

EFECTOS DE LAS DIETAS ENRIQUECIDAS CON MARGARINA SOBRE EL CRONOTROPISMO AURICULAR Y LA POTENCIACIÓN POSREPOSO VENTRÍCULAR DERECHA DE RATAS Sprague-Dawley

Edwar José Zúñiga¹, Candelaria Alfonso-Pérez²

RESUMEN: La margarina es fuente de ácidos grasos saturados (AGS), insaturados y trans (AGT) en la dieta diaria, estos son incorporados en los fosfolípidos de las membranas celulares. Nos planteamos un estudio experimental de los efectos de los AGS y AGT de la margarina en la cinética de potenciación posreposo ventricular derecha y el cronotropismo auricular en corazón de rata. Tres grupos de ratas Sprague-Dawley recibieron alimento estándar enriquecido con aceite de soya o margarina, respectivamente, por 4 semanas. Se estudió el cronotropismo auricular utilizando dosis crecientes de Epinefrina y en ventrículo derecho, la fuerza de estado estable y la potenciación post-reposo en presencia y ausencia de Verapamil. Las dietas enriquecidas con margarina disminuyeron significativamente ($P < 0,05$) la fuerza contráctil del estado estable y la cinética de potenciación post-reposo en comparación a las otras dietas mientras que no se encontró diferencias en el cronotropismo auricular.

Palabras clave: Margarina, Ácidos grasos trans, Potenciación posreposo, Ventrículo derecho.

ABSTRACT: Margarine is a source of saturated fatty acids (SFA), unsaturated and trans (TFA) in daily diet, these are incorporated into the cell membranes phospholipids. We considered an experimental study about the effects of margarine's SFA and TFA on the right ventricle post-rest potentiation kinetics and atrial chronotropism in rat heart. Three groups of Sprague-Dawley rats received standard food enriched with soybean oil or margarine, respectively, for 4 weeks. We studied the atrial chronotropism using increasing doses of epinephrine and in right ventricle, steady-state force and post-rest potentiation in presence and absence of Verapamil. Margarine-enriched diets significantly reduced ($p < 0,05$) contractile force in steady-state and post-rest potentiation kinetics in comparison to other diets, while no differences were found in atrial chronotropism.

Key words: Margarine, Trans fatty acids, Post-rest potentiation, Right ventricle.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del corazón son la primera causa de mortalidad en Venezuela y en el Mundo, representan el 30 % de las muertes en el planeta, correspondiendo el 80 % a países del tercer mundo. Según la Organización

Mundial de la Salud, la dieta inadecuada es uno de los principales factores de riesgo asociados a estas muertes. En Venezuela, la mayor parte del consumo calórico diario se agrupa en alimentos ricos en carbohidratos y lípidos; dentro de los lípidos consumidos, se destacan la mezcla de aceites vegetales, la margarina y en menor grado la mantequilla⁽¹⁾.

La margarina es un producto que se obtiene de la hidrogenación de aceites vegetales comestibles. El proceso de hidrogenación de estos aceites, que contienen ácidos grasos cis, conlleva a la formación de isómeros trans⁽²⁾. Existe gran controversia acerca de la seguridad y la repercusión nutricional con el consumo de las

Sección de Investigaciones Cardio-Renales, Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela

¹ Médico Cirujano. Escuela de Medicina "Luis Razetti", Facultad de Medicina UCV

² MSc. Ciencias Fisiológicas. Sección de Investigaciones Cardio-Renales, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina UCV.

Proyecto financiado parcialmente por el CDCH-UCV

Recibido: 11-12-09.

Aceptado: 18-03-10.

margarinas. Al inicio de los años 90, varios estudios demostraron que los ácidos grasos trans (AGT) pueden incrementar el colesterol de la LDL y disminuir el colesterol de la HDL. Se ha demostrado la asociación del consumo de AGT con enfermedades cardiovasculares como infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca, arritmias cardíacas y muerte súbita, además con disfunción endotelial y aterosclerosis. En Venezuela, las etiquetas nutricionales de productos comerciales no reportan el contenido de AGT y no existe regularización sobre el contenido de los mismos en los alimentos de consumo nacional.

