



**Efectos del consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto (*Bixa orellana* L.)  
sobre biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta  
colombiana (EGGANT). ensayo clínico aleatorizado**

**Yeisson Anibal Galvis Pérez**

Tesis doctoral presentada para optar al título de Doctor en Epidemiología

Directora

**María Jacqueline Barona Acevedo PhD.**

Asesores

**María Luz Fernández PhD.**

**Juan Carlos Aristizábal PhD.**

**Alejandro Estrada Restrepo M.Sc.**

Universidad de Antioquia

Facultad Nacional de Salud Pública Héctor Abad Gómez

Doctorado en Epidemiología

Medellín, Antioquia, Colombia

2023

Cita	Galvis Pérez (1)
<b>Referencia</b> <b>Estilo Vancouver/ICMJE (2018)</b>	(1) Galvis Pérez YA. Efectos del consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto ( <i>Bixa orellana L.</i> ) sobre biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana (EGGANT). Ensayo clínico aleatorizado [Tesis doctoral]. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia; 2023.



Doctorado en Epidemiología, Cohorte VIII.

Grupo de Investigación Toxinología, Alternativas Terapéuticas y Alimentarias.

Centro de Investigación y Extensión Escuela de Microbiología.

Biblioteca Salud Pública

Patrocinadores del estudio:

- MINCIENCIAS. Convocatoria número 807. Proyectos de Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud, 2018 Contrato 754 de 2018.
- Universidad de Antioquia. Vicerrectoría de investigación.



**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## **Dedicatoria**

Esta tesis, como forma, como hecho científico y como contribución al soporte investigativo, tiene una persona que siempre, apoyó, aportó, y sobre todo soportó. Lina a ti y a nuestros michis (Galileo, Frida y Canguilhem) están dedicadas cada una de estas palabras.

A mis tías por el apoyo incondicional y por siempre estar ahí para mí.

## Agradecimientos

- A mi tutora Jacqueline Barona Acevedo por la dedicación al proyecto, por ser guía y apoyo en cada punto de mi formación doctoral.
- Al profesor Juan Carlos Aristizábal por la contribución a la obtención de resultados, asesoría y apoyo académico.
- A los profesores, María Luz Fernández y Alejandro Estrada por la contribución académica y formativa.
- A Keilly Pineda y Juliana Zapata por la contribución y dedicación para la obtención de resultados de esta tesis.
- Al grupo de investigación Toxinología, Alternativas Terapéuticas y Alimentarias (antes Ofidismo y escorpionismo), por el espacio y el aporte científico como grupo de trabajo.
- Al Ministerio de Ciencia MINCIENCIAS (Antes Colciencias), Universidad de Antioquia y Universidad Pontificia Bolivariana. Por los apoyos económicos necesarios para el desarrollo de la tesis.

---

## Tabla de contenido

Resumen .....	10
Abstract .....	11
Introducción .....	12
Planteamiento del problema .....	14
Justificación .....	17
Objetivos.....	19
Hipótesis.....	21
Marco teórico.....	22
Metodología.....	38
Resultados.....	44
Capítulo 1: Efectos del consumo de huevo y huevo enriquecido con Annatto ( <i>Bixa orellana L.</i> ) en marcadores de riesgo cardiovascular clásicos (perfil lipídico y glucosa) y avanzados (tamaño y número de lipoproteínas) en población adulta colombiana ..	44
Discusión: capítulo 1.....	48
Capítulo 2: Efecto del consumo de huevo y huevo enriquecido con annatto, comparado con claras de huevo, en la saciedad en adultos sanos. Ensayo clínico aleatorizado. EGGANT study. ....	53
Discusión: capítulo 2.....	56
Conclusiones.....	58
Conclusión capítulo 1.....	58
Conclusión capítulo 2.....	58
Conclusiones generales.....	59
Limitaciones y Recomendaciones .....	61

Efectos del consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto (*Bixa orellana L.*) sobre biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana (EGGANT). Ensayo clínico aleatorizado. 6

---

Referencias ..... 63

## Lista de tablas

<b>Tabla 1</b>	Descripción de la población según los grupos de tratamiento .....	40
<b>Tabla 2</b>	Análisis de marcadores tradicionales de riesgo cardiovascular en la población..	41
<b>Tabla 3</b>	Análisis de índices de riesgo cardiovascular y apoproteínas en la población según los grupos de tratamiento.....	41
<b>Tabla 4</b>	Efectos sobre las concentraciones de las subclases de lipoproteínas y por tamaño en la población estudiada según tratamiento.....	42
<b>Tabla 5</b>	Análisis de dieta en la población según los grupos de tratamiento.....	49
<b>Tabla 6</b>	Medidas antropométricas y actividad física.....	50
<b>Tabla 7</b>	Saciedad objetiva y subjetiva por grupo de intervención.....	51

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> Protocolo de intervención del estudio .....	35
<b>Figura 2</b> Flujograma del estudio .....	¡Error! Marcador no definido.39
<b>Figura 3</b> Tamaño medio de partículas de lipoproteínas al inicio del estudio y después de 8 semanas de consumo de claras de huevo, huevo, o huevo + Annatto. ....	43

---

## Siglas, acrónimos y abreviaturas

ACC: Colegio Americano de Cardiología (del inglés, American College of Cardiology)

ADA: Asociación Americana de Diabetes (del inglés, American Diabetes Association)

AHA: Asociación Americana del Corazón (del inglés, American Heart Association)

APO: Apoproteínas

ECV: Enfermedades cardiovasculares

ENSIN: Encuesta Nacional de la Situación Nutricional

ERN: Especies Reactivas de Nitrógeno

ERO: Especies reactivas de oxígeno

HDL: Lipoproteínas de alta densidad (del inglés, high-density lipoproteins)

LCAT: Lecitin Colesterol Acil Transferasa

LDL: Lipoproteínas de baja densidad (del inglés, low-density lipoproteins)

METS: Equivalente metabólico de una tarea (del inglés, Metabolic equivalent of task)

ODS: Objetivos de desarrollo sostenible

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONU: Organización de Naciones Unidas

PON1: Paraoxonasa 1

RL: Radicales libres

TRLP: lipoproteínas ricas en triglicéridos (del inglés, triglyceride-rich lipoproteins)

cHDLP: Concentración de partículas HDL

cLDLP: Concentración de partículas LDL

CIOMS: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas

## Resumen

**Introducción.** Las enfermedades cardiovasculares (ECV) se pueden prevenir actuando sobre factores de riesgo como las dietas poco saludables. Aunque el consumo de huevo ha sido motivo de debate por su contenido de colesterol, el huevo es también una fuente importante de proteína, considerada la más completa, y de carotenoides. Dada su naturaleza lipídica, el huevo puede mejorar la biodisponibilidad de otros carotenoides dietarios, como los que se encuentran en Annatto (*Bixa orellana L.*), al cual se le ha atribuido propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes. **Objetivo.** Evaluar la asociación entre el consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto y algunos biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana. **Metodología.** Ensayo clínico aleatorizado paralelo, en ciento cinco (n=105) adultos sanos distribuidos en 3 grupos para consumir diariamente durante 8 semanas: a) dos huevos enteros, o b) dos huevos enteros con Annatto o c) dos claras de huevo. Se midieron antes y después de la intervención marcadores de riesgo para ECV como: perfil lipídico, glucosa, apolipoproteínas, tamaño y número de lipoproteínas. Además de marcadores de saciedad como: grelina y percepción subjetiva. **Resultados.** No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), en marcadores de riesgo cardiovascular, después de la intervención. Al comparar entre los tratamientos no se evidenciaron cambios significativos ( $p > 0,05$ ), antes y después de la intervención para grelina, y percepción subjetiva de saciedad. **Conclusión.** Incluir el huevo en una dieta saludable y balanceada no aumentó los factores de riesgo de ECV en la población estudiada. La adición de Annatto no modificó ninguno de los biomarcadores lipídicos medidos.

**Palabras clave:** Huevo, Annatto, claras de huevo, lipoproteínas, grelina.

---

## Abstract

**Introduction.** Cardiovascular diseases (CVD) can be prevented by acting on risk factors such as unhealthy diets. Although egg consumption has been a source of debate due to its cholesterol content, eggs are also an important source of protein, considered the most complete, and carotenoids. Given its lipid nature, eggs can improve the bioavailability of other dietary carotenoids, such as those found in Annatto (*Bixa orellana* L.), which has been attributed anti-inflammatory and antioxidant properties. **Objective.** To evaluate the association between egg consumption and its enrichment with Annatto and some biomarkers of cardiovascular risk and satiety in Colombian adult population. **Methodology.** Parallel randomized clinical trial, in one hundred and five (n=105) healthy adults distributed into 3 groups to consume daily for 8 weeks: a) two eggs, or b) two eggs with Annatto or c) two egg whites. Risk markers such as: lipid profile, glucose, apolipoproteins, size and number of lipoproteins were measured before and after the intervention. Satiety markers such as: ghrelin and subjective perception were also measured. **Results.** No significant differences ( $p>0.05$ ) were found in cardiovascular risk markers after the intervention. Comparing between treatments, there were no significant changes ( $p>0,05$ ), before and after the intervention in ghrelin and the perception of satiety. **Conclusion.** Including eggs in a healthy and balanced diet did not increase the risk factors for CVD in the population studied. The addition of Annatto did not modify any of the measured lipid biomarkers.

**Keywords:** Eggs, Annatto, egg whites, lipoproteins, ghrelin.

---

## Introducción

La promoción de la salud y la prevención de la enfermedad es todo aquello que permita la identificación, tratamiento y por supuesto la reducción de factores ambientales, biológicos y comportamentales que posibilitan que la enfermedad aparezca, se mantenga en el tiempo o genere secuelas (1,2). En esa línea, la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares (ECV) se enfoca en la reducción de los factores más aportantes como el consumo de tabaco, inactividad física, el consumo excesivo de alcohol y de dietas poco saludables (3).

El tema de la buena nutrición se presenta dentro de las conferencias de salud pública y los objetivos de desarrollo sostenible (ODS) como un objetivo en la agenda para 2030. Con el objetivo 2 “cero hambre”, la alimentación toma relevancia en el discurso en las políticas de salud de muchos países incluido Colombia (4,5).

De este panorama uno de los puntos principales es la alimentación y no solo con el objetivo de reducir el hambre (objetivo 2) (6), pero también de propiciar una alimentación saludable para tener una buena salud (objetivo 3) (7). Es así como para el año 2016, la Asamblea de Naciones Unidas dictaminó que este decenio (hacia el año 2025) sería de acciones a favor de la nutrición, con el firme propósito de que para la agenda de 2030 la seguridad alimentaria y la nutrición sean un compromiso de todas las naciones (5).

Hace algunos años era común observar que los problemas de salud asociados a la sobrealimentación, como es el caso de la obesidad, era un asunto de países desarrollados con altos ingresos, y que aquellos asociados a la subalimentación, como la desnutrición, era un problema de países con bajos ingresos y en vía desarrollo. En la actualidad, estos patrones cambiaron y en los países pobres ya muestran tasas de obesidad que aumentan con implicaciones preponderantes en la distribución de la riqueza y las desigualdades en salud (8,9); lo que se conoció como transición alimentaria (8) y posteriormente como doble carga, definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la coexistencia de desnutrición y sobrepeso en las personas (10). En el contexto colombiano el panorama muestra que la doble carga se acentúa y se mantiene

---

en el tiempo. Las últimas Encuestas Nacionales de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN) muestran un incremento del 2,1% en las cifras de sobrepeso en niños y un incremento de 0,7% en la prevalencia del déficit en nutrientes importantes para el desarrollo en la primera infancia. Asimismo, en población adulta se reportó un incremento del 5,2% en el exceso de peso entre 2005 a 2015, alcanzando valores del 56,4% (11). En regiones específicas como el departamento de Antioquia, se reporta una prevalencia de obesidad en adultos del 22% (12).

El problema de la sobrealimentación y sus comorbilidades asociadas es que incrementan el riesgo de sufrir ECV, las cuales constituyen la primera causa de muerte en el mundo y en Colombia (13,14). Para Colombia en 2017 las afecciones isquémicas del corazón produjeron el 49,30% de las muertes, las enfermedades cerebrovasculares provocaron el 23,47% y las enfermedades hipertensivas fueron la tercera causa de muerte con 10,47% de las muertes (14).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de tres cuartas partes de las muertes por ECV se producen en países de ingresos bajos y medios, cuyos habitantes tienen un menor acceso a servicios de salud eficientes y equitativos que respondan a sus necesidades (13). Como consecuencia de estas enfermedades, muchos habitantes de estos países mueren más jóvenes, en la edad más productiva. Por ejemplo, en Colombia el mayor número de casos reportados de ECV comprende al rango de edad 14 a 55 años, mayoría de población que labora (15). Así, las ECV contribuyen a la pobreza de las familias y afectan la economía de estos países, debido a que con la muerte prematura de la población por ECV, puede reducirse el Producto Interno Bruto (PIB) hasta en 6,7% (16,17).

Las personas de bajos recursos en todos los continentes consumen más productos animales a medida que sus ingresos aumentan y se urbanizan. Para el 2020, se estimó un incremento del 11% en el consumo de carne de origen animal, este cambio estructural en la alimentación tiene implicaciones sociales y económicas, así como ambientales y de salud y es crucial la participación política para mitigar los daños ambientales y secuelas

---

en la salud de la población (18). En este sentido, es importante identificar alimentos con buen aporte nutricional, pero con menos impactos ambientales, como el huevo de gallina, y de alimentos funcionales autóctonos de nuestro territorio, como es el caso del Annatto, rico en antioxidantes naturales. De igual forma, estos alimentos pueden contribuir a una alimentación saludable, y posiblemente mitigar factores de riesgo para ECV, a la vez que su producción es sustentable y está acorde con las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (19).

### **Planteamiento del problema**

La mayoría de enfermedades cardiovasculares (ECV) ateroscleróticas se pueden prevenir actuando sobre factores de riesgo conductuales, como las dietas poco saludables y la inactividad física (20). Además, el riesgo de padecer estas enfermedades crece con el aumento de la obesidad (21). Según la encuesta de la situación nutricional en Colombia (ENSIN) 2015, el exceso de peso corporal (sobrepeso u obesidad) en adultos (18 a 64 años) aumentó 5,2% de 2010 a 2015 (11,22).

Colombia es un país de ingresos medios a bajos, cuya pobreza ha aumentado con la pandemia COVID-19 (23). Así, se reduce la capacidad económica de los colombianos para adquirir una dieta saludable, que incluya alimentos con proteínas de calidad, frutas y verduras abundantes y grasas saludables.

La proteína del huevo es considerada la más biodisponible y completa, entre las proteínas de calidad. Es el estándar de comparación para otras fuentes de proteína, con la ventaja de ser una de las fuentes de proteína animal más económica con contenido de todos los aminoácidos esenciales y un contenido calórico moderado. Además otros componentes del huevo como: luteína, zeaxantina, colina, vitamina D, selenio y vitamina A protegen contra enfermedades crónicas (24). A pesar de la calidad nutricional del huevo, su consumo ha sido motivo de debate durante décadas de investigación debido a su contenido de colesterol.

Durante casi 50 años, se pensó que el colesterol de la dieta y los huevos contribuían a aumentar el colesterol plasmático y el riesgo de ECV (25). En 1968, la Asociación Americana del Corazón (del inglés, American Heart Association-AHA) recomendó consumir menos de 300 mg/día de colesterol en la dieta y no más de tres huevos por semana. Estas restricciones afectaron no solo a la industria del huevo, sino también a las comunidades pobres, que etiquetaron el huevo como un alimento rico en colesterol y redujeron el consumo de este alimento nutritivo y de bajo costo (26).

Todavía existe controversia entre el consumo de huevo y su asociación con el riesgo cardiovascular. Resultados reportados de estudios transversales donde solo se evalúan marcadores clásicos como colesterol total, triglicéridos, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL, del inglés high-density lipoproteins—) y colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL, del inglés, low-density lipoproteins), se sigue asociando el consumo de huevo con aumento en riesgo de mortalidad (27).

Además, los análisis de estos estudios no tuvieron en cuenta otras variables confusoras, como el aporte colineal de la grasa saturada y el colesterol, ambos presentes en productos animales (28). Por el contrario, los estudios de intervención han demostrado que el consumo de huevos se asocia con un menor riesgo de mortalidad (29), con la formación de partículas de LDL más grandes y menos aterogénicas y un aumento del colesterol en HDL, mejorando así el perfil metabolismo de lípidos (30).

Una ventaja importante del huevo es su contenido de carotenoides (antioxidantes) como luteína y zeaxantina. Se ha demostrado el papel de este tipo de antioxidantes (carotenoides) en el metabolismo de los lípidos. Por ejemplo, en la reducción de la oxidación de la molécula de LDL y mejorando la función de la HDL, el perfil de lipoproteínas, disminuyendo la aterosclerosis (31–33) y disminuyendo la resistencia a la insulina (34).

---

Un estudio en población norteamericana demostró que después de consumir 3 huevos diarios por 12 semanas, se mejoró el contenido de carotenoides plasmáticos (35). En este sentido, hay un interés en enriquecer *in vivo* los huevos con carotenoides. Por ejemplo, en un estudio donde se realizó un enriquecimiento en el pienso de las gallinas que contenía achiote a 100, 500 o 2000 ppm (por peso) evaluó si la alimentación por 7 semanas evidenciaba aumentos en carotenoides en los huevos pero los resultados no fueron significativos (36). En un ensayo clínico controlado evaluó el consumo de un huevo enriquecido con vitamina E, luteína, selenio (Se) y ácido docosahexaenoico (DHA) por 8 semanas en personas sanas. Los autores encontraron que el grupo que consumió huevos enriquecidos aumento el contenido en plasma de luteína en un 53,3 % comparado con las personas que consumieron huevo de mesa (no enriquecido), el cual no de presento aumento en luteína luego del consumo (37). Así, la adición *ex vivo* de carotenoides al huevo, podría representar una alternativa para aumentar los niveles plasmáticos de estos antioxidantes en la población.

