

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**E.A.P. DE NUTRICIÓN**

**“EFECTO HIPOLIPIDÉMICO DE LA CÁSCARA  
PULVERIZADA DE VITIS VINIFERA VARIEDAD  
PINOT NOIR (UVA BORGOÑA) EN RATAS CON  
HIPERLIPEMIA INDUCIDA”**

**TESIS**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición

**AUTOR**

Luigi Alfonso Mezarina Gómez

**ASESOR**

Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Lima-Perú

2015

## **DEDICATORIA**

A mi Dios Todopoderoso por permitirme el día a día.

A mis padres Faviola y Alfonso, a quienes espero algún día poder retribuir lo mucho  
que me han dado.

A mi hermana Brigitte por su paciencia y por su afecto.

A mis abuelos, mis tíos, mis padrinos por su cariño inconmensurable en las distintas  
etapas de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” por abrir sus puertas para la ejecución de esta tesis.

Al Laboratorio de Farmacognosia de la UNMSM y a la profesora Bertha Jurado Teixeira por su aporte en el desarrollo de este trabajo.

A la Escuela Académico Profesional de Nutrición y a su plana docente por las importantes enseñanzas que trascienden el período estudiantil.

A mi mentor, maestro y amigo Mg. Oscar Huamán Gutiérrez por su valiosa contribución material e intelectual, por sus juiciosos consejos y por su enorme disposición al servicio de la investigación.

# ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Aspectos Generales.....	1
1.2 Epidemiología .....	1
1.3 Lipoproteínas .....	3
1.4 Fisiopatología de la aterogénesis.....	4
1.5 Antecedentes.....	6
1.6 Aspecto botánico .....	7
<b>II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	9
2.1 Hipótesis.....	9
2.2 Objetivos.....	9
2.2.1 Objetivo General .....	9
2.2.2 Objetivos específicos.....	9
<b>III. MÉTODOS</b> .....	10
3.1 Tipo de estudio .....	10
3.2 Materiales .....	10
3.3 Método de muestreo .....	11
3.4 Variables.....	11
3.5 Ensayo experimental .....	12
3.5.1 Preparación de la muestra .....	12
3.5.2 Condicionamiento y aclimatación .....	12
3.5.3 Método de inducción y evaluación del efecto hipolipidémico .....	12
3.5.3.1 Método enzimático para la determinación de triglicéridos .....	13
3.5.3.2 Método enzimático para la determinación de colesterol .....	14
3.5.3.3 Método enzimático para la determinación de LDL.....	15
3.5.3.4 Método enzimático para la determinación de HDL.....	17
3.6 Análisis de datos.....	18
3.7 Ética del estudio .....	18

<b>IV. RESULTADOS</b> .....	19
4.1 De la prueba estadística .....	19
4.2 Marcadores del perfil lipídico .....	19
4.2.1 Lípidos séricos .....	19
4.2.2 Lipoproteínas séricas .....	20
4.2.3 Cocientes lipoproteicos .....	21
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	22
<b>VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	28
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	29

## RESUMEN

**Introducción:** Se cree que la uva Borgoña (*Vitis vinifera* Pinot Noir) presenta beneficios para la salud debido a la presencia de polifenoles concentrados en la cáscara. Estos fitoquímicos podrían tener un impacto importante en el tratamiento de la hiperlipemia. **Objetivos:** El objetivo del presente estudio fue determinar si la cáscara pulverizada de uva presenta efecto hipolipidémico en ratas con hiperlipemia inducida. **Diseño:** Estudio analítico, experimental y transversal. **Material biológico:** Ratas de cepa Holtzmann, *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir **Intervenciones:** Las ratas se distribuyeron en 4 grupos de 6 individuos: Un control negativo (sin la enfermedad), un control positivo (8 mg/g de glutamato monosódico) y dos grupos experimentales (8 mg/g de glutamato monosódico más cáscara pulverizada de uva a las dosis de 50 mg/kg peso and 200 mg/kg peso). Luego de 30 días de tratamiento se procedió a medir la concentración de colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL. **Resultados:** Se encontró disminución significativa de colesterol total y de LDL ( $p < 0,05$ ), pero no se observó diferencia significativa en la concentración de triglicéridos y HDL ( $p > 0,05$ ). **Conclusiones.** El pulverizado de cáscara de uva presenta efecto hipolipidémico bajo condiciones experimentales.

Palabras clave: Planta medicinal, hiperlipemia, uva Borgoña, hipolipidémico

## ABSTRACT

**Background:** Burgundy grape (*Vitis vinifera* Pinot Noir) is believed to be health beneficial because of polyphenols largely concentrated in its skin. These phytochemicals might have an important impact on hyperlipidemia treatment.

**Objectives:** The objective of this study was to measure the hypolipidemic activity of grape skin powder in hyperlipidemic rats. **Design:** analytical, experimental and transversal study. **Biologic material:** Holtzmann rats, *Vitis vinifera* Pinot Noir. **Intervention:** The rats were distributed in 4 groups of 6 subjects each: one negative control (without disease) one positive control (8 mg/g monosodium glutamate) and two experimental groups (8 mg/g monosodium glutamate plus grape skin powder at doses of 50 mg/kg bw and 200 mg/kg bw). After 30 days of treatment, the levels of total cholesterol, triglycerides, HDL and LDL were evaluated. **Results:** The levels of total cholesterol and LDL were significantly lower for both doses of grape skin powder ( $p < 0,05$ ) however, the concentrations of triglycerides and HDL were not significantly different ( $p > 0,05$ ). **Conclusion:** Grape skin powder possesses hypolipidemic activity on an experimental ground.

Key Words: Medicinal plant, hyperlipemia, Burgundy grape, hypolipidemic

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Aspectos Generales

La hiperlipidemia o hiperlipemia es aquella condición en la que se elevan las concentraciones plasmáticas de los lípidos (colesterol, triglicéridos o ambos) y que tiene como consecuencia una mayor predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares (ECV)<sup>1</sup>. Numerosos estudios han ido reafirmando la relación directa que existe entre estas enfermedades y sus complicaciones con las concentraciones elevadas de colesterol y triglicéridos<sup>2</sup>.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en el mundo y se debe a la confluencia de múltiples factores como la falta de actividad física, el tabaquismo, la hipertensión arterial, la hiperlipemia, entre otros. La situación es muy alarmante si consideramos que las muertes por ECV exceden el 80% en países con ingresos medianos y bajos<sup>3</sup>.

El tratamiento farmacológico contra la hiperlipemia ha demostrado un buen nivel de efectividad<sup>4</sup>, sin embargo la utilización de estos medicamentos es a menudo reconsiderada por la presencia de efectos secundarios, la valoración de riesgo-beneficio, el alto costo o el difícil acceso; lo que determina que el paciente opte por otras alternativas terapéuticas como la fitoterapia<sup>5,6</sup>.

A pesar de que la hiperlipemia es relativamente asintomática, tiene consecuencias clínicas significativas a nivel individual y constituyen además un importante problema de salud de gran impacto demográfico, sanitario y social<sup>7</sup>.

## 1.2 Epidemiología

El estudio de Framingham (Massachusetts, 1948) es uno de los estudios epidemiológicos que ha tenido mayor repercusión tanto en avances científicos como en beneficios para la humanidad. Esta investigación, realizada en la ciudad homónima de Framingham, reunió más de 5000 personas y durante



casi 6 décadas ha ido descubriendo aspectos fundamentales del desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. Uno de sus principales hallazgos fue demostrar la relación lineal entre el nivel de colesterol y el riesgo de padecer cardiopatía isquémica en individuos de edades comprendidas entre los 35 y 64 años. Con el transcurrir del tiempo, se pudo apreciar que esta relación disminuía con la edad, siendo prácticamente insignificante a partir de los 65 años. También se observó que la incidencia era mayor en hombres que en mujeres, aunque esta relación iba equilibrándose con la edad. Asimismo este estudio reveló la relación inversa entre HDL y mortalidad, lo que catalogó a esta lipoproteína como factor de protección frente a las enfermedades cardiovasculares<sup>8</sup>.

Como se mencionó, las enfermedades cardiovasculares y sus consecuencias producen efectos de gran alcance sobre la salud y el bienestar de la población siendo un problema mayoritario en los Estados Unidos de América según estadísticas recientes. Se estima que un 43.5% de la mortalidad está dada por las enfermedades cardiovasculares donde el grupo poblacional más afectado son los adultos mayores. Hacia el 2010 se registraron aproximadamente 600 000 muertes por enfermedades cardiacas, cifra que pese a ser menor que la reportada en años anteriores, sigue siendo alarmante. Asimismo la media de la concentración de colesterol de la población norteamericana mayor de 20 años supera los 196 mg/dL lo cual constituye una amenaza para la salud<sup>9</sup>.

