

RELACIÓN ENTRE LA INGESTA DE DIFERENTES ACEITES COMESTIBLES Y LA POTENCIACIÓN POST-REPOSO DE LOS CARDIOMIOCITOS

RELATIONSHIP BETWEEN THE INTAKE OF DIFFERENT EDIBLE OILS AND THE POST-REST POTENTIALIZATION OF CARDIOMYOCYTES

Candelaria Alfonso Pérez ¹ , Holger Ortiz ² 

RESUMEN: *La primera causa de muerte y discapacidad en Venezuela es por enfermedades cardiovasculares; evaluar el efecto de los lípidos de las dietas sobre la función del cardiomiocito contribuye a tomar decisiones dietéticas acertadas para la población. En este trabajo se evaluó el efecto de la ingesta de diferentes aceites comestibles en la potenciación post-reposo y del Ca^{2+} en cardiomiocitos de ratas Sprague Dawley. Se formaron tres grupos con las dietas suplementadas con 5 % de cada uno de los siguientes aceites: Aceite de maíz (M), aceite de oliva (O) o aceite de pescado (P) ingeridas durante tres semanas por los animales de experimentación. Se aislaron los miocitos del corazón utilizando enzimas proteolíticas. La $[Ca^{2+}]$ intracelular se determinó mediante la técnica de fluorescencia con Indo-1, utilizando como indicador de $[Ca^{2+}]$ la relación de la emisión 400:500 nm. El análisis de la contracción se efectuó estimulando al cardiomiocito a la frecuencia de 0,5 Hz con intervalo de reposo de 32 s. Los ácidos grasos (AG) de los lípidos de la dieta y de los fosfolípidos de los miocitos (F-M) aislados se cuantificaron por cromatografía de gas previa formación de ésteres metílicos. La dieta P incrementó: los AG n-3 en F-M, la potenciación post-reposo y el % de $[Ca^{2+}]$ intracelular respecto a las dietas M y O ($p < 0,05$). Lo cual indica que con la dieta P hubo mayor recaptación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico durante el reposo y liberado con la estimulación.*

PALABRAS CLAVE: *Cardiomiocito, Aceites Comestibles, Potenciación Post-reposo.*

ABSTRACT: *Cardiovascular disease is the leading cause of death and disability in Venezuela; evaluating the effect of dietary lipids on cardiomyocyte function contributes to making informed dietary decisions for the population. This study evaluated the effect of ingesting different edible oils on post-rest and Ca^{2+} potentiation in cardiomyocytes from Sprague-Dawley rats. Three groups were formed, with diets supplemented with 5% of each of the following oils: corn oil (C), olive oil (O), or fish oil (F), ingested by the experimental animals for three weeks. Cardiac*

myocytes were isolated using proteolytic enzymes. Intracellular Ca^{2+} was measured using the Indo-1 fluorescence technique, where the emission ratio of 400:500 nm is used as a $[\text{Ca}^{2+}]$ indicator. Contraction analysis was performed by stimulating the cardiomyocyte at a frequency of 0.5 Hz with a 32-s rest interval. Fatty acids (FAs) from dietary lipids and phospholipids from isolated myocytes (F-M) were quantified by gas chromatography after methyl ester formation. The P diet increased n-3 FAs in F-M, post-rest potentiation, and the % intracellular $[\text{Ca}^{2+}]$ compared to the M and O diets ($p < 0.05$). This indicates that the P diet increased Ca^{2+} reuptake by the sarcoplasmic reticulum during rest and its release upon stimulation.

KEYWORDS: *Cardiomyocyte, Edible Oils, Post-rest Enhancement.*

- 1 Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina. Instituto Medicina Experimental.
- 2 Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina. Escuela de Enfermería.

