

originales

## Efecto de la dieta sobre lípidos de la sangre y el hígado en ratas

WILMER SOLER TERRANOVA<sup>1</sup>, DORA CECILIA RODRIGUEZ<sup>2</sup>,  
BENJAMIN ANGARITA VEGA<sup>3</sup>, CARLOS CORREDOR PEREIRA<sup>4</sup>.

---

Continuando la línea de investigación que se ha desarrollado en nuestro laboratorio se estudió, durante 100 días, el efecto de dietas alta en colesterol, baja en proteínas y una dieta combinada-simultáneamente alta en colesterol y baja en proteína-sobre la colesterolemia y otros parámetros bioquímicos. Nuestros resultados muestran que el efecto del colesterol de la ingesta fue diferente dependiendo de los niveles de proteína en la dieta. En el caso del grupo que recibió suplemento de colesterol con dieta normoproteica, los aumentos iniciales de colesterol plasmático de 3,5 veces sobre el control se redujeron progresivamente hasta valores de 1,5 veces a los 100 días. En el grupo de animales que recibió suplemento de colesterol con dieta deficiente en proteína se logró mantener los niveles de colesterol sérico elevados hasta el final del experimento. Este último efecto sugiere la presencia de una interacción entre el factor colesterol y proteína de la dieta que logra desequilibrar la homeostásis del colesterol sanguíneo en estas ratas. Estos aumentos del colesterol, principalmente en LDL, sugieren una mayor producción de precursores hepáticos VLDL con una relación lípido/proteína alterada e inhibición de la síntesis de receptores de LDL. A pesar de estas alteraciones en los lípidos sanguíneos no se indujo un proceso aterosclerótico.

Los ensayos de oxidación hepática de palmitato indican que el hígado graso de nuestros animales no es debido a menor oxidación de los AG disponibles, causado por deficiencia de L-carnitina.

Palabras claves: Colesterol, lipoproteínas, aterosclerosis, carnitina.

---

### Introducción

El consumo de bajos niveles de grasa y coleste-

rol es una característica nutritiva en gran parte del mundo donde la incidencia de enfermedad aterosclerótica es baja. Datos epidemiológicos de estudios a nivel internacional muestran una asociación estadística significativa entre varios constituyentes de la dieta y la tasa de mortalidad por enfermedad arteriocoronaria. Entre los nutrientes que se correlacionan positiva y significativamente con mortalidad por enfermedad arteriocoronaria se incluyen: grasa saturada, colesterol y exceso de calorías. Otras variables relacionadas con el estilo de vida que también muestran una asociación significativa son el cigarrillo, la vida sedentaria y el estrés, así como la hipercolesterolemia, la alta presión sanguínea y la obesidad (1).

- 
1. M. Sc. Profesor de la Facultad de Medicina Universidad del Quindío. Armenia, Colombia.
  2. M.Sc. Servicio Seccional de Salud del Cauca. Popayan, Colombia.
  3. M. Sc. Profesor del Departamento de Ciencias Básicas Medicas. División de Ciencias de la Salud. Universidad del Norte. Barranquilla, Colombia.
  4. Ph. D. Profesor titular de Bioquímica. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Salud, Universidad del Valle. Cali, Colombia.

© Universidad del Norte.

Los estudios anteriores han indicado que, dadas las condiciones genéticas necesarias, el factor determinante en la producción y el mantenimiento del ateroma es un exceso del colesterol sanguíneo y específicamente el colesterol de las LDL (\*). Los demás factores aceleran el proceso aterogénico.

Estudios a nivel de individuos dentro de un grupo poblacional no han logrado mostrar una asociación inequívoca entre consumo de colesterol y niveles de colesterol en plasma o entre consumo de colesterol e incidencia de aterosclerosis. Probablemente, las fallas para encontrar esta asociación son debidas a diferencias inherentes entre individuos en la regulación de la concentración del colesterol plasmático en respuesta al colesterol de la dieta y errores metodológicos en la medida del consumo de colesterol. Sin embargo, al comparar grupos pequeños, tales como vegetarianos e inmigrantes, se encontró una fuerte asociación entre el colesterol consumido y la concentración de colesterol en el suero y la tasa de mortalidad; pero, estos grupos difieren con el resto de la población en otras formas tanto genéticas como ambientales (incluyendo la dieta) y no ha sido posible mostrar que alguna parte substancial de esta asociación se debe a un efecto independiente del colesterol de la dieta.

Por tal razón nosotros decidimos estudiar los efectos de variaciones controladas de la dieta en un animal que no está sujeto naturalmente a accidentes cardiovasculares y que tiene sistemas extraordinariamente eficientes para mantener la homeostasis de colesterol sanguíneo.

