estrato socioeconómico				p
	Mediana	$\bar{X} \pm DE$	III (21)		V (21)		
			Mediana	$\bar{X} \pm DE$	Mediana	$\bar{X} \pm DE$	
$\Sigma SFA$	52,01	52,20 $\pm$ 6,75	52,29	52,04 $\pm$ 7,72	51,74	52,36 $\pm$ 5,81	0,521
$\Sigma UFA$	48,07	47,81 $\pm$ 6,75	47,88	47,97 $\pm$ 7,70	48,26	47,65 $\pm$ 5,83	0,521
$\Sigma MUFA$	18,30	19,73 $\pm$ 5,69	18,63	20,44 $\pm$ 6,76	17,67	19,02 $\pm$ 4,43	0,606
$\Sigma PUFA$	27,49	28,08 $\pm$ 7,59	26,84	27,53 $\pm$ 8,63	30,15	28,63 $\pm$ 6,56	0,458
$\Sigma n-9$	17,74	19,06 $\pm$ 5,53	17,98	19,75 $\pm$ 6,67	17,17	18,36 $\pm$ 4,14	0,606
$\Sigma n-6$	24,58	25,28 $\pm$ 6,66	24,25	25,09 $\pm$ 7,87	26,49	25,47 $\pm$ 5,38	0,538
$\Sigma n-3$	2,74	2,80 $\pm$ 1,39	1,98	2,44 $\pm$ 1,30	3,16	3,16 $\pm$ 1,42	<b>0,092</b>
Índice Omega-3 <sup>(a)</sup>	2,51	2,49 $\pm$ 1,44	1,80	2,10 $\pm$ 1,36	2,89	2,89 $\pm$ 1,43	<b>0,074</b>
PUFA/SFA	0,55	0,57 $\pm$ 0,27	0,49	0,57 $\pm$ 0,36	0,57	0,56 $\pm$ 0,17	0,359
UFA/SFA	0,92	0,96 $\pm$ 0,36	0,91	0,98 $\pm$ 0,47	0,93	0,93 $\pm$ 0,21	0,538
n-6/n-3	9,37	10,83 $\pm$ 4,84	10,79	12,58 $\pm$ 5,82	8,93	9,09 $\pm$ 2,79	<b>0,040</b>
16:1n-7/16:0x(10-2) <sup>(b)</sup>	1,30	1,64 $\pm$ 1,03	1,29	1,67 $\pm$ 0,84	1,30	1,61 $\pm$ 1,22	0,359
18:1n-9/18:0 <sup>(b)</sup>	0,92	1,07 $\pm$ 0,46	0,92	1,08 $\pm$ 0,54	0,91	1,06 $\pm$ 0,38	0,831
18:3n-6/18:2n-6 x(10 <sup>-2</sup> ) <sup>(c)</sup>	0,86	1,56 $\pm$ 1,73	0,99	1,42 $\pm$ 1,21	0,83	1,70 $\pm$ 2,15	0,642
20:4n-6/18:2n-6 <sup>(d)</sup>	0,58	0,53 $\pm$ 0,23	0,49	0,52 $\pm$ 0,27	0,61	0,55 $\pm$ 0,18	0,678
20:5n-3/18:3n-3 <sup>(d)</sup>	0,98	0,96 $\pm$ 0,51	0,81	0,83 $\pm$ 0,56	1,17	1,08 $\pm$ 0,43	0,123
22:6n-3/18:3n-3 <sup>(e)</sup>	10,19	11,06 $\pm$ 7,87	7,92	9,54 $\pm$ 8,60	13,50	12,57 $\pm$ 6,94	<b>0,064</b>
22:6n-3/20:5n-3 <sup>(f)</sup>	11,20	11,06 $\pm$ 3,64	11,24	11,19 $\pm$ 3,39	10,70	10,94 $\pm$ 3,95	0,826
20:4n-6/20:3n-6 <sup>(g)</sup>	5,54	5,60 $\pm$ 1,41	5,49	5,44 $\pm$ 1,63	5,62	5,76 $\pm$ 1,17	0,473
20:4n-6/20:5n-3 <sup>(h)</sup>	41,35	42,48 $\pm$ 15,80	55,86	47,51 $\pm$ 15,46	38,87	37,46 $\pm$ 14,83	<b>0,038</b>
20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3) <sup>(h)</sup>	3,52	3,55 $\pm$ 0,96	3,84	3,94 $\pm$ 0,99	3,35	3,16 $\pm$ 0,75	<b>0,007</b>
$\Sigma SFA/(20:5n-3+22:6n-3)$ <sup>(i)</sup>	21,56	33,88 $\pm$ 28,49	32,00	40,59 $\pm$ 30,38	17,35	27,18 $\pm$ 25,42	<b>0,076</b>

n entre paréntesis.

SFA: ácidos grasos saturados; UFA: ácidos grasos insaturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados. Prueba t de student no pareada y U de Mann-Whitney, según el caso, para las diferencias entre estratos. (a) Índice Omega-3: 20:5n-3+22:6n-3; (b) estearoil-CoA-desaturasa1 ( $\Delta 9$ -desaturasa); (c)  $\Delta 6$ -desaturasa; (d)  $\Delta 6$ -elongasa y  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$ desaturasas; (e)  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$  elongasas y  $\Delta 6$ ,  $\Delta 5$ ,  $\Delta 4$  desaturasas; (f)  $\Delta 5$ -elongasa y  $\Delta 4$ -desaturasa; (g)  $\Delta 5$ -desaturasa; (h) relación de productos n-6/n-3; (i) Índice de fluidez de membrana celular.



**Tabla 4. Asociación entre estrato socioeconómico y elevación de ácidos grasos eritrocitarios esenciales precursores y sus productos, en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico. Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Ácido Graso	Sub- muestra n (%)	Estrato socioeconómico		Estadístico exacto de Fischer	p
		III n (%)	V n (%)		
<b>18:2 n-6</b>	10 (23,8)	2 (9,5)	8 (39,1)	4,385	<b>0,040</b>
<b>20:4 n-6</b>	10 (23,8)	4 (19,0)	6 (28,6)	0,525	0,359
<b>18:3 n-3</b>	10 (23,8)	5 (23,8)	5 (23,8)	0,008	0,607
<b>20:5 n-3</b>	10 (23,8)	4 (19,0)	6 (28,6)	0,525	0,359
<b>22:6 n-3</b>	10 (23,8)	4 (19,0)	6 (28,6)	0,525	0,359

n total= 42; n estrato III= 21; n estrato V= 21.

Porcentajes calculados con base al número total de individuos en cada estrato socioeconómico.

parte, la distribución de los niños estudiados según el índice omega-3 fue 88% en el rango bajo (< 4%) y 12% en rango intermedio del índice (4-8%); esta frecuencia no se asoció a la estratificación socioeconómica.

En la Tabla 5 se presentan los valores promedio y mediana de los marcadores de peroxidación lipídica, en el grupo total y según el estrato socioeconómico. Dichos indicadores fueron medidos en la totalidad de la muestra estudiada (n=91). En comparación con los niños que pertenecían al estrato V, los niños de estrato III mostraron niveles significativamente más elevados de LDL oxidada circulante,

**Tabla 5. Marcadores de peroxidación lipídica en escolares, según estrato socioeconómico y en la muestra total.**

**Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Marcadores	Muestra Total (91)		Estrato socioeconómico				p
			III (45)		V (46)		
	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	Mediana	$\bar{X}\pm DE$	
<b>TBARS (nmol/ml)</b>	0,84	0,89±0,54	0,84	0,95±0,73	0,84	0,84±0,22	0,786
<b>LDLox (U/L)</b>	44,86	44,73±13,94	46,80	49,98±12,79	43,08	39,60±13,20	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDLox/CT (U/L)/(mg/dl)</b>	0,34	0,32±0,09	0,36	0,34±0,09	0,32	0,31±0,10	0,091
<b>SOx VLDL (nmol/mg prot)</b>	5,80	7,15±5,29	9,00	8,41 ±5,69	4,98	5,92±4,59	0,068
<b>SOx LDL (nmol/mg prot)</b>	1,20	1,30±1,12	1,30	1,60±1,26	1,00	1,00±0,88	<b>0,002</b>
<b>CT (mg/dl)</b>	134,00	141,18±32,20	147,40	151,34±37,60	130,50	131,24±22,08	<b>0,006</b>

e  
ntre paréntesis.

Prueba t de student no pareada y U de Mann-Whitney, según el caso, para las diferencias entre estratos. SOx LDL: susceptibilidad de oxidación de LDL; SOx VLDL: susceptibilidad de oxidación de la VLDL; LDLox: LDL oxidada circulante; CT: colesterol total.

susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la LDL y colesterol total. Adicionalmente, la susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la VLDL y el índice LDLox/CT también tendieron a ser mayores en los escolares de estrato III.

La frecuencia de escolares con elevación de los marcadores de peroxidación lipídica se asoció al estrato socioeconómico. El aumento por encima del percentil 75 de LDL oxidada circulante, susceptibilidad de oxidación de LDL y de VLDL fue significativamente más frecuente entre los escolares de estrato III en comparación con los escolares de estrato V (Tabla 6).

**Tabla 6. Asociación entre estrato socioeconómico y elevación de los marcadores de peroxidación lipídica, según estrato socioeconómico y en la muestra total.**

**Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Marcadores de peroxidación lipídica	Muestra Total n (%)	Estrato socioeconómico		Estadístico exacto de Fischer	p
		III n (%)	V n (%)		
<b>TBARS elevado</b>	21 (23,08)	11 (24,44)	10 (21,74)	0,904	0,477
<b>LDLox elevada</b>	23 (25,30)	18 (40,0)	5 (10,9)	10,220	<b>0,001</b>
<b>Índice LDLox/CT elevado</b>	20 (22,0)	12 (26,7)	8 (17,4)	1,141	0,208
<b>SOx VLDL elevada</b>	21 (23,1)	16 (35,6)	5 (10,9)	7,809	<b>0,005</b>
<b>SOx LDL elevada</b>	21 (23,1)	16 (35,6)	5 (10,9)	7,809	<b>0,005</b>

n total= 91; n estrato III= 45; n estrato V= 46. Porcentajes calculados con base al número total de individuos en cada estrato socioeconómico. TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; LDLox: lipoproteína de baja densidad oxidada circulante; CT: colesterol total; SOx LDL: susceptibilidad de oxidación de LDL; SOx VLDL: susceptibilidad de oxidación de la VLDL.