Recibido: 09/08/2025

Aprobado: 20/11/2025

INTRODUCCIÓN

El interés en realizar investigaciones relacionadas con aceites vegetales de la dieta y sus efectos en el organismo se iniciaron en 1929 ⁽¹⁾ donde demostraron que la ausencia de grasa en la dieta producía daño histológico en el tracto urinario y otras alteraciones. Los triacilglicéridos (TG) de los aceites comestibles aportan los ácidos grasos (AG) de las familias n-6 y n-3 que poseen amplias funciones fisiológicas, los enlaces dobles C=C en la posición 6 ó 3 contado del extremo metilo terminal del ácido graso no pueden ser sintetizados por el organismo humano². En condiciones fisiológicas el corazón utiliza como sustrato energético un 70 % de AG y 30 % de glucosa. En el músculo cardiaco debe existir un equilibrio entre

la absorción, el almacenamiento y el uso de estos combustibles, un desequilibrio puede provocar acumulación de lípidos y citotoxicidad.

(3)

Una de las recomendaciones de la Sociedad Venezolana de Cardiología (SVC) para prevenir las enfermedades cardiovasculares incluye el control en la ingesta de grasas⁴ disponibles para el consumo humano. Se estima que, en Venezuela, 3 de cada 10 muertes ocurren por enfermedades cardiovasculares, lo que la convierte en la primera causa de muerte y discapacidad.⁽⁴⁾

La despolarización del sarcolema del músculo cardíaco conduce a la entrada del Ca^{2+} a través de los canales tipo L del cardiomiocito, estimulando la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico (RS), a través de los receptores de Rianodina (RYRs). Cada latido requiere una activación coordinada de las células del músculo cardíaco para mantener la función de acoplamiento excitación-contracción convirtiendo la activación eléctrica en mecánica.⁽⁵⁾ El incremento de la fuerza de los latidos que sigue inmediatamente el periodo de reposo se denomina potenciación post-reposo. Cuando el músculo cardíaco es excitado después

del reposo, en los latidos sucesivos puede incrementar la fuerza de contracción denominado efecto inotrópico positivo o disminuir la contractilidad denominada efecto inotrópico negativo. Después del efecto inotrópico positivo se requieren aproximadamente 12 latidos para lograr alcanzar el estado estable in vitro. La potenciación post-reposo es un modelo de mecanismo subcelular seguro y sensible a fenómenos o agentes que producen la liberación de calcio del RS, donde se pueden estudiar los cambios cuantitativos de la fuerza de contracción, que resultan al cambiar los intervalos de reposo entre latidos.⁽⁶⁾

Objetivos.

Evaluar el efecto de la ingesta de diferentes aceites comestibles en la potenciación post-reposo y $[\text{Ca}^{2+}]$ en cardiomiocitos de ratas *Sprague Dawley*.

MÉTODOS

Se utilizaron ratas de la raza *Sprague Dawley* sexo masculino, con un peso inicial entre 90 ± 10 g, del Bioterio del Instituto de Medicina Experimental distribuidas al azar en tres grupos y

fueron colocadas en jaulas individuales. La dieta basal fue ratarina Protinal® de fórmula cerrada con ingredientes secretos de la empresa ⁽⁷⁾ que contiene: lípidos totales 2 %, proteína 26 %, carbohidratos 40 % y fibra cruda 6 %. Los animales de cada grupo recibieron ratarina suplementada con 5 % de uno de los siguientes aceites: Aceite de maíz Mazeite® (M), aceite de oliva extra virgen Lucca® (O) ó aceite de pescado Maxepa® (P), la mezcla de 95 g de ratarina con 5 g de aceite se realizó manualmente cada día. Las dietas enriquecidas con los aceites contienen 7 % de lípidos totales y aportan aproximadamente 12,6 Kcal en forma de lípidos/día, considerando que las ratas ingirieron entre 20 y 25 g/día, tanto la dieta como el agua fueron suministradas *ad libitum* por un periodo de 3 semanas.