Aunque los carotenoides, pigmentos naturales de frutas y vegetales (38) se han evaluado por sus propiedades antioxidantes, se han reportado resultados controversiales o no concluyentes. En estudios de revisión sistemática y metaanálisis de ensayos clínicos controlados, en la gran mayoría de estudios se encontraron aumento de los carotenoides en plasma. En algunos estudios encontraron una relación directa entre el enriquecimiento con carotenoides y la reducción del estrés oxidativo previniendo la oxidación de la LDL, evidenciaron la disminución de la oxidación con marcadores como: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en plasma (TBARS), Malondialdehído plasmático (MDA) e hidroxil nonenal (HNE). Por el contrario, algunos otros estudios no evidenciaron cambios en el aumento de los carotenoides en plasma con respecto al placebo e incluso niveles elevados en plasma de TBARS mayores en el grupo de intervención comparado con el control (39,40) . Esto puede deberse a diferencias en la población estudiada, la dosis y el tiempo de suplementación y la matriz empleada. Dada la naturaleza lipofílica de los carotenoides, la matriz empleada en su suplementación afecta su absorción y por ende su biodisponibilidad en plasma (41). Otra ventaja del huevo es su matriz lipídica que podría ayudar a mejorar la biodisponibilidad de estos carotenoides dietarios. Se ha

---

reportado que la biodisponibilidad de los carotenoides del huevo es superior a la de los vegetales de hojas verdes debido principalmente a la solubilidad que le brindan los lípidos de la yema (42). En un ensayo clínico cruzado donde se evaluó el consumo de huevo comparado con un sustituto de huevo con espinaca (grupo control) los resultados mostraron una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de MDA cuando los sujetos consumieron huevo y no cuando consumieron sustituto con espinaca con diferencia del 37% entre los grupos y comparado con su línea de base, el grupo control aumentó un 29% y el grupo de huevo disminuyó 7,9% (43).

### **Justificación**

El mayor porcentaje de muertes por enfermedades cardiovasculares (ECV) se da en países con ingresos medios a bajos y esta tendencia está asociada con algunos estilos de vida (44). La estrategia más utilizada para prevenir estas muertes es reduciendo los índices de inactividad física y realizando cambios en la dieta de las personas (16,44), esto con el fin de modificar los patrones dietarios que llevan al aumento de la obesidad que potencia aún más el desarrollo y riesgo de morir por ECV (45,46).

Las modificaciones de la dieta enmarcadas en estilos de vida saludables son estrategias muy utilizadas e importantes, para la prevención de la ECV reduciendo niveles elevados de marcadores de riesgo cardiovascular (47). El huevo se ha planteado como un alimento de alta calidad nutricional y valioso para ser incorporado como parte de una dieta saludable (24).

El huevo es también una fuente importante de carotenoides (antioxidantes) como luteína y zeaxantina, y dada su naturaleza lipídica puede mejorar la biodisponibilidad de otros carotenoides dietarios comparado con otras matrices o fuentes naturales de carotenoides (como verduras crudas) (48). Estudios en personas consumiendo huevo mostraron beneficios a nivel cardio metabólico como: reducciones en los niveles de triglicéridos, LDL oxidada, diámetro de las partículas de VLDL, VDL grandes y LDL pequeñas, además del aumento del número de partículas HDL grandes y su función, adicionalmente el consumo de huevo aumentó la concentración de luteína y zeaxantina plasmáticas (46,47).

---

Adicional se han evidenciado cambios en las hormonas de saciedad. En dos estudios que evaluaron el consumo de huevo al desayuno comparado con un desayuno isoenergético pero sin huevo (grupo control), evidenciaron cambios significativos ( $p < 0,05$ ) en la sensación de saciedad subjetiva y en las hormonas de saciedad. El estudio de Liu y colaboradores demostraron un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en la concentración plasmática del péptido YY en las personas que consumieron el desayuno con huevo comparado con el grupo control, una diferencia de 20pg/mL entre los grupos a los 180 minutos (51). En el estudio de Ratliff y colaboradores, las personas que consumieron el desayuno con huevo tenían menos hambre y estaba más satisfechas a las 3 y a las 24 horas después de consumir el desayuno, comparadas con las que consumieron el desayuno sin huevo. Así mismo, demostró aumento de grelina en sujetos del grupo control comparado con el grupo de desayuno con huevo, que fue significativa a los 30 minutos después del desayuno (52).

Una fuente de carotenoides que ha ganado importancia en los últimos años es el Annatto (*Bixa orellana L.*) que además de usarse como colorante natural, se le ha atribuido propiedades cicatrizantes, anti-inflamatorias, antioxidantes y antimicrobianas (53–55). Estudios de suplementación con Annatto realizados en conejos evidenciaron reducciones en el contenido de triglicéridos y colesterol total (56). En ratas, la suplementación con Annatto aumentó el nivel de colesterol HDL, redujo el nivel de colesterol LDL y no presentaron ningún riesgo hepático (57). En perros se evidenció el aumento de insulina y reducción del contenido de glucosa en plasma (58). En un estudio en humanos evaluando el consumo de una hamburguesa enriquecida con Annatto se observaron reducciones en citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ ) y la oxidación de lípidos en sujetos sanos (59). Sin embargo, algunos artículos de revisión sugieren que se necesitan más estudios *in vivo* para evaluar sus propiedades nutricionales y curativas (60), especialmente en Colombia y América Latina, donde la producción de Annatto es alta (61), brindando una alternativa u oportunidad de inversión.

Dado que la evaluación controlada de los efectos del consumo de huevo y su enriquecimiento con carotenoides (Annatto) sobre la salud cardiovascular en la población

---

colombiana es muy limitada, con este ensayo clínico pretendemos hacer un aporte a la salud pública con evidencia consistente para la modificación de guías alimentarias en el país, aportar a la discusión sobre los efectos del huevo en el riesgo cardiovascular, que permita aportar a la prevención de la ECV en Colombia y la promoción de alimentos con alto valor nutricional desde la mayor evidencia posible. Desde el punto de vista clínico con este estudio también se está promoviendo la investigación de otros marcadores de riesgo cardiovascular, como son los marcadores de función de la partícula HDL, dado que estudios en los últimos años apuntan a que no solo es importante el transporte reverso de colesterol realizado por esta lipoproteína, sino que también tiene otras funciones protectoras del riesgo cardiovascular.

Adicionalmente, esta investigación se desarrolló con el propósito de que los resultados fomenten actividades y programas de las instituciones públicas y privadas para mejorar las condiciones del país en producción de huevo, el desarrollo de la industria avícola y ovoproductos como fuentes de empleo rural y urbano. Además, el uso de Annatto, cultivado en el país, tendría otros usos potenciales que mejorarían la calidad de vida de quienes lo cultivan y venden, como también de quienes lo emplean en su dieta para mejorar factores de riesgo cardiovascular.

Teniendo en cuenta las necesidades de evidenciar la relación existente entre el consumo de huevo enriquecido con antioxidantes y el riesgo cardiovascular, nos preguntamos ¿Cuáles son los efectos del consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto sobre biomarcadores de riesgo cardiovascular en una población adulta colombiana?

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

---

Evaluar la asociación entre el consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto (*Bixa orellana L.*) y algunos biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana.

### **Objetivos específicos**

- Determinar los efectos del consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo (claras de huevo), en el perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL, colesterol HDL) y glucosa en ayunas en población adulta colombiana.
- Establecer los efectos del consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo, en el tamaño y número de lipoproteínas en población adulta colombiana.
- Evaluar los efectos del consumo de huevo y huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo, en medida objetiva (marcador bioquímico) y subjetiva (escala de valoración) de saciedad en esta población.

---

## Hipótesis

### Hipótesis de trabajo

El consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), rico en antioxidantes mejora los biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana.

### Hipótesis específicas

- El consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo, mejora el perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL, colesterol HDL) ni aumenta la glucosa en ayunas en población adulta colombiana.
- El consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo, reduce el número de lipoproteínas LDL pequeñas y aumenta el número de lipoproteínas HDL grandes en población adulta colombiana.
- El consumo de huevo y huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*), comparado con claras de huevo, mejora la percepción subjetiva de saciedad y reduce los niveles de grelina (marcador objetivo) en población adulta colombiana

---

## Marco teórico

### **La alimentación en el contexto de la promoción de la salud**

Desde la carta de Ottawa en 1986 (primera conferencia mundial de la promoción de la salud), las naciones han acordado unos principios encaminados al desarrollo de la salud y se han logrado cambios positivos mejorando los estilos de vida de la población, incluyendo una alimentación saludable como prerrequisito para la salud (62).

Dos años después en la conferencia de Adelaida se establecieron políticas favorables para la salud, en las que se encontraban la seguridad alimentaria y se empezaba a hablar de la alimentación saludable como un requisito fundamental para una buena salud (63). Para poner en contexto la promoción de la salud enfocada en la alimentación, en la tercera conferencia mundial de la promoción de la salud realizada en Suecia (1991) se comenzó a hablar de las desigualdades sociales y las brechas que modulaban la disponibilidad y acceso a los alimentos adecuados (64).

Lo anterior se reafirmó con las conferencias siguientes de Yakarta (1997) y México (2000), entendiendo ya la alimentación como un determinante de la salud (65) y a partir de 2003 la OMS retomó los conceptos e inició la construcción de un trabajo enfocado en políticas públicas dirigidas a reducir las inequidades en salud, que llevó a la consolidación de la comisión de determinantes sociales de la salud dos años después y ubicó a la alimentación como determinante estructural (66).

En las últimas conferencias Helsinki (2013), Shangai (2016), el enfoque se centró en verificar las diferencias entre las estrategias (“alimentación saludable” y “estilos de vida saludables”, incluyendo la promoción de la actividad física durante las diferentes etapas del curso de la vida) y su implementación Nairobi (2009), Helsinki, (2013), pero sin darle protagonismo a la nutrición. Sólo hasta la conferencia de Shangai (2016), las propuestas estuvieron ancladas en los ODS y la promoción de la salud como un objetivo en la agenda para 2030, donde la alimentación con el objetivo 2 “cero hambre” toma relevancia en el discurso en las políticas de salud (4,5,67).

### **La sobrealimentación y el déficit de nutrientes en la dieta “la doble carga”**

Lo que se conoció como doble carga, es definida por la OMS como la coexistencia de desnutrición y sobrepeso en las personas (68).

Para Colombia es evidente que la doble carga se acentúa y se mantiene en el tiempo. En las últimas encuestas ENSIN, el incremento del 2,1% en las cifras de sobrepeso en niños y de aumento en la prevalencia del déficit en nutrientes importantes para el desarrollo en la primera infancia, como el zinc que pasó del 27 % a un 43 % y la vitamina A cuyo déficit aumentó en un 18% para el 2016 (69), son clara prueba de que Colombia está en el horizonte de la malnutrición. Este panorama también se observa en otros países de América Latina (70) como Chile (71) y Ecuador (68), que aunque está atravesado por múltiples factores, como el sedentarismo y estilos de vida poco saludables, la situación de vulnerabilidad económica de las poblaciones posibilita en gran medida el recrudecimiento de la malnutrición (72).

En la ENSIN 2010, se reportó que el 10% de la población colombiana consume arroz o pasta 3 veces o más/día, 5% consume pan, arepa o galletas con esta misma frecuencia; 27% consume tubérculos 2 veces/día y el 57,4%, consume azúcar, panela o miel 3 veces o más/día (73). Contrariamente, el consumo diario de frutas y verduras disminuyó en un 8,5% y un 3% respectivamente, en 2015 comparado con 2010. Estos resultados son consecuentes con el incremento del sobrepeso y obesidad en el país (74).

Colombia es un país donde su mayoría de población está en nivel social medio (49,7%) y bajo (45,4%), donde se constituye una estructura de desigualdad. Para el 2021 una persona de nivel social medio recibía 22,5% y una de nivel social bajo 4,0% del ingreso de una persona de nivel social alto (75). Así, la capacidad económica de los colombianos para adquirir una dieta balanceada, que incluya proteína de calidad, abundantes frutas y verduras, y grasas saludables, es reducida. Especialmente, es limitado el consumo de proteína de origen animal, que ha demostrado mejorar la saciedad y un control mayor del apetito, la composición corporal y el mantenimiento del peso corporal (76).

## **Prevalencia de enfermedades cardiovasculares (EVC)**

Las ECV desencadenadas por el proceso aterosclerótico, constituyen la primera causa de muerte en el mundo (13) y en Colombia (14).

Se calcula que para el año 2030, morirán alrededor de 23,6 millones de personas en el mundo a causa de esta afección (16). Aproximadamente 17.7 millones de personas murieron por ECV en 2015, lo cual representa el 31% de todas las muertes globales.

De estas muertes, se estima que 7.4 millones fueron debidas a enfermedad cardíaca coronaria y 6.7 millones a accidentes cerebrovasculares (16). En Colombia, las enfermedades isquémicas del corazón produjeron el 49,30% (293.458) de las muertes por enfermedades del sistema circulatorio. Las enfermedades cerebrovasculares provocaron el 23,47% de las muertes (14). Todas estas enfermedades pueden tener un factor crucial y desencadenante en su desarrollo y es el aumento de peso; ya se ha demostrado que el sobrepeso y obesidad es uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo de ECV. En los últimos años se evidencian cifras alarmantes de sobrepeso y obesidad en el mundo, incluso con valores que se triplicaron entre el siglo XX y el siglo XXI, y que se han reportado incluso en países considerados de ingresos medios y bajos como Colombia (77,78).

Las cifras de exceso de peso en Colombia para población adulta alcanzan un 56,5%, con mayores valores en mujeres (59,6%) que en hombres (52,8%) (11) y varía según la región del país. Específicamente en Antioquia el sobrepeso en adultos es del 36,6% y la obesidad del 22%, prevalencias que incrementan con la edad. De manera importante, se observó una prevalencia de obesidad del 41,6% en mayores de 45 años. El mismo patrón de aumento en mayores de 45 años se observó para la obesidad abdominal con prevalencias de hasta el 75,5% (12).

La mayoría de ECV pueden prevenirse actuando sobre factores de riesgo comportamentales, como el consumo de tabaco, dietas poco saludables, sedentarismo o el consumo nocivo de alcohol. Los efectos de estos factores de riesgo comportamentales pueden manifestarse en las personas en forma de hipertensión arterial, hiperglucemia, hiperlipidemia y sobrepeso u obesidad. Según la OMS, más de tres cuartas partes de las muertes por ECV se producen en países de ingresos bajos y medios, cuyos habitantes tienen un menor acceso a servicios de asistencia sanitaria eficientes y equitativos que respondan a sus necesidades (16). Como consecuencia, muchos habitantes de estos países mueren más jóvenes, en la edad más productiva, a causa de estas enfermedades. Así, las ECV contribuyen a la pobreza de las familias y afectan la economía de estos países, debido a que, con la muerte prematura de la población, puede reducirse el PIB hasta en un 6,77% (16).

### **Enfermedades cardiovasculares (ECV) y factores dietarios para su prevención**

Las modificaciones de los factores de riesgo para ECV pueden entenderse como prevención primordial, primaria y secundaria (79). La prevención secundaria significa evitar los eventos cardiovasculares recurrentes, la prevención primaria es el tratamiento de los factores de riesgo, y la prevención primordial es la intervención para prevenir la ocurrencia de los factores de riesgo *per se* (80).

Más del 50% de las muertes globales pueden atribuirse a consumos dietarios insalubres (79). Así, este factor del estilo de vida se debe intervenir en la prevención primordial para ECV. Se ha demostrado que el consumo de proteína contribuye al tratamiento de la obesidad y síndrome metabólico, al aumentar la saciedad y disminuir la ingesta energética *ad libitum*, facilitando la pérdida de peso y mejorando el perfil metabólico (81). Las proteínas comparadas con las grasas y los carbohidratos presentan un mayor efecto saciante que permiten la limitación del consumo energético, además se ha evidenciado que en individuos con una dieta rica en proteínas de origen animal se favorece la preservación de la masa grasa y el anabolismo de proteínas. De igual manera se ha asociado que las dietas altas en proteína aumentan la termogénesis, lo que también potencia la saciedad y contribuye a la eficiencia energética de las proteínas, disminuye

---

el porcentaje de grasa y permite la pérdida de peso, lo que potencia la reducción del riesgo cardiovascular (82–84) .

Así, la proteína de alta calidad del huevo, entre otros nutrientes, representa una excelente opción para que sea incluida en el patrón de alimentación de las personas y contribuir con la prevención primordial de factores de riesgo para ECV en nuestra población.

### **Marcadores de riesgo cardiovascular: factores modificables**

- Dieta y riesgo cardiovascular.

La alimentación es considerada un determinante de la salud humana como parte de un estilo de vida saludable. Los estudios demuestran que el consumo de frutas y verduras, con alto contenido de antioxidantes genera mecanismos protectores debido a sus nutrientes bioactivos y a sus propiedades funcionales, como una baja carga glucémica y densidad energética (85), al igual que el consumo de ácidos grasos omega 3 y 6 reducen la incidencia de eventos coronarios e hipertensión arterial (86) y la reducción de carbohidratos ha demostrado una mejora en la función endotelial, reducción de la inflamación crónica de bajo grado mediada por citoquinas proinflamatorias y proteína C reactiva y adipocinas (87).

En la actualidad los diferentes tipos de patrones alimentarios de cada país influyen en las prevalencias de riesgo cardiovascular en la población. De este modo, un estudio que incluyó población de 154 países encontró que dietas altas en sodio, bajas en granos integrales, frutas, nueces y semillas, al igual que en verduras y ácidos grasos omega-3 evidencian mayores cifras de mortalidad por riesgo cardiovascular (88). La nueva tendencia mundial está dirigida a reducir patrones dietarios basados en alimentos ultraprocesados por su asociación con enfermedad cardiovascular (89,90) y en potenciar el consumo de alimentos no procesados como el huevo, que contiene antioxidantes (carotenoides), vitaminas y minerales de manera natural. .