La Tabla 7 presenta el análisis de correlación entre los indicadores de peroxidación lipídica y los ácidos grasos determinados o las relaciones calculadas a partir de los mismos. En el grupo total de niños el índice LDLox/CT se correlacionó negativa y significativamente con el ácido láurico (12:0). El análisis discriminado por estrato socioeconómico reveló que en los niños de estrato III, la susceptibilidad de oxidación de LDL se correlacionó inversa y significativamente con el porcentaje de ácido palmítico (16:0) y con la sumatoria de los AGs saturados totales. En el mismo grupo de escolares, la sumatoria de AGs insaturados totales se correlacionó positiva y significativamente con la susceptibilidad de oxidación de LDL.

En el caso de los escolares de estrato V, el índice LDLox/CT y los porcentajes de ácido graso láurico (12:0) y de mirístico (14:0) se encontraron correlacionados negativa y significativamente. En este orden de ideas en el mismo estrato se encontró una correlación negativa y significativa entre la susceptibilidad de oxidación de VLDL y el ácido margárico (17:0); mientras que el índice LDLox/CT y el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) se encontraron correlacionados positiva y significativamente.

El análisis de regresión múltiple para establecer los predictores de indicadores de peroxidación lipídica y ácidos grasos eritrocitarios por reveló que las concentraciones de LDL oxidada fueron predichas por el estrato socioeconómico y por el colesterol total. La susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la VLDL y la

**Tabla 7. Análisis de correlación entre indicadores de peroxidación lipídica, porcentajes de ácidos grasos y relaciones calculadas a partir de los mismos, en la sub-muestra estudiada y según estrato socioeconómico.**

**Naguanagua, Edo. Carabobo.**

Ácido graso - Indicador de lipoperoxidación	Sub-muestra (42)		Estrato socioeconómico			
			III (21)		V (21)	
	Rho Spearman	P	Rho Spearman	P	Rho Spearman	P
<b>12:00 - LDLox/CT</b>	<b>-0,383</b>	<b>0,012</b>	-0,152	0,512	<b>-0,494</b>	<b>0,023</b>
<b>14:00 - LDLox/CT</b>	-0,211	0,180	0,024	0,918	<b>-0,439</b>	<b>0,047</b>
<b>16:00 - SOx LDL</b>	-0,222	0,157	<b>-0,478</b>	<b>0,028</b>	-0,052	0,822
<b>17:00 - SOx VLDL</b>	0,044	0,782	0,477	0,029	<b>-0,476</b>	<b>0,029</b>
<b>20:5n-3 - LDLox/CT</b>	0,010	0,949	-0,139	0,548	<b>0,523</b>	<b>0,015</b>
<b>ΣSFA - SOx LDL</b>	-0,123	0,436	<b>-0,491</b>	<b>0,024</b>	0,062	0,790
<b>ΣUFA - SOx LDL</b>	0,136	0,389	<b>0,509</b>	<b>0,018</b>	-0,062	0,790

n entre paréntesis.

Solo se muestran los indicadores que mostraron correlaciones significativas en los grupos estudiados.

LDLox: lipoproteína de baja densidad oxidada circulante; CT: colesterol total; SOx LDL: susceptibilidad de oxidación de LDL; SOx VLDL: susceptibilidad de oxidación de la VLDL.ΣSFA: sumatoria de los ácidos grasos saturados totales; ΣUFA: sumatoria de ácidos grasos insaturados totales.

relación n6/n3 fueron predichas por el estrato socioeconómico independientemente de la edad y sexo. Por último, la susceptibilidad de oxidación *in vitro* de la LDL por el estrato socioeconómico y la edad (Tabla 8).

**Tabla 8. Predictores de los indicadores de peroxidación lipídica y ácidos grasos eritrocitarios evaluados.  
Naguanagua, Edo. Carabobo.**

<b>Variable Dependiente</b>	<b>Predictores</b>	<b>Coefficiente (B)</b>	<b>Error típico (B)</b>	<b>IC 95% (B)</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>LDLox (U/L)</b>	ESE	7,10	2,663	1,812 - 12,396	2,668	<b>0,009</b>
	CT	0,16	0,042	0,080 - 0,246	3,922	<b>&lt;0,001</b>
<b>SOx VLDL (nmol/mg prot)</b>	ESE	2,49	1,083	0,340 - 4,644	2,301	<b>0,024</b>
<b>SOx LDL (nmol/mg prot)</b>	ESE	0,49	0,228	0,042 - 0,947	2,170	<b>0,033</b>
	Edad	-0,29	0,136	-0,558 - -0,016	-2,106	<b>0,038</b>
<b>n-6/n-3</b>	ESE	3,49	1,409	0,643 - 6,339	9,120	<b>&lt;0,001</b>

n= 42 para cuando se trató de los ácidos grasos eritrocitarios y n=91 cuando se trató de los indicadores de lipoperoxidación.

Análisis de regresión múltiple. Las variables independientes o predictores introducidos fueron: estrato socioeconómico, edad, sexo y colesterol (solo para LDL oxidada). Se muestran solo los indicadores que resultaron significativamente predichos por el estrato socioeconómico.

ESE: estrato socioeconómico; LDLox: lipoproteína de baja densidad oxidada circulante; CT: colesterol total; SOx LDL: susceptibilidad de oxidación de LDL; SOx VLDL: susceptibilidad de oxidación de la VLDL.

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN

#### 4.1 Discusión de resultados

La población venezolana en las últimas décadas ha mantenido una dieta cuyo contenido de grasa aporta un valor cercano al 30% del consumo total calórico <sup>(116)</sup>. Gran parte de esta grasa proviene del consumo de grasas visibles (aceite, mayonesa, margarina), otra pequeña fuente es de origen animal (carne, pescado) <sup>(117)</sup>. Es importante destacar que la distribución del consumo de estas grasas varía según el estrato socioeconómico. En trabajos realizados por FUNDACREDESA se comprobó que los estratos de I a III tienen mayor consumo de grasa en comparación con los estratos IV y V <sup>(89)</sup>.

El perfil de ácidos grasos en plasma refleja el consumo de grasas a corto plazo, mientras que en los glóbulos rojos refleja el consumo a largo plazo de los mismos. Las membranas celulares se componen principalmente de fosfolípidos que son particularmente ricos en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Por otro lado, la sangre completa contiene más AGPIs de cadena larga en comparación con el plasma. La sangre completa contiene entonces AGs de diversas fuentes como son, los fosfolípidos circulantes del plasma y de los eritrocitos, siendo estos últimos los

principales contribuyentes de AGs <sup>(118)</sup>, por lo que en este trabajo se prefirió establecer el perfil de los ácidos grasos contenidos en eritrocitos.

Para nuestro conocimiento es el primer estudio que suministra datos del perfil de AGs eritrocitarios en escolares venezolanos aparentemente sanos. La evaluación de prepúberes reduce la confusión asociada a los intensos cambios hormonales que surgen con la pubertad. La información aportada constituye una referencia para otros estudios similares ya que las muestras analizadas fueron recolectadas entre 2005 y 2007, años en los cuales la situación alimentaria del país pudo ser distinta a la presente. En general, en Latinoamérica existen pocas referencias sobre el perfil poblacional de AGs, sin contar que los procedimientos analíticos, muestras biológicas (suero, eritrocitos, sangre total o células de la mucosa bucal) y forma de expresión de los datos varían de un estudio a otro. De esta manera, no resulta tarea fácil contrastar los resultados del presente trabajo con otros similares en vista de la gran variabilidad en la forma de expresión del perfil de ácidos grasos, la cual en nuestro caso fue en mol%; otros trabajos presentan valores expresados en porcentaje, sin embargo, ambas expresiones difieren muy poco entre sí y por ende son comparables <sup>(89)</sup>.

Esta investigación amplía los resultados informados en 2013 por Bosch y col. <sup>(91)</sup>, quienes establecieron el perfil de ácidos grasos en células del carrillo (comparable al obtenido en eritrocitos según Klinger y col. <sup>(90)</sup>) en niños de 3 a 6 años de edad de las regiones de Caracas (región central, de todos los estratos socioeconómicos),



Margarita (región insular, de todos los estratos socioeconómicos), Estado Bolívar (estratos IV y V) y de Orinoquia (muestra de población indígena selvática), agrupados según estrato socioeconómico de acuerdo al método de Graffar-Méndez Castellano, dicho estudio constituye el principal referente comparativo, por el momento, de los datos obtenidos en este trabajo.

El presente trabajo no mostró diferencias significativas en la mayoría de los AGs estudiados en los estratos III y V. Como se esperaba el mayor porcentaje del perfil de AGs estuvo constituido por los AGs saturados, ya que actualmente son los de mayor consumo en América <sup>(119)</sup>. Estos AGs presentaron un porcentaje inferior al encontrado en niños de Caracas y Margarita de todos los estratos socioeconómicos (I-V) pero superior al evidenciado en los niños del Estado Bolívar (IV y V) por Bosch y col. <sup>(91)</sup> El porcentaje de AGs saturados en el presente estudio fue similar al encontrado en perfiles eritrocitarios de infantes y adolescentes normopesos informados por Cortez y col. en España para 2013 <sup>(47)</sup>, Martínez y col. en México para ese mismo año <sup>(120)</sup>, y Brigandi y col. en EE.UU. para 2015 <sup>(121)</sup>.

En todos los estudios ya mencionados incluyendo el presente, el ácido palmítico (16:0= 30,81±5,02 mol%) obtuvo el mayor porcentaje entre el resto de los AGs saturados, pero en comparación con los niños de las ciudades de Caracas (I-V) y Margarita (I-V) <sup>(91)</sup>, el presente estudio mostró valores inferiores; a su vez fueron

mayores en comparación con el Edo. Bolívar (IV y V), España, México y EE.UU.<sup>(47,120,121)</sup>.

