

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

**DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE VITAMINAS A Y E
EN SUJETOS OBESOS**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
CON OPCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA:

GABRIEL ARVAYO ZATARAIN

Hermosillo, Sonora.

Abril del 2013.

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis profesional de **Gabriel Arvayo Zatarain**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito para obtener el Título de **Licenciado en Biología** con opción en **Biotecnología**.

Dra. Araceli Pinelli Saavedra
Director de Tesis

Dra. María Guadalupe Burboa Zazueta
Sinodal Secretario

Dr. Gerardo Navarro García
Sinodal

M.C. Lorena Bringas Alvarado
Suplente

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora: por los conocimientos adquiridos durante mi formación profesional.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo: por el apoyo y los conocimientos brindados durante la realización de mi tesis.

A mi Directora de tesis: quien me apoyó y brindó consejos durante la realización de este trabajo.

A mi Comité de tesis: con su experiencia, comentarios y sugerencias se logró hacer un mejor trabajo.

A la Q.B. Ingrid Rebecca Ezquerro Brauer: por su colaboración en el trabajo de laboratorio.

Al proyecto de fondo sectorial: Salud – Conacyt 127013 por el apoyo financiero brindado.

DEDICATORIA

A mi familia: Que siempre ha estado conmigo y me ha apoyado en todas mis decisiones en la vida, ellos son la razón de que este aquí hoy. Gracias.

A Dr. Víctor Raúl Burgos Fuentes: Quien me apoyó a mí y a mi familia incluso antes de que yo naciera, gracias a él hemos podido llegar hasta aquí.

A mis amigos: En especial a Ilem Aguilar Gastélum, Manuel Adolfo Lastra Encinas, Gert Palacio Báez, María Fernanda Pérez Alarcón, Oscar Ruiz Araiza y Giovanna Zazueta Raynaud por compartir conmigo esos años de universidad. Ustedes también son parte de mi familia.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
CONTENIDO	iv
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1. Vitamina E	3
II.1.1. Estructura química	3
II.1.2. Digestión y absorción	4
II.1.3. Fuentes	4
II.1.4. Requerimientos	6
II.1.5. Funciones	7
II. 1.6. Interacción con otros nutrimentos	7
II.2. Vitamina A	8
II.2.1. Estructura química	8
II.2.2. Metabolismo	9
II.2.3. Fuentes	9
II.3.4. Requerimientos	10
II.2.5. Funciones	10
II.2.6. Relación con otros nutrimentos	11
II.3. Obesidad	11
II.3.1. Obesidad en México	11
II.3.2. Relación entre obesidad y nutrimentos	12
III. JUSTIFICACIÓN	15
IV. HIPÓTESIS	16

V. OBJETIVOS	17
V.1. Objetivo general	17
V.2. Objetivos específicos	17
VI.- METODOLOGÍA	18
VI.1. Tamaño de la Muestra	18
VI.2. Extracción de Vitaminas	18
VI.3. Cuantificación e Identificación de Vitaminas A y E	19
VI.3.1. Curva Estándar	19
VI.4. Control de Calidad de la Determinación de Vitaminas	19
VI.4.1. Tasa de Recuperación	19
VI.5. Análisis de Datos	20
VII.- RESULTADOS	21
VII.1.- Recuperación	21
VII.1.1.- Curva estándar	21
VII.2.- Vitamina E	23
VII.3.- Vitamina A	25
VIII. DISCUSIÓN	28
VIII.1. Vitamina E	28
VIII. 2. Vitamina A	29
IX. CONCLUSIONES	31
X. RECOMENDACIONES	31
XI. LITERATURA CITADA	32

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla I	Bioactividad relativa de los tocoferoles y tocotrienoles (Machlin et al., 1991).	5
Tabla II	Contenido de vitamina E en alimentos. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2012	6
Tabla III	Consumo recomendado de vitamina E por edad. *OMS, 2002	7
Tabla IV	Contenido de vitamina A en alimentos. ¹ 1 UI = 0.3 µg retinol. *Tanumihardjo, 2011	9
Tabla V	Ingesta recomendada de vitamina A por edad. *OMS, 2002	10
Tabla VI	Tabla de recuperación para las vitaminas estudiadas. ± Desviación estándar N= número de observaciones	21

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Estructura del tocoferol y tocotrienol. (Combs, 1998)	4
Figura 2 Estructura química del Retinol.	8
Figura 3 Estructura química del β – caroteno.	8
Figura 4 Curva estándar para la vitamina A	22
Figura 5 Curva estándar para la vitamina E	22
Figura 6 Valores séricos de α – tocoferol para el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y grupo con IMC ≥ 30 , donde una literal diferente indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$).	23
Figura 7 A) Valores séricos de α – tocoferol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo con un IMC entre 30 – 34; diferente literal indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$). B) Valores séricos de α – tocoferol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo con un IMC entre 35 – 39.	24
Figura 8 Valores séricos de α – tocoferol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y obesos. Diferente literal indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$).	24
Figura 9 Valores séricos de retinol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo obeso. Diferente literal indica diferencia ($P \leq 0.01$).	25
Figura 10 A) Valores séricos de retinol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo de sujetos con un IMC entre 30 - 34. B) Valores séricos de retinol entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo de sujetos con un IMC entre 35 - 39.	26
Figura 11 Distribución de los niveles de retinol (mg/mL) entre el grupo control y los grupos obesos.	27

RESUMEN

Las vitaminas E y A pertenecen al grupo de las vitaminas liposolubles, cuya función principal es como antioxidantes, pero también tienen funciones en el sistema inmune, cardiovascular y en el mantenimiento de una buena visión, piel y huesos sanos. Existen reportes que indican que las concentraciones séricas de vitaminas con actividad antioxidante son menores en individuos obesos que en los no obesos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los niveles séricos de vitaminas A y E en personas obesas, además de analizar el contenido de vitaminas de acuerdo al IMC de las personas obesas; para ello, se tomaron muestras de sangre de 30 sujetos con un $IMC \geq 30$ y 30 sujetos con un $IMC \leq 25$ aparentemente sanos y la extracción de las vitaminas se determinó mediante cromatografía líquida de alta precisión (HPLC). Se encontró que los niveles séricos de las vitaminas son menores en los sujetos obesos (0.68 mg/dl de vitamina E y 19.1 μ g/dl de vitamina A) que en los no obesos (0.85 mg/dl de vitamina E y 22.45 μ g/dl de vitamina A). Se concluyó que las personas obesas se encuentran deficientes en cuanto a sus valores de vitaminas A y E.

I. INTRODUCCIÓN

Las vitaminas A y E pertenecen al grupo de las vitaminas liposolubles, las cuales se distinguen por ser solubles en grasas y aceites. Estas vitaminas son absorbidas a través de la digestión de las grasas en el intestino delgado medio, y son almacenadas en diferentes lugares como músculo esquelético, tejido adiposo e hígado (Burton, 1994).

La vitamina E es el término dado a un grupo de ocho isoformas caracterizadas por su actividad antioxidante, de las cuales el α – tocoferol ha mostrado mayor actividad biológica. Las principales fuentes de la vitamina E son alimentos como las nueces, cereales y aceites vegetales de maíz. Los tejidos adiposo y adrenal tienen las concentraciones más altas de vitamina E, en comparación con otros tejidos (Korchazhkina et al., 2006). La vitamina E es considerada una vitamina de gran importancia por su papel como antioxidante encargado de estabilizar la membrana celular al neutralizar cadenas de radicales libres; además de esta función se ha reportado que la vitamina E participa en la respuesta inmune así como también en sistema cardiovascular y nervioso (Borel et al., 2007).

En cuanto a la vitamina A es un término que comprende a las estructuras que exhiben actividad biológica del retinol (Tanumihardjo, 2011). Los retinoides de origen animal pueden ser encontrados en hígado, riñón, huevos y productos lácteos. Es considerada como un micronutriente esencial para los humanos dentro de funciones fisiológicas importantes como la visión, crecimiento, reproducción y la diferenciación y mantenimiento del tejido epitelial, además es requerida para una adecuada respuesta inmune.

Por otro lado, la obesidad se define como exceso de grasa corporal, la cual es causada al ingerir más calorías de las que el cuerpo puede quemar. Se puede clasificar a una persona como obesa si su Índice de Masa Corporal (IMC) es igual o mayor a 30. Existen reportes que indican que las concentraciones en suero de vitaminas con actividad antioxidante son menores en individuos obesos que en no obesos debido a diversos factores, tales como una mal absorción provocada por bajos niveles de sales biliares que ayudan a disolver y transportar los

triglicéridos en el cuerpo, además se ha demostrado que entre mayor sea la ingesta de grasas y ácidos grasos poliinsaturados en la dieta, menor será el porcentaje de absorción de vitaminas liposolubles (Aasheim et al., 2008; Pereira et al., 2011; Viroonudomphol et al., 2003); también se reporta que estos niveles menores son asociados a disminución de niveles de otros micronutrientes importantes para el mantenimiento de las funciones normales del cuerpo, tales como el zinc, hierro o potasio (Conroy et al., 2011; Aasheim et al., 2008; Wortsman et al., 2000; Slater et al., 2004).

