

## Composición de la palmoleína colombiana y su efecto sobre el perfil lipídico y la formación de placa ateromatosa en conejos

PERSPECTIVAS EN NUTRICIÓN HUMANA  
ISSN 0124-4108 Separata. Agosto de 2004  
Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia págs. 57-74

**Carlos Corredor Pereira** Ph.D. Departamento de Nutrición y  
Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana,  
Bogotá.  
E-mail: ccorredo@javeriana.edu.co.

**Lilia Yadira Cortés Sanabria** M.Sc. Departamento de Nutrición y  
Bioquímica, Pontificia Universidad Javeriana,  
Bogotá.  
E-mail: ycortes@javeriana.edu.co

**Darío Echeverri** M.D. Hemodinamia, Fundación Cardioinfantil,  
Bogotá  
E-mail: decheverri@cardioinfantil.org

**Martha Guerra** M.Sc. CENIPALMA  
E-mail: mguerra@javeriana.edu.co

### Resumen

Los tocotrienoles (T3E), inhiben la síntesis de colesterol hepático por degradación de la hidroximetilglutaril CoA reductasa y disminución de la expresión de adhesinas del endotelio. Para definir su papel sobre el perfil lipídico y la formación de placa, se alimentaron conejos durante 4 meses con una dieta semi-sintética y aterogénica. Las dietas

tenían 40% de salvado de trigo y 10% de harina de tercera. A las dietas con aceite se les añadió 0,1% colesterol. Se determinó perfil de ácidos grasos y concentración de T3E en aceites, productos de trigo y dietas. Grupos de cinco conejos fueron mantenidos con cada dieta durante 4 meses. Mensualmente se determinó perfil lipídico y al finalizar, T3E en san-

**PALABRAS CLAVE:**  
Tocotrienoles, palmoleína,  
perfil lipídico, placa  
ateromatosa.

gre y formación de placa. Por primera vez en el mundo se encontró que la harina de tercera contiene T3E en cantidades significativas (1357 ppm) y que el salvado de trigo contiene 1316 ppm, cantidad superior al único reporte en la literatura. Los acei-

tes de palma colombianos contienen más T3E que los Malasios (810 vs 530 ppm). La combinación de T3E de palmoleína y de productos de trigo es posiblemente responsable de que la adición de colesterol a las dietas no incrementara el colesterol circulante.

## Composition of Colombian Palmoleína and its effects on the lipid profile and the formation of atheroma plaque in rabbits.

### Summary

**T**ocotrienols (T3E) are Vitamin E components that differ from the more generally known tocopherols in that they have an isoprenoid chain in C2 of the chromanol ring. This difference confers them special activities not shared by tocopherols among which the more important are: decrease of cholesterol synthesis through increased  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl glutaryl CoA reductase degradation and decreased monocyte migration and foam cell formation through lowered expression of endothelial adhesins. T3E are found in palmoleína and some cereal seeds. In order to ascertain the role that T3E provided by a combination of palmoleína and wheat bran (WB) and non processed flour (NPF) could have on blood lipids we prepared semisynthetic atherogenic diets and fed them to New Zealand rabbits during four months. All diets had 40% WB and 10% NPF and 5%

fat. Fat was provided by refined palm oil, non processed red palm oil, sunflower oil and soybean oil. Atherogenic diets had an additional 0.1% cholesterol. Fatty acid composition and vitamin E components of the fats and of the diets were determined by GLC and HPLC. Total Cholesterol (TC), LDLc, HDLc, and TG were determined once a month during the experiment. Blood T3E was determined at the beginning and at the end of the four-month period. Endothelial function and plaque formation were determined after sacrifice. RESULTS: 1) We report for the first time a significant T3E concentration in NPF (1375 ppm). We also found a higher T3E concentration in WB (1316 ppm) than the single report found in the literature. The implication of these findings is that whole-wheat bakery products might provide significant amounts of T3E to the Colombian diet. 2) Colombian

#### KEY WORDS:

Palmoleína, vitamin E, tocotrienols, atheroma plaque.

palm oils contain higher amounts of T3E than Malayan palm oil (810 vs. 530 ppm). This can be important since palm oil is used in Colombia for both household and industrial frying purposes more to other cooking oils. 3) No significant difference was found between oils used as far as the increase of serum

Chol and LDLc in atherogenic diets. 4) Palm oil by itself tended to lower serum Chol and LDLc 5) T3E appear in blood lipids in a similar proportion as that provided by the diet. The results reported might be explained by the T3E content of the diet and could be significant in regard to current Colombian diets.

## INTRODUCCIÓN

La vitamina E es una mezcla de derivados del cromanol, tocoferoles (TF) y tocotrienoles (T3E), que tienen propiedades antioxidantes. Se diferencian en que la cadena lateral de los T3E tiene tres dobles enlaces no conjugados y esta característica parece ser responsable de su capacidad, no compartida con los TF, de reducir la síntesis de colesterol hepático y la expresión de adhesinas del endotelio, así como de promover apoptosis de células de cáncer de mama (Sylvester y Theriault 2003). Los TF se encuentran en todos los aceites vegetales, mientras que los T3E sólo se encuentran en aceite de palma y en algunos cereales. La disminución en la síntesis de colesterol hepático parece deberse a que los T3E incrementan la degradación de la enzima b-hidroxib-metil glutaril CoA reductasa, enzima que controla la síntesis del esteroil. (Qureshi et al. 1.986). La reducción de la síntesis de colesterol hepático resultará en una disminución del colesterol total circulante, particularmente del LDLc.