Por su parte, el ácido esteárico (18:0= 18,46±2,77 mol%), AG saturado de importante representación en todos los perfiles por su alto consumo en la dieta, mostró un patrón similar respecto del estudio de Bosch y col.<sup>(91)</sup> o de los realizados en España, México y EE.UU.<sup>(47,120,121)</sup>.

Los AGs monoinsaturados representaron una quinta parte del perfil encontrado en el grupo total de niños estudiados ( $\Sigma$ MUFA= 19,73±5,69 mol%), dicha cifra fue muy similar a lo observado en niños caraqueños de estratos I-III<sup>(91)</sup>, españoles<sup>(47)</sup>, mexicanos<sup>(120)</sup> y norteamericanos<sup>(121)</sup>, pero duplicó a lo encontrado en los de niños caraqueños de estratos más marginales (IV y V) o margariteños de todos los estratos (I-V)<sup>(91)</sup>. Dentro de la familia de los AGs monoinsaturados, la proporción de ácido oleico representó casi la totalidad de los AGs de la misma (18:1n-9=18,91 mol%), siendo cercana a la evidenciada en niños del estado Bolívar (IV-V) pero mayor respecto de los niños caraqueños en todos su estratos (I-V) y margariteños (I-V)<sup>(94)</sup>, e incluso en comparación con los estudios internacionales antes mencionados<sup>(47,120,121)</sup>.

Los AGs *trans* se han relacionado con resistencia a la insulina y obesidad al inducir alteraciones en las membranas celulares y elevar las concentraciones de

factores pro-inflamatorios, incluyendo interleuquina-6, factor de necrosis tumoral y prostaglandinas. Los estudios sobre estos AGs en niños son escasos pero aunque no está claro el mecanismo biológico específico, estos provocan aumento de peso y se sabe además que pueden tener efectos adversos sobre el crecimiento y el desarrollo mediante interferencia con el metabolismo de AGs esenciales <sup>(122,123)</sup>. Como biomarcador de la ingesta de AGs *trans* en este trabajo se determinó el ácido elaídico, el principal isómero de los AGs *trans* que se generan durante la hidrogenación parcial de aceites vegetales y que se encuentra en una gran cantidad de alimentos procesados industrialmente, su ingesta elevada se ha asociado a una disminución del riesgo de pérdida de peso, particularmente en mujeres <sup>(124)</sup>.

Venezuela no cuenta con una base de datos del contenido de AGs *trans* de los alimentos más consumidos, sin embargo, un análisis de galletas y mezclas de tortas comerciales demostró un porcentaje de AGs *trans* tal que permitió declararlas como "libres de grasas *trans*" ó "cero *trans*" de acuerdo a lo pautado en las normas de rotulado y declaración de propiedades nutricionales del reglamento MERCOSUR y normas internacionales <sup>(125)</sup>. Esto último es compatible con la baja proporción de ácido elaídico (18:1n9 *trans*= 0,18±0,10 mol%) evidenciada en los escolares evaluados en esta investigación, la cual también fue similar a la hallada en niños de todos los estratos de Bolívar, Caracas y Margarita <sup>(91)</sup>, así como de España y México <sup>(47,120)</sup>, países que si cuentan con disposiciones gubernamentales que limitan el contenido de AGs *trans* en los alimentos, a diferencia de Venezuela. También el

porcentaje de ácido eláidico encontrado en los niños de los dos estratos estudiados fue inferior al informado por Baylin y col. <sup>(126)</sup> en niños colombianos de 5 a 12 años de diferentes estratos socioeconómicos; al igual que en el presente estudio estos autores no encontraron diferencias significativas en la concentración del ácido eláidico según el estrato socioeconómico.

El porcentaje de los AGPIs en los escolares carabobeños del presente estudio ( $\Sigma$ PUFA= 28,08±7,59 mol%) fue muy cercano al demostrado en niños del Estado Bolívar por Bosch y col. <sup>(91)</sup> así como en España, México y EE.UU por diferentes autores <sup>(47,120,121)</sup>, aunque superó dramáticamente a los valores observados en los niños de Caracas y Margarita en todos los estratos socioeconómicos <sup>(94)</sup>. Los AGs  $\omega$ -6 representaron gran proporción de los AGPIs al igual que en otros trabajos <sup>(47,91,120,121)</sup>; asimismo sus porcentajes coinciden con los demostrados en un estudio realizado en 2009 en leche materna de mujeres carabobeñas que pertenecían a los estratos IV y V <sup>(41)</sup>.

El porcentaje de ácido linoléico en los escolares estudiados fue superior al demostrado en otros estudios europeos <sup>(47)</sup> o norteamericanos <sup>(121)</sup>, aunque similar al observado en niños mexicanos <sup>(120)</sup>, lo cual pudiera ser manifestación del contexto sociocultural común de los países latinoamericanos. Dentro de la familia de AGs  $\omega$ -6 llamó la atención que el porcentaje de ácido linoléico (18:2n-6= 14,78±2,17 mol%) de los niños evaluados fuese más cercano al exhibido por los niños caraqueños de

estratos más favorecidos (I-III), que a los de condición socioeconómica baja, superando entre 6 y 12% al encontrado en niños caraqueños de estratos más marginales (IV y V) y margariteños (I-V) <sup>(91)</sup>, respectivamente.

No obstante, al realizar el análisis comparativo según estratificación económica, se encontró que el ácido linoléico (18:2n-6) tendió a ser más elevado en los niños del estrato V en comparación con los niños del estrato III, encontrándose que la frecuencia de niños por encima del percentil 75 de dicho AG fue significativamente más alto entre los escolares que pertenecían al estrato V. De acuerdo al Instituto Nacional de Estadística <sup>(127)</sup>, el consumo aparente diario per cápita por estrato social de la población venezolana entre el primer semestre 2006 y segundo semestre 2007, no registró mayor diferencia en el consumo de aceites (fuente rica en ácido linolénico) entre los estratos socioeconómicos estudiados. Sin embargo, esto último hay que considerarlo con cautela puesto que tal registro se basa en alimentos “adquiridos” para consumo, por lo que expresa en gran medida la “disponibilidad” del alimento y no necesariamente su consumo real y efectivo, que si se refleja en el perfil que demuestran los eritrocitos en sus 120 días de vida media.

El ácido araquidónico (AA), el producto más importante del ácido linoléico, en este trabajo no mostró diferencias significativas en los estratos estudiados, coincidiendo con lo observado en Caracas, Margarita y Bolívar <sup>(91)</sup>, sin embargo, el porcentaje de este AG en los niños carabobeños fue muy superior a los informados en

los lugares ya mencionados, seguramente reflejando la mayor disponibilidad de su precursor antes comentada. Aunque el porcentaje encontrado de AA fue similar a lo demostrado en niños de España, México y EE.UU. <sup>(47,120,121)</sup>, es de interés las diferencias observadas localmente ya que el exceso de AA se asocia a efectos deletéreos relacionados con acciones pro-inflamatorias y pro-coagulantes <sup>(6)</sup>.

En el grupo total de los niños estudiados el porcentaje de los AGs  $\omega$ -3 fue mayor en comparación con los niños de Caracas, Margarita y Bolívar en todos los estratos estudiados por Bosch y col. <sup>(91)</sup> En contraste, fue similar a lo informado por otros autores en México y EE.UU. <sup>(120,121)</sup>, pero inferior a lo evidenciado en niños españoles <sup>(47)</sup>, en los que se observan valores llamativamente mayores, probablemente relacionados con la dieta mediterránea rica en AGs  $\omega$ -3 propia de la población española, según informa el consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta <sup>(128)</sup>.

Dentro de la familia de los AGs  $\omega$ -3 el precursor más importante es el ácido alfa-linolénico (ALN), del cual se derivan diversos AGs, entre ellos el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), con funciones especialmente cardio-protectoras <sup>(73)</sup>. Si bien el ALN en el presente trabajo no mostró diferencias entre los estratos estudiados, su valor en el grupo total fue prácticamente idéntico al de los niños caraqueños de estratos más favorecidos (I-III) pero superior al presentado por los de estratos bajos (IV y V) o por los margariteños de todos los

estratos (I-V), mientras que Bolívar exhibió porcentajes que triplicaron al presente estudio <sup>(91)</sup>. El porcentaje de ALN (18:3 n-3=  $0,26\pm 0,18$  mol%) en los niños carabobeños coincidió con los valores detectados en México y EE.UU. <sup>(120,121)</sup>.

Los porcentajes de EPA ( $0,21\pm 0,12$  mol%) y DHA ( $2,28\pm 1,35$  mol%) así como el índice omega-3 (DHA+EPA=  $2,49\pm 1,44$  mol%) en el grupo total estudiado concuerdan con los mostrados en el estudio carabobeño de perfil de ácidos grasos en leche materna <sup>(41)</sup>; a su vez fueron notoriamente mayores que aquellos evidenciados en niños de Caracas, Margarita y Bolívar en todos los estratos <sup>(91)</sup>.

Por su parte, los porcentajes de DHA y EPA fueron mayores en los niños de estrato V respecto del estrato III, alcanzando diferencias significativas en el DHA. Esto último fue un hallazgo interesante pero a la vez inesperado. Como ya se ha mencionado anteriormente, el contenido dietario de dichos AGs está directamente asociado al consumo de pescados de piel azul como su principal fuente. Conservando la cautela con la cual deben considerarse los datos aportados por el Instituto Nacional de Estadística en cuanto al consumo aparente diario per cápita por estrato social, es importante destacar que entre el primer semestre de 2006 y el segundo semestre 2007 se registró un mayor consumo de pescado, del tipo sardina enlatada, en el estrato V en comparación con el estrato III <sup>(127)</sup>.

En general, se conoce que el consumo de pescado fresco en las grandes zonas urbanas como Valencia es bajo, especialmente en los individuos de estrato IV y V, debido a su alto costo. Sin embargo, no es menos cierto que el consumo de sardina enlatada siempre fue la alternativa económica y popular a la que los estratos más bajos siempre han recurrido para mantener su ingesta calórica y de proteínas, especialmente durante los años en los que se realizó el muestreo. Esto último explicaría la observación en el presente estudio de porcentajes eritrocitarios de DHA y EPA más altos entre los niños de estrato V.

