

EFFECTO DEL ALMIDÓN RESISTENTE DE BANANO (*Musa cavendish* AAA) SOBRE EL CONTROL METABÓLICO EN RATAS WISTAR CON DIETA ALTA EN SACAROSA

Effect of banana resistant starch (*Musa cavendish* AAA) on metabolic control in wistar rats with a high-sucrose diet

V Olvera-Hernández ✉, MA Aparicio-Trápala, JL Ble-Castillo, JM Muñoz-Cano, L Rodríguez-Blanco

(VOH) Laboratorio de Bromatología. División Académica de Ciencias de la Salud. UJAT. Av. Gregorio Méndez Magaña No. 2838. Col. Tamulté Villahermosa, Tabasco. viryolvera11@gmail.com

Artículo recibido: 9 septiembre 2010, **aceptado:** 23 de marzo de 2012

RESUMEN. En este estudio se determinaron los efectos del almidón resistente de banano gran enano (*Musa cavendish*) sobre los cambios metabólicos en sangre, en ratas con dieta alta en sacarosa. Se utilizaron 32 ratas Wistar macho recién destetadas de 150 g, suministradas con sacarosa al 30 % (P/V) *ad libitum* durante 29 semanas. Posteriormente se administraron las siguientes dietas: dieta normal (DN) (control), almidón de yuca (AY); almidón resistente (AR) y fórmula de almidón resistente con leche de vaca (FAR) durante cuatro semanas. Los animales se sacrificaron después de 12 h de ayuno, se obtuvieron muestras para determinar glucemia y perfil de lípidos. Los valores obtenidos de glucemia fueron menores en el grupo con sacarosa y dieta AR (GSAR) que en el grupo control (77 ± 1 vs 103 ± 2 mg dL⁻¹, $P < 0.01$). Para los grupos con sacarosa, los niveles de colesterol en sangre disminuyeron después del tratamiento con AR (GSAR y GSFAR) con respecto al grupo DN (131 ± 4 y 122 ± 10 vs 155 ± 2 mg dL⁻¹, respectivamente, $p < 0.01$). El HDL-colesterol se incrementó en el grupo GSFAR en comparación con el DN (69 ± 9 vs 54 ± 2 mg dL⁻¹, $p < 0.05$). Los triglicéridos disminuyeron en el grupo GSFAR en relación con el control (172 ± 25 vs 290 ± 46 mg dL⁻¹, < 0.1). En conclusión, la suplementación con almidón resistente nativo de banano gran enano, mostró cambios benéficos en la homeostasis de glucosa y los niveles de lípidos séricos de ratas con dieta alta en sacarosa. Posteriores estudios son necesarios para estudiar el mecanismo de acción del almidón resistente.

Palabras clave: Almidón resistente, obesidad, enfermedad cardiovascular, síndrome metabólico.

ABSTRACT. This study determined the effects of banana resistant starch (*Musa Cavendish* AAA) on metabolic changes in blood, in rats with a high-sucrose diet. Newly weaned male Wistar rats with 150 g of body weight were fed 30 % (w/v) sucrose *ad libitum* during 29 weeks. They were then fed the following diets: normal diet (DN) (control), cassava starch (AY), resistant starch (AR) and a formula containing resistant starch and cow milk (FAR) during four weeks. The animals were sacrificed after 12 h of fasting and samples were obtained to determine glycemia and lipids. Glycemia values were lower in the group with the AR diet and sucrose (GSAR) than in the control group (77 ± 1 vs 103 ± 2 mg dL⁻¹, $p < 0.01$). Cholesterol levels in blood in the groups receiving sucrose decreased after treatment with AR (GSAR and GSFAR) compared with the DN group (131 ± 4 and 122 ± 10 vs 155 ± 2 mg dL⁻¹, respectively, $p < 0.01$). HDL-Chol increased in the GSFAR group compared with the DN group (69 ± 9 vs 54 ± 2 mg dL⁻¹, $p < 0.05$). Triglycerides decreased in the GSFAR group compared with the control group (172 ± 25 vs 290 ± 46 mg dL⁻¹, $p < 0.1$). In conclusion, providing native banana resistant starch resulted in beneficial changes in glucose homeostasis and levels of serum lipids in rats fed a high sucrose diet. Further studies are needed to understand the action mechanism of the resistant starch.