Se ha calculado que la esperanza de vida en los Estados Unidos aumentaría casi siete años si se eliminaran las formas principales de las enfermedades cardiovasculares y que su incidencia disminuiría si se enfoca en la prevención mediante la modificación en los estilos de vida<sup>10,11</sup>.

En nuestro medio, un estudio realizado en el 2006 en el que se incluyeron 995 casos de pacientes con diagnóstico de infarto de miocardio agudo (IMA), reportó que la muerte intrahospitalaria fue de 7,4% mientras que uno de los principales factores de riesgo fue la hiperlipemia (41,1%)<sup>12</sup>.

La Encuesta nacional de indicadores nutricionales, bioquímicos, socioeconómicos y culturales relacionados con las enfermedades crónicas

degenerativas, realizada en nuestro país en el año 2006, reveló que la hipercolesterolemia se presenta casi en un quinto de la población peruana mientras que la hipertrigliceridemia y contenido elevado de LDL se observan en un 15,3% de afectados que en gran medida son personas mayores de 50 años. La mayor prevalencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia se observó en la costa y en la selva respectivamente<sup>13</sup>.

Asimismo, un estudio realizado por la Sociedad Peruana de Cardiología (2013) reveló que en un lapso de 5 años la hipercolesterolemia aumentó tanto a nivel nacional (10 a 13,8%) así como a nivel de las regiones costa (12,6 a 17,6%), sierra (7,6 a 11%) y selva (9,4 a 10,9%) siendo esta prevalencia mayor en mujeres que en hombres<sup>14</sup>.

### **1.3 Lipoproteínas**

Las lipoproteínas son complejos macromoleculares de apariencia esférica y de característica hidrosoluble, que se encuentran formadas por un núcleo de lípidos apolares (colesterol esterificado triglicéridos, vitaminas liposolubles) y cubiertos por una capa externa constituida por apoproteínas fosfolípidos y colesterol libre las cuales le confieren su naturaleza polar. Entre las principales lipoproteínas tenemos a los Quilomicrones (QM), las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL)<sup>15</sup>.

Los quilomicrones son sintetizados en el intestino y transportan los lípidos provenientes de la ingesta dietaria para luego ser liberados a la circulación linfática y posteriormente ser llevados a la circulación sanguínea en donde se distribuyen a numerosos tejidos en los que son hidrolizados por la lipasa lipoproteica periférica. Esta hidrólisis libera ácidos grasos y glicerol que son captados a nivel tisular originándose partículas denominadas remanentes de quilomicrones<sup>15</sup>.

La síntesis de VLDL está regulada por la formación de apo B100 y por los triglicéridos sintetizados en el hígado y al igual que los quilomicrones, son

hidrolizadas en los tejidos extrahepáticos por la lipoproteínlipasa periférica. Una parte, es rápidamente captada como remanentes de VLDL por el hígado y otra parte continúa con el proceso de hidrólisis de los triglicéridos para transformarse en LDL. Estas lipoproteínas son ricas en colesterol y son principalmente captadas a nivel del hígado. Al internalizarse, se produce el catabolismo celular de esta lipoproteína que libera colesterol libre e inhibe a la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMGCR) que es la enzima más importante en la síntesis de colesterol<sup>15,16</sup>.

Las HDL son sintetizadas en el hígado y en el intestino y su función principal es la de transportar el colesterol desde los tejidos periféricos hacia el tejido hepático; este proceso es conocido como el transporte reverso del colesterol. El colesterol captado por las HDL puede dirigirse hacia el hígado para su excreción por la bilis a través de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC) que transfiere el colesterol esterificado desde las HDL hacia las VLDL y LDL que transportan finalmente el colesterol hacia el hígado; y por la vía del receptor *scavenger* B1 (SR-B1) en la que el colesterol es captado directamente desde las HDL. Al no ser catabolizadas, las HDL pueden volver a la periferia para captar más colesterol<sup>15,16</sup>.

#### **1.4 Fisiopatología de la aterogénesis**

Una de las complicaciones que genera la hiperlipemia es la aterosclerosis, que se define como la alteración patológica de las arterias. Se caracteriza por el depósito anormal de lípidos y tejido fibroso en la pared arterial, que desorganiza la estructura, la función de los vasos sanguíneos y reduce en forma variable el flujo de sangre<sup>17</sup>.

Los vasos sanguíneos presentan tres túnicas: la túnica íntima (compuesta por endotelio, tejido conectivo y elastina), la túnica media (constituida por células musculares lisas y fibras elásticas) y la túnica adventicia (formada por tejido conectivo)<sup>18</sup>. Cuando se produce la disfunción endotelial se manifiesta por medio del incremento de la adherencia por lo que moléculas como LDL, monocitos y plaquetas se aglomeran en el área dañada, tornando turbulento el flujo sanguíneo y agravando consecuentemente la lesión del endotelio<sup>19</sup>.

El colesterol en vez de ir al hígado para cumplir sus distintas funciones (síntesis de hormonas, formación de membranas o de tejidos, etc.) viaja en altas concentraciones por el torrente sanguíneo y penetra al subendotelio acumulándose en dicho espacio. El sistema inmune reconoce a estas partículas como un cuerpo extraño produciendo como respuesta el factor quimiotáctico de los monocitos que junto con la interleucina 1 $\beta$ , atraen a estas células hacia el endotelio. Cuando estos leucocitos se encuentran en la superficie endotelial, el factor de adhesión de los monocitos (ELAMS) los fija a dicha superficie y a través del factor de migración de los monocitos (MCP) penetran al subendotelio fagocitando a los ésteres del colesterol acumulados en esa región formando lo que conocemos como las células espumosas<sup>20</sup>.

En las células espumosas ocurre el proceso de oxidación de las LDL provocando un intenso proceso inflamatorio en el subendotelio que por un lado promueve la síntesis de colágeno y por otro la migración de células de músculo liso de la capa media de la pared vascular; estos sucesos tienen como objetivo la formación de una capa fibrosa que recluye el proceso inflamatorio en el subendotelio. Ocurre luego la migración de los linfocitos T hacia el proceso inflamatorio formando la placa de ateroma que queda constituida por el núcleo lipídico (ésteres de colesterol y células espumosas) y una capa fibrosa que aísla al problema inflamatorio (células del músculo liso y colágeno). Formada la placa de ateroma, esta puede sufrir pequeñas erosiones endoteliales que son reparadas por agregación plaquetaria y por células progenitoras endoteliales<sup>19</sup>. Este proceso, cuando es reiterativo en el tiempo va haciendo crecer la placa de ateroma; la arteria se expande hacia afuera a través de su lamina elástica de tal manera que al crecer hacia fuera, la luz de la arteria se preserva. Este fenómeno se le denomina “remodelación vascular compensadora” o fenómeno de Glagov y por ello, la arteria no es obstruída<sup>21</sup>. No obstante si el proceso de erosión endotelial continúa manifestándose a pesar del fenómeno de Glagov, la luz de la arteria se va obstruyendo progresivamente por lo que el proceso de aterosclerosis puede comportarse con remodelación vascular positiva, en el que el paciente se encuentra asintomático, pero la presencia de las placas de ateroma predisponen la ocurrencia de una obstrucción arterial<sup>19</sup>. A pesar de que durante el reposo la perfusión puede ser normal, cuando se realiza

actividad física el consumo de oxígeno aumenta frente a un flujo sanguíneo insuficiente para cumplir demanda metabólica, resultando perjudicial para el individuo<sup>20-22</sup>.

## 1.5 Antecedentes

Las uvas son productos de origen vegetal que presentan gran cantidad de polifenoles. Estos fitoquímicos son abundantes tanto en la semilla como en la cáscara destacando la presencia de ácidos hidróxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos, resveratrol, antocianinas, proantocianidinas y flavonoles. El contenido de los polifenoles varía marcadamente no solo entre especies sino también dentro de una misma especie dependiendo del tiempo de la cosecha<sup>23</sup>.

Existe evidencia de que los polifenoles poseen actividad antioxidante<sup>24</sup>, anticancerígena<sup>25</sup>, antiinflamatoria<sup>26</sup> y hepatoprotectora<sup>27</sup>, además el consumo de estos compuestos ha sido vinculado con la reducción de la obesidad y con la mejora del perfil lipídico en individuos que presentaban dislipidemia<sup>28</sup> tal como se reportó en las siguientes investigaciones:

Igarashi *et al.* (1991) investigaron el efecto de polifenoles (antocianinas) de *Vitis coignetiae* (uva silvestre) en ratas alimentadas con una dieta rica en colesterol. Se encontró que el colesterol total disminuyó de manera significativa luego de 14 días de tratamiento<sup>29</sup>.