Por lo tanto, el presente trabajo se enfoca en evaluar los niveles séricos de vitaminas A y E en personas con un IMC mayor o igual a 30.

II. ANTECEDENTES

II.1. Vitamina E

La vitamina E fue descubierta por Evans y Bishop en 1922 durante una serie de estudios sobre la relación entre fertilidad y nutrición; se le dió el nombre de vitamina E en 1924. Científicamente se le llamó tocoferol, que viene del griego tokos, que significa nacimiento y phero, que significa concebir, con la terminación “ol” para indicar las propiedades de alcohol de esta molécula.

II.1.1. Estructura química

La vitamina E es una vitamina soluble en lípidos y es un nombre genérico para todos los derivados de tocol que muestran diferentes grados de actividad biológica. Estos compuestos son derivados de 6-cromanol. El término tocol se usa para los derivados con una cadena lateral que consta de tres unidades de isopreno completamente saturado. Tocotrienol se utiliza para los derivados con una cadena lateral que contiene tres enlaces dobles. Las diferentes sustituciones de metilo en los núcleos cromanol determinan si el tocoferol o tocotrienol se designa α , β , γ , δ , como se muestra en la Figura 1.

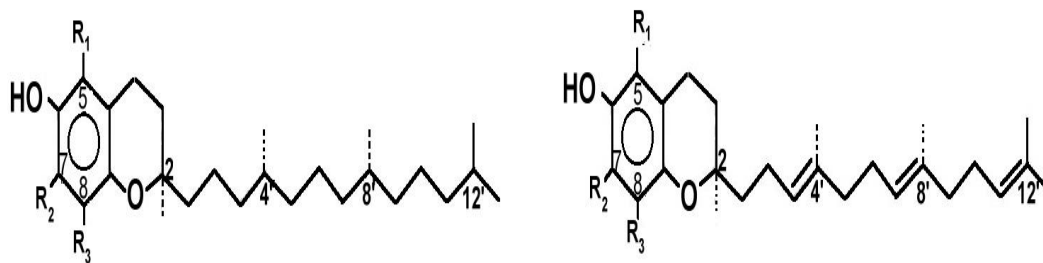


Figura 1. Estructura del tocoferol y tocotrienol. (Combs, 1998)

Substitución de grupo	Tocoferol	Tocotrienol
metilo (CH ₃)		
5, 7, 8	α -tocoferol	α -tocotrienol
5, 8	β -tocoferol	β -tocotrienol
7, 8	γ -tocoferol	γ -tocotrienol
8	δ -tocoferol	δ -tocotrienol

II.1.2. Digestión y absorción

La vitamina E se absorbe a través de la digestión de grasas y este proceso se ve facilitado por la bilis y la lipasa pancreática (Green, 1972; Ullrey, 1981; MacDowell, 1989). La absorción de tocoferoles se ve reforzada por los triglicéridos de cadena media y disminuye cuando hay un exceso de ácidos grasos poliinsaturados que se traduce en la oxidación del tocoferol en el tracto gastrointestinal (GI) (Traber et al., 1993; Burrin, 2001). Una vez que el tocoferol se ha solubilizado en las micelas de sales biliares y transportado a través de la capa de agua sin agitación, la micela entra en contacto con la absorción de borde en cepillo de la membrana de los enterocitos. Dentro del enterocito, el tocoferol se incorpora a los quilomicrones y secreta en los espacios intracelulares y los vasos linfáticos y por lo tanto en el torrente sanguíneo (Traber et al., 1993).

Las tasas de absorción de los diferentes tocoferoles y tocotrienoles se encuentran en el mismo orden de magnitud general como su actividad biológica. La mayor parte de la actividad de la vitamina E en el plasma y otros tejidos animales es α -tocoferol que es aproximadamente entre 90 y 100% de la vitamina E en el tejido medido por su bioactividad como se muestra en la Tabla I (Ullrey, 1981; Budowsky y Sklan, 1989)

Tabla I Bioactividad relativa de los tocoferoles y tocotrienoles (Machlin et al.,1991).

Tocoferoles	Bioactividad Relativa (%)	Tocotrienol	Bioactividad Relativa (%)
α -tocoferol	100	α -tocotrienol	30
β -tocoferol	30	β -tocotrienol	3
γ -tocoferol	10	γ -tocotrienol	-
δ -tocoferol	1	δ -tocotrienol	-

II.1.3. Fuentes

La vitamina E puede ser encontrada en alimentos de origen vegetal como nueces, semillas, cereales y aceites tales como los de girasol, soya, cártamo y maíz. A continuación se presenta una tabla que muestra el contenido de vitamina E en diferentes alimento.

Tabla II. Contenido de vitamina E * en alimentos. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2012

Alimento	Porción (gr)	Contenido (mg)
Aceite de trigo	100	192.0
Aceite de palma	100	21.7
Aceite de girasol	100	59.0
Nueces	100	24.0
Espinaca	100	1.89
Margarina de maíz	100	14.9
Aceite de oliva	100	12.4
Aceite de soya	100	18.1
Tomate	100	1.2
Brócoli	100	1.6

II.1.4. Requerimientos

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), los requerimientos diarios de vitamina E varían según la edad de la persona, pero se puede hacer un estimado de 5–11 mg/día para los niños y de 15 mg/día para los adultos; si la ingesta es menor a 7 mg/día, ocurre una deficiencia de vitamina E, la cual puede ser leve, con un nivel en suero de 5mg/l o una deficiencia severa si el nivel es de 3 mg/l (Ball 2004). La vitamina E puede llegar a causar efectos secundarios pero sólo si es consumida en cantidades muy altas en forma de suplementos. La toxicidad por vitamina E puede llegar a causar sangrado y hemorragia en el cerebro, así como también aumenta el riesgo de efectos congénitos. En la Tabla III se presentan las ingestas recomendadas por edad.

Tabla III. Consumo recomendado de vitamina E * por edad. *OMS, 2002

Edad	mg/día
1 – 3	6 mg
4 – 8	7 mg
9 – 13	11 mg
14+	15 mg

II.1.5. Funciones

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en tejidos corporales, plasma y eritrocitos, ya que protege a los lípidos de la membrana celular contra el daño oxidativo, por el ataque de los radicales libres, producto del metabolismo celular del oxígeno, contaminación ambiental, luz solar o humo de tabaco, debido a su capacidad para transferir un hidrógeno fenólico a un radical libre peroxilo procedente de un ácido graso poliinsaturado. El daño específico producido por los radicales libres en ADN o ARN celular puede traer como resultado una transformación incontrolada y un crecimiento celular, a menos que se detenga el daño celular mediante antioxidantes como la vitamina E. Se han reportado también efectos positivos en la respuesta inmune, principalmente por sus efectos anti inflamatorios al estabilizar la estructura de la membrana. Su deficiencia puede afectar a varios órganos y sistemas diferentes (Vajro et al., 2004).

II.1.6. Interacción con otros nutrimentos

La vitamina E previene la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados al capturar los radicales libres, por lo que se recomienda que si se tiene una elevada ingesta de ácidos grasos poliinsaturados, también se incremente la ingesta de vitamina E (Valk et al., 2000).

Al pasar por el cuerpo, la vitamina C regenera los restos de vitamina E ya utilizada para poder volver a ser usada (Watts et al., 1994).

II.2.2. Metabolismo

El retinol circulante se une principalmente a la proteína de unión del retinol (RBP, por sus siglas en inglés) y puede entrar y salir del hígado varias veces en un proceso conocido como reciclaje del retinol, que protege a las células de los efectos dañinos del retinol libre o del ácido retinoico. El retinol unido a una RBP celular (CRBP, por sus siglas en inglés) puede ser esterificado por la enzima lecitin: retinolaciltransferasa (LCAT), el éster de retinol resultante se almacena principalmente en células del hígado. La LCAT proporciona una forma de almacén recuperable de vitamina A, así como también regula su disponibilidad para otros caminos.

II.2.3. Fuentes

La vitamina A puede ser encontrada en alimentos de origen animal como huevos, carne, leche, queso, hígado y riñón. Su precursor, el β -caroteno en alimentos de origen animal como zanahorias, calabazas, chabacanos, brócoli y espinacas. En la tabla IV se presenta el contenido de vitamina A en algunos alimentos.

