

IMPACTO DE DIETAS CON ALTO CONTENIDO EN GRASA SOBRE EL PERFIL DE LÍPIDOS SÉRICOS: ESTUDIO EN RATAS EN CRECIMIENTO.

IMPACT OF HIGH-FAT DIETS ON THE SERUM LIPIDS PROFILE: STUDY PERFORMED IN GROWING RATS.

PAULA PERRIS*, INÉS FERNÁNDEZ*, NÉSTOR PELLEGRINO#, CECILIA MAMBRIN*, NORA SLOBODIANIK*, MARÍA SUSANA FELIÚ*

* Cátedra de Nutrición. #Cátedra de Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 2° piso (CP 1113). Buenos Aires, Argentina.

Dra. María Susana Feliú: E-mail: msfeliu@ffyb.uba.ar

Financiado por UBA N°0020100200078

Resumen

La importancia de la cantidad y el equilibrio de los lípidos en la dieta sobre el progreso de la enfermedad cardiovascular y la obesidad, está ampliamente aceptada. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de dietas con alto contenido en grasas sobre los niveles séricos de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol de HDL (HDL-Col) y sobre el perfil de ácidos grasos de ratas en período de crecimiento. Ratas Wistar, al destete, fueron alimentadas con dietas cuyas fuentes lipídicas fueron: manteca + manteca de cacao (Grupo S); aceite de oliva + aceite de soja (Grupo M) y F%=40, administradas durante 10 y 40 días. El grupo control (C) recibió una dieta normocalórica. Se determinó la concentración de TG, CT y HDL-Col por método enzimático-colorimétrico y el perfil de ácidos grasos por cromatografía gaseosa. El grupo S presentó un aumento estadísticamente significativo de la concentración de los TG vs los otros grupos, a los 10 y a los 40 días. No se encontraron diferencias en la concentración de CT y HDL-Col entre los grupos. Cuando las dietas se administraron durante 10 días, los niveles de ácido oleico en S y M fueron superiores a los hallados en C. A los 40 días de la alimentación, el grupo S presentó aumento de ácido oleico y disminución de ácido linoleico. Estos resultados representan una posible respuesta a las diferencias en el perfil de ácidos grasos de las fuentes utilizadas y en el porcentaje de grasa aportado por las dietas al exacerbar la vía de la familia ω 9.

Palabras Claves: triglicéridos- colesterol- ácidos grasos- rata- dieta

English

Português

IMPACT OF HIGH-FAT DIETS ON THE SERUM LIPIDS PROFILE: STUDY PERFORMED IN GROWING RATS

SUMMARY

The importance of the quantity and balance of lipids in the diet on the progression of cardiovascular disease and obesity is well known. The aim of the present paper was to analyze the effect of high-fat diets on serum levels of triglycerides (TG), total cholesterol (CT) and HDL-cholesterol (HDL-Col). Weaning Wistar rats were fed with diets which lipid sources were: butter + cocoa butter (Group S); olive oil + soybean oil (Group M) and F%=40 for a period of 10

IMPACTO DE DIETAS COM ALTO TEOR DE GORDURA SOBRE O PERFIL DE LÍPIDIOS SÉRICOS: ESTUDOS EM RATOS EM CRESCIMENTO.

RESUMO

A importância da quantidade e o equilíbrio dos lipídios na dieta sobre o progresso da doença cardiovascular e a obesidade, estão amplamente aceitos. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de dietas com alto teor de gordura sobre os níveis séricos de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol de HDL (HDL-Col) e sobre o perfil de ácidos graxos de ratos em períodos de crescimento. Ratos Wistar, após o desmame, foram alimentados com

to 40 days. The control group (C) received a normocaloric diet. Serum triglyceride concentration (TG), total cholesterol (TC) and HDL cholesterol were determined by enzymatic-colorimetric method, and the fatty acid profile by gas chromatography. Serum TG values of group S significantly increased after 10 days and 40 days of administration. No differences in the concentration of TC and HDL were observed between the different experimental groups. Oleic acid levels in S and M were higher after 10 days of administration. At 40 days, oleic acid levels of group S increased while linoleic acid levels decreased. High-fat diets concentrations and the differences in the fatty acid profile of the sources were probably responsible for the changes in the oleic acids serum levels which might have exacerbated the ω 9 family route.