### Materiales y métodos

**ANIMALES.** Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dowley de la colonia mantenida en la sección de Bioquímica de la División de Salud de la Universidad del Valle, que se alimentaron normalmente con una dieta comercial (maná de Solla S.A.), gentilmente donada por sus fabricantes y que contiene los nutrientes adecuados para

roedores. Para efectos del experimento a éstas se les suministró agua y la dieta apropiada *ad libitum*, a partir del destete y durante 100 días.

**DIETAS.** Los animales recibieron una dieta semisintética (2). La fuente de proteína fue una combinación adecuada de leche Milk® (proteína animal) y colombiharina (proteína vegetal). Como fuente de lípidos se utilizó manteca vegetal saturada (palma blanca).

Las dietas fueron las siguientes:

1. Control con 20% de proteína.
2. Alta en colesterol con 20% de proteína y un suplemento de colesterol de 2%.
3. Baja en proteína, con 8% de proteína.
4. Combinada, con 8% de proteína y suplemento de colesterol de 2%.

Se tomaron muestras de sangre de la cola cada 20 días, a partir del destete y se determinaron los siguientes parámetros por métodos rutinarios: colesterol total (3), colesterol en LDL (4), lípidos totales (5), glucosa (6) y proteínas totales (7).

Se hicieron cortes de tejidos de hígado, aorta, corazón, intestino y vejiga para observar al microscopio óptico y se tiñeron con hematoxilina y eosina (8). El tejido escogido para analizar al microscopio electrónico fue el hígado. Los cortes, en este caso, se fijaron en tetróxido de osmio (9).

Se realizó electroforesis en geles de poliácridamida (10) de sueros obtenidos a los 80 días del experimento. Las muestras se tiñeron con Sudan Black y con Oil Red (11) en dos series de muestras. Al final, se obtuvieron los densitogramas.

La oxidación hepática de palmitato  $1-^{14}C$  (12) se midió como  $^{14}CO_2$  absorbido por hiamina colocada en un pozo central de los tubos de ensayo. En los tubos apropiados se añadió carnitina.

La determinación de colesterol y lípidos totales en hígado se hizo con base en tejido seco y con relación al contenido de proteína (13).

### Resultados y discusión

**DIETA CONTROL.** Como era de esperar, la concentración de colesterol total en suero de las

\* LDL: Lipoproteínas de baja densidad, VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; HDL, lipoproteínas de alta densidad; LP, lipoproteína; LPL, lipoproteína lipasa; EC, ésteres de colesterol; TAG, triacilglicerol; AG, ácidos grasos; APO, Apolipoproteína; R, receptor. HDLc; Lipoproteína de alta densidad inducida por colesterol; IDL, lipoproteína de densidad intermedia.

ratas control no cambia significativamente durante el tiempo del experimento, puesto que el período fue corto en relación a la vida del animal (tabla 1). Tampoco se observaron cambios significativos en los niveles de colesterol en LDL y en lípidos totales (tabla 2-3).

A pesar de que, en humanos, la concentración plasmática de colesterol aumenta con la edad y en perros se ha encontrado una disminución de receptores Apo B,E en hígado a medida que envejecen (14), especialmente después de los 18 meses, no hemos encontrado informes similares para la rata en la literatura.

Las concentraciones promedio de colesterol total que fluctuaron alrededor de 77 mg/dl en nuestras ratas control son similares a las encontradas por Angarita B., Rodríguez D.C., y Corredor C, en nuestro laboratorio, en ratas cuya fuente de lípidos fue aceite comestible de soya (15).

Lo anterior indica que el tipo de grasa ya sea saturada o insaturada, por si sola, no influye los niveles séricos de colesterol total en estos animales. Sin embargo, estos niveles estuvieron por debajo de los obtenidos en nuestro laboratorio a partir de ratas alimentadas con caseína como fuente de proteína (16).

**TABLA 1.** Efecto de diferentes dietas sobre la concentración en mg/dl de colesterol total en suero de ratas comparado con el control.

Dietas	DIAS					
	0	20	40	60	80	100
Control		84.3 ± 11.0	73.7 ± 10.1	73.2 ± 4.8	76.2 ± 12.9	76.7 ± 13.7
Colesterol		299.0 ± 68.9*	213.4 ± 49.4*	184.6 ± 36.8*	180.5 ± 38.6*	116.7 ± 31.5+
Proteína		99.5 ± 11.9+	102.6 ± 17.5*	97.0 ± 15.5*	87.4 ± 15.8	75.5 ± 8.8
Combinada		200.9 ± 33.3*	231.2 ± 46.2*	238.8 ± 38.4*	112.2 ± 9.9*	180.5 ± 31.3
Destete	74.6 ± 17.6					

Diferencia significativa +,  $p < 0.05$

Diferencia altamente significativa \*,  $p < 0.005$

**TABLA 2.** Efecto de diferentes dietas sobre la concentración en mg/dl. de colesterol en LDL en suero de ratas comparado con el control.