Aislamiento de los cardiomiocitos ventriculares. Después del periodo experimental con las dietas, las ratas en ayuno fueron anestesiadas por vía intraperitoneal con Pentobarbital sódico (Nesdonal® 50 mg/Kg de peso), se efectuó una esternotomía mediana, se extrajo el corazón y por canulación aórtica se perfundió en un aparato de Langendorff a 37 °C a 8 mL/min con una

solución de NaCl 134,0 mM, Hepes 10,0 mM, NaH₂PO₄ 1,2 mM, MgSO₄ 1,2 mM, KCl 4,0 mM, glucosa 11,0 mM, reactivos Merck y Riedel Haen® a pH 7,4 libre de Ca²⁺, a continuación a la solución se le adicionó 1,85 mg/mL de collagenasa y proteasa 0,15 mg/mL a pH 7,4, la perfusión se continuó por 7 min. Luego se perfundió con otra solución que se diferencia en el contenido de NaCl (108,0 mM) y la presencia de 50 mM de taurina por 10 min, del ventrículo derecho se obtienen los miocitos por dispersión enzimática. ⁽⁸⁾

Medida del calcio intracelular. El indo-1 es un compuesto fluorescente que excitado a 340 nm altera el espectro de emisión cuando está saturado con Ca²⁺. Unido al Ca²⁺ el pico de emisión es a 400 nm y en ausencia de Ca²⁺ ocurre a 500 nm. La relación de la emisión (400:500) es un indicador de la concentración de calcio ⁽⁹⁾. El indo-1 como un éster de acetoximetil cruza la membrana plasmática, el grupo éster es hidrolizado por una esterasa en el citosol y el indo-1 queda atrapado e incorporado a la célula. La solución madre de acetoximetil 1mM se disuelve en 25 % del detergente no iónico ácido

Pluronic F-100 con dimetilsulfóxido, se agrega a la suspensión celular a una

concentración final de 5 μ M y se incubaba a 25°C por 5 min. La incorporación de indo-1 al interior de la célula es inhibida con 1mL de la solución que contiene taurina.

Medida de la fluorescencia. Se utiliza un microscopio fluorescente invertido Nikon Diaphot®, encerrado en una caja de Faraday en cuarto oscuro. La célula ventricular derecha aislada y cargada con el indo-1-acetoximetil, se coloca en una cámara de suspensión de 100 μ L. El miocito se perfundió continuamente con la solución de: NaCl 134,0 mM, Hepes 10,0 mM, MgCl₂ 1,2 mM, KCl 4,0 mM CaCl₂ 2,0 mM, Glucosa 11,0 mM a pH 7,4. Se excitó con una luz a 360 nm de longitud de onda y la fluorescencia emitida por el indo-1 se registró a 400 nm y a 500 nm utilizando la óptica para epi-fluorescencia; el diafragma del sistema se ajusta para asegurar que el registro provenga solamente de la célula en estudio.⁽¹⁰⁾

Medida de la contracción de cardiomiocitos aislados. La contracción del cardiomiocito ventricular aislado colocado en el microscopio invertido, se indujo mediante una estimulación eléctrica con pulsos cuadrados con un par de electrodos de platino en la

cámara de suspensión a 0,5 Hz con intervalos de reposo de 32 s. La longitud celular fue medida con un sistema detector de movimiento basado en la videoimagen de la célula.⁽¹¹⁾ El sistema se resume a continuación: La imagen del cardiomiocito se registra mediante una cámara de video que la detecta una serie de líneas horizontales paralelas y el voltaje en el detector varía a lo largo de cada línea en respuesta a los cambios de la intensidad de la luz. Un sistema detector de borde usa estos voltajes para identificar cada extremo de la célula. Una vez que el eje longitudinal de la imagen se orienta paralelo a las líneas de detección, la longitud y posición de los detectores de borde se ajustan para asegurar que el movimiento del cardiomiocito se realice dentro del campo de los detectores. El punto detector debe estar en el centro del campo y coincidir con el borde del extremo celular y sigue su movimiento. La señal se envió al grabador de video y la computadora convierte la señal analógica en digital.