It is important to take into account the percentage of lipids in the diet and also the different fatty acids that compose them.

Key words: cholesterol-triglyceride - acids fatty-rat-diet

dietas cuyas fontes lipídicas foram: manteiga + manteiga de cacau (Grupo S); azeite de oliva + óleo de soja (Grupo M) e F%=40, administradas durante 10 e 40 dias. O grupo controle C recebeu uma dieta normocalórica. Foi constatada a concentração de TG, CT e HDL-Col por método enzimático-colorimétrico e o perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa. O grupo S apresentou um aumento estatisticamente significativo da concentração dos TG vs outros grupos, aos 10 e aos 40 dias. Não foram encontradas diferenças na concentração de CT e HDL-Col entre os grupos. Quando as dietas foram administradas durante 10 dias, os níveis de ácido oleico em S e M foram superiores aos encontrados em C. Aos 40 dias da alimentação, o grupo S apresentou um aumento de ácido oleico e uma diminuição de ácido linoleico. Estes resultados representam uma possível resposta às diferenças no perfil de ácidos graxos das fontes utilizadas e na porcentagem de gordura fornecida pelas dietas ao exacerbar a via da família ω 9.

Palavras-chave: triglicérides- colesterol - ácidos graxos-rato- dieta

Introducción

La importancia de la dieta en el mantenimiento del estado de salud es ampliamente aceptada y reconocida. Los lípidos dietarios, cumplen un papel esencial; además de ser la fuente de energía más concentrada, un adecuado perfil de ácidos grasos es importante para prevenir enfermedades crónicas y mejorar la calidad de vida de los individuos.¹⁻⁷ Los niños y adolescentes con sobrepeso y obesidad tienen un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Existe una estrecha correlación entre la obesidad durante la niñez y la obesidad durante la vida, la cual aumenta con la edad. La prevención de la obesidad desde la niñez disminuiría en forma significativa la morbimortalidad del adulto.⁸⁻¹⁰ En este contexto, los lípidos son reconocidos como fuente de ácidos grasos esenciales (AGE), representados por los ácidos grasos de la familia ω 3 y ω 6. La importancia de éstos se debe a su función en el organismo: participan en la formación de fosfolípidos de membrana, actúan como precursores en la síntesis de las prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, prostaciclina, todos ellos compuestos con funciones biológicas determinadas, pudiéndose mencionar entre ellas: la regulación de la tensión arterial, la agregación plaquetaria, la modulación de procesos inflamatorios, etc. Los ω 3 son protectores de la salud cardiovascular: disminuyen la concentración sanguínea de triglicéridos y colesterol, son débiles agregantes plaquetarios, previenen arritmias y mejoran la microcirculación. El consumo de ω 6 disminuye el nivel de colesterol total y el LDL colesterol.^{3,11,12}

Las familias ω 3, ω 6 y ω 9 (Ácido Oleico), comparten la misma ruta biosintética, utilizando las mismas enzimas (desaturasas y elongasas). De las tres series, la ω 3 es la que presenta la mayor afinidad por las mismas, sin embargo, altos niveles de ácido linoleico (AL) pueden inhibir la conversión de ácido alfa linoléico (AAL) en eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). FAO-OMS recomienda que la dieta tenga una relación ω 6/ ω 3 entre 5 a 10. Sin embargo en la mayor parte de los países industrializados de occidente, se consume una dieta muy desequilibrada en favor de los ácidos grasos ω 6 (relación ω 6/ ω 3 = 20:1); esto mismo se observa en nuestro país, con un elevado consumo de aceite de girasol. Por otra parte, el tipo y la cantidad de ácidos grasos de la dieta consumida habitualmente por el hombre, tiene un efecto directo tanto en la concentración de los lípidos plasmáticos como de las distintas lipoproteínas.¹³⁻¹⁶

Teniendo en cuenta lo expuesto y debido a la importancia de la cantidad y el equilibrio de los lípidos en la dieta sobre el progreso de la enfermedad cardiovascular y la obesidad, el objetivo de este trabajo es analizar el efecto de dietas con alto contenido en grasas sobre los niveles séricos de triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL-col) y el perfil de ácidos grasos en ratas en período de crecimiento activo.