Tabla IV. Contenido de vitamina A* en alimentos. ¹1 UI = 0.3 μ g retinol. *Tanumihardjo, 2011

Alimento	Contenido (UI ¹)
Hígado vacuno	27185
Hígado de pollo	12325
Leche descremada	500
Queso cheddar	284
Leche entera	249
Huevo entero	250

II.2.4. Requerimientos

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), los requerimientos diarios de vitamina A varían según la edad de la persona, pero se puede hacer un estimado de 300–600 $\mu\text{g}/\text{día}$ para los niños y de 900 $\mu\text{g}/\text{día}$ para los adultos, además, si se ingieren 450 $\mu\text{g}/\text{día}$ o menos se lleva a una deficiencia de vitamina A, la cual puede ser leve al tener un nivel en suero de 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ o severa al tener un nivel de 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Ball et al., 2004). Una alta ingesta de vitamina A puede causar efectos secundarios como visión borrosa, dolor en los huesos, mareo, dolor de cabeza, daño al hígado, náusea y vómito. A continuación se presentan las dosis recomendadas.

Tabla V. Ingesta recomendada de vitamina A* por edad. *OMS, 2002

Edad	$\mu\text{g}/\text{día}$
0 – 1	400
1 – 3	400
4 – 13	600
14+	900

II.2.5. Funciones

La vitamina A juega un papel importante dentro del organismo, ya que ayuda a mantener piel, dientes y tejido esquelético saludables, así como también ayuda a promover una buena visión, especialmente bajo poca luz, además es necesaria para la regulación de la liberación de hierro en sangre y juega un papel importante en el sistema inmune al producir leucocitos en el organismo.

II.2.6. Relación con otros nutrimentos

La vitamina E protege a la vitamina A de la oxidación mientras es transportada por el cuerpo, por lo que la biodisponibilidad de vitamina E en el cuerpo incrementa la de la vitamina A. Si existe deficiencia de vitamina E, también se lleva a una pérdida de reservas de vitamina A en

el hígado (Licata 2010). Además, la vitamina A junto con el zinc regula la liberación de hierro, previniendo anemias (Zolfaghari et al., 1994).

II.3. Obesidad

La obesidad puede ser definida como exceso de grasa corporal, la cual es causada al ingerir más calorías de las que el cuerpo puede quemar, frecuentemente resultando en un daño a la salud y a la longevidad. El nivel de grasa en el cuerpo es categorizado por el índice de masa corporal (IMC), y es calculado al dividir el peso de un individuo medido en kilogramos por su altura en metros cuadrados. La OMS (2002) ha clasificado a las personas en diferentes rangos según su IMC, en donde el sobrepeso generalmente se define como un IMC de 25 a 29.9; los individuos con un IMC mayor o igual a 30 son clasificados como obesos, dentro de este rango se clasifican como obesos tipo 1 aquellas personas con un IMC entre 30 y 34.9 y obesos tipo 2 a aquellas personas con un IMC de 35 a 39.9; mientras que aquellos individuos con un IMC mayor o igual a 40 son clasificados como mórbidamente obesos. Se ha reportado que hay una reducción de nueve años en la esperanza de vida de los sujetos obesos, ya que la obesidad resulta en problemas de la circulación sanguínea y funciones cardíacas (Hinchliffe et al., 2004).

II.3.1. Obesidad en México

De acuerdo a los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, en México existe una mayor prevalencia de sobrepeso en hombres que en mujeres, con 37.4% de la población femenina y 42.5% de la población masculina presentando sobrepeso. Por otro lado, el 34.5% de las mujeres y el 24.2% de los hombres en México presentan obesidad, con un promedio nacional de 29.4% de los mexicanos siendo obesos. Sumando las dos condiciones de sobrepeso y obesidad, 71.9% de las mujeres y 66.7% de los hombres lo padecen en el país. Las cifras de ésta encuesta indican que 69.4% de los mexicanos adultos tienen exceso de peso corporal, 40% sufre sobrepeso y 29.4% presentan obesidad (Barquera et al., 2010)

II.3.2. Relación entre obesidad y nutrimentos

La presencia de deficiencias nutrimentales en la obesidad podría parecer paradójica debido al consumo en exceso de calorías, pero se ha reportado que varias deficiencias de micronutrientes podrían ser más prevalentes en adultos y niños con obesidad, particularmente aquellos que tienen obesidad extrema. El consumo de calorías en exceso no equivale automáticamente a un buen consumo de frutas, vegetales y otros alimentos no procesados de alta calidad nutricional; la adiposidad incrementada en sí podría influenciar los niveles séricos de algunas vitaminas y minerales.

Las deficiencias de minerales reportadas asociadas con la obesidad son varias, por ejemplo, en un estudio en el cual se comparó la habilidad de absorber potasio de personas obesas y no obesas al darles diferentes dosis de insulina, se encontró que las personas obesas son resistentes a la habilidad de la insulina de estimular la absorción de potasio por parte de los tejidos (DeFronzo et al., 1988).

Por otro lado, en un estudio enfocado en deficiencias de hierro en niños con sobrepeso y obesos se evaluaron los niveles de hierro en sangre y fueron comparados con un grupo de peso normal, encontrando que 38.8% de los niños obesos y 12.2% de los niños con sobrepeso mostraban deficiencias de hierro (Pinhas-Hamiel et al., 2003).

Otro micro nutrimento evaluado en personas obesas es el zinc (Di Martino et al., 1993) reportaron que los niveles de zinc en sujetos obesos eran menores, pero al someter a las personas a una dieta hipocalórica (737 Kcal) se encontró que los niveles de zinc regresaron a valores normales.

En cuanto a la deficiencias de vitaminas más comunes asociadas a la obesidad se encuentran las de vitaminas A, B, C, D y E. En un estudio en el cual se comparó la concentración sérica de vitaminas entre un grupo de individuos mórbidamente obesos y un grupo control se reportó que los individuos obesos tenían concentraciones séricas significativamente menores de vitaminas A, B-6, C y vitamina E (Aasheim et al., 2008).

Respecto a la vitamina D en obesidad ha sido investigada ampliamente, por ejemplo, personas mórbidamente obesas operadas para perder peso mostraron una pequeña tasa de deficiencia de vitamina D unos meses después de la operación pero al pasar el tiempo, la deficiencia era mayor (de Luis et al., 2011). Por su parte, Wortsman (2000) evaluó la producción cutánea de vitamina D₃ (25-hidroxivitamina D) y la absorción intestinal de

vitamina D2 en personas obesas al exponer a las personas a radiación ultravioleta de cuerpo completo y a dosis farmacológicas orales de vitamina D2. Comparando los resultados con un grupo control de personas no obesas, se encontró que el incremento de vitamina D3 después de ser sometidos a radiación fue significativamente menor en las personas obesas pero las concentraciones de vitamina D2 no fueron significativamente diferentes entre los grupos.

Por otro lado, en un estudio enfocado en determinar los niveles de vitamina D3 (25 - OH) en 60 mujeres mórbidamente obesas, se encontró que el 62% de ellas presentaban niveles deficientes pero que no estaban asociados a reducciones de calcio en suero ni significativamente relacionados a la edad de las mujeres. Sin embargo, los niveles de vitamina D3 estaban significativa y negativamente relacionados a la masa corporal (Buffington et al., 1993). La deficiencia de vitamina D ha sido asociada a riesgos a la salud al incrementar las posibilidades de contraer enfermedades; en un estudio realizado por Olson (2011), se analizaron muestras de sangre de 400 niños y adolescentes obesos comparados con 87 niños y adolescentes de peso normal, midiendo los niveles de azúcar en sangre, niveles de insulina, índice de masa corporal y presión sanguínea, se encontró que los niños obesos tenían niveles deficientes de vitamina D y que la obesidad y los niveles de vitamina D estaban asociados a un mayor grado de resistencia a la insulina.

El nivel de vitamina C también ha sido estudiado en personas mórbidamente obesas que se han operado para perder peso. Donadelli et al (2011) evaluaron la concentración sérica de esta vitamina en personas operadas a los tres, seis y doce meses después de la operación y con personas bajo dieta controlada y con suplementos multivitamínicos, se encontraron deficiencias significativas de vitamina C a los tres meses, aumentando a través del tiempo. Otro autores reportaron que existía una mayor prevalencia en la deficiencia de las vitaminas C y E en mujeres obesas provenientes de una área rural de México, además de que los valores de vitamina C disminuían a medida que incrementaba el IMC (García et al., 2009).

