

EFFECTO DE LA ALIMENTACION CON LINO Y ALGAS SOBRE EL DESARROLLO DEL TEJIDO GRASO Y LA EXPRESIÓN DE GENES ADIPOGÉNICOS Y LIPOGÉNICOS DE CORDEROS

Urrutia, O., Soret, B., Mendizabal, J. A., Purroy, A. y Arana, A.

¹ETSIA, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona. olaia.urrutia@unavarra.es

INTRODUCCIÓN

Las características sensoriales de la carne (jugosidad, sabor y aroma) así como con sus propiedades nutricionales están estrechamente relacionadas con la composición y la cantidad de la grasa. Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de cadena larga (AGPI-CL), en especial el DHA (22:6n-3) y el EPA (20:5n-3), se consideran beneficiosos para la salud, por lo que es de interés aumentar su contenido en la carne de cordero. La utilización de semillas o aceites ricos en ácido α -linolénico (ALA) enriquece la carne en AGPI n-3 y podría promover la síntesis endógena de sus derivados de cadena larga (DHA y EPA). Otra de las estrategias nutricionales consiste en la inclusión de fuentes ricas en estos ácidos grasos, como son las algas, en la dieta de los animales.

La cantidad de grasa de la carne está estrechamente relacionada con el desarrollo del tejido adiposo, el cual se produce por el aumento del tamaño de los adipocitos (hipertrofia) o el aumento del número de estos (hiperplasia). La adipogénesis es un proceso regulado por distintos factores de transcripción (FT), como el receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (*PPARG*) y la proteína de unión a la secuencia CAAT (*CEBPA*), también encargados de mantener el fenotipo de los adipocitos maduros.

El objetivo del estudio fue analizar el efecto de la inclusión de lino y algas en la dieta sobre el desarrollo del tejido graso, la expresión de los FT adipogénicos y de los genes relacionados con la formación de los AGPI-CL, en los tejidos intramuscular (IM) y subcutáneo (SC) de corderos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 33 corderos machos de raza Navarra destetados con $16,3 \pm 0,3$ kg de peso vivo (PV) y asignados al azar a uno de los siguientes grupos: control (**C**; pienso comercial con cebada y soja); **L** (pienso con un 10% de semilla de lino); **LA** (pienso con un 5% de semilla de lino y 3,7% de algas). Tras el sacrificio (26-27 kg PV), se tomaron muestras de músculo *longissimus dorsi* (IM) y depósito SC. Se determinó el número y diámetro de los adipocitos y la actividad de la enzima G3PDH (Soret et al., 1998). Tras la extracción de ARN y síntesis del ADNc mediante kits comerciales, se analizó por PCR cuantitativa a tiempo real (SYBR Green) la expresión de los siguientes genes: *PPARG*, *CEBPA*, factor 1 de unión a elementos reguladores del colesterol (*SREBF1*), desaturasas 1 y 2 de ácidos grasos (*FADS1* y *FADS2*) y elongasa 5 (*ELOVL5*); como control endógeno se usó el gen β -*actina* (Urrutia et al., 2015). La expresión relativa de los genes se calculó utilizando el método $\Delta\Delta C_T$ y el análisis estadístico se realizó con el programa REST© algorithm. Los otros parámetros estudiados se analizaron mediante ANOVA de un factor y la comparación de medias se realizó con el Test de Tukey (SPSS v. 22).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados productivos, que han sido presentados anteriormente (Arana et al., 2011), indicaron que la inclusión de lino en la dieta no afectaba a las características de crecimiento de los corderos; sin embargo, los corderos alimentados simultáneamente con lino y algas presentaron una menor GMD y una mayor edad a un mismo peso de sacrificio ($P < 0,001$). La cantidad de grasa IM y SC fue similar en los tres lotes ($P > 0,05$). También en trabajos anteriores (Insausti et al., 2011) se pudo comprobar que los corderos de los lotes L y LA presentaron un aumento en ALA, 18:1n11 y EPA en ambos tejidos, aunque el DHA sólo aumentó en los corderos del lote LA ($P < 0,001$).

En la Tabla 1 se muestra el número y tamaño de los adipocitos del tejido IM, no habiendo diferencias entre los tres grupos. Además, los histogramas de distribución de frecuencias en función del tamaño de los adipocitos muestran que en los tres lotes hay una distribución asimétrica, con un predominio muy marcado de adipocitos de pequeño tamaño (20-30 μ m; Figura 1). Esto podría estar indicando una intensa hiperplasia en el depósito IM de estos corderos y estaría de acuerdo con el principio de que el tejido IM es de desarrollo tardío