En este trabajo nos propusimos estudiar los efectos de las dietas enriquecidas con margarina y aceite de soya en el cronotropismo de aurículas aisladas, la fuerza de estado estable y la cinética de potenciación posreposo en tiras de ventrículo derecho de ratas Sprague-Dawley.

MÉTODOS

Se utilizaron ratas machos Sprague-Dawley del Bioterio del Instituto de Medicina Experimental con un peso inicial de 160 ± 20 g. La dieta basal o estándar utilizada fue Ratarina®, compuesta por lípidos 2 %, proteínas 25 %, carbohidratos 41 % y fibra cruda 6 %. Los grupos de estudio fueron: 1) Grupo control (RC), dieta basal (Ratarina®). 2) Grupo Soya (RS), que recibió dieta basal enriquecida con 10 % de aceite de soya libre de AGT. 3) Grupo Margarina (RM) que recibió dieta basal enriquecida con 10 % de margarina. La duración de las dietas fue de 4 semanas. La composición de los ácidos grasos presentes en las muestras de Ratarina®, aceite de soya y margarina vegetal fue determinada por cromatografía de fase gas-líquido, usando el equipo Agilent Hewlett-Packard 6890 Series®, detector de ionización por llama, y columna capilar Agilent Hewlett-Packard 88®. Al finalizar las dietas, las ratas fueron pesadas y anestesiadas con Pentotal sódico (Nesdonal®) a una dosis de 50 mg/kg de peso vía intraperitoneal. Posteriormente se realizó una esternotomía mediana, se extrajo el corazón y se colocó en un baño con solución Tyrode burbujeada constantemente con una mezcla de 95 % O₂ y 5 % CO₂. Se aislaron ambas aurículas y tiras de ventrículo derecho. Las muestras se fijaron al fondo del baño de superfusión de órgano de 15 mL y por el otro extremo se fijó a un transductor de fuerza-desplazamiento Grass Technologies® Modelo FT03 con tensión fija en solución Tyrode y burbujeada con una mezcla de 95 % O₂ y 5 % CO₂. El transductor se

conectó a un amplificador Modelo 7PD, los registros de tensión y frecuencia se realizaron por un polígrafo Grass Technologies®. Para determinar la fuerza contráctil, las tiras de ventrículo derecho recibieron estímulos con un equipo Grass Technologies® Modelo S44 de 1 Hz de frecuencia, 3 milisegundos de duración y con intensidad dos veces el umbral. La cinética de potenciación post-reposo del ventrículo se determinó mediante el registro de la primera contracción posterior a intervalos de reposo de 8, 16, 32 y 64 segundos. Se repitieron las maniobras con el uso de Verapamil (Sigma®) a concentración de 3×10^{-6} M.

Para la determinación del cronotropismo auricular, se realizó un registro control de la actividad auricular sin estimulación eléctrica. Luego se colocaron 7 dosis crecientes (1×10^{-7} M hasta 3×10^{-4} M) de Epinefrina (Sigma®) con intervalo de 5 minutos en el baño de superfusión. Los resultados fueron expresados en media (\bar{x}) \pm error estándar (EE). El análisis estadístico se realizó usando GraphPad InStat® usando las pruebas t de Student y el Análisis de varianza (ANOVA) con una significancia estadística utilizada de $P < 0,05$.

RESULTADOS

El peso corporal de las ratas sometidas a diferentes dietas lipídicas no varió de forma significativa entre los grupos al final de las dietas en esta experiencia.

Se encontró en el análisis por cromatografía que la Ratarina® estuvo compuesto principalmente por ácidos grasos poliinsaturados AGPI (45 %), ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) (31 %) y ácidos grasos saturados (AGS) (23 %). El aceite de soya estuvo compuesto por 59 % AGPI, 25 % AGMI y 16 % AGS. En cambio la margarina presentó una composición distinta, presenta 43 % AGS y 5 % AGT, 41 % AGMI y 7 % AGPI; el AGT predominante en la margarina fue el ácido eláidico (trans-18:1 n-9).

En la Figura 1, se observa que existen diferencias significativas entre la fuerza de contracción del estado estable en tiras de ventrículo derecho en ausencia de Verapamil de los grupos estudiados ($P < 0,05$). El grupo RM presentó una disminución significativa ($P < 0,05$) en la fuerza contráctil respecto al grupo RC, en igual caso con respecto al grupo RS ($P < 0,05$). El fenómeno se repitió en presencia de la droga.