Key words: Resistant starch, obesity, cardiovascular disease, metabolic syndrome.

INTRODUCCIÓN

El almidón resistente (AR) se define como almidón y derivados de almidón, presentes en la fibra dietética insoluble, no digeribles en el intestino delgado, evitando así la liberación de glucosa (Brown, 2004; Sajilata *et al.* 2006). El AR interviene en la reducción de la respuesta glucémica, disminuye la energía consumida y la concentración de lípidos en suero, favoreciendo condiciones fisiológicas para prevenir enfermedades como diabetes mellitus, obesidad, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico (Sharma *et al.* 2008). En 2005, se elaboró una fórmula alimentaria, en proceso de patente a base de AR nativo de banano gran enano en estado verde, con el 19 % de AR (Aparicio & Pérez, 2005). En base a estos antecedentes el objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de AR, sobre los niveles de glucemia en ratas Wistar con una ingesta alta en sacarosa al 30 % en el agua de bebida durante 29 semanas. En investigaciones anteriores, este modelo reportó: elevación de grasa visceral, insulina, triglicéridos y presión arterial, así como respuesta anormal al test de tolerancia a la glucosa (El Hafidi *et al.* 2005; Kawasaki *et al.* 2005; El Hafidi *et al.* 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción y secado de almidón de banano

La extracción y secado de almidón de banano se realizó mediante el método de insolubilización (Aparicio, 2003). El fruto utilizado fue banano gran enano (*Musa cavendish* AAA). Los bananos fueron lavados, pelados, molidos y posteriormente a la molienda, se lavó por triplicado con agua (40 °C) adicionada con ácido cítrico (0.3 %) sobre tamices # 100. La fibra retenida se eliminó y el filtrado se sedimentó en refrigeración durante 24 h separando el sobrenadante por decantación. El secado del almidón se llevó a cabo por contacto con aire a presión atmosférica (40 °C) en una estufa marca Felisa.

Análisis de almidón resistente

Se utilizaron cloruro de potasio, ácido clorhídrico, cloruro de calcio, hidróxido de potasio de

Baker, pepsina de Merck, α -amilasa pancreática y amiloglucosidasa de Sigma. La glucosa se determinó mediante un método enzimático-colorimétrico de acuerdo con las indicaciones de un kit comercial de Bayer. El análisis de AR se realizó de acuerdo con Goñi *et al.* (1996), modificado por Bello-Pérez, *et al.* (1999). A continuación, se realizó una hidrólisis proteica con pepsina a pH ácido para simular las condiciones estomacales, seguida de la hidrólisis del almidón con α -amilasa pancreática durante 16 h y pH cercano a la neutralidad. Tras centrifugación se eliminaron los productos de hidrólisis, permaneciendo en el residuo la fracción de almidón indigestible. Esta se dispersó en medio alcalino y se hidrolizó con amiloglucosidasa, posteriormente la glucosa liberada se determinó mediante el método mencionado previamente.

Animales de experimentación

La producción, manejo y cuidado de las ratas se realizó en la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal de la División Académica de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México, verificado por SAGARPA, 2005. Los animales fueron manejados de acuerdo con las especificaciones para animales en experimentación de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Guía Internacional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NRC, 2002. Se utilizaron 32 ratas machos variedad Wistar de 35 días de edad con peso promedio de 150 g. Los animales fueron alojados dentro de un gabinete de seguridad biológica con inyección de aire purificado a través de filtros HEPA (99.9 %) manejando presión positiva. Las condiciones mega-ambientales fueron controladas con temperatura de 21 ± 1 °C, humedad relativa de 55 % y 12 h de luz/oscuridad. Se formaron ocho grupos de cuatro animales cada uno, cuatro grupos con dieta normal y cuatro grupos con dieta alta en sacarosa (Tabla 1).