- Dislipidemia aterogénica

Se caracteriza por incremento de partículas LDL pequeñas y densas, colesterol HDL reducido y triglicéridos aumentados. La dislipidemia aterogénica está más altamente asociada con la incidencia de ECV que la sola presencia de colesterol LDL aumentado, indicando que es un mejor predictor de ECV (91). La prevalencia de dislipidemia aterogénica se encuentra entre 20% al 27,1% en países europeos (92). En Latinoamérica las cifras de prevalencia para este desorden son del 12,9% (93) y para Colombia la prevalencia es mucho más elevada 57,1% (94). Estas prevalencias evidencian que la dislipidemia aterogénica es problema de salud pública en el mundo y de manera particular para Colombia.

Según Panel de Tratamiento del Adulto (ATP III) los siguientes son considerados valores óptimos para TG, colesterol total, LDL y HDL

#### Clasificación de la ATP III

<b>Colesterol LDL (mg/dL)</b>	
<100	Óptimo
100 – 129	Cercano a óptimo
130 – 159	Límite superior
160 – 189	Alto
>190	Muy alto
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	
<200	Deseable
200 – 239	Límite superior
>240	Alto
<b>Colesterol HDL (mg/dL)</b>	
<40	Bajo
>60	Alto
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	
<150	Normal
150 – 199	Límite superior
200 – 499	Alto

---

>500	Muy alto
------	----------

---

Tomado de: ATP III Guidelines At-A-Glance Quick Desk Reference (95)

- Sobrepeso y Obesidad

Estas condiciones están asociadas con mayor riesgo de sufrir ECV (96). El almacenamiento excesivo de lípidos en el tejido adiposo, como en la obesidad, genera adipocitos disfuncionales que secretan citoquinas proinflamatorias y ácidos grasos libres que almacenados de forma ectópica (en otros órganos), generan resistencia a la insulina e inflamación crónica de bajo grado (97). El tejido adiposo se considera un órgano endocrino, donde se secretan diferentes sustancias que regular el metabolismo y que potencian la generación de inflamación a nivel del tejido, se ha encontrado en diversos estudios preclínicos y clínicos la asociación del aumento del tejido adiposo con la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , MCP-1, que posibilitan un ambiente de inflamación crónica, en el cual tanto los ácidos grasos libres presentes el proceso inflamatorio puede bloquear la vía de señalización de la insulina y potenciar su resistencia, contribuyendo al riesgo cardiovascular con el desarrollo de diabetes y otros trastornos cardio metabólicos (98,99).

### **Marcadores de riesgo cardiovascular: más allá de lo tradicional**

El riesgo cardiovascular está relacionado más directamente con el número y tamaño de partículas aterogénicas circulantes que con la concentración de colesterol en esas partículas (100).

Individuos con valores del perfil lipídico tradicional en niveles “normales” pueden tener un perfil de lipoproteínas aterogénico (101), por lo cual es necesario explorar estos marcadores (lipoproteínas) más sensibles para valorar el riesgo.

- Lipoproteínas y riesgo cardiovascular

Las lipoproteínas son un grupo heterogéneo de partículas que difieren en tamaño, densidad, y composición de lípidos y apolipoproteínas. Se ha descrito un fenotipo de

---

lipoproteínas aterogénico: predominio de partículas LDL pequeñas y densas, partículas VLDL grandes con contenido de triglicéridos elevado y reducciones en el colesterol de las HDL (102). Modificaciones en el estilo de vida (ej. dieta) producen cambios significativos en el perfil de lipoproteínas modificando el riesgo de ECV (103). La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (102) es el método de referencia para la medición lipoproteínas y provee el número y tamaño de las diferentes fracciones de lipoproteínas.

### **Aspectos nutricionales**

- Importancia del consumo de proteína

La evidencia actual indica que las dietas con ingesta de proteína de alta calidad, es ideal para lograr resultados óptimos de salud en adultos como el aumento de la masa magra, la reducción de ingesta calórica y el incremento de la saciedad (104). Se ha observado que pueden servir como una estrategia exitosa para ayudar a prevenir la obesidad y el síndrome metabólico, dado que aumentan la saciedad y llevan a reducciones en el peso y la masa grasa comparado con dietas estándar de proteínas, adicional como se mencionó anteriormente potencian el anabolismo de proteínas, la termogénesis, permitiendo la eficiencia energética que promueve la reducción del peso asociado a la masa grasa, muy importante para reducir el riesgo cardiovascular (81,104).

A pesar de la creencia popular que dietas altas en proteína pueden ser perjudiciales para la salud, no se ha observado relación entre dietas altas en proteína y enfermedad renal o consecuencias óseas adversas (104), los estudios sugieren que el daño a nivel renal se evidencia cuando se suministran dietas por encima del valor de proteína recomendado (0,8 g /kg de peso/día) para la población, un estudio demostró que un consumo 47 a 112 g de proteína aproximadamente generó un aumento del calcio urinario y una disminución de la retención de calcio, lo que llevo a la elevación de la tasa de filtración glomerular y a una menor reabsorción tubular renal, así mismo otro estudio evidencio que con ingesta de entre 48 g de proteína al día y 142 g el calcio urinario se duplicaba (105). Entre las fuentes proteicas de calidad, la proteína del huevo es considerada la más biodisponible y completa de la naturaleza (106).

- Perfil nutricional del huevo

Un huevo de 100 gramos contiene 13 vitaminas y tantos minerales, más proteína de alta calidad, en comparación con otras fuentes de proteína de origen animal como la carne y el pescado y otras fuentes de proteína vegetal como la soya. El huevo presenta un bajo aporte de energía de 70 calorías (24).

Tabla nutricional del huevo.

Huevo crudo de 50 gramos

Energía (Kcal)	71,5
Proteínas (g)	6,2
Grasa Total (g)	4,9
Grasa Saturada (g)	1,6
Grasa Monoinsaturada (g)	1,7
Grasa Poliinsaturada (g)	1,3
	<
Ácidos Grasos Trans (g)	0,01
Colesterol (mg)	140,9
Hidratos de Carbono Disponibles (g)	0,7
Azucares Totales (g)	<0,1
Sodio (mg)	68,5

Tomado de (107)

### **Consumo de huevo y relación con enfermedad cardiovascular**

Varios estudios clínicos han demostrado una falta de asociación entre la ingesta de huevo y el riesgo de ECV por el contrario se han evidenciado cambios en el riesgo como: la reducción de triglicéridos, del diámetro en las partículas LDL grandes en la oxidación del LDL, y beneficios como: aumento de carotenoides plasmáticos (zeaxantina y luteína) del péptido YY (25,29,108).

Asimismo, un estudio prospectivo, de 11 años de seguimiento, publicado recientemente mostró que, comparando el consumo alto de huevos versus el consumo bajo el consumo de huevo se asoció con menor riesgo de mortalidad (hazard ratio de 0,80) por todas las causas estudiadas en 3.291 muertes (109).

Sin embargo, las guías alimentarias para Colombia publicadas en 2015 y basadas todavía en las guías dietarias americanas de 2010, recomiendan no consumir más de 1 huevo diario para población sana >2 años (110). En este sentido, profesionales del área de la salud encargados de realizar recomendaciones a la población general sobre el consumo de huevo, y siguiendo las guías colombianas, estarían restringiendo este alimento altamente nutritivo accesible a la mayoría de la población colombiana.

Recomendaciones recientes de la AHA, el Colegio Americano de Cardiología (ACC, por sus siglas en inglés American College of Cardiology) y la Asociación de Diabetes Americana (ADA, por sus siglas en inglés American Diabetes Association) no limitan el consumo de huevo ni de colesterol, acorde con las guías dietarias publicadas en 2015 por el Gobierno Americano (111). De hecho, varias organizaciones de salud global, incluyendo Health Canada, the Canadian Heart and Stroke Foundation, la Australian Heart Foundation y el Irish Heart Foundation, promueven el consumo de huevo como parte de una dieta saludable (111).

### **Consumo de huevo y marcadores de riesgo cardiovascular**

Un estudio en población americana con síndrome metabólico mostró que aquellos consumiendo 3 huevos/día por 12 semanas, comparado con el grupo de sustituto de huevo, como parte de una dieta baja en carbohidratos, mejoraron la dislipidemia aterogénica, al mostrar mayores incrementos en el colesterol HDL, y partículas HDL grandes en un 1,2%, de manera significativa ( $p < 0,05$ ). Además, la actividad de la enzima de lecitina colesterol acil transferasa (LCAT) en un 11% aproximadamente, importante en el metabolismo del colesterol y el diámetro tanto de las HDL como de las LDL, estas últimas incrementaron en el tiempo en un 11,9% entre los que no consumieron huevos

versus los que consumen 3 huevos (50). Estos cambios pueden sugerir una mejora en el transporte reverso de colesterol (TRC), asociado con la eliminación de mayores cantidades de colesterol de los tejidos. Se ha planteado la hipótesis que los fosfolípidos del huevo están implicados en el TRC al afectar el tamaño y la función de las HDL, así como la expresión de los receptores hepáticos para la HDL (49,112). Así mismo, el aumento de la actividad de la LCAT, podría ser indicativo de una mejora en la capacidad para la maduración de HDL y puede ayudar a explicar el cambio hacia partículas de HDL más grandes reportados con el consumo de huevo (49).

Otro estudio realizado en personas con prediabetes y diabetes tipo 2, reportó que un desayuno alto en proteína que incluía huevo, (35% energía; 26.1 g de proteína del huevo), evidenció la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de peso en un 65% mayor comparada con el grupo control y una reducción un 16% mayor en la grasa corporal la cual no fue significativa ( $p > 0,05$ ) que promueve un mayor control glicémico, comparado con un desayuno alto en carbohidratos (113).

En una investigación en Estados Unidos con personas saludables (18-30 años) se observó que, comparado con el consumo de 0 huevos/día, consumir 1, 2 y 3 huevos/día durante 4 semanas, respectivamente, aumentó la concentración de lipoproteínas LDL grandes, consideradas menos aterogénicas. Asimismo, se aumentaron los niveles de Apo AI y la actividad de la LCAT ( $p < 0,05$ ). La ingesta de 2-3 huevos/día incrementó los niveles plasmáticos de los antioxidantes luteína y zeaxantina ( $p < 0,05$ ), y la ingesta de 3 huevos/día resultó en una mayor actividad de la paraoxonasa tipo 1 (PON1) de la HDL comparado con el consumo de 1-2 huevos/día ( $p < 0,05$ ), importante porque esta enzima es una éster hidrolasa que destruye los hidroperóxidos oxidados de la LDL disminuyendo el riesgo cardiovascular (114). Estos resultados se pueden explicar porque ya se ha demostrado que los carotenoides aumentan la actividad de LCAT, son transportados por las moléculas de HDL y en conjunto mejoran la función antioxidante de ésta partícula, modulando la actividad de PON1 (115).

## **Consumo de huevo y saciedad**

La proteína del huevo, especialmente la proteína de la yema tiene significativamente más efecto de saciedad que otras fuentes de proteína. Estudios han mostrado que individuos reducen su ingesta de calorías después de un desayuno con huevo comparado con un desayuno rico en carbohidratos, disminuyen de peso y presentan mayores cambios en las hormonas de saciedad controlando mejor su apetito (51,52). El estudio de Liu y colaboradores, demostraron un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en la concentración plasmática del péptido YY en las personas que consumieron el desayuno con huevo comparado con el grupo control, una diferencia de 20pg/mL entre los grupos a los 180 minutos, donde según la medición de evaluación subjetiva evidenciaron una reducción de la sensación de hambre en los participantes que consumieron huevo de un 10% aproximadamente (51). En el estudio de Ratliff y colaboradores, las personas que consumieron el desayuno con huevo tenían menos hambre y estaba más satisfechas a las 3 y a las 24 horas después de consumir el desayuno comparadas con las que consumieron el desayuno sin huevo. Así mismo, demostró aumento de grelina en sujetos del grupo control comparado con el grupo de desayuno con huevo, que fue significativa a los 30 minutos después del desayuno (52)

### **Regulación del apetito y consumo de proteína**

Existe un interés por entender los mecanismos por los cuales se regula el apetito y como la ingesta de ciertos alimentos modula las necesidades energéticas y la sensación de saciedad. Esto es importante porque dietas altas en proteínas promueven mayor saciedad (81) y con ello reducción en la ingesta energética.

Una gran cantidad de hormonas regulan el hambre y la saciedad. Entre ellas, la grelina sobresale por su capacidad para generar efectos a nivel del sistema nervioso central que permitan el consumo de alimentos, por lo que es llamada la hormona del hambre, además en los últimos años se ha asociado con otras funciones más allá del simple efecto orexigénico, como moduladora de la glucogenólisis y la gluconeogénesis, además se ha encontrado que regula el gasto energético mediante la reducción de la termogénesis e incluso se ha asociado a la reducción del infarto (116,117).

---

- Importancia del consumo de antioxidantes

Como producto de los procesos metabólicos, el cuerpo produce radicales libres (RL). Los RL son un grupo de átomos que tienden a captar un electrón de otro átomo, para alcanzar su estabilidad electroquímica, puesto que tienen un electrón desapareado en su estructura. El problema es que al ser captado el electrón y alcanzar estabilidad (reducción), el otro átomo al que le fue quitado un electrón se convierte en RL (oxidación), generando una reacción continua de producción de RL (118). El estrés oxidativo se presenta cuando hay un desbalance entre los RL o especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad que tiene el organismo para contrarrestar la oxidación (119).

Las ERO (anión superóxido, el anión peróxido, el radical perhidroxilo, el radical hidroxilo) y Especies Reactivas de Nitrógeno (ERN; como óxido nítrico, radical peroxinitrito), entre otros, pueden ser generados en nuestro organismo en diferentes organelos celulares (mitocondrias, lisosomas, peroxisomas, citoplasma y retículo endoplásmico) como consecuencia de los diferentes procesos metabólicos. En situaciones normales las enzimas - superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa - logran controlar los RL y evitar el daño en diversas biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos y lípidos del organismo (118,119).

Sin embargo, cuando los antioxidantes endógenos no son suficientes para neutralizar la gran cantidad de RL generados, se produce el estrés oxidativo. Por lo tanto, es necesaria la búsqueda de antioxidantes exógenos, objetivo de muchas investigaciones (42,120). Un ejemplo de antioxidantes exógenos son los carotenoides, presentes en alimentos como el huevo y el Annatto, los cuales tienen actividad demostrada contra radicales de oxígeno (61,121).

Estudios demuestran que los compuestos antioxidantes modulan el metabolismo de lípidos y carbohidratos, algunos de ellos evidencian reducción de la oxidación de las moléculas LDL neutralizando los radicales ERO y ERN, disminuyendo la biodisponibilidad de éstos para incorporarse a las LDL y reduciendo el ambiente oxidativo endotelial que genera la LDL oxidada y formación de placa (31,33). Como consecuencia de la

disminución de la oxidación de las LDL, éstas reducen su tiempo en circulación al poder ser reconocidas por su receptor disminuyendo la presencia de LDL pequeñas (122). Del mismo modo, se ha evidenciado que la presencia de antioxidantes en el cuerpo aumenta el número de HDL grandes y mejora su función antioxidante al modular la PON1 presente en esta partícula (32,33). El estudio de Castilla y colaboradores, evidenció que después de consumir 100 mL de consumo de uva versus placebo se encontraba un 25% mayor de antioxidante en plasma (quercetina) que fue significativamente ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente encontró una reducción del 13% del colesterol HDL y de 8,4% en la Apo A1 (33).

### **Perfil antioxidante del annatto (*Bixa Orellana* L.)**

La *Bixa orellana* conocida como annatto, es un arbusto originario de la región intertropical de América, del cual se han registrado más de 35 componentes, destacándose un gran número de carotenoides como norbixina y bixina, a las que se les ha atribuido propiedades antioxidantes, analgésicas y anticancerígenas (53–55)

Roehrs *et al.* encontraron que la ingesta de norbixina después del consumo de alimentos altos en calorías ayuda a disminuir la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo y se reportó que inhibe *in vitro* la oxidación de las LDL (59).

En las semillas de *Bixa orellana* encontramos:

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración (%peso)</b>
Carbohidratos	47,9
Fibra	13,85
Almidón	13,17
Proteínas	12,82
Humedad	11,92
Pentosanos	11,35
Azúcares	9,76
Extractos	5,22

---

Pectina	0,35
Ceniza	6,92
Carotenoides	1,48
Bixina	
Betabixina	
Metilbixina	
Norbixina	
Orelina	
Zeaxantina	
$\beta$ -caroteno	
Luteína	
Criptoxantina	

---

Elaboración propia. Información tomada de (123,124)

### **Importancia del Annatto en la salud**

El Annatto (*Bixa orellana*), conocido popularmente como achiote (achiote, urucú, rocú, onoto, bija, entre otros), es un arbusto pequeño que presenta actividad comercial importante en la industria alimenticia como colorante, pero tradicionalmente también ha sido utilizado como antipirético, laxante, cardiotónico, y en Colombia como afrodisiaco y para contrarrestar las lesiones por mordedura de serpiente y para los dolores de cabeza (124).

En la actualidad, el Annatto está posicionado como condimento natural autorizado por la OMS para uso en alimentos y alrededor del 80% de los colorantes consumidos en todo el mundo se derivan de esta planta (36,124). Se han documentado numerosas propiedades del Annatto derivadas de las raíces, hojas y semillas, por lo cual se considera patrimonio etnobotánico de América (60). Aparte del uso tradicional también se le ha atribuido propiedades contra enfermedades digestivas, urinarias y microbianas (36,60,124).