Hoy por hoy se analizan diversas sumatorias y relaciones de AGs para obtener la visión integrada con la cual se metabolizan y actúan fisiológicamente. En tal sentido, un equilibrio entre los AGs omega-6 y omega-3 genera un estado fisiológico menos inflamatorio en términos de la expresión genética, el metabolismo de los leucotrienos, producción de interleucina-1 (IL-1) y de prostaglandinas <sup>(129)</sup>. Sin embargo, las modificaciones de los hábitos alimentarios del ser humano han conducido a una elevada ingesta de AGs  $\omega$ -6 y a la reducción simultánea y marcada del consumo de AGs  $\omega$ -3, lo cual a su vez ha originado un desequilibrio en la relación n-6/n-3, muy diferente a la proporción original 1:1 que conservaba la dieta que mantenían los seres humanos en la era paleolítica, la cual se basaba en carne, pescados, plantas silvestres, nueces y bayas que aportaban cantidades iguales de AGs omega-3 y omega-6 de origen vegetal (AL + ALN) así como grasa provenientes de animales terrestres en su hábitat natural y de pescado (AA + EPA + DHA) <sup>(129)</sup>.



En este orden de ideas, Giacomini y col. <sup>(95)</sup> han propuesto para la población venezolana un valor máximo para la relación n-6/n-3 de 10:1, mientras Simopoulos <sup>(130)</sup> recomienda mantener una relación de 4:1 debido a su asociación con una reducción del 70% en la mortalidad total por enfermedades cardiovasculares. El perfil eritrocitario del grupo total estudiado arrojó una relación n-6/n-3 media de 11:1, la cual fue próxima al valor obtenido en los niños caraqueños de estrato I-III evaluados por Bosch y col. <sup>(91)</sup> Los niños evaluados mostraron valores de esta relación cercanos a los encontrados en México <sup>(120)</sup> y EE.UU. <sup>(121)</sup>, pero mayores a los observados en niños españoles <sup>(47)</sup>, en quienes la relación es notablemente menor (5:1).

Por otra parte, la relación n-6/n-3 fue significativamente mayor en el estrato III (III=13:1 vs. V=9:1), demostrándose que la estratificación socioeconómica condicionó aproximadamente una diferencia de cuatro unidades en la relación n-6/n-3 a favor de los niños de estrato III. Se desconocen las implicaciones de esta observación sobre todo a largo plazo, sin embargo, es importante considerarlas con base a la importancia que se ha concedido a una relación n-6/n-3 balanceada dentro del mantenimiento de la salud, por su implicación en las enfermedades cardiovasculares, diferentes tipos de cáncer (mamario, colorectal, prostático, etc.), asma, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide y osteoporosis, entre otras patologías <sup>(131)</sup>.

Originalmente propuesto en 2004 por Harris como un factor de riesgo para muerte por enfermedad cardíaca coronaria <sup>(132)</sup>, posteriormente el mismo autor sugirió el índice omega-3 no solo como biomarcador de ingesta sino también como un marcador de riesgo y lo más importante, como factor de riesgo y blanco de terapia <sup>(17)</sup>. Basado en lo anterior, este estudio evaluó dicho indicador para ampliar la información que brindan los porcentajes individuales de EPA y DHA. Vale la pena destacar que el valor medio del índice omega-3 de los niños estudiados, al igual que en los niños mexicanos <sup>(120)</sup> y norteamericanos <sup>(121)</sup>, se ubicó dentro del rango de riesgo alto para eventos cardiovasculares (< 4%). Casi 90% de los escolares estudiados se ubicó en dicho rango y aunque esta distribución no se asoció al estrato socioeconómico, el índice tendió a ser casi 1% más bajo en los niños de clase media. Tal hallazgo es compatible con los resultados de una revisión sistemática para generar un mapa global de los niveles sanguíneos de DHA+EPA en adultos sanos, en la que se observaron valores menores de 4% en Canadá, EE.UU., Guatemala, Brasil, Irlanda, Reino Unido, Italia, Grecia, Serbia, Turquía, Irán, Bahrein, India y Kenia <sup>(133)</sup>. Es necesario resaltar que no se dispusieron de datos en la mayor parte de Suramérica, incluyendo Venezuela, lo que subraya la relevancia de los datos aportados por el presente trabajo.

Respecto de los índices que estiman la actividad de ciertas desaturasas o elongasas que participan en el metabolismo de AGs, en el presente trabajo no existieron diferencias entre estratos para la mayoría de las relaciones calculadas, no

obstante, la relación entre la producción de AA y EPA ( $20:4n-6/20:5n-3$ ) fue significativamente más elevada en el estrato III, siendo sus valores en ambos estratos (III=48:1 vs. V= 37:1) muy superiores a lo que se recomienda (3:1) <sup>(100,101)</sup>, propendiendo a la producción de sustancias pro-inflamatorias derivadas del AA.

De modo similar, la relación  $20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3)$  exhibió una diferencia significativa a favor del estrato III (III= 4:1 vs. V= 3:1) pero de igual manera ambos estratos estuvieron por encima de la proporción que se sugiere como ideal (1:1) <sup>(102,103)</sup>. La evidencia apuntó a que el AA estuvo más representado en comparación con el EPA y DHA en los niños de estrato III estudiados, en tal sentido es importante destacar que estudios *in vitro* han demostrado que la disminución de la relación  $20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3)$  reduce la acumulación de colesterol e inflamación, eventos que están asociados a la formación de lesiones aórticas <sup>(134)</sup>, asimismo su reducción es capaz de modular procesos relacionados con el crecimiento de células de cáncer de mama <sup>(135)</sup> y la exposición perinatal a una elevada relación  $20:4n-6/(20:5n-3+22:6n-3)$  hasta los cuatros meses de vida contribuye a la acumulación de tejido adiposo en los infantes <sup>(136)</sup>.

Por último, la relación  $\Sigma SFA/(20:5n-3+22:6n-3)$  en ambos estratos se encontró por encima de lo recomendado (4:1) <sup>(104,105)</sup> y tendió a ser mayor en el estrato III (III= 41:1 vs. V=27:1), sugiriendo que estos niños están más predispuestos a una membrana celular con tendencia a ser más rígida lo cual afectaría un variedad

de procesos fisiológicos y bioquímicos celulares, sin embargo, solo estudios longitudinales amplios pudieran confirmar las implicaciones de tal observación.

Como ya se ha planteado anteriormente, la peroxidación lipídica constituye uno de los factores claves entre los muchos que intervienen en la aterogénesis. Siendo la aterosclerosis un proceso que tiene origen en la infancia y no en la adultez, fue de interés evaluar diversos marcadores de peroxidación lipídica en los escolares estudiados, más aun, comprobar si presentaban variaciones según la estratificación socioeconómica ya que otros autores han observado una relación inversa entre el ESE y la peroxidación lipídica en adultos norteamericanos <sup>(137)</sup>.

En el grupo total la LDLox circulante presento un valor de 44,73 U/L, el cual es bastante cercano al obtenido por Norris y col. <sup>(138)</sup> en un grupo de jóvenes normopeso norteamericanos, pero supero el observado en niños españoles obesos en un estudio por Morell-Aranza y col. <sup>(139)</sup>, lo cual pudiera explicarse por la riqueza en antioxidantes que distingue la dieta mediterránea española. En contraste con lo informado por Janicki-Deverts y col. <sup>(137)</sup>, en la presente investigación la LDLox circulante fue significativamente mayor en los niños de estrato más elevado, demostrándose mediante análisis multivariado que un niño por ser de estrato III tiene un aumento de 7,10 U/L en la LDLox. Asimismo el número de niños con LDLox elevada fue significativamente mayor entre los niños de clase media.

Para analizar los hallazgos anteriores es importante considerar la concentración sanguínea del colesterol, la cual fue significativamente mayor en los niños de estrato III. En tal sentido, cuando los valores de LDLox se ajustaron por colesterol total (LDL<sub>ox</sub>/CT) desaparecieron las diferencias entre estratos, lo cual corrobora que las mismas tienen su base en las concentraciones más elevadas de colesterol total que presentaron los niños de estrato III. Independientemente de las causas que originen que los niños de estrato III muestren niveles más elevados de LDL<sub>ox</sub>, es importante considerar las potenciales implicaciones de esta observación con respecto al perfil de morbi-mortalidad que estos niños pudieran desarrollar en el futuro como adultos, ya que se ha informado de una asociación positiva entre los niveles circulantes de LDL<sub>ox</sub> y el grosor de la íntima-media de las arterias carótidas, el cual es un marcador de la aterosclerosis subclínica <sup>(140)</sup>.

La determinación de la susceptibilidad de las lipoproteínas a la oxidación *in vitro* es una medida estimativa de la disponibilidad que tienen para oxidarse una vez que se enfrentan a agentes oxidantes. La información sobre este marcador en niños venezolanos es escasa, aunque Ruíz y col. <sup>(36)</sup> en un estudio exploratorio previo contribuyó con primeros datos con los que cuenta. En esta investigación la susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de las LDL y VLDL fue mayor en los niños de estrato III, la estratificación socioeconómica fue predictora de dicha susceptibilidad y el número de niños con elevada susceptibilidad de oxidación de las LDL o de las VLDL fue significativamente más elevado entre los niños de clase media. En ambos

estratos, tal susceptibilidad se encontró correlacionada negativamente al porcentaje de AGs saturados individuales y a su sumatoria total; adicionalmente en el estrato III la susceptibilidad a la oxidación de la LDL se correlacionó positivamente a la sumatoria de la AGs insaturados. Tales correlaciones son biológicamente plausibles debido a que las insaturaciones son el blanco de las especies reactivas oxidativas mientras que los AGs saturados se conservan indemnes a estas <sup>(46,56,61)</sup>.

