

ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DIFERENTES ACEITES DE CANNABIS CON DIVERSOS RATIOS DE CANNABINOIDES SOBRE LA DISLIPEMIA, ESTEATOSIS Y DAÑO HEPÁTICO EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICO.

Filippa, Camila

*Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición - Facultad de
Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral
Director/a: Oliva, Marfa Eugenia
Codirectora: Degrave, Valentina*

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: aceite de cannabis, esteatosis, metabolismo lipídico.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome Metabólico (SM) se define como un estado fisiopatológico, crónico y progresivo, que aumenta el riesgo de padecer diabetes tipo 2 (DBT2) y/o enfermedad cardiovascular (ECV). Entre sus componentes principales se encuentran un conjunto de trastornos fisiológicos, bioquímicos, clínicos y metabólicos, íntimamente interconectados, que incluyen a la obesidad central, la resistencia a la insulina (IR), el desbalance en el metabolismo de la glucosa, la hipertensión arterial (HTA) y la dislipemia. Recientemente se han asociado a este síndrome otras anormalidades como lo son el estrés oxidativo y el hígado graso no alcohólico (NAFLD). (Montoya-Alatriste y Alarcon-Aguilar, 2022). En la actualidad, el uso de compuestos naturales bioactivos ha despertado el interés en la comunidad científica como posible tratamiento de diversas patologías metabólicas, siendo los constituyentes de la planta de *Cannabis Sativa* L. uno de los grandes prometedores (Kopustinskiene et al. 2022). Numerosos estudios se centran en dos de sus componentes: el cannabidiol (CBD) y el 9-tetrahidrocannabinol (9-THC), que evidenciaron efectos beneficiosos en el organismo, tales como una reducción en la producción de especies reactivas de oxígeno y una mejora en el metabolismo lipídico y glucídico (Saudera, L. M. G., 2022). Al presente no conocemos trabajos que analicen el efecto de diferentes aceites de cannabis (con distintas proporciones de cannabinoides) sobre el metabolismo lipídico, esteatosis y daño hepático como una posible estrategia terapéutica de prevención.

OBJETIVO

Evaluar los efectos de la administración de diversos aceites de cannabis espectro completo, con diferentes proporciones de cannabinoides, sobre el metabolismo lipídico, esteatosis y daño hepático en ratas alimentadas con una dieta rica en sacarosa durante 21 días.

Título del proyecto: ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DIFERENTES ACEITES DE CANNABIS CON DIVERSOS RATIOS DE CANNABINOIDES SOBRE LA DISLIPEMIA, ESTEATOSIS Y DAÑO HEPÁTICO EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICO.

Instrumento: Programa de Investigación y desarrollo en cannabis (2022-2025), Proyecto 11A

Año convocatorio: 2023

Organismo financiador: Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MinCyT).

Director/a: Oliva, María Eugenia.



METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 180-200 g (adultos jóvenes), que fueron divididas al azar en los siguientes grupos (n=6): **Grupo 1:** Dieta de Referencia (DR): dieta estándar comercial de laboratorio (GEPISA FEED); **Grupo 2:** Dieta rica en Sacarosa (DRS); **Grupo 3:** DRS más la administración de aceite de cannabis rico en CBD (DRS+CBD); **Grupo 4:** DRS más la administración de aceite de cannabis rico en THC (DRS+THC); **Grupo 5:** DRS más la administración de aceite de cannabis con igual proporción de CBD y THC (DRS + CBD:THC 1:1). Se utilizaron aceites de cannabis de espectro completo provistos por NISOR SRL., de la Ciudad de Santa Fe. La administración de dichos aceites se realizó vía oral y de forma diaria, presentando 1,5 mg de cannabinoides por kg de peso corporal.

Durante el periodo experimental (21 días) el peso corporal fue registrado diariamente y la ingesta de alimentos 2 veces a la semana. Una vez finalizado el protocolo las ratas de cada lote fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (60 mg/kg peso) y eutanizadas entre las 8 y 9 hs. Se tomaron muestras de sangre de la vena cava inferior, se centrifugaron rápidamente y el suero se almacenó a -20°C hasta su uso. Se extrajo el tejido hepático, se pesó, una porción fue recolectada en formol bufferado para su análisis histológico y el resto se congeló inmediatamente a la temperatura del N₂ líquido y mantenido a -80°C hasta su procesamiento.

En suero se determinación de los niveles séricos de triglicéridos, colesterol, ácido úrico y glucosa por métodos espectrofotométricos utilizando kits enzimáticos comerciales (Wiener Lab., Argentina). En tejido hepático se realizó la cuantificación del contenido lipídico (Degrave y col., 2023a); el análisis histológico de las muestras (Hematoxilina Eosina); y se midieron las actividades enzimáticas de las enzimas lipogénicas Sintasa de Ácidos Grasos (FAS) y Glucosa-6-Fosfato deshidrogenasa (G-6-P DH) (Vega Joubert y col., 2022). Para finalizar, se realizó el procesamiento de la información y el análisis estadístico.