Análisis de lípidos. Los AG de las dietas y de los fosfolípidos de los miocitos aislados se analizaron previa extracción de los lípidos totales⁽¹²⁾ de 0,25 g del alimento morterizado o 0,5 mL

del homogenizado de los miocitos ventriculares aislados. Los fosfolípidos se separaron por cromatografía en capa fina, mediante el uso de una lámina de sílica gel G-60 y 0,1 mm de espesor activadas por calor y utilizando la fase móvil: hexano, dietil éter, ácido fórmico (80:20:2 v/v/v), la región de la sílica con los fosfolípidos identificados mediante un estándar se transfieren a la unidad de calentamiento y reflujo. Los ácidos grasos de los fosfolípidos se transesterificaron a ésteres metílicos utilizando 3 mL de la mezcla anhídrida, metanol: tolueno: ácido sulfúrico en proporción 90:10:1 más BHT (200µg) en reflujo a 80 °C por una hora. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizan en un cromatógrafo de gas marca Hewlett- Packard® modelo 6890, con detector de llama, columna capilar de 110 m x 0,25 mm con INOWAX® de 0,25 µm a 200 °C. La fase móvil fue H₂, Para identificar los ésteres metílicos de los ácidos grasos (EMAG) y el factor de corrección en la determinación del porcentaje de ácidos grasos se utilizarán patrones Supelco®. Los porcentajes de los ácidos grasos se calculan respecto al total de los ácidos grasos ⁽¹³⁾ de la cada una de las muestras.

Los resultados se presentan como

medía ± error estándar y fueron comparados usando t-student o ANOVA de una vía (programa GraphPad Instat®) con un nivel de confianza de 95 % (p<0,05).

RESULTADOS

Los tres grupos de ratas recibieron igual porcentaje de calorías proveniente de los diferentes aceites comestibles, no se encontraron diferencias significativas (p < 0,05) en el peso corporal al final del período experimental. La diferencia de las dietas en los tres grupos experimentales: M, O y P es en el tipo de AG de los triacilglicéridos como se muestra en la tabla 1, la dieta M aporta el mayor porcentaje de ácido linoleico (C18:2,n-6) (p < 0,05), la dieta O suministra el mayor porcentaje de ácido oleico (C18:1,n-9) (p < 0,05), mientras que la dieta P suministra el mayor porcentaje de eicosapentaenoico (C20:5,n-3) y docosahexaenoico (C22:6,n-3) (p < 0,05), además la dieta P aportó el mayor porcentaje de ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y palmitoleico (C16:1,n-7) p < 0,05, (Tabla 1).

El cromatograma de la figura 1 muestra los EMAG separados según el número de carbonos, de insaturaciones

C=C y de la ubicación de estas insaturaciones en la cadena carbonada

que es utilizado en el análisis de las dietas y de los miocitos aislados. Con

Tabla 1. Porcentajes de ácidos grasos en los lípidos totales en las dietas enriquecida con 5% de aceite de maíz, aceite de oliva o aceite de pescado.

Dietas / Ácidos Grasos	5 % ACEITE DE MAÍZ	5 % ACEITE DE OLIVA	5 % ACEITE DE PESCADO
C14:0	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,1	a 10,2 ± 0,3
C16:0	15,8 ± 0,2	13,6 ± 1,3	a 23,0 ± 0,5
C16:1,n-7	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,5	a 12,0 ± 0,5
C18:0	3,2 ± 0,3	2,3 ± 1,0	5,2 ± 0,1
C18:1,n-9	27,4 ± 0,5	a 54,7 ± 3,0	8,4 ± 0,3
C18:2,n-6	a 49,1 ± 0,6	24,4 ± 0,7	9,4 ± 0,2
C20:5,n-3	1,3 ± 0,1	0,0 ± 0,2	a 19,8 ± 0,2
C22:6,n-3	1,1 ± 0,1	2,0 ± 0,3	a 12,1 ± 0,3