---

Pero tal vez, la propiedad más documentada del Annatto es su capacidad antioxidante, atribuida a la presencia de compuestos antioxidantes como los carotenoides, tales como la bixina que ha demostrado alta eficacia para neutralizar ERO. Por lo cual, se considera un compuesto con potencial aplicación clínica. Se han realizados estudios en células y animales con buenos resultados. Estudios de suplementación con Annatto realizados en conejos evidenciaron reducciones en el contenido de triglicéridos y colesterol total (56). En ratas, la suplementación con Annatto aumentó el nivel de colesterol HDL, redujo el nivel de colesterol LDL (57). En perros se evidenció el aumento de insulina y reducción del contenido de glucosa en plasma (58). En tres líneas celulares de cáncer en humanos el Annatto presento actividad antiproliferativa en las tres líneas y evidencio que es más efectivo si se aplica completo que si se aplica solamente la bixina aislada con los siguientes resultados para Concentración Inhibitoria 50 (IC<sub>50</sub>): para el extracto crudo fueron: 185,54 ± 14,46, 17,90 ± 3,00 y 2,06 ± 0,30 μM, mientras que las IC<sub>50</sub> de bixina aislada fueron: 259,38 ± 28,98, 43,87 ± 3,06 y 14,38 ± 0,55 μM (125). En un estudio en humanos evaluando el consumo de una hamburguesa enriquecida como Annatto se observaron reducciones en citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF-α) y la oxidación de lípidos en sujetos sanos (59). Lo anterior evidencia el efecto del Annatto en diferentes estudios y su que puede ser prometedor para mejorar la salud.

---

## Metodología

Este fue un ensayo clínico aleatorizado paralelo con tres grupos de intervención. Ciento cinco (n = 105) hombres y mujeres se distribuyeron en 3 grupos (n = 35 cada uno), emparejados por edad, sexo e índice de masa corporal (IMC). El tamaño muestral está basado en una diferencia de medias encontradas en el valor de cambio de la variable luteína y sus desviaciones estándar (Grupo control=177,8 ± 55 ng/mL; Grupo intervención= 248 ± 118 ng/mL) en estudio de similares características (121). Para su cálculo se utilizó el Programa de tamaño de muestra versión 1.1 de la Pontificia Universidad Javeriana (127), con una confianza del 95%, una relación de 1 a 1 y una potencia del 85%.

Los criterios de inclusión fueron edad de 18 a 59 años; IMC entre 18,5 y 29,9 kg/m<sup>2</sup>. Los criterios de exclusión incluyeron triglicéridos > 500 mg/dl, colesterol total > 240 mg/dl, glucosa plasmática ≥ 126 mg/dl o haber sido diagnosticado con diabetes, presión arterial ≥ 140/90 mmHg y padecer o haber padecido enfermedad hepática o renal, cáncer, trastornos endocrinos, enfermedades cardíacas, derrames cerebrales, o trastornos gastro-intestinales que limiten la absorción de nutrientes. Además, se consideró como criterio de exclusión el uso de medicamentos hipoglucemiantes, hipolipemiantes y suplementos nutricionales (vitaminas, minerales, ácidos grasos, etc.).

### Intervención

El reclutamiento de los participantes tuvo lugar entre octubre de 2019 y diciembre de 2020, mediante carteles de divulgación, correos masivos y redes sociales se difundió la información y se reclutaron participantes del Valle de Aburra y oriente Antioqueño. Después de firmar el documento de consentimiento informado, los voluntarios se sometieron a un período de lavado inicial de 2 semanas en el que se les pidió que no consumieran huevos. Se realizaron pruebas bioquímicas después de un ayuno nocturno de 10-12h, para asegurar que no se presentaran criterios de exclusión. Posteriormente, fueron aleatorizados por mínimos utilizando la calculadora estadística ETCETERA del programa WINPEPI (128) para consumir uno de los siguientes alimentos diariamente

---

durante ocho semanas: 2 huevos, 2 huevos con Annatto o 2 claras de huevo (grupo control). Los estudios de intervención con huevo en su mayoría utilizan claras de huevo como grupo control por sus calorías y características organolépticas lo que demuestra ser el mejor comparador en estudios de este tipo (50,108).

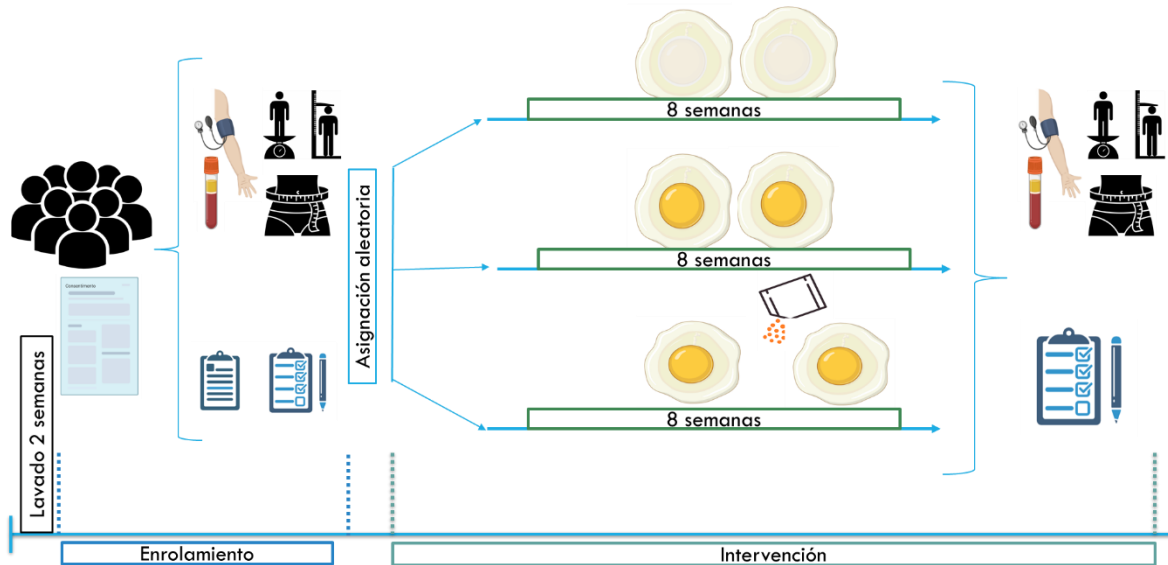
Para el proceso de aleatorización se realizó una asignación basada en buscar el equilibrio entre los grupos para las variables de IMC, edad y sexo, para lo cual se generaron categorías de sexo (hombre y mujer) y rangos de IMC (18,5-22,5, 22,6-26,7 y >26,7), y de edad (18-23, 24-29, 30-35, 36-41, 42-47, 48-53 y 54-59). Cada participante al momento de ser asignado se le ingresaban sus características según los rangos y categorías y la calculadora estadística ETCETERA asignaba a uno de los grupos de tratamiento (A, B o C). La asignación al tratamiento se mantenía oculta mediante codificación por parte del encargado y solo la final se desenmascara la asignación a los demás investigadores. Se anexa la salida del programa para la asignación de uno de los participantes.

Los huevos fueron provistos por Avinal® (Avícola Nacional SA, Medellín, Colombia) de la misma granja local. Las claras de huevo líquidas pasteurizadas también fueron proporcionadas por Avinal®, en un recipiente comercialmente disponible. La dosis de Annatto fue el equivalente a 1,2 mg de bixina/kg de peso corporal para 2 huevos al día, un valor que no supera el permitido para como adición dietética (129) y que ha demostrado tener efectos potenciales en la salud (59). El Annatto en polvo (Badia®, Badia Spices, Inc., Doral, FL, EE. UU.) se compró en un supermercado local.

Los lípidos y la glucosa en sangre, las medidas antropométricas y las evaluaciones dietéticas se obtuvieron al principio y al final del período de intervención. En la Figura 1 se presenta el protocolo del estudio. Se pidió a los voluntarios que mantuvieran su estilo de vida habitual, incluida su dieta y actividad física durante todo el estudio, excepto por el consumo adicional de huevos, claras de huevo o Annatto, respectivamente. Los participantes del grupo de huevo adicionado con Annatto fueron instruidos en la

preparación de este alimento que debían consumir conjuntamente. Asimismo, todos los participantes llenaron un formulario cada semana para evaluar su adherencia.

Figura 1. Protocolo de intervención del estudio.



### Flebotomía

Se recogieron muestras de sangre de la vena antecubital utilizando tubos sin anticoagulante después de un ayuno de 12 h durante la noche. Después de 30 min, los tubos se centrifugaron a  $450 \times g$  durante 15 min, y el suero se dividió en alícuotas y se congeló a  $-70 \text{ }^\circ\text{C}$  para su posterior análisis.

### Medidas Antropométricas

La estatura y el peso corporal se midieron con un estadiómetro (SECA 216, seca SAS, Hamburgo, Alemania) y una báscula (SECA 813, seca SAS, Hamburgo, Alemania), respectivamente. Siguiendo la técnica descrita por Lohman *et al* (130).

### Índice de masa corporal (IMC)

Se calculó a partir de los datos de estatura y peso corporal según la ecuación: peso (Kilogramos) / estatura (metros)<sup>2</sup>. Con estos valores se realizó una categorización según los puntos de corte de la OMS (131).

### Perímetro abdominal

El perímetro de cintura se midió con una cinta métrica (Marca Lufkin. Alemania) en el borde superior de la cresta iliaca, realizando una presión suave sobre la piel, sin comprimir los tejidos y al final de una espiración normal (130).

### Perfil lipídico, glucosa y enzimas hepáticas séricas

El colesterol total (CT), el colesterol HDL (C-HDL), el colesterol LDL (C-LDL), los triglicéridos (TG), la glucosa y las enzimas hepáticas (AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa) se midieron mediante métodos colorimétricos enzimáticos utilizando un analizador automático (Siemens®, Erlangen, Alemania) en un laboratorio clínico certificado.

### Lipoproteínas y Apolipoproteínas séricas

Se utilizó resonancia magnética nuclear para la medición de la concentración de apolipoproteína (Apo) B, Apo A1 y el número total, tamaño y concentración de partículas de cada lipoproteína (LDL, HDL y ricas en TG). El análisis fue realizado por Labcorp® (Laboratory Corporation of America Holdings, Burlington, NC, USA).

### Análisis de la dieta

La dieta se evaluó mediante un cuestionario semicuantitativo de frecuencia alimentaria (FFQ) al inicio y última semana de la intervención con el propósito de evaluar si había cambios significativos en la dieta diferentes a la intervención realizada, por lo que fue una variable de control en la población de estudio. La energía total (Kcal) y la ingesta de macronutrientes (g) se estimaron utilizando una base de datos de alimentos de Colombia (132). Este FFQ ha sido validado en una población similar (133) y ha sido utilizado en estudios previos (134,135).

### Actividad Física

Se realizó mediante encuesta de autoreporte para registrar el tiempo en minutos dedicado a actividades físicas, posteriormente se calcularon los Mets (the metabolic

---

equivalent of task)<sup>1</sup>. La encuesta de autoreporte se ha empleado en estudios previos (134,136). Esta variable fue una medida de control para verificar que los participantes mantuvieran sus niveles usuales de actividad física durante la intervención, y registrar si se presentaban cambios significativos que pudieran afectar los resultados del estudio.

### Medición de Grelina

Se empleó el kit Human Ghrelin ELISA Kit (Ghrelin-28) (ab263887), siguiendo las recomendaciones del fabricante (Abcam. Cambridge, UK.) La prueba cuantifica la grelina en suero mediante ensayo inmunoenzimático. Los resultados se calcularon mediante curva estándar de muestras conocidas (137).

### Escala visual analógica (EVA) para medición de saciedad

Cada cuestionario EVA estaba compuesto por ocho preguntas abiertas sobre hambre, satisfacción, plenitud, saciedad y preferencia de sabor por alimentos salados, dulces o grasos. La EVA es una línea de 10 cm, que va desde “nada en absoluto” hasta “sí mucho”. Los participantes marcaron a lo largo de la línea indicando sus percepciones, a los que luego se les asignó un valor cuantificable midiendo desde el comienzo de la línea hasta donde el participante había marcado (112). Cada participante completó la EVA en ayunas durante 5 días antes de la intervención y en la última semana de finalización. Con estos resultados se contruyó un promedio para la realización del análisis.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis por protocolo con los participantes que demostraron al menos un 80% de adherencia al estudio. Para describir la población de estudio se realizó un análisis univariado con porcentajes y la prueba chi-cuadrado de Pearson. Para frecuencias menores a 5 se aplicó la Prueba Exacta de Fisher. Además, se realizó un análisis de medias de grupo mediante ANOVA de medidas repetidas (evaluando tiempo, tratamiento y tiempo x tratamiento); se verificaron los supuestos y cuando no se cumplieron se

---

<sup>1</sup> Un Mets se define como: la cantidad de oxígeno consumido mientras está sentado en reposo y es igual a 3,5 ml de O<sub>2</sub> por kg de peso corporal x min. Véase: Tompuri, Tuomo T. "Metabolic equivalents of task are confounded by adiposity, which disturbs objective measurement of physical activity." *Frontiers in physiology* 6 (2015): 226.

realizaron transformaciones mediante el procedimiento de Box-Cox. Los análisis se realizaron en la interfaz del programa RStudio 4.0, 2021 (Posit PBC, Boston, BSA, USA). Se estimaron valores de  $p$ , estableciendo un nivel de significación estadística de  $p < 0,05$ . Los gráficos se construyeron en el programa GraphPad Prism 5.0, 2021 (Insight Partners., New York, NY, USA).

#### Aspectos éticos

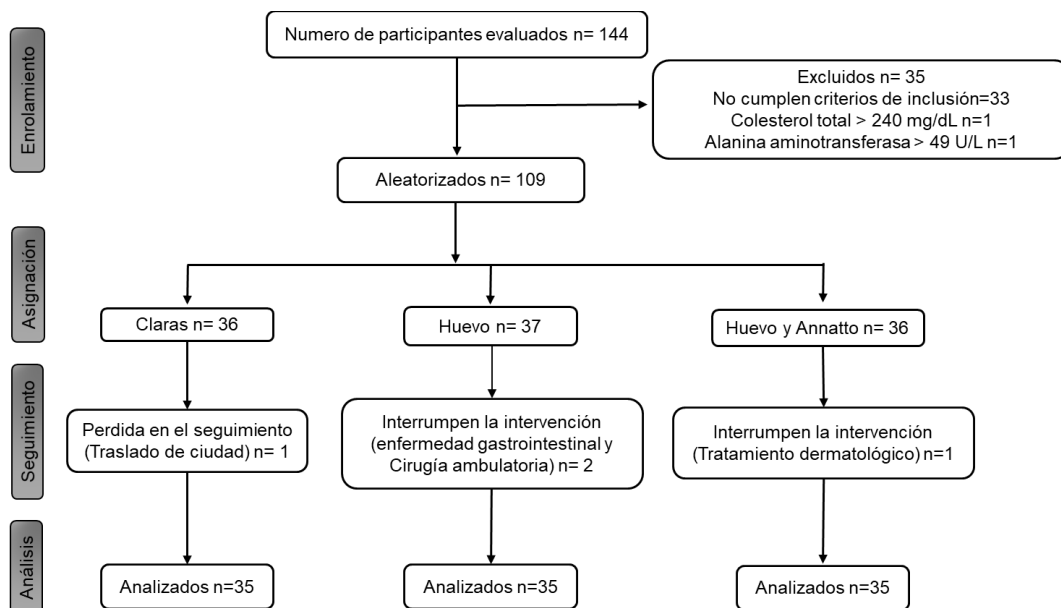
El ensayo clínico obtuvo aval de comité de bioética de la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquia. Acta de aprobación 15-58-800. Adicional se cumplieron los principios éticos según la declaración de Helsinki y las pautas de Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS). Todos los participantes conocieron y aceptaron previamente el protocolo y firmaron el consentimiento informado. Este ensayo clínico se registró en ClinicalTrials.gov, identificador: NCT05088577.

## Resultados

### Capítulo 1: Efectos del consumo de huevo y huevo enriquecido con Annatto (*Bixa orellana L.*) en marcadores de riesgo cardiovascular clásicos (perfil lipídico y glucosa) y avanzados (tamaño y número de lipoproteínas) en población adulta colombiana<sup>2</sup>

Ciento cuarenta y cuatro (n = 144) personas fueron tamizadas, 33 no cumplieron con los criterios de inclusión y dos más fueron excluidas por tener dislipidemia y enzimas hepáticas elevadas, respectivamente. Cuatro voluntarios abandonaron por razones no relacionadas con el estudio (Figura 2). Finalmente, ciento cinco (n = 105) participantes completaron el estudio; El 65,8% eran mujeres, con una edad media de 28 años.

Figura 2. Flujograma del estudio.



<sup>2</sup> Este artículo contiene los resultados de los dos primeros objetivos específicos y fue publicado en la revista "Nutrients". Véase: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/2/369>

Según el método de aleatorización, la proporción de mujeres fue la misma en los tres grupos. Asimismo, no hubo diferencias entre grupos en edad, IMC y variables sociodemográficas (tabla 1).

Tabla 1. Descripción de la población según los grupos de tratamiento.