(Robelin, 1986). A pesar de que el ALA, 18:1n-1 y el EPA aumentaron en el tejido IM en los corderos de los lotes L y LA (Insausti et al., 2011), no hubo diferencias significativas en el contenido de la grasa IM. Esto concuerda con la ausencia de variación entre lotes en el número y tamaño de los adipocitos, en la actividad de la G3PDH, implicada en la acumulación de los triglicéridos, y en la expresión de *PPARG*, *CEBPA* y *SREBF1* (Tabla 2). En el tejido SC, aunque no hubo diferencias en el número de adipocitos, el diámetro de los mismos en los lotes L y LA tendió a aumentar con respecto al control ($P = 0,057$). Los histogramas muestran una distribución bimodal del tamaño de los adipocitos, lo que podría indicar la manifestación simultánea tanto de la hiperplasia como de la hipertrofia de los adipocitos. Además, parece que se produjo una mayor intensidad de la hipertrofia en los lotes L y LA, destacando el lote LA, probablemente debido a que la edad de sacrificio de estos corderos fue mayor. Por otro lado, se observó un aumento de la actividad de la G3PDH ($P < 0,05$) y de la expresión de los FT *PPARG* y *CEBPA* ($P < 0,001$). Por tanto, el mayor flujo de AG exógenos al tejido SC en los corderos de los lotes L y LA podría haber causado una activación del proceso de lipogénesis y síntesis de triglicéridos, mediada por *PPARG* y *CEBPA*, que habría resultado en una mayor hipertrofia de los adipocitos.

La expresión de los genes implicados en la síntesis de AGPI-CL (*FADS1*, *FADS2* y *ELOVL5*) mostró una respuesta diferente en los tejidos estudiados al incluir AGPI n-3 en la dieta. En el tejido SC, no hubo variación en la expresión de ninguno de ellos, mientras que en el tejido IM se observó una inhibición de la *FADS1* y *FADS2* ($P < 0,001$), lo que concuerda con resultados de otros autores (Hiller et al., 2011). La respuesta observada en el tejido IM podría tener como fin mantener constante la composición de AG de las membranas celulares en orden a no alterar sus propiedades (y por tanto su función). A esto se suma que los adipocitos IM tienen menor capacidad lipogénica y de acumulación de AG (Smith y Crouse, 1984). Cabe destacar que la expresión del gen *FADS2* disminuyó en el tejido IM en el lote LA con respecto al lote L ($P = 0,001$), lo cual indicaría que una mayor disponibilidad de EPA y DHA, productos finales de la cadena de formación de AGPI-CL, habría causado una mayor inhibición en este gen que la producida por el precursor ALA (dieta L).

En conclusión, se puede afirmar que, como respuesta a la inclusión de lino y algas en la dieta, la grasa IM del músculo *longissimus dorsi* y el tejido adiposo SC mostraron diferencias en la distribución del tamaño de los adipocitos, actividad de la enzima G3PDH, FT adipogénicos y genes implicados en la síntesis de AGPI-CL, indicando que el desarrollo del tejido graso presentaría rasgos específicos en cada uno de los depósitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arana, A. 2011. AIDA. XVI Jorn. Prod. Animal. II: 637-639.
- Hiller, B. 2011. Lipids. 46: 557-567.
- Insausti, K. 2011. AIDA. XVI Jorn. Prod. Animal. II: 640-642.
- Robelin, J. 1986. J. Livest. Prod. Sci. 14: 349-364.
- Smith, S. B. 1984. J. Nutr. 114: 792-800.
- Soret, B. 1998. Small Rum. Res. 29: 103-112
- Urrutia, O. 2015. Small Rum. Res. 123: 204-211.

Tabla 1. Número y diámetro de los adipocitos y actividad enzimática de la G3PDH de corderos en función de la dieta (C: control; L: 10% de lino; LA: 5% de lino + 3,7% de algas).

	C	L	LA	EEM	P-valor
Número de adipocitos, 10⁶					
Intramuscular	69,0	96,5	73,6	20,9	0,680
Subcutáneo	55,9	55,5	43,9	11,1	0,696
Diámetro de los adipocitos, μm					
Intramuscular	32,7	31,4	32,6	1,39	0,777
Subcutáneo	55,2	64,5	67,6	3,00	0,057
G3PDH, nmol·min⁻¹·10⁶ adipocitos					
Intramuscular	848	914	1112	202	0,668
Subcutáneo	155 ^b	263 ^a	282 ^a	33	0,026

Tabla 2. Expresión de genes adipogénicos y lipogénicos en el tejido intramuscular (IM) y subcutáneo (SC) de corderos en función de la dieta (L: 10% de lino; LA: 5% de lino + 3,7% de algas).