Media ± EE, N=3. Letra **a** indica mayor porcentaje del mismo ácido graso entre los tres grupos p<0,05

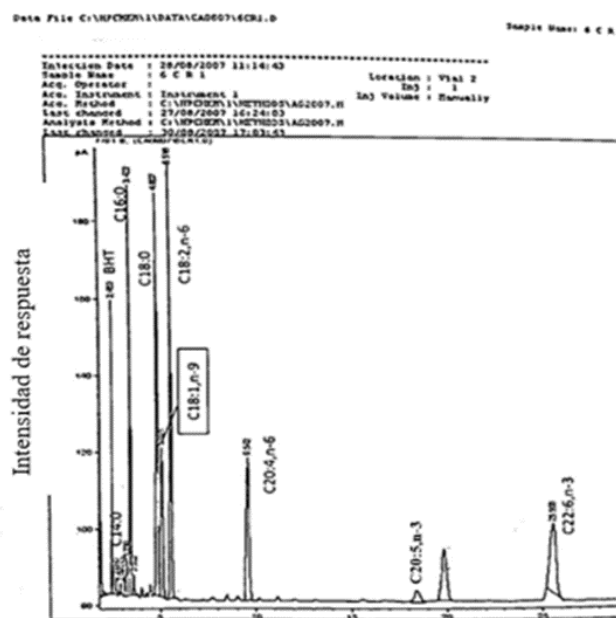


FIGURA 1. Cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

diferentes dietas suministradas y agua *ad libitum* durante 3 semanas, se indujo un cambio en la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de los miocitos aislados (Tabla 2) que es proporcional a la dieta recibida. El mayor porcentaje de C18:2, n-6 se obtuvo en los miocitos de las ratas con dieta M, los fosfolípidos de los miocitos con la dieta O presentaron el mayor porcentaje de ácido oleico ($p < 0,05$) entre los tres grupos, mientras que los fosfolípidos de los miocitos con la dieta P tuvieron el mayor porcentaje de los ácidos grasos n-3: C20:5, n-3 C22:6, n-3 ($p < 0,05$). Se ha encontrado que la

composición de los fosfolípidos afecta la fluidez de la membrana y la actividad de las proteínas que integran la bomba de Ca^{2+} .⁽¹⁴⁾

Durante el reposo del miocito, el Ca^{2+} entra al RS por la ATPasa Ca^{2+} , iniciada la estimulación post-reposo se observa mayor potenciación en los miocitos del grupo P ($p < 0,05$), lo cual indica que hay mayor actividad de la ATPasa Ca^{2+} del RS. Los cambios de la dieta pueden modular la función de los canales iónicos, intercambiadores y receptores⁽¹⁵⁾ (figura 2A). El registro experimental simultáneo de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y de la contracción respecto al tiempo (figura 2B) permitió calcular la potenciación y el Tau.

Tabla 2. Porcentajes de ácidos grasos de los fosfolípidos de miocitos ventricular de ratas con dietas enriquecidas con 5% de aceite de maíz, aceite de oliva o aceite de pescado.

Dietas / Ácidos grasos	5 % ACEITE DE MAÍZ	5 % ACEITE DE OLIVA	5 % ACEITE DE PESCADO
C14:0	2,2 ± 1,8	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,3
C16:0	14,4 ± 1,3	11,5 ± 0,1	15,2 ± 0,5
C16:1,n-7	<u>trazas</u>	<u>trazas</u>	<u>trazas</u>
C18:0	25,1 ± 0,6	24,3 ± 0,3	26,8 ± 0,6
C18:1,n-9	8,1 ± 0,4	a 10,8 ± 0,3	7,7 ± 0,3
C18:2,n-6	a 23,2 ± 1,0	20,4 ± 0,8	11,7 ± 0,3
C20:4,n-6	15,6 ± 1,6	18,4 ± 0,4	14,1 ± 0,4
C20:5,n-3	<u>trazas</u>	<u>trazas</u>	a 1,8 ± 0,2
C22:6,n-3	11,3 ± 0,1	14,2 ± 0,4	a 22,2 ± 0,5

Media ± EE, N=5 ratas por grupo. Trazas < 0,1. Letra **a** indica mayor porcentaje del mismo ácido graso entre los tres grupos $p < 0,05$.