Dietas	DIAS					
	0	20	40	60	80	100
Control		39.3 ± 6.0	36.2 ± 3.7	42.8 ± 6.6	47.9 ± 7.8	45.4 ± 13.5
Colesterol		218.6 ± 22.9*	186.6 ± 38.3*	181.5 ± 29.2*	154.2 ± 43.7*	97.5 ± 42.6+
Proteína		50.9 ± 10.9*	46.9 ± 5.0*	58.0 ± 7.3*	44.0 ± 7.7	31.8 ± 5.4
Combinada		144.7 ± 24.8*	194.7 ± 42.5*	209.4 ± 40.5*	88.9 ± 17.2*	149.6 ± 31.3*
Destete	44.9 ± 10.3					

Diferencia significativa +,  $p < 0.05$

Diferencia altamente significativa \*,  $p < 0.005$

**TABLA 3.** Efecto de diferentes dietas sobre la concentración en mg/dl de lípidos totales en suero de ratas comparado con el control.

Dietas	DIAS					
	0	20	40	60	80	100
Control		418 ± 61	348 ± 68	419 ± 41	352 ± 66	375 ± 70
Colesterol		882 ± 200*	700 ± 123*	658 ± 110*	516 ± 75*	460 ± 104
Proteína		427 ± 55	452 ± 92+	462 ± 71	364 ± 51	341 ± 44
Combinada		702 ± 86*	730 ± 122*	762 ± 53*	404 ± 34	644 ± 63*
Destete	431 ± 86					

Diferencia significativa +,  $p < 0.05$

Diferencia altamente significativa \*,  $p < 0.005$

**DIETA ALTA EN COLESTEROL.** Los resultados obtenidos en este grupo muestran que la adición de 2% de colesterol en la dieta se traduce en un aumento significativo en los niveles de colesterol en la sangre, especialmente en LDL que se convierte así en la principal LP transportadora de colesterol endógeno, acarreado casi un 85% del colesterol total (tablas 1 y 2).

El aumento en lípidos totales que se encontró es coherente con este hecho (tabla 3).

El efecto del factor colesterol de la dieta sobre el colesterol total, colesterol en LDL y lípidos totales es altamente significativo durante toda la experiencia, siendo más pronunciado el efecto durante los primeros 60 días del experimento, como se puede observar en los resultados del análisis de varianza (tablas 4-6).

Este resultado claramente sustenta lo obtenido con el análisis estadístico realizado con el método de *Student* y explica claramente el efecto hipercolesterolémico de las dietas con suplemento de colesterol. Hacia la parte final del experimento el efecto es menos pronunciado, aunque sigue siendo altamente significativo. Esto se debe a la reducción en el aumento de los niveles de colesterol sérico que presenta el grupo de animales alimentados con dieta alta en colesterol y normoproteica.

La elevación de los niveles de colesterol en LDL informados en la presente experiencia podría deberse por lo menos a dos causas contribuyentes. En primer lugar, es posible que haya una

reducción de los receptores para apo B.E en la superficie de la membrana del hepatocito provocado por el acúmulo de colesterol en hígado, y como una forma de disminuir tal acúmulo; en segundo lugar habría una gran producción de VLDL que al salir al plasma sería "delipidada" en los capilares por LPL para producir remanentes de VLDL o IDL, que son removidos de la circulación con mayor afinidad que las propias LDL por el receptor para Apo B.E.

Es de particular interés analizar la forma como las concentraciones de colesterol total, colesterol en LDL y lípidos totales varía a lo largo de todas las sangrías. En efecto, el nivel máximo aparece a los 20 días y luego decrece progresivamente hasta el final del experimento. Esto es diferente a lo que ocurre en otras especies, en las cuales el consumo de dietas similares incrementa el colesterol sanguíneo progresivamente hasta niveles máximos muy elevados (por encima de 300 mg/dl) y en la que hay inducción del proceso aterosclerótico (17). Por el contrario, en la rata parecería que opera un eficiente mecanismo homeostático que contrarrestara la sobrecarga de colesterol en sangre.

Una vez se alcanza el máximo, la reducción de colesterol es progresiva, y va desde niveles promedio de  $299,0 \pm 68,9$  a los 20 días hasta niveles promedio de  $116,7 \pm 31,5$  a los 100 días. Aunque con los datos del presente experimento no es posible aclarar los mecanismos que estarían operando, se pueden sugerir los siguientes:

**TABLA 4. Análisis de varianza para colesterol total en suero de ratas**

F. Calculado	DIAS				
	20	40	60	80	100
Factor colesterol	127.312*	115.65*	165.844*	62.87*	40.08*
Factor proteína	7.91*	3.49	15.73*	12.31*	7.49+
Interacción	16.04*	0.19	2.38	23.90*	8.09*
Valor estimado del efecto de la interacción	-116.79			-79.51	64.83