Los tratamientos dietéticos fueron cuatro: dieta normal (DN), almidón de yuca (AY), almidón resistente de banano (AR) y fórmula de almidón resistente de banano (FAR), esta última preparada de acuerdo con Grandfeld y Björck (Bello-Pérez *et al.* 1999) (Tabla 2). Las dietas experimentales fueron

Tabla 1. Grupos experimentales.
Table 1. Experimental groups.

CDN	Control alimentado con dieta normal
GNAY	Grupo normal alimentado con almidón de yuca
GNAR	Grupo normal alimentado con almidón resistente
GNFAR	Grupo normal alimentado con fórmula a base de almidón resistente
CSDN	Control con sacarosa alimentado con dieta normal
GSAY	Grupo con sacarosa alimentado con almidón de yuca
GSAR	Grupo con sacarosa alimentado con almidón resistente
GSFAR	Grupo con sacarosa alimentado con fórmula a base de almidón resistente

pulverizadas, tamizadas en malla # 100 y homogeneizadas en un vortex Maxi Mix II type 37600 Mixer Thermolyne. La FAR se mezcló con leche de vaca en polvo, y fue homogeneizada en un vortex Maxi Mix II type 37600 Mixer Thermolyne en la proporción de acuerdo a la patente en proceso Yu/a/2005/000013 (Aparicio & Pérez, 2005).

El modelo experimental consistió en proporcionar a ratas destetadas agua con azúcar refinada al 30 % durante 29 semanas, con ingesta de alimento habitual, ambos a libre demanda. A partir de la semana 26 (adaptación), las ratas fueron alimentadas con dieta experimental una vez al día, utilizando una aguja de calibre # 14 con punta de bola. La semana de adaptación consistió en la ingesta de la dieta experimental en suspensión acuosa de 2.5 mL, el resto del período experimental correspondió a la ingesta de 3 mL. Al final del tratamiento después de 12 h de ayuno las ratas fueron anestesiadas vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (50 mg kg^{-1}), se recolectó sangre del corazón mediante punción cardiaca. Las muestras de suero se conservaron a -70°C durante tres días y se determinaron los niveles de glucosa, colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL, colesterol HDL y triglicéridos.

Diseño experimental

El diseño experimental fue un completamente al azar, el cual comprendió dos tipos de animales (16 ratas con dieta normal y 16 ratas con dieta alta en sacarosa y cuatro tratamientos: dieta normal (DN), almidón de yuca (AY), almidón resistente nativo de banano (AR) y fórmula de almidón resistente nativo de banano (FAR) (Figura 1). El tratamiento FAR fue suministrado en concentración de 26.84 %, los

tratamientos AR y AY se administraron en 0.38 g.

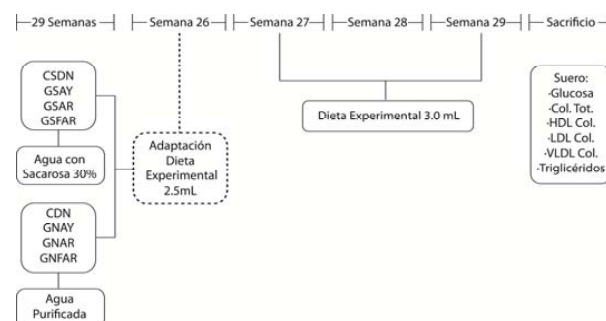


Figura 1. Diagrama de flujo experimental. Muestra el periodo de fase experimental, los grupos de estudio y las determinaciones a evaluar en suero.

Figure 1. Experimental flow chart showing the experimental phase, the study groups and the evaluations carried out in serum.