Tabla 2. Porcentajes de ácidos grasos de los fosfolípidos de miocitos ventricular de ratas con dietas enriquecidas con 5% de aceite de maíz, aceite de oliva o aceite de pescado

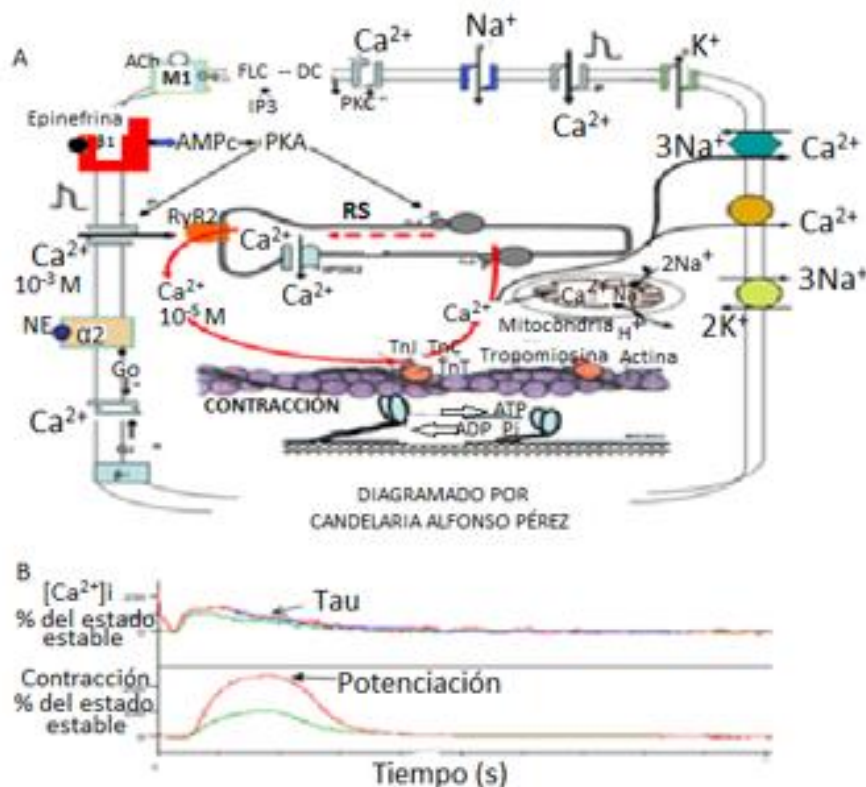


FIGURA 2. A) Representación de un cardiomiocito, se muestra el movimiento del Ca^{2+} , los receptores y canales iónicos. B) Registro unitario y simultáneo de Ca^{2+} sistólico ($[Ca^{2+}]_i$) y contracción (potenciación) respecto al estado estable (color verde) de cardiomiocito a 0,5 Hz después de reposo de 32 s. El Tau indica el tiempo para medir la velocidad de disminución del Ca^{2+} sistólico.

La mayor contracción del cardiomiocito (potenciación) y el mayor Tau de la relajación se observó en el grupo P ($p < 0,05$), lo cual está relacionado con el mayor porcentaje de $[Ca^{2+}]_i$ respecto al estado estable del mismo grupo P ($p < 0,05$) y con el Tau del Ca^{2+} sistólico posiblemente debido a la acción de los AG n-3 sobre el receptor

de rianodina y la ATPasa Ca^{2+} del RS del miocito.