Diferentes estudios epidemiológicos parecen demostrar que existe una correlación entre la concentración de colesterol LDLc y la formación de placa ateromatosa. (Keys et al. 1984; Foreo et al, 1999) De la misma manera, se ha podido demostrar que comidas ricas en ácido oléico tales como las que se consumen en los países mediterráneos están relacionadas con una menor incidencia de accidentes cardiovasculares en la población general, al contrario de lo que sucede en países nórdicos en los que la dieta es rica en grasas saturadas (Ng TK, 1992; Choudhury et al 1995). Otros estudios experimentales hechos por diferentes autores parecen indicar que una dieta rica en grasa saturada incrementa el colesterol circulante, mientras que aquellas ricas en grasas poliinsaturadas disminuyen el colesterol plasmático (Corredor 2000). Sin embargo, los estudios de intervención dietética en los que se ha estudiado el efecto de las grasas saturadas e insaturadas sobre el colesterol sanguíneo pueden ser contradictorios (Borbón y Corredor en preparación), pero el consenso generalizado es que fuentes

dietéticas de grasa altas en ácidos grasos saturados pueden ser perjudiciales para la salud, a pesar de que estudios como el de la Escuela de Salud Pública de Harvard con enfermeras y trabajadores de la salud no parecen substanciar esta creencia (Hu et al. 1999).

El aceite de palma es un rubro muy importante en la economía colombiana y es el componente más difundido en los aceites de cocina utilizados tanto a nivel industrial como a nivel doméstico. El aceite de palma tiene un contenido de ácidos grasos saturados relativamente alto, constituido fundamentalmente por ácidos palmítico y esteárico. Diferentes estudios han demostrado que estos ácidos son neutros en relación con el aumento o disminución del colesterol sanguíneo (Cottrell, 1991, Elson, 1993), contrario a ácidos saturados tales como el mirístico y el láurico que se encuentran en el aceite de coco y de otros vegetales que elevan el colesterol circulante (Cottrell 1991). Sin embargo, el hecho de que tenga un contenido alto de palmitato, y que es una aceite tropical, ha hecho que se le considere como una fuente posible de colesterol circulante elevado. Estudios epidemiológicos que hemos llevado a cabo parecen demostrar que no existe diferencia significativa entre personas que consumen ordinariamente aceite de palma y personas que consumen otros aceites comerciales en relación con el colesterol circulante (Palmas). Estudios de otros autores holandeses y malayos demuestran que el aceite de palma

de Malasia no aumenta, y en algunos casos disminuyen, el colesterol circulante (Ng et al 1991; Tan et al 1991).

El aceite de palma es el único aceite vegetal que contiene T3E. Además del aceite de palma, se pueden encontrar T3E en algunos cereales no procesados tales como avena (Qureshi et al., 1986). En experimentos preliminares, nosotros encontramos que la composición del aceite de palma colombiano era diferente a la composición del aceite de palma malayo y que contenía menos por o porción de ácidos grasos saturados, mayor proporción de ácido oléico y de ácidos poliinsaturados. Además, encontramos que harina de trigo no procesada y salvado de trigo contienen importantes cantidades de T3E.

A partir de estos datos, diseñamos un protocolo que nos permitiera validar los datos de perfil de ácidos grasos del aceite de palma colombiano, la concentración de TF, T3E y carotenos y estudiar la forma como los T3E podían tener algún efecto sobre la concentración de colesterol sanguíneo en conejos que consumían una dieta con diferentes concentraciones de T3E provenientes de aceite de palma y de derivados integrales de trigo y con diferentes relaciones ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados.

## METODOLOGÍA

### Dietas:

Para determinar el posible efecto de una alta ingesta de ácidos grasos

saturados en presencia de una fuente natural de T3E, se prepararon dos dietas que difirieron tan sólo en la fuente de grasa. Las dos dietas se prepararon mezclando los siguientes ingredientes en la proporción indicada: salvado de trigo (40%), harina de alfalfa (28%), harina de tercera (10%), torta de soya (8%), melaza (6%), harina de sangre (0,4%), carbonato de calcio (1,3%), Cloruro de sodio (0,6%), cloruro de colina (0,2%). Se añadieron, también, las siguientes fuentes de nutrientes menores: alimet<sup>R</sup>, bovatec<sup>R</sup>, allzime<sup>R</sup> vegpro<sup>R</sup>, lisina, premezcla de vitaminas y minerales. La fuente de grasa que constituye el 5% (p/p) del total fue o palmoleína refinada o manteca de cerdo.

Para determinar el efecto de los tocotrienoles de diferente fuente natural sobre el perfil lipídico de conejos que consumen dietas aterogénicas con proporciones diferentes de AGS y AGI, se prepararon 4 dietas con la misma composición indicada en el párrafo anterior con las siguientes diferencias: a) Las cuatro dietas contenían 0,1% (p/p) colesterol. b) La fuente de grasa para las dietas fue: 1) palmoleína refinada, 2) palmoleína roja, 3) aceite de girasol y 4) aceite de soya.

La composición nutricional final de las dietas fue: proteína 16.2%, grasa 7.3%, carbohidratos 59%, cenizas 6.6%, fibra cruda 14.8%, humedad 11.5%. Todas las dietas fueron gentilmente preparadas y suministradas por NUTRYR (La Caro, Colombia).

### **Animales de experimentación:**

Se utilizaron 40 conejos machos New Zealand, sexualmente maduros, que fueron adquiridos en Cunicultura BACHUE (Mosquera, Colombia). Los animales se mantuvieron en el bioterio de la Universidad de La Salle. Inicialmente se aclimataron durante una semana, durante la cual recibieron la comida estándar para conejos. Luego de la aclimatación, los conejos se asignaron al azar a uno de los 6 grupos de experimentación. Durante los primeros cuatro días se les acostumbró a la dieta experimental mezclando a la normal un 25% de la experimental, con incrementos diarios del 25% hasta lograr al cuarto día un consumo de 100% de dieta experimental.

