

IMPACTO DEL SÍNDROME METABÓLICO SOBRE EL ESTADO OXIDATIVO DEL CEREBRO Y FUNCIÓN COGNITIVA: ESTUDIOS EN UN MODELO EXPERIMENTAL INDUCIDO POR INGESTA DE UNA DIETA RICA EN SACAROSA

Scalzo, María de los Milagros

*Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. UNL
Laboratorio de estudio de Enfermedades Metabólicas relacionadas con la Nutrición*

Directora: Ferreira Cordonada, Maria del Rosario
Codirectora: D'Alessandro, Maria Eugenia

Área: Ciencias de la Salud

Palabras claves: Cognición, Daño oxidativo cerebral, Ratas.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han producido severas modificaciones en los patrones alimentarios de la población. El consumo excesivo de azúcares simples y de grasas, principalmente saturadas, se evidencia tanto en adultos como en niños y adolescentes siendo una característica de los hábitos alimentarios actuales (Johnson y col., 2007; Lomaglio, 2012). Se ha demostrado que estos cambios en los patrones alimentarios han tenido un importante impacto en el desarrollo y elevada incidencia del denominado Síndrome Metabólico (SM) (Matía Martín y col., 2007). El SM se define como un factor de riesgo múltiple para el desarrollo de enfermedad cardiovascular (ECV) y diabetes tipo 2 (DBT2). Entre los determinantes de riesgo cardio-metabólicos se incluyen entre otros: la resistencia insulínica, intolerancia a la glucosa, dislipemia, obesidad abdominal e hipertensión (Rochlani y col., 2017). Numerosas investigaciones se han enfocado en el estudio de la fisiopatología del SM, puntualmente en los mecanismos que subyacen a la disfunción de diferentes tejidos periféricos (hígado, tejido adiposo, músculo, páncreas) importantes en el control de la homeostasis energética. En años recientes se ha incorporado al cerebro como un órgano que se ve también impactado por las alteraciones periféricas, e incluso algunos autores hablan de la existencia de un SM cerebral. Estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales sugieren que los desórdenes que conforman el SM estarían asociados al desarrollo de trastornos neurodegenerativos y deterioro de la performance cognitiva (Yates y col., 2012).

Se ha demostrado que el estrés oxidativo a nivel cerebral juega un rol clave en el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento y en diferentes trastornos neurodegenerativos (Albers y Flint, 2000). Por otra parte, es bien reconocido que el estrés oxidativo juega un rol clave en la etiopatogenia del SM (Roberts y Sindhu, 2009) por lo que el desarrollo de estrés oxidativo a nivel cerebral podría ocurrir también en este contexto.

Título del Proyecto: Disfunción tisular en Síndrome metabólico y complicaciones asociadas: Semilla de chía como estrategia nutricional de tratamiento.

Instrumento: Beca de iniciación a la investigación para estudiantes de carreras de grado de la UNL (Cientibeca- UNL), en el marco del Proyecto CAI+D #50620190100009LI

Año de convocatoria: 2020 Organismo financiador: Universidad Nacional del Litoral

Directora: Dra. María Eugenia D'Alessandro

OBJETIVO

Evaluar en un modelo animal de SM inducido por ingesta de una dieta rica en carbohidratos simples (sacarosa) si los desórdenes metabólicos periféricos presentes en el mismo se acompañan de alteraciones del estado oxidativo a nivel del sistema nervioso central (cerebro) y/o de algunos aspectos de la conducta cognitiva.

