

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS
“DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ”
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL
SANTA CLARA, VILLA CLARA

ARTÍCULO ORIGINAL

MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERLIPIDEMIA CON EL EMPLEO DE CASEÍNA Y GRASAS SATURADAS

Por:

MSc. Yisel González Madariaga¹, MSc. Dra. Carmen Sánchez Álvarez², Ing. Orestes Castillo Alfonso³, MSc. Maibia Tamayo Irsula⁴ y Téc. Belkis Verdecía Machado⁵

1. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Bioquímica General. Unidad de Toxicología Experimental. Profesora Auxiliar e Investigadora Auxiliar. UCM-VC. e-mail: yiselgm@ucm.vcl.sld.cu
2. Doctora en Medicina veterinaria. Máster en Toxicología Experimental. Unidad de Toxicología Experimental. Profesora Auxiliar e Investigadora Auxiliar. UCM-VC. e-mail: carmensa@ucm.vcl.sld.cu
3. Ingeniero Pecuario. Unidad de Toxicología Experimental. Asistente. UCM-VC. e-mail: orestesca@ucm.vcl.sld.cu
4. Licenciada en Ciencias farmacéuticas. Máster en Biotecnología. Unidad de Toxicología Experimental. Instructora e Investigadora aspirante UCM-VC. e-mail: maibiati@ucm.vcl.sld.cu
5. Técnico en Veterinaria. Unidad de Toxicología Experimental. UCM-VC. e-mail: belkisvm@ucm.vcl.sld.cu

Resumen

En el presente trabajo se evaluó el efecto hiperlipídico de una dieta combinada de caseína y grasas saturadas, en un modelo biológico conformado por ratas Wistar. Se integraron tres grupos experimentales de seis animales cada uno: el primero (grupo control) consumió una dieta convencional; el segundo, una dieta convencional combinada con caseína y grasa de cerdo al 20 %, y el tercero, la dieta convencional suplementada solamente con grasa de cerdo al 20 %. Fueron cuantificados el colesterol y los triacilglicéridos por métodos enzimáticos en tres momentos diferentes: al comienzo del estudio, a los 15 días y al finalizar este. El incremento de peso corporal, una vez finalizada la investigación, no mostró diferencias significativas entre los grupos de experimentación. El grupo de la dieta combinada elevó el perfil lipídico más eficientemente que el que solo consumió grasas saturadas, lo cual confirma que el modelo experimental de hiperlipidemia inducida por dieta suplementada con caseína y grasas saturadas es el más eficaz para la elevación del perfil lipídico.

Descriptores DeCS:

HIPERLIPIDEMIA/inducido químicamente
CASEINAS/administración & dosificación
ACIDOS GRASOS/administración &
dosificación
ANIMALES DE LABORATORIO

Subject headings:

HYPERLIPIDEMIA/chemically induced
CASEINS/administration & dosage
FATTY ACIDS/administration & dosage
ANIMALS, LABORATORY

Introducción

La aterosclerosis es la causa principal de las denominadas enfermedades cardiovasculares, ubicadas entre las primeras causas de muerte en nuestro país. El colesterol está estrechamente relacionado con el desarrollo de la lesión aterosclerótica; sin embargo, a diferencia de otros factores de riesgo, la hipercolesterolemia es modificable, y es posible prevenir, retardar o incluso revertir el proceso aterosclerótico^{1,2}. En la actualidad, no existe curación para la aterosclerosis; no obstante, el objetivo principal del tratamiento es prevenir la obstrucción de las arterias para impedir el desarrollo de sus síntomas. Esta situación justifica el gran interés que existe en la comunidad científica por investigar sobre los fenómenos relacionados con la elevación de los parámetros lipídicos (colesterol y triacilglicéridos, principalmente) al constituir una de las causas del establecimiento de la aterosclerosis.

En la literatura consultada, se han descrito varios estudios donde se induce la alteración del perfil lipídico en diversos modelos biológicos³⁻⁶. En ratas, la hipercolesterolemia puede ser inducida a través de la dieta utilizando combinaciones de colesterol y grasa saturada⁷⁻⁹ o combinaciones de estos y proteínas, como la caseína¹⁰⁻¹².

La caseína (del latín *caseus*, "queso") es una fosfoproteína presente en la leche y en algunos de sus derivados fermentados, como el yogur o el queso, es específica de cada especie y se clasifica, de acuerdo con su movilidad electroforética, en los siguientes grandes grupos: α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, β -caseína y κ -caseína¹³.