A los animales se les ofreció 200 gramos de dieta por día (más de lo que usualmente consume un conejo) y diariamente se pesaba la comida sobrante para poder llevar un control detallado del consumo de cada conejo. Así mismo, se llevaba un control semanal de peso corporal.

Para el análisis de los datos obtenidos, no se tuvo en cuenta los de un conejo del grupo de aceite de girasol que enfermó y murió por causas externas al experimento a los 2 meses de iniciado el tratamiento.

A los cuatro meses de iniciado el experimento los animales fueron sacrificados en las instalaciones de la Fundación cardio infantil. Los animales fueron inicialmente se-

dados con ketamina y acepromacina. Posteriormente fueron sacrificados con una dosis i.v de pentobarbital sódico (50 mg/ kilo de peso). Se procedió a disecar cuidadosamente la aorta torácica y se extrajo una sección de aproximadamente dos centímetros para determinar función endotelial. Inmediatamente después se perfundió el animal con formol al 10% para posterior análisis histomorfológico de la aorta.

El presente proyecto fue aprobado para su realización por los comités de ética e investigación de la Pontificia Universidad Javeriana y de la Fundación CardiolInfantil.

Composición de ácidos grasos en las grasas utilizadas, dietas experimentales y plasma de conejos:

El análisis cromatográfico se realizó en la Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander (UIS), utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard (HP) 5890<sup>a</sup> series II (Palo Alto, CA, USA), equipado con un inyector split/splitless (250°C, relación split 1:40), y un detector de ionización en llama (FID). Los datos obtenidos en el análisis se procesarán a través del sistema de datos: HP Chemstation Rev.A.06.03. Se empleó una columna capilar de silice fundida DBWax (60 m x 0.25 mm d.i.) recubierta con fase estacionaria de polietilenglicol de 0.25 $\mu$ m de espesor. La temperatura del horno se programó desde 100°C (5 min) hasta 136°C (1 min) a una velocidad de 2°C/min y desde 136°C hasta

250°C (25 min) a 7°C/min. Como gas de arrastre se empleó helio (99.995%, AGA Fano S.A.), con presión de entrada en la columna de 200 Kpa y velocidad lineal de 37 cm S<sup>-1</sup>. Los flujos de aire e hidrógeno para el FID fueron 300 y 30 mL min<sup>-1</sup> respectivamente. Como gas auxiliar se utilizó nitrógeno, con una velocidad de flujo de 30 mL min<sup>-1</sup>.

Se utilizaron patrones certificados FAME's GLC-10, GLC-50, GLC-70, GLC-80 y GLC-100 (Sigma chemical Co.). Para convertir los ácidos grasos presentes en los glicéridos de las muestras a sus respectivos metil ésteres (FAME's), se usó el complejo trifloruro de boro (BF<sub>3</sub>) en metanol (al 20%) suministrado por Merck-Schuchardt (Alemania).

#### **Determinación de vitamina E:**

La muestra para análisis se obtuvo mediante solubilización con cloroformo y se analizó por HPLC con detector de fluorescencia y columna de fase reversa RP18E Cromolit de 10 cm de longitud y 4.6 mm d.i. Se utilizaron patrones certificados para TF y T3E de Calbiochem. Las determinaciones se hicieron en las instalaciones de CENIPALMA

#### **Perfil lipídico:**

Para este análisis se recolectó sangre de la oreja de los conejos, previo ayuno de 12 horas, antes de iniciar el tratamiento y posteriormente cada 4 semanas hasta finalizar el experimento a los 4 meses. Las muestras fueron recolectadas en tubos Vacutainer con anticoagu-

lante; posteriormente se obtuvo el plasma mediante centrifugación por 20 minutos. Las determinaciones de Colesterol total, LDLc y HDLc se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Javeriana. Para colesterol total se utilizó un método enzimático (SERA-PAK<sup>R</sup> Colesterol, BAYER DE COLOMBIA); el LDLc se determinó en sobrenadantes obtenido mediante adición de polivinilsulfato (LDL-C, BOEHRINGER MANNHEIM), finalmente el HDLc también se obtuvo mediante precipitación con ácido fosfotúngstico y cloruro de magnesio (SERA-PAK<sup>R</sup> Colesterol HDL, BAYER DE COLOMBIA).

#### **Función endotelial:**

La función endotelial se determinó en un equipo de perfusión de órganos in vitro (Kent scientific). Aros de la aorta extraída fueron montados en el aparato y sometidos a máxima contracción con adrenalina. La función endotelial se expresa como porcentaje de relajación del aro con concentraciones crecientes de Acetilcolina. La capacidad de relajación del músculo liso de la media se midió como porcentaje de relajación con concentraciones crecientes de nitroglicerina

#### **Formación de placa ateromatosa:**

La presencia de lípidos en la íntima de la arteria se midió en un equipo de planimetría microscópica digital (Image Proplus, media Cybernetics) después de tinción con hematoxilina eosina y tricrómico elástica.

#### **Análisis estadístico:**

Las variables se presentan como la media y desviación estándar. Se aplicó un modelo de análisis de varianza para mediciones repetidas para contrastar la significación de los cambios del perfil lipídico, para cada uno de los grupos en cada uno de los momentos de toma de muestras. En el análisis se aplicaron modelos de MANOVA clasificación simple y doble.