En la Figura 2, se observa que, para los intervalos de reposo estudiados, las diferencias entre las cinéticas de potenciaciones posreposo de las tiras de ventrículo

derecho de los tres grupos estudiados en ausencia y presencia de verapamil son significativas. La cinética de potenciación posreposo del grupo RM es significativamente menor ($P < 0,05$) a la del grupo RC en todos los intervalos de reposo en ausencia de verapamil, la disminución con respecto al grupo RS es significativa solo en los intervalos de 8 y 16 segundos ($P < 0,05$). En presencia de droga, el grupo RM disminuye la fuerza contráctil de la potenciación posreposo con respecto a RS desde el intervalo de 8 segundos hasta el de 32 segundos de forma significativa ($P < 0,05$).

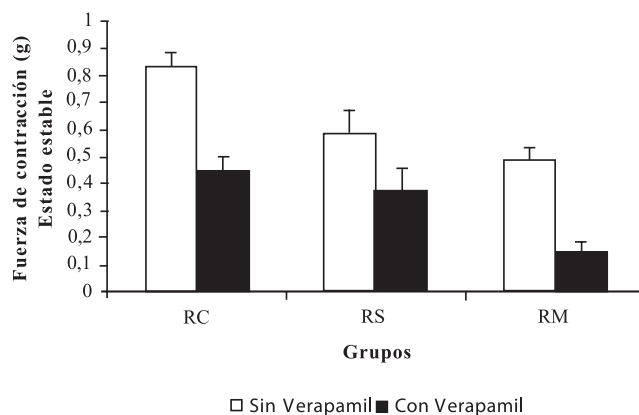


Figura 1. Estudio de la fuerza contráctil del estado estable en tiras de ventrículo derecho de corazón de rata sometidas a diferentes dietas lipídicas en ausencia y presencia de Verapamil. Media \pm EE. (RC N=10; RS N=8; RM N=7). (*) Diferencia significativa respecto al control (RC) (**) Diferencia significativa respecto a dieta con aceite de soya (RS).

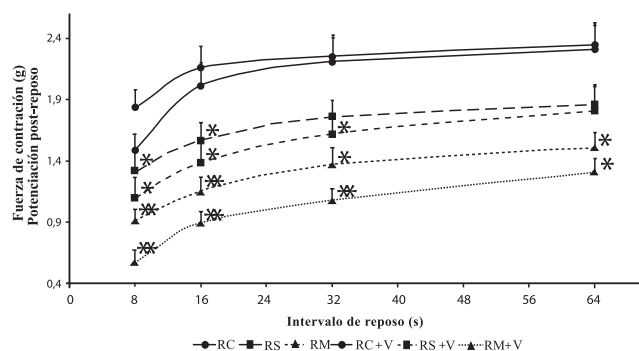


Figura 2. Estudio de la cinética de potenciación posreposo en tiras de ventrículo derecho de rata sometida a diferentes dietas lipídicas en ausencia y presencia de Verapamil. Media \pm EE. (RC N=10; RS N=8; RM N=7). (*) Diferencia significativa respecto al control (RC) (**) Diferencia significativa respecto a dieta con aceite de soya (RS).

En la Figura 3, se consiguió que la frecuencia cardíaca en las aurículas de rata aisladas es dependiente de la concentración de epinefrina hasta la dosis de 3×10^{-6} M. Las aurículas del grupo RM presentaron mayor frecuencia cardíaca y una tendencia al cronotropismo negativo en las aurículas del grupo RS.

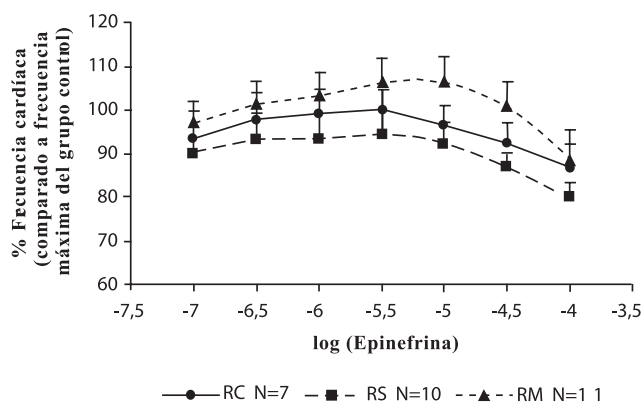


Figura 3. Porcentaje de frecuencia en aurículas aisladas de corazón de rata sometidas a diferentes dietas lipídicas. Porcentaje es relativo a la media de la frecuencia máxima del grupo control. Media \pm EE. (RC N=7; RS N=10; RM N=11). No hay diferencia estadística entre los grupos estudiados.