La vitamina A también ha sido ligada a la obesidad. En personas mórbidamente obesas operadas para bajar de peso, quienes tomaron un suplemento diariamente, fue reportado que se encontraban deficiencias de vitamina A en el 52% de los sujetos de estudio un año después de la operación, incrementando anualmente hasta llegar a encontrarse en el 69% de los sujetos a los cuatro años (Slater et al., 2004). También se ha reportado que la deficiencia de vitamina A puede ser heredada de madres a hijos, al estudiar casos en los que madres mórbidamente

obesas que desarrollaban deficiencia de vitamina A durante el embarazo daban a luz a bebés que también presentaban deficiencia de vitamina A (Huerta et al., 2002). En contraste en un estudio realizado por Reitman et al., (2002) reportaron que no hubo diferencias en la concentración de vitamina A en muestras de plasma de 25 sujetos obesos y mórbidamente obesos, respecto a un grupo control no obeso. La obesidad también puede ser asociada con los niveles de vitamina A y la ceguera nocturna en individuos con obesidad mórbida, en los cuales se demostró que tales individuos tienen una alta deficiencia de vitamina A (Pereira et al., 2011).

En comparación con los estudios realizados enfocados a otros nutrimentos, existen muy pocos estudios que se centren en la relación de las vitaminas A y E con la obesidad ($IMC \geq 30$), ya que la mayoría de estos se han enfocado en su nivel en sujetos mórbidamente obesos ($IMC \geq 40$). Algunos estudios indican que en personas mórbidamente obesas operadas evaluadas para niveles de vitamina E hasta seis años después de la operación se encontró que el 70% de las personas presentaban deficiencia de vitamina E. Rogers et al., (1980). Similarmente, un estudio realizado por Viroonundomphol et al., (2003), enfocado a las concentraciones de vitaminas A y E en personas con sobrepeso y obesas en relación a un grupo control encontró que existía una correlación negativa entre el IMC y los niveles de α – tocoferol y retinol en suero. En un estudio realizado específicamente en los niveles séricos de vitamina E en adolescentes, se encontró que aquellos que presentaban obesidad también tenían niveles séricos de vitamina E hasta 67% menores que los adolescentes de peso normal (Neuhouser et al., 2001). Un estudio similar, realizado por Strauss (1999), comparando los niveles séricos de vitamina E en niños obesos y de peso normal mostró que los niños obesos presentaban niveles reducidos de vitamina E en comparación a los niños de peso normal.

Por el contrario, en un estudio realizado por Slater et al., (2004), no se encontraron deficiencias significativas de vitamina E en las personas mórbidamente obesas estudiadas después de cuatro años de estudio.

III. JUSTIFICACIÓN

Al ser las vitaminas E y A importantes en el organismo por sus propiedades antioxidantes y en la respuesta inmune, y que la obesidad puede ser originada por una ingesta inadecuada de nutrimentos, es importante conocer el contenido de estas vitaminas en personas obesas ya que niveles bajos de estas vitaminas en el organismo pueden llevar a problemas de salud.

IV. HIPÓTESIS

Debido a que el contenido de las vitaminas liposolubles en el cuerpo es en parte dependiente de la dieta, se espera que los niveles séricos de vitaminas A y E serán menores en sujetos obesos ($IMC \geq 30$) con respecto a los sujetos no obesos ($IMC \leq 30$).

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo General

Determinar los niveles séricos de vitaminas A y E en sujetos obesos ($IMC \geq 30$).

V.2. Objetivos Específicos

Determinar los niveles séricos de vitamina A y E en sujetos obesos ($IMC \geq 30$).

Determinar los niveles séricos de vitamina A y E en sujetos no obesos

Comparar los niveles séricos de ambas vitaminas en los grupos de sujetos obesos tipo 1 (IMC 30-34.9) y obesos tipo 2 (IMC 35-39.9) en relación a los sujetos no obesos.

VI. METODOLOGÍA

VI.1. Tamaño de la Muestra

Se tomaron muestras de sangre de 30 sujetos con un IMC ≥ 30 y 30 sujetos con un IMC ≤ 25 aparentemente sanos. Al obtener las muestras de sangre, éstas fueron colocadas en una micro centrífuga para separar el suero. Las muestras de suero fueron almacenadas a -40°C para su posterior análisis.

VI.2. Extracción de Vitaminas

La extracción de la vitamina A y E se determinó como describe Hess et al., (1991). En un tubo eppendorf se colocaron 200 μl de suero y se le adicionaron 200 μl de agua y 400 μl de etanol con 2,6 – diterbutil – 4 – metifenol (BHT) al 0.025%; se agitó en vortex durante 10 segundos. Después se le adicionó 700 μl de hexano con BHT al 0.025%. Se agitó en vortex nuevamente por 10 minutos. Posteriormente se centrifugó a 13000 rpm en una centrífuga Beckman modelo GS – 15R utilizando un rotor F2402 durante 7 minutos a 4°C . La capa superior del sobrenadante fue transferida a otro tubo eppendorf de color ámbar y secada con nitrógeno comprimido. Las muestras fueron resuspendidas con 200 μl de metanol con BHT al 0.025% y agitadas por 10 segundos en un vortex para después ser filtradas usando una membrana de 0.2 μm de tamaño de poro y se inyectaron en HPLC para su cuantificación. Junto con las muestras se inyectó un estándar de concentración conocida (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

El estándar se preparó a partir de (+) α – tocoferol (Sigma T – 4389) y retinol all – Trans (Sigma) mezclado con metanol/BHT 0.025%. El estándar se inyectó al inicio de las determinaciones diarias y se detectó a una longitud de onda de 290 nm cambiando a una longitud de onda de 270 nm, al igual que las muestras. Cada muestra y estándar se corrió por triplicado. Los resultados de las muestras y el estándar se analizaron con un software para cromatografía Star 4.2 de Varian.

VI.3. Cuantificación e Identificación de Vitaminas A y E

Para el análisis de las muestras por HPLC se empleó una bomba de solventes Varian Pro – Star isocrática modelo 220, un inyector Rheodyne modelo 7125 utilizando un loop de 10 µl y un detector UV – visible de longitud de onda variable Varian 9050. La fase estacionaria fue una columna microsorb – short one de 10 cm de longitud por 4.6 mm de diámetro interno, empacada con C – 18, la cual tiene 3 µm de tamaño de partícula y 100 µm de tamaño de poro. La fase móvil fue metanol grado HPLC y agua HPLC (98: 2).

VI.3.1. Curva Estándar

Se realizaron curvas estándar con concentraciones conocidas de vitamina A y E, al inicio de las mediciones en el HPLC. Las concentraciones para la curva de vitamina E fueron de 2.5, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 µg/ml y para la vitamina A de 0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 µg/ml.

VI.4. Control de Calidad de la Determinación de Vitaminas

Se realizó un control de calidad de la extracción de retinol y α – tocoferol en los sueros que a continuación se detalla.

VI.4.1. Tasa de Recuperación

200 µl de suero se transfirieron a un tubo eppendorf y fueron mezclados con 200 µl de agua y 400 µl de una mezcla de estándares de vitaminas A y E solubilizadas en etanol (conteniendo 0.025% de BHT), la concentración para vitamina E fue de 1 µg/ml y para la vitamina A fue 2 µg/ml. Después se continuó con la extracción de ambas vitaminas como se describe arriba.

Los cálculos para la recuperación se hicieron de la siguiente manera:

$$\% \text{ Recuperación} = A_{\text{est} + \text{Ps}} \times 100$$

Donde:

$A_{\text{est} + \text{Ps}}$ = Pico del área de la mezcla de estándar más pool de suero

A_{ps} = Pico del área del pool de suero

A_{est} = Pico del área de la mezcla del estándar

VI.5. Análisis de Datos

Se realizó un análisis de varianza de una vía para analizar los datos obtenidos y se usó la prueba de Tukey–Kramer para detectar diferencias entre las medias con un 95% de confianza. El paquete estadístico utilizado fue el NCSS 2000.

VII. RESULTADOS

VII.1. Recuperación

Los porcentajes de recuperación para la vitamina E (α -tocoferol) fue de 94.14 y para la vitamina A (retinol) de 93.96, esto permitió tener la certeza de la reproducibilidad de los análisis (Tabla 6)

Tabla VI. Tabla de recuperación para las vitaminas estudiadas. \pm Desviación estándar

N= número de observaciones

Vitamina	N	% Recuperación
Vitamina A	30	93.96 \pm 0.0599
Vitamina E	30	93.14 \pm 0.0320

VII.1.1. Curva estándar

Para determinar la concentración de vitamina E y A se prepararon una curva estándar para cada vitamina (ver figuras 4 y 5), estas curvas sirvieron para extrapolar los valores de la áreas obtenidas para cada vitamina en suero. En la sección de materiales y métodos se detallaron las concentraciones utilizadas para las curvas. Los coeficientes de relación fueron $R^2= 0.996$ para la curva estándar de vitamina E y con una $R^2= 0.979$ indicando una alta correlación entre las variables.