#### **RESULTADOS**

En experimentos criminales nosotros habíamos demostrado que ahí una diferencia en la concentración de ácidos grasos saturados en relación con los insaturados entre el aceite de palma colombiano y el Malasia. Con el objeto de confirmar estos estudios conseguimos palmoleína no procesada y palmoleína roja de plantaciones de los Llanos colombianos y determinamos los ácidos grasos que se encuentran en cada una de ellas. Como se observa en la tabla 1, el principal ácido graso saturado es palmitato, con 38%. El principal ácido graso insaturado es el oléico que representa el 45% del total. Le sigue el ácido linoléico con un 11%. Esto nos da una relación saturado-insaturado de 0, 93. La palmoleína roja tiene un poco menos palmitato y estearato, pero tiene casi el 10% más de ácido oléico, que es el que predomina en el aceite de oliva. La relación saturado/insaturado es de 0, 54 en este caso. Si comparamos estas cifras con las publicadas para el

**Tabla 1**  
**Perfil de ácidos grasos de palmoleína colombiana**

Ácidos grasos	Palmoleína	Palmoleína roja
	% ácido graso	
Mirístico	1.0	0.4
Palmitato	37.6	31.4
Estearico	4.6	2.9
<b>TOTAL SATURADOS</b>	<b>44.0</b>	<b>35.1</b>
Oleico	44.6	52.4
Linoleico	10.7	11.4
Linolénico	0.3	0.4
<b>TOTAL INSATURADOS</b>	<b>47.1</b>	<b>64.9</b>

aceite malasio, nos encontramos que la relación en ese caso es de 1, debido a que hay igual cantidad de ácidos grasos saturados que de ácidos grasos insaturados.

Los siguientes ácidos grasos se detectaron en concentraciones menores al 1%: caprico, laurico, pentadecanoico, heptadecanoico, nonadecanoico, eicosanoico, behénico, palmitoleico, araquidónico y eicosadienoico.

**Perfil de tocoferoles y de tocotrienoles en palmoleína colombiana, en derivados integrales de trigo y en otros aceites y grasa animal**

Mientras que los tocoferoles se encuentran en la mayor parte de las fuentes dietéticas de origen vegetal, los tocotrienoles solamente se encuentran en aceite de palma y en

cereales. Con el objeto de obtener una línea base de tocotrienoles en las dietas experimentales usadas en las que rutinariamente se toman harina de tercera y salvado de trigo como fuentes de carbohidrato, determinamos la concentración de tocotrienoles en estos derivados integrales del trigo y en las grasas con las que preparamos las dietas. Como se puede ver en la tabla 2, todos los ingredientes que analizamos contienen los cuatro isómeros de tocoferol, pero sólo la palmoleína procesada y la roja así como los derivados del trigo contienen tocotrienoles. Como se puede observar, tanto el salvado de trigo como la harina de tercera contienen cantidades significativas de alfa, beta y gamma tocotrienoles.

Ni el aceite de girasol, ni el de soya, ni la manteca de cerdo contienen estos isómeros.

Tabla 2

**Concentración de tocoferoles y tocotrienoles en los productos colombianos utilizados en la preparación de las dietas.**

Producto	TF			T3E		
	a	b + g	d	a	b + g	d
	p.p.m.					
Palmoleína	239.6	11	17	300	482	62.5
Palmoleína roja	91.9	0	1.7	240.3	848.1	101.6
Aceite de girasol	456.7	36.1	456.7	22.4	0	0
Aceite de soya	96.2	893.8	640.2	0	0	0
Manteca de cerdo	2.0	3.7	0	0	0	0
Salvado de trigo	235.5	437.2	3.8	81.2	597.9	2.0
Harina de tercera	45.8	317.2	470	156.3	327.4	0
Harina de alfalfa	134.46	21.53	1.56	0	0	0

Efecto de diferentes concentraciones de tocotrienoles sobre colesterol sanguíneo

En la tabla 3 se presentan los niveles de colesterol, LDLc, HDLc y TG en los conejos después de 16 semanas de consumir las dietas y se las compara con la concentración total de tocotrienoles y la relación grasa saturada/grasa insaturada presentes en las dietas consumidas y en el plasma de los conejos.

Como se puede observar, la concentración base de tocotrienoles en todas las dietas se encuentra alrededor de 40 -47 mg/g. La palmoleína corriente tiene alrededor de 15 mg/g por encima de la concentración base y la palmoleína roja tendría alrededor de 30 mg/g más. Las concentraciones de tocotrie-

noles en las dietas se reflejan en la concentración de tocotrienoles en el plasma, con excepción del caso de la dieta con manteca en cuyo caso parecería que los conejos pudieron acumular un poco más de la vitamina. Lo que es más interesante es que cuando a la dietas se añade 0, 1% de colesterol, el colesterol sanguíneo se eleva a valores que pueden ser del orden de dos veces y media lo normal para conejo. Sin embargo, contrario a lo esperado el incremento de colesterol fue similar en las dietas preparadas con aceites de Soya girasol o Palma, pero fueron significativamente menores con la dieta de palmoleína roja que contiene la mayor concentración de tocotrienoles, cosa que también se refleja en la concentración de la vita-

Tabla 3

**Efecto de los tocotrienoles y relación grasa saturada/grasa insaturada sobre los lípidos sanguíneos.**

	Manteca	Palma	Soya	Girasol	Palma	Palma roja
	Colesterol 0.1%					
T3E en dieta (?g/g)	39,5	55,3	40,57	47,21	58,5	71,8
T3E en plasma (?g/100 ml)	216 +/- 16	384 +/- 67	128 +/- 34	183 +/- 67	341 +/- 46	385 +/- 39
Relación AGS/AGI en dieta	0.35	0.53	0.27	0.25	0.5	0.42
Relación AGS/AGI en plasma	0.7	0.74	0.47	0.56	0.57	0.57
Colesterol (mg/dl)	84,4 +/- 9.4	63,6 +/- 11	181,2 +/- 2.5	199,7 +/- 19	213,5 +/- 16	161,2 +/- 21
LDLc (mg/d)	41 +/- 10.4	24 +/- 11.2	131 +/- 47.1	139 +/- 37.4	117 +/- 27.5	96 +/- 17.6
HDLc (mg/dl)	18 +/- 3.7	18,2 +/- 6.4	20,4 +/- 5	25 +/- 2.6	35,6 +/- 4.7	34,4 +/- 4.8
TG (mg/d)	139,8 +/- 12.3	149,8 +/- 24	167,4 +/- 37	157,5 +/- 13.7	192,8 +/- 35	167,6 +/- 13

