

---

## Glucolipototoxicidad y disfunción de la célula $\beta$ en un modelo experimental de dislipemia y resistencia insulínica. Análisis de algunos mecanismos. Acción de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA) dietarios

---

### Ma. del Rosario Ferreira Cordoneda

mrferreira@fcb.unl.edu.ar

Dra. Adriana G. Chicco

Dra. Yolanda B. de Lombardo

Laboratorio de Estudios de Enfermedades

Metabólicas Relacionadas con la Nutrición

Departamento de Ciencias Biológicas

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

Universidad Nacional del Litoral

Fecha de defensa: 22/11/2013

### Resumen

Ratas alimentadas con una dieta rica en sacarosa representan un modelo no genético de dislipemia, resistencia insulínica (RI) y disfunción de la célula  $\beta$  pancreática que se asemeja en muchos aspectos bioquímico-metabólicos a los descritos en el Síndrome Metabólico en humanos. En el corto período de ingesta (22 días) se observa normogluceemia con hiperinsulinemia que evoluciona con la cronicidad de la dieta a moderada hipergluceemia con normoinsulinemia (240 días de ingesta). A su vez, el patrón de secreción de insulina frente al estímulo de la glucosa difiere según el tiempo de administración de dieta, observándose un profundo deterioro con la cronicidad de la misma. El presente trabajo de tesis aporta nuevos datos en lo que respecta al progresivo deterioro de la secreción de insulina y función de la célula  $\beta$  en ratas alimentadas con DRS durante 22 o 240 días. Por otra parte, desde hace ya varios

años se ha puesto especial interés en el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-3 (n-3 PUFA), especialmente en aquellos de origen marino: ácido eicosapentanoico (EPA 20:5, n-3) y ácido docosahexanoico (DHA 22:6, n-3), debido a los efectos favorables que estos ejercerían sobre diversos procesos fisiológicos. En el presente estudio evaluamos algunos mecanismos implicados en el posible efecto beneficioso de la administración de n-3 PUFA dietario (aceite de hígado de bacalao -AHB- rico en EPA y DHA) sobre la disfunción de la célula  $\beta$  inducida por administración crónica de DRS. En el corto plazo se substituyó parcialmente el tipo de grasa dietaria (aceite de maíz-AM- por AHB) desde el inicio de la administración de la DRS, mientras que en el largo plazo, la substitución del tipo de grasa dietaria se llevó a cabo durante los últimos 60 días de ingesta (una vez que la dislipemia y RI permanecieron estables). Para llevar a cabo nuestros objetivos analizamos en islotes pancreáticos aislados de los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales: a) transporte, fosforilación y oxidación de la glucosa, b) niveles de la masa proteica de receptores activadores de la proliferación peroxisomal -PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ - (los cuales regulan el metabolismo de la glucosa y los lípidos en el interior de la célula  $\beta$ ), c) niveles de la masa proteica de la proteína desacoplante UCP 2 (proteína que se relaciona de manera inversa con

los niveles de ATP y la secreción de insulina), d) el contenido de Triglicéridos (TG) en el interior de la célula  $\beta$  (marcador de lipotoxicidad). Los resultados obtenidos muestran que en los primeros estadios de ingesta (22 días) de DRS el patrón de secreción de insulina frente al estímulo de la glucosa se caracteriza por la presencia de un primer pico hipersecretor acompañado de una segunda fase de secreción normal. Durante este período en islotes pancreáticos se observa un incremento en los niveles de la masa proteica de la enzima glucoquinasa (GQ) y del factor de transcripción PPAR $\gamma$ . En el largo plazo (240 días de ingesta de DRS), se observa una clara disfunción de la célula  $\beta$  caracterizada por un patrón de secreción de insulina frente al estímulo de la glucosa con ausencia del primer pico de secreción y una segunda fase hipersecretora. Durante este período, en los islotes pancreáticos, se observa una disminución significativa en la actividad y masa proteica de la enzima GQ acompañada de una menor oxidación de la glucosa, un incremento en el contenido de TG en el interior de la célula  $\beta$  y en la masa proteica del PPAR $\gamma$  y de la UCP 2 sin cambios en la masa proteica del transportador de glucosa GLUT 2 y PPAR $\alpha$  ni en la actividad y masa proteica de la enzima hexoquinasa (HQ). La incorporación de n-3 PUFA dietario previene o revierte el anormal patrón de liberación de insulina en ambos períodos estudiados (22 días y 240 días). En los primeros estadios de ingesta la adición de aceite de pescado a la dieta logra prevenir el incremento en los niveles de la masa proteica de la GQ en los islotes pancreáticos aislados, sin embargo no modifica los valores hallados en el PPAR $\gamma$ . En el largo plazo, el aceite de pescado dietario logra: a) normalizar los reducidos niveles