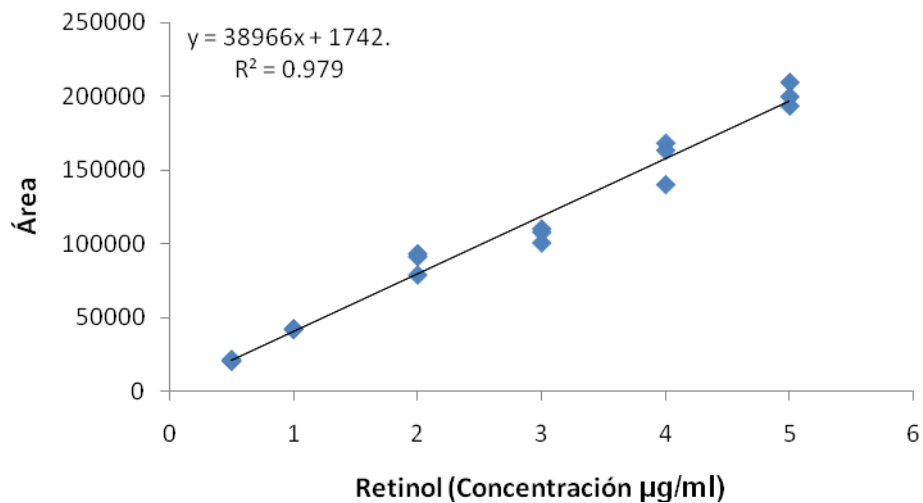


Figura 4. Curva estándar para la vitamina A (retinol)

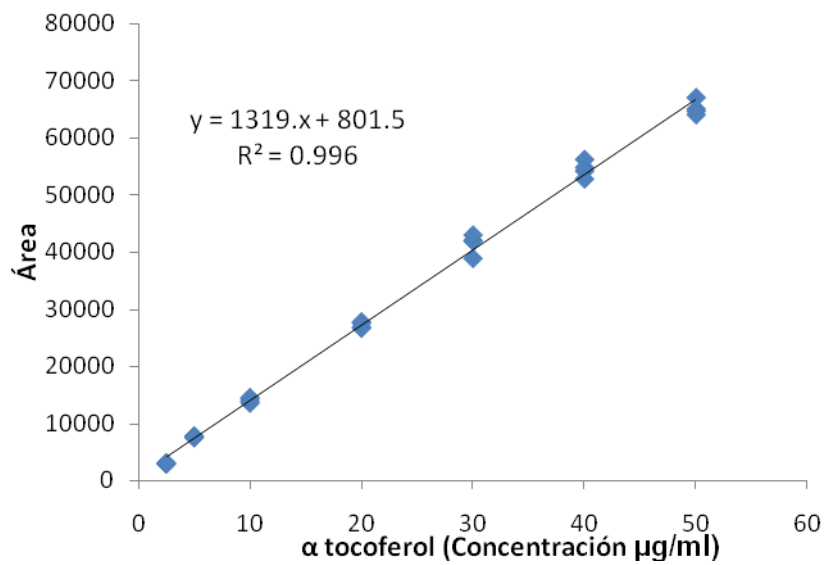


Figura 5. Curva estándar para la vitamina E (α – tocoferol)

VII.2. Vitamina E

En la Figura 6 se muestran los valores séricos de vitamina E de los grupos con índice de masa corporal (IMC) ≤ 25 (control) y el grupo de sujetos con un IMC ≥ 30 , se observa que el contenido de vitamina E fue mayor ($P \leq 0.05$) en el grupo control (0.85 mg/dl) respecto al grupo obeso (0.68 mg/dl).

Los valores séricos observados en las muestras indican que la media mostrada para el grupo con un IMC ≥ 30 (0.68 mg/dl) se encuentra moderadamente deficiente de vitamina E ya que el rango reportado por la Organización Mundial de la Salud es de 0.75 a 1 mg/dl.

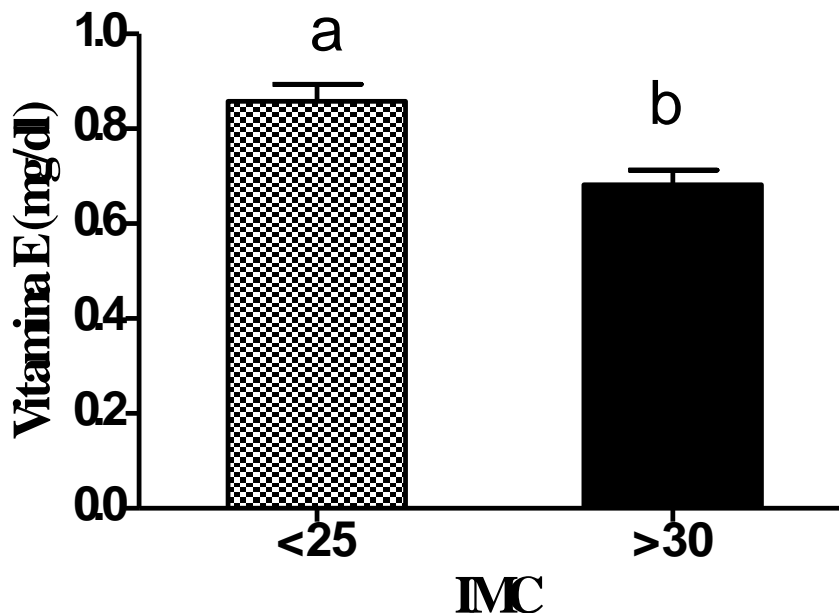


Figura 6. Valores séricos de vitamina E para el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y grupo con IMC ≥ 30 , literal diferente indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

También se analizaron los datos separando los IMC ≥ 30 en dos grupos, el primero conformado por sujetos con un IMC entre 30 - 34 y el segundo grupo con un IMC entre 35 - 39. En la figura 7A se muestra que la media del grupo con un IMC entre 30–34 (0.70 mg/dl) es menor ($P \leq 0.04$) que la del grupo control (0.85 mg/dl). Sin embargo, como se puede apreciar en la Figura 5B, para el grupo con un IMC entre 35-39, no se observa esta diferencia.

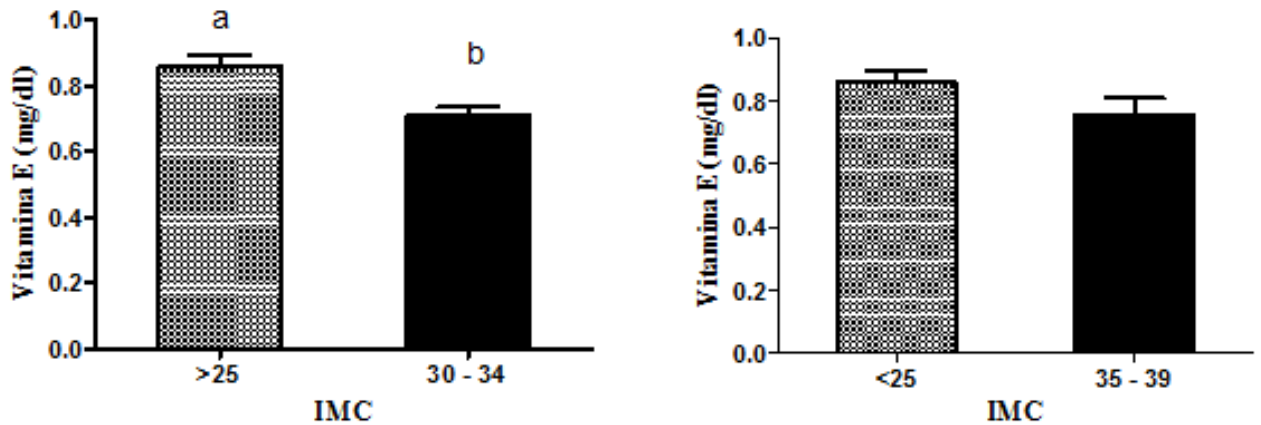


Figura 7. A) Valores séricos de vitamina E para el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo con un IMC entre 30–34; diferente literal indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$). B) Valores séricos de vitamina E entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo con un IMC entre 35–39;

Cuando se analizan los estratos se observa que el grupo con IMC 30-34 fue menor respecto al grupo control sin embargo no fue diferente al grupo con un IMC 35–39. Por otro lado, el grupo con un IMC 35–39 no muestra diferencias significativas ($P \geq 0.05$) respecto al grupo control y al grupo con IMC 30–34 (Figura 8).