Efecto significativo +  $\alpha < 0.05$

Efecto altamente significativo \*,  $\alpha < 0.01$

**TABLA 5. Análisis de varianza para colesterol en LDL en suero de ratas**

F. Calculado	DIAS				
	20	40	60	80	100
Factor colesterol	456.58*	39.66*	259.98*	73.36*	44.07*
Factor proteína	23.67*	0.24	5.72*	15.31*	2.27
Interacción	44.71*	0.004	0.49	12.13*	6.59*
Valor estimativo del efecto de la interacción	-85.46			-61.51	65.75

Efecto significativo +,  $\alpha < 0.05$

Efecto altamente significativo \*,  $\alpha < 0.01$

**TABLA 6. Análisis de varianza para lípidos totales en suero de ratas.**

F. Calculado	DIAS				
	20	40	60	80	100
Factor colesterol	80.31*	73.62*	107.64*	22.25*	44.81*
Factor proteína	4.25+	3.32	7.81*	5.74*	6.86+
Interacción	5.46+	1.04	1.44	7.85*	14.19*
Valor estimado del efecto de la interacción	-141.0			-122.23	218.10

Efecto significativo +  $\alpha < 0.05$

Efecto altamente significativo \*,  $\alpha < 0.01$

1. Disminución del colesterol endógeno presente en los ácidos biliares y colesterol exógeno de la dieta a nivel del intestino delgado.
2. Aumento de la excreción de los ácidos biliares que constituyen la vía más importante para la eliminación del colesterol del organismo.
3. Mayor redistribución del colesterol en los distintos tejidos.
4. Reducción o depresión progresiva en la expresión del número de receptores para Apo B,E (R de LDL) y/o aumento de la actividad de la vía no específica para captación de LP. Esta última no regula la producción de receptores (18).

En relación con la electroforesis de LP (figura 1) se puede observar que en la posición correspondiente al gel espaciador aparecen picos mayores en las dietas ricas en colesterol, que en el caso de las dietas control. Lo anterior sugiere que estas ratas hipercolesterolémicas tienen LP más grandes, con poca movilidad electroforética y que por esta razón no penetran en el gel. Los ensayos con poros de gel mayores utilizando concentraciones más bajas de poliacríamida hasta donde es posible manipular el gel, tampoco indican una penetración de las LP al gel de separación. Esto podría implicar que las LP son de tamaños verdaderamente grandes. Estas alteraciones en el tamaño de las LP podría inducir cambios en su afinidad por el receptor que se manifestaría en el perfil de concentraciones de colesterol observado a lo largo de la experiencia.

Cuantitativamente, un cambio de una LP puede ser más dramático en una especie que en otra. Es así como el colesterol de la dieta induce un notable incremento en la concentración de HDL con Apo E en todas las especies estudiadas (19). A estas LP se le ha llamado también HDLc y tienen un mayor contenido de EC. Es conocido que la dieta alta en colesterol y grasa saturada causa elevación de las LDL en suero en muchas especies de animales (19). La respuesta en los humanos varía, pero en aquellos sujetos en que hay elevación del colesterol total circulante, hay una elevación en los niveles de colesterol en LDL. Adicionalmente, las LDL inducidas por esta dieta son más grandes que las LDL normales de la misma especie (20). El tamaño de las LDL de ratas alimentadas con colesterol puede aumentar hasta tres veces comparado con las control (21) y éste se correlaciona

con un enriquecimiento de EC en el núcleo de la partícula que, por esta razón, se expande.

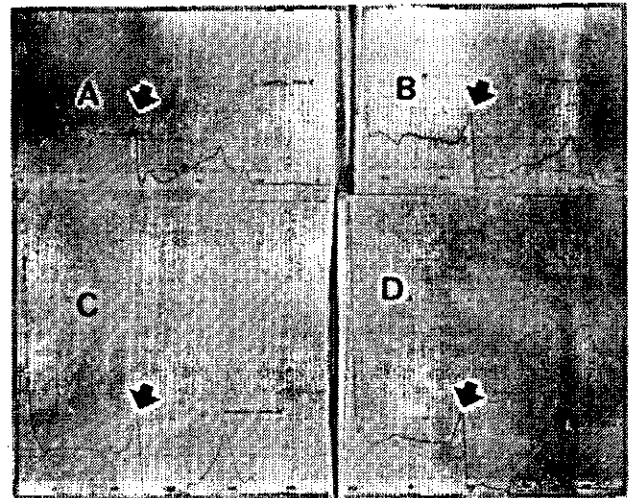


FIGURA 1 Densitogramas de las electroforesis de suero, en geles de poliacríamida. Las muestras se tiñen con Sudan Black. Corresponden a muestras de ratas alimentadas con dietas control (A), baja en proteína (B), combinada (C) y alta en colesterol (D).