Materiales y métodos

Ratas bien nutridas durante la lactancia (6-8 crías por madre) se destetaron al llegar a un peso entre

35-40 gramos (21-23 días de edad), momento a partir del cual fueron alimentadas con dietas conteniendo 40 Kcal lipídicas en 100 Kcal totales (F%). Las fuentes lipídicas utilizadas fueron:

1. manteca (83%) + manteca de cacao (17%) (Grupo S) o
2. aceite de oliva (89%) + aceite de soja (11%) (Grupo M)

Como controles bien nutridos se utilizaron ratas que desde el destete recibieron dieta normocalórica (Grupo C). Todas las dietas aportaron 20% de proteína y el resto de los nutrientes según Recomendaciones Internacionales actuales (AIN-93).²⁶ Las dietas fueron administradas durante 10 y 40 días. En las experiencias se utilizaron 6-8 animales por lote, fueron realizadas por duplicado y los resultados corresponden al promedio de éstas. Los animales fueron pesados al comienzo y al final de cada período experimental.

De las formas de alimentación utilizadas comúnmente en Nutrición Experimental se ha seleccionado para este trabajo la técnica de alimentación "ad libitum". En ésta se ofrecen a los animales una cantidad de dieta superior a la que pueden consumir; y se determina la ingesta voluntaria después de un lapso determinado por pesada remanente. En los lotes experimentales se determinó el consumo de dieta, cada 2 - 3 días.

En todas las experiencias se utilizaron ratas de la cepa Wistar, de colonia cerrada del bioterio de las Cátedras de Bromatología y Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Las ratas se alojaron individualmente en jaulas de acero galvanizado de piso de malla. El perfil de ácidos grasos de las dietas se determinó

por cromatografía gaseosa (GC) y se calcularon las relaciones $\omega 6/\omega 3$ y Ácidos Grasos Insaturados/Ácidos Grasos Saturados (AGI/AGS).

Al final del período experimental, los animales se mantuvieron 3-4 horas en ayuno y fueron sacrificados, previa anestesia con ketamina/clorhidrato de xilazina, por punción venosa. Se recogió sangre entera, se centrifugó y sobre el suero se determinó la concentración de TG (mg/dL); CT (mg/dL) y HDL (mg/dL) por método enzimático-colorimétrico en Equipo Automatizado¹⁷ y el perfil de ácidos grasos por GC previa extracción de los lípidos para obtener los metilésteres derivados de los ácidos grasos. Los ácidos grasos se identificaron de acuerdo a su tiempo de retención. Los resultados obtenidos se expresaron en porcentajes de ácidos grasos totales, tomándose como límite de cuantificación un valor de 0.05 %. (% área media \pm DE).¹⁸

El análisis de la información obtenida se realizó utilizando test de Student, considerando significativas las diferencias de medias con un $p < 0.01$.