Determinaciones en sangre

Las determinaciones de glucosa y perfil lipídico: triglicéridos, colesterol total, colesterol VLDL se realizaron mediante un autoanizador de química clínica marca Advia 1200 Chemistry Analyzer de Bayer. El colesterol HDL se cuantificó mediante un método de precipitación y método enzimático-colorimétrica, de acuerdo con las especificaciones de la casa comercial Stanbio LICON. El colesterol LDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald.

Análisis estadístico

Para evaluar los valores séricos de glucosa y lípidos se realizó un análisis ANOVA con un valor de $\alpha=0.05$; para comparar contra los controles se utilizó la prueba de Dunnett y para analizar las diferencias entre los grupos tratados se aplicó la prueba de Tukey - Kramer, analizado con el paquete esta-

Tabla 2. Formulación de la dieta experimental. Contenido energético de los componentes de las dietas experimentales.
Table 2. Composition of the experimental diet. Energy content of % the components of the experimental diets.

Dieta experimental	Componentes	Contenido de la dieta experimental en 100 g			
		Energía Kcal	Hidratos de Carbono g	Proteínas g	Lípidos g
FAR	52 g de leche de vaca y 48 g de AR de banano GE	441.04	65.67	13.80	13.68
AR	100 g de almidón de banano	381.28	95.32		
AY	100 g de almidón de yuca	396	99		

dístico GraphPad Prism 5.01.

RESULTADOS

Glucosa en suero al final del tratamiento dietético. En la Tabla 3 se observan los resultados finales de los parámetros bioquímicos estudiados. El grupo de animales GN FAR mostró los menores niveles de glucemia con respecto al control (75 ± 4 vs 84 ± 2 mg dL⁻¹, $p < 0.05$). De forma contraria en los tres grupos con sacarosa al 30 %, se observó diferencia significativa de glucosa en sangre ($p < 0.01$) con respecto al control, donde el grupo experimental GSAR reportó 25 % menos concentración de glucosa con respecto al control y el GSFAR 24 %.

Perfil lipídico en suero al final del tratamiento dietético. Triglicéridos: No se observaron diferencias en los niveles de triglicéridos en los grupos de ratas con dieta normal. Sin embargo, los grupos suplementados con sacarosa al 30 % presentaron menores niveles de triglicéridos con respecto al control (GSAY y GSFAR vs control, $p < 0.01$ y GSAR vs control $p < 0.05$). Siendo para GSAY la disminución mayor correspondiente al 43 %, seguido de GSFAR con 41 % y GSAR con un 23 %.

Colesterol total: Existió diferencia significativa ($p < 0.05$) en el grupo con dieta normal tratado con AY con respecto a su control (153 ± 10 vs 119 ± 9 mg dL⁻¹). Sin embargo los otros dos grupos tratados con AR y con FAR no mostraron modificaciones con respecto al control. Por otra parte, el grupo GNAY aumentó significativamente en colesterol total ($p < 0.001$) comparado con el GNAR y ($p < 0.01$) con respecto a GN FAR. En los grupos con sacarosa la disminución con respecto al control 155 ± 2 mg dL⁻¹, fue significativa en las tres dietas experimen-

tales; 109 ± 20 , y 122 ± 10 mg dL⁻¹ ($p < 0.01$), (GSAY y GSFAR respectivamente) y ($p < 0.05$) para GSAR 131 ± 4 mg dL.

HDL-Colesterol: De los grupos con sacarosa, el tratamiento FAR, mostró aumento significativo en HDL colesterol ($p < 0.05$) con respecto al control (69 ± 9 vs 54 ± 2 mg dL⁻¹). Además de haber presentado mayor incremento con respecto a GSAR ($p < 0.05$) (69 ± 9 vs 52 ± 7).