mina en el plasma. Al dividir el colesterol circulante en el presente en LDL y en HDL, se observa que el LDLc de las dietas con palmoleína es menor que el que se encuentra con soya y con girasol ser. Por el contrario el HDLc se incrementa notablemente a casi el doble de lo encontrado en soya y girasol. Este incremento en HDLc sólo se da cuando hay colesterol añadido a la dieta, como se puede dar en el caso de las dietas con manteca y palma que no presentan diferencia en este sentido, a

pesar de que la dieta con Palma parece haber disminuido el colesterol circulante al cabo de cuatro meses de consumo.

Es generalmente aceptado que las dietas altas en grasa saturada incrementan el colesterol circulante. Sin embargo, en nuestro experimento un las grasas utilizadas se combinaron con un 2% de aceite de soya para incrementar un poco los ácidos grasos insaturados en las diferentes dietas por encima del presente en los componen-

tes utilizados para prepararlas. Como se puede observar en la tabla 3, las dietas con Palma tienen una relación cercana a 50/50 de grasa saturada a insaturada, en la dieta con soya la relación es 0,27, en la con girasol es de 0,25 y en la de manteca de 0,35. Llama la atención el hecho de que en ausencia de colesterol añadido esta relación se incrementa a 0,7 en plasma al final del experimento, pero se reduce a alrededor de 0,5 en todas las dietas a las que se les añadió colesterol. De esta manera, la relación entre grasa saturada a insaturada se logró mantener en niveles similares, de suerte que en los lípidos circulantes solamente se encuentre el efecto de los tocotrienoles. En este sentido, vuelve a llamar la atención el hecho de que aún con una relación de 0,53 en la dieta preparada con aceite de Palma comparada con 0,35 de la dieta preparada con manteca, en ambos casos sin colesterol añadido, tanto el colesterol total como el LDLc de los conejos sea menor en la dieta preparada con palmoleína, cuya única diferencia es la mayor cantidad de tocotrienoles tanto en la dieta como en plasma.

El relación con los triglicéridos, cabe anotar que las diferencias encontradas entre dietas es muy pequeña aun cuando es mayor en las dietas con una relación AGS/AGI mayor, como sería de esperarse.

#### **Función endotelial**

En la figura 1 se muestra la forma como responde el endotelio de

aortas de conejos obtenidas después del sacrificio a las 16 semanas de consumir las diferentes dietas. Como se puede observar, el consumo de las dietas con aceite de Palma, manteca y aceite de Palma con colesterol añadido, resultó en un menor porcentaje de relajación ante la adición de acetilcolina. Sin embargo, no se encontró diferencia en porcentaje de relajación entre las aorta de conejos alimentados con aceite de soya y con palmoleína roja. El porcentaje de relajación con girasol, es intermedio.

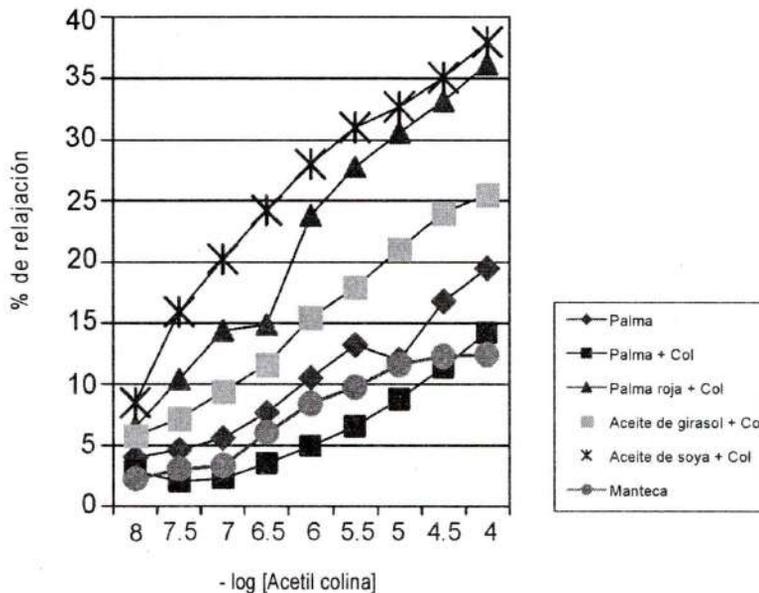
Los estudios histopatológicos de las aortas no mostraron infiltración grasa que pudiera relacionarse con formación de placa aterosclerótica.

#### **DISCUSIÓN**

Qureshi et al., 1986, 1991 y 1995 y Theriault 2000, han demostrado que los T3E de cereales y aceite de palma reducen el colesterol sérico en animales y humanos. Así mismo Qureshi et al., en 1986, demostraron que este efecto es independiente de su capacidad antioxidante que comparte con el TF, y que es debida al incremento en la degradación de la b-hidroximetil-b-metil-glutaril CoA reductasa y al incremento en la degradación de la apoproteína B, lo cual resulta en una disminución en la disponibilidad de colesterol para síntesis de VLDL. El efecto sobre la reductasa, según experimentos reportados por Parker et al, en 1993, puede ser mediado por la cadena isoprenoide que se encuentra en la posición C2 del anillo cromanol, debido a que los T3E afectan la vía del

Figura 1

Porcentaje de relajación de anillos de aorta contraídos con adrenalina, a los cuales se añaden diferentes concentraciones de acetilcolina para relajarlos.



mevalonato produciendo aumento del farnesol celular, el cual regula la enzima mediante cambios post-transcripcionales. Theriault et al., en 1999, demostraron que el  $\alpha$ -T3E es un inhibidor más potente que el  $\alpha$ -TF de la expresión de moléculas de adhesión y por ende podría reducir la formación de ateromas.

