

EFFECTO DEL ACEITE DE LINO VIRGEN Y CLA EN LA PREVENCIÓN DE ALTERACIONES RELACIONADAS AL METABOLISMO DEL COLESTEROL EN ANIMALES ALIMENTADOS CON DIETA DE CAFETERÍA

Benetti, Constanza

*Cátedra de Bromatología y Nutrición, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL
Director/a: Sain, Juliana
Codirector/a: Fariña, Ana Clara*

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: dieta de cafetería, esteatosis, lípidos funcionales

INTRODUCCIÓN

La 4° Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) realizada en 2018 en Argentina, mostró que las ECNT producen el 73,4% de las muertes en el país. Dicha prevalencia se correlaciona principalmente con los índices de obesidad la cual ha sido reconocida como una de las principales causas de la incrementada incidencia de enfermedad de hígado graso asociado a disfunción metabólica (MAFLD) (Cen, 2024). La MAFLD puede variar desde una simple acumulación de grasa hepática (esteatosis) a un cuadro con extrema fibrosis y finalmente cirrosis (Kucera, 2014). Uno de los factores claves en esta progresión es la acumulación de especies lipotóxicas, como el colesterol libre (Hansen, 2017). La dieta juega un rol fundamental en el desarrollo o prevención de ECNT. En este sentido, el consumo de alimentos hipercalóricos y/o proinflamatorios, constituye un factor predisponente a padecer enfermedades metabólicas. La dieta de cafetería (CAF), rica en grasas y carbohidratos simples con alta densidad energética y palatabilidad, constituye un modelo experimental para el estudio de los mecanismos involucrados en el desarrollo de alteraciones observadas en ECNT. Este modelo conduce a incremento de peso e hiperlipemia. Por otro lado, dentro de los componentes dietarios, los lípidos funcionales (LF) han demostrado tener un rol central para atenuar y/o mitigar este tipo de enfermedades (Ferramosca, 2017). El ácido α -linolénico (ALA), contenido en el aceite de lino virgen (ALV) ha mostrado un efecto hipolipemiante (Cicero, 2017), hipotensor (Al-Bishri, 2013), y atenuador de la esteatosis hepática (Hanke, 2013). Por otra parte, otros lípidos con propiedades funcionales son los conjugados del ácido linolénico (CLA) que han demostrado, entre otras acciones, ser antiobesogénicos (Koba, 2013). El presente estudio investiga el posible efecto preventivo de LF, como el ALV y CLA, sobre la hipercolesterolemia y desarrollo de MAFLD en ratas alimentadas con dieta CAF, rica en grasas y carbohidratos simples, proveniente de alimentos consumidos habitualmente por la población.

Título del proyecto: Efecto del aceite de lino virgen en la prevención de alteraciones relacionadas al metabolismo del colesterol en animales alimentados con dieta de cafetería.

Instrumento: PEICID 2022-019.

Año convocatoria: 2022

Organismo financiador: ASACTEI.

Director/a: Juliana Sain



OBJETIVOS

Evaluar el efecto del ALv y CLA, o la mezcla de ellos, sobre parámetros claves del metabolismo del colesterol hepático en ratas Wistar macho alimentadas con dieta CAF.

METODOLOGÍA

Ratas Wistar macho adultas (300 g, 10 semanas) fueron divididas aleatoriamente en 5 grupos (n=6/grupo) y expuestas a libre acceso al agua y alguna de las 5 dietas experimentales durante 12 semanas: control (C) (basada en AIN-93M con 4% (p/p) aceite de soja); CAF: dieta formulada con galletitas dulces y saladas, carnes procesadas, leche, grasa animal, entre otros componentes, alcanzando 35% lípidos, 51% carbohidratos y 14% proteínas; CAF con ALv (CAF+L): similar composición a la dieta CAF pero 9% de los lípidos fueron aportados por ALv; CAF con CLA, (CAF+CLA): 34% lípidos + 1% CLA; y CAF con ALv y CLA, (CAF+L+CLA): 25% lípidos + 9% ALv + 1% CLA. Se controlaron los parámetros nutricionales de los animales y al final del tratamiento se los sacrificó por decapitación. Se realizó toma de muestra de hígado y se la conservó a -80°C . En tejido hepático se cuantificaron los niveles de triglicéridos (TG) utilizando una técnica colorimétrica y fracciones de colesterol libre y esterificado a través de una técnica enzimática modificada. Para los parámetros relacionados a la homeostasis del colesterol, se determinaron los niveles de ARNm de enzimas, factores de transcripción y transportadores clave mediante PCR a tiempo real con un equipo SetpOne 18TM Real-Time PCR Detection System, normalizando con 3 genes reporteros para determinar expresiones relativas utilizando el método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$. La comparación entre C y CAF se realizó utilizando test T de Student. Se realizó un Análisis de Variancia (One-Way ANOVA), seguido del test de Tukey para las comparaciones de los grupos que recibieron CAF. La significancia estadística se fijó a un $p < 0,05$ y se indica con * en CAF vs. C y con diferente letra entre los grupos que consumieron CAF.