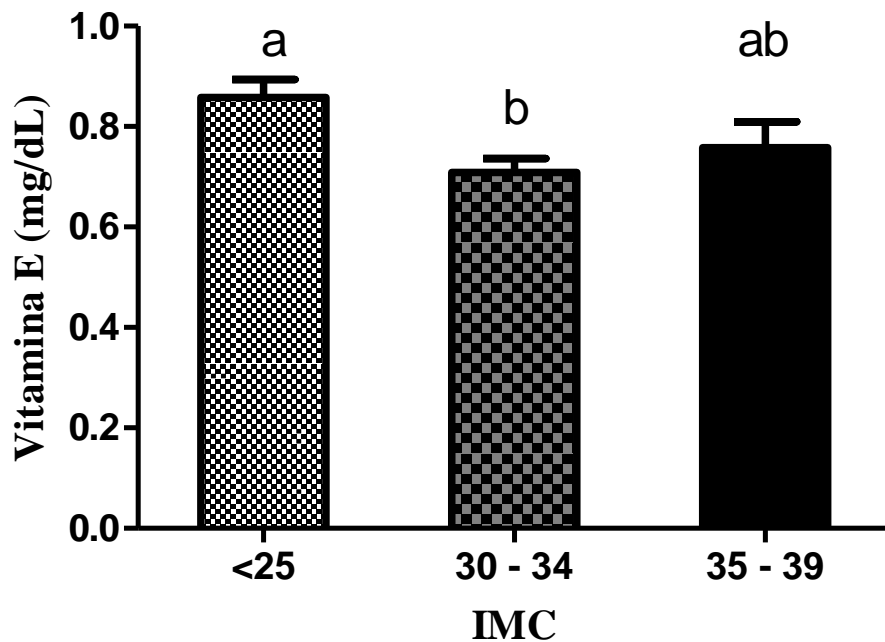


Figura 8. Valores séricos de vitamina E entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y dos estratos del grupo de obesos. Diferente literal indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

VII.3. Vitamina A

La concentración de vitamina A en el grupo con IMC ≤ 25 fue significativamente mayor (22.45 $\mu\text{g/dl}$) a $P \leq 0.01$, respecto a la del grupo obeso con un IMC ≥ 30 (19.009 $\mu\text{g/dl}$), como se muestra en la Figura 9.

La media mostrada para el grupo con un IMC ≥ 30 (19.009 $\mu\text{g/dl}$), indica que este grupo se encuentra levemente deficiente de vitamina A ya que el rango reportado por la Organización Mundial de la Salud es de 20 a 30 $\mu\text{g/dl}$.

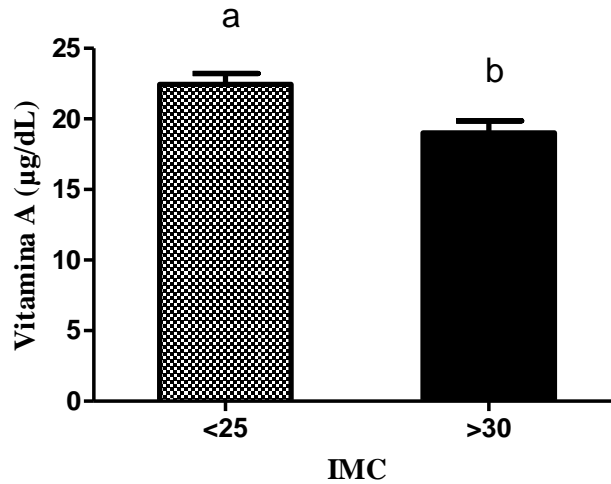


Figura 9. Valores séricos de vitamina A entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo obeso. Diferente literal indica diferencia ($P \leq 0.01$).

Como en el caso de la vitamina E, también se separó el grupo de sujetos obesos en dos estratos según su IMC. La Figura 10A muestra la comparación entre el grupo control y el grupo de sujetos con un IMC entre 30-34 y se observa que el grupo con un IMC entre 30-34 mostró una concentración sérica de vitamina A menor ($P = 0.04$) respecto al grupo con un IMC ≤ 25 . En cuanto al grupo de sujetos con un IMC entre 35-39 respecto al grupo control se observó que no hubo diferencias ($P \geq 0.05$) en los valores séricos de vitamina A (Figura 10B).

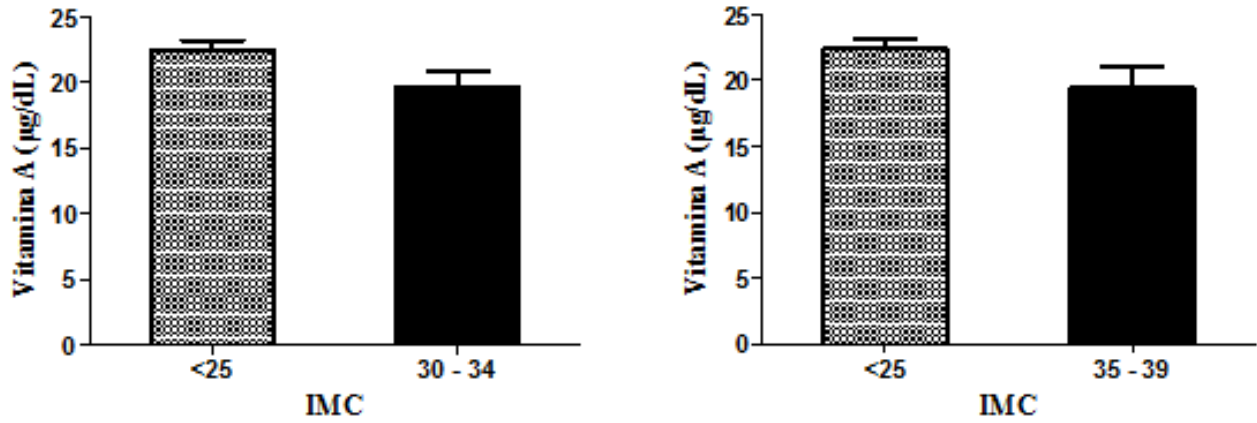
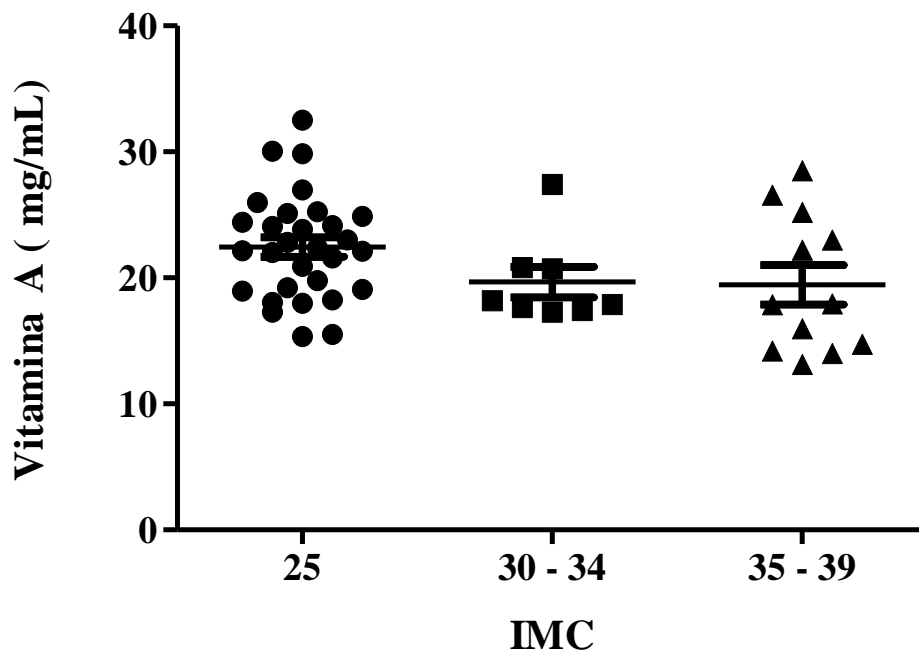


Figura 10. A) Valores séricos de vitamina A entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo de sujetos con un IMC entre 30-34. B) Valores séricos de vitamina A entre el grupo con un IMC ≤ 25 (control) y el grupo de sujetos con un IMC entre 35 - 39.

La Figura 11 muestra que cuando se analizan los tres grupos, se observa una tendencia ($P = 0.06$) a disminuir los valores séricos de vitamina A para los grupos con un IMC ≥ 30 . Como muestra la Figura, sujetos dentro de los grupos de IMC 30–34 y 35–39 se comportan de manera diferente a la mayoría de las muestras de sus grupos.



P = 0.06

Figura 11. Distribución de los niveles de vitamina A (mg/mL) entre el grupo control y los grupos obesos.