Arroyo *et al.* (2007) indujeron a un cuadro de hipercolesterolemia a ratas mediante la ingesta de colesterol puro al 97% (62,5 mg/kg) y evaluó el efecto del extracto alcohólico de antocianinas proveniente del *Zea mays* L. (maíz morado) que luego de 60 días de estudio, evidenció una reducción significativa de colesterol total<sup>30</sup>.

Seymour *et al.* (2009) suplementaron *Prunus cerasus* (cereza ácida) a ratas con predisposición genética a síndrome metabólico. Al término de 90 días de estudio, se encontró disminución significativa del colesterol total y de los triglicéridos<sup>31</sup>.

Peng *et al.* (2011) alimentaron a los animales de experimentación con una dieta alta en grasa para elevar las concentraciones de colesterol. Luego de la inducción de la enfermedad, se les suministró extracto de antocianinas provenientes de mora y luego de 12 semanas, los niveles de triglicéridos, de colesterol total y de LDL disminuyeron mientras que las concentraciones de HDL aumentaron<sup>32</sup>.

Adisakwattana *et al.* (2011) demostraron que las proantocianidinas de la uva presentan actividad hipocolesterolemia al interferir con la absorción del colesterol en un modelo *in vitro*<sup>33</sup>.

Brader *et al.* (2013) suministraron extracto de arándanos a ratas genéticamente hiperlipémicas encontrándose que los polifenoles presentes en el extracto (en especial antocianinas), disminuyeron la concentración colesterol total y de LDL en un periodo de 8 semanas<sup>34</sup>.

## 1.6 Aspecto botánico

Conocida como la vid o parra, es una planta leñosa trepadora que puede alcanzar con facilidad los treinta metros de altura si se le deja crecer, pero debido a la intervención humana, es podada anualmente alcanzando la altura de un metro. La vid es una planta con flores, una angiosperma de la clase de las dicotiledóneas, de la subclase con flores muy simples (Choripetalae) aunque con un cáliz y corola más avanzados (Dyalypetalae). Es originaria de la zona mediterránea y de Asia menor aunque en la actualidad se cultiva en todo el mundo. Prefiere climas templados y no es exigente en cuanto a suelos debido a que se adapta a muchos de estos, aunque su crecimiento se ve favorecido en terrenos pedregosos y bien drenados. Pueden llegar a vivir hasta cien años<sup>35</sup>.

El fruto de la *Vitis vinifera* es la uva y es caracterizada por su forma casi esférica u ovalada y tiene de doce a dieciocho milímetros de diámetro. Se distinguen tres partes: epicarpio, mesocarpio y endocarpio<sup>35</sup>.

El epicarpio u hollejo es la parte más externa de la uva que sirve de protección para el fruto. Es de textura membranosa y con epidermis cutinizada en la que

aparece una capa protectora cerosa llamada pruina que tiene a su cargo la fijación de las levaduras que fermentan el mosto<sup>35</sup>.

El color del hollejo es variable. En la fase herbácea es de color verde y a partir del envero (fase del ciclo de la uva en la que cambia de coloración) toma tonalidades amarillas en variedades blancas, y rosado o violáceo, en variedades tintas. Esto ocurre debido a la acumulación de los polifenoles como las antocianinas<sup>36</sup>.

El mesocarpio o pulpa representa la mayor parte del fruto. Es traslúcida a excepción de las variedades tintoreras (acumulan aquí sus materias colorantes) y muy rica en agua, azúcares, ácidos (málico y tartárico principalmente), aromas, etc. Presenta una fina red de haces conductores, denominándose pincel a la prolongación de los haces del pedículo<sup>35-37</sup>.

El endocarpio es una fina capa que rodea y protege a las semillas las cuales son ricas en aceites y taninos. Están presentes en número de 0 a 4 semillas por baya. A la baya sin semillas se la denomina baya apirena<sup>35-37</sup>.

La clasificación taxonómica es como sigue:

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Magnoliophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Orden:** *Vitales*

**Familia:** *Vitaceae*

**Género:** *Vitis*

**Especie:** *V. vinifera*

## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1 Hipótesis**

La administración de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir (uva Borgoña) ejerce efecto hipolipidémico en ratas con hiperlipemia inducida.

### **2.2 Objetivos**

#### **2.2.1 Objetivo General**

Determinar el efecto hipolipidémico de la administración de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir (Uva Borgoña) en ratas con hiperlipemia inducida.

#### **2.2.2 Objetivos específicos**

Determinar el efecto de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* sobre los lípidos séricos en ratas con hiperlipemia inducida.

Determinar el efecto de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* sobre las lipoproteínas séricas en ratas con hiperlipemia inducida.



### III. MÉTODOS

#### 3.1 Tipo de estudio

Analítico, experimental y transversal.

#### 3.2 Materiales

- **Material biológico**

- *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir (uva Borgoña).
- Ratas de cepa Holtzmann de 3 meses de edad.

- **Reactivos**

- HDL Colesterol Reactivo Precipitante (Lab. Wiener) para determinación de HDL.
- LDL Colesterol Reactivo Precipitante (Lab. Wiener) para determinación de LDL.
- TG Color GPO/PAP AA (Lab. Wiener) para determinación de triglicéridos.
- Colestat enzimático (Lab. Wiener) para determinación de colesterol total.

- **Equipos**

- Balanza electrónica Radwag WTB – 200 Max. 200 g d= 0,001g
- Espectrofotómetro NV 203 – Greetmed
- Centrífuga para tubos – Greetmed Modelo GT119-300
- Baño María AVALIER modelo VL-32
- Estufa Unic's
- Pipeteador de volumen ajustable Kacil

- Molino de cuchilla Wiley Will St. Model N°3

### 3.3 Método de muestreo

Tamaño muestral: El tamaño de la muestra fue determinado por sugerencia de expertos, dando un total de 24 ratas (n=6).

### 3.4 Variables

Variable	Definición conceptual	Indicadores	Categorías/Puntos de corte	Escala de medición
<b>Independiente</b> Administración de cáscara pulverizada de <i>Vitis vinifera</i> var. Pinot Noir	Administración de pulverizado de cáscara de uva <sup>35</sup> suspendida en agua destilada	- 50 mg/kg de peso del animal/día  - 200 mg/kg de peso del animal /día	Cuantitativo	Continua
<b>Dependiente</b> Efecto hipolipidémico	Disminución de las concentraciones de lípidos séricos <sup>38</sup>	- Colesterol total (mg/dL)  - Triglicéridos (mg/dL)  - HDL (mg/dL)  - LDL (mg/dL)	Cuantitativo/ Referencia del grupo control	Continua

### **3.5 Ensayo experimental**

#### **3.5.1 Preparación de la muestra**

Se adquirieron las especies de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir en el valle de Cañete departamento de Lima y luego fueron transportadas hacia el laboratorio. Las uvas fueron seleccionadas y se descartaron aquellas que presentaban signos de deterioro. Se removió la pulpa para obtener únicamente las cáscaras las cuales fueron lavadas y colocadas en una estufa a temperatura de 37°C por espacio de 5 días. Posteriormente se realizó la molienda en el laboratorio de farmacognosia en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM con el fin de obtener un tamaño de partícula que luego fue sometido a un tamizaje final, tras lo cual se obtuvo la cáscara pulverizada que se utilizó en nuestra investigación.

#### **3.5.2 Condicionamiento y aclimatación**

Los animales de experimentación fueron expuestos a un tiempo de acondicionamiento de 5 días a una temperatura de 22°C, a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad continuamente. A cada rata se le proporcionó aproximadamente 15 g de alimento balanceado, obtenido en el centro de producción de la UNALM, y agua *ad libitum*.

#### **3.5.3 Método de inducción y evaluación del efecto hipolipidémico**

Se utilizó el método de Singh (2011) el cual consiste en administrar glutamato monosódico en dosis de 8 mg/g de peso. Las dosis respectivas fueron administradas por vía peroral a través de una cánula metálica rígida<sup>39</sup>.

Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en cuatro grupos (n=6) recibiendo el tratamiento respectivo por 30 días (Tabla 1).