LDL-Colesterol: En los grupos con dieta normal el tratamiento con AY, aumentó LDL colesterol de manera significativa ($p < 0.01$) con respecto al control (61 ± 17 vs 19 ± 9 mg dL⁻¹). El grupo GNAR mostró tendencia a disminuir con respecto al control sin mostrar diferencia estadística. En los animales con sacarosa, los tres grupos experimentales: GSAY con 16 ± 1 , GSAR con 34 ± 19 y GSFAR con 19 ± 12 mg dL⁻¹; mostraron disminución ($p < 0.01$) con respecto al control con sacarosa 67 ± 2 mg dL⁻¹.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se demostró que la suplementación con almidón resistente disminuye los niveles de glucosa y colesterol en ratas alimentadas con una dieta alta en sacarosa. Se considera que el AR interviene en la reducción de la respuesta glucémica, ya que disminuye la energía consumida y la concentración de lípidos en suero, por lo que reduce condiciones fisiológicas como diabetes mellitus, obesidad, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico (Sharma et al. 2008).

En comparación con un modelo de diabetes inducida por estreptozotocina en ratas, el incremento de glucosa entre los testigos enfermo y sano, fue estadísticamente diferente. Al utilizar como dieta ex-

Tabla 3. Valores séricos de los animales al final del tratamiento dietético. Muestra los valores séricos en suero (mg dL^{-1}) de los grupos tratados y las diferencias significativas entre tratamientos y con respecto al control.

Table 3. Serum values of the animals at the end of the dietary treatment, including the values in the serum (mg dL^{-1}) of the treated groups and the significant differences among treatments and control.

Grupo	Glucosa mg dL^{-1}	Triglicéridos mg dL^{-1}	Col. Total mg dL^{-1}	HDL-Col mg dL^{-1}	LDL-Col mg dL^{-1}	VLDL-Col mg dL^{-1}
CDN	84 ± 2	131 ± 56	119 ± 9 a b	70 ± 1	19 ± 9 a b	17 ± 9
GNAY	78 ± 5	85 ± 35	153 ± 10*	75 ± 10	61 ± 17**	17 ± 7
GNAR	78 ± 4	81 ± 12	a 101 ± 13	74 ± 7	a 11 ± 11	16 ± 2
GNFAR	75 ± 4*	121 ± 35	b 107 ± 12	73 ± 9	b 20 ± 9	24 ± 7
CSDN	103 ± 2	290 ± 46	155 ± 2	54 ± 2	67 ± 2	35 ± 4
GSAY	83 ± 6**	166 ± 47**	120 ± 20**	59 ± 12	16 ± 13**	33 ± 9
GSAR	77 ± 1**	222 ± 42*	131 ± 4*	c 52 ± 7	34 ± 10**	44 ± 8
GSFAR	78 ± 8**	172 ± 25**	122 ± 10**	c 69 ± 9*	19 ± 12**	34 ± 5

Indica diferencia significativa con respecto al control *($p < 0.05$) y **($p < 0.01$).

Indica diferencia significativa entre tratamientos a ($p < 0.001$), b ($p < 0.01$) y c ($p < 0.05$).

perimental AR de arroz, al final del tratamiento, las ratas disminuyeron glucosa en sangre, sin embargo, los valores medios no fueron estadísticamente diferentes de cualquier control o de algún otro tratamiento (Woo *et al.* 2003). En cambio en el presente experimento, las ratas sanas por consumo de FAR disminuyeron niveles de glucosa, mientras que en los animales con sacarosa, se observó esta disminución tanto por consumo de AR como de FAR.