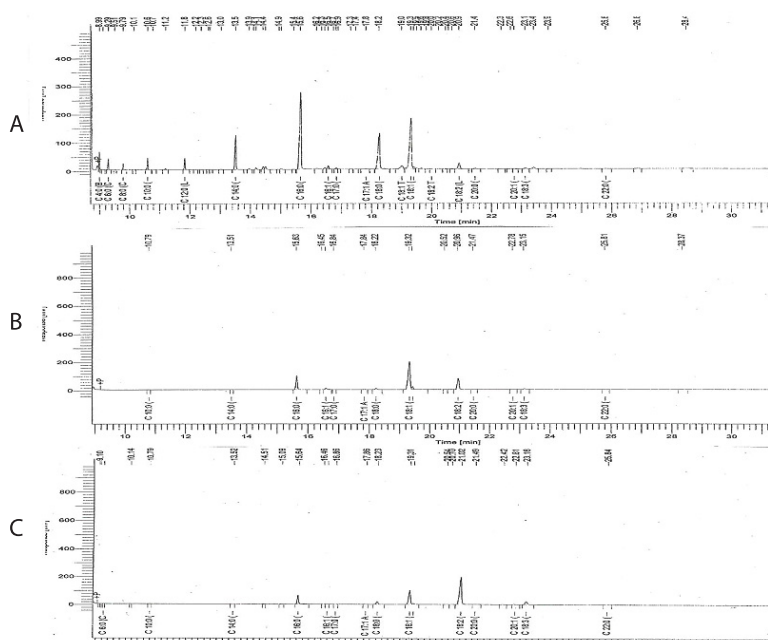
Resultados

En la Tabla 1 se presentan los resultados del consumo de dieta registrados a lo largo de las diferentes experiencias. No se hallaron diferencias significativas entre los grupos cuando se expresa el consumo en g/día y en función de la masa metabólicamente activa.

En la Figura 1 se muestran los cromatogramas de las dietas de los grupos S, M y C. Se observa el diferente perfil de ácidos grasos, en función de su composición.

FIGURA 1

Cromatogramas de las diferentes dietas



A: Dieta grupo S; B: Dieta grupo M; C: Dieta grupo C.

TABLA 1
Consumo de las dietas por los diferentes grupos (media ±DE)

	g/día		mg/P ^{0.75}	
	10 días	40 días	10 días	40 días
Grupo S	9.46±0.57	13.90±2.24	406.61±30.77	316±31.33
Grupo M	9.00±0.61	12.2±2.59	394.32±25.55	287±14.81
Grupo C	8.69±0.66	11.95±1.17	400±12.23	306±20.94

En la Tabla 2 se presentan los valores de los ácidos grasos: Palmítico, Esteárico, Oleico, Linoleico y Linolénico. La dieta del grupo S ofrece un mayor aporte de ácidos grasos saturados y la dieta del grupo M contiene un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados respecto de la dieta del grupo control. Las tres dietas reflejan una relación ω6/ω3 dentro del rango recomendado, y sólo la dieta S presenta distorsionada la relación AGI/AGS (< 1.5).

La Tabla 3 muestra la concentración sérica de TG, CT y c-HDL en los diferentes grupos. Se observa que el grupo S, que recibe la dieta durante 10 días, presenta un aumento estadísticamente significativo en la concentración de los TG respecto de los otros grupos (vs grupo C p= 0.0055 y vs el grupo M p= 0.0081); el grupo S que recibió la dieta durante 40 días también presenta diferencia significativa con ambos grupos (C p=0.0045 M p=0.0126). No se encontraron diferencias

en la concentración de CT y HDL, entre los diferentes grupos experimentales.

En la tabla 4 se presenta el Perfil de Ácidos Grasos en suero de los grupos experimentales y el control. Cuando las dietas se administraron durante 10 días, los niveles séricos de ácido oleico en los grupos S (p= 0.0049) y M (p= 0.0096) fueron superiores al grupo C. Por otra parte, cuando el período de administración fue de 40 días, el grupo S presentó un aumento significativo en los niveles de ácido oleico (p= 0.0005) y disminución en la concentración de ácido linoleico respecto del grupo C (p= 0.0027). El grupo M muestra una tendencia hacia valores altos de ácido oleico pero no es estadísticamente diferente al grupo C. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los otros ácidos grasos estudiados en ambos períodos de administración de las dietas.

