

# EFFECTOS DE LA SEMILLA DE *SALVIA HISPANICA* L. (CHIA) SOBRE LA LIPOTOXICIDAD E INSENSIBILIDAD INSULINICA DEL MUSCULO ESQUELETICO EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE SINDROME METABOLICO

**Aiassa, Victoria**

*Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas relacionadas con la Nutrición  
Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas.UNL  
Director/a: D'Alessandro María Eugenia  
Codirector/a: Ferreira, María del Rosario*

**Área: Ciencias de la Salud**

## INTRODUCCIÓN

El Síndrome Metabólico (SM) se define como un conjunto interrelacionado de desórdenes metabólicos que incluyen entre otros: dislipemia, adiposidad visceral, hipertensión, intolerancia a la glucosa y resistencia insulínica (RI). Estas alteraciones constituyen factores de riesgo de patologías asociadas a altas tasas de mortalidad y morbilidad, como son la diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular (ECV) (O'Neill y col., 2015). El desarrollo del SM se encuentra en parte asociado a factores genéticos, sin embargo, los hábitos alimentarios de la población actual, caracterizados por una elevada ingesta calórica y de alimentos ricos en azúcares refinados, grasas saturadas y una menor relación de ácidos grasos n-3/n-6 sumado a un estilo de vida sedentario, han incrementado enormemente la prevalencia del mismo en nuestro país y a nivel mundial. Existe un creciente interés en la identificación de nuevos enfoques terapéuticos, particularmente en intervenciones nutricionales y dietéticas con el fin de revertir y/o mejorar dichas alteraciones. Durante varios años se puso especial interés en el consumo de ácidos grasos poliinsaturados n-3, especialmente aquellos de origen marino: ácido eicosapentaenoico (EPA 20:5, n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA 22:6, n-3), debido a los efectos beneficiosos que los mismos demostraron sobre diferentes componentes del SM. Actualmente, el ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA 18:3 n-3), precursor de EPA y DHA, también está siendo objeto de estudio por su potencial rol en la reducción del riesgo de ECV (Mozaffarian y col., 2005). Una de las fuentes botánicas más ricas en ALA es la semilla de chia (*Salvia hispanica* L). Además, es una fuente importante de proteínas de alta calidad, fibras, vitaminas, minerales, antioxidantes polifenólicos y es libre de gluten. Estudios previos de nuestro grupo demostraron en ratas alimentadas crónicamente (6 meses) con dieta rica en sacarosa -DRS (modelo experimental que mimetiza el fenotipo del SM humano) que el reemplazo isocalórico del aceite de maíz, rico en ácido linoleico 18:2 n-6, por semilla de chia rica en ALA como fuente de grasa durante los 3 últimos meses de ingesta, normaliza la dislipidemia, moderada hiperglucemia, RI y el acúmulo ectópico de lípidos. (Chicco y col., 2009).

Título del proyecto: Efecto de la semilla de *Salvia hispanica* L. (chia) dietaria sobre mecanismos subyacentes involucrados en la desregulación del tejido adiposo y resistencia insulínica del músculo esquelético en un modelo de resistencia insulínica y dislipidemia  
Instrumento: Beca de iniciación a la investigación para estudiantes de carreras de grado de la UNL (Cientibeca), en el marco del Proyecto CAI+D 2016 Tipo III #50420150100011LI  
Año convocatoria: 2017  
Organismo financiador: UNL  
Director/a: D'Alessandro, María Eugenia

El músculo esquelético (ME) es un tejido blanco clave a la acción de la insulina y cuantitativamente el sitio más importante para la utilización periférica de la glucosa del organismo. Un incremento intramiocelular de lípidos en este tejido, está estrechamente relacionado con la RI (Holloway y col., 2008). En este sentido jugarían un rol importante varios factores involucrados en el control de la utilización de los lípidos tales como el transporte hacia el interior de la mitocondria -paso más regulado en la vía de utilización de ácidos grasos (AG), catalizado por la enzima carnitina palmitoiltransferasa I (CPT-I). Sin embargo, se desconocen los efectos de la semilla de chia sobre estos aspectos en el modelo experimental mencionado.

## OBJETIVO

Estudiar posibles mecanismos involucrados en el efecto beneficioso de la semilla de *Salvia hispanica* L. (chia) dietaria, rica en ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 n-3), sobre la lipotoxicidad e insensibilidad insulínica del músculo esquelético presentes en un modelo experimental que mimetiza el fenotipo del Síndrome Metabólico humano.

## METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con peso inicial aproximado de 180-200g. Los animales fueron agrupados al azar en 2 grupos: el grupo control recibió durante un período de 6 meses una dieta control (DC) conteniendo almidón como fuente de hidratos de carbono y aceite de maíz (AM) como fuente de grasa. El grupo experimental consumió una dieta rica en sacarosa (DRS) durante 3 meses conteniendo los mismos componentes que la DC a excepción de la fuente de hidratos de carbono: sacarosa reemplazó isocalóricamente al almidón. Finalizados los 3 meses, el grupo experimental fue subdividido en dos grupos: uno de ellos continuó con la DRS por 3 meses adicionales y el otro recibió DRS conteniendo semilla de chía (*Salvia hispánica* L) (DRS+chia) como fuente de grasa por el mismo período de tiempo. Durante el período experimental se realizó el seguimiento de los animales registrando peso corporal e ingesta energética. Finalizado el mismo los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (60mg/kg peso). Posteriormente fueron tomadas muestras de sangre y los sueros fueron almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  y se extrajo el ME gastrocnemio, el que fue congelado y almacenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Los tejidos adiposos epididimal, mesentérico y retroperitoneal fueron extraídos y pesados para el cálculo del Índice de adiposidad visceral (IAV) (Oliva y col., 2013). Se determinó: **a. En suero:** niveles de glucosa y triglicéridos (TG) utilizando kits comerciales (Wiener SA, Argentina), niveles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) (kit comercial Randox, Reino Unido) y niveles de insulina según metodología descrita en trabajos previos del grupo (Oliva et al., 2013) **b. En ME** se determinó contenido de TG y niveles de acil coA de cadena larga (LCACoA) (D'Alessandro y col., 2006) y se evaluó la actividad enzimática carnitina palmitoil transferasa-1 muscular (M-CPT-1, clave en el transporte de AG a la mitocondria para su oxidación) por diferencia entre la actividad CPT total y M-CPT2 (Creus y col., 2016). **c. Medida de la sensibilidad insulínica:** Clamp euglucémica-hiperinsulinémica (Chicco y col., 2009). La significancia estadística entre los grupos DC, DRS y DRS+chia (3-6 meses) se determinó por prueba one-way ANOVA con un factor (dieta) con post test de Tukey. Para comparar los grupos DC y DRS durante los 3 primeros meses de ingesta se utilizó la prueba *t* de Student. Valores de  $P < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## RESULTADOS/CONCLUSIONES

**Peso corporal, ingesta energética, IAV y niveles de metabolitos séricos e insulina**

Corroborando estudios previos del grupo (Oliva y col., 2013) encontramos un significativo incremento en el peso corporal final y ganancia de peso en el lote de animales que consumieron DRS entre los meses 3-6 de ingesta comparado con los controles de igual edad. Éste incremento se vio acompañado por una mayor ingesta energética en este grupo de animales durante el período mencionado. No se observaron diferencias significativas en relación al peso corporal final, ganancia de peso e ingesta energética entre los lotes DRS y DRS+chia. Sin embargo, la administración de semilla de chia, logró reducir el incrementado IAV presente en los animales alimentados con DRS. Estos resultados se acompañaron de una normalización de la dislipemia (niveles de TG y AGNE) y moderada hiperglucemia. No se observaron cambios en la insulinemia entre los 3 grupos en estudio (Tabla 1).

#### Peso corporal

	DC	DRS	DRS+Chia
Peso inicial (g)	194,7 ± 3,0 (6)	193,8 ± 2,3 (12)	
Peso 3 meses(g)	415,4 ± 4,9 (6)	425,9 ± 3,3 (12)	
Peso 6 meses(g)	485,8 ± 8,5 <sup>b</sup> (6)	535,7 ± 5,6 <sup>a</sup> (6)	530,3 ± 6,5 <sup>a</sup> (6)

#### Ganancia de peso

Inicial-3meses(g)	235,0 ± 9,2 (6)	243,7 ± 5,0 (12)	
3 meses- 6 meses(g)	70,5 ± 1,6 <sup>b</sup> (6)	91,1 ± 2,6 <sup>a</sup> (6)	93,1 ± 1,1 <sup>a</sup> (6)

#### Ingesta energética (kJ/día \*rata)

Inicial-3meses	319,9±4,8(6)	314,5±7,8(12)	
3 - 6 meses	315,3±4,3 <sup>b</sup> (6)	379,6±6,1 <sup>a</sup> (6)	370,9±2,0 <sup>a</sup> (6)
IAV	3,63 ± 0,24 <sup>b</sup> (6)	5,66 ± 0,48 <sup>a</sup> (6)	4,55 ± 0,27 <sup>b</sup> (6)

