

## **ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO HIPOLIPIDÉMICO INDUCIDO POR ACEITES MONOINSATURADOS DE AGUACATE**

A. Ortiz-Moreno<sup>1a</sup>, M.D. Hernández-Navarro<sup>2</sup>, L. Dorantes-Álvarez,<sup>1a</sup> G.A. Chamorro-Cevallos<sup>1b</sup> y M.M Hernández-Ortega<sup>1b</sup>.

<sup>1a</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Santo Tomás Del. Miguel Hidalgo, CP. 11340 Apdo. Posta 42-186. Laboratorio de Tecnología de Alimentos. Departamento de Ingeniería Bioquímica, México. Teléfono: +52 55 57296300 ext. 62372.

<sup>1b</sup> Laboratorio de Toxicología Preclínica. Departamento de Farmacia, México. Correo electrónico: ortizalicia@hotmail.com

<sup>2</sup> Facultad de Química. UAEM. Departamento de Farmacia, México

Las enfermedades isquémico cardíacas son la primera causa de muerte en México. Recientemente, dentro del rubro de aceites vegetales de interés clínico y nutricional, el aceite monoinsaturado de aguacate ha cobrado gran importancia por su alto contenido de ácido oleico similar al aceite de oliva, además de carotenoides y fitosteroles, estos últimos asociados con la reducción plasmática de colesterol. El consumo preponderante de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, puede ejercer un efecto benéfico, así como mayor resistencia oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) disminuyendo el riesgo aterogénico. Nuestro propósito fue evaluar y comparar el efecto hipocolesterolemiante del aguacate y el aceite de aguacate extravirgen producido con tecnología limpia desarrollada por las Doctoras Dorantes y Ortiz, con diferentes tipos de aceites monoinsaturados comerciales en un modelo murino hipercolesterolémico inducido. Se emplearon lotes de animales con 8 individuos cada uno. Los grupos fueron alimentados *ad libitum* durante un mes con una dieta normocolesterolémica y una rica en colesterol complementadas con aceite de aguacate Hass refinado, extravirgen, aceite de oliva extravirgen y con aceite oleico. Al término del tratamiento se determinaron las concentraciones séricas de colesterol total, col-LDH, col-HDL y triaciltriglicéridos, mediante un autoanalizador Selectra II Wiener Lab. Los resultados mostraron una tendencia positiva del colesterol HDL, y un incremento de las LDL y colesterol total, debido a la combinación elevada de grasas y aceites proporcionada en la dieta. Esto sugiere que al moderar la ingesta de lípidos se podría tener un efecto aterogénico.

### Palabras clave:

Hipercolesterolémico, dieta, colesterol, lipoproteínas, triglicéridos.

## COMPARATIVE STUDY OF THE HYPOLIPIDEMIC EFFECT INDUCED BY DIFFERENT MONOUNSATURATED AVOCADO OILS

A. Ortiz-Moreno <sup>1a</sup>, M.D. Hernández-Navarro <sup>2</sup>, L. Dorantes-Álvarez, <sup>1a</sup> G.A. Chamorro-Cevallos<sup>1b</sup> and M.M Hernández-Ortega <sup>1b</sup>.

<sup>1a</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Laboratorio de Tecnología de Alimentos. Departamento de Ingeniería Bioquímica, México. Teléfono: (01) 5557296300 ext. 62372.

<sup>1b</sup> Laboratorio de Toxicología Preclínica. Departamento de Farmacia, México. Email: ortizalicia@hotmail.com

<sup>2</sup> Facultad de Química. UAEM. Departamento de Farmacia, México.