En cuanto a las correlaciones entre indicadores de peroxidación lipídica y AGs, en la sub-muestra el índice LDLox/CT se correlacionó negativa y significativamente con el ácido laúrico (12:0) mientras que en los escolares de estrato III también existió una la correlación negativa y significativa entre la susceptibilidad de oxidación de LDL, el ácido palmítico (16:0) y los AGs saturados totales ( $\Sigma$ SFA). A su vez en el estrato V, el índice LDLox/CT, los porcentajes de ácido graso laúrico (12:0) y mirístico (14:0) también mostraron una correlación negativa y significativa, por su parte, la susceptibilidad de oxidación de VLDL y el ácido margárico (17:0) se encontraron correlacionados de la misma forma, concordando con la teoría de la peroxidación, lo cual implica que por su estructura química los AGs saturados son resistentes a la peroxidación. En el estrato III se pudo observar el caso contrario donde se evidenció una correlación positiva y significativa que se presentó entre la susceptibilidad de oxidación de LDL y la totalidad de los ácidos grasos insaturados, de igual forma ocurre en el estrato V con el índice LDLox/CT y el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3); esto afianza lo anteriormente dicho y sustenta que la

molécula al poseer mayor cantidad de insaturaciones es más susceptible a la oxidación<sup>(46,56,61)</sup>.

Finalmente, es necesario señalar que este estudio tuvo limitaciones. En primer lugar, el tamaño reducido de la muestra sobre todo para el caso del análisis del perfil eritrocitario de AGs, reduce la posibilidad de demostrar diferencias y relaciones que probablemente existan entre los estratos e indicadores estudiados. En segundo lugar, la imposibilidad de establecer una relación causal entre la estratificación socioeconómica y los marcadores evaluados, debido al diseño transversal del estudio. La tercera limitación proviene de los criterios de inclusión, es probable que las características de los niños que no asisten a instituciones educativas sean diferentes, especialmente en el caso de aquellos que viven en pobreza crítica. Esto último puede explicar porque no se encontraron mayores diferencias significativas entre los estratos estudiados, tal como se esperaba.

## CONCLUSIONES

Esta investigación evidenció por primera vez la relación entre el daño oxidativo de los lípidos y el perfil eritrocitario de ácidos grasos en escolares venezolanos de dos estratos socioeconómicos diferentes. Asimismo, se demostró que la estratificación socioeconómica fue predictora de la LDL oxidada circulante, susceptibilidad a la oxidación *in vitro* de las LDL y VLDL y de la relación n-6/n-3 eritrocitaria, indicadores que fueron más elevados entre los niños de clase media. Por su parte, los niños en pobreza crítica se distinguieron por porcentajes mayores de ácidos grasos  $\omega$ -3 de cadena larga. Nuestras observaciones deberán ser confirmadas por estudios que incluyan una muestra más numerosa de escolares y que incorporen indicadores dirigidos a evaluar el componente antioxidante del balance pro-oxidante/antioxidante del organismo. Los resultados obtenidos sugieren la necesidad de intervención con alimentos fortificados con EPA y DHA.



## RECOMENDACIONES

- Se sugiere ampliar los resultados del estudio evaluando una muestra de mayor tamaño con el fin de aumentar el potencial estadístico para demostrar diferencias entre los estratos estudiados y analizando el perfil de ácidos grasos en todos los niños estudiados.
- Incluir datos antropométricos, de ingesta dietética y otros indicadores bioquímicos que informen sobre el estado de los antioxidantes.
- Realizar un estudio longitudinal del perfil de ácidos grasos en escolares de los estratos estudiados para conocer su evolución durante la pubertad y adolescencia y si las diferencias observadas desaparecen o se profundizan.
- En vista de los cambios que ha sufrido la dieta del venezolano relacionados a la disponibilidad de los alimentos y poder adquisitivo de la población, se propone repetir el presente estudio para obtener datos que permitan establecer información comparativa de la calidad de ácidos grasos consumidos por los escolares.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) García P, Pérez A. Nutrientes específicos “Hacia una nutrición clínica individualizada”. 1ª ed. Madrid: Grupo Aula Médica, S. L.; 2013. p 33-46.
- (2) Castro LFC, Monroig Ó, Leaver MJ, Wilson J, Cunha I, Trocher D. Functional desaturase Fads1 (D5) and Fads2 (D6) orthologues evolved before the origin of jawed vertebrates. PLoS ONE 2012; 7(2): e31950.
- (3) Vanhercke T, Shrestha P, Green AG, Singh SP. Mechanistic and structural insights into the regioselectivity of an acyl-CoA fatty acid desaturase via directed molecular evolution. J Biol Chem 2011; 286(15): 12860-12869.
- (4) Martins DA, Custódio L, Barreira L, Pereira H, Ben-Hamadou R, Varela J et al. Alternative sources of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in marine microalgae. Mar Drugs 2013; 11(7): 2259-2281.
- (5) Skeaff CM, Miller J. Dietary Fat and Coronary Heart Disease: summary of evidence from prospective cohort and randomised controlled trials. Ann Nutr Metab 2009; 55(1-3): 173-201.
- (6) Ratnayake WMN, Galli C. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. Ann Nutr Metab 2009; 55(1-3): 8-43.
- (7) Mozaffarian D, Wu JH. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. J Am Coll Cardiol 2011; 58(20): 2047-2067.
- (8) Elmadfa I, Kornsteiner M. Fats and fatty acid requirements for adults. Ann Nutr Metab 2009; 55(1-3): 56-75.
- (9) Schumann J, Leichtle A, Thiery J, Fuhrmann H. Fatty acid and peptide profiles in plasma membrane and membrane rafts of PUFA supplemented RAW264.7 Macrophages. PLoS ONE 2011; 6(8): e24066.
- (10) Gu Z, Suburu J, Chen H, Chen YQ. Mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids in prostate cancer prevention. BioMed Res Int 2013; 2013: 824563.
- (11) Allen M, Fan Y-Y, Monk J, Hou T, Barhoumi R, McMurray D et al. n-3 PUFAs reduce T-helper 17 cell differentiation by decreasing responsiveness

- to interleukin-6 in isolated mouse splenic CD4+ T cells. *J Nutr* 2014; 144(8): 1306-1313.
- (12) Wu JH, Mozaffarian D.  $\omega$ -3 fatty acids, atherosclerosis progression and cardiovascular outcomes in recent trials: new pieces in a complex puzzle. *Heart* 2014; 100(7): 530-533.
- (13) Mozaffarian D, Lemaitre RN, King IB, Song X, Huang H, Sacks FM et al. Plasma phospholipid long-chain  $\omega$ -3 fatty acids and total and cause-specific mortality in older adults: a cohort study. *Ann Intern Med* 2013; 158(7): 515-525.
- (14) De Jong AJ, Kloppenburg M, Toes REM, Ioan-Facsinay A. Fatty Acids, Lipid Mediators, and T-Cell Function. *Front Immunol* 2014; 5: 483.
- (15) Von Schacky C. Omega-3 index and cardiovascular health. *Nutrients*. 2014; 6(2): 799-814.
- (16) Harris WS, Reid KJ, Sands SA, Spertus JA. Blood omega-3 and trans fatty acids in middle-aged acute coronary syndrome patients. *Am J Cardiol* 2007; 99(2): 154-158.
- (17) Harris WS. The Omega-3 Index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep* 2010; 12(6): 503-508.
- (18) Chowdhury R, Johnson L, Steur M. Trans Fatty Acid Isomers in Mortality and Incident Coronary Heart Disease Risk. *J Am Heart Assoc* 2014; 3(4): e001195.
- (19) Souza R, Mente A, Maroleanu A, Cozma A, Ha V, Kishibe T et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* 2015; 351: h3978.
- (20) Iqbal MP. Trans fatty acids - A risk factor for cardiovascular disease. *Pak J Med Sci* 2014; 30(1):194-197.
- (21) Nestel P. Trans fatty acids: are its cardiovascular risks fully appreciated?. *Clin Ther* 2014; 36(3): 315-321.
- (22) Larose J, Julien P, Greffard K, Fraser WD, Audibert F, Wei SQ et al. F2-isoprostanes are correlated with trans fatty acids in the plasma of pregnant women. *PLEFA* 2014; 91(6): 243-249.

- (23) Mohammadifard N, Hosseini M, Sajjadi F, Maghroun M, Boshtam M, Nouri F. Comparison of effects of soft margarine, blended, ghee, and unhydrogenated oil with hydrogenated oil on serum lipids: A randomized clinical trail. *ARYA Atheroscler* 2013; 9(6):363-371.
- (24) Guay V, Lamarche B, Charest A, Tremblay AJ, Couture P. Effect of short-term low- and high-fat diets on low-density lipoprotein particle size in normolipidemic subjects. *Metabolism* 2012; 61(1):76-83.
- (25) Mangravite LM, Chiu S, Wojnoonski K, Rawlings RS, Bergeron N, Krauss RM. Changes in atherogenic dyslipidemia induced by carbohydrate restriction in men are dependent on dietary protein source. *J Nutr* 2011; 141(12): 2180-2185.
- (26) Carrillo L, Dalmau J, Martínez JR, Solà R, Pérez-Jiménez F. Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Nutr Clin Diet Hosp* 2011; 31(2): 6-25.
- (27) Lachat C, Khanh le NB, Khan NC, Dung NQ, Nguyen do VA, Roberfroid D et al. Eating out of home in Vietnamese adolescents: socioeconomic factors and dietary associations. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(6): 1648-1655.
- (28) González C, William J. Aspectos socioeconómicos y familiares asociados en niños y adolescentes obesos. *RCS* 2013; 19(1):120-130.
- (29) Zieske AW, Malcom GT, Strong JP. Natural history and risk factors of atherosclerosis in children and youth: the PDAY study. *Pediatr Pathol Mol Med* 2002; 21(2): 213-237.
- (30) Delporte C, Antwerpen PV, Vanhamme L, Roumeguère T, Boudjeltia KZ. Low-Density Lipoprotein Modified by Myeloperoxidase in Inflammatory Pathways and Clinical Studies. *Mediat Inflamm* 2013; 2013: 971579.
- (31) Salvayre R, Negre-Salvayre A, Camaré C. Oxidative theory of atherosclerosis and antioxidants. *Biochimie* 2016; 125: 281-296.
- (32) Daugherty A, Lange LG, Sobel BE, Schonfeld G. Aortic accumulation and plasma clearance of beta-VLDL and HDL: effects of diet-induced hypercholesterolemia in rabbits. *J Lipid Res* 1985;26(8): 955-963.
- (33) Rapp JH, Lespine A, Hamilton RL, Colyvas N, Chaumeton AH, Tweedie-Hardman J et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb* 1994; 14(11):1767-1774.