**Tabla 1. Distribución y tratamiento de los grupos de estudio**

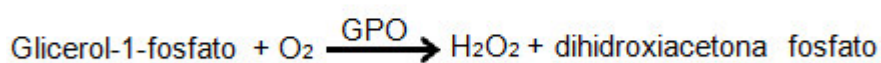
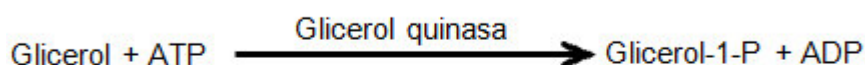
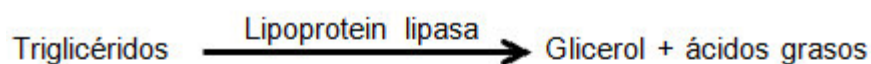
Tratamiento	
Grupo I	Suero fisiológico 10 mL/kg de peso del animal
Grupo II	Glutamato monosódico 8 mg/g de peso del animal + suero fisiológico 10 mL/kg*
Grupo III	Glutamato monosódico 8 mg/g de peso del animal + pulverizado de cáscara de uva 50 mg/kg de peso del animal*
Grupo IV	Glutamato monosódico 8 mg/g de peso del animal + pulverizado de cáscara de uva 200 mg/kg de peso del animal*

\*Luego de 1 hora de haberse administrado el glutamato monosódico

Concluida la inducción y la administración de la muestra, los animales de experimentación estuvieron en ayuno sólido por 12 horas y posteriormente fueron anestesiados con vapores de éter para extraer la muestra sanguínea mediante punción cardíaca. La sangre obtenida se empleó para determinar los lípidos séricos y las lipoproteínas.

### 3.5.3.1 Método enzimático para la determinación de triglicéridos<sup>40</sup>

**Fundamento:** se basa en la siguiente reacción



### Reactivos

Reactivo A: solución que contiene buffer Good 50 mmol/L; pH 6,8; clorofenol (2 mmol/L), lipoprotein lipasa ( $\geq 800$  U/L), glicerol kinasa ( $\geq 500$  U/L), glicerol fosfato oxidasa ( $\geq 1500$  U/L), peroxidasa ( $\geq 900$  U/L), adenosina trifosfato (2 mmol/L) y 4-aminofenazona (0,4 mmol/L).

Estándar: solución de glicerol 2,26 mmol/L (equivale a 200 mg/dL de trioleína).

### Protocolo

Se empleó 10 µL de suero el cual se agregó 1 mL del reactivo A y se colocó en baño María a 37°C por 5 minutos.

El estándar y el blanco reactivo fueron tratados de la misma forma que la muestra de suero.

Concluido la incubación fue retirada del baño María y leído en el espectrofotómetro ( $\lambda=505$  nm).

Los datos fueron calculados por la siguiente formula:

$$\text{Triglicéridos (mg/dL)} = \text{ABS (s - bl)} \times \frac{200 \text{ mg/dL}}{\text{ABS (st - bl)}}$$

Donde:

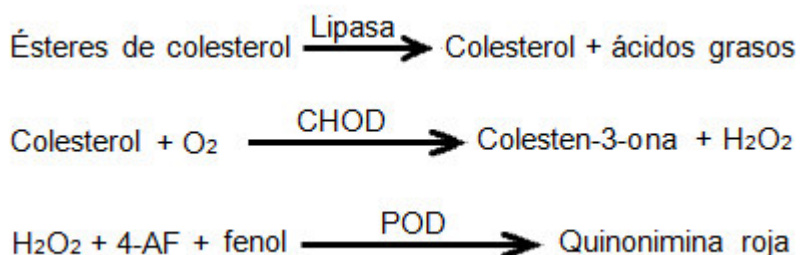
ABS(s-bl): absorbancia de la muestra del suero restando del blanco

ABS(st-bl): absorbancia del estándar restando del blanco.

200 mg/dL: concentración estándar.

### 3.5.3.2 Método enzimático para la determinación de colesterol<sup>40</sup>

**Fundamento:** Se sustenta en la siguiente reacción



### Reactivos

Reactivo A: solución de 4-aminofenazona (1,25 mmol/L)

Reactivo B: solución de fenol (2,75 mmol/L)

Reactivo C: suspensión de lipasa fungal ( $\geq 6000$  U/L), colesterol oxidasa ( $\geq 60$  U/L) y peroxidasa ( $\geq 400$  U/L).

Reactivo de trabajo: Se colocó en una probeta 50 mL de agua destilada, 5 mL de reactivo A, 5 mL de reactivo B y se añadió agua destilada hasta llegar a 100 mL. Posteriormente se adicionó 2 mL de reactivo C previamente homogenizado.

Estándar: solución de colesterol de 200 mg/dL.

### **Protocolo**

Se colocó 10 µL de suero con 1 mL de reactivo de trabajo y se incubó durante 5 minutos en baño María a 37°C. El estándar y el blanco reactivo fueron tratados de la misma forma que la muestra de suero.

Concluida la incubación, se retiró la muestra y la absorbancia fue leída en espectrofotómetro a  $\lambda = 505$  nm.

Se empleó la siguiente fórmula para determinar la concentración:

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \text{ABS (s - bl)} \times \frac{200 \text{ mg/dL}}{\text{ABS (st - bl)}}$$

Donde:

ABS (s-bl): absorbancia de la muestra del suero restando el blanco

ABS (st-bl): absorbancia del estándar restando el blanco.

200 mg/dL: concentración del estándar.

### **3.5.3.3 Método enzimático para la determinación de LDL<sup>40</sup>**

#### **Fundamento**

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL o  $\beta$ -lipoproteínas) se separan del suero precipitándolas selectivamente mediante el agregado de polímeros de alto peso molecular (sulfato de polivinilo disuelto en polietilenglicol). Luego de centrifugar, en el sobrenadante quedan las demás lipoproteínas (HDL y VLDL); el colesterol ligado a las mismas se determina empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría según Trinder (Fenol/4-Aminofenazona). Por diferencia entre el colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtiene el colesterol unido a las LDL.

## Reactivos

Reactivo A (Reactivo precipitante): solución de 1 g/L de sulfato de polivinilo disuelto en polietilenglicol (PM: 600) al 25%, pH 6.7.

## Protocolo

Se homogenizó 200  $\mu$ L de suero y 100  $\mu$ L de reactivo A durante 20 segundos, posteriormente se colocó el homogenizado en baño maría durante 15 minutos. Culminado este periodo, el homogenizado fue llevado a la centrifuga por 15 minutos a 3000 RPM obteniéndose luego de este proceso, el sobrenadante.

Se empleó 100  $\mu$ L de sobrenadante con 2 mL del reactivo de trabajo. Se mezcló e incubó durante 5 minutos a 37°C. Se retiró del baño y se dejó enfriar; la absorbancia fue leída en espectrofotómetro ( $\lambda = 505$  nm). El blanco y el estándar fueron sometidos al mismo método.

Se utilizó la siguiente fórmula para el cálculo de la concentración:

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total (mg/dL)} - [\text{ABS (s - bl)} \times \frac{62,4}{\text{ABS (st - bl)}}]$$

Donde:

ABS (s-bl): absorbancia de la muestra del sobrenadante restando el blanco.

ABS (st-bl): absorbancia del estándar restando el blanco.

El valor de 62,4 surge de la siguiente ecuación:

$$62,4 = 200 \text{ (mg/dL)} \times \frac{V_{F_E}}{V_M} \times \frac{V_{R_E}}{V_{R_S}} \times \frac{V_S}{V_E}$$

Donde:

VFE = volumen final del extracto = 0,3 mL

VM = volumen de muestra procesada = 0,2 mL (200  $\mu$ L)

VRE = volumen de reacción con el extracto = 2,1 mL

VRS = volumen de reacción con el estándar = 2,02 mL

VS = volumen de estándar en la reacción = 0,02 mL (20  $\mu$ L)

VE = volumen del extracto en la reacción = 0,1 mL (100  $\mu$ L)

200 mg/dL = concentración estándar

### 3.5.3.4 Método enzimático para la determinación de HDL<sup>40</sup>

#### Fundamento

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se separan precipitando selectivamente las lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL y VLDL) mediante el agregado de sulfato de dextrán de PM 50 000 en presencia de iones  $Mg^{+2}$ .

En el sobrenadante separado por centrifugación, quedan las HDL y se realiza la determinación del colesterol ligado a las mismas, empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría según Trinder (Fenol/4-Aminofenazona).

#### Reactivos

Reactivo A: solución de sulfato de dextrán (PM 50 000) 0,032 mmol/L.

Reactivo B: solución de cloruro de magnesio 1,5 mol/L.

#### Protocolo

El reactivo precipitante se preparó midiendo 2,5 mL de cada reactivo provisto (A+B) y mezclando por inversión.

Se midió 0,5 mL de suero al que se le agregó 50  $\mu$ L de reactivo precipitante. Se homogenizó durante 20 segundos y se dejó durante 30 minutos en la refrigeradora (2-10°C). Posteriormente, se centrifugó durante 15 minutos a 3000 RPM para obtener el sobrenadante.