In Mexico, the ischemic heart diseases are the first cause of death among men and the second one among women. Recently, in the area of vegetable oils of clinical and nutritional importance, the monounsaturated avocado oil has gained a great importance because of its oleic acid content; which is similar to the olive oil. It is also important because of its carotenoids and [phytosterols](#) content. These molecules are associated with the cholesterol reduction. The consumption of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids could have a beneficial effect as well as an important oxidative resistance of the LDL, decreasing the atherogenic risk at the same time. The goal of this study was to evaluate and compare the hypocholesterolemic effect of the extra virgin avocado oil obtained by a clean technology, developed by Dorantes and Ortiz, along with different types of commercial monounsaturated oils on an induced hypercholesterolemic murine model. The groups were composed of eight mice each, and fed *ad libitum* for a month with a normocholesterolemic diet and an enriched cholesterol diet supplemented with either refined Hass avocado oil or extravirgin avocado oil or extravirgin olive oil or oleic oil. At the end of the treatment the serum concentrations of total cholesterol, LDL-chol, HDL-chol and triglycerides were determined by using an analyzer (Selectra II, Wiener Lab). The results showed a positive tendency of HDL-chol, and an increase of LDL and total cholesterol because of the high combination of fats and oil provided in diet. This suggests that an atherogenic effect could be generated when modulating the lipid intake.

### Key words:

Hypercholesterolemic, diet, cholesterol, lipoprotein, triglycerides.

### 1. Introducción.

El sobrepeso y la obesidad son los principales factores de riesgos para padecer diferentes enfermedades del corazón, hipertensión, diabetes mellitus no dependiente de insulina, enfermedades de la vesícula biliar y algunos tipos de cáncer.

Entre estas enfermedades encontramos a las hiperlipemias o hiperlipoproteinemias que son una elevación plasmática de las concentraciones

de colesterol, de triglicéridos o ambos. Dentro de estas clasificaciones encuentran las dislipidemias que se designan como alteraciones de los lípidos plasmáticos, incluyendo la elevación del colesterol total y del transportado por las lipoproteínas de baja densidad c-LDL (colesterol malo), provocando un aumento de la trigliceridemia y un descenso del colesterol transportado en las lipoproteínas de alta densidad c-HDL (colesterol bueno), (Carmena, 1999)

La hipercolesterolemia es la forma de dislipidemia con mayor potencial aterogénico. (Villa Poza, 2001)

Para contrarrestar los daños que pueden generar todas las alteraciones de los lípidos plasmáticos, existen diferentes tratamientos farmacológicos que tienen como objetivo prevenir y detener la aterosclerosis, enfermedad coronaria vascular y cerebral, que se caracteriza por ser un proceso silencioso que inicia a muy temprana edad con la formación de placas fibrosas y continua con frecuencia, de manera progresiva y asintomática durante varias décadas provocando estrechamiento de la luz arterial por la deposición de lipoproteínas ricas en colesterol, principalmente de baja densidad y su subsiguiente modificación, lo que predispone al desarrollo de lesiones ateroscleróticas por el debilitamiento de la capa media endotelial y consecuente dilatación aneurismática (Angelin et al., 1996)

Una de las principales causas del padecimiento de estas enfermedades es la dieta que se consume por ejemplo aquellos grupos de población con un elevado consumo de carnes, lácteos y carbohidratos, presentan una mayor tasa de mortalidad por cardiopatías isquémicas que con respecto a aquellos que se alimentan preferentemente de frutas, verduras, aceites insaturados y pescado (Caggiula y Mustad, *et al.*, 1997; Bonada Sanjaume y Solá, 1998). El consumo preponderante de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados como el ácido oleico y linoléico respectivamente, puede ejercer un efecto hipocolesterolemiante, así como mayor resistencia oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad que favorece a un bajo riesgo aterogénico (Bonanome *et al.*, 1992; Fitó *et al.*, 2000).