RESULTADOS/CONCLUSIONES

Tabla 1: Pesos, ingesta diaria, niveles séricos de triglicéridos, colesterol, glucosa y ácido úrico de los grupos DR, DRS y DRS+CBD, DRS+THC y DRS+CBD/THC 1:1.

	DC	DRS	DRS+CBD	DRS+THC	DRS+CBD/THC
Peso corporal Inicial (g)	191,5 ± 1,2a	194,58 ± 0,1a	192,08 ± 0,3a	195,67 ± 0,8a	194,83 ± 0,4a
Peso corporal Final (g)	290,88 ± 6,8a	294,58 ± 3,7a	293,33 ± 3,1a	294,83 ± 2,4a	295,67 ± 4,2a
Ingesta Diaria (gCE/día)	17,56 ± 0,3a	17,67 ± 0,3a	17,87 ± 1,0a	17,51 ± 0,7a	18,10 ± 0,2a
Triglicéridos (mM)	1,32 ± 0,1c	3,03 ± 0,1a	2,49 ± 0,3b	1,82 ± 0,4c	1,98 ± 0,2c
Colesterol (mM)	2,26 ± 0,1c	2,80 ± 0,1a	2,60 ± 0,1b	2,37 ± 0,1bc	2,63 ± 0,1b
Glucosa (mM)	8,27 ± 0,1a	8,38 ± 0,2a	9,43 ± 0,1a	9,33 ± 0,2a	9,53 ± 0,1a
Acido Úrico (mM)	77,21 ± 10,1b	152,31 ± 37,95a	87,01 ± 21,77b	110,48 ± 18,58b	102,02 ± 15,82b

Los valores se expresan como media ± SEM, n=6. Las filas que no comparten la misma letra superíndice son significativamente diferentes (P<0.05) cuando cada variable es analizada por oneway ANOVA seguida de post Test Newman Keuls.

Los pesos corporales iniciales y finales, así como la ingesta diaria, no presentaron diferencias significativas entre los animales de los diferentes grupos experimentales. Como

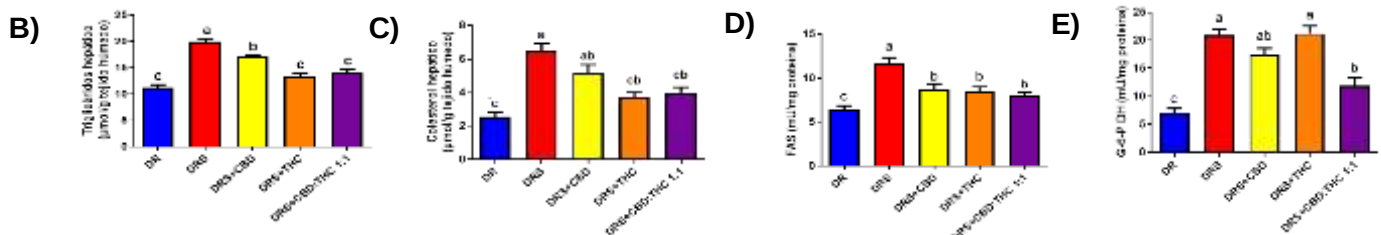
se observa en la **Tabla 1**, no se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles séricos de glucosa entre los grupos experimentales, mientras que los niveles séricos de triglicéridos, ácido úrico y colesterol fueron significativamente más altos en las ratas alimentadas con DRS. Estos dos últimos parámetros lograron prevenirse con la administración de los diferentes aceites, aunque sin alcanzar valores de referencia en los niveles de colesterol. Con respecto a los niveles de triglicéridos, si bien todos los aceites administrados lograron prevenir su aumento, únicamente los ricos en THC y CBD: THC fueron capaces de alcanzar valores de referencia.

Figura 2.

A)



	DR		DRS		DRS+CBD		DRS+THC		DRS+CBD:THC 1:1	
	%	score	%	score	%	score	%	score	%	score
Esteatosis	< 5%	0	52%	2	32%	1	12%	1	<5%	0
Balonización hepatocelular	-	0	Pocas células balonizadas	1	Pocas células balonizadas	1	Pocas células balonizadas	1	Pocas células balonizadas	1
Inflamación lobular	-	0	<2 focos/campo 20x	1	-	0	-	0	-	0
Puntuación de actividad NAFLD (NAS)		0		4		2		2		1