VIII. DISCUSIÓN

VIII.1. Vitamina E

Los resultados obtenidos para la vitamina E concuerdan a los obtenidos por Reitman et al., (2002), quienes reportaron diferencias en el contenido de vitamina E entre el grupo control y obeso (media para el IMC de 38); estos IMC son similares a los analizadas en nuestro trabajo. También, Viroondomphol et al (2003) reportaron que el contenido de vitamina E en el grupo obeso (IMC de 35) fue menor respecto al contenido de vitamina E en el grupo control. Por el contrario, Jaworowska et al (2008), reportaron que no se encontraron diferencias en el contenido de vitamina E entre el grupo control y el grupo obeso (IMC de 32.6). Esta discrepancia en los resultados pudiera ser debido a que en el estudio antes mencionado se tomaron muestras de personas con dietas controladas similares en cuanto a ingesta de vitamina E en ambos grupos, lo que difiere de nuestro trabajo donde no se controló la dieta de las personas y en este trabajo se obtuvo una media de IMC para el grupo obeso de 37.9.

Los resultados obtenidos al comparar a las personas con un IMC entre 30 - 34 con las personas del grupo control concuerdan con los obtenidos en estudios anteriores que indican que existen diferencias en el contenido de vitamina E entre el grupo control y el grupo obeso con IMC similares a los utilizados en el presente estudio (Gursu et al., 2003; García et al., 2009). Los resultados obtenidos al comparar el grupo con un IMC entre 35–39 con el grupo control son similares a los obtenidos por Reitman et al (2002) donde se reporta que no existen diferencias en el contenido de vitamina E entre el grupo control y el grupo obeso (IMC de 38), lo cual es muy similar a la media de IMC del grupo obeso en este estudio. En contraste con nuestros resultados, Aasheim et al (2008), reportaron que existen diferencias en el contenido de vitamina E entre el grupo control y el grupo obeso, pero las muestras provenían de personas de edades similares además de que el grupo obeso estudiado tuvo una media de IMC de 45, lo que difiere del presente estudio.

VIII.2. Vitamina A

Los resultados obtenidos en cuanto a la cantidad de vitamina A en personas obesas y no obesas concuerdan con los obtenidos por Pereira et al., (2011); quienes reportaron diferencias entre el contenido de vitamina A en suero entre grupo control y el grupo obeso (IMC medio de 40), lo cual no es muy diferente a la media de IMC para el grupo obeso en este trabajo. Por lo contrario, los resultados obtenidos son diferentes a los obtenidos por Madan et al., (2006), en el cual no observaron una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo obeso (IMC medio de 41), quizá precisamente a que la media del IMC manejado en ese estudio es mayor que el reportado en el presente trabajo.

Al comparar a las personas del grupo con un IMC entre 30-34 respecto al grupo control, los resultados concuerdan con los obtenidos por Slater et al (2004), quienes reportan diferencias observadas en la concentración de vitamina A entre el grupo control y el grupo obeso con una media de IMC de 40, similar al obtenido en nuestro trabajo. Al observar los resultados obtenidos al comparar el grupo de personas con un IMC 35-39 con el grupo control, se encontró que fueron diferentes a los resultados obtenidos por Aasheim et al (2008), donde se reportan diferencias en los valores séricos de vitamina A entre el grupo control y el grupo obeso (media de IMC de 45). Esta diferencia podría deberse a que en los estudios antes mencionados se compararon las muestras de edades similares entre los grupos control y obeso, que tenía una media de IMC de 45 en el grupo obeso. Además, estos resultados son diferentes a los reportados por Donadelli et al (2011), quienes encontraron diferencias entre el grupo control y el grupo obeso (IMC medio de 35), aunque en ese estudio se controló la dieta de los pacientes y se aseguró que tomaran suplementos.

La deficiencia moderada y leve de las vitaminas E y A respectivamente mostrada en los sujetos obesos podría explicarse que pudiera ser debido a un alto consumo de grasas poliinsaturadas y de tipo trans, ya que este tipo grasas contienen dobles enlaces que las hacen susceptibles a la oxidación, además de que al reaccionar con el oxígeno liberan más agentes oxidantes, aumentando la oxidación lipídica y por consecuencia una mayor producción de radicales libres y de esta manera las vitaminas E y A tengan que neutralizar estos radicales en lugar de ser utilizadas para los procesos metabólicos en los que

normalmente participan, provocando de esta manera estas deficiencias en este grupo de sujetos obesos (Leong, 2009; Viroonudomphol et al., 2003).

IX. CONCLUSIONES

En este trabajo se encontró que los niveles séricos de vitaminas A y E en las personas obesas ($\text{IMC} \geq 30$) son menores en comparación a los de las personas no obesas ($\text{IMC} \leq 25$).

Además, dentro del grupo de las personas obesas, los valores séricos fueron levemente deficientes para la vitamina A y moderadamente deficientes para la vitamina E de acuerdo a los rangos reportados.

X. RECOMENDACIONES

Como continuación de este estudio se recomienda realizar un estudio donde se evalúe la dieta, específicamente la ingesta de grasas y su relación con la ingesta de vitaminas y la edad.

XI. LITERATURA CITADA

- Aasheim ET, Björkman S, Søvik TT, Engström M, Hanvold SE, Mala T, Olbers T, Bøhmer T; 2008. Vitamin status after bariatric surgery: a randomized study of gastric bypass and duodenal switch. *American Society for Nutrition*; 90:15–22.
- Aasheim ET, Hofso D, Hjelmessaeth J, Birkeland KI, Bohmer T; 2008. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross – sectional study. *American Journal of Clinical Nutrition*; 87(2):362–369.
- Ball, GFM; 2004. *Vitamin in foods: Analysis Bioavailability and Stability*. United States of America; CRC Press Taylor and Francis Group.
- Barquera S, Campos-Nonato I, Rojas R, Rivera J; 2010. Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención. *Gaceta Médica de México*; 146: 397 – 407.
- Borel P, Moussa M, Reboul E, Lyan B, Defoort C, Vincent-Baudry S, Maillot M, Gastaldi M, Darmon M, Portugal H; 2007. Human plasma levels of vitamin E and carotenoids are associated with genetic polymorphisms in genes involved in lipid metabolism. *The Journal of Nutrition*; 137: 2653–2659.
- Bousvaros A, Zurakowski D, Duggan C, Law T, Rifai N, Goldberg NE, Leichtner AM; 1998. Vitamins A and E in children and young adults with inflammatory bowel disease: effect of disease activity. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*; 26(2): 129 – 135.
- Budowski PD, Sklan D; 1989. Vitamins E and A, in Vergroesen AJ, Crawford M (Eds), *The Role of fats in Human Nutrition*, Academic Press, London, p 364–406.
- Buffington C, Walker B, Cowan G, Scruggs D; 1993. Vitamin D deficiency in the Morbidly Obese. *Obesity Surgery*; 3(4):421–424.
- Burrin, DG; 2001. Nutrient requirements and metabolism; in: *Biology of the Domestic Pig*, edited by Pond, WG and Mersmann, HJ; 309 – 389; Cornell University Press, Ithaca New York.
- Burton, GW; 1994. Vitamin E: Molecular and biological function. *Proceedings of the Nutrition Society*. 53: 251 – 262.

- Combs, GF, 1998. *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health*. 2nd Edn., Academic Press, San Diego, CA., USA., ISBN: 9780121834920, pp: 618.
- Conroy KP; Davidson IM; Warnock M; 2011. Pathogenic obesity and nutraceuticals. *Proceedings of the Nutrition Society*; 70(4): 426 - 438
- De Fronzo, RA; 1988. Obesity is associated with impaired insulin – mediated potassium uptake. *Metabolism*; 37(2):105–108.
- de Luis DA, Pacheco D, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Cabezas G; 2011. Micronutrient status in morbidly obese women before bariatric surgery. *Surgery for Obesity and Related Diseases*.
- Di Martino G, Matera MG, De Martino B, Vacca C, Di Martino S, Rossi F; 1993. Relationship between zinc and obesity. *Journal of Medicine* ; 24:177–183.
- Donadelli RD.; Junqueira–Franco MV., Wilson S, Reginaldo C, Dos Santos J; 2011. Daily Vitamin Supplementation and hipovitaminosis after obesity surgery. *Nutrition*, vol. 28(4): 391 - 396.
- Evans HM, Bishop KS; 1922. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 56; 650 – 651.
- Freishtat RJ, Iqbal SF, Pillai DK, Klein CJ, Ryan LM, Benton AS; 2010. High prevalence of vitamin D deficiency among Inner – City African – American youth with asthma in Washington, DC. *Journal of Pediatrics*. 156: 948–952.
- Galan P, Viteri FE., Bertrais S; 2005. Serum concentrations of β – carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. *European Journal of Clinical Nutrition*; 59: 1181–1190.
- García OP, Ronquillo D, Elian S, De la Torre K, Caamaño M, Rosado J; 2009. Vitamin C deficiency is associated with obesity in rural Mexican women. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*; 23: 917.4.
- Ghayour Majid–Mobarham, Hossein S, Starkey B, Livingstone C, Wang T, Lamb D, Ferns G; 2008. An investigation of the relationship between serum vitamin E status and coronary risk factors in dyslipidaemic patients. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol. 10, Number 4, 206 – 215.
- Green J; 1972. Tocopherols: biochemical systems. In: Sebrell WH, Harris RS (Eds), *Vitamins: Chemistry, Physiology, Pathology, Method*, Vol V, Academic Press New York, p 259–272.