RESULTADOS/CONCLUSIONES

Ganancia de peso y lípidos hepáticos

Los animales alimentados con dieta CAF mostraron una mayor ganancia de peso respecto a los animales alimentados con dieta C (Figura 1A), esto podría deberse a que la dieta CAF es un modelo que induce obesidad debido a la alta densidad energética y palatabilidad. Respecto al reemplazo parcial de lípidos de la dieta CAF por LF, se observó que la adición de CLA redujo significativamente la ganancia de peso en ambos grupos en comparación a la dieta CAF. En relación con los TG en hígado, se observó un incremento en la dieta CAF respecto a la dieta C (Figura 1B), demostrando que la dieta CAF induce acumulación de grasa en el hígado. En cuanto a la sustitución parcial con LF, los CLA indujeron una reducción de los niveles de TG en ambas dietas donde fueron adicionados, en comparación al grupo CAF. Respecto a los niveles de colesterol (Figura 1C), si bien no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el colesterol total, la dieta CAF alteró la relación colesterol libre/esterificado respecto al C, incrementando el colesterol libre y reduciendo el colesterol esterificado. El CLA (en CAF+CLA y CAF+L+CLA) redujo significativamente la concentración de colesterol libre respecto a CAF. Los grupos CAF+L y CAF+L+CLA presentaron mayor concentración de colesterol esterificado en comparación a CAF.



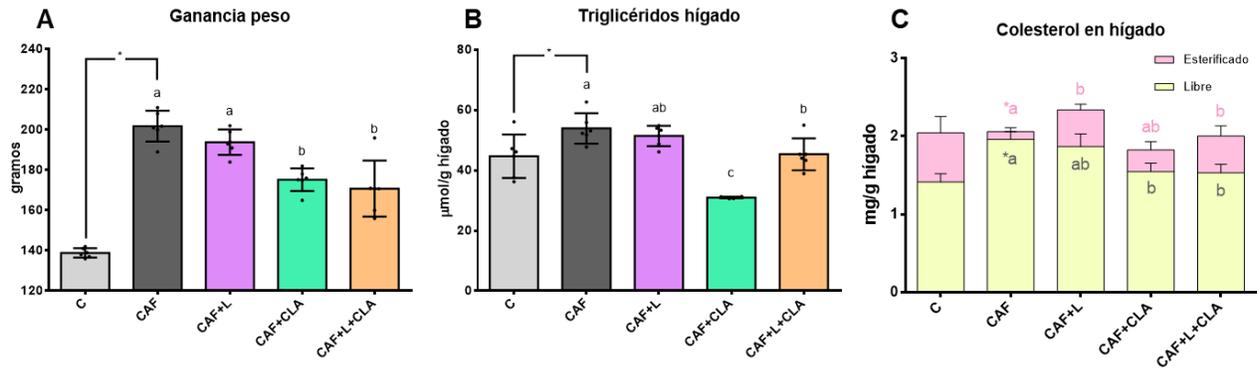


Figura 1: Ganancia de peso y lípidos hepáticos

Parámetros relacionados con la homeostasis del colesterol

En la figura 2 se muestran los niveles de ARNm de algunos parámetros claves del metabolismo del colesterol en hígado. La síntesis del colesterol está estrechamente regulada por el factor de transcripción de la proteína 2 de unión al elemento regulador de esteroides (SREBP-2). La forma madura de SREBP-2 activa genes específicos en la biosíntesis del colesterol, como la enzima hidroximetilglutaril CoA reductasa (HMGCR) y regula la captación hepática de colesterol, a través de la expresión hepática del receptor LDLR. En este sentido la dieta CAF indujo una reducción significativa en la expresión de LDLR1 respecto a C (Figura 2B). En relación con las dietas conteniendo LF, individualmente, el CLA incrementó la expresión de LDLR1 y HMGCR (Figura 2B y 2C) en CAF+CLA vs. CAF, mientras que ambos lípidos mostraron sinergia en la expresión de SREBP2 (Figura 2A) y de HMGCR reflejada en la mayor expresión en CAF+L+CLA vs CAF. La regulación de los niveles de colesterol también implica su excreción al conducto biliar en las que participan los transportadores de colesterol G5 y G8 dependientes de unión a ATP (ABCG5 y ABCG8, por sus siglas en inglés). La expresión de estos transportadores no mostró diferencias estadísticamente significativas (datos no mostrados). Por otro lado, la relación dinámica entre ésteres de colesterol y colesterol libre está dada por la esterificación llevada a cabo por la acetil-CoA acetiltransferasa 2 (ACAT2) (Figura 2D). Esta enzima mostró mayor expresión en CAF+L+CLA vs CAF. Finalmente, la síntesis de sales biliares está regulada por un complejo de proteínas de la familia del citocromo p450. Dentro de ellas, la CYP27A1 (Figura 2E). Esta enzima, mostró una mayor expresión en todas las dietas adicionadas con LF en comparación a CAF. En conclusión, la adición de ALV tendió a mejorar la proporción de colesterol esterificado respecto al libre, lo que podría reducir el riesgo de acumulación de colesterol libre, una especie lipotóxica, en un contexto adverso como la dieta CAF. Además, la modulación de la expresión génica relacionada con el metabolismo del colesterol sugiere una interacción sinérgica entre el ALV y la presencia de CLA en animales alimentados con dieta CAF.