TABLA 2
Perfil de ácidos grasos de las diferentes dietas (% área media ± DE)

Ácido graso	Dieta Grupo S	Dieta Grupo M	Dieta Grupo C
Palmítico	27.79	16.66	10.51
Esteárico	15.42	1.98	4.1
Ácido Oleico	23.74	53.10	22.78
Ácido Linoleico	2.61	19.06	53.31
Ácido Linolénico	0.38	1.27	5.92
Relación ω6/ω3	8.7/1	15/1	9/1
Relación AGI/AGS	0.54	4.2	5.0

TABLA 3
Concentración de TG, CT y HDL en los diferentes grupos (mg/dL, media ± DE)

GRUPOS	10 DÍAS	40 DÍAS
	TG(mg/dL)	TG(mg/dL)
S	191.9 ± 66.5*	191.1 ± 49.2*
M	98.1 ± 49.0	100.1 ± 34.3
C	94.1 ± 37.7	98.3 ± 26.9
	CT (mg/dL)	CT (mg/dL)
S	83.8 ± 10.9	95.0 ± 6.7
M	78.2 ± 10.5	95.4 ± 10.7
C	81.1 ± 14.8	83.3 ± 7.2
	HDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)
S	32.5 ± 11.0	41.1 ± 5.6
M	36.8 ± 9.0	48.9 ± 6.3
C	32.9 ± 9.5	42.2 ± 15.5

TABLA 4

Perfil de Ácidos Grasos en suero (% área media ± DE)

	Grupo S		Grupo M		Grupo C	
	10d	40d	10d	40d	10d	40d
PALMÍTICO	18.1±4.5	22.7±4.2	22.2±1.6	20.7±3.1	18.1±4.5	18.3±2.4
ESTEÁRICO	16.8±0.5	14.8±1.3	16.4±2.3	14.8±2.5	15.2±1.5	13.3±1.3
OLEICO	20.5±2.4*	24.3±1.9*	21.0±5.1*	25.9±7.4	11.4±3.4	15.0±1.7
LINOLEICO	6.7±1.1	7.1±0.8*	9.2±1.6	11.2±4.0	7.3±0.8	10.4±1.2
LINOLÉNICO	0.6±0.2	0.4±0.2	0.5±0.3	0.5±0.2	0.9±0.7	0.3±0.04
ARAQUIDÓNICO	3.7±0.7	5.3±1.6	3.2±0.8	5.2±1.2	3.64±1.93	5.4±3.4

Discusión y Conclusiones

A pesar de su alto porcentaje de grasa, las dietas tuvieron una buena aceptación por parte de las ratas y el consumo de los diferentes grupos no fue diferente al grupo control.

Los resultados del trabajo muestran que dietas con alto contenido en grasa saturada, que llevan a una distorsión en la relación AGI/AGS, provocan aumento en los TG, manifestando el mismo efecto a corto y largo periodo de administración. Este efecto sería consecuencia del tipo de grasa recibida más que a la elevada concentración de lípidos de la dieta ya que el grupo M no evidencia cambios.

Al analizar el perfil de ácidos grasos, es importante remarcar que la administración de estas dietas experimentales durante tiempo corto -10 días- provocó modificaciones en los niveles séricos de ácido oleico. Al prolongar la alimentación hasta 40 días, se observa el mismo comportamiento y además el grupo S presenta disminución del ácido linoleico. El aumento de ácido oleico en el grupo M a los 40 días no es significativo debido a la alta dispersión, pero se puede observar una tendencia a valores superiores.

Posiblemente estos resultados sean respuesta a las

diferencias en el perfil de ácidos grasos de las fuentes utilizadas y en el porcentaje de grasa aportado por las dietas que exacerbarían la vía de la familia ω 9; podemos suponer que las altas concentraciones séricas de ácido oleico del grupo S podrían deberse al alto porcentaje de palmítico y esteárico aportado por la dieta. La ruta de los ácidos grasos saturados, luego de procesos de elongación y desaturación, origina ácido oleico. Los cambios en el perfil sérico de ácidos grasos no se evidenciaron en forma simultánea para todos los ácidos grasos. En S fue necesario el consumo de dieta por 40 días para que se manifestara la disminución de los ácidos grasos de la familia omega 6, aunque sin cambios en la proporción del ácido araquidónico. Se estima que sería necesario extender el tiempo de administración de la dieta.