Algunos investigadores han observado cómo el efecto hipercolesterolémico de esta proteína se incrementa cuando se administra con una dieta elevada en colesterol o grasas saturadas¹⁴. Por otra parte, se conoce que esta proteína disminuye la excreción fecal de ácidos biliares, lo que pudiera ser una de las causas de los valores elevados del colesterol plasmático¹⁵. Un aspecto interesante es que la composición aminoacídica de la caseína incluye un número variado de aminoácidos pero, al parecer, son los aminoácidos sulfurados los que están relacionados con la variación en el perfil lipídico observado¹⁰.

La comprobación de plantas que reducen el colesterol o los triacilglicéridos forma parte de una de las líneas de investigación de nuestro centro, por lo que se impone la búsqueda, la adecuación y la estandarización de modelos experimentales óptimos que garanticen la evaluación correcta de plantas hipolipémicas; esta es la razón por la cual en la presente investigación se evalúa el efecto hiperlipídico de una dieta combinada de caseína y grasas saturadas administrada durante un mes a ratas Wistar.

Métodos

Se utilizó como modelo biológico ratas macho Wistar, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), con el correspondiente certificado de calidad y con un peso corporal que osciló entre los 180 g y 200 g.

Los tres grupos experimentales, de seis animales cada uno, fueron formados aleatoriamente. El primer grupo (control negativo) consumió una dieta convencional, el segundo una dieta combinada con caseína (20 %) y grasa de cerdo (20 %) y el tercero, la dieta convencional combinada con grasa de cerdo (20 %).

En este trabajo, se empleó como fuente natural de grasas saturadas la llamada manteca de cerdo, obtenida mediante un proceso de cocción de la región abdominal de cerdos saludables, provenientes del matadero de Salamina en la carretera a Camajuaní.

Antes de cualquier intervención, se tomaron muestras de sangre de cada animal, a los 15 días de comenzado el estudio (t_1) y al finalizar el experimento (t_F), por el método del plexo orbital; para la cuantificación del colesterol total y de los triacilglicéridos (TAG) por métodos enzimáticos (t_0). Semanalmente se monitorizaron otras variables, como el peso corporal (g), el consumo de alimentos y las manifestaciones clínicas: tiempo en que estas comienzan, grado y duración. Los datos fueron procesados por el paquete estadístico SPSS para Windows Versión 8.0. Se determinó la media y la desviación estándar de los indicadores evaluados para cada grupo experimental. Las comparaciones entre grupos fueron realizadas utilizando las pruebas de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, con un intervalo de confianza del 95 %.

Resultados

La ganancia neta de peso corporal fue de 99 g, 142 g y 119 g para el grupo control, para el de dieta hiperproteica combinada con grasas saturadas y para el de la dieta hiperlipídica suplementada solamente con grasas saturadas, respectivamente.

La figura 1 muestra cómo los animales que recibieron las dietas hiperlipídicas incrementaron su peso significativamente después de la primera semana del ensayo; sin embargo, este incremento tendió a la normalidad y a la paridad entre los tres grupos al finalizar el estudio. Entre los grupos con el régimen de dieta hiperlipídica, no se observaron diferencias significativas en cuanto al incremento del peso corporal.

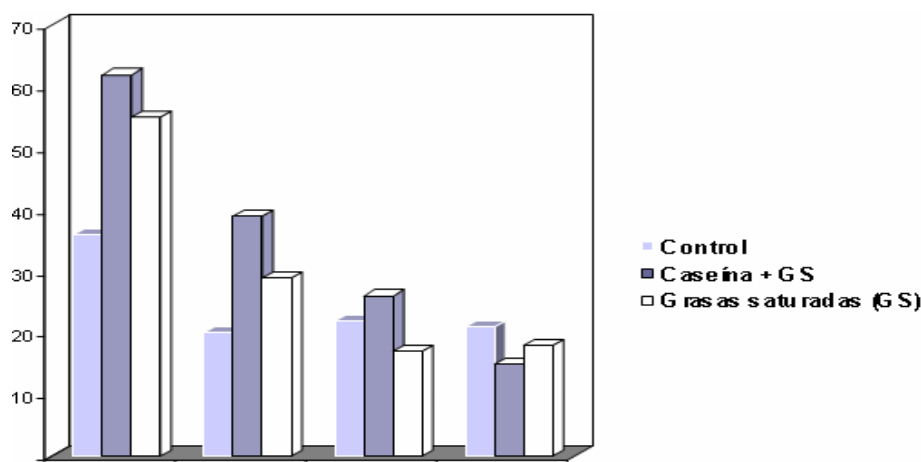


Fig 1 Ganancia de peso corporal en los animales de experimentación durante el estudio.