DISCUSIÓN

La ausencia de diferencia entre los pesos observada en esta experiencia se debió posiblemente a que se requiere mayor cantidad de lípidos totales en la dieta para producir un aumento del peso corporal consecuencia del aumento del tejido de reserva. En un estudio clínico, 29 sujetos fueron sometidos a una dieta con margarina rica en AGT por 4 semanas, no hubo diferencia significativa en el peso comparado con el grupo control⁽³⁾.

El grupo de trabajo de la OPS/OMS "Las Américas libres de grasas trans" (2007) concluyeron: 1) Eliminar los AGT industrialmente producidos en los alimentos, 2) Establecer medidas reglamentarias por parte de los Estados sobre la industria de alimentos en la producción de AGT, 3) Limitar el contenido de AGT a menos de 2% en los aceites vegetales y margarinas, entre otras (4). Las margarinas y aceites vegetales en Venezuela no poseen información sobre los AGT y los otros ácidos grasos presentes en los mismos, para nuestra experiencia se encontró que los niveles de AGT en la margarina utilizada sobrepasan los niveles internacionales aceptados,

se recomienda el cumplimiento de los lineamientos continentales.

La disminución de la fuerza contráctil en estado estable y la cinética de potenciación posreposito en intervalos de reposo cortos dada por la dieta enriquecida por margarina se pueden atribuir a la presencia de AGS y AGT en las dietas de esta experiencia. Estos ácidos grasos son incorporados en los fosfolípidos de la membrana plasmática y membranas de organelas citoplasmáticas como el retículo sarcoplásmico y la mitocondria, cambiando la relación de contenido de ácidos grasos insaturados⁽⁵⁾ provocando una disminución de fluidez de la membrana⁽⁶⁾ y de la permeabilidad debido al hermetismo que se crea por la disminución del espacio entre los ácidos grasos por la fuerzas van der Waals⁽⁷⁾. Esos cambios conducen una alteración del microambiente lipídico adyacente las proteínas de membrana del ciclo del Ca²⁺. Una modulación en el canal de Ca²⁺ tipo L voltaje-dependiente puede alterar la liberación de Ca²⁺ inducida por Ca²⁺ y originar una alteración del acoplamiento excitación-contracción (AEC), la modulación en el canal de Rianodina (RyR) puede propiciar la menor respuesta de estos canales al acoplamiento y disminuir en resultado la liberación de Ca²⁺ al citoplasma. Estos mecanismos podrían explicar la caída de la contractilidad en las tiras de ventrículo derecho en el estado estable.

La alteración en la función de la ATPasa Ca²⁺ del retículo endo/sarcoplásmico 2 (SERCA 2) puede explicar nuestros hallazgos en vista que se ha descrito que la actividad de las ATPasas Ca²⁺ son menores cuando los lípidos de membrana se encuentran en fase de gel⁽⁸⁾. Cuando existen AGT en los fosfolípidos de membrana, la membrana se encuentra en fase de gel a temperatura corporal⁽⁷⁾. Los AGT pueden reducir la actividad de la SERCA2, lo que aumentar el período de tiempo necesario para la recaptación de Ca²⁺ en el retículo sarcoplásmico. Esto puede explicar la caída de la potenciación posreposito sobre todo en intervalos de reposo cortos dadas por las dietas de margarina donde, probablemente, no existe un llenado adecuado de los depósitos de Ca²⁺ disponible para una nueva contracción, alargándose en el tiempo. Otro mecanismo que nos permite explicar los resultados, es el efecto de los AGS y AGT en la membrana de la mitocondria. Se ha descrito que los AGT alteran la producción de ATP a través de la inhibición de la ATP sintasa mitocondrial⁽⁹⁾. Una disminución en la producción de ATP puede llevar a la disfunción de las bombas dependientes del mismo

tales como la ATPasa Na⁺/K⁺ y la SERCA2, así como para las cadenas pesadas de miosina traduciéndose en la caída de la contractilidad.