METODOLOGÍA

Diseño experimental: Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar, con un peso inicial de 180-200 g (adultos jóvenes). Los animales fueron divididos al azar en dos grupos: Control y Experimental. El grupo control (DC) recibió una dieta semisintética, conteniendo como fuente de hidratos de carbono, almidón (63% p/p). El grupo experimental recibió la misma dieta, pero en la misma se reemplazó el almidón isocalóricamente por sacarosa. Las dietas fueron preparadas siguiendo las recomendaciones del Informe Americano de Nutrición, Comité ad hoc (AIN-93), para estudios de Nutrición (Reeves, 1997) y utilizados en trabajos previos del grupo (D'Alessandro y col., 2015). Los animales recibieron sus respectivas dietas "ad libitum" por un período de 21 días. Durante el mismo se registró el peso corporal, la ingesta energética y se realizó -en animales conscientes- la medición de presión arterial sistólica y diastólica (Creus y col, 2016). Además, se realizaron pruebas de conducta para el estudio de la función cognitiva: a-Prueba de reconocimiento de objeto nuevo (PRON) donde se determinó: Índice de Preferencia (%) = $[\text{tiempo de exploración de objeto nuevo} / (\text{tiempo de exploración de objeto nuevo} + \text{tiempo de exploración de objeto desconocido})] \times 100$ e Índice de discriminación = $(\text{tiempo de exploración de objeto nuevo} - \text{tiempo de exploración de objeto desconocido}) / (\text{tiempo de exploración de objeto nuevo} + \text{tiempo de exploración de objeto desconocido})$ (Denninger y col., 2018), y b-Prueba de laberinto T (T-Maze) donde se determinó el % de alternancia: número de aciertos/total de ensayos (Deacon y Rawlins, 2006). Estas pruebas evalúan la memoria no espacial y espacial respectivamente. Al finalizar el período experimental los animales fueron anestesiados por inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico y eutanizados por decapitación. El cerebro fue inmediatamente extraído, pesado y la región a estudiar (corteza cerebral) fue seccionada y congelada a -80°C hasta su procesamiento. Adicionalmente se extrajeron muestras de sangre para la determinación de los niveles séricos de lípidos [triglicéridos (TG), colesterol total (CLT), ácidos grasos no esterificados (AGNE)], glucosa y ácido úrico mediante el uso de kit enzimáticos comerciales (Wiener lab., Argentina). Los tejidos adiposos viscerales fueron extraídos y pesados para el cálculo del índice de adiposidad visceral-IAV- (Oliva y col., 2021). En corteza cerebral se determinó: a-niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) según la metodología propuesta por Wang y col., 2015., b-niveles de TBARS -como estimador de peroxidación lipídica- (D'Alessandro y col., 2015), c-actividad de enzimas antioxidantes catalasa y glutatión peroxidasa, ensayadas mediante técnicas espectrofotométricas previamente descritas por nuestro grupo (D'Alessandro y col, 2015). Los resultados se expresan como media \pm SEM (6-8 animales fueron utilizados de cada grupo experimental). La significancia estadística entre los grupos DC y DRS y se determinó por test t-student o two-way ANOVA seguido de test de Newman Keuls. Valores de $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos. Los valores de cada variable medida que son estadísticamente diferentes se indican con distinta letra.

RESULTADOS

Peso corporal, ganancia de peso, ingesta energética, IAV y presión arterial

En la Tabla 1 se observa que no existen diferencias significativas en el peso corporal final, ganancia de peso e IAV de los animales alimentados con DC y DRS, a pesar de que un aumento significativo ($P < 0.05$) en la ingesta energética media diaria fue registrado en el grupo DRS. La administración de una DRS fue capaz de incrementar significativamente ($P < 0.05$) los niveles de presión arterial sistólica y diastólica.

TABLA 1. Peso corporal, ganancia de peso, ingesta energética, IAV y presión arterial.

	DC	DRS
Peso corporal (g)		
Inicial	191.4 ± 2.93	193.9 ± 2.97
Final	287.5 ± 4.12	284.1 ± 3.31
Ganancia de peso (g)	93.5 ± 1.8	93.1 ± 2.2
Ingesta energética (Kcal/rata*día)	42.12 ± 1.14 ^b	71.62 ± 1.43 ^a
IAV (%)	3.72 ± 0.13	4.12 ± 0.18
Presión arterial sistólica final (mmHg)	129 ± 1 ^b	143 ± 1 ^a
Presión arterial diastólica final (mmHg)	88 ± 1 ^b	100 ± 1 ^a

Los valores fueron expresados como media ± SEM, n=8 (test t-student)

Evaluación de la función cognitiva: Prueba de Reconocimiento de objeto nuevo (PRON) y Prueba de laberinto T (T-MAZE).