La mayoría de las intervenciones dietarias en humanos y animales de experimentación analizan por separado los componentes de las dietas. Sin embargo, la dieta de los seres humanos es muy variada y está sujeta a patrones culturales y a la disponibilidad local de los nutrientes. La dieta del Colombiano de clase media generalmente es adecuada en energía y proteína, aun cuando,

los carbohidratos se incorporan en todas las comidas y es alta en pan, papas, arroz, plátanos y yuca. Las grasas provienen de aceites de cocción y grasas naturales asociadas a productos animales (carne, pollo, huevos) proporcionan aproximadamente un 0.1% de colesterol. Los aceites de cocción son mezclas de aceites vegetales en los cuales el mayor porcentaje es aportado por el aceite de soya y de palma. La palmoleína pura es usada en la mayoría de los procesos industriales. Teniendo en cuenta estos factores, quisimos observar si los niveles de ColS varían al suministrar a conejos dietas en las que hay una cantidad fija de T3E provenientes de salvado de trigo y Harina de trigo de tercera y una cantidad variable adi-

cional provista por aceite de palma, como puede ocurrir en condiciones cotidianas de alimentación.

La especie de palma *Elleis guineensis* no es nativa de Colombia. Fue introducida hace más o menos 70 años y actualmente Colombia es el cuarto productor mundial de este producto (Mesa, J 2000). Mientras que los aceites producidos por la misma especie de palma en diferentes lugares son similares, la composición de sus ácidos grasos sí varía dependiendo del suelo y de las condiciones medio ambientales. Estudios preliminares realizados por nuestro grupo han demostrado que la palmoleína Colombiana contiene una cantidad menor de AGS que la proveniente de Malasia. Cottrell (1991) reportó que la palmoleína de Malasia contiene 44% de ácido palmítico, 5% esteárico y 39% oléico. Nuestros resultados demuestran que las palmoleínas Colombianas contienen entre 31 - 37% de palmitato, 3 - 5% estearato y 45 - 52% oleato. Aun cuando, a pesar de que hay suficiente evidencia que permite decir que los AGS incrementan el ColS tanto en animales como en humanos (Corredor 2000) se ha demostrado que el consumo de palmoleína en seres humanos no incrementa el ColS y en algunos casos hasta existen reportes de que lo disminuye (Ng. Et al 1992; Sundram et al. 1994). Parecería, entonces, que no existe una relación lineal de causalidad entre el consumo de ácidos grasos saturados, el colesterol sanguíneo y el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular. Este aserto cobra

vigencia al observar el estudio de Hu et al. (1999), quienes luego de un detallado estudio de los factores de riesgo de desarrollar ECV en 80.082 mujeres a las que les hizo seguimiento durante 14 años, encontraron que no había asociación entre el consumo regular de palmitato o estearato y el riesgo de desarrollar ECV. Pero, si bien es cierto que no hay esa relación causal AGS-ColS incrementado-riesgo de ECV, la asociación AGS - ColS sí parece existir excepto en el caso de la palmoleína. El no incremento de ColS o aún su disminución con palmoleína podría estar relacionado con el contenido de T3E de este aceite. Nosotros quisimos comprobar este hecho alimentando conejos con dietas a base de palmoleína y de manteca de cerdo, en las cuales la única diferencia era la cantidad de T3E.

Nuestros resultados muestran que a pesar del alto contenido de AGS (33%), las dietas a base de palmoleína producen una disminución constante del ColS y del LDLc durante los cuatro meses que se utilizaron. Por otro lado, la dieta a base de manteca de cerdo que contenía un 24% de AGS, no produjo cambios en las concentraciones de ColS, aun cuando si aumentaron el LDLc en un 40% y disminuyeron el HDLc en un 30% durante los cuatro meses de tratamiento. Estos datos se pueden interpretar, por lo menos en nuestro caso, diciendo que el efecto del alto contenido de AGS se observó principalmente sobre los niveles de LDLc.

La dieta con manteca de cerdo contenía mayor cantidad de TF que la de palmoleína (78 vs 62 ppm), mientras que la de palmoleína contenía mayor concentración de T3E que la de manteca de cerdo (55 vs 39 ppm). La alta concentración de TF en la dieta de manteca de cerdo no sirvió para contrarrestar el aumento en LDLc y, por lo tanto, se puede concluir que el efecto observado en la dieta con palmoleína, es decir la disminución del ColS y el mantenimiento del LDLc tampoco es mediado por los TF que se encuentran en menor cantidad que en manteca de cerdo. Esto nos lleva a proponer que es la mayor concentración de T3E lo que en última instancia contrarresta y, de hecho, disminuye los niveles de ColS.