- (34) Young IS, McFarlane C, McEneny J. Oxidative modification of triacylglycerol-rich lipoproteins. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(Pt 5):1062-1065.
- (35) Iughetti L, Volta C, Maggi E, Palladini G, Perugini C, Bellomo G et al. Circulating antibodies recognizing oxidatively modified low-density lipoprotein in children. *Pediatr Res* 1999; 45 (1):94-99.
- (36) Ruíz-Fernández N, Giacomini MI, Jiménez ML, Bosch V. Susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad del plasma en escolares. *An Venez Nutr* 2006; 19(1): 25-31.
- (37) Maiolino G, Rossitto G, Caielli P, Bisogni V, Rossi GP, Calò LA. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 714653.
- (38) Laitinen J, Power Ch, Riitta Järvelin M. Family social class, maternal body, childhood body mass index, and age at menarche as predictors of adult obesity. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(3):87-94.
- (39) Solomons N. La malnutrición en los países en vías de desarrollo: un cambio de apariencia. *Ann Nestlé [Esp]* 2009;67(2): 74-86.
- (40) Fleischer N, Diez Roux A. Inequidades en enfermedades cardiovasculares en Latinoamérica. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2013; 30(4): 641-648.
- (41) Bosch V, Golfetto I, Alonso H, Laurentin Z, Materan M, Garcia N. Ácidos grasos de la leche materna madura de mujeres venezolanas de estratos socioeconómicos bajos: Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento. *ALAN* 2009; 59(1):61-65.
- (42) Baylin A, Mora M, Cobos O, Lopez S, Campos H, Villamor E. Predictors of usage and fatty acid composition of cooking fats in Bogotá, Colombia. *Public Health Nutr* 2009; 12(4): 531-537.
- (43) Colón-Ramos U, Kabagambe EK, Baylin A, Ascherio A, Campos H, Peterson KE. Socio-economic status and health awareness are associated with choice of cooking oil in Costa Rica. *Public Health Nutr* 2007; 10(11): 1214-1222.
- (44) Valenzuela A. Ácidos grasos con isomería Trans II: Situación de consumo en Latinoamérica y alternativas para su sustitución. *Rev Chil Nutr* 2008; 35(3): 172-180.

- (45) Giacopini MI, Alonso H, Sánchez J, García N, Veliz L, Golfetto I et al. Modificaciones de las lipoproteínas del plasma en voluntarios sometidos a dietas preparadas con aceite de girasol solo o mezclado con oleína de palma. *Invest Clin* 2013; 54(2): 171-179.
- (46) Giacopini MI, Bosh V. Efecto de dietas con aceites de palma, girasol o pescado sobre la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas LDL - HDL del plasma de la rata. *An Venez Nutr* 2008; 21(1): 20-24.
- (47) Cortés E, Rizo-Baeza MM, Aguilar MJ, Hidalgo MJ, Gil V. Relación entre los ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de membrana en niños sanos. *Nutr Hosp* 2013; 28(5): 1541-1545.
- (48) World Health Organization. The World Health report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva, Switzerland: WHO 2002. p. 1-230.
- (49) Ministerio para el Poder Popular para la Salud. Anuario de mortalidad 2012. Caracas: MPPS; 2014.
- (50) Cohen BE, Garg SK, Ali S, Harris WS, Whooley MA. Red blood cell docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid concentrations are positively associated with socioeconomic status in patients with established coronary artery disease: data from the heart and soul study. *J Nutr* 2008; 138 (6): 1135-1140.
- (51) Orton H, Szabo N, Clare-Salzler M, Norris J. Comparison between omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid intakes as assessed by a food frequency questionnaire and erythrocyte membrane fatty acid composition in young children. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62(6): 733-738.
- (52) Burrows T, Collins CE, Garg ML. Omega-3 index, obesity and insulin resistance in children. *Int J Pediatr Obes* 2011; 6(2-2): e532-e539.
- (53) Velásquez C, Rodríguez R, Uscátegui P, Burgos-Herrera L. Peroxidación lipídica y concentración de vitamina E plasmática en niños hipercolesterolémicos de Medellín (Colombia). *An Pediatr (Barc)* 2004; 61(1): 16-22.
- (54) Pohjantähti-Maaroos H, Palomäki A, Kankkunen P, Laitinen R, Husgafvel S, Oksanen K.. Circulating oxidized low-density lipoproteins and arterial elasticity: comparison between men with metabolic syndrome and physically active counterparts. *Cardiovasc Diabetol* 2010; 9: 41.

- (55) Kelly AS, Jacobs DR Jr, Sinaiko AR, Moran A, Steffen LM, Steinberger J. Relation of circulating oxidized LDL to obesity and insulin resistance in children. *Pediatr Diabetes* 2010; 11(8): 552-555.
- (56) Fernández Navarro J. Suplementación de la dieta con aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3. Estrategias a practicar para potenciar su consumo [tesis doctoral]. Granada: Editorial de la Universidad de Granada, Universidad de Granada; 2007.
- (57) Pérez JF, Ruano J, Pérez-Martínez P, López-Segura F, López-Miranda J. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51(10): 1199-1208.
- (58) Bonen A, Chabowski A, Luiken JJFP, Glatz JFC. Mechanisms and regulation of protein-mediated cellular fatty acid uptake: molecular, biochemical, and physiological evidence. *Physiology* 2007; 22(1): 15-28.
- (59) Giacopini MI. Efecto de los ácidos grasos trans sobre las lipoproteínas del plasma. *AVFT* 2008; 27(1): 19-21.
- (60) Mataix J. Lípidos alimentarios. En: Mataix J, Gil A, editores. Libro blanco de los omega-3. 2ª ed. Granada: Médica Panamericana; 2013. p.13-34.
- (61) Muriana F. Metabolismo de los ácidos grasos. En: Mataix J, Gil A, editores. Libro blanco de los omega-3. 2ª ed. Granada: Médica Panamericana; 2013. p.35-48.
- (62) Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principios de Bioquímica*: 6ª ed. Barcelona: Omega; 2014. p. 285-314.
- (63) McGarry DJ. Metabolismo lipídico I: Utilización y almacenamiento de energía en forma de lípidos. En: Devlin TM, coordinador. *Bioquímica*. 4ª ed. Barcelona: Reverte; 2004. p. 694-722.
- (64) Lee H, Park WJ. Unsaturated fatty acids, desaturases, and human health. *J Med Food* 2014; 17(2): 189-197.
- (65) Burdge GC, Calder PC. Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod Nutr Dev* 2005;45(5): 581-597.

- (66) Klek S. Omega-3 fatty acids in modern parenteral nutrition: a review of the current evidence. *J Clin Med* 2016; 5(3): E34.
- (67) Mohebi-Nejad A, Bikdeli B. Omega-3 supplements and cardiovascular diseases. *Tanaffos* 2014;13(1): 6-14.
- (68) Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(6 suppl): 1505S-1519S.
- (69) Bannenberg G, Serhan CN. Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: an update. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801(12): 1260-73.
- (70) Nasiff HA. Ácidos grasos trans, Omega 3 y Omega 6. *Act Med [revista en Internet]* 2009 enero-diciembre. [acceso 28 de enero de 2017]; 12 (1). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol12\\_1\\_09/act09109.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol12_1_09/act09109.htm)
- (71) Farquhar J, Ahrens E. Effects of dietary fats on human erythrocyte fatty acid patterns. *J Clin Invest* 1963; 42(5):675-685.
- (72) Calder PC, Yaqoob P. Omega-3 (n-3) fatty acids, cardiovascular disease and stability of atherosclerotic plaques. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2010 25; 56(1): 28-37.
- (73) Harris WS. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease1–3. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(suppl): 1997S-2002S.
- (74) Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 1997; 38(10): 2012-2022.
- (75) Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86(1): 74-81.
- (76) Fekete K, Marosvölgyi T, Jakobik V, Decsi T. Methods of assessment of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(6): 2070S-2084S.
- (77) Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation* 2002; 105(22): 2595-2599.



- (78) Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, Ridker PM, Manson JE, Willett WC et al. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med* 2002; 346(15): 1113-1118.
- (79) Yeboah J, McClelland RL, Polonsky TS, Burke GL, Sibley CT, O'Leary D et al. Comparison of Novel Risk Markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. *JAMA* 2012; 308(8): 788-795.
- (80) Kryzhanovskii S, Vititnova M.  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids and the cardiovascular system. *Hum Physiol* 2009; 35(4): 491-505.
- (81) Calder PC. The role of marine omega-3 (n-3) fatty acids in inflammatory processes, atherosclerosis and plaque stability. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56(7): 1073-1080.
- (82) Flock M, Skulas-Ray A, Harris WS, Etherton T, Fleming J, Kris-Etherton P. Determinants of erythrocyte omega-3 fatty acid content in response to fish oil supplementation: a dose-response randomized controlled trial. *J Am Heart Assoc* 2013; 2(6): e000513.
- (83) Brouwer, IA. Effect of trans-fatty acid intake on blood lipids and lipoproteins: a systematic review and meta-regression analysis. Geneva: World Health Organization; 2016.
- (84) Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais G, Lupien P et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. *Circulation* 1997; 95(1): 69-75.
- (85) Martínez Cayuela M. Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante. En: Gil Hernández A, director. *Tratado de Nutrición, Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010. p. 465-467.
- (86) Silva JP, Coutinho OP. Free radicals in the regulation of damage and cell death - basic mechanisms and prevention. *Drug Discov Ther* 2010; 4(3): 144-67.
- (87) Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Methods Mol Biol*. 2010; 610: 403-417.