El aceite de soya utilizado contiene mayormente AGPI, menos AGS y carece de AGT; los AGPI aumentan la fluidez y permeabilidad de membrana pero los AGS tienen efecto contrario, estos podrían ser los responsables de la caída parcial de la fuerza contráctil. El Verapamil se utilizó con la finalidad de bloquear los canales de Ca²⁺ tipo L voltaje-dependientes presentes en la membrana plasmática y para poder detectar mejor las diferencias del estado estable y de la potenciación posreposito, dichas diferencias en esta experiencia no fueron significativas.

La frecuencia cardíaca tiende al aumento en la dieta a base de margarina, puede ser debido a la modulación por los AGS y los AGT en las membranas. Se ha sugerido que los ácidos grasos cis y los AGT interactúan de forma diferente con las regiones hidrofóbicas de los canales iónicos cardíacos⁽¹⁰⁾, pueden disminuir el umbral de las células y propiciar las arritmias cardíacas⁽¹¹⁾. El aceite de soya está compuesto principalmente por AGMI tipo ácido oleico (c-t18;1 n-9) y AGPI n-3, estos últimos tienen un efecto preventivo en la aparición de arritmias⁽¹¹⁾, ello puede explicar la tendencia al cronotropismo negativo. A pesar de dichas tendencias, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos estudiados.

CONCLUSIÓN

Los AGS y AGT contenidos en la margarina afectan el mecanismo contráctil del cardiomiocito debido a su incorporación en las membranas celulares, la alteración del ciclo del Ca²⁺ y de la síntesis de ATP, esto se traduce en la disminución de la fuerza contráctil del estado estable y la cinética de potenciación posreposito, principalmente después de intervalos de reposo cortos.

REFERENCIAS

1. Abreu E, De Florez E. ¿Qué ha cambiado en Venezuela desde 1970 en cuanto a la disponibilidad de alimentos para el consumo humano?. *Agroalim.* 2004;9(19):13-33.
2. Griguol V, León-Camacho M, Vicario I. Contenido de ácidos grasos trans en las margarinas: Evolución en las últimas décadas y tendencias actuales. *Arch Latinoam Nutr.* 2005;55(4):367-374.
3. de Roos NM, Bots ML, Katan MB. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Metabolism.* 2002;51(12):1534-1537.
4. Grupo de trabajo de la OPS/OMS. Las Américas libres de

- Grasas Trans. Conclusiones y recomendaciones [Monografía en Internet]. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2001 [citado el 14/11/09] Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/dd/pin/Conclusiones_Grupo_Trabajo.pdf.
5. Spector AA, Youk MA. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res.* 1985;26:1015-1035.
 6. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2006;354(15):1601-1613.
 7. Roach C, Feller SE, Ward JA, Shaikh SR, Zerouga M, Stillwell W. Comparison of cis and trans fatty acid containing phosphatidylcholines on membrane properties. *Biochemistry.* 2004;43(20):6344-6351.
 8. Tang D, Dean WL, Borchman D, Paterson CA. The influence of membrane lipid structure on plasma membrane Ca²⁺-ATPase activity. *Cell Calcium.* 2006;39:209-210.
 9. Tardy AL, Giraudet C, Rousset P, Laillet B, et al. Effects of diets enriched in trans monounsaturated fatty acids of natural and industrial source on mitochondrial function and insulin sensitivity in rats. *J Lipid Research.* 2008;48:1445-1455.
 10. Katz AM. Should trans fatty acids be viewed as membrane-active drugs? *Atherosclerosis Supplements.* 2006;7:41-42.
 11. McLennan OL. Relative effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on cardiac arrhythmias in rats. *Am J Clin Nutr.* 1993;57:207-212.

CORRESPONDENCIA: Edwar Zúñiga. Sección de Investigaciones Cardio-Renales, Instituto de Medicina Experimental. Universidad Central de Venezuela. Email de contacto: (spetznaz_ucv@hotmail.com)