CONCLUSIONES

Los ácidos grasos de los lípidos de las dietas modifican la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de los cardiomiocitos.

Los miocitos de ratas alimentadas con aceite de pescado ricos en ácidos

grasos n-3 incrementan la potenciación post-reposo en relación a las dietas suplementadas con aceites de maíz que aportan ácidos grasos n-6 y de oliva abundante en ácidos grasos n-9, lo que indica que con la dieta P se libera mayor cantidad de Ca^{2+} del RS en el miocito.

REFERENCIAS

1. Burr GO and Burr MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J. Biol.Chem. 1929;LXXXII:354-367.
2. Cortés Castell E, Rizo-Baeza MM, Aguilar MJ, Hidalgo MJ, Gil Guillén V. Relación entre los ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de membrana en niños sanos. Nutr. Hosp. 2013; 28(5) sep./oct.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-1611201300050002
3. Da Dalt L, Cabodevilla AG, Goldberg IJ, Norata GD. Cardiac lipid metabolism, mitochondrial function, and heart failure. Cardiovasc Res. 2023;119(10):1905-14
4. Sociedad Venezolana de Cardiología. Sociedad de Cardiología recomienda cuidar el corazón todo el año. 2023; 26 Sep.<https://www.svcardiologia.com/informacion/noticias-informacion/sociedad-de-cardiologia-recomienda-cuidar-el-corazon-todo-el-ano/>.
5. Edward JN, Blatter LA. Cardiac alternans and intracellular calcium cycling. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2014;41(7):524–32
6. Koch-Weser J, Blinks JR. The influence of the interval between beats on myocardial contractility. Pharmacol Rev. 1963;25:601-52.
7. Avila C, Alavaro Soler G. Elaboración de concentrado para la rata proechimys de la especie chrysaeulus para su manutención en el laboratorio. <https://www.monografias.com/trabajos36/nutricion-rata-laboratorio/nutricion-rata-laboratorio>
8. Eisner DA, Nichols CG, O'Neill SC, Smith GL, Valdeomillos M, The effects of metabolic inhibition on intracellular calcium and pH in isolated rat ventricular cell. J Physiol.1989; 411:393-418.
9. Muller H, Deckers K, Eckel J. The fatty acid translocase (Fat)/CD36 and the glucose transporter GLUT4 are localized in different cellular compartments in rat cardiac muscle. Biochemical Biophys Res Commun.2002; 239:665-9.
10. Roy R, Calvo JH, Hayes H, Rodellar C, Eggen A. Fine mapping of the bovine heart fatty acid-binding protein gene (FABP3) to BTA2q45 by fluorescence in situ hybridization and radiation hybrid mapping. Anim Genet. 2003; 34: 466 -7

11. Steadman BW, Moore KB, Spitzer KW, Bridge JH. A video system for measuring motion in contracting Heart Cells. IEEE. Trans Biomed. Eng. 1998;35:264-72.
12. Folch J, Lees M, Sloane GH. A simple method for isolation and purification of total lipid from tissues. J Biol Chem. 1961;266:497-509.
13. Ortiz HN, Montilla J, Alfonso-Pérez C, Rodríguez O. Contenido de ácidos grasos “trans” Eláidico y Linoeláidico en alimentos consumidos en Caracas y Guayaquil. Diabetes Internacional. 2011;III(4):98-102.
14. Dodes Traian, M. M., González Flecha, F. L. Estudio de las interacciones entre fosfolípidos y proteínas integrales de membrana. Efectos sobre la actividad enzimática de una ATPasa transportadora de Ca^{2+} . Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. https://www.sidalc.net/search/Record/oai:RDI%20UBA:aextesis:tesis_n5491_DodesTraian_oai/Description
15. Sipido KR, Carmeliet E, Van der Werf. T. Type Ca^{2+} current as a trigger for Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum in guinea-pig ventricular myocyte. J Physiol (Lond). 1998; 508:439-371.