Se utilizó 100  $\mu$ L de sobrenadante y se le agregó 2 mL del reactivo de trabajo. Se mezcló e incubó durante 15 minutos a 37°C y luego fue retirado para su enfriamiento. La absorbancia fue leída por espectrofotómetro ( $\lambda = 535$  nm). Dicha metodología se empleó para procesar el blanco y el estándar.



Se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{HDL (mg/dL)} = \text{ABS (s - bl)} \times \frac{45,7}{\text{ABS (st - bl)}}$$

Donde:

ABS (s-bl): absorbancia de la muestra del sobrenadante restando el blanco.

ABS (st-bl): absorbancia del estándar restando el blanco.

El valor de 45,7 surge de la siguiente ecuación:

$$45,7 = 200 \text{ (mg/dL)} \times \frac{V_{F_E}}{V_M} \times \frac{V_{R_E}}{V_{R_S}} \times \frac{V_S}{V_E}$$

Donde:

$V_{F_E}$  = volumen final de extracto = 0,55 mL

$V_M$  = volumen de muestra procesada = 0,5 mL

$V_{R_E}$  = volumen de reacción con extracto = 2,1 mL

$V_{R_S}$  = volumen de reacción con Standard = 2,02 mL

$V_S$  = volumen de Standard en la reacción = 0,020 mL

$V_E$  = volumen de extracto en la reacción = 0,1 mL

200 mg/dL = concentración estándar

### 3.6 Análisis de datos

Se utilizó el programa Excel 2010 y SPSS v.19,0 para el análisis estadístico de la media aritmética, desviación estándar y las tablas respectivas. Se empleó la prueba estadística de Shapiro-Wilk para determinar la existencia de distribución simétrica al ser una muestra menor a los 30 individuos. Se aplicó la prueba t-Student a los indicadores de distribución simétrica. A los indicadores que no presentaron distribución normal se les aplicó la prueba estadística no paramétrica U de Mann-Whitney.

### 3.7 Ética del estudio

Las consideraciones éticas son las mismas consignadas en la publicación de Antonio Pardo, *Ética de experimentación animal. Directrices legales y éticas contemporáneas*<sup>41</sup>.

## **IV. RESULTADOS**

### **4.1 De la prueba estadística**

Al someter los datos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk se determinó que los indicadores de LDL, triglicéridos, colesterol total y el cociente LDL/HDL mostraron una distribución simétrica con intervalo de confianza de 95%, por tanto se les aplicó la prueba estadística de t-Student al 95% IC. Por otro lado los indicadores de HDL y la relación CT/HDL presentaron una distribución asimétrica con un intervalo de confianza del 95% por lo que a estos indicadores se les aplicó la prueba estadística no paramétrica U de Mann-Whitney con un intervalo de confianza del 95%.

### **4.2 Marcadores del perfil lipídico**

#### **4.2.1 Lípidos séricos**

Se observó que el glutamato monosódico a dosis de 8 mg/g incrementó significativamente las concentraciones de colesterol total en el grupo II (9,44%). Se apreció además que el grupo que recibió la dosis de 50 mg/kg de cáscara de uva (grupo III), se indujo a una inhibición significativa de 5,6% en la concentración de colesterol total en relación al grupo control positivo (grupo II) . Esta tendencia también se observó en el grupo IV (dosis de 200 mg/kg de peso) en el que se registró una disminución del 13,9% con respecto del grupo II siendo esta diferencia significativa. (Tabla 2)

Por otra parte, las concentraciones de triglicéridos séricos experimentaron un aumento de 16% luego del tratamiento a dosis de 8 mg/g de peso de glutamato monosódico en el grupo II con respecto al grupo I. Este aumento también se observó en los grupos III y IV. (Tabla 2)

**Tabla 2. Concentraciones de lípidos séricos de ratas sometidas a tratamiento experimental**

	Colesterol total (mg/dL)	%Incremento	Triglicéridos (mg/dL)	%Incremento
Grupo I	95,59 ± 2,63	-	36,15 ± 3,00	-
Grupo II	104,61 ± 3,69a	9,44*	41,95 ± 7,12	16,04
Grupo III	98,75 ± 4,58b	-5,60**	44,01 ± 3,30	4,91
Grupo IV	90,05 ± 9,90b	-13,92**	46,97 ± 2,81	11,97

a) p< 0.05 comparado con el grupo I

b) p< 0.05 comparado con el grupo II

\* Porcentaje de incremento respecto al grupo I

\*\* Porcentaje de incremento respecto al grupo II

#### 4.2.2 Lipoproteínas séricas

En nuestro estudio se encontró que en el grupo II, el glutamato monosódico indujo a un incremento en 14,6% los niveles de LDL respecto al grupo control negativo (grupo I). El tratamiento con cáscara de uva en ambas dosis ocasionó disminución significativa en la concentración de LDL respecto al grupo II. (Tabla 3)

La administración de glutamato monosódico tan solo produjo disminución del HDL en 1,4% relación al grupo I sin ser este cambio significativo. Las dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg incrementaron los niveles de HDL respecto al grupo II aunque dicho incremento tampoco fue significativo. (Tabla 3)

**Tabla 3. Concentraciones de lipoproteínas séricas de ratas sometidas a tratamiento experimental**

	LDL (mg/dL)	%Incremento	HDL (mg/dL)	%Incremento
Grupo I	67,75 ± 1,77	-	20,61 ± 2,00	-
Grupo II	77,66 ± 5,73a	14,6*	20,32 ± 4,46	-1,4
Grupo III	67,69 ± 6,59b	-12,7**	24,40 ± 0,46	20,87
Grupo IV	59,90 ± 13,98b	-22,8**	24,58 ± 0,84	20,96

a) p< 0,05 comparado con el grupo I

b) p< 0,05 comparado con el grupo II

\* Porcentaje de incremento respecto al grupo I

\*\* Porcentaje de incremento respecto al grupo II

### 4.2.3 Cocientes lipoproteicos

La relación CT/HDL en nuestro estudio fue mayor en el grupo II relativo al grupo I, sin ser este cambio significativo. En los grupos que recibieron el tratamiento de cáscara pulverizada de uva se observó disminución de este cociente en 24,16% en el caso del grupo III y de 31,27% en el grupo IV, con respecto al grupo II. (Tabla 4)

El grupo tratado con glutamato monosódico también elevó el índice de LDL/HDL aunque no fue significativo. En el grupo III se observó disminución de la relación en 30,75% comparado con el grupo II mientras que en el grupo IV la disminución fue de 38,75% con respecto al valor encontrado en el grupo II. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas. (Tabla 4)

**Tabla 4. Cocientes lipoproteicos de ratas sometidas a tratamiento experimental**

	CT/HDL	%Incremento	LDL/HDL	%Incremento
Grupo I	4,66 ± 0,32		3,31 ± 0,31	
Grupo II	5,34 ± 1,06	14,59	4,00 ± 1,01	20,85
Grupo III	4,05 ± 0,19 <sup>a</sup>	- 24,16*	2,77 ± 0,24 <sup>a</sup>	-30,75*
Grupo IV	3,67 ± 0,46 <sup>a</sup>	- 31,27*	2,45 ± 0,61 <sup>a</sup>	-38,75*

a) p < 0,05 comparado con el grupo II

\* Porcentaje de incremento respecto al grupo II

## V. DISCUSIÓN

En la actualidad, la medicina natural ha despertado el interés de la población y de los profesionales de la salud. La aparición de recientes investigaciones señala que los alimentos funcionales poseen fitonutrientes, sustancias fisiológicamente activas, que reducirían la incidencia de enfermedades crónicas<sup>42</sup>. El empleo de estos alimentos postula entre sus numerosos beneficios el precio y permitirá sustituir en el largo plazo los medicamentos aunque podrían ser utilizadas conjuntamente con los productos farmacéuticos para potenciar su acción o disminuir sus efectos colaterales<sup>43</sup>.

En nuestro estudio se utilizó el glutamato monosódico para inducir a la hiperlipemia, expresada en los indicadores de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos. El glutamato monosódico (GMS) es uno de los aditivos alimentarios más usados en el mundo y algunos trabajos sugieren que este compuesto está relacionado con un aumento de la incidencia de síndrome metabólico, obesidad, dislipidemias<sup>44,45,46</sup>, esteatosis hepática y neoplasia<sup>47</sup>.

El grupo de estudio que fue tratado con glutamato monosódico (grupo II) presentó cambios importantes en el perfil lipídico; los animales tratados solamente con glutamato monosódico presentaron elevación significativa de las concentraciones de colesterol total, y de LDL. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Singh *et al.* (2011) en donde menciona que con la dosis de 4 mg/g y 8 mg/g de GMS comienzan a aparecer las alteraciones en el perfil lipídico incrementando los niveles de colesterol total, LDL, triglicéridos, VLDL y disminuyendo la concentración de HDL<sup>39</sup>.