La etiología del hígado graso puede variar, pero hay siempre un factor presente en todos los hígados grasos y es que hay acumulación de TAG. La explicación de tal acumulación en las ratas hipercolesterolémicas (figura 2) debe atribuirse tal vez a que los ácidos grasos exógenos o endógenos no sean oxidados o a que estos ácidos no sean removidos del hígado y transportados a otros tejidos. La primera explicación requiere que el mecanismo de oxidación intramitocondrial se encuentre alterado o que haya una disminución en cofactores tales como  $NAD^+$  o  $FAD^+$ , o que haya una deficiencia en la L-carnitina, el transportador de AG al interior de la mitocondria y al punto de regulación de la beta-oxidación. La deficiencia de carnitina determina, como lo demostró Fritz (12), una menor oxidación de AG. Corredor, Mansbach y Bressler (22) demostraron que el hígado y el riñón graso de la deficiencia dietética de colina era debido a una disminución de los niveles tisulares de carnitina. Esto sugería la posibilidad de que los hígados grasos de la dieta rica en colesterol de nuestros animales pudiera ser debido a que el exceso de colesterol se acompañara de un aumento de grasa en el hepatocito que no pudiera ser ma-

nejado adecuadamente por el nivel fisiológico de carnitina.

De ser esta hipótesis correcta, la oxidación de palmitato sería similar a la del control, pero la adición de L-carnitina debería aumentar dramáticamente la oxidación de palmitato. Los resultados (tabla 7) muestran actividades oxidativas similares en animales normales y experimentales en ausencia de carnitina, pero tan solo un modesto 18% de incremento en animales con dieta alta en colesterol comparado con un incremento del 39% en el control cuando se agregó carnitina en ambos casos. Estos hechos indican que el hígado graso de nuestros animales no es debido a menor oxidación de los ácidos grasos disponibles causada por deficiencia relativa de L-carnitina.

De la discusión anterior, parecería probable que la acumulación de grasa en el hígado puede deberse a disminución en su secreción al plasma, es decir, en un defecto en la síntesis de VLDL o en el mecanismo para sacarlas del hepatocito. El defecto en la síntesis de VLDL está constituido por el mayor tamaño de las LDL que demostramos en electrofóresis y que permite sugerir que haya un defecto en el precursor. En cuanto al mecanismo de liberación pensaríamos que, lejos de estar defectuoso, como lo demuestra el aumento en LP circulantes, simplemente se puede encontrar copado por la gran disponibilidad de sustratos para síntesis de LP.

**TABLA 7. Oxidación de palmitato en hígado de ratas con diferentes dietas**

Dietas	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> producido	
	Sin Carnitina	Con Carnitina
Control	59.115	81.923
Colesterol	115.305	183.041
Proteína	45.267	30.562

**DIETA BAJA EN PROTEINA.** Claramente se nota un aumento significativo del colesterol total y colesterol en LDL hasta los primeros 60 días del experimento, para luego caer a valores similares a los mostrados por el grupo control (tablas 1y 2).

El análisis de varianza (tablas 4-6) indica que el efecto del factor proteína de la dieta sobre los niveles sanguíneos de colesterol total, colesterol en LDL y los lípidos totales es significativo o altamente significativo durante la mayor parte del experimento. Se concluye de estos resultados y de los obtenidos por el método de Student que la baja disponibilidad de proteína en la dieta afecta significativamente estos parámetros sanguíneos en la rata.

Debido a que no hay en este grupo un suplemento de colesterol de la dieta se puede sugerir que el aumento de la concentración de colesterol sérico puede ser debido a: a) aumento en la síntesis a partir de precursores; b) disminución de la excreción a través de ácidos biliares; c) aumento de la captación intestinal; d) disminución de la captación por los tejidos.

En experimentos anteriores realizados por Cabrera en este laboratorio (23), se pudo estudiar cuál era el efecto de la dieta baja en proteína sobre la capacidad de síntesis de colesterol hepático e intestinal. Los resultados obtenidos sugieren que hay un aumento de la capacidad de síntesis de colesterol en los dos tejidos a los que se atribuye la génesis de colesterol plasmático (24). En esos experimentos se utilizaron inicialmente dos precursores de colesterol que son acetato 1-<sup>14</sup>C y mevalonato 2-<sup>14</sup>C y se observó una mayor capacidad de síntesis hepática de colesterol a partir de ambos, pero, particularmente de mevalonato, lo que podría sugerir que hay desinhibición mayor en las enzimas de la vía posteriores a la β - 04 - β - metilglutaril CoA reductosa.

La captación de colesterol por parte de los tejidos no parece estar disminuida, como se puede sugerir al observar los datos de determinación de colesterol en tejido. Sobre las otras posibilidades que puedan permitir un incremento de colesterol circulante, no hay datos de este laboratorio ni en el presente experimento que permitan postular hipótesis acerca de lo que pueda estar ocurriendo.

Una explicación fisiológica a esta mayor demanda de colesterol por parte de los tejidos no es clara, pero puede ser debido a un mayor recambio de las células de los tejidos y al mismo tiempo también un mayor recambio del colesterol de membrana para así mantener la integridad de los tejidos y las células que presentan este mayor re-

cambio, posiblemente como consecuencia de la deficiencia de proteína.