		Clara	Huevo	Huevo+ Annatto	p	
		n (%)	n (%)	n (%)		
<b>Sexo</b>	Mujer	24 (22,9)	23 (21,9)	22 (20,9)	0,880	
	Hombre	11 (10,5)	12 (11,4)	13 (12,4)		
<b>Edad</b>	Adultos jóvenes ( $\geq 18$ y $\leq 26$ años)	12 (11,4)	12 (11,4)	11 (10,5)	0,958	
	Adultos ( $\geq 27$ años)	23 (21,9)	23 (21,9)	24 (22,8)		
<b>Estratificación socioeconómico</b>	1	2 (1,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,251	
	2	9 (8,6)	4 (3,8)	5 (4,8)		
	3	15 (14,2)	21 (20,0)	24 (22,8)		
	4	8 (7,6)	8 (7,6)	6 (5,7)		
	5	1 (0,9)	2 (1,9)	0 (0,00)		
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Inicio	Normal ( $\geq 18,5$ y $\leq 24,9$ kg/m <sup>2</sup> )	24 (22,8)	19 (18,1)	21 (20,0)	0,467
		Sobrepeso ( $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> )	11 (10,4)	16 (15,2)	14 (13,3)	
	Final	Normal ( $\geq 18,5$ y $\leq 24,9$ kg/m <sup>2</sup> )	25 (23,8)	20 (19,1)	21 (20,0)	0,424
		Sobrepeso ( $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> )	10 (9,5)	15 (14,3)	14 (13,3)	

Prueba de X<sup>2</sup> de Pearson y exacta de Fisher. IMC: Índice de masa corporal.

Los resultados obtenidos para las variables tradicionales de riesgo cardiovascular, del perfil lipídico y de la glucosa en sangre, no mostraron cambios significativos ni con el tiempo ni con el tratamiento (ver Tabla 2). Además, los niveles de enzimas hepáticas, como marcadores de inflamación en el hígado, estaban por debajo del límite superior de AST (32 U/L) y ALT (49 U/L) al final de la intervención para todo el grupo (AST: 23,8  $\pm$  9,8 U/L; ALT: 28,3  $\pm$  17,9 U/L). Asimismo, no hubo diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los grupos en el tiempo y la interacción tiempo x tratamiento en estos marcadores de daño hepático.

Tabla 2. Análisis de marcadores tradicionales de riesgo cardiovascular en la población según los grupos de tratamiento.

	Claros		Huevo		Huevo + Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>Colesterol</b>									
<b>total (mg/dL)</b>	182 (32,2)	183 (36,9)	180 (37,2)	185 (37,4)	172 (32,4)	178 (36,2)	0,449	0,352	0,866
<b>cHDL (mg/dL)</b>	52,1 (15)	51,1 (14,9)	53,7 (13,5)	52,8 (12)	50 (10)	50,2 (9,1)	0,697	0,441	0,855
<b>cLDL (mg/dL)</b>	118 (30,8)	118 (28,9)	114 (32,4)	120 (33,3)	111 (33,1)	116 (36,6)	0,599	0,418	0,807
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	106 (53,6)	112 (69,5)	106 (40,8)	107 (39,4)	110 (60,8)	105 (57,7)	0,981	0,797	0,892
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	84,2 (7,81)	85,2 (10,6)	83,6 (6,89)	85,4 (5,4)	83,8 (5,8)	83,6 (5,8)	0,398	0,674	0,721

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DE: desviación estandar. cHDL: colesterol de lipoproteína de alta densidad. cLDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.

Cuando se obtuvieron los niveles de Apo A1 y Apo B y se calcularon los índices aterogénicos, no se encontraron cambios significativos en ninguno de los índices ni en los niveles de Apo B y Apo A1 para los grupos de tratamiento en los dos periodos de tiempo evaluados (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de índices de riesgo cardiovascular y apoproteínas en la población según los grupos de tratamiento.

	Claros		Huevo		Huevo +Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>cT/cHDL</b>	3,67 (1,1)	3,82 (1,1)	3,49 (0,9)	3,61 (0,8)	3,57 (0,9)	3,64 (0,9)	0,363	0,72	0,981
<b>cLDL/cHDL</b>	2,45 (0,9)	2,5 (0,8)	2,24 (0,8)	2,36 (0,7)	2,35 (0,9)	2,4 (0,9)	0,428	0,623	0,959
<b>no cHDL</b>	129 (34,2)	132 (37,9)	126 (33,8)	132 (33,3)	122 (32,1)	128 (35,3)	0,333	0,59	0,922
<b>TG/cHDL</b>	2,27 (1,6)	2,56 (2,2)	2,12 (1,0)	2,14 (0,9)	2,35 (1,4)	2,19 (1,4)	0,807	0,53	0,663
<b>APO B</b>	73,5 (19,5)	74,3 (22,5)	73,4 (23,3)	72,9 (24,5)	72,9 (24,5)	69,5 (22,9)	0,487	0,54	0,903
<b>APOA</b>	137 (21,9)	131 (23,3)	137 (26,1)	138 (24,1)	131 (17,7)	132 (18,2)	0,565	0,34	0,458
<b>C LDL/APOB</b>	1,63 (0,2)	1,63 (0,23)	1,58 (0,2)	1,60 (0,2)	1,64 (0,2)	1,62 (0,2)	0,895	0,49	0,804
<b>ApoB/ApoA1</b>	0,54 (0,2)	0,59 (0,21)	0,55 (0,2)	0,56 (0,2)	0,54 (0,2)	0,56 (0,2)	0,345	0,84	0,949

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DE: desviación estandar. cHDL: colesterol de lipoproteína de alta densidad. cLDL: Colesterol de lipoproteína de baja densidad. APO: Apolipoproteína

Al analizar marcadores de riesgo CV más avanzados y específicos, no se encontraron diferencias significativas para ninguna de las lipoproteínas evaluadas (p > 0,05). No hubo cambios estadísticos en el tiempo ni en los tratamientos evaluados (Tabla 4).

Tabla 4. Efectos sobre las concentraciones de las subclases de lipoproteínas y por tamaño en la población estudiada según tratamiento.

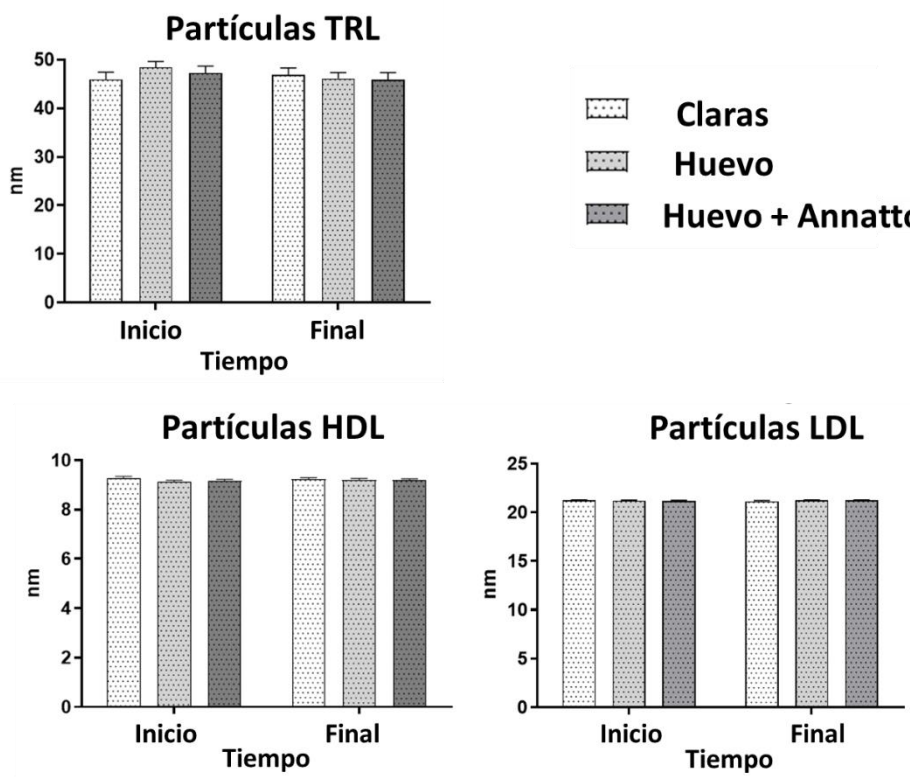
	Claros		Huevo		Huevo + Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>TRLP (nmol/L)</b>	130 (44,2)	125 (43,9)	147 (47)	148 (38,1)	134 (45,9)	136 (49,9)	0,922	0,025	0,922
<b>TRLP muy grandes (nmol/L)</b>	0,34 (0,5)	0,42 (0,5)	0,39 (0,5)	0,28 (0,3)	0,38 (0,42)	0,33 (0,3)	0,969	0,378	0,636
<b>TRLP grandes (nmol/L)</b>	2,63 (1,5)	2,95 (1,9)	3,03 (1,6)	3,15 (2,2)	2,90 (1,89)	2,66 (2,0)	0,743	0,517	0,611
<b>TRLP medianas (nmol/L)</b>	13,5 (9,1)	15,4 (9,2)	12,2 (4,7)	13,2 (6,8)	12,1 (6,34)	11,6 (5,3)	0,374	0,511	0,67
<b>TRLP pequeñas (nmol/L)</b>	54,8 (27,8)	53,7 (33,9)	56 (32,7)	63,9 (35,4)	54,9 (33,7)	65 (34)	0,295	0,571	0,483
<b>TRLP muy pequeñas (nmol/L)</b>	59,2 (37,3)	66,9 (54,2)	71,0 (34,1)	57,3 (28,1)	56,1 (27,4)	49,2 (29,2)	0,264	0,176	0,363
<b>cLDLP (nmol/L)</b>	1154 (290)	1217 (382)	1121 (317)	1157 (284)	1098 (371)	1104 (302)	0,447	0,318	0,876
<b>cLDLP grandes (nmol/L)</b>	401 (190)	365 (182)	335 (129)	373 (112)	358 (175)	365 (182)	0,882	0,547	0,404
<b>cLDLP medianas (nmol/L)</b>	332 (162)	340 (181)	350 (267)	260 (162)	298 (167)	313 (180)	0,466	0,366	0,353
<b>cLDLP pequeñas (nmol/L)</b>	361 (166)	477 (273)	377 (98,2)	468 (210)	386 (180)	449 (227)	0,009	0,81	0,866
<b>cHDLP (µmol/L)</b>	20,3 (2,8)	19,3 (1,6)	20,5 (3,2)	20,3 (2,9)	19,9 (2,11)	19,8 (1,9)	0,326	0,365	0,422
<b>cHDLP grandes (µmol/L)</b>	2,52 (1,6)	1,81 (1,1)	1,83 (1,2)	2,12 (1,1)	2,13 (1,36)	2,16 (1,3)	0,784	0,791	0,077
<b>cHDLP medianas (µmol/L)</b>	5,93 (2,6)	5,87 (1,9)	6,01 (1,7)	6,29 (2,0)	5,71 (1,71)	5,82 (1,6)	0,619	0,479	0,959
<b>cHDLP pequeñas (µmol/L)</b>	11,9 (3,3)	11,5 (2,9)	12 (3,3)	11,6 (3,0)	11,7 (2,08)	11,7 (2,3)	0,957	0,515	0,91

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DS: desviación estandar. Triglyceride-Rich Lipoproteins- TRLP. LDL Particle Concentrations cLDLP. HDL Particle Concentrations cHDLP.

Además, se analizó el tamaño medio de las partículas de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRL, del inglés, Triglyceride-Rich Lipoproteins), LDL y HDL para evaluar si había diferencias significativas en promedio para cada grupo (figura 3). No se observaron resultados significativos para ninguna subclase de lipoproteína. Es importante señalar que en el grupo de clara de huevo se observaron aumentos en el tamaño medio de la

subclase de TRL (2,1%), así como una ligera reducción en el tamaño medio del grupo que consumió huevo (4,9%) y huevo + Annatto (3,1%), respectivamente, para esta subfracción de lipoproteínas, aunque no fueron estadísticamente significativas.

**Figura 3.** Tamaño medio de partículas de lipoproteínas al inicio del estudio y después de 8 semanas de consumo de claras de huevo, huevo, o huevo + Annatto.



TRL: Lipoproteínas ricas en triglicéridos; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad.

### Discusión: capítulo 1.

Los principales hallazgos de este estudio fueron que, en comparación con el grupo que consumió claras de huevo, en aquellos que consumieron dos huevos por día, solos o en combinación con Annatto, se observaron concentraciones similares de colesterol LDL en plasma, triglicéridos y apolipoproteína B; biomarcadores importantes para el riesgo de

---

ECV (138). Además, la cantidad de lipoproteínas aterogénicas, incluidas las LDL pequeñas o las VLDL grandes, no fue diferente entre los grupos, lo que enfatiza aún más que dos huevos por día no alteran desfavorablemente los biomarcadores clave del riesgo de ECV.

En este estudio se reclutó un mayor porcentaje de mujeres (tabla 1), en contraste con otros estudios de intervención en los cuales se han evaluado los lípidos sanguíneos y el riesgo cardiovascular, donde las mujeres históricamente han tenido una menor representación en comparación con los hombres (139–141). Pero sin desequilibrios entre los grupos, lo que indica que el proceso de aleatorización por mínimos utilizado en este estudio evitó la influencia de estas variables en la intervención y redujo posibles sesgos.

Adicionalmente, la mayoría de los voluntarios (67%) eran adultos, sanos con niveles óptimos de perfil lipídico (según las guías ATP III), glucosa y presión arterial; con una edad promedio de 28 años y con un nivel de ingresos medio (estatus socioeconómico 3). Esta población específica es importante de evaluar, porque para países como Colombia representa a la clase trabajadora (15), donde se concentra la mayoría de las personas, con niveles de ingresos medios a bajos, y donde está presente la doble carga de la malnutrición (desnutrición con obesidad) (142,143).

La evidencia muestra que más del 50% de las muertes globales pueden atribuirse a la dieta (79). Cien gramos de huevo comestible contienen 13 vitaminas y minerales esenciales y proteínas de alta calidad (aproximadamente 12,4 g), todo por solo 70 calorías (24). Sin embargo, durante casi 50 años, los huevos se evaluaron principalmente en función de su contenido de colesterol y se pensó que contribuían a aumentar el colesterol plasmático y el riesgo de ECV (25). Los hallazgos de este estudio (ver tabla 2) muestran que el consumo de dos huevos diarios durante 8 semanas no aumentó el riesgo cardiovascular medido con marcadores clásicos. Estos resultados concuerdan con otros estudios que evidencian que el consumo de huevos no está relacionado con un mayor riesgo (35,52,112,144) y contradicen diferentes resultados informados para otras poblaciones (27,145).

Para contribuir al debate y presentar evidencia contra la causalidad entre el consumo de huevo y el aumento del riesgo CV, es necesario ir más allá de los biomarcadores clásicos. Los perfiles de biomarcadores lipídicos clásicos no constituyen una visión completa del proceso metabólico; así, muchos autores basan la evaluación del riesgo en índices aterogénicos (146,147). Por esta razón, es importante evaluar la asociación entre el consumo de huevos y el aumento del riesgo CV a través de estos índices en este estudio. En la tabla 3, es evidente que, para todos los indicadores de riesgo evaluados, los índices no cambiaron significativamente ( $p > 0,05$ ), ni en el tiempo, ni con el tratamiento, similar a los resultados reportados en otros estudios de intervención (112,148,149).

Algunas personas con valores de perfil de lípidos tradicionales en niveles considerados sin riesgo pueden tener un perfil de lipoproteínas aterogénicas (101,150). Por tanto, es necesario explorar marcadores más sensibles para evaluar el riesgo CV. En la tabla 3, Apo B y Apo A1 y sus índices relacionados son evaluados. Estos marcadores permiten una valoración del riesgo CV basada en el hecho de que las apolipoproteínas son componentes estructurales de las lipoproteínas y juegan un papel crucial en la relación entre la unión al receptor y la activación enzimática en el proceso de metabolismo de los lípidos. Además, la Apo B se encuentra en todas las lipoproteínas aterogénicas y la Apo A1 en las lipoproteínas HDL (ateroprotectoras). Por ello, la concentración de estas apolipoproteínas da una información más específica a la hora de evaluar el riesgo CV (102,151,152). No hubo diferencias significativas en las concentraciones de Apo A1 y Apo B después del consumo de huevo, versus el grupo control. Los resultados muestran claramente que no existe una asociación significativa entre el consumo de huevos y un mayor riesgo CV en una población sana, evaluando biomarcadores clásicos (índices de perfil lipídico) o más sensibles (apolipoproteínas).

La dislipidemia aterogénica se caracteriza por un aumento de partículas LDL pequeñas y densas, niveles reducidos de c-HDL y aumento de triglicéridos en plasma. La dislipidemia aterogénica está más asociada con la incidencia de ECV que la presencia de LDL-C elevado solo, lo que indica que es un mejor predictor de ECV (153). Después

de evaluar los efectos del consumo de huevos en estas lipoproteínas específicas (Tabla 4), no se observaron cambios significativos, excepto en la concentración de LDLP pequeñas, cuyos valores aumentaron después de la intervención en los tres tratamientos y para las TRLP se observaron diferencias según el grupo de tratamiento, donde el grupo asignado al azar para consumir huevo ( $p=0,025$ ) presentó mayores niveles de esta variable con respecto a los demás grupos al inicio y al final de la intervención, lo que indica que no está relacionado con la intervención realizada en la población de estudio. Estos resultados son comparables con los informados por otros que evaluaron poblaciones similares en estudios de intervención (154,155). Resultados contrarios fueron reportados en estudios en los que el grupo control no consumió claras de huevo o se realizaron modificaciones en la dieta de los participantes (79,156).

En este estudio, se pidió a los participantes que mantuvieran sus dietas habituales y que no incluyeran huevos ni claras de huevo adicionales (grupo de control) proporcionados por los investigadores. Algunos estudios han informado aumentos en las lipoproteínas después del consumo de huevo (49,50); sin embargo, el riesgo no aumenta porque se han observado aumentos tanto para las partículas grandes de HDL como para las de LDL, manteniendo la proporción entre lipoproteínas aterogénicas y protectoras.

A diferencia de otros estudios de intervención (35,59,121), no se observaron beneficios adicionales en el grupo de huevo adicionado con carotenoides (Annatto), los resultados mostraron que no hubo cambios en el perfil de riesgo al consumir Annatto en la proporción suministrada en el estudio.