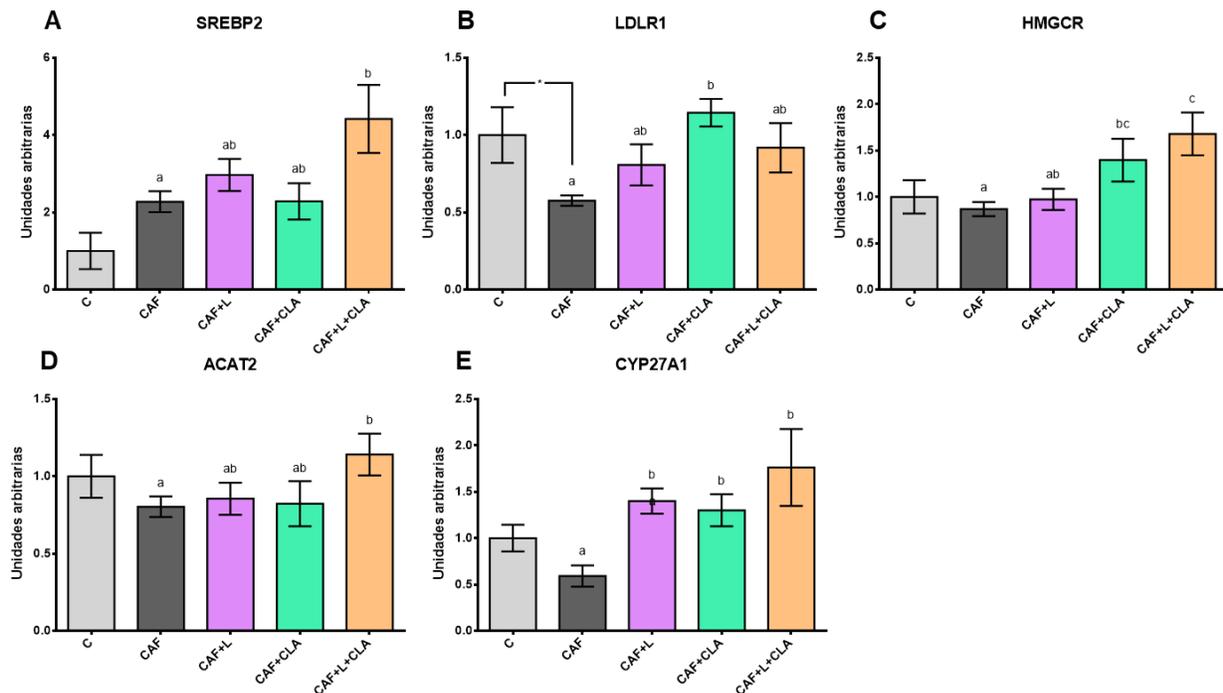


Figura 2: Parámetros relacionados al metabolismo del colesterol hepático

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Al-Bishri, W. M.**, 2013. Favorable effects of flaxseed supplemented diet on liver and kidney functions in hypertensive Wistar rats. *Journal of oleo science*, 62(9), 709-715.
- Cen, C., Fan, Z., Ding, X., Tu, X., Liu, Y.**, 2024. Associations between metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, chronic kidney disease, and abdominal obesity: a national retrospective cohort study. *Scientific reports*, 14(1), 12645.
- Cicero, A., Colletti, A., Bajraktari, G. et al.**, 2017. Lipid lowering nutraceuticals in clinical practice: position paper from an International Lipid Expert Panel. *Archives of Medical Sciences*, 13(5), 965-1005.
- Ferramosca, A., Di Giacomo, M., & Zara, V.**, 2017. Antioxidant dietary approach in treatment of fatty liver: New insights and updates. *World journal of gastroenterology*, 23(23), 4146–4157.
- Hanke, D., Zahradka, P., Mohankumar, S.K., Clark, J.L., Taylor, C.G.**, 2013. A diet high in α -linolenic acid and monounsaturated fatty acids attenuates hepatic steatosis and alters hepatic phospholipid fatty acid profile in diet-induced obese rats. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 89, 391-401.
- Hansen, H.H., Feigh, M., Veidal, S.S., Rigbolt, K.T., Vrang, N., Fosgerau, K.**, 2017. Mouse models of nonalcoholic steatohepatitis in preclinical drug development, 22(11), 1707-1718.
- Koba, K., Yanagita, T.**, 2014. Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity Research Clinical Practice*, 8, e525-32.
- Kucera, O., Cervinkova, Z.**, 2014. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 20(26): 8364-76.