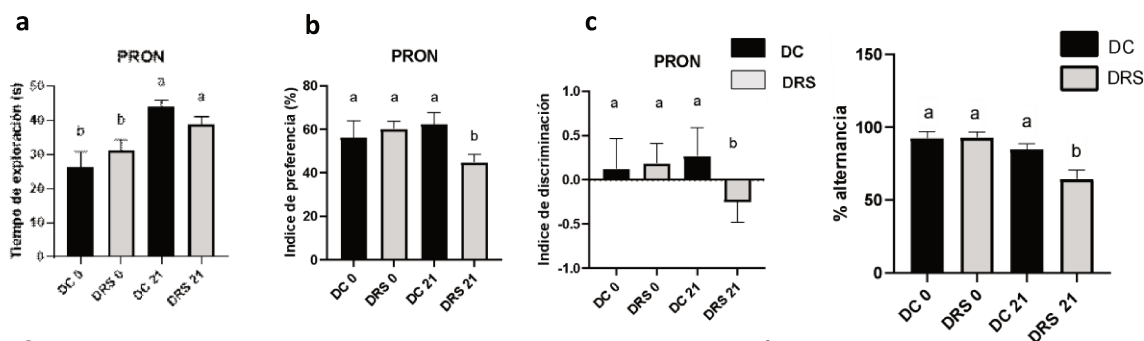


FIGURA 1. Prueba de reconocimiento de objeto nuevo al inicio (día 0) y final de la experiencia (día 21). (a) Tiempo total de exploración, (b) Índice de preferencia, (c) Índice de discriminación. Los valores fueron expresados como media ± SEM, n=8; two-way ANOVA seguido por test de Newman-Keuls.

FIGURA 2. Prueba de laberinto T (T-MAZE) al inicio (día 0) y final de la experiencia (día 21). Los valores fueron expresados como media ± SEM, n=8; two-way ANOVA seguido por el test de Newman-Keuls.

La Figura 1 muestra un deterioro de la performance cognitiva en los animales que recibieron DRS, lo que se ve reflejado por parámetros alterados- Índice de preferencia e Índice de discriminación- en la PRON. En esta prueba el tiempo de exploración total de objetos fue mayor ($P < 0.05$) en ambos grupos de animales (DC y DRS) al final del período experimental. A su vez, en la prueba de laberinto T los resultados mostraron una reducción ($P < 0.05$) en el porcentaje de alternancia espontánea en el grupo de animales que recibieron DRS. No se observaron diferencias entre los grupos en los parámetros estudiados- Índice de preferencia, Índice de discriminación y % alternancia- previo al comienzo de la experiencia (día 0).

Bioquímica del suero

Tabla 2. Bioquímica del Suero.

	DC	DRS
Glucosa (mg/dL)	151.0 ± 4.6	159.0 ± 7.5
Colesterol (mg/dL)	78.38 ± 3.25 ^b	102.47 ± 4.40 ^a
Triglicéridos (mg/dL)	163.9 ± 8.35 ^b	336.2 ± 27.02 ^a
Ácidos grasos libres (mg/dL)	7.26 ± 0.19 ^b	13.71 ± 0.86 ^a
Ácido úrico (mg/dL)	0.94 ± 0.06 ^b	1.33 ± 0.09 ^a

Los valores fueron expresados como media ± SEM, n=6 (test t-student)

La administración de una DRS durante 21 días fue capaz de inducir dislipidemia (incremento de triglicéridos, colesterol total y ácidos grasos libres) e hiperuricemia, sin afectar los niveles de glucosa circulantes (Tabla 2).