En función de mejorar la salud de la población se esta realizando una reevaluación de la forma en la que esta se alimenta. Por tal motivo los productos naturales y las comidas sanas han recibido mucha atención ya que ayudan al bienestar general, además de prevenir diferentes enfermedades (Ramaa *et al.*, 2006)

Con este propósito diferentes tipos de frutas y vegetales están siendo reevaluadas y reconocidas como excelentes fuentes de nutraceuticos, los cuales son alimentos o componentes de los alimentos que tienen un efecto fisiológico definido (Feugang, 2006)

Uno de los frutos que está cobrando gran importancia debido a la presencia de diferentes compuestos que se consideran nutraceuticos es el aguacate (*Persea americana* Mill.) nombre común con que se conoce a dicho

fruto. Este contiene vitamina K, ácido fólico, ácido ascórbico, caroteno, flavonoides, tocoferol,  $\beta$ -sitoesterol, fósforo, hierro, entre otros componentes. Es fuente de fibra y rico en proteínas comparado con otros frutos. El principal ácido graso presente en el aguacate es el ácido oleico, seguido por el palmítico y linoleico (Alonso, 2004)

De los nutraceuticos del aguacate podemos destacar tres nutraceuticos importantes que son: La vitamina E, la luteína y el  $\beta$ -sitoesterol La importancia de estos nutraceuticos radica en que la vitamina E funciona como antioxidante disminuyendo la formación de radicales libres que pueden causar daño en las células durante el envejecimiento y causar daños al corazón y diversos tipos de cáncer, incluyendo el de boca y faringe. La luteína es un carotenoide, que ayuda a proteger los daños del ojo tales como el desarrollo de cataratas. El  $\beta$ -sitoesterol puede inhibir la absorción del colesterol en el intestino, resultando un menor nivel de colesterol en la sangre. Estudios en animales han demostrado que este compuesto influye en la inhibición de tumores cancerosos (O' Toole, 2000)

La gran cantidad de nutrientes activos y sus propiedades hacen del aguacate un fruto con un alto potencial para obtener alimentos y suplementos alimenticios que nos ayuden a mejorar la salud y evitar riesgos de enfermedades.

Recientemente, dentro del rubro de aceites vegetales de interés clínico y nutricional, el aceite monoinsaturado de aguacate, ha cobrado gran importancia por su alto contenido de ácido oleico similar al aceite de oliva, además de carotenoides y fitosteroles, estos últimos asociados con la reducción plasmática de colesterol (Berger *et al.*, 2004).

El propósito de esta investigación fue evaluar el posible efecto hipocolesterolemizante del aceite de aguacate extravirgen obtenido a través de una tecnología limpia desarrollada en el IPN con respecto a otros aceites de aguacate empleando un modelo hipercolesterolémico inducido en ratón.

## 2. Materiales y métodos.

### Evaluación biológica.

Se emplearon ratones macho cepa NIH del "Instituto Nacional de Virología" BIRMEX (Secretaría de Salud, de la Ciudad de México) con un peso de entre 25 y 28g. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 8 grupos compuestos por 6 animales cada uno. Estos grupos fueron suministrados con diferentes dietas: dieta testigo Harlan 2018S ® (a), dieta hipercolesterolémica (b) y 6 grupos alimentados con diferentes dietas hipercolesterolémicas sustituidas con aceites monoinsaturados de aguacate refinado Mexicano (c) o Extravirgen Nueva Zelanda (d) o Extravirgen IPN (e) en un 2.5% o 5.0%. La composición de las dietas se muestra en el cuadro 1.

Los animales fueron alojados individualmente en jaulas de acero inoxidable bajo condiciones controladas de aire y temperatura, con ciclos de 12 horas luz-oscuridad y provistos de agua y alimento *ad libitum*.

Después de cuatro semanas de suministro de las diferentes dietas los animales se mantuvieron en ayuno por 12 horas y transcurrido este tiempo se obtuvieron muestras sanguíneas de cada uno de ellos.