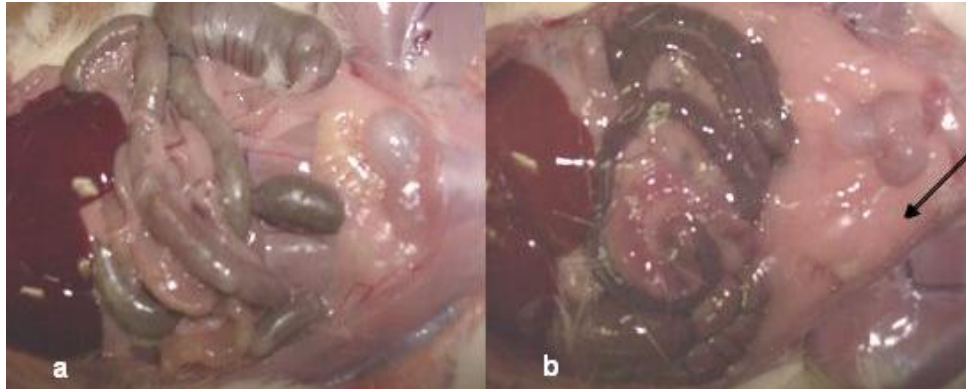
Los resultados obtenidos en la evaluación del perfil lipídico en los tres momentos de toma de muestra: t_0 (momento inicial), t_1 (después de quince días de estar consumiendo la dieta) y t_F : (final) están reflejados en la tabla.

Tabla Valores de colesterol plasmático y de TAG en los grupos de experimentación durante el estudio, expresados como la media \pm desviación estándar.

Grupos	COLESTEROL (mg/mL)			TAG (mg/mL)		
	t ₀	t ₁	t _F	t ₀	t ₁	t _F
Control negativo Grupo I	1,45 \pm 0,2838	1,493 \pm 0,1438	1,5117 \pm 0,4925	0,3233 \pm 0,0612	0,5233 \pm 0,2183	0,9 \pm 0,2595
Caseína + grasas saturadas Grupo II	1,415 \pm 0,1894	1,946 \pm 0,1844	2,57 \pm 0,23	0,4267 \pm 0,1521	1,3417 \pm 1,0398	2,0367 \pm 0,6716
Grasas saturadas Grupo III	1,358 \pm 0,2831	1,882 \pm 0,3613	2,522 \pm 0,2975	0,374 \pm 0,1573	1,312 \pm 0,7644	1,442 \pm 1,126

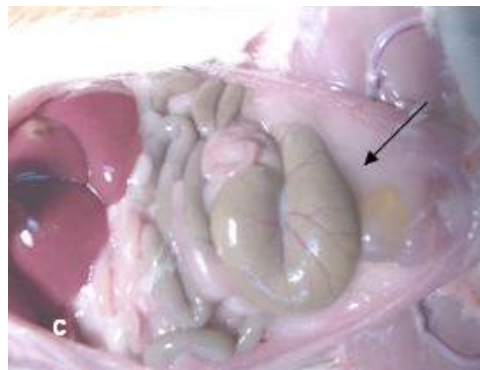
El análisis estadístico de los resultados muestra un alto nivel de significación para el efecto hipercolesterolémico e hipertrigliceridémico de la dieta combinada con caseína y grasas saturadas ($\alpha = 0,004$ para ambos indicadores). Sin embargo, para la dieta suplementada con grasas saturadas solo se observó en el período del estudio un efecto hipercolesterolémico ($\alpha = 0,004$); no fue significativo el incremento de los TAG ($\alpha = 0,15$) en comparación con el grupo control.

El análisis anatomopatológico de los órganos de la región abdominal, en los diferentes animales, confirmó la mayor deposición de tejido graso en los animales pertenecientes al segundo y tercer grupos, en comparación con el primero, que consumió la dieta convencional (Fig 2).



a) Grupo control: Se observa la coloración característica de la cavidad y la deposición de grasa según la edad.

b) Grupo de dieta combinada con caseína y grasas saturadas: Se aprecia una coloración característica de la cavidad y un incremento en la deposición de tejido adiposo.



c) Grupo de dieta suplementada con grasas saturadas: Aparece una coloración característica de la cavidad y un incremento en la deposición del tejido adiposo, aunque menor que en b.

Fig 2 Cavity abdominal de tres ejemplares pertenecientes a cada uno de los grupos de experimentación después de un mes de inducción de la hiperlipidemia.

Discusión

El análisis estadístico, según la prueba no paramétrica de Mann–Whitney, demuestra que el grupo que consumió la dieta combinada con caseína y grasas saturadas eleva el perfil lipídico más eficientemente que el grupo que consumió grasas saturadas en la dieta.

La tabla muestra claramente cómo, al finalizar el estudio, el segundo grupo alcanzó valores superiores de colesterol plasmático y de TAG a los obtenidos por los grupos de experimentación restantes.