Los estudios de intervención con huevos enriquecidos como el de Kelly y colaboradores, se efectuaron con un mayor tiempo de evaluación (3 meses) comparado con nuestro estudio (2 meses), el estudio de Roehrs y colaboradores, que evaluó el Annatto en una matriz proteica (carne de hamburguesa) difiere tanto en la matriz de enriquecimiento, como en el tiempo de evaluación agudo (240 minutos máximo) con respecto a nuestro estudio (huevo) y el estudio de Blesso y colaboradores, que evaluó huevos sin enriquecimiento, se realizó en población diferente (personas con síndrome metabólico) y con una restricción de carbohidratos en la dieta en los participantes, dos aspectos que

---

difieren de nuestro estudio. Por lo anterior quizás la ausencia de cambios en nuestro estudio se deba a estas diferencias presentadas con respecto a los estudios disponibles en la literatura.

Dado que no había estudios previos disponibles en la literatura que evaluaran los efectos de la suplementación a largo plazo con Annatto en humanos, la dosis utilizada en este estudio se basó principalmente en los posibles efectos beneficiosos de esta planta, informados en un estudio agudo en personas sanas (59). Un artículo de revisión reciente (158) recomienda evitar la ingesta excesiva de carotenoides individuales >30 mg/d. Un grupo de participantes en este estudio consumió carotenoides de Annatto mezclados con carotenoides de huevo (luteína y zeaxantina); sin embargo, no hubo signos de inflamación hepática, dado que los valores observados de los marcadores enzimáticos (transaminasas) se encontraban en el rango normal al final de la intervención.

Este estudio fue exploratorio para las variables lipídicas medidas; por lo tanto, es necesario complementar la evaluación con variables más específicas, como el aumento de carotenoides en la sangre de los participantes y la capacidad antioxidante, que podrían mostrar cambios más notorios. Sin embargo, este es el primer estudio de los efectos del consumo a mediano plazo de Annatto en una población colombiana motiva nuevas investigaciones sobre la biodisponibilidad y bioactividad de un producto con gran potencial para América Latina.

Los resultados observados en este estudio, en adultos sanos de mediana edad, después de consumir dos huevos por día durante 8 semanas en comparación con las claras de huevo, no muestran una asociación causal, ni un aumento en el riesgo CV medido por un panel completo de biomarcadores, que incluye tanto clásicos como más avanzados o sensibles. Varios estudios clínicos han reportado resultados similares a este estudio, demostrando que no hay asociación entre el consumo de huevos y un mayor riesgo de enfermedad cardíaca (50,108,155); sin embargo, algunos estudios continúan el debate, informando una asociación entre el consumo de huevos y el riesgo CV (27). Actualmente, el Colegio Americano de Cardiología y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) no

---

limitan el consumo de huevos o colesterol, siguiendo las Guías Dietéticas Americanas publicadas en 2015 por el Gobierno Estadounidense (111). Por lo tanto, se justifican cambios en las Guías Alimentarias Colombianas (publicadas antes de las Guías Dietéticas Americanas 2015-2020), que recomiendan el consumo de solo un huevo por día en las dietas de los colombianos (110).

## **Capítulo 2: Efecto del consumo de huevo y huevo enriquecido con annatto, comparado con claras de huevo, en la saciedad en adultos sanos. Ensayo clínico aleatorizado. EGGANT study.**

A continuación, se presentan los resultados del efecto del huevo y del huevo enriquecido con Annatto comparado con claras de huevo, en las variables subjetivas y objetivas de saciedad. Para ello, se presentará la información de los 109 voluntarios descritos en la tabla 2, de los cuales se tiene información completa de todas las variables.

En cuanto al consumo de alimentos, los resultados demuestran en líneas generales, solo cambios significativos en el tiempo para las kilocalorías ( $p < 0,05$ ), donde se observó para todos los grupos una reducción en el consumo de kilocalorías totales al final comparado con el inicio del estudio, pero no hubo diferencias entre los grupos de tratamiento ni en la interacción tiempo x tratamiento (ver tabla 5).

En el análisis por macronutrientes de forma discriminada se evidencia que no hubo diferencias significativas en el consumo de proteína para ninguno de los tratamientos, ni para el tiempo ( $p > 0,05$ ). Pero para los carbohidratos y la fibra el resultado si fue diferente en el tiempo ( $p = 0,008$  y  $p = 0,03$ , respectivamente), con una disminución en los gramos de fibra y carbohidratos consumidos, sin diferencias por grupo.

Al analizar el consumo de grasa dietaria, si se evidenciaron cambios significativos en el tiempo y tratamiento ( $p < 0,05$ ). La grasa total y los diferentes tipos de ácidos grasos (saturados, monoinsaturados y polinsaturados) disminuyeron en el tiempo ( $p < 0,05$ ) independiente del tratamiento (valores menores después de las 8 semanas de

intervención). También se observaron valores más elevados en el grupo que consumió huevo ( $p < 0,05$ ) independiente del tiempo.

Para el colesterol total si se observaron cambios significativos ( $p < 0,05$ ), tanto en el tiempo (aumento del colesterol al final de la intervención), entre los tratamientos (mayor en el grupo de huevo y huevo + Annatto) y en la interacción tiempo tratamiento (ver tabla 5) con valores superiores después de las 8 semanas de intervención en los grupos que contenían huevo.

Tabla 5. Análisis de la dieta en los participantes según los grupos de tratamiento.

	Claros		Huevo		Huevo + Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>Kilocalorías</b>	1802 (389)	1589 (365)	1890 (494)	1718 (377)	1841 (432)	1748 (350)	0,006	0,242	0,568
<b>Proteína (g)</b>	69,3 (13,4)	64,8 (13,4)	71,4 (15,9)	69,1 (11,9)	71,5 (16,7)	70,7 (11,9)	0,192	0,193	0,741
<b>Fibra (g)</b>	14,8 (5,1)	14,2 (4,8)	15,4 (4,8)	14,1 (3,73)	15 (4,67)	13,0 (4,9)	0,03	0,622	0,677
<b>Carbohidratos (g)</b>	236 (69,8)	211 (52,9)	249 (80)	219 (66,3)	247 (70,9)	225 (56,3)	0,008	0,599	0,911
<b>Grasa total (g)</b>	64,6 (15)	53,6 (15,3)	69,2 (18,1)	64,8 (13,9)	65 (15,6)	63,5 (13)	0,008	0,008	0,07
<b>Colesterol (mg)</b>	497 (209)	152 (76,5)	482 (220)	559 (43,1)	465 (207,1)	549 (64,2)	0,000	0,000	0,000
<b>Ácidos grasos saturados (g)</b>	22,9 (6,4)	18,8 (5,84)	24,8 (7,1)	23,0 (6,47)	22,9 (6,42)	22 (5,3)	0,008	0,014	0,219
<b>Ácidos grasos monoinsaturados (g)</b>	25,8 (6,3)	21,8 (7,3)	27,2 (7,4)	25,4 (5,2)	26,1 (6,5)	25,3 (5,2)	0,012	0,026	0,14
<b>Ácidos grasos Polinsaturados (g)</b>	11,1 (2,7)	9,69 (2,7)	12,2 (4,1)	11,3 (2,7)	11,5 (2,8)	11,2 (2,7)	0,037	0,033	0,37

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DE: desviación estandar

### Efectos en las variables antropométricas y actividad física

En las variables antropométricas no se observaron diferencias en relación con el tiempo de intervención. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos de

tratamiento para el perímetro abdominal y peso corporal. Pero no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) cuando se evalúa el tiempo por tratamiento. En las demás variables como: estatura, IMC y actividad física, no se encontraron diferencias significativas en los grupos de intervención ni en la interacción tiempo x tratamiento (ver tabla 6). Cuando se estratificaron los participantes según su IMC (normo peso y sobrepeso) tampoco se observaron diferencias significativas entre aquellos con sobrepeso versus normo peso al inicio y al final de la intervención ( $p > 0,05$ , tabla 1).

Tabla 6. Medidas antropométricas y actividad física.

	Claros		Huevo		Huevo + Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>PA (cm)</b>	79,8 (8,3)	80,5 (8,4)	83,7 (9,2)	83,7 (8,6)	82,5 (6,08)	83,7 (8,7)	0,89	0,03	0,954
<b>PC (Kg)</b>	64,6 (15)	53,6 (15,3)	69,2 (18,1)	64,8 (13,9)	65 (15,6)	63,5 (13)	0,971	0,009	0,973
<b>Estatura (cm)</b>	1,62 (0,1)	1,62 (0,1)	1,65 (0,1)	1,65 (0,1)	1,62 (0,1)	1,62 (0,1)	0,977	0,093	0,999
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	23,5 (2,8)	23,5 (2,7)	24,4 (2,8)	24,3 (2,9)	24 (2,8)	24,2 (2,8)	0,998	0,202	0,953
<b>AF (Mets)</b>	1124 (802)	842 (653)	1124 (1049)	1322 (1099)	1133 (798)	1027 (807)	0,11	0,272	0,84

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DE: desviación estandar. IMC: índice de masa corporal. PA: Perímetro abdominal. PC: Peso corporal. AF: Actividad física.

### Efectos en saciedad subjetiva y objetiva

En la escala visual analógica de las medidas subjetivas de saciedad y en la medida objetiva de saciedad (niveles de ghrelina) no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), ni en tiempo, tratamiento, ni en la interacción tiempo por tratamiento para el análisis mediante ANOVA de medidas repetidas (ver tabla 7).

Tabla 7. Saciedad objetiva y subjetiva por grupo de intervención

	Claros		Huevo		Huevo + Annatto		p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
	Media (±DE)		Media (±DE)		Media (±DE)				
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final			
<b>Grelina (pg/mL)</b>	425 (221)	397 (227)	363 (202)	359 (194)	422 (231)	424 (214)	0,75	0,581	0,562

<b>Hambre (cm)</b>	4,77 (2,3)	4,91 (2,1)	5,23 (1,8)	5,01 (2,0)	5,2 (2,5)	5,34 (2,3)	0,945	0,503	0,850
<b>Satisfecho (cm)</b>	3,8 (2,0)	3,86 (1,9)	4,2 (2)	4,57 (2,3)	4,17 (1,8)	4,8 (1,9)	0,201	0,098	0,728
<b>Llenura (cm)</b>	3,8 (2,2)	3,69 (1,9)	3,99 (2,2)	4,57 (2,5)	3,74 (1,8)	4,49 (1,9)	0,151	0,347	0,494
<b>IP (cm)</b>	6,26 (2,0)	5,77 (2,0)	6,17 (2,1)	6,06 (2,5)	6,17 (1,8)	5,86 (2,1)	0,123	0,201	0,679

ANOVA de medidas repetidas. p<sup>1</sup>:Tiempo, p<sup>2</sup>: Tratamiento, p<sup>3</sup>: Tiempo x Tratamiento. DE: desviación estandar. IMC: índice de masa corporal. IP: Ingesta prospectiva. AF: Actividad física

### Discusión: capítulo 2.

Según lo observado, encontramos una población sin diferencias significativas en el tiempo y tiempo por tratamiento en variables sociodemográficas y medidas antropométricas, lo que evidencia la correcta asignación aleatoria y equilibrio entre los grupos de intervención que es coherente con lo observado en la tabla 1.

No se encontraron efectos del consumo de huevo y huevo enriquecido con Annatto en las variables antropométricas y la actividad física y aunque son variables de control, concuerda con otros estudios de intervención con huevo (148,155). Se observaron resultados significativos, en la comparación entre tratamientos con valores levemente superiores del peso corporal en el grupo de huevo, sin diferencias en la interacción tiempo por tratamiento. Estos resultados se equilibran con el cálculo del IMC y su análisis estadístico, donde no hay resultados significativos para esta variable en el tiempo, tratamiento y su interacción tiempo por tratamiento.

Los resultados del análisis de la dieta evidencian que las kilocalorías totales solo se observaron significativamente diferentes en el tiempo ( $p=0,006$ ) con una disminución mayor en el grupo de claras (13% menos de la ingesta basal) y huevo (10% menos de la ingesta basal), mientras que para el grupo de huevo + Annatto solo se disminuyó en un 5% de la ingesta basal; pero al comparar entre los diferentes tratamientos, no hubo diferencias significativas, esto concuerda con estudios donde el valor de la ingesta disminuyó después de la intervención (149,159). Además, los resultados de ingesta de kilocalorías estuvieron similares a los reportados para otros estudios de intervención, en

---

los cuales tampoco se observaron diferencias significativas comparadas con el grupo control (50,112,160).

Sobre la ingesta de proteína no hay diferencias significativas en el tiempo, en el tratamiento y ni en la interacción de tiempo x tratamiento, similar a los reportado por otros estudios de intervención con huevo, que emplearon cero huevos, desayuno con avena y claras, como grupos control, respectivamente (50,52,112,160).

En relación con los cambios en la grasa total dietaría, y los diferentes tipos de ácidos grasos (saturados, monoinsaturados y polinsaturados) y colesterol, se evidenciaron cambios significativos en el tiempo y en el tratamiento (ver tabla 1), similar a otras intervenciones con huevos (52,112). Dado el porcentaje de aporte de colesterol de la yema, se observaron aumentos significativos ( $p < 0,000$ ), como era de esperarse, en los grupos donde se consumió huevo completo. Estos aportes de colesterol y ácidos grasos polinsaturados en la dieta son importantes para procesos biológicos como producción de hormonas y construcción de membranas (161,162).

En la escala visual analógica de las medidas subjetivas de saciedad y en la medida objetiva de saciedad (grelina) no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Para ninguna de las variables en el tiempo y tratamiento y la interacción tiempo por tratamiento para el análisis mediante ANOVA de medidas repetidas, esto difiere de lo encontrado por otros estudios (52,112,159). Sobre el marcador objetivo de saciedad, la grelina, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), esto puede explicarse si se tiene en consideración que esta hormona se ha asociado más a cambios en el aumento de peso o en reducción de carbohidratos en la dieta como se evidencio en otros estudios de intervención con huevo (163,164). Algunas de estas intervenciones realizaron cambios en la ingesta de carbohidratos adicional a la evaluación del huevo y quizás este aspecto sea el responsable de los resultados positivos de saciedad encontrados por estos autores.

## Conclusiones

### Conclusión capítulo 1.

Los huevos no pueden verse únicamente como una fuente de colesterol. Los huevos también proporcionan minerales, vitaminas, antioxidantes y, lo que es más importante, una fuente de proteína de buena calidad. Por lo tanto, los huevos representan una excelente opción para ser incluidos como parte de una dieta balanceada y saludable sin aumentar los factores de riesgo de ECV, como se demostró en este estudio. La adición de Annatto no modificó ninguno de los biomarcadores lipídicos medidos. Los estudios futuros deberían abordar la contribución de Annatto en la modificación de biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación cuando se combina con huevos. En resumen, los resultados de esta intervención incentivan el consumo de huevos como parte de una dieta saludable en esta población colombiana, con la ventaja de ser un alimento denso en nutrientes y de bajo costo, en comparación con otras fuentes proteicas.

### Conclusión capítulo 2.

En las variables antropométricas no hubo cambios significativos para el IMC y el perímetro abdominal. Además, tampoco se encontraron cambios significativos con respecto a la ingesta proteica y de carbohidratos. Los cambios significativos observados en el consumo de ácidos grasos (saturados, monoinsaturados y polinsaturados) y colesterol, eran de esperarse en estudios de intervención con huevo completo, dado el contenido de estos nutrientes en este alimento.

---

Aunque no se observaron cambios significativos para el marcador objetivo de saciedad (grelina) y para los marcadores subjetivos, se evidencia la necesidad de realizar más estudios que evalúen el consumo de huevo y su enriquecimiento con antioxidantes para mejorar la saciedad en diferentes poblaciones. Asimismo, es importante evaluar la matriz a utilizar para la adición de antioxidantes, con el objetivo de mejorar su biodisponibilidad y efectos sobre las variables estudiadas relacionadas con la salud cardiovascular.

### Conclusiones generales

Este es el primer estudio en Colombia donde se evalúa el consumo de huevo y de huevo enriquecido con Annatto en población sana. Sus resultados evidencian claramente que no se encontró causalidad entre el consumo de dos huevos y dos huevos enriquecidos con Annatto comparado con claras de huevo, con el desarrollo de riesgo cardiovascular, medido mediante marcadores clásicos y marcadores más sensibles y avanzados. Estos resultados apoyan la idea de eliminar la restricción en el consumo de huevo que se recomienda todavía en las Guías Alimentarias Colombianas de 2015, cuyo soporte está basado en guías para otras poblaciones y países que se habían publicado previamente, pero que se actualizaron más tarde en 2015, eliminando completamente esta restricción.

Este estudio de intervención en humanos permite contribuir a la investigación científica sobre el efecto del huevo y su enriquecimiento con Annatto, en la saciedad, en adultos sanos. Los resultados evidencian que no se registra una mayor saciedad con el consumo de dos huevos y dos huevos enriquecidos con Annatto, comparado con claras de huevo. Lo anterior aporta a la discusión sobre cambios en la grelina y a la percepción subjetiva de saciedad, en asuntos de población estudiada, dosis, y tiempo de intervención.

Más allá de los resultados obtenidos con los marcadores de saciedad, este estudio al ser el primer ensayo clínico aleatorizado realizado en población colombiana para evaluar los efectos de un producto que sigue siendo controversial, contribuye a dilucidar los efectos bioquímicos de variables relacionadas con riesgo cardiovascular en una población sana

Efectos del consumo de huevo y su enriquecimiento con Annatto (*Bixa orellana L.*) sobre biomarcadores de riesgo cardiovascular y saciedad en población adulta colombiana (EGGANT). Ensayo clínico aleatorizado.

60

---

y promueve el consumo de un producto de alto valor nutricional y de bajo costo comparado con otras fuentes de proteína animal.

---

## Limitaciones y Recomendaciones

Si bien fue posible controlar el estudio por diferentes factores como la edad, el sexo y el IMC, es importante considerar que no fue posible cegar a los grupos de intervención, y esto podría tener implicaciones de sesgos. Especialmente para el grupo control, el único colorante alimentario natural disponible en el mercado era el mismo Annatto, lo que limitaba la posibilidad de enmascarar al grupo control para simular un huevo entero.