**Cuadro 1. Composición de las dietas suministradas en el modelo de estudio.**

<b>Ingrediente</b>	<b>Hipercolesterolemica g/100g</b>	<b>Sustitución al 2.5 % g/100g</b>	<b>Sustitución al 5.0 % g/100g</b>
Colesterol	1.0	1.0	1.0
Colato de sodio	0.5	0.5	0.5
Caseína	10	10	10
Sacarosa	30	30	30
Mantequilla sin sal	5	2.5	0
Aceite*	0	2.5	5
Alimento estándar molido	53.5	53.5	53.5

\*Aceite de aguacate Hass Extravirgen IPN o Aceite de aguacate Hass refinado mexicano® o Aceite de aguacate Hass Extravirgen Nueva Zelanda®.

Las muestras se centrifugaron (Microfuge 11, Beckman) por 15 minutos a 13000 rpm para la obtención del suero, donde se determinó la concentración de colesterol total, triglicéridos, colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y glicemia mediante un equipo autoanalizador Selectra II, Wiener Lab empleando diferentes kits para la determinación del perfil lipídico (TG Color; HDL Colesterol Monofase AA; Colestat, Wiener Lab)

La concentración del colesterol asociado a la lipoproteína de baja densidad (LDL) se calculó empleando la formula de Friedwald:

$$\text{LDL} = (\text{Colesterol Total} - \text{colesterol HDL}) - (0.45 * \text{Triglicéridos})$$

Para el índice aterogénico, el cual es un indicador de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis, se aplica la siguiente relación:

$$\text{IA} = (\text{Colesterol Total} - \text{Colesterol HDL}) / \text{Colesterol LDL}$$

Posteriormente se realizó la necropsia de los animales para un análisis macroscópico del hígado.

### 3. Resultados y discusión.

De acuerdo a lo los resultados mostrados en el cuadro 2 se encontró una diferencia significativa en el colesterol total de los grupos suministrados con los aceites respecto al grupo testigo. el mayor incremento en la concentración de colesterol se registró en el grupo suministrado al 5 % con aceite de Nueva Zelanda; teniendo un valor aún mayor que el del grupo suministrado con la dieta hipercolesterolémica.

**Cuadro 2. Perfil lipídico de los ocho grupos de estudio.**

	<i>Colesterol Total</i>	<i>Triglicéridos</i>	<i>Colesterol HDL</i>	<i>Colesterol LDL</i>	<i>Índice Aterogénico</i>	<i>Glicemia</i>
<i>Testigo</i>	31.76±3.88	0.665±0.131	26.35±6.37	5.11±2.96	0.238±0.171	124.32±22.96
<i>Hipercolesterolémico</i>	68.93±12.95*	0.608±0.127	26.38±3.32	42.28±10.70*	1.610±0.316*	128.38±26.47
<i>Aceite refinado mexicano 5%</i>	93.08±28.48*	0.624±0.312	31.75±6.51	61.04±23.33*	1.900±0.509*	98.69±22.13
<i>Aceite refinado mexicano 2.5%</i>	82.18±29.21*	0.619±0.208	29.20±4.73	52.70±25.00*	1.760±0.574*	97.13±27.10 <sup>a</sup>
<i>Aceite extravirgen IPN 5%</i>	92.96±31.03*	0.659±0.213	32.69±6.78	59.98±25.15*	1.809±0.437*	114.88±9.65
<i>Aceite extravirgen IPN 2.5%</i>	81.64±21.87*	0.552±0.180	31.08±5.33	50.32±17.23*	1.594±0.403*	118.40±34.07
<i>Aceite extravirgen Nueva Zelanda 5%</i>	104.53±28.58* <sup>a</sup>	0.686±0.213	34.79±6.41* <sup>a</sup>	69.44±23.88* <sup>a</sup>	1.983±0.482*	109.71±39.34
<i>Aceite extravirgen Nueva Zelanda 2.5%</i>	88.28±34.17*	0.730±0.313	28.37±6.80	59.59±28.64*	2.051±0.638*	126.25±17.32

Valores expresados como media ± error estándar; n=6. \* Diferencia significativa con respecto al grupo testigo; <sup>a</sup>Diferencia significativa con respecto al control hipercolesterolémico mediante prueba ANOVA de una vía y prueba post-hoc LSD p <0.05.