A diferencia del comportamiento de nuestras ratas, Tripathy y colaboradores (25) informaron niveles de colesterol disminuídos en pacientes desnutridos. Probablemente esto se deba a diferencias de especie o del estado de madurez de los animales.

A diferencia de lo que ocurrió con las ratas hipercolesterolémicas en la oxidación de palmitato, este grupo no presentó aumento en la producción de  $^{14}\text{CO}_2$  con relación a las control sino que más bien se presentó una leve disminución (tabla 7). En presencia de carnitina no hubo aumento en el  $^{14}\text{CO}_2$  producido. Esta capacidad reducida de la  $\beta$ -oxidación es probable que se deba a defectos en la disponibilidad de proteína para esta función, particularmente palmitoil-

transferasa que es la enzima que regula en el hígado la oxidación de palmitato.

Las observaciones al microscopio óptico de los hepatocitos no indican claramente si se produjo el hígado graso pues aparece mucha retracción perinuclear que confunde la interpretación. Al microscopio electrónico (figura 2) se observan células con escasez de organelos subcelulares y muchas zonas claras de poca densidad electrónica. No aparecen gotas de grasa claramente definidas. La determinación bioquímica del contenido de colesterol total y lípidos totales en el tejido hepático no revela tampoco la presencia de hígado graso.

Los resultados de esta experiencia indicarían que los bajos niveles de proteína usados en esta experiencia no inducen hígado graso en estos animales.

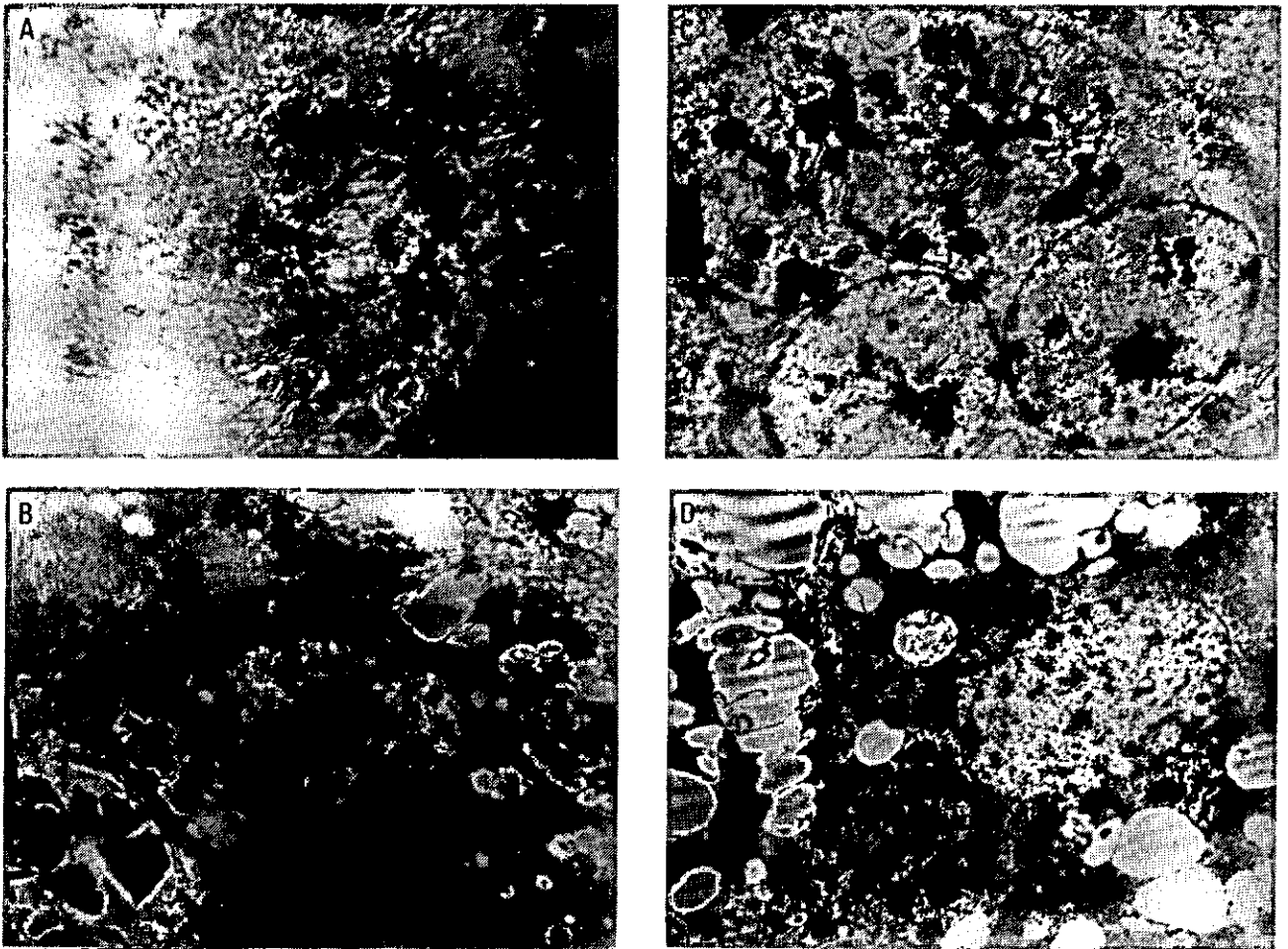


Figura 2. Micrografía electrónica de hepatocitos tratados con tetróxido de osmio. Aumentos de 2.200X corresponden a ratas alimentadas con dieta control (A), alta en colesterol (B), baja en proteína (C) y combinada (D).