Con este primer estudio de intervención en humanos, donde se evaluaron dos alimentos con un gran potencial nutricional, deja en evidencia la necesidad de más estudios donde se pueda realizar una evaluación más controlada de la vehiculización del Annatto en la matriz del huevo con el objetivo de aumentar la biodisponibilidad de sus compuestos activos. Adicional, es importante medir más marcadores bioquímicos y de saciedad que por presupuesto y tiempo no fueron posible medir.

Se crea la necesidad de hacer más estudios sobre el consumo de Annatto adicionado al huevo empleando diferentes dosis y tiempo de intervención. Es importante que a futuro se pueda evaluar el consumo de estos productos en otras poblaciones y grupos etarios.

Es crucial el desarrollo de más investigaciones que puedan generar soporte científico en relación al consumo de alimentos y evaluación de sus efectos en la salud humana mediante ensayos clínicos, para dar una evidencia fuerte a las Guías Alimentarias Colombianas y poder promover mejores hábitos alimentarios basado en los resultados de investigaciones en población colombiana.



---

## Referencias

1. Ather Ali, ND, MPH, MHS, David L. Katz, MD M. Disease Prevention and Health Promotion: How Integrative Medicine Fits. *Am J Prev Med.* 2015;49(503):S230–40.
2. Eslava C. JC. Promoción y prevención en el sistema de salud. *Rev salud pública.* 2002;4(1):1–12.
3. OMS. Enfermedades no transmisibles y sus factores de riesgo [Internet]. Promoción de la salud. 2018. p. 4. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
4. OMS. Conferencias Mundiales de Promoción de la Salud [Internet]. Promoción de la salud. 2020. p. 5. Available from: <https://www.who.int/healthpromotion/conferences/es/#:~:text=Las Conferencias Mundiales de Promoción,%2C y Bangkok%2C 2005.>
5. Coronel Carbo J, Marzo Páez N. La promoción de la salud: evolución y retos en América Latina. *Medisan* [Internet]. 2017;21(7):926–32. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192017000700018&lng=es%0Ahttp://scielo.sld.cu/pdf/san/v21n7/san18217.pdf](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017000700018&lng=es%0Ahttp://scielo.sld.cu/pdf/san/v21n7/san18217.pdf)
6. ONU. Objetivo 2: Poner fin al hambre [Internet]. Objetivos de desarrollo sostenible. 2020. p. 5. Available from: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/>
7. UNESCO. Objetivo 3: Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades [Internet]. Objetivos de desarrollo sostenible. 2020. p. 2. Available from: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/health/>
8. Popkin BM, Adair LiS, Ng SW. NOW AND THEN: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. *Nutrients.* 2012;70(1):3–21.
9. Henchion M, Hayes M, Mullen A, Fenelon M, Tiwari B. Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods.* 2017;6(7):53.
10. Davis J, Oaks B, Engle-Stone R. The Double Burden of Malnutrition: A Systematic Review of Operational Definitions (P22-006-19). *Curr Dev Nutr.* 2019;3(Supplement\_1):1–14.
11. Ministerio de Salud y protección Social., Instituto Nacional de Salud, Instituto

- 
- Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF), Universidad Nacional de Colombia. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional – ENSIN 2015. 2015. 56 p.
12. Gerencia de Seguridad Alimentaria-MANA. Perfil alimentario y nutricional de antioquia 2019. 2019. 358 p.
  13. WHO. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. Fact sheet. 2017. p. 2. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
  14. Ministerio de Salud y protección Social. Análisis de Situación de Salud (ASIS) Colombia, 2016. [Internet]. 2016. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>
  15. DANE. Boletín Técnico Mercado laboral de la Juventud Trimestre móvil junio - agosto 2020 Boletín Técnico. 2020;1–14. Available from: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/ech/juventud/Bol\\_eje\\_juventud\\_jun20\\_ago20.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/ech/juventud/Bol_eje_juventud_jun20_ago20.pdf)
  16. WHO. Enfermedades cardiovasculares [Internet]. Nota descriptiva. 2015. p. 3. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
  17. WHO. Sobrepeso y obesidad [Internet]. Nota descriptiva. 2016. p. 3. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
  18. Delgado CL. Rising Consumption of Meat and Milk in Developing Countries Has Created a New Food Revolution. *J Nutr.* 2003;133(11 SUPPL. 2):3907–10.
  19. OPS. Sistemas Alimentarios Sostenibles para una Alimentación Saludable. 2021. p. 4.
  20. Vassilaki M, Linardakis M, Polk DM, Philalithis A. The burden of behavioral risk factors for cardiovascular disease in Europe. A significant prevention deficit. *Prev Med (Baltim).* 2015;81:326–32.
  21. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, et al. Obesity and Cardiovascular Disease A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2021;143(21):E984–1010.
  22. Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Universidad de Antioquia, OPS, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional de Colombia, 2005 [Internet]. Ensin. 2006. 465 p. Available from:

- 
- [http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortallCBF/NormatividadGestion/ENSIN1/ENSIN2005/LIBRO\\_2005.pdf](http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortallCBF/NormatividadGestion/ENSIN1/ENSIN2005/LIBRO_2005.pdf)
23. Chacón C, Ramírez M. Pobreza en Colombia, en tiempos del Covid-19. Munich Pers RePEc Arch [Internet]. 2020;(100265):14. Available from: [https://mpra.ub.uni-muenchen.de/100265/1/MPRA\\_paper\\_100265.pdf](https://mpra.ub.uni-muenchen.de/100265/1/MPRA_paper_100265.pdf)
  24. Puglisi MJ, Fernandez ML. The Health Benefits of Egg Protein. *Nutrients*. 2022;14:2904.
  25. Kanter MM, Kris-Etherton PM, Fernandez ML, Vickers KC, Katz DL. Exploring the Factors That Affect Blood Cholesterol and Heart Disease Risk: Is Dietary Cholesterol as Bad for You as History Leads Us to Believe? *Adv Nutr An Int Rev J*. 2012;3(5):711–7.
  26. McNamara DJ. The fifty year rehabilitation of the egg. *Nutrients*. 2015;7(10):8716–22.
  27. Dehghan M, Mente A, Rangarajan S, Mohan V, Lear S, Swaminathan S, et al. Association of egg intake with blood lipids, cardiovascular disease, and mortality in 177,000 people in 50 countries. *Am J Clin Nutr*. 2020;111(4):795–803.
  28. Fernandez ML. Eggs and health special issue. *Nutrients*. 2016;8(12):10–1.
  29. Berger S, Raman G, Vishwanathan R, Jacques PF, Johnson EJ. Dietary cholesterol and cardiovascular disease: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(Cvd):276–94.
  30. Barona J, Fernandez ML. Dietary cholesterol affects plasma lipid levels, the intravascular processing of lipoproteins and reverse cholesterol transport without increasing the risk for heart disease. *Nutrients*. 2012;4(8):1015–25.
  31. Shengyu Zhang, Lingli Li, Wenxu chen, Suowen Xu, Xiaojun Feng LZ. Natural products: The role and mechanism in low-densitylipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Phyther Res*. 2021;35:2945–67.
  32. Xepapadaki E, Zvintzou E, Kalogeropoulou C, Filou S, Kypreos KE. The Antioxidant Function of HDL in Atherosclerosis. *Angiology*. 2020;71(2):112–21.
  33. Castilla P, Echarri R, Dávalos A, Cerrato F, Ortega H, Teruel JL, et al. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(1):252–

- 62.
34. Dower JI, Geleijnse JM, Gijsbers L, Zock PL, Kromhout D, Hollman PCH. Effects of the pure flavonoids epicatechin and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(5):914–21.
  35. Blesso CN, Andersen CJ, Bolling BW, Fernandez ML. Egg intake improves carotenoid status by increasing plasma HDL cholesterol in adults with metabolic syndrome. *Food Funct.* 2013;4(2):213–21.
  36. Hansen H, Wang T, Dolde D, Xin H, Prusa K. Supplementation of laying-hen feed with annatto tocotrienols and impact of  $\alpha$ -tocopherol on tocotrienol transfer to egg yolk. *J Agric Food Chem.* 2015;63(9):2537–44.
  37. Surai, P., MacPherson, A., Speake B. Designer egg evaluation in a controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:298–305.
  38. Khoo HE, Prasad KN, Kong KW, Jiang Y, Ismail A. Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. *Molecules.* 2011;16(2):1710–38.
  39. Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, Carbonara S, Zito A, Ricci G, et al. Dietary Intake of Carotenoids and Their Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Cardiovascular Care. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:11.
  40. Chen J, Song Y, Zhang L. Effect of lycopene supplementation on oxidative stress: An exploratory systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Med Food.* 2013;16(5):361–74.
  41. Jena F, Jena D-. Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids , the lipid status , and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr.* 1999;125:118–25.
  42. Nimalaratne C, Wu J. Hen egg as an antioxidant food commodity: A review. *Nutrients.* 2015;7(10):8274–93.
  43. Thomas MS, Huang L, Garcia C, Sakaki JR, Blesso CN, Chun OK, et al. The Effects of Eggs in a Plant-Based Diet on Oxidative Stress and Inflammation in Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2022;14(12).
  44. Anand SS, Hawkes C, Souza RJ De, Mente A, Nugent R, Zulyniak MA, et al. Food consumption and its impact on CVD: importance of solutions focused on the

- 
- globalized food system. *J Am Coll Cardiol*. 2016;66(14):43.
45. Franch Nadal J. Obesidad intraabdominal y riesgo cardiometabólico. *Atención Primaria*. 2008;40(4):199–204.
  46. Cercato C, Fonseca FA. Cardiovascular risk and obesity. *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. 2019;11(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13098-019-0468-0>
  47. Yu E, Malik VS, Hu FB. Reprint of: Cardiovascular Disease Prevention by Diet Modification: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(23):2951–63.
  48. Chung H, Rasmussen HM, Johnson EJ. Lutein Bioavailability Is Higher from Lutein-Enriched Eggs than from Supplements and Spinach in Men 1 , 2. *Hum Nutr Metab*. 2004;134(8):1887–93.
  49. Blesso CN, Andersen CJ, Barona J, Volek JS, Fernandez ML. Whole egg consumption improves lipoprotein profiles and insulin sensitivity to a greater extent than yolk-free egg substitute in individuals with metabolic syndrome. *Metabolism*. 2013;62(3):400–10.
  50. DiMarco DM, Norris GH, Millar CL, Blesso CN, Fernandez ML. Intake of up to 3 Eggs per Day Is Associated with Changes in HDL Function and Increased Plasma Antioxidants in Healthy, Young Adults. *J Nutr*. 2017;147(13):323–9.
  51. Liu AG, Puyau RS, Han H, Johnson WD, Greenway FL, V. DN. The Effect of an Egg Breakfast on Satiety in Children and Adolescents: A Randomized Crossover Trial. *J Am Coll Nutr*. 2015;34(3):37–54.
  52. Ratliff J, Leite JO, de Ogburn R, Puglisi MJ, VanHeest J, Fernandez ML. Consuming eggs for breakfast influences plasma glucose and ghrelin, while reducing energy intake during the next 24 hours in adult men. *Nutr Res* [Internet]. 2010;30(2):96–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2010.01.002>
  53. Gonzalez M. Estudio de la irritación dérmica primaria en piel dañada de conejos tras la exposición a un extracto alcohólico de *bixa orellana* lin. *Rev Cuba estomatol*. 2003;34:25–30.
  54. Bell GAS, Shamna R, Sangeetha B SJ. In vivo antioxidant activity of bark extract of *Bixa orellana L.* against acetaminophen–induced oxidative stress. *Asian Pac J Trop*

- Biomed. 2012;2(2):S700–5.
55. Gómez GC, Castillo JCQ, Pérez JCA, Montoya JEZ. Ethanolic extract from leaves of *Bixa orellana* L.: A potential natural food preservative. *Interciencia*. 2012;37(7):547–51.
  56. Lima LRP, Oliveira TT, Oliveira MGA, Nagem TJ, Pinto AS, Stringheta PC TA and SJ. Bixin, norbixin and quercetin and lipid metabolism effects in rabbits. *Brazilian J Veterinary Res Anim Sci*. 2001;38:196–200.
  57. de Paula H, Pedrosa ML, Júnior JVR, Haraguchi FK, dos Santos RC, Silva ME. Effect of an aqueous extract of annatto (*Bixa orellana*) seeds on lipid profile and biochemical markers of renal and hepatic function in hipercholesterolemic rats. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2009;52(6):1373–8.
  58. Russell KRM, Morrison EYSA, Ragoobirsingh D. The effect of annatto on insulin binding properties in the dog. *Phyther Res*. 2005;19(5):433–6.
  59. Roehrs M, Conte L, da Silva DT, Duarte T, Maurer LH, de Carvalho JAM, et al. Annatto carotenoids attenuate oxidative stress and inflammatory response after high-calorie meal in healthy subjects. *Food Res Int* [Internet]. 2017;100:771–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.005>
  60. Rivera-Madrid R, Aguilar-Espinosa M, Cárdenas-Conejo Y, Garza-Caligaris LE. Carotenoid Derivates in Achiote (*Bixa orellana*) Seeds: Synthesis and Health Promoting Properties. *Front Plant Sci* [Internet]. 2016;7(September):1–7. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fpls.2016.01406/abstract>
  61. Kiokias S, Gordon MH. Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chem*. 2003;83(4):523–9.
  62. Organización Mundial de la Salud. Primera Conferencia Internacional sobre Fomento de la Salud. Carta Ottawa para la promoción la salud [Internet]. 1986;5. Available from: <http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/carta.pdf>
  63. OMS. Declaración de Adelaida sobre la Salud en Todas las Políticas. Inf la Reun Int sobre la Salud en Todas las Políticas Adelaida [Internet]. 2010;4. Available from: [http://www.who.int/social\\_determinants/spanish\\_adelaide\\_statement\\_for\\_web.pdf](http://www.who.int/social_determinants/spanish_adelaide_statement_for_web.pdf)
  64. Oms. Declaración de Sundsvall. Entornos propicios para la salud [Internet]. Tercera Conferencia Internacional sobre Promoción de la Salud. Organización Mundial de

- 
- la Salud. 1991. p. 3. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/59967/1/WHO\\_HED\\_92.1\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/59967/1/WHO_HED_92.1_spa.pdf)
65. World Health Organization. Declaración de Yakarta. Declaración de Yakarta sobre la Promoción de la Salud en el Siglo XXI [Internet]. 1997;1–11. Available from: [https://www.who.int/healthpromotion/conferences/previous/jakarta/en/hpr\\_jakarta\\_declaration\\_sp.pdf](https://www.who.int/healthpromotion/conferences/previous/jakarta/en/hpr_jakarta_declaration_sp.pdf)
66. O LMM. Los Determinantes Sociales de la Salud : base teórica de la salud pública Social Determinants of Health : public health ' s theoretical basis. 2013;
67. OMS. 9.ª Conferencia Mundial de Promoción de la Salud, Shanghai 2016 Promover la salud, promover el desarrollo sostenible: Salud para todos y todos para la salud [Internet]. Promoción de la salud. 2020. p. 2. Available from: <https://www.who.int/healthpromotion/conferences/9gchp/es/>
68. Freire WB, Silva-jaramillo KM, Ram J, Belmont P, Waters WF. The double burden of undernutrition and excess body weight in Ecuador. *Am J Clin Nutr.* 2014;100:1636–43.
69. Cediell-giraldo G. Doble carga de malnutrición durante el crecimiento: ¿una realidad latente en Colombia? *Rev salud publica.* 2016;18(4):656–69.
70. Rivera JA, Pedraza LS, Martorell R, Gil A, Bank ID. Introduction to the double burden of undernutrition and excess weight in Latin America. *Am J Clin Nutr.* 2014;100.
71. Atalah E, Amigo H, Bustos P. Does Chile ' s nutritional situation constitute a double burden ? *Am J Clin Nutr.* 2014;100(1).
72. Popkin BM. Symposium: Obesity in developing countries: biological and ecological factors. *J Nutr* [Internet]. 2001;131(3):866S-870S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11238776>
73. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia. Colombia, 2010. 2010.
74. MSPS. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional – ENSIN 2015 Objetivo. 2015;1–65. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/ensin-colombia-2018.pdf>

75. DANE. Análisis clases sociales 23 ciudades y áreas metropolitanas 2019-2021 [Internet]. 2022. Available from: [https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/condiciones\\_vida/pobreza/2021/analisis\\_clases\\_sociales\\_23\\_ciudades.pdf](https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/condiciones_vida/pobreza/2021/analisis_clases_sociales_23_ciudades.pdf)
76. Jahan Mihan A. The Role of Source of Protein in Regulation of Food Intake, Satiety, Body Weight and Body Composition. *J Nutr Heal Food Eng.* 2017;6(6):186–93.
77. The Lancet Gastroenterology & Hepatology. Obesity: another ongoing pandemic. *Lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021;6(6):411. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253\(21\)00143-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253(21)00143-6)
78. Cordoba J. Obesity:therealpandemicofthe21stcentury. *Cir Cir.* 2016;84(5).
79. Weintraub WS, Daniels SR, Burke LE, Franklin BA, Goff DC, Hayman LL, et al. Value of primordial and primary prevention for cardiovascular disease: A policy statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;124(8):967–90.
80. Musunuru K. Atherogenic dyslipidemia: Cardiovascular risk and dietary intervention. *Lipids.* 2010;45(10):907–14.
81. American Heart Association (AHA). Understand Your Risks to Prevent a Heart Attack. Prevention means and second chance. 2016. p. 2.
82. Gargallo Fernández Manuel M, Breton Lesmes I, Basulto Marset J, Quiles Izquierdo J, Formiguera Sala X, Salas-Salvadó J. Recomendaciones nutricionales basadas en la evidencia para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos (consenso FESNAD-SEEDO). la dieta en el tratamiento de la obesidad (III/III). *Nutr Hosp.* 2012;27(3):833–64.
83. Paddon-Jones D, Westman E, Mattes RD, Wolfe RR, Astrup A, Westerterp-Plantenga M. Protein, weight management, and satiety. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2008;87(5):1558S-1561S. Available from: <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.5.1558S>
84. Drummen M, Tischmann L, Gatta-Cherifi B, Adam T, Westerterp-Plantenga M. Dietary protein and energy balance in relation to obesity and co-morbidities. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9(AUG):1–13.
85. Alissa EM, Ferns GA. Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2017;57(9):1950–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2015.1040487>