Para determinar el efecto de los T3E también se puede observar cuando se consume una dieta con un 0.1% colesterol adicional, como sería el caso de una dieta Colombiana, nosotros comparamos dietas preparadas con palmoleína procesada y roja, aceite de girasol y aceite de soya suplementadas con este porcentaje del estero. Para hacer las dietas más parecidas a la Colombiana en la cual se usan mezclas de aceites, mantuvimos la torta de soya que se utiliza normalmente en la preparación de la comida para conejos y que proporciona aproximadamente 2-5 % de su peso en aceite residual. Esto implica que todas las dietas tienen hasta un 0,4% adicional de aceite de soya. Como se puede observar en los resultados, la composición final de ácidos grasos de las die-

tas se diferenció básicamente en los AGS, ácido oleico y linoleico y composición de TF y T3E. Las dietas con palmoleína tuvieron en promedio 30% de AGS mientras que las de girasol y soya tuvieron 20%. Esta diferencia se puede deber a la alta cantidad de ácido oleico (33% vs 23%) y a la menor cantidad de ácido linoleico (31% vs 51%). Se esperaría que esta alta cantidad de AGS en las dietas con palmoleína elevara el ColS, mientras que la alta cantidad de AGPI de las dietas con aceites de girasol y soya lo disminuyera, pero esto no se observó en nuestros resultados. De hecho, contrario a lo esperado, se observó una elevación constante del ColS durante los tres primeros meses, que parece nivelarse hasta el final del experimento, Si observamos los datos al cuarto mes de tratamiento vemos que no se produjo diferencia estadísticamente significativas entre los grupos de conejos, aun cuando si se observó un incremento menor (20%) con el uso de la palmoleína roja. Es interesante resaltar que se observó una nivelación hacia el final del tercer mes de tratamiento, la cual pudo ser debida a mecanismos homeostáticos que pueden ya sea producir una disminución en la absorción de colesterol o utilizar otro mecanismo no conocido.

El efecto sobre el LDLc fue diferente al observado sobre el ColS total. De hecho, se obtuvo un incremento constante de LDLc durante los cuatro meses, el cual fue más pronunciado en el grupo que consumió la dieta con palmoleína pro-

cesada que llegó hasta tres veces el inicial con palmoleína procesada y 2,2 veces con la palmoleína roja. En el caso de las dietas con aceites de girasol y soya, dicho aumento se logró prácticamente entre el segundo y tercer mes de tratamiento y posteriormente se mantuvieron los niveles. Sin embargo, este aumento fue de entre 2.1 y 2.5 veces el valor inicial lo cual lo hace muy similar al producido por el aceite de palma. Sin embargo, en las dietas con palmoleína y colesterol el HDLc se incrementó muy por encima de lo que ocurre con soya y girasol, explicando que a pesar de que el colesterol total es similar independientemente de la dieta consumida, los LDLc sean menores en las dietas con palmoleína.

Debido a que estos resultados no se pueden atribuir a la composición de ácidos grasos de la dieta, los cuales por sí solos producirían resultados muy diferentes, entonces debemos analizarlos teniendo en cuenta las diferencias en composición de TF y T3E de las dietas. Nuevamente, Los niveles de TF en las dietas con aceites de soya y girasol son más elevados que en las de palmoleínas, razón por la cual no podemos decir que el efecto sea causado por ellos. Por otro lado, los T3E son más elevados en las dietas con palmoleínas (58 en palmoleína procesada y 72 ppm en roja) que en las dietas con aceites de girasol y soya (47 y 41 ppm respectivamente). Como se puede observar en las dietas sin adición de colesterol, parece ser que este fac-

tor evita el incremento de LDLc. Esto se podría traducir en los casos en los que se añadió colesterol en un crecimiento lento pero continuo en vez del crecimiento abrupto que se observó con los aceites de girasol y soya.

A pesar de lo anterior, el posible efecto causado por los TF de la dieta no puede ser ignorado. Schwenke et al. (2002) alimentaron conejos con tres tipos de dietas modulares, con componentes químicamente definidos, alta en AGS, alta en AGMI, alta en AGPI y las correlacionaron con ausencia o presencia de 125 UI de a-TF por conejo. Todas las dietas proveían 0.1% de colesterol como en nuestro caso. Ellos encontraron que, luego de 12 semanas, los conejos que consumieron una dieta alta en AGS presentaron niveles de colesterol total de 743 mg/dl y de colesterol no HDL de 708 mg/dl. Por otro lado, los conejos alimentados con el mismo tipo de dieta pero con 125 UI de a-TF presentaron niveles de colesterol de 518 mg/dl. Estos autores también encontraron que las dietas altas en AGPI produjeron menores niveles de colesterol (682 mg/dl) que las dietas altas en AGS, pero que el efecto del a-TF fue más pronunciado (328 mg/dl). Las dietas altas en AGMI produjeron niveles de colesterol menores tanto si tenían a-TF como si no (408 y 299 mg/dl respectivamente). Estos resultados contrastan con los nuestros. En nuestro caso, los conejos alimentados con dietas con palmoleína y 0.1% colesterol escasamente alcanzaron niveles de ColS de 200 mg/dl

a las 12 semanas de tratamiento, menor que lo encontrado por Schwenke con cualquiera de sus dietas independiente de la presencia de TF. Nótese que la cantidad promedio de a-TF en nuestras dietas fue de solo 8 mg/día por conejo.

Nosotros encontramos muy poca diferencia entre los resultados obtenidos con los tres tipos de aceite. Debido a que la cantidad de a-TF proporcionado por nuestras dietas fue solo el 10% del proporcionado por las dietas de Schwenke y la composición de ácidos grasos si fue similar, nosotros pensamos que la razón por la cual nuestros conejos no alcanzaron niveles de colesterol tan altos como el de ellos es la presencia de T3E en las dietas.

Mientras Schwenke et al. encontraron signos de aterosclerosis en sus conejos, nosotros no pudimos en-

contrar evidencia de depósito de grasa en las arterias de los conejos. Esto se confirma por el hecho de no haber encontrado evidencia de disfunción endotelial en ninguno de los casos, como podría esperarse de estar afectada la arteria con depósitos grasos o placa.