No obstante, en el estudio publicado por Tchaou *et al.* (2013) no se observó diferencia significativa en ninguna de las lipoproteínas ni en los lípidos séricos; e incluso estos indicadores mostraron valores muy similares al grupo basal, a pesar de que fueron sometidos a un tratamiento por 60 días con GMS<sup>48</sup>. Asimismo Kondoh y Tori (2008) y Tordoff *et al.* (2012) manifestaron que el GMS no presenta efecto sobre el perfil lipídico y por el contrario contribuiría a disminuir los depósitos de grasa en el organismo<sup>49,50</sup>.

El mecanismo por el cual el glutamato monosódico induciría a una elevación del perfil lipídico puede estar relacionado a que en un estudio se indica que tras la administración de GMS, aumenta la obesidad, la resistencia a la leptina y se aprecia hiperleptinemia<sup>51</sup> mientras que en otros trabajos se reporta una relación entre el incremento de leptina y los niveles de colesterol total y triglicéridos en humanos<sup>52</sup>.

Singh *et al.* (2011), explica que la hiperlipemia podría estar relacionada a la conversión de glutamato a glutamina hecho que favorece a la lipogénesis debido a que la glutamina inhibe la producción de cuerpos cetónicos lo que a su vez inhibe la oxidación de ácidos grasos<sup>53</sup>. Este hallazgo es avalado por el estudio de Boutry *et al.* (2011) en el cual se encontró que en un tratamiento prolongado con glutamato monosódico de más de 15 días aumenta la concentración de glutamina en el torrente sanguíneo<sup>54</sup>.

En nuestro estudio se encontró una disminución, no significativa, de los niveles de HDL tras la administración de glutamato monosódico 8 mg/g (grupo II), sin embargo Collison *et al.* (2010) reportó un aumento de esta lipoproteína. Este autor explica que el aumento podría estar vinculado con la sobrerregulación de los genes hepáticos que derivan del consumo de glutamato monosódico como los implicados en el metabolismo hepático y la ruta del transporte reverso de colesterol, así se tuvo un incremento en la expresión del CYP7A1 (Colesterol 7-alfa hidroxilasa) y del receptor constitutivo del androstano (CAR). El transporte del colesterol desde las HDL a la bilis, para su excreción, es facilitado por CYP7A1 que es una enzima clave en la ruta clásica de la síntesis de ácidos biliares. Por otro lado, el receptor constitutivo de androstano es un receptor nuclear que ha sido implicado recientemente en el metabolismo del colesterol y los ácidos biliares. En respuesta a un contenido elevado de colesterol, el glutamato monosódico activaría la ruta del transporte reverso del colesterol lo que explicaría lo hallado por Collison<sup>55</sup>. Sin embargo, según la investigación de Masson *et al.* (2008) una expresión elevada del receptor constitutivo de androstano ha probado tener efectos en la reducción del HDL circulante en ratones<sup>56</sup> lo que explicaría la disminución de HDL en el grupo que recibió solo glutamato monosódico en nuestro estudio.

Los grupos que recibieron tratamiento con cascara de *Vitis vinifera* (uva variedad Pinot Noir) a las dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg presentaron niveles más bajos de colesterol total, LDL y de los índices lipoproteicos CT/HDL y LDL/HDL de manera significativa, no obstante los niveles de triglicéridos y HDL aumentaron no significativamente.

Los resultados citados en líneas previas están relacionados a los componentes fitoquímicos presente en la cáscara de *Vitis vinifera* de la variedad Pinot Noir el cual presenta una alta concentración de polifenoles<sup>57</sup>. Entre los polifenoles de naturaleza no flavonoide tenemos a los ácidos hidroxicinámicos (ácido p-coumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, etc), ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido gentísico, ácido salicílico) y estilbenos (resveratrol); entre los de naturaleza flavonoide destacamos a las antocianinas, proantocianidinas y los flavonoles<sup>23</sup>.

Estos polifenoles han sido ampliamente investigados por su actividad antioxidante pero también poseen otros efectos, especialmente en lo concerniente a obesidad y dislipidemias, que han adquirido importancia para la comunidad científica<sup>28</sup>.

Dentro de los principales flavonoides presentes en la cáscara de *Vitis vinifera* la malvidin-3-O-glucósido es la antocianina más predominante, seguida del petunidin-3-O-glucósido, delfinidin-3-O-glucósido, y cianidin-3-O-rutinósido. Las proantocianidinas (taninos) se encuentran en su mayoría como polímeros derivados de catequina, epicatequina y epigallocatequina<sup>58,59</sup>. Los flavonoles más abundantes son la quercetina-3-O-galactósido y miricetina-3-O-glucósido aunque se encuentran en menor proporción respecto a las antocianinas y proantocianidinas<sup>60</sup>.

El efecto hipolipémico de los polifenoles ha sido reportado en numerosos estudios como el de Igarashi *et. al* (1991) en el que se utilizó malvidin-3,5-diglucósido proveniente de *Vitis coignetiae* para reducir los niveles de colesterol, frente a la inducción con una dieta hipergrasa e hipercolesterolémica<sup>29</sup>.

Castilla *et al.* (2006) suministró jugo de uva rojas en seres humanos y halló disminución de las LDL y aumento de HDL debido a la acción de los compuestos fenólicos (quercetina, antocianinas y proantocianidinas) presentes en la preparación<sup>61</sup>. Peng *et. al* (2011) empleó extracto de moras, que posee gran cantidad de antocianinas, durante 12 semanas en ratones hipercolesterolémicos, encontrando niveles más bajos de colesterol total, LDL y un incremento de HDL sin ser este último significativo<sup>32</sup>. Asimismo Liang *et. al* (2013) suministró antocianinas de arándanos en la dieta de hamsters sometidos también a una dieta hipercolesterolémica y halló disminución significativa de colesterol total, LDL y disminución del cociente LDL/HDL<sup>62</sup>.

El mecanismo por el cual los polifenoles intervienen en la regulación del perfil lipídico no se encuentra del todo esclarecido, pero se piensa que estos compuestos podrían actuar como moléculas de señalización en el organismo, incrementando o disminuyendo la expresión de los genes implicados en el metabolismo lipídico<sup>63</sup>.

El estudio de Liang *et al.* (2013), mencionado en líneas anteriores, encontró que las concentraciones bajas de colesterol por el consumo de polifenoles (en especial de antocianinas) están acompañadas de una baja expresión génica de NPC1L1, ACAT-2, MTP y ABCG5/8 intestinales. Estos transportadores y enzimas participan en la absorción y transporte del colesterol por lo que su expresión disminuida se asocia a la concentración baja de colesterol total y de LDL en el plasma. Este estudio también reporta disminución en los genes que codifican la HMGCR que es la enzima clave en la síntesis de colesterol<sup>62</sup>.

El estudio de Qin *et al.* (2012) encontró que el consumo de polifenoles está relacionado a la disminución de los lípidos séricos pero además halló una importante relación entre estos compuestos y la regulación en la expresión de los genes que intervienen en la adipogénesis de epidídimo de ratones. De esta manera, se pudo observar aumento en la expresión del mRNA PPAR $\gamma$  y adiponectina<sup>64</sup>. El PPAR $\gamma$  es un receptor nuclear clave en la adipogénesis y la adiponectina es una proteína que segrega el adipocito y que se relaciona con un mayor radio de oxidación de ácidos grasos<sup>65</sup>. Además el PPAR $\gamma$  interviene en la inhibición de los genes, en adipocito, que codifican la Fabp4 (importante



proteína de los adipocitos), ácido graso sintasa (enzima clave en la lipogénesis) y la lipoprotein lipasa (enzima limitante en hidrólisis de los triglicéridos)<sup>66</sup>.

Xia *et al.* (2005) manifestó la importancia de los polifenoles como las antocianinas en el flujo de salida del colesterol de los macrófagos peritoneales de ratones. Esto se produjo debido al rol del PPAR $\gamma$  en la expresión de LXR (Liver X Receptor) que a su vez aumentaba la expresión del ABCA1 importante transportador implicado en la salida del colesterol<sup>67</sup>.

El LXR es un miembro de la extensa familia de receptores nucleares de los que se conocen dos isoformas como LXR $\alpha$  y LXR $\beta$  que conjuntamente constituyen un importante regulador del metabolismo lipídico y la homeostasis de glucosa. Los LXR han mostrado proteger a las células de una sobrecarga de colesterol mediante la activación del transporte reverso de colesterol y estimulando su conversión en ácidos biliares en el hígado. Este mecanismo es posible gracias a la activación de la ACBA1 y ABCG1 que son transportadores que intervienen en la formación de la HDL<sup>68</sup>. Este mecanismo explicaría el ligero incremento de HDL que se presentó en los grupos tratados con cáscara de uva.