de la masa proteica y actividad de la enzima GQ, b) normalizar los elevados niveles de la masa proteica del PPAR $\gamma$  y la proteína desacoplante UCP 2, sin cambios en los niveles de la masa proteica del PPAR $\alpha$ . La actividad de la enzima HQ y niveles de la masa proteica de la HQ y transportador de glucosa GLUT 2 no se modificaron con la sustitución de la fuente de grasa dietaria. Además, en concordancia con resultados previos, la presencia de AHB en la dieta fue capaz de normalizar la reducida oxidación de la glucosa y el incrementado contenido de TG en el interior de los islotes de los animales alimentados con DRS. Si bien la extrapolación de los resultados obtenidos en modelos animales hacia el humano debe ser muy cuidadosa este trabajo pretende contribuir al conocimiento de algunos mecanismos que podrían estar involucrados en los procesos de adaptación/disfunción de la célula  $\beta$  pancreática frente a estados de RI y la posibilidad de prevenir y/o revertir/mejorar las alteraciones halladas mediante la administración de ácidos grasos n-3 PUFA de origen marino a fin de mejorar la función de la célula  $\beta$  y secreción de insulina.

*Glucolipotoxicity and beta cell dysfunction in an experimental model of dyslipidemia and insulin resistance. Analysis of some mechanisms. Role of dietary n-3 polyunsaturated fatty Acids (PUFA)*

### Summary

The present work provides new data regarding the progressive impairment of  $\beta$  cell function in an animal model of dyslipidemia and insulin resistance (IR) obtained by administration of a sucrose-rich diet (SRD) and evaluating the possible beneficial effect of dietary n-3 PUFA of marine origin in pre-

venting / reversing of such impairment. The results demonstrate that SRD administration impact on glucose-stimulated insulin secretion by different mechanisms depending on the time on diet. In the early stage (22 days), the increased  $\beta$  cell response in the setting of IR that can maintain normoglycemia is accompanied by an increase in protein mass levels of the glucokinase enzyme and transcription factor PPAR $\gamma$ . Chronic administration of the diet (240 days) leads to a different metabolic and hormonal envi-

ronment in which hyperglycemia occurs due to a markedly  $\beta$  cell dysfunction. Among the glucolipotoxicity mechanisms that might be involved in this period we could mention: a reduced glucose phosphorylation and oxidation, an increase in TG content within the cells and an increase in the protein content of the transcription factor PPAR $\gamma$  and the uncoupling protein UCP 2. Partial substitution of the source of dietary fat corn oil by fish oil (rich in n-3 PUFA) positively impacts on beta cell function and insulin secretion in both periods.

---

## Aplicación de herramientas quimiométricas avanzadas a la optimización de procesos biotecnológicos

---

**Pablo César Giordano**

pgiordano@fiq.unl.edu.ar

Héctor C. Goicoechea

Alejandro J. Beccaria

Cátedra de Química Analítica I y Laboratorio de Fermentaciones

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional del Litoral.

Fecha de la defensa: 27/03/2014

### Resumen

Se optimizaron diferentes procesos biotecnológicos que involucraban la generación de productos con valor agregado a partir de residuos industriales de muy bajo o nulo valor económico. Estos desafíos pudieron llevarse a cabo gracias a la implementación de diferentes herramientas quimiométricas que permitieron no sólo optimizar cada proceso en particular sino también, en fases previas, identificar a los factores que ejercían efectos significativos sobre las respuestas de interés. El eje central de este trabajo

fue la optimización de procesos biotecnológicos a través de la aplicación de diseños experimentales, que en algunos casos tuvo que ser complementada con otras herramientas quimiométricas más poderosas para poder resolver de manera eficiente los diferentes problemas analíticos.

Cuando la aplicación de diseños de Plackett-Burman no fue satisfactoria en la selección de factores, se complementaron con algoritmos genéticos, mientras que en la fase de optimización, cuando la metodología de superficie de respuesta (RSM) basada en cuadrados mínimos (QLS) no fue capaz de rendir resultados satisfactorios, ésta fue aplicada nuevamente pero basada en redes neuronales artificiales basadas en perceptrones multicapa (ANN-MLP) o en funciones de base radial (ANN-RBF) acoplada a optimización por enjambre partículas (PSO).

Particularmente, se obtuvo una formulación óptima de un medio de cultivo específico para una cepa de *Escherichia coli*