Respecto al contenido de triglicéridos se puede resaltar que únicamente la sustitución al 2.5% con aceite extravirgen del IPN produce un descenso en estos valores. Sin embargo no se encontró una diferencia significativa en la concentración de triglicéridos entre los grupos en los que se suministraron los aceites, respecto al grupo testigo y al grupo hipercolesterolémico, lo cual nos indica que aún en una dieta rica en carbohidratos y con alto contenido de colesterol, los valores séricos de triglicéridos se mantienen constantes.

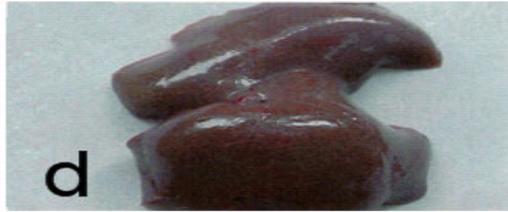
El mayor aumento en la concentración de HDL se presentó con el aceite de aguacate extravirgen obtenido por la tecnología desarrollada en el IPN, tanto en la sustitución al 2.5% como en la del 5%.

En cuanto a la concentración del colesterol LDL la menor elevación se presentó en el grupo alimentado con la dieta sustituida en un 2.5% con aceite extravirgen del IPN. Se puede observar un aumento significativo en todos los grupos con respecto al testigo. La sustitución al 5% con aceite extravirgen de Nueva Zelanda presentó un aumento incluso mayor que el provocado por la dieta hipercolesterolémica, lo que nos sugiere que la sustitución total con dicho aceite incrementa la concentración de dichas lipoproteínas generando un mayor riesgo en el padecimiento de enfermedades cardiovasculares.

La dieta sustituida con un 2.5% de aceite de aguacate del IPN presenta el menor índice aterogénico. No obstante, la relación aterogénica (LDL/HDL) en todos los otros grupos de tratamiento, fue similar al grupo hipercolesterolémico, lo que nos indica que al ingerir aceites monoinsaturados junto con una dieta rica en colesterol y carbohidratos no se ayuda a la reducción de la placa aterómica, sino por el contrario se puede presentar un aumento.

Los valores de glicemia se mantuvieron estables no encontrándose una diferencia significativa con respecto al grupo testigo.

En la figura 1 se pueden observar las características de un hígado normal (a). Este se observa de un color rojo, sin cúmulos de grasa y con un tamaño de aproximadamente 5cm.



**FIGURA 1. Fotografías seleccionadas de los hígados de los ocho grupos de estudio**

Dieta testigo (a), Dieta Hipercolesterolémica(b),Dieta sustituida en un 5.0% con aceite de Aguacate refinado mexicano, (c), Dieta sustituida en un 2.5% con aceite de aguacate refinado mexicano (c1), Dieta sustituida en un 5.0% con aceite de aguacate de Nueva Zelanda (d),en Dieta sustituida en un 2.5% con aceite de aguacate de Nueva Zelanda (d1), Dieta sustituida en un 5.0% con aceite de aguacate IPN (e), Dieta sustituida en un 2.5% con aceite de aguacate IPN (e1)

Al realizar el análisis macroscópico de los hígados se encontró que aquellos animales alimentados con la dieta hipercolesterolémica presentaron acumulación de grasa en dicho órgano. También se pudo observar un aumento en el tamaño del mismo con respecto al testigo.

Podemos observar que los hígados extraídos de los animales alimentados con las dietas sustituidas en un 2.5% con aceites de aguacate refinado o extravirgen IPN presentaron un menor daño. El color de dichos órganos era muy semejante al del testigo y se puede observar un ligero incremento en el tamaño del órgano.

El mayor daño se pudo observar en los órganos extraídos de los animales alimentados con la dieta sustituida con el aceite extravirgen de Nueva Zelanda en un 2.5%. Como puede notar en la figura 1 estos hígados presentan una decoloración considerable además de presentar un aumento de tamaño en los lóbulos que conforman este órgano.