En relación a la respuesta en los niveles de lípidos, en 2001 se reportaron resultados en donde al suministrar a ratas, dietas con almidón de papa cruda y almidón con alto contenido de amilosa, se disminuyeron los niveles de colesterol y triglicéridos en plasma con respecto al control (Lopez *et al.* 2001). En el presente experimento, el consumo de la FAR y de AR en ratas suplementadas con sacarosa produjo una reducción en las concentraciones de colesterol y triglicéridos. También, el consumo de la FAR mostró aumento en los niveles de HDL-Colesterol, de los animales enfermos. Este efecto fue similar al reportado en 2003, donde la suplementación con AR incrementó los niveles de HDL-Colesterol en ratas con diabetes experimental inducida por estreptozotocina, que presentaron niveles elevados de glucemia

y lípidos séricos. La disminución del HDL-Colesterol y el aumento de LDL-colesterol en los animales con sacarosa, son indicadores del desarrollo de síndrome metabólico, y contribuyen a la aparición de dislipidemias y riesgo de enfermedad vascular, así como a la presencia de diabetes mellitus tipo 2. El consumo de las dietas FAR y AR, contribuyeron a que los grupos enfermos que las consumían, aumentaran de manera benéfica el HDL-Colesterol así como la disminución de LDL-Colesterol (Woo *et al.* 2003).

Se concluye que la disminución en los niveles séricos tanto de glucosa como de colesterol total y el aumento de HDL-Colesterol, por ingesta de almidón nativo de banano gran enano y de la fórmula en proceso de patente a base de almidón nativo de banano gran enano, fue más evidente en los animales suplementados con sacarosa. Estos resultados abren la posibilidad a posteriores investigaciones sobre el efecto benéfico potencial del almidón de banano en sujetos con obesidad y síndrome metabólico. Por otra parte, se propone indagar los mecanismos de acción por los cuales la suplementación con almidón nativo de banano gran enano disminuye los niveles de glucosa y de lípidos en sangre.

LITERATURA CITADA

Aparicio M, Pérez E (2005) Fórmula a base de almidón resistente de banano gran enano. México. Patente

Yu/a/2005/000013.

- Aparicio TM (2003) Caracterización fisicoquímica de los almidones nativos y modificados de yuca, camote y plátano Valery. Veracruz, México. 152 pp.
- Bello-Pérez LA, Betancourt D, Bravo L (1999) Manual de métodos de caracterización de carbohidratos. Publicaciones de la Escuela Politécnica Nacional. México. pp. 76-91.
- Brown IL (2004) Applications and uses of resistant starch. *Journal of AOAC International* 87(3): 727-732.
- El Hafidi M, Pérez I, Carrillo S (2005) Papel de los ácidos grasos no-esterificados en un modelo de síndrome metabólico: efecto de la glicina. Instituto Nacional de Cardiología. Depto. de Bioquímica Juan Badano 1, Sección XVI. Memorias del XIV Congreso de Bioenergética y Biomembranas. Sociedad Mexicana de Bioquímica A.C.
- El Hafidi M, Cuellar A, Ramírez J, Baños G (2001) Effect of sucrose addition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal Delta9 and Delta5-desaturase activities. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 12(7): 396-403.
- Goñi I, Garcia L, Mañas E, Saura A (1996) Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chem.* 56: 45-449.
- Kawasaki T, Kashiwabara A, Sakai T, Igarashi K, Ogata N, Watanabe H, Ichianagi K, Yamanouchi T (2005) Long-term sucrose-drinking causes increased body weight and glucose intolerance in normal male rats. *British Journal of Nutrition* 93(5): 613-618.
- Lopez HW, Levrat-Verny MA, Coudray C, Besson C, Krespine V, Messenger A, Demigné C, Rémésy C (2001) Class 2 Resistant Starches Lower Plasma and Liver Lipids and Improve Mineral Retention in Rats. *Journal of Nutrition* 131: 1283-1289.
- Sajilata MG, Singhal RS, Kulkarni PR (2006) Resistant Starch a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 1(5): 1-7.
- Sharma A, Yadav BS, Ritika (2008) Resistant Starch: Physiological Roles and Food Applications. *Food Reviews International* 24(2): 193-234.
- Woo KK, Mi KC, Nam EK, Myung HK, Ock JP (2003) Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 166-172.