Los experimentos reportados parecen demostrar que los T3E naturales de la dieta, sin importar su fuente, parecen disminuir el colesterol sérico y en algún grado limitar el incremento del mismo cuando a la dieta se le adiciona colesterol. Se deben realizar más experimentos par determinar el efecto de las diferentes fuentes d T3E disponibles en las dietas comunes.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a NUTRYR por su gran ayuda en la preparación y suministro de las dietas.

## Referencias

1. Choudhury N, Tan L, Truswell AS. Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 (5): 1043-1051.
2. Corredor C. Efectos del Consumo de Aceite de Palma sobre el Colesterol Sérico. *Palmas* 2000; 21: 386-393.
3. Correll CC, Ng L, Edwards PA. Identification of farsenol as the non-sterol derivate of mevalonic acid required for the accelerated degradation of 3-hidroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1994; 269: 17390-17393.
4. Cottrell RC. Introduction: nutritional aspects of palm oil. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 989S-1009S.
5. Elson CE. Aceites tropicales: aspectos nutricionales y científicos. *Palmas* 1993; 14: 51-85.
6. Forero M, Osorio J, Rios S, Rodriguez C, Guerra M, Corredor C, Alvarado M. "Comportamiento del Perfil Lipídico y Hematológico en una Población de Gestantes y Nulíparas en Santafé de Bogotá." En: *Memorias, XXXIV Congreso de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. Cali: 1999. p. 89.

7. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Dietary saturated fats and their sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (6): 1001-1008.
8. Keys A, Menotti A, Aravanis C, Blackburn H, et al. The seven countries study: 2289 deaths in 15 years. *Prev Med* 1984; 13: 141-54.
9. Mesa J. La palmiticultura colombiana de cara al 2020. *Palmas* 2000; 21: 9-17
10. Ng TK, Hayes KC, Dewitt GF, et al. Dietary Palmitic and Oleic Acids exert similar effects on serum cholesterol and lipoprotein profiles in normocholesterolemic men and women. *J Am Coll Nutr* 1992; 11: 383-390.
11. Parker RA, Pearce BC, Clarck RW, Gordon DA, et al. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1993; 268: 11230-11238.
12. Pearce BC, Parker RA, Deason ME, Qureshi AA, Wright JJK. Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols. *J Med Chem* 1992; 35: 3595-3606.
13. Qureshi AA, Burger WC, Peterson DM, Elson CE. The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J Biol Chem* 1986; 261: 10544-10550.
14. Qureshi AA, Qureshi N, Halser-Rapacz JO, et al. Dietary tocotrienols reduce concentrations of plasma cholesterol, apolipoprotein B, thromboxane B2, and platelet factor 4 in pigs with inherited hyperlipidemias. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1042S-1046S.
15. Qureshi AA, Qureshi N, Wright JJK, et al. Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols (palvitee). *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1021S-1026S.
16. Qureshi AA, Bradlow BA, Brace L, et al. Response of hypercholesterolemic subjects to administration of tocotrienols. *Lipid* 1995; 30 (12): 1171-1177.
17. Qureshi AA, Bradlow BA, Salseer WA, Brace LD. Original tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. *J Nutr Biochem* 1997; 8: 290-298.
18. Qureshi AA, Peterson DM, Hasler-Rapacz JO, et al. Novel tocotrienols of rice bran suppress cholesterol synthesis in hereditary hypercholesterolemic swine. *J Nutr* 2001; 131: 223-230.
19. Qureshi AA, Sami SA, Salseer WA, et al. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* 2002; 161: 199-207.
20. Raederstorff D, Elste V, Aebischer C, Weber P. Effect of either gamma-tocotrienol or tocotrienol mixture on the plasma lipid profile in hamsters. *Ann Nutr Metab* 2002; 46: 17-23.
21. Schwenke DC, Rudel LL, Sorci-Thomas MG, et al.  $\alpha$ -tocopherol protects against diet induced atherosclerosis in New Zealand white rabbits. *J Lipid Res* 2002; 43: 1927-1938.
22. Soler W, Rodríguez D.C., Angarita, B y Corredor C. Influencia del tipo de grasa utilizado en dietas bajas en proteínas o altas en colesterol sobre la colesterolemia. *Informática Química* 1984; 2 (numero): 2-9.
23. Sundram K, Hayes KC, Siru OH. Dietary Palmitic Acid results in lower Serum Cholesterol than does Lauric/myristic acid Combination in Normolipemic Humans *Am J Clin Nutr* 1994; 59 (4): 841-846
24. Sylvester PW, Theriault A. Role of tocotrienols in the prevention of cardiovascular disease and breast cancer. *Curr Top Nutr Res* 2003; 1 (2): 121-136.

25. Tan DT, Khor HT, Low WH, Ali A, Gapor A. Effect of a palm oil vitamin E concentrate on the serum and lipoprotein lipids in humans. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1027S-1030S.
26. Theriault A, Wang Q, Gapor A, Adeli K. Effect of  $\gamma$ -tocotrienol on apolipoprotein B synthesis, degradation, and secretion in HepG2 cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (3): 704-712.
27. Theriault A, Chao J, Wang Q, Gapor A, et al. Tocotrienol: a review of its therapeutic potential. *Clin Biochem* 1999; 32: 309-319.
28. Theriault A. Tocotrienol: un potente antioxidante en el aceite de palma. *Palmas*. 2000; 21 (2): 394-407.
29. Tomeo AC, Geller M, Watkins TR, Gapor A, Bierenbaum ML. Antioxidant effect of tocotrienols in patients with hyperlipidemia and carotid stenosis. *Lipid*. 1995; 30: 1179-1183.
30. Warnick GR. Precipitation procedure for quantitation of high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Chem*. 1982; 28 (6): 1379-1388.