**DIETA COMBINADA.** Las observaciones de Rodríguez J. y colaboradores (26) en este laboratorio, muestran que las dietas en las cuales se combinan la baja disponibilidad de proteína con suplemento de colesterol, manteca vegetal como fuente de lípidos y caseína como fuente de proteína producen al poco tiempo unos niveles de colesterol en LDL elevadísimos para ratas (aproximadamente 400 mg/dl), no comunicados antes en la literatura. Además, la sospecha de que algunos de estos animales murieron antes de finalizar el experimento por causa de enfermedad aterosclerótica hacia atractivo examinar nuevamente el efecto de esta dieta.

Los parámetros sanguíneos de este grupo muestran un perfil de concentración de colesterol total, colesterol en LDL y lípidos totales similar (tablas 1-3). Es así como se presenta un aumento de estos respecto al control el día 20, pero este aumento es inferior al que muestran las ratas que recibieron dieta alta en colesterol. Esto podría explicarse parcialmente si se tiene en cuenta que el grupo de ratas que recibió dieta combinada consume menos comida por los bajos niveles de proteína en la dieta (27). A diferencia de lo que ocurre con las ratas que recibieron dieta alta en colesterol en las cuales los parámetros sanguíneos de tipo lipídico aumentados inicialmente, decrecen progresivamente hasta el final de la experiencia, en este grupo que recibió dieta combinada se produce un incremento de los tres parámetros a lo largo de la experiencia con excepción del día 80. Los valores encontrados al día 80 no parecen ser debidos a error experimental, pues las determinaciones se hicieron al mismo tiempo para los grupos.

Las observaciones arriba mencionadas sobre el grupo que recibió dieta combinada permiten sugerir que estos animales han perdido por lo menos en parte la capacidad homeostática para el manejo del colesterol. El factor que estaría influenciando esta alteración homeostática podría ser la baja disponibilidad de aminoácidos en la dieta. No es posible con los datos presentes sugerir el mecanismo preciso que estaría operando en este caso.

El diseño experimental en esta investigación permite evaluar estadísticamente, utilizando el análisis de varianza, el efecto de la interacción entre los factores colesterol y proteína de la dieta sobre los parámetros sanguíneos (tablas 4-6). Es-

te efecto muestra un patrón similar para el colesterol total, colesterol en LDL y los lípidos totales, siendo altamente significativo a los 20, 80 y 100 días. Los valores resultantes (negativos) del efecto de la interacción sobre estos parámetros indican que hubo un efecto supresor del aumento de sus concentraciones en días 20 y 80. El efecto supresor a los 20 días se puede explicar por la mayor dificultad que presentan las ratas que recibieron dieta combinada para adaptarse a este tipo de dieta. El efecto supresor a los 80 días no tiene una explicación fisiológica clara. Los valores resultantes (positivos) del efecto de la interacción sobre estos tres parámetros lipídicos en el día 100 indican que los aumentos se intensificaron por la acción combinada de los factores proteína y colesterol.

El estudio de los tejidos observados al microscopio indican claramente que el hígado es el único de los tejidos analizados que se afecta significativamente. Se puede concluir por tanto, que en las condiciones de este experimento no se induce lesión aterosclerótica en ratas por efecto de esta dieta. Estas observaciones al microscopio (figura 2) sugiere un mayor contenido de grasa en los hepatocitos de este grupo experimental, comparado con el que recibió dieta alta en colesterol. Lo anterior está sustentado por los contenidos de lípidos totales determinados bioquímicamente en el tejido (tabla 8). Estos resultados permiten sugerir la presencia de un efecto adicional sobre la acumulación de grasa en el hígado, al combinar los factores baja proteína y alto colesterol en dieta.

**TABLA 8.** Efecto de diferentes dietas sobre el contenido de colesterol total y lípidos totales en hígado de ratas, tomado como peso seco.\*

Dietas	En mg/g de tejido	
	Colesterol	Lípidos Totales
Control	10.0 ± 3.9	20.3 ± 9.2
Colesterol	59.1 ± 16.1	122.1 ± 16.2
Proteína	6.3 ± 0.8	13.2 ± 1.5
Combinada	67.3 ± 9.7	643.6 ± 41.4

\*Esta determinación se hizo al final del experimento (100 días).