- Gursu MF, Ozan AT, Gulcu F, Serhatlioglu S, Canatan H, Baydas G; 2003. Investigation of Antioxidant Vitamin Levels on Serum Homocysteine Concentrations in Obese Subjects. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 41 (3): 1 – 36.
- Hinchliffe D; 2004. Obesity: Third report of session 2003 – 04. Volume 1.
- Horwitt MK, Elliott WH, Kanjananggulpan P, Fitch CD; 1984. Serum concentrations of α – tocopherol after ingestion of various vitamin E preparations. *American Journal of Clinical Nutrition*; 40(2): 240 – 245.
- Huerta S, Rogers LM, Li Z; 2002. Vitamin A deficiency in a newborn resulting from maternal hypovitaminosis A after biliopancreatic diversion for the treatment of morbid obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*; 76(2): 426 – 429.
- Jaworowska A, Bazylak G; 2008. HPLC Assessment and Multivariate Predictability of Serum Retinol and α – Tocopherol Concentrations in Adult Female Subjects. *The Open Chemical and Biomedical Methods Journal*, 1, 11 – 21.
- Kayden HJ, Traber MG; 1993. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *Journal of lipid research*; 34(3): 343 – 358.
- Korchazhkina O, Jones E, Czauderna M, Spencer S, Kowalczyk J; 2006. HPLC with UV detection for measurement of vitamin E in human milk. *Acta Chromatographica* number 6; 21 – 27.
- Licata A, Mulligan GB; 2010. Taking vitamin D with the largest meal improves absorption and results in higher serum levels of 25 – hydroxyvitamin D. *Journal of Bone and Mineral Research*; 25 (4): 928 – 930.
- Liel, Y, Ulmer, E, Shary J, Hollis BW, Bell NH; 1988. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcified Tissue International*; 43(4): 199 – 201.
- Liu Z, Kang X, Fang F; 2010. Solid phase extraction with electrospun nanofibers for determination of retinol and α – tocopherol in plasma. *Microchim Acta*; 16(1): 59 – 64.
- Machlin LJ; 1991. Vitamin E. In: Machlin LJ (Ed), *Handbook of Vitamins*, Marcel Dekker, Inc., New York, p 99–144.
- MacDowell LR; 1989. *Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition*. Academic Press, New York.
- Madan AK, Orth WS, Tichansky DS, Ternovits CA; 2006. Vitamin and Trace Mineral Levels after Laparoscopic Gastric Bypass. *Obesity Surgery*; 16: 603–606.
- Mendel LB, Vickery HB; 1929. The work of Thomas Burr Osborne. *Science* 69: 385 – 389.

- Molnár D, Decsi T, Koletzko B; 2004. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *International Journal of Obesity*; 28: 1197 - 1202.
- Neuhouser ML, Rock CL, Eldridge AL, Kristal AR, Petterson RE, Cooper DA, Neumark-Sztainer D, Cheskin LJ, Thornquist MD; 2001. Serum concentrations of retinol, α – tocopherol and the carotenoids are influenced by diet, race and obesity in a sample of healthy adolescents. *The Journal of Nutrition*; 131(8): 2184 – 2191.
- Olaiz G, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández M, Sepúlveda J; 2006. Encuesta Nacional de Salud. Instituto Nacional de Salud Pública.
- Olson, James A; 1996. Biochemistry of vitamin A and carotenoids. *Vitamin A Deficiency: Health, Survival and Vision*, 221 – 250.
- Olson, M.L; 2011. Low Vitamin D May Raise Diabetes Risk in Kids. *WebMD Health News*.
- Organización Mundial de la Salud, 2002.
- Pereira SE, Saboya CJ, Saunders C, Ramhalo A; 2011. Serum levels and liver store of Retinol and their association with night blindness in individuals with class III obesity. *Obesity Surgery*; 22(4): 602 - 608.
- Pinhas-Hamiel, O, Newfield RS, Koren I; 2003. Greater prevalence of iron deficiency in overweight and obese children and adolescents. *International Journal of Obesity*; 27(3): 416 - 418.
- Reinersdorff DV; Bush E, Libertato DJ; 1996. Plasma kinetics of vitamin A in humans after a single oral dose of (8, 9, 19 – ¹³C) retinylpalmitate. *Journal of lipid research*; 37(9): 1875 – 1885.
- Reitman A, Friedrich I, Ben-Amotz A, Levy Y; 2002. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and Homocysteine in Patients with Severe Obesity. *Israel Medical Association Journal*; 4(8): 590 – 593.
- Rice AL, West J, Keith P, Black RE. Vitamin A deficiency. *Comparative quantifications of health risks*, Chapter 4, 211 – 256.
- Rogers EL, Douglass W, Russell RM, Bushman L, Hubbard TB, Iber FL; 1980. Deficiency of fat soluble vitamins after jejunoileal bypass surgery for morbid obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*; 33 (6): 1208 – 1214.
- Simoni RD, Vaughan M; 2002. Nutritional biochemistry and the discovery of vitamins: The Work of Elmer Vermer McCollum. *Journal of Biology and Chemistry*; 277 (19).

- Slater GH, Ren CJ, Siegel N; 2004. Serum Fat – Soluble Vitamin Deficiency and Abnormal Calcium Metabolism After Malabsorptive Bariatric Surgery. *Journal of Gastrointestinal Surgery*; 8(1): 48 – 55.
- Strauss RS; 1999. Comparison of serum concentrations of α – tocopherol and β – carotene in a cross – sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *Journal of Pediatrics*; 134(2): 160 – 165.
- Tahan G, Aytac E, Aytakin H, Gunduz F, Dogusoy G, Aydin S, Tahan V, Uzun H; 2011. Vitamin E has a dual effect of anti – inflammatory and antioxidant activities in acetic acid – induced ulcerative colitis in rats. *Canadian Journal of Surgery*; 54(5): 333 – 338.
- Takahashi N, Takasu S; 2011. A close relationship between type 1 diabetes and vitamin A deficiency and matrix metalloproteinase and hyaluronidase activities in skin tissues. *Experimental Dermatology*; 20(11): 899 – 904.
- Tanumihardjo SA; 2011. Vitamin A: biomarkers of nutrition for development. *American Journal of Clinical Nutrition*; 63: 32 – 35.
- Traber MG, Cohn W, Muller DP; 1993. Absorption, Transport and Delivery of Tissue. In: Lester P, Fuch J. (Eds), *Vitamin E in Health and Disease*, Marcel Decker, New York, USA, p 44.
- Turan B, Vassort G; 2011. Vitamin E in Oxidant Stress – Related Cardiovascular Pathologies: Focus on Experimental Studies. *Current Pharmaceutical Design*; 17(21): 2155 – 2169.
- Ullrey DE; 1981. Vitamin E for swine. *Journal of Animal Science*. 53: 1039–1056.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20. 2012
- Vajro P, Mandato C, Franzese A, Ciccimarra E, Lucariello S, Savoia M, Capuano G, Migliaro F; 2004. Vitamin E treatment in pediatric obesity-related liver disease: a randomized study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*; 38(1): 48 – 55.
- Valk EE, Hornstra G; 2000. Relationship between Vitamin E requirement and polyunsaturated fatty acid intake in man: a review. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 70 (2); 31 – 42.
- Viroonudomphol D, Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Changbumrung S, Tungtrongchitr A, Phonrat B, Vudhivai N, Schelp FP; 2003. The relationship between anthropometric measurements, serum vitamin A and E concentrations and lipid profiles in overweight and obese subjects. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*; 12(1): 73 – 79.

- Watts. DL; 1994. The Nutritional Relationships of Selenium. *Journal of Orthomolecular Medicine*; 9 (2); 111 – 117.
- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF; 2000. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 72(3): 690 – 693.
- Xanthakos SA; 2009. Nutritional Deficiencies in Obesity and After Bariatric Surgery. *Pediatric Clinics of North America*; 56(5): 1105 – 1121.
- Zolfaghari R, Ross AC; 1994. Effect of vitamin A deficiency and retinoic acid repletion on intestinal and hepatic apolipoprotein A-I mRNA levels on adult rats. *The Journal of Lipid Research*; 35 (11): 1985 – 1992.