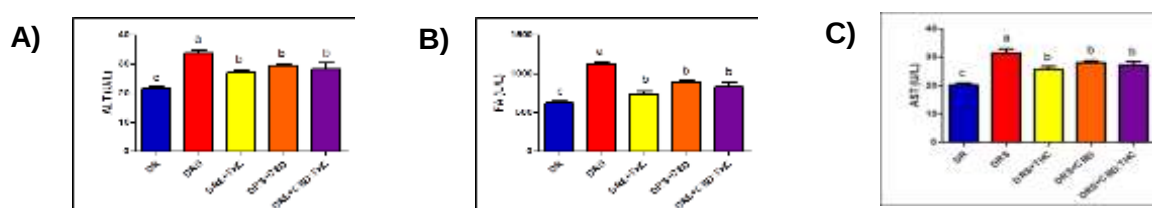
Análisis histológico, puntuación NAS, contenido de triglicéridos y colesterol y en enzimas involucradas en la lipogénesis en tejido hepático. A) Fotomicrografía representativa de anomalías histológicas observadas en secciones de hígado. La acumulación de gotitas de lípidos (flecha negra), células en globo (punta de flecha negra) y focos inflamatorios (recuadro, flecha roja) se observan en la sección del hígado teñida con H&E. Aumento de 400x. Tabla inserta: Sistema de puntuación histológica para el grado de actividad de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAS) en secciones de hígado. B) Contenido de triglicéridos hepáticos, C) Contenido de colesterol hepático, D) Enzima Sintasa de ácidos grasos hepática, E) Enzima G-6-P DH hepática. Los valores se expresan como media $\pm$ SEM, n=6. Las barras que no comparten la misma letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$) cuando cada variable es analizada por one-way ANOVA; post Test Newman-Keuls.

La Figura 2 (A) muestra una acumulación anormal de gotas lipídicas en el grupo dentro del citoplasma de los hepatocitos y la infiltración de células inflamatorias en secciones histológicas del grupo DRS. Estos resultados estuvieron acompañados de un aumento significativo ($P < 0.05$) en el contenido de triglicéridos y colesterol en el tejido hepático. La administración de aceite de cannabis rico en THC y CBD: THC (1:1) mejoró notablemente las anomalías de las secciones histológicas y el contenido de triglicéridos y colesterol hepático,

alcanzando valores de referencia. En el grupo DRS+CBD, se observó una leve mejoría en todos los parámetros sin alcanzar valores de referencia.

Las actividades de las enzimas clave relacionadas con la síntesis de novo de triglicéridos, FAS (Fig 2D) y G-6-PDH (Fig. 2E) aumentaron significativamente en el hígado de ratas alimentadas con DRS, en comparación con las de las ratas alimentadas con DR. La administración de los aceites de cannabis durante 3 semanas disminuyó significativamente la actividad de la FAS en los 3 grupos estudiados, sin alcanzar valores de referencia. La actividad de la enzima G-6-PDH mostró una reducción significativa en los grupos DRS+CBD y DRS+CBD: THC (1:1), sin alcanzar valores de referencia. El grupo DRS+THC presentó valores similares al grupo DRS.

Figura 1. Actividades enzimáticas de enzimas de daño hepático AST, ALT y FA en los grupos DR, DRS, DRS+CBD, DRS+THC y DRS+CBD:THC (1:1).



Enzimas de daño hepático en tejido hepático. A) AST, B) ALT y C) FA. Los valores se expresan como media $\pm$ SEM, $n=7$. Las barras que no comparten la misma letra son significativamente diferentes ($P < 0.05$) cuando cada variable es analizada por one-way ANOVA; post Test Newman-Keuls.

Las actividades de AST, ALT y FA séricas fueron significativamente más altas ($P < 0.05$) en ratas alimentadas con una DRS. En los grupos a los cuales se le administró aceite de cannabis disminuyó significativamente las actividades de AST, ALT, y FA sin alcanzar valores de referencia.

Nuestros resultados mostraron que la administración de aceite de cannabis con diferentes ratios de CBD y THC lograron mejorar la dislipemia, daño y esteatosis hepática en un modelo experimental de SM.

BIBLIOGRAFIA BASICA

- Degrave, V., Vega Joubert, M. B., Ingaramo, P., Sedan, D., Andrinolo, D., D'Alessandro, M. E., & Oliva, M. E. (2023). Effects of Full-Spectrum Cannabis Oil with a Cannabidiol:Tetrahydrocannabinol 2:1 Ratio on the Mechanisms Involved in Hepatic Steatosis and Oxidative Stress in Rats Fed a Sucrose-Rich Diet. *Medical cannabis and cannabinoids*, 6(1), 170–183. <https://doi.org/10.1159/000534610>.
- Kopustinskiene, D. M., Masteikova, R., Lazauskas, R., & Bernatoniene, J. (2022). Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(4), 660. <https://doi.org/10.3390/antiox11040660>
- Montoya-Alatriste, C. A., & Alarcon-Aguilar, F. J. (2022). Cannabis and cannabinoids as an alternative remedy in metabolic syndrome. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e20161. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e20161>.
- Saudera, L. M. G. (2022). "El Aceite de Cannabis como Alimento Funcional para Controlar Niveles de Colesterol, Triglicéridos y Mejorar la Presión Arterial, en un Modelo Murino. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de San Luis Potosí].
- Vega Joubert MB, Ingaramo P, Oliva ME, D'Alessandro ME (2022). Salvia hispanica L. (chia) seed ameliorates liver injury and oxidative stress by modulating Nrf2 and NFκB expression in sucrose-rich diet-fed rats. *Food Funct.*;13:7333–45