Este efecto adicional podría estar determinado por una reducida capacidad de síntesis proteica, como parece indicarlo la reducida tasa de oxidación de palmitato y la baja concentración de proteínas séricas.

### Conclusiones

A pesar de que, por lo menos en el caso de la rata en un período de 100 días, no se observó correlación entre altas concentraciones de colesterol, LDL y formación de depósitos patológicos de grasa en las arterias que pudieran indicar el inicio de una lesión futura, los resultados de las experiencias que aquí se informan indican claramente que el tipo de dieta consumido influye sobre la concentración de colesterol, lipoproteínas y lípidos sanguíneos.

La capacidad de la rata de manejar un exceso de colesterol dietario es de gran interés. A pesar de que nuestros experimentos no nos permiten insinuar el mecanismo para lograrlo, es bastante sugerente que las ratas que recibieron exceso de colesterol junto con una cantidad limitada de proteína, no tuvieron el mismo éxito que las ratas que recibieron proteína en concentración adecuada. Por otro lado, nuestras observaciones y las de otros laboratorios muestran que la proteína vegetal tiende a rebajar el nivel sérico de colesterol y de LDL. Cómo se relacionan estos factores será de primordial interés en el entendimiento y manejo de la enfermedad aterosclerótica.

### Referencias

1. AHRENS, E.H. et al. *J. Clin. Nutri.*, 32: 2619, 1927.
2. ALTMAN, P.L. and DITTMER, D.S. eds. *Biology Data Book*. 2 ed. Bethesda, Maryland. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 1: 416, 1972.
3. TRINDER, P. *Ann. Clin. Biochem.*, 6:24, 1969.
4. WATSON, D. *Clin. Chem. Acta*, 5: 637, 1960.
5. THANNHAUSER, J.S. *Lipidoses*, 3 ed. New York, Grune and Stratton, 1958.
6. ZOELLNER, B. and KIRSONH, K.Z. *Ges. Exp. Med*, 135: 545, 1962.
7. RICHTERICH, R. y COLOMBO, J.P. *Química analítica*. Barcelona, Saluat, 1983, pp: 340 - 346.
8. LUNA, L.G. *Manual of histologic Staining methods of the Armed forces Institute of Pathology*. 3 ed. New York, Mc Graw - Hill
9. APARICIO, S.R. and MARSDEN, P.J. *J. Microscopy* 89: 139, 1969.
10. NAITO, H.K. et al. *Clin. Chem.*, 19: 228 - 234, 1973.
11. BEATON, G.H. et al. *J. Biol. Chem.*, 236: 2001, 1961.
12. TRITZ, I.B. *Am. J. Physiol.*, 197: 297, 1959.
13. HO, K.J. and TAYLOR, C.B. *Archives of Pathology*, 86: 585, 1968.
14. HUI, D.Y. et al. *J. Biol. Chem.*, 256., 5646, 1981.
15. ANGARITA, B. et al. *Salud Uninorte*, 2(3), 139 - 148, 1985.
16. RODRIGUEZ, D.C. et al. *Memoria XVI Congreso ACCB, Tunja*, 1: 132, 1982.
17. CLARKSON, T.B. *Advances in lipid Research*, 1: 211 - 252, 1963.
18. ATTIE, A.D. et al. *Hepatology*, 2:269, 1982.
19. MAHLEY, R.W. *In: Disturbances in lipid and lipoprotein metabolism*. J. Dietschy et al. eds. Bethesda, American Physiological Society, 1978, pp. 181 - 197.
20. MAHLEY, R.W. and *Clin. North Am.*, 66: 375 - 402 1982.
21. MAHLEY, R.W. and HOLCOMBE, K.S. *J. Lipid. Res.*, 18: 314, 1977.
22. CORREDOR, C. et al. *Bioch. Biophys Acta*, 144: 366, 374, 1967.
23. CABRERA H. *Síntesis de colesterol y ácidos grasos en desnutrición proteica*. Tesis Magister en Bioquímica, Universidad del Valle, 1980.
24. DIETSCHY, J. and SIPERSTEIN, M.D. *J. Lipid Res.*, 8: 97 - 104, 1967.
25. TRIPATHY, K. et al. *Am. J. Nutr.*, 23: 1160 - 1168, 1970.

26. RODRIGUEZ, J. et al. Memoria XVII Congreso ACCB, Cucuta, 1981.
27. MERCER, L.P. et al. J. Nutri., 111: 1117 - 1123, 1981.
- 

### Agradecimientos

Los autores agradecen la generosa contribución de COLCIENCIAS, el Comité Central de Investigaciones de la Universidad del Valle, Solla S.A., Lloreda Grasas y Maizena en la realización de este trabajo. Así mismo reconocen las valiosas discusiones con los doctores Vicente Piazuero, Guido Gordillo y Cecilia de Plata, a lo largo de la investigación.