#### 4. Conclusiones.

El modelo probado, sugiere la posibilidad de que la sustitución dietaria del 2.5 o 5 % de aceites saturados por monoinsaturados derivados del aguacate incrementa el colesterol de HDL y mantiene constantes los valores séricos de triglicéridos, a pesar de la alta ingesta calórica.

Se observó una relación Dosis-Respuesta con respecto a las concentraciones de colesterol total, colesterol de LDL y colesterol de HDL en todos los grupos suministrados con dieta hipercolesterolémica complementada con los diferentes aceites de aguacate en un 2.5 y 5%.

Los hígados que presentaron menor modificación fueron los de los animales suministrados con aceite de aguacate extravirgen del IPN y el refinado al 2.5 %.

El aceite de aguacate obtenido en el Instituto Politécnico Nacional generó el menor aumento en las concentraciones del colesterol total y el colesterol LDL, además de presentar el menor daño aterogénico en una dieta hipercalórica.

## 5. Literatura Citada.

- ANGELIN B. 1996 Pathogenesis of hyperlipoproteinaemia en treatment of hyperlipidamia. Läemedelsverdket Medical Products Agenci. Statens Legemiddlkontrol. The Norwegian Medicines Control Authority.
- ALONSO J. 2004. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos. Argentina. Ed. Corpus. 590 pp
- BERGER A; JONES PJH; Y ABUMWEIS SS. 2004 Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in Health and Disease* 3:5
- BONADA SANJAUME A; Y SOLÁ ALBERICH R. 1998. Dieta en el manejo del paciente cardiovascular. *Rev Lat Cardiol.* 19:47-57.
- BONANOME A; PAGNAN A; BIFFANTI S; OPORTUNO A; SORGATO F; DORELLA M.; MAIORINO M; Y URSINI F. 1992. Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification. *Arterioscler Thromb* 12:529-533.
- CAGGIULA AW; Y MUSTAD VA. 1997. Effects of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations: epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 65(suppl):159S-610S.
- CARMENA R. 1999 Hiperlipemias Clínica y tratamiento. Barcelona. DOYMA. 248 pp
- CHONG HP; Y BACHENHEIMER SB. 2000. Current, New and Future treatments in dyslipidemia and atherosclerosis. *Drugs.* 60(1):55-93.
- FEUGANG JM; KONARSKI P; ZOU D; STINTZING FC; Y ZOU C. 2006. Nutricional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci.* Sep 1 ;11: 2574-89.
- FITÓ M; COVAS MI; LAMUELA-RAVENTÓS RM; VILA J; DE LA TORRE C; Y MARRUGAT J. 2000. Aceite de oliva e inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Importancia de los compuestos fenólicos. *Med Clin (Barc).* 115:166-69.
- KRITCHEVSKY D; TEPPER SA; WRIGHT S; CZARNECKI SK; WILSON TA; Y NICOLOSI RJ. 2003. Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis 24: Avocado oil. *J Am C Nutr* 2:(1) 52-55.
- O'TOOLE J. (2000) <http://www.avocado.org/2000-276..php?dd=health>.
- PEDERSEN A; BAUMSTARK MW; MARCKMANN P; GYLLING H; Y SANDSTRÖM. 2000. An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and a higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *J Lipid Res* 41:1901-1911.
- RAMAA CS; SHIRODE AR; MUNDADA AS; Y KADAM VJ. 2006. Nutraceuticals an emerging era in the treatment and prevention of cardiovascular diseases. *Curr Pharm Biotechnol.* Feb;7(1):15-23.
- VILLA POZA C; RUÍZ PASCUAL V; MAROTO ATANCE R; IGLESIAS GARCÍA J; GONZÁLEZ ÁLVAREZ M; Y PANADERO CARLAVILLA F. 2001. Hipercolesterolemia. *Panorama Actual Med;* 25 (241): 159-176.