86. Visioli F, Poli A. Lack of Evidence , and Diligence. *Nutrients*. 2020;12(12):1–19.
87. Hu T, Bazzano LA. The low-carbohydrate diet and cardiovascular risk factors: Evidence from epidemiologic studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(4):337–43.
88. Afshin A, Sur PJ, Fay KA, Cornaby L, Ferrara G, Salama JS, et al. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2019;393(10184):1958–72.
89. Shan Z, Li Y, Baden MY, Bhupathiraju SN, Wang DD, Sun Q, et al. Association between healthy eating patterns and risk of cardiovascular disease. *JAMA Intern Med*. 2020;180(8):1090–100.
90. Blanco-Rojo R, Sandoval-Insausti H, López-García E, Graciani A, Ordovás JM, Banegas JR, et al. Consumption of Ultra-Processed Foods and Mortality: A National Prospective Cohort in Spain. *Mayo Clin Proc [Internet]*. 2019;94(11):2178–88. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.03.035>
91. Martínez A, Pino R. SÍNDROME METABÓLICO. *Educ Contin en el Lab clínico*. 2009;(Imc):36–46.
92. Plana N, Ibarretxe D, Cabré A, Ruiz E, Masana L. Prevalence of atherogenic dyslipidemia in primary care patients at moderate-very high risk of cardiovascular disease. *Cardiovascular risk perception*. *Clin e Investig en Arterioscler [Internet]*. 2014;26(6):274–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2014.04.002>
93. Halcox JP, Banegas JR, Roy C, Dallongeville J, De Backer G, Guallar E, et al. Prevalence and treatment of atherogenic dyslipidemia in the primary prevention of cardiovascular disease in Europe: EURIKA, a cross-sectional observational study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2017;17(1):1–11.
94. Camacho PA, Otero J, Pérez M, Arcos E, García H, Narvaez C, et al. The spectrum of the dyslipidemia in Colombia: The PURE study. *Int J Cardiol [Internet]*. 2019;284:111–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.10.090>
95. National Cholesterol Education Program (NCEP). Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Programme. *JAMA*. 2001;285(19):2486–97.
96. Gómez Candela C. Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física

- 
- y salud. *Nutr Clin y Diet Hosp*. 2004;24(4):10–3.
97. Davidson MH. Apolipoprotein measurements: Is more widespread use clinically indicated? *Clin Cardiol*. 2009;32(9):482–6.
  98. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, et al. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front Physiol*. 2020;10(January):1–20.
  99. Kang YE, Kim JM, Joung KH, Lee JH, You BR, Choi MJ, et al. The roles of adipokines, proinflammatory cytokines, and adipose tissue macrophages in obesity-associated insulin resistance in modest obesity and early metabolic dysfunction. *PLoS One*. 2016;11(4):1–14.
  100. Krauss RM. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol*. 2010;21(4):305–11.
  101. Decewicz DJ, Neatrou DM, Burke A, Haberkorn MJ, Patney HL, Vernalis MN, et al. Effects of cardiovascular lifestyle change on lipoprotein subclass profiles defined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Lipids Health Dis*. 2009;8:26.
  102. Dominiczak MH, Caslake MJ. Apolipoproteins: Metabolic role and clinical biochemistry applications. *Ann Clin Biochem*. 2011;48(6):498–515.
  103. J.-Y. L. ATP-binding cassette transporter AI and its role in HDL formation. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2005;16(1):19–25. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=40333362>
  104. Egg Nutrition Center. Filling the gaps on “Nutrients of Concern” [Internet]. 2018. p. 4. Available from: <https://www.ee-staging.eggnutritioncenter.org/science-education/health-professional/filling-the-gaps-on-nutrients-of-concern/>
  105. Delimaris I. Adverse Effects Associated with Protein Intake above the Recommended Dietary Allowance for Adults. *ISRN Nutr*. 2013;2013:1–6.
  106. Cortés L. El huevo: aliado nutricional durante el ciclo vital. *Rev Avic* [Internet]. 2012;196:32–5. Available from: [http://central.fenavi.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=59&Itemid=59](http://central.fenavi.org/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=59)
  107. Premium Nutriegg. Ficha técnica huevo líquido pasteurizado. 2018.

108. Blesso CN, Andersen CJ, Barona J, Volk B, Volek JS FM. Effects of carbohydrate restriction and dietary cholesterol provided by eggs on clinical risk factors in metabolic syndrome. *J Clin lipidology*. 2013;7(5):463–71.
109. Wlodarchak N, Xing Y. Dietary Protein Sources and All-Cause and Cause-Specific Mortality: The Golestan Cohort Study in Iran. *Am J Prev Med*. 2017;52(2):237–48.
110. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Guías Alimentarias Basadas en Alimentos para la población colombiana mayor de 2 años [Internet]. 2015. 1–314 p. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA/guias-alimentarias-basadas-en-alimentos.pdf>
111. Dietary Guidelines Advisory Committee. Scientific Report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee. Washingt USDA US Dep Heal Hum Serv. 2015;53(9):1689–99.
112. Missimer A, Dimarco DM, Andersen CJ, Murillo AG, Vergara-Jimenez M, Fernandez ML. Consuming two eggs per day, as compared to an oatmeal breakfast, increases plasma ghrelin while maintaining the LDL/HDL ratio. *Nutrients*. 2017;9(2).
113. Wal JSV, Gupta A, Khosla P, Dhurandhar N V. Egg breakfast enhances weight loss. *Int J Obes*. 2008;32(10):1545–51.
114. Garcés C, López-Simón L, Rubio R, Benavente M, Cano B, Viturro E, et al. Análisis de la actividad paraoxonasa (PON1) y de los polimorfismos PON1 192 y PON1 55 en la población prepuberal del Estudio Cuatro Provincias. *Clin e Investig en Arterioscler*. 2007;19(6):287–92.
115. Rains TM, Leidy HJ, Sanoshy KD, Lawless AL, Maki KC. A randomized, controlled, crossover trial to assess the acute appetitive and metabolic effects of sausage and egg-based convenience breakfast meals in overweight premenopausal women. *Nutr J*. 2015;14(1):1–10.
116. Pradhan G, Samson SL, Sun Y. Ghrelin: Much more than a hunger hormone. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013;16(6):619–24.
117. Kim C, Kim S, Park S. Neurogenic effects of ghrelin on the hippocampus. *Int J Mol Sci*. 2017;18(3):1–7.
118. Saavedra OM, Nahúm E, Vázquez J, Roberto M, Guapillo B, Manuel G, et al.

- 
- Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV [Internet]. 2010;10(2):32–9. Available from: [https://www.uv.mx/rm/num\\_antteriores/revmedica\\_vol10\\_num2/articulos/radicales.pdf](https://www.uv.mx/rm/num_antteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf)
119. Jiménez-Rosales A. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. Cienc Ergo .... 2010;17(3):258–68.
  120. Vilaplana M. Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. Offarm. 2007;26(10):79–86.
  121. Kelly ER, Plat J, Haenen GRMM, Kijlstra A, Berendschot TTJM. The effect of modified eggs and an egg-yolk based beverage on serum lutein and zeaxanthin concentrations and macular pigment optical density: Results from a randomized trial. PLoS One. 2014;9(3).
  122. Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. Clin Chim Acta [Internet]. 2010;411(23–24):1875–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2010.08.038>
  123. Camacaro J, Gómez J, Jiménez M, Vega C, Manganiello L. A liposoluble colorant from Annatto seeds (*Bixa Orellana* L.) as an input for food industry. Rev Ing UC. 2018;25(2):291–306.
  124. Instituto Nacional de Salud. Achiote [Internet]. 2016. Available from: [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/7/jer/censi\\_plant\\_indi/Achiote\\_Vademecum.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/7/jer/censi_plant_indi/Achiote_Vademecum.pdf)
  125. Lia Kusmita, Yuvianti Dwi Franyoto, Mutmainah Mutmainah IP& ADRN. *Bixa orellana* L. carotenoids: antiproliferative activity on human lung cancer, breast cancer, and cervical cancer cells in vitro. Nat Prod Res. 2022;36(24):6421–7.
  126. Kataoka M, Venn BJ, Williams SM, Te Morenga LA, Heemels IM, Mann JI. Glycaemic responses to glucose and rice in people of Chinese and European ethnicity. Diabet Med. 2013;30(3):101–7.
  127. Perez A, Rodriguez M, Gil J RG. Tamaño de muestra Versión 1.1. 2001. p. 1.
  128. Abramson JH. WINPEPI updated: Computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. Epidemiol Perspect Innov [Internet]. 2011;8(1):1. Available from: <http://www.epi-perspectives.com/content/8/1/1>

129. Scotter MJ, Castle L, Appleton GP. Kinetics and yields for the formation of coloured and aromatic thermal degradation products of annatto in foods. *Food Chem.* 2001;74(3):365–75.
130. Timothy G. Lohman, Alex F. Roche RM. Anthropometric standardization reference manual. 1991. 90 p.
131. OMS. Sobrepeso y obesidad [Internet]. 2021. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
132. ICBF. Tabla De Composición De Alimentos Colombianos (TCAC)2018 [Internet]. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. 2018. p. 1–147. Available from: [https://www.icbf.gov.co/bienestar/nutricion/tabla-alimentos%0Ahttps://www.icbf.gov.co/sites/default/files/tcac\\_web.pdf](https://www.icbf.gov.co/bienestar/nutricion/tabla-alimentos%0Ahttps://www.icbf.gov.co/sites/default/files/tcac_web.pdf)
133. Monsalve Álvarez JM, González Zapata LI. Diseño de un cuestionario de frecuencia para evaluar ingesta alimentaria en la Universidad de Antioquia, Colombia. *Nutr Hosp.* 2011;26(6):1333–44.
134. Marín-Echeverri C, Piedrahita-Blandón M, Galvis-Pérez Y, Blesso CN, Fernández ML, Nuñez-Rangel V, et al. Improvements in antioxidant status after agraz consumption was associated to reductions in cardiovascular risk factors in women with metabolic syndrome. *CYTA - J Food* [Internet]. 2021;19(1):238–46. Available from: <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1884606>
135. Aristizabal, C.; Barona, J.; Gonzalez, L.; Deossa, G.; Estrada A. Fatty Acid Content of Plasma Triglycerides May Contribute to the Heterogeneity in the Relationship Between Abdominal Obesity and the Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord.* 2016;14:311–7.
136. Espinosa-Moncada J, Marín-Echeverri C, Galvis-Pérez Y, Ciro-Gómez G, Aristizábal JC, Blesso CN, et al. Evaluation of agraz consumption on adipocytokines, inflammation, and oxidative stress markers in women with metabolic syndrome. *Nutrients.* 2018;10(11).
137. ABCAM. Human Ghrelin ELISA Kit (Ghrelin-28) (ab263887) [Internet]. 2020. p. 4. Available from: <https://www.abcam.com/human-ghrelin-elisa-kit-ghrelin-28-ab263887.html>
138. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al.

- 
- ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Vol. 140, *Circulation*. 2019. 596–646 p.
139. Khan SU, Khan MZ, Raghu Subramanian C, Riaz H, Khan MU, Lone AN, et al. Participation of Women and Older Participants in Randomized Clinical Trials of Lipid-Lowering Therapies: A Systematic Review. *JAMA Netw Open*. 2020;3(5):1–12.
140. Jin X, Chandramouli C, Allocco B, Gong E, Lam CSP, Yan LL. Women's participation in cardiovascular clinical trials from 2010 to 2017. *Circulation*. 2020;540–8.
141. Liu KA, Dipietro Mager NA. Women's involvement in clinical trials: Historical perspective and future implications. *Pharm Pract (Granada)*. 2016;14(1):1–9.
142. Nugent R, Levin C, Hale J, Hutchinson B. Economic effects of the double burden of malnutrition. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10218):156–64. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32473-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32473-0)
143. Wells JC, Sawaya AL, Wibaek R, Mwangome M, Poullas MS, Yajnik CS, et al. The double burden of malnutrition: aetiological pathways and consequences for health. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10217):75–88. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32472-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32472-9)
144. Njike V, Faridi Z, Dutta S, Gonzalez-Simon AL, Katz DL. Daily egg consumption in hyperlipidemic adults - Effects on endothelial function and cardiovascular risk. *Nutr J*. 2010;9(1):1–9.
145. ZHONG VWLVH. Associations of Dietary Cholesterol or Egg Consumption With Incident Cardiovascular Disease and Mortality. *Jama*. 2019;321(11):1081–95.
146. Akici N, Onal ZE, Gürbüz T, Sağ C, Kiliñç S. Atherogenic indices in the assessment of cardiovascular disease risk in children with obesity and subclinical hypothyroidism. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 2020;16(3):334–8.
147. Kazemi T, Hajhosseini M, Moossavi M, Hemmati M, Ziaee M. Cardiovascular Risk Factors and Atherogenic Indices in an Iranian Population: Birjand East of Iran. *Clin Med Insights Cardiol*. 2018;12.
148. Lemos BS, Medina-Vera I, Blesso CN, Fernandez ML. Intake of 3 eggs per day

- when compared to a choline bitartrate supplement, downregulates cholesterol synthesis without changing the LDL/HDL ratio. *Nutrients*. 2018;10(2):1–12.
149. Mutungi G, Ratliff J, Puglisi M, Torres-Gonzalez M, Vaishnav U, Leite JO, et al. Dietary cholesterol from eggs increases plasma HDL cholesterol in overweight men consuming a carbohydrate-restricted diet. *J Nutr*. 2008;138(2):272–6.
150. Johannesen CDL, Mortensen MB, Langsted A, Nordestgaard BG. Apolipoprotein B and Non-HDL Cholesterol Better Reflect Residual Risk Than LDL Cholesterol in Statin-Treated Patients. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(11):1439–50.
151. Albuquerque MN de L, Diniz A da S, de Arruda IKG. Apolipoproteínas y su asociación con biomarcadores de riesgo cardiometabólico en adolescentes. *Nutr Hosp*. 2015;32(6):2674–83.
152. Behbodikhah J, Ahmed S, Elyasi A, Kasselmann LJ, De Leon J, Glass AD, et al. Apolipoprotein b and cardiovascular disease: Biomarker and potential therapeutic target. *Metabolites*. 2021;11(10).
153. Manjunath C, Rawal J, Irani P, Madhu K. Atherogenic dyslipidemia. *Indian J Endocrinol Metab*. 2013;17(6):969.
154. van der Made SM, Kelly ER, Berendschot TTJM, Kijlstra A, Lu'tjohann D, Plat J. Consuming a buttermilk drink containing lutein-enriched egg yolk daily for 1 year increased plasma lutein but did not affect serum lipid or lipoprotein concentrations in adults with early signs of age-related macular degeneration. *J Nutr*. 2014;144(9):1370–7.
155. Ballesteros MN, Valenzuela F, Robles AE, Artalejo E, Aguilar D, Andersen CJ, et al. One egg per day improves inflammation when compared to an oatmeal-based breakfast without increasing other cardiometabolic risk factors in diabetic patients. *Nutrients*. 2015;7(5):3449–63.
156. Mutungi G, Waters D, Ratliff J, Puglisi M, Clark RM, Volek JS, et al. Eggs distinctly modulate plasma carotenoid and lipoprotein subclasses in adult men following a carbohydrate-restricted diet. *J Nutr Biochem [Internet]*. 2010;21(4):261–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.12.011>
157. Raddatz-Mota D, Pérez-Flores LJ, Carrari F, Mendoza-Espinoza JA, de León-Sánchez FD, Pinzón-López LL, et al. Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of

- pigment and vitamin E. *J Food Sci Technol*. 2017;54(6):1729–41.
158. Böhm V, Lietz G, Olmedilla-Alonso B, Phelan D, Reboul E, Bánati D, et al. From carotenoid intake to carotenoid blood and tissue concentrations-implications for dietary intake recommendations. *Nutr Rev*. 2021;79(5):544–73.
159. Fuller NR, Sainsbury A, Caterson ID, Denyer G, Fong M, Gerofi J, et al. Effect of a high-egg diet on cardiometabolic risk factors in people with type 2 diabetes: The Diabetes and Egg (DIABEGG) Study - Randomized weight-loss and follow-up phase. *Am J Clin Nutr*. 2018;107(6):921–31.
160. Ballesteros MN, Cabrera RM, Del Socorro Saucedo M, Fernandez ML. Dietary cholesterol does not increase biomarkers for chronic disease in a pediatric population from northern Mexico. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(4):855–61.
161. Lin MH, Lu SC, Huang PC, Liu YC, Liu SY. The amount of dietary cholesterol changes the mode of effects of (n-3) polyunsaturated fatty acid on lipoprotein cholesterol in hamsters. *Ann Nutr Metab*. 2004;48(5):321–8.
162. Zampelas A, Magriplis E. New Insights into Cholesterol Functions: A Friend or an Enemy? *Nutrients*. 2019;11(7).
163. Moran LJ, Luscombe-Marsh ND, Noakes M, Wittert GA, Keogh JB, Clifton PM. The satiating effect of dietary protein is unrelated to postprandial ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(9):5205–11.
164. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Tomlinson L, Galletly C, et al. Ghrelin and measures of satiety are altered in polycystic ovary syndrome but not differentially affected by diet composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(7):3337–44.