Gen	Tejido	Lote	Expresión ¹	I.C. (95%)	P-valor	Result. ²
<i>PPARG</i>	IM	L / LA	0,98 / 0,87	0,26-3,75 / 0,17 - 6,32	0,96 / 0,77	= / =
	SC	L / LA	7,42 / 10,55	2,02-38,5 / 0,59-122,6	0,01 / 0,03	↑ / ↑
<i>CEBPA</i>	IM	L / LA	0,54 / 0,54	0,16-2,87 / 0,16-2,87	0,12 / 0,10	= / =
	SC	L / LA	1,94 / 8,13	1,02-3,87 / 0,99-31,67	0,02 / 0,04	↑ / ↑
<i>SREBF1</i>	IM	L / LA	1,12 / 0,44	0,16-5,53 / 0,07-2,73	0,81 / 0,11	= / =
	SC	L / LA	1,01 / 1,70	0,42-3,04 / 0,13-10,73	0,98 / 0,52	= / =
<i>FADS1</i>	IM	L / LA	0,11 / 0,11	0,02-0,67 / 0,02-0,76	0,001 / 0,001	↓ / ↓
	SC	L / LA	2,13 / 0,26	0,34-36,90 / 0,02-2,53	0,61 / 0,09	= / =
<i>FADS2</i>	IM	L / LA	0,31 / 0,13	0,08-0,81 / 0,04-0,31	<0,001 / <0,001	↓ / ↓
	SC	L / LA	3,15 / 0,42	0,19-47,28 / 0,06-2,65	0,24 / 0,29	= / =
<i>ELOVL5</i>	SC	L / LA	3,50 / 0,30	1,00-13,76 / 0,10-1,02	0,10 / 0,20	= / =

¹Cambio de expresión (FC) relativa al grupo control.²↑ = sobreexpresado; ↓ = subexpresado.

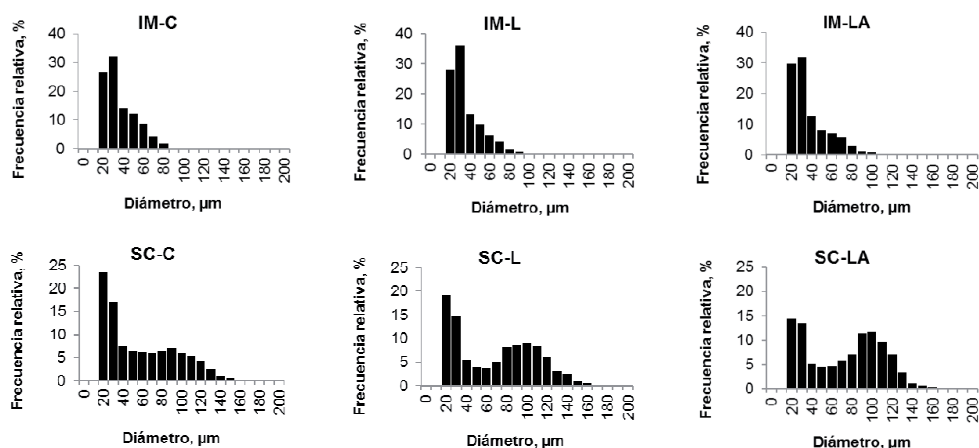


Figura 1. Distribución del tamaño de adipocitos del tejido IM y SC de corderos alimentados con diferentes dietas (C: control; L: 10% de lino; LA: 5% de lino + 3,7% de algas).

EFFECT OF DIETARY LINSEED AND ALGAE SUPPLEMENTATION ON ADIPOSE TISSUE DEVELOPMENT AND ADIPOGENIC AND LIPOGENIC GENE EXPRESSION

ABSTRACT: This work aimed to study the effect of linseed (rich in 18:3n-3) or algae (rich in EPA and DHA) supplementation on adipose tissue development and the expression of *PPARG*, *CEBPA* and *SREBF1*, *FADS1*, *FADS2* and *ELOVL5* in intramuscular (IM) and subcutaneous (SC) adipose tissues (AT). Thirty tree male Navarra breed lambs were assigned to three groups: control, C (barley and soya); L (C diet+10% linseed) and LA (C diet+5% linseed+3.7% algae). Although the contents of 18:1t11, 18:3n-3 and EPA in IM AT in L and LA groups increased ($P < 0.001$), there were not differences in IM fat content, which is consistent with no variations in adipocyte number and diameter, G3PDH activity or *PPARG*, *CEBPA* and *SREBF1* expression. Conversely, the higher FA fluxes reaching SC tissue (stated by an increase in 18:1t11, 18:3n-3 and EPA) could enhance the lipogenesis process and triglyceride synthesis mediated by higher *PPARG* and *CEBPA* expression and higher G3PDH activity. mRNA levels of *FADS1*, *FADS2* and *ELOVL5* genes did not change in the SC tissue whereas *FADS1* and *FADS2* decreased in the IM tissue in L and LA. To conclude, IM and SC AT showed a tissue-specific response to n-3 PUFA supplementation.

Keywords: linseed, algae, gene expression, lambs