- (88) Ruíz-Fernández N. Caracterización del balance prooxidante/antioxidante en niños escolares venezolanos de dos estratos socioeconómicos [tesis doctoral]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2011.
- (89) Méndez Castellano H. Nutrición. En: H. Méndez Castellano (editor). Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela. Proyecto Venezuela. Caracas: Fundacredesa; 1996. p. 1033-1165.
- (90) Klingler M, Demmelmair H, Koletzko B, Glaser C. Fatty acid status determination by cheek cell sampling combined with methanol-based ultrasound extraction of glycerophospholipids. *Lipids* 2011; 46(10): 981-990.
- (91) Bosch V, Alonso H, Golfetto I, Domínguez Z, García N, García R. Ácidos grasos esenciales de cadena larga en las células de la mucosa bucal de preescolares venezolanos: diferencias regionales y por estratos socioeconómicos. *Arch Venez Pueri Pediatr* 2013; 76(2): 61-67.
- (92) Ramprasath V, Jones P, Buckley D, Woollett L, Heubi J. Decreased plasma cholesterol concentrations after PUFA-rich diets are not due to reduced cholesterol absorption/synthesis. *Lipids* 2012; 47(11): 1063-1071.
- (93) Toledo E, Campos H, Ding E, Wu H, Hu F, Sun Q et al. A novel fatty acid profile index—the lipophilic index—and risk of myocardial infarction. *Am J Epidemiol* 2013; 178(3): 392-400.
- (94) Boston Heart Diagnostics Corporation [Internet]. The Science behind the Boston Heart Fatty Acid Balance™ Test. USA: bostonheartdiagnostics.com; 2014 [actualizado 1 ene 2016; citado 28 ene 2017]. Disponible en: [http://www.bostonheartdiagnostics.com/science\\_portfolio\\_fatty\\_acid\\_balance.php](http://www.bostonheartdiagnostics.com/science_portfolio_fatty_acid_balance.php)
- (95) Giacomini MI, Alonso H, Ruíz-Fernández N, Ocanto A, Martínez B, Bosch V. Valores de referencia de grasas para la población venezolana. *ALAN* 2013; 63(4): 293-300.
- (96) Warensjö E, Sundström J, Vessby B, Cederholm T, Risérus U. Markers of dietary fat quality and fatty acid desaturation as predictors of total and cardiovascular mortality: a population-based prospective study. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(1): 203-209.
- (97) Freije A. Fatty acid profile of the erythrocyte membranes of healthy Bahraini citizens in comparison with coronary heart disease patients. *J Oleo Sci* 2009;58(7): 379-388.

- (98) Yang B, Ding F, Jing Yan J, Ye X-W, Xu X-L, Wang F-L et al. Exploratory serum fatty acid patterns associated with blood pressure in community-dwelling middle-aged and elderly Chinese. *Lipids health Dis* 2016; 15: 58.
- (99) Goyens P, Spilker M, Zock P, Katan M, Mensink R. Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of  $\alpha$ -linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(1): 44-53.
- (100) Rizzo A, Montorfano G, Negroni M, Adorni L, Berselli P, Corsetto P et al. A rapid method for determining arachidonic: eicosapentaenoic acid ratios in whole blood lipids: correlation with erythrocyte membrane ratios and validation in a large Italian population of various ages and pathologies. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 7.
- (101) Fontani G, Corradeschi F, Felici A, Alfatti F, Migliorini S, Lodi L. Cognitive and physiological effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in healthy subjects. *Eur J Clin Invest* 2005; 35(11): 691-699.
- (102) Hussein J. Cell membrane fatty acids and health. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5(3): 38-46.
- (103) Orchard T, Ing S, Lu B, Belury M, Johnson K, Wactawski-Wende J et al. The association of red blood cell n-3 and n-6 fatty acids with bone mineral density and hip fracture risk in the women's health initiative. *J Bone Miner Res* 2013; 28(3): 505-515.
- (104) BioActive Foods AS Company [Internet]. Dietary Advice. How to read your test. Noruega: 1life63com; 2014 [actualizado 1 jun 2014; citado 28 ene 2017]. Disponible en: <http://www.1life63.com/en/dietary-advice-how-to-read-your-test-results/how-to-read-your-test-results>
- (105) Hussein J. Cell membrane fatty acids and health. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5(3): 38-46.
- (106) Hernández L, González C. Introducción al Análisis Instrumental. España: Editorial Ariel; 2002.
- (107) Schacterle GR, Pollack RL. A simplified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biologic material. *Anal Biochem* 1973; 51(2): 654-655.

- (108) Thomas CE, Jackson RL. Lipid hydroperoxide involvement in copper-dependent and independent oxidation of low density lipoproteins. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 256(3): 1182-1188.
- (109) García M, Caraballo CE. Efecto del consumo del vino tinto sobre la concentración de lípidos en el plasma y la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas de alta y baja densidad. [Tesis de grado]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2001.
- (110) McEneny J, Loughrey CM, McNamee PT, Trimble ER, Young IS. Susceptibility of VLDL to oxidation in patients on regular haemodialysis. *Atherosclerosis* 1997; 129(2): 215-220.
- (111) Giacomini MI. Oxidación *in vitro* de lipoproteínas (HDL-LDL). [Trabajo de Ascenso]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1999.
- (112) Kosugi H, Kojima T, Kikugawa K. Characteristics of thiobarbituric acid reactivity of oxidized fats and oils. *JAACS* 1991; 68:51-55.
- (113) Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186:407-421.
- (114) Armstrong D, Browne R. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366:43-58.
- (115) Mercodia AB. Oxidized LDL Elisa. Suecia: Mercodia AB; 2004.
- (116) Instituto Nacional de Nutrición. Hoja de balance de alimentos. Caracas: Ministerio del Poder Popular para la Alimentación; 2007. Actualizado 2007; Disponible en: [www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/34386/1/hba2007.pdf](http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/34386/1/hba2007.pdf)
- (117) Uauy R, Gerber M. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. 2012. [citado 28 ene 2017]. Traducción al español. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf>
- (118) Wolters M, Schlenz H, Foraita R, Galli C, Risé P, Moreno LA et al. Reference values of whole-blood fatty acids by age and sex from European children aged 3–8 years. *Int J Obes (Lond)* 2014; 38(Suppl 2): S86-S98.

- (119) Sanhueza J, Durán S, Torres J. Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutr Hosp* 2015; 32(3): 1362-1375.
- (120) Martínez-Raso G, Martínez-Basila A, Salas-Fernández A, Maldonado-Hernández J. Association between metabolic syndrome and erythrocyte fatty acid profile in Mexican adolescents: a trans fatty acid approach. *Food and Nutrition Sciences* 2013; 4(9A): 51-58.
- (121) Brigandi SA, Shao H, Qian SY, Shen Y, Wu BL, Kang J. Autistic children exhibit decreased levels of essential fatty acids in red blood cells. *Int J Mol Sci* 2015; 16(5): 10061-10076.
- (122) Castro-Martínez M, Bolado-García V, Landa-Anell M, Liceaga-Cravioto M, Soto-González J, López-Alvarenga J. Ácidos grasos trans de la dieta y sus implicaciones metabólicas. *Gac Méd Méx* 2010; 146(4): 281-288.
- (123) Bauer LR, Waldrop J. Trans fat intake in children: risks and recommendations. *Pediatr Nurs* 2009; 35(6): 346-351.
- (124) Chajès V, Biessy C, Ferrari P, Romieu I, Freisling H, Huybrechts I et al. Plasma elaidic acid level as biomarker of industrial trans fatty acids and risk of weight change: report from the EPIC study. *PLoS One* 2015; 10(2): e0118206.
- (125) Salinas N, Romero L. Perfil de los ácidos grasos presentes en galletas y mezclas para tortas en Venezuela. *An Venez Nutr* 2011; 24(2): 78-85.
- (126) Baylin A, Perng W, Mora-Plazas M, Marin C, Villamor E. Serum trans fatty acids are not associated with weight gain or linear growth in school-age children. *J Nutr*. 2015; 145(9): 2102-2108.
- (127) Instituto Nacional de Estadística [Internet]. Encuesta de Seguimiento al Consumo de Alimentos. Caracas: INE; 2006 [citado 28 ene 2017]. Disponible en: [http://www.ine.gov.ve/index.php?option=com\\_content&id=247&Itemid=38;tmpl=component](http://www.ine.gov.ve/index.php?option=com_content&id=247&Itemid=38;tmpl=component)
- (128) Ros E, López-Miranda J, Picó C, Rubio M, Babio N, Sala-Vila A et al. Consenso sobre las grasas y aceites en la alimentación de la población española adulta; postura de la Federación Española de Sociedades de Alimentación, Nutrición y Dietética (FESNAD). *Nutr Hosp* 2015; 32(2): 435-477.

- (129) Simopoulos AP. An Increase in the Omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients* 2016; 8(3):128.
- (130) Simopoulos AP. Omega-6/omega-3 essential fatty acids: biological effects. *World Rev Nutr Diet* 2009; 99:1-16.
- (131) Candela C, Bermejo L, Kohen L. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations. Nutr Hosp* 2011; 26(2): 323-329.
- (132) Harris WS, Von Schacky C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease?. *Prev Med* 2004; 39(1): 212-220.
- (133) Stark K, Van Elswyk M, Higgins M, Weatherfordd C, Salem N. Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. *Prog Lipid Res* 2016; 63:132-152.
- (134) Wang S, Wu D, Matthan NR, Lamon-Fava S, Lecker JL, Lichtenstein AH. Reduction in dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid plus docosahexaenoic acid ratio minimizes atherosclerotic lesion formation and inflammatory response in the LDL receptor null mouse. *Atherosclerosis* 2009; 204(1):147-55.
- (135) Mansara PP, Deshpande RA, Vaidya MM, Kaul-Ghanekar R. Differential ratios of omega fatty acids (AA/EPA+DHA) modulate growth, lipid peroxidation and expression of tumor regulatory MARBPs in breast cancer cell lines MCF7 and MDA-MB-231. *PLoSOne* 2015; 10(9): e0136542.
- (136) Rudolph MC, Young BE, Lemas DJ, Palmer CE, Hernández TL, Barbour LA et al. Early infant adipose deposition is positively associated with the n-6 to n-3 fatty acid ratio in human milk independent of maternal BMI. *Int J Obes (Lond)* 2017; 41(4): 510-517.
- (137) Janicki-Deverts D, Cohen S, Matthews KA, Gross MD, Jacobs DR Jr. Socioeconomic status, antioxidant micronutrients, and correlates of oxidative damage: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Psychosom Med* 2009; 71(5): 541-548.
- (138) Norris A, Steinberger J, Steffen L, Metzger A, Schwarzenberg SJ, Kelly A. Circulating oxidized LDL and inflammation in extreme pediatric obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19(7): 1415-1419.