En la investigación de Qin *et al.* (2009) se reportó que las antocianinas incrementaban el HDL y disminuían en LDL en sujetos dislipidémicos. Los autores hallaron que este cambio se encontraba relacionado con la inactivación de la proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC). Esta proteína plasmática facilita el transporte de los ésteres de colesterol y de los triglicéridos de entre las lipoproteínas, específicamente remueve triglicéridos de las VLDL o LDL y las intercambia por ésteres de colesterol que provienen de las HDL, en un proceso de carácter bidireccional<sup>69</sup>. Se cree que la inactivación de la proteína transportadora de ésteres de colesterol implica un mayor movimiento de transferencia de apo E desde las HDL hacia las VLDL, IDL o LDL, lo cual provoca que el catabolismo de HDL se retrase y catabolismo de las LDL se acelere al ser captados por los receptores hepáticos aumentando así su aclaramiento y reduciendo la formación de LDL<sup>70</sup>.

Por otro lado, el estudio de Peng *et al.* (2011) determinó que la mejora del perfil lipídico por la ingesta de polifenoles estuvo relacionada a un aumento a nivel hepático de PPAR $\alpha$  y de la carnitina palmitoiltransferasa y una

disminución de la ácido graso sintasa y la HMGCR. Este hecho sugiere que los polifenoles poseen un rol determinante en la regulación de la lipogénesis y la lipólisis<sup>32</sup>.

Otro mecanismo a considerar es el que menciona el estudio de Adisakwattana *et al.* (2011) en el que las concentraciones de colesterol disminuyen debido a que el ácido gálico, catequina y epicatequina se unen a los ácidos biliares impidiendo su reabsorción<sup>33</sup>.

En nuestro estudio, no obstante, los grupos tratados con cáscara de uva presentaron aumento no significativo en la concentración de triglicéridos. Esta situación también fue reportada en el estudio de Prior *et. al* 2009 en el que los animales de experimentación incrementaron la concentración de triglicéridos por una dieta alta en fructosa pero que al ser suplementados con arándano pulverizado (abundante en polifenoles) la concentración de triglicéridos fue mucho mayor que el grupo control<sup>71</sup>.

Este fenómeno podría explicarse por la disminución de la actividad de la ACAT-2 inducida por los polifenoles ya que según Alger *et. al* (2010), la disminución de la actividad de esta enzima en el hígado estimula la salida de VLDL (triglicéridos) por un mecanismo integral complejo que tendría como resultado una menor concentración de triglicéridos en el tejido hepático en contraposición a una concentración elevada de triglicéridos en el suero<sup>72</sup>.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

- La administración de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* var. Pinot Noir (uva Borgoña) redujo los niveles de colesterol total en ratas con hiperlipemia inducida.
- La administración de cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir (uva Borgoña) redujo los niveles de LDL y los cocientes LDL/HDL y CT/HDL en ratas con hiperlipemia inducida.
- La administración de la cáscara pulverizada de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir (uva Borgoña) posee efecto hipolipidémico en ratas con hiperlipemia inducida bajo las condiciones de estudio.

### Recomendaciones

- Resaltar a la población la importancia del consumo de uvas con cáscara.
- Realizar un corte histológico del cayado aórtico para observar el grado de protección de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir frente a la formación de la placa de ateroma.
- Comparar el efecto de la cáscara pulverizada con la utilización de un fármaco estándar.
- Efectuar un análisis cuantitativo de los componentes de la cáscara de *Vitis vinifera* variedad Pinot Noir.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ross R. Atherosclerosis – An Inflammatory Disease. *N Eng J Med* 1999; 340(2):115-126.
2. Roldán C, Campo C, Segura J, Ruilope L. Evaluación del riesgo cardiovascular y nuevos factores de riesgo de aterosclerosis. *Hipertensión y Riesgo Vascular* 2005; 22(5):195-203.
3. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades Cardiovasculares. Informe de un grupo científico de la OMS. Ginebra: OMS, 2012. Hoja de hechos:317
4. Lim S, Vos T, Flaxman D, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380(9859):2224–2260.
5. Davidson M, Robinson J. Safety of aggressive lipid management. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(17):1753-62.
6. Duarte M. Medicina occidental y otras alternativas ¿es posible su complementariedad? Reflexiones conceptuales. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(2):635-643.
7. Rosas M, Attie F. Enfermedad cardiovascular. Primera causa de muerte en adultos de México y el mundo. *Arch Cardiol Mex* 2007; 77(2):91-93.
8. O'Donnell C, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Rev Esp Cardiol* 2008; 61(3):299-310.
9. Go A, Mozaffarian D, Roger V, Benjamin E, Berry J, Blaha M *et al.* Heart disease and stroke statistics-2014 update: a report from the

- American Heart Association. Circulation [Revista en internet] 2014 diciembre [acceso 4 de enero de 2015] Disponible en: <http://circ.ahajournals.org/content/129/3/e28.full>.
10. American Heart Association. Cardiovascular diseases. Dallas, TX: American Heart Association, 1999.
  11. Willett W, Lenart E. Dietary factors. En: Mason J, Ridker P, Gaziano J, Hennekens C, eds. Prevention of myocardial infraction. New York: Oxford University Press. 1996; 351–383.
  12. Reyes M, Heredia J, Campodónico S, Drago J, Alvarado O. Registro nacional de infarto de miocardio agudo (RENIMA). Revista Peruana de Cardiología 2008; 34(2):85-99.
  13. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Encuesta nacional de indicadores nutricionales, bioquímicos, socioeconómicos y culturales relacionados con las enfermedades crónico-degenerativas. Lima: Centro Nacional de Alimentación y Nutrición; 2006.
  14. Segura L, Agusti R, Ruiz E. Factores de Riesgo de las Enfermedades Cardiovasculares en el Perú II. Estudio TORNASOL II comparado con TORNASOL I después de cinco años. Revista Peruana de Cardiología 2013; 39(1):5-59.
  15. Lichtenstein A, Jones P. Lípidos: absorción y transporte. En: Bowman B, ed. Conocimientos actuales sobre nutrición. 8ª ed. Washington D.C: Organización Panamericana de la Salud; 2003.p.100-112.
  16. Sánchez A, Ortega M. Metabolismo de las lipoproteínas. En: Sánchez F, coordinador. Tratado de nutrición: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Vol.1. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2010.p.373-396.
  17. Digirolamo M, Schlant R. Etiology of coronary atherosclerosis. 2ª ed. Barcelona: Ed Toray.1991.

18. Ross R, Glomset J. Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell proliferation of smooth muscle in a key event in the genesis of the lesion of atherosclerosis. *Science* 1973; 180(4093):1332-1339.
19. Libby P, Aikawa M, Schonbeck U. Cholesterol and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2000; 299:1529-1535.
20. Libby P, Ridker P, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:1135-1140.
21. Sanz J, Moreno P, Fuster V. The year in atherothrombosis. *JACC* 2010; 55:1487-1498.
22. Chesebro J, Rauch U, Fuster V, Badimon J. Pathogenesis of thrombosis in coronary artery disease. *Haemostasis* 1997; 27:12-18.
23. Texeira A, Eiras-Dias J, Castellarin S, Gerós H. Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *Int J Mol Sci* 2013; 14:18711-18739.
24. Koide T, Kamei H, Hashimoto Y, Kojima T, Hasegawa M. Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro and in vivo. *Cancer Biother Radiopharm* 1997; 12(4):277-280.
25. Hagiwara A, Yoshino H, Ichiharam T, Kawabe M, Tamanos S, Aoki H. Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-B]pyridine(PhIp)-associated colorectal carcinogenesis in rats. *Journal of Toxicology Science* 2002; 27:57-68.
26. Vourela S, Kreander K, Karonen M, Nieminen R, Hamalainen M, Galkin A. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects. *J Agr Food Chem* 2005; 53(15):5922-5931.

27. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). An Fac med 2008; 69(4):250-259.
28. Xia E, Deng G, Guo Y, Li H. Biological activities of polyphenols from grapes. Int J Mol Sci 2010; 11:622-646.
29. Igarashi K, Inagaki K. Effects of the major anthocyanin of wild grape (*Vitis coignetiae*) on serum lipid levels in rats. Agric Biol Chem 1991; 55(1):285-287.
30. Arroyo J, Raez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Valencia J. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolémicas. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2007; 24(2):157-162.
31. Seymour E, Lewis S, Urcuyo-Llanes D, Tanone I, Kyrakosian A, Kaufman P, Bolling S. Regular Tart Cherry Intake Alters Abdominal Adiposity, Adipose Gene Transcription, and Inflammation in Obesity-Prone Rats Fed a High Fat Diet. J Med Food 2009; 12(5):935-942.
32. Peng C, Liu K, Chuang C. Mulberry water extracts possess an antiobesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis. J Agric Food Chem 2011; 59(6):2663-2671.
33. Adisakwattana S, Ngamukote S, Mäkynen K, Thilawech T. Cholesterol-Lowering Activity of the Major Polyphenols in Grape Seed. Molecules 2011; 16:5054-5061.
34. Brader L, Overgaard A, Christensen L, Jeppesen P, Hermansen K. Polyphenol-Rich Bilberry Ameliorates Total Cholesterol and LDL-Cholesterol when Implemented in the Diet of Zucker Diabetic Fatty Rats. Rev Diabet Stud 2013; 10(4):270-282.
35. Martínez F. Biología de la vid. Fundamentos biológicos de la viticultura. Mundi-Prensa 1991; 345-346.

36. Vargas D, Almanza P. Comportamiento fenológico de la vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon en Sutamarchán Boyacá. *Cultura Científica* 2013; 11(11): 8-19
37. Almanza P. Determinación del crecimiento y desarrollo del fruto de vid (*Vitis vinifera* L.) bajo condiciones de clima frío tropical. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia; 2011.
38. Dorland Diccionario Enciclopédico Ilustrado de Medicina. 32<sup>a</sup> ed. Madrid: Elsevier; 2011.
39. Singh K, Sharma J, Kaur A, Ahluwalia P. Alteration upon Oral Ingestion of Monosodium Glutamate in Various Lipid and Lipoprotein Fractions in Serum of Adult Male Rat. *J Life Sci.* 2011; 3(1):17–21.
40. Wiener Lab Group. *Vademecum*. Rosario: Wiener Lab Group; 2000.
41. Pardo A. Ética de la experimentación animal. Directrices legales y éticas contemporáneas. *Cuadernos de Bioética* 2005; 16(3):393-417.
42. Chasquibol N, Lengua L, Delmás I, Rivera D, Bazán D, Aguirre R, Bravo M. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Rev Per Quím Ing Quím* 2003; 5(2): 9-20.
43. Peralta, K. Las Plantas al Servicio de la Salud y la Belleza. En: *II Congreso Internacional de Medicinas Tradicionales*. Lima: Área farmacognosia; 1988.
44. Insawang T, Selmi C, Cha'on U, Pehlert, Yongvanit P, Areejitranusorn, Boonsiri P, Khampitak T, Tangrassameeprasert R, Pinitsoontorn C, Prasongwatana V, Gershwin E, Hammock B. Monosodium Glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutrition & Metabolism* 2012; 9(50):1-6.
45. He K, Zhao L, Daviglius M, Dyer A, Van Horn L, Garside D, Zhu L, Guo D, Wu Y, Zhou B, Stamler J. Association of Monosodium



- Glutamate Intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP study. *Obesity* 2008; 16:1875–1880.
46. He K, Du S, Xun P, Sharma S, Wang H, Zhai F, Popkin B. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am J Clin Nutr* 2011; 93:1328–1336.
  47. Nakanishi Y, Tsunemaya K, Fujimoto M, Salunga T, Nomoto K, An J *et al.* Monosodium Glutamate (MSG): A Villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *J Autoimmun* 2008; 30(2):42-50.
  48. Tchaou M, Lamboni C, Eklou-Gadegbeku K, Abalokoka E, Aklikokou K. Effects of food flavour enhancer (Monosodium Glutamate and Maggi Poulet) supplementation on glucose tolerance in Sprague Dawley rat. *Int J Biol Chem Sci* 2013; 7(1):161-171.
  49. Kondoh T, Torii K. MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats. *Physiol Behav* 2008; 95(2):135-144.
  50. Tordoff M, Aleman T, Murphy M. No effects of monosodium glutamate consumption on the body weight or composition of adult rats and mice. *Physiol Behav* 2012; 107:338-345.
  51. Nagata M, Suzuki W, Iizuka S, Masahiro T, Maruyama H, Takeda S, Aburada M, Miyamoto K. Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate. *Exp anim* 2006; 55(2):109-115.
  52. González M, Madero M, Martínez V, Serrano L. Insulina, leptina y grado de resistencia a la insulina en niños escolares con y sin obesidad. *Rev Esp Med Quir* 2010; 15(4):196-203.
  53. Lavoigne A, Baquet A, Hue L. Stimulation of glycogen synthesis and lipogenesis by glutamine in isolated rat hepatocytes. *Biochem J* 1987; 248:429-437.

54. Boutry C, Bos C, Matsumoto H, Even P, Azzout-Marniche D, Tomé D, Blachier F. Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats. *Frontiers Biosci* 2011; 1(3):279-290.
55. Collison K, Maqbool Z, Inglis A, Makhoul N, Saleh S, Barkheet R *et al.* Effect of dietary monosodium glutamate on HCFS-induced hepatic steatosis: expression profiles in the liver and visceral fat. *Obesity* 2010; 18(6):1122-1134.
56. Masson D, Qatanani M, Sberna A, Xiao R, Pais J, Grober J *et al.* Activation of the constitutive androstane receptor decreases HDL in wild-type and human apoA-I transgenic mice. *J Lip Res* 2008; 49:1682-1691.
57. Yan J, Martinson T, Liu R. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chem* 2009; 116:332-339.
58. Peyron D. Ripening conditions for reds and measurements to assess ripeness: a Burgundy Model. En: 29th Annual New York Wine Industry. New York; 2000.p.14-21.
59. Kennedy J, Hayasaka Y, Vidal S, Waters E, Jones G. Composition of Grape Skin Proanthocyanidins at Different Stages of Berry Development. *J Agr Food Chem* 2001; 49:5348-5355.
60. Cáceres A. Efecto de dos niveles de carga sobre la composición fenólica de hollejos de los cv. Carménère, Syrah y Pinot Noir durante s maduración en el valle del Maipo. Tesis de grado. Universidad de Chile; 2005.
61. Castilla P, Echarri R, Dávalos A, Cerrato F, Ortega H, Teruel J *et al.* Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:252-262.

62. Liang Y, Chen J, Zuo Y, Ma K, Jiang Y, Huang Y, Chen Z. Blueberry anthocyanins at doses of 0.5 and 1 % lowered plasma cholesterol by increasing fecal excretion of acidic and neutral sterols in hamsters fed a cholesterol-enriched diet. *Eur J Nutr* 2013; 52(3):869-875.
63. Peer W, Murphy A. Flavonoids as signal molecules: targets of flavonoid action. En: Grotewold E, editor. *The Science of Flavonoids*. Ohio: Springer Science & Business Media; 2007.p. 239-269.
64. Qin B, Anderson R. An extract of chokeberry attenuates weight gain and modulates insulin adipogenic and inflammatory signalling pathways in epididymal adipose tissue of rats fed fructose-rich diet. *Br J Nutr* 2012; 108:581-587.
65. Linh A, Pedersen S, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev* 2005; 6(1):13-21.
66. Grygiel-Górniak. Peroxisome proliferators-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications - a review. *Nutr J* 2014; 13:1-10.
67. Xia M, Hou M, Zhu H, Ma J, Tang Z, Wang Q *et al*. Anthocyanins induce cholesterol efflux from mouse peritoneal macrophages: the role of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ -liver X receptor  $\alpha$ -ABCA1 pathway. *J Biol Chem* 2005; 280(44):36792-367801.
68. Baranowski M. Biological role of Liver X Receptors. *J Phys Pharm* 2008; 59(7):31-55.
69. Qin Y, Xia M, Ma J, Hao Y, Liu J, Mou H *et al*. Anthocyanin supplementation improves serum LDL-and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2009; 90:484-492.

70. Inazu A, Brown M, Hesler C, Agellon L, Koizumi J, Takata K *et al.* Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med* 1990; 323(18):1234-1238.
71. Prior R, Wu X, Gu L, Hager T, Hager A, Wilkes S, Howard L. Purified Berry anthocyanins but not whole berries normalize lipid parameters in mice fed an obesogenic high fat diet. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(11):1406-1418.
72. Alger H, Brown J, Sawyer J, Kelley K, Ramesh S, Wilson M *et al.* Inhibition of Acyl-Coenzyme A: Cholesterol Acyltransferase 2 (ACAT2) prevents dietary cholesterol-associated steatosis by enhancing hepatic triglyceride mobilization. *J Biol Chem* 2010; 285(19):14267-14274.