Los resultados obtenidos remarcan la influencia de la alimentación sobre los lípidos y su posible incidencia sobre ciertos factores de riesgo de enfermedades crónicas. Por ello, no sólo es importante tener en cuenta el porcentaje de lípidos de las dietas consumidas, sino también los diferentes ácidos grasos que la componen.

Referencias bibliográficas

- 1- Erkkilä A, de Mello VD, Riserus U, Laaksonen DE. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: An epidemiological approach. *Prog Lipid Res.*; 47:172–187, 2008.
- 2- Gregory A Jicha and William R Markesbery. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging*; 5: 45–61, 2010.
- 3- Adam J. Chicco, Genevieve C. Sparagna, Sylvia A. McCune et al. Linoleate-rich high-fat diet decreases mortality in hypertensive heart failure rats compared to lard-rich and low-fat diets *Hypertension*; 52(3): 549–555, 2008.
- 4- Anandan C, Nurmatov U, Sheikh A. Omega 3 and 6 oils for primary prevention of allergic disease: systematic review and meta-analysis. *Allergy*; 64(6):840-8, 2009.
- 5- De Spirt S, Stahl W, Tronnier H et al. Intervention with flaxseed and borage oil supplements modulates skin condition in women. *Br J Nutr.*; 101(3):440-5, 2009.
- 6- Surette ME, Stull D, Lindemann J. The impact of a medical food containing gamma-linolenic and eicosapentaenoic acids on asthma management and the quality of life of adult asthma patients. *Curr Med Res Opin.*; 24(2):559-67, 2008.

- 7- Weaver KL, Ivester P, Seeds M, Case LD, Arm JP, Chilton FH. Effect of dietary fatty acids on inflammatory gene expression in healthy humans. *J Biol Chem*. 2009 Jun 5;284(23):15400-7. Epub 2009.
- 8- Burrows, Raquel. Prevención y tratamiento de la obesidad desde la niñez: la estrategia para disminuir las enfermedades crónicas no transmisibles del adulto. *Rev. méd. Chile* v.128 n.1 Santiago ene. 2000.
- 9- Harika RK, Cosgrove MC, Osendarp SJ, Verhoef P, Zock PL. Fatty acid intakes of children and adolescents are not in line with the dietary intake recommendations for future cardiovascular health: a systematic review of dietary intake data from thirty countries. *Br J Nutr* 18:1-10, 2011.
- 10- Perris P, Fernandez I., Feliu MS., y col. "Perfil Lipídico En Un Grupo De Niños En Riesgo Social". *Actualización en Nutrición*, vol.7 Nº2: 72-74, 2006
- 11- Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*; 21:495-505, 2002.
- 12- Schirmer MA, Phinney SD. Gamma-linolenate reduces weight regain in formerly obese humans. *J Nutr*; 137(6):1430-5, 2007.
- 13- Stanley JC, Elsom RL, Calder PC et al. UK Food Standards Agency Workshop Report: the effects of the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio on cardiovascular health. *British Journal of Nutrition* 98:1305-1310, 2007.
- 14- Simopoulos A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedecine & Pharmacotherapy* Volume 56, Issue 8, Pages 365-379, 2002.
- 15- Pérez-Jiménez F, Ruano J, Pérez martinez P, López-Segura F, López-Miranda J. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res* 51(10): 1199-208, 2007.
- 16- Waterman E, Lockwood B. Active components and clinical applications of olive oil. *Altern med Rev* 12(4):331-42, 2007.
- 17- Fernandez I. Ácidos Grasos Poliinsaturados de la familia ω 3 y Recuperación Nutricional. Estudio En Modelo Experimental. (Tesis doctoral). Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2003.
- 18- Guy Lepage and Claude C. Roy. "Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction". *Journal of Lipid Research* Volume 27, 1986.