- (139) Morell-Azanza L, García-Calzón S, Rendo-Urteaga T, Martín-Calvo N, Chueca M, Martínez JA et al. Serum oxidized low-density lipoprotein levels are related to cardiometabolic risk and decreased after a weight loss treatment in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2016; en prensa.
- (140) Vaidya D, Szklo M, Cushman M, Holvoet P, Polak J, Bahrami H et al. Association of endothelial and oxidative stress with metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis: multi-ethnic study of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65(7): 818-825.

## **ANEXOS**



**ANEXO A**  
**CONSENTIMIENTO INFORMADO Y CITACIÓN**

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN NUTRICION**  
**Estudio de Ácidos Grasos y Oxidación Lipídica en escolares**

**Estimado representante:**

Reciba un cordial saludo. Tengo el agrado de dirigirme a Ud. para comunicarle que su representado(a) ha sido seleccionado(a) al azar para participar en el estudio científico titulado: **“Perfil de ácidos grasos en eritrocitos e índice omega y su asociación con marcadores de peroxidación lipídica en escolares valencianos de diferentes estratos socioeconómico”**. El estudio tiene como finalidad asociar el perfil de ácidos grasos en glóbulos rojos con indicadores de oxidación lipídica en niños con edades comprendidas entre 7 y 9 años según su estrato socioeconómico.

**¡Le invitamos a participar y colaborar con este estudio!**. Para ello necesitamos tomarle una muestra de sangre a su representado(a). La muestra de sangre se extraerá en las mismas condiciones que Ud. observa en un laboratorio clínico, siempre bajo la supervisión de un Licenciado en Bioanálisis. Cabe mencionarle que la extracción de la muestra de sangre no representaran peligro alguno para el niño o la niña.

Para el día en el cual sea citado su representado(a) necesitamos que Ud. y el niño o la niña se encuentren en la escuela a las 7:15 am. En la dirección del plantel se le indicara en que en aula o espacio estaremos ubicados. **El niño debe venir en ayunas** (no debe ingerir alimentos desde las 7 de la noche del día anterior a la cita; puede ingerir agua si lo desea) y debe traer su desayuno para que lo ingiera una vez se le extraiga la sangre. **La presencia del representante es obligatoria**, debido a que Ud. será entrevistado a través de un cuestionario. **Si por cualquier motivo Ud. no puede acompañar a su representado, podrá enviarlo con otro adulto de su entera confianza que conozca los datos de salud del niño**. Si Ud. tiene alguna duda sobre esta información o cualquier otra inquietud podrá comunicárnoslas en el momento de la entrevista y como mucho gusto se la aclararemos.

Durante la entrevista verificaremos si el niño o niña puede participar en el estudio. En caso de que quede o no incluido en el estudio, en aproximadamente dos a cuatro semanas después de la cita, se le enviarán a Ud. los resultados de una hematología completa como una muestra de nuestro agradecimiento.

Es importante que Ud. conozca que la evaluación será **totalmente gratuita y cuenta con la autorización de la dirección del plantel**. Además se guardará **total**

**confidencialidad** sobre los resultados de cada niño(a), los mismos sólo se emplearan con fines académicos. **¡ANÍMESE A COLABORAR CON ESTE ESTUDIO!**, no sólo tendrá la oportunidad de contribuir con el progreso de la ciencia en nuestro país, sino también obtendrá un beneficio para su representado(a).

Por último quiero expresarle que Ud. está en completa libertad para decidir si su representado(a) participara o no en el estudio, se trata de una **participación voluntaria**. Si su respuesta es negativa no habrá ningún perjuicio para su representado(a) o para Ud.

Agradeciéndole de antemano su atención y colaboración, se despide de Ud.,

Atentamente,

**Lcdo. Jhon Jesus.**

.....

### CONSENTIMIENTO INFORMADO Y CITA

Yo, \_\_\_\_\_ de C.I \_\_\_\_\_  
 Representante de \_\_\_\_\_ Quedo informado del estudio, así mismo doy mi consentimiento y autorización para que mi representado(a) participe en el mismo y le sean practicadas las evaluación contemplada. Me comprometo a acompañar a mi representado(a) o a enviarlo con un adulto de mi entera confianza el día que sea citado.

\_\_\_\_\_  
**Firma del Representante**

**Su hijo está citado para el día \_\_\_\_\_ a las 7:15 am en la escuela para realizarle la toma de muestra de sangre y la evaluación antropométrica y dietética. Recuerde traer este talón para ser entregado a los responsables del proyecto este día.**

## ANEXO B

### UNIVERSIDAD DE CARABOBO

### INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN NUTRICION

### Estudio de Ácidos Grasos y Oxidación Lipídica en escolares

#### DATOS PERSONALES

**Código:** \_\_\_\_\_ **Fecha de evaluación:** \_\_\_\_\_

**Encuestado Apellido:** \_\_\_\_\_ **Nombre:** \_\_\_\_\_

**Fecha de Nacimiento:** \_\_\_\_\_ **Edad:** \_\_\_\_\_ **Sexo:** 1M. ( ) 2.F ( )

**Grado y Sección:** \_\_\_\_\_ **Nombre del representante:** \_\_\_\_\_

**Dirección:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ **Teléfono:** \_\_\_\_\_

#### ASPECTOS SOCIO-DEMOGRÁFICOS:

**Lugar de nacimiento:** \_\_\_\_\_ **Procedencia Rural:** \_\_\_\_\_

Urbana: \_\_ Casa Propia: \_\_ Alquilada: \_\_ Otros: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES BIOMÉDICOS:

**Inasistencia a la escuela en los últimos 7 días por enfermedad:** 1. SI 2. NO

**Producto de embarazo a término:** 1. SI 2. NO **Peso al Nacer:** \_\_\_\_\_

**Menstruación:** 1. SI 2. NO ¿a qué edad? \_\_\_\_\_

#### Antecedentes Médicos:

**Diabetes mellitus:** \_\_ **Hipertensión arterial:** \_\_ **Enfermedades renales:** \_\_ **Enf.**

**Neurológicas:** \_\_ **Asma:** \_\_ **Alergias:** \_\_ **Otros:** \_\_\_\_\_

**Enfermedad Actual:** **Bronquitis:** \_\_ **Amigdalitis/Faringitis:** \_\_ **Otitis:** \_\_

**Pulmonía/Neumonía:** \_\_ **Asma:** \_\_ **Hepatitis:** \_\_ **Lechina:** \_\_

**Sarampión:** \_\_ **Otros:** \_\_\_\_\_

**Hoy presenta:** **Fiebre:** \_\_ **Tos expectorante:** \_\_ **Respiración forzada:** \_\_ **Lesiones eruptivas cutáneas:** \_\_ **Dolor de garganta o de oído:** \_\_ **Piel ictérica:** \_\_

**Otros:** \_\_\_\_\_

El padre o la madre del niño ha sufrido un infarto de miocardio antes de los 55 años de edad: 1. SI 2. NO

**Antecedente de Hiperlipemia familiar:** Hipercolesterolemia\_\_\_\_\_   
 Hipertrigliceridemia\_\_\_\_\_ otros\_\_\_\_\_

## **EVALUACIÓN SOCIO-ECONÓMICA**

### ***Profesión del Jefe de la Familia***

- ( ) Profesión Universitaria, financistas, banqueros, empresarios comerciantes, terratenientes, empresarios del campo, oficinales de la FAN con rango de educ. sup.
- ( ) Profesión Técnica superior universitaria, medianos comerciantes y productores.
- ( ) Empleado sin profesión universitaria, bachiller técnico, pequeños comerciantes o productores propietarios.
- ( ) Obrero especializados (chofer, pintor, albañil, entre otros) parte de los trabajadores del sector informal de la economía (que no poseen título profesional).
- ( ) Obrero no especializado (buhonero, barrendero, doméstico) parte de los trabajadores del sector informal de la economía (sin primaria completa).

### ***Nivel de Instrucción de la Madre***

- ( ) Enseñanza Universitaria o su equivalente.
- ( ) Enseñanza secundaria completa, técnica superior completa.
- ( ) Enseñanza secundaria incompleta, técnica inferior.
- ( ) Enseñanza primaria o alfabeto (con algún grado de instrucción primaria).
- ( ) Analfabetas.

### ***Principal fuente de Ingreso de la Familia***

- ( ) Fortuna heredada o adquirida de la familia.
- ( ) Ganancias, beneficios, honorarios profesionales.
- ( ) Sueldo mensual.
- ( ) Salario semanal, por día o por tarea a destajo.
- ( ) Donaciones de origen público o privado.

**Condiciones de Alojamiento**

- ( ) Vivienda con óptimas condiciones sanitarias y ambientes de gran lujo y grandes espacios.
- ( ) Vivienda con óptimas condiciones sanitarias en ambiente con lujo sin exceso y suficientes espacios.
- ( ) Vivienda con buenas condiciones sanitarias en espacios reducidos o no, pero siempre menores que en las viviendas anteriores.
- ( ) Vivienda con ambientes espaciosos o reducidos y/o con deficiencias en algunas condiciones sanitarias.
- ( ) Rancho o vivienda con espacios insuficientes y condiciones sanitarias marcadamente inadecuadas.

**PUNTAJE:** \_\_\_\_\_ pts.

Graffar I (4-6 pts), II (7-9 pts), III (10-12 pts), IV (13-16 pts), V (17-20 pts).

**SUPLEMENTOS NUTRICIONALES:**

1. Ha recibido en los últimos 60 días: 1. SI \_\_\_\_\_ 2. NO. \_\_\_\_\_
2. Nombre Comercial: \_\_\_\_\_
3. Frecuencia: 1. Diario \_\_\_\_\_ 3. Semanal \_\_\_\_\_  
2. Interdiario \_\_\_\_\_ 4. Irregular \_\_\_\_\_
4. Tiempo: 1. < 15 días \_\_\_\_\_ 3. 30-45 días \_\_\_\_\_  
2. 15-29 días \_\_\_\_\_ 4. + 45 días \_\_\_\_\_