Estos resultados coinciden con el empleo de esta proteína de origen animal en numerosos modelos biológicos (sola, combinada con colesterol o en una dieta hipercalórica), para la obtención de animales hiperlipémicos^{11,12}. El estudio solamente se prolongó durante un mes, lo cual justifica que los valores de colesterol obtenidos no sean lo suficientemente elevados, si tenemos en cuenta

que para el modelo experimental el valor máximo aceptable como fisiológico es de 2,48 mmol/L. Resultado similar obtuvimos con los TAG; aunque aumentaron en ambos grupos de inducción de hiperlipidemia con respecto al grupo control, las diferencias no son tan marcadas. Una vez más comprobamos que el efecto de cualquier dieta hiperlipémica en el organismo no es inmediato y está relacionado con el fallo, a largo plazo, de los mecanismos metabólicos compensatorios para disminuir los niveles de lípidos provenientes de fuentes exógenas.

Summary

In the current research it was evaluated the hyperlipidic effect of a combined diet with casein and saturated fats, in a biological model conformed by Wistar's rats. Three experimental groups were integrated with six animals in each one. The first group (control group) consumed a conventional diet; the second group, a conventional diet combined with casein and pig fat at 20 %; and the third one, the same conventional diet supplemented just with pig fat at 20 %. The cholesterol and triacylglycerols were quantified by means of enzymatic methods in three different moments: at the beginning of the study, after 15 days and at the end of this. The increase of body weight, once it was finished the research, didn't show significant differences among the experimental groups. The group of the combined diet increased its lipidic profile more efficiently than the group that just consumed saturated fats, which confirms that the experimental model of induced hyperlipidaemia by supplemented diet with casein and saturated fats is the most effective for the elevation of lipidic profile.

Referencias bibliográficas

1. Libby P. Patogenia de la aterosclerosis. En: Harrison. Principios de Medicina Interna. 15ta. ed. México: McGraw Gill; 2000. p. 1618-23.
2. Hodis HN, Mack WJ, Dustin L, Mahrer PR, Azen SP, Detrano R, et al. High-dose B vitamin supplementation and progression of subclinical atherosclerosis: a randomized controlled trial. *Stroke*. 2009 Mar;40(3):730-6.
3. Kritchevsky D, Tepper SA, Kim HK, Moses DE, Story JA. Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. 4. Investigation into the source of cholesteremia. *Exp Mol Pathol*. 1975 Feb;22(1):11-9.
4. Gil AH, Ramírez MT, Aguilera MG, Mesa MG. Modelos experimentales de enfermedad cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2007 Abr [citado el 18 de noviembre de 2009];22(2):169-77. Disponible en: http://www.scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000200006&lng=es
5. Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, et al. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays L*) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2007;24(2):157-62.
6. Marchesi M, Parolini C, Diani E, Rigamonti E, Cornelli L, Arnoldi A, et al. Hypolipidaemic and anti-atherosclerotic effects of lupin proteins in a rabbit model. *Br J Nutr*. 2008 Mar;4:1-4.
7. Mendonça S, Saldiva PH, Cruz RJ, Arêas JA. Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Export Food Chemistry*. 2009;116(3):738-42.
8. Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of *Melissa officinalis L.* extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. *J Ethnopharmacol*. 2005;99(3):391-8.
9. Leite SM, Heberth P, Pedrosa ML, Cardoso R, de Oliveira E, Alves D, et al. Dietary Models for Inducing Hypercholesterolemia. *Braz Arch Biol Technol Rats*. 2005;48(2):203-9.
10. Sugiyama K, Muramatsu K. Significance of the amino acid composition of dietary protein in the regulation of plasma cholesterol. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1990 Oct;36(Suppl. 2):S105-10.

11. Reza NM, Fatemeh BR, Fahimeh MT, Fatemeh ZN, Morteza BR. Hypocholesterolemic effects of dietary soybean vs. casein proteins in a crossed over diets in rat. *Pak J Biol Sci.* 2008 Jun 1;11(11):1467-71.
12. Brandsch C, Shukla A, Hirche F, Stangl GI, Eder K. Effect of proteins from beef, pork, and turkey meat on plasma and liver lipids of rats compared with casein and soy protein. *Nutrition.* 2006 Nov-Dec;22(11-12):1162-70.
13. Schlimme E. La leche y sus componentes. Propiedades químicas y físicas. Zaragoza: Acribia S.A; 2002.
14. Lovati MR, West CE, Sirtori CR, Beynen AC. Dietary animal proteins and cholesterol metabolism in rabbits. *Br J Nutr.* 1990 Sep;64(2):473-85.
15. Kuyvenhoven MW, Roszkowski WF, West CE, Hoogenboom RL, Vos RM, Beynen AC, et al. Digestibility of casein, formaldehyde-treated casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. *Br J Nutr.* 1989 Sep;62(2):331-42.

Recibido: 8 de septiembre de 2010

Aprobado: 5 de octubre de 2010