Peso del cerebro y marcadores de estrés oxidativo en corteza cerebral

La Tabla 3 muestra un incremento significativo ($P < 0.05$) en los niveles de ROS, TBARS y actividad de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa en la corteza cerebral de los animales alimentados con DRS. No se observaron diferencias significativas en el peso del cerebro (absoluto o relativo al peso corporal) ni en la actividad de la enzima catalasa.

Tabla 3. Peso del cerebro y marcadores de estrés oxidativo

	DC	DRS
Peso cerebro (g)	1.77 ± 0.02	1.79 ± 0.04
Peso cerebro (g/100g de peso corporal)	0.62 ± 0.01	0.62 ± 0.01
<i>Corteza cerebral</i>		
Niveles de ROS (unidades arbitrarias respecto a DC)	1.02 ± 0.12 ^b	1.91 ± 0.21 ^a
Niveles de TBARS (nmol/mg proteína)	1.58 ± 0.10 ^b	2.33 ± 0.26 ^a
Catalasa (U/mg proteína)	0.671 ± 0.084	0.577 ± 0.066
Glutatión Peroxidasa (mU/mg proteína)	32.97 ± 2.99 ^b	41.95 ± 3.14 ^a

Los valores fueron expresados como media ± SEM, n=6 (test t-student)

CONCLUSIONES

Los resultados muestran deterioro de la performance cognitiva y alteraciones de marcadores de estado oxidativo en el cerebro de los animales expuestos a una DRS.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Albers, D.S. y Flint B.M., 2000. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and neurodegenerative disease. In: *Advances in Dementia Research*. Springer. pp589–597. **D'Alessandro, M.E., Selenscig, D., Illesca, P., Chicco, A. y Lombardo, Y.B.**, 2015. Time course of adipose tissue dysfunction associated with antioxidant defense, inflammatory cytokines and oxidative stress in dyslipemic insulin resistant rats. *Food & Function*; 6:1299–1309. **Deacon, R.M.J. y Rawlins, J.N.P.**, 2006. T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*; 1:7–12. **Denninger, J.K., Smith, B.M. y Kirby, E.D.**, 2018. Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a Budget. *JoVE*; 1–10. **Johnson, R.J., Segal, M.S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D.I., Kang, D.H., y Sánchez-Lozada, L.G.**, 2007. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease, *The American Journal of Clinical Nutrition*; 86:899–906. **Lomaglio, D.B.**, 2012. Transición nutricional y el impacto sobre el crecimiento y la composición corporal en el noroeste argentino (NOA). *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*; 32:30-35. **Matía Martín, P., Lecumberri Pascual, E. y Calle Pascual, A.L.**, 2007. Nutrición y síndrome metabólico. *Revista Española de Salud Pública*; 81:489-505. **Oliva, M.E., Ferreira, M.R., Vega Joubert, M.B. y D'Alessandro, M.E.**, 2021. Salvia hispanica L. (chia) seed promotes body fat depletion and modulates adipocyte lipid handling in sucrose-rich diet-fed rats. *Food Research International*; 139:109842. **Reeves, P.G.**, 1997. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *The Journal of Nutrition*; 127:838-841. **Roberts, C.K. y Sindhu, K.K.**, 2009. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*; 84:705–712. **Rochlani, Y., Pothineni, N.V., Kovelamudi, S. y Mehta, J.L.**, 2017. Metabolic syndrome: Pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*; 11:215–225. **Yates, K.F., Sweat V., Yau, P.L., Turchiano, M.M. y Convit, A.**, 2012. Impact of Metabolic Syndrome on Cognition and Brain: A Selected Review of the Literature. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*; 32:2060–2067. **Wang, X., Che, H., Zhang, W., Wang, J., Ke, T., Cao, R. y Luo, W.**, 2015. Effects of mild chronic intermittent cold exposure on rat organs. *International Journal of Biological Sciences*; 11:1171–1180.