#### Metabolitos séricos

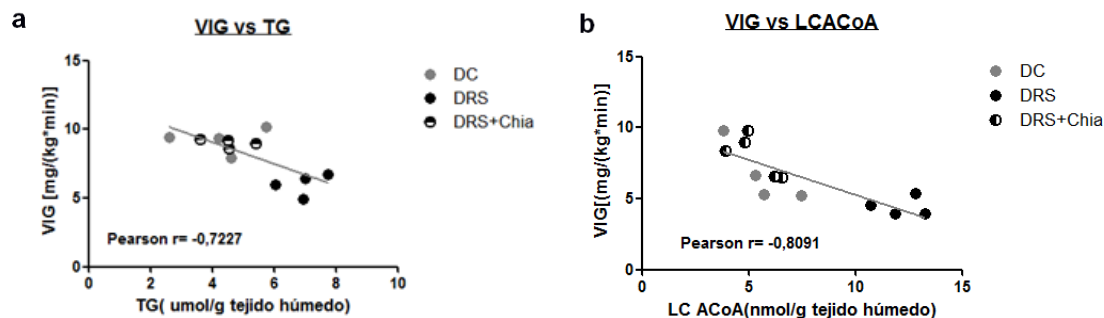
Glucosa (mM)	6,64 ± 0,12 <sup>b</sup> (6)	7,37 ± 0,10 <sup>a</sup> (6)	6,70 ± 0,13 <sup>b</sup> (6)
Insulina (µU/mL)	53,9 ± 4,9(6)	58,7 ± 4,2(6)	61,0 ± 6,3(6)
Triglicéridos (mM)	0,97 ± 0,04 <sup>b</sup> (6)	1,39 ± 0,06 <sup>a</sup> (6)	0,86 ± 0,08 <sup>b</sup> (6)
AGNE (µM)	361,3 ± 32,8 <sup>b</sup> (6)	575,2 ± 54,0 <sup>a</sup> (6)	358,1 ± 48,5 <sup>b</sup> (6)

**Tabla 1:** Peso corporal, ganancia de peso, ingesta energética, IAV, metabolitos séricos y niveles de insulina en ratas alimentadas con DC, DRS o DRS+chia

Los valores fueron expresados como media ± SEM, ( ) número de animales. Los valores en una línea que no presentan la misma letra superíndice son significativamente diferentes (P<0,05)

### Niveles de lípidos en músculo esquelético gastrocnemio y sensibilidad insulínica periférica global

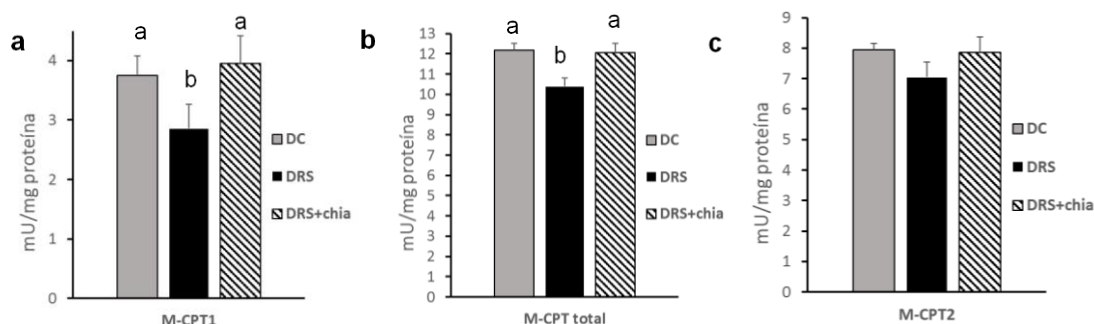
La Figura 1 (a y b) muestra la existencia de una correlación negativa entre la sensibilidad insulínica y el depósito intramuscular de lípidos (TG y LCACoA) al evaluar los lotes DC y DRS. Cuando la fuente de grasa AM en la DRS fue reemplazada por semilla chia a los 3 meses de ingesta hasta completar el período experimental, el acúmulo de lípidos y la sensibilidad insulínica periférica global alcanzaron valores similares a los observados en el lote DC.



**Figura 1:** Correlación entre velocidad de infusión de glucosa (VIG) (clamp euglucémica-hiperinsulinémico) y niveles de TG(1a) y LCACoA (1b) en músculo esquelético de ratas alimentadas con DC, DRS o DRS+chia

## Actividad enzimática M-CPT

En la Figura 2a se puede observar una disminución de la actividad de la enzima clave de la oxidación de ácidos grasos M-CPT-1 ( $P < 0,05$ ) en el lote de animales DRS vs DC. Un patrón similar se observó al evaluar la actividad M-CPT total (Figura 2b). La administración de semilla de chíá logró normalizar estos parámetros alterados en el lote DRS. La actividad MCPT-2 fue similar en todos los lotes. (Figura 2c).



**Figura 2:** Actividad enzimática M-CPT1(a), M-CPT total(b) y M-CPT2 (c) en ratas alimentadas con DC, DRS o DRS+chia. Los valores se expresan como media ( $n=6$ ), con sus errores estándar representados por barras verticales. Las diferentes letras muestran valores significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

## Conclusión

Si bien la extrapolación de los resultados obtenidos en modelos animales hacia el humano debe ser cuidadosa, el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de algunos mecanismos que podrían estar involucrados en el efecto beneficioso de la administración de semilla de chíá sobre aspectos del SM, particularmente posibles mecanismos implicados en la reducción de la lipotoxicidad y mejora de la sensibilidad insulínica del ME en este modelo experimental que mimetiza el fenotipo del SM humano inducido por administración crónica de DRS.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Chicco, A. G., D'Alessandro, M. E., Hein, G. J., Oliva, M. E., & Lombardo, Y. B.** (2009). Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in  $\alpha$ -linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *British Journal of Nutrition*, 101(1), 41–50.
- Creus, A., Ferreira, M., Oliva, M., & Lombardo, Y.** (2016). Mechanisms involved in the improvement of lipotoxicity and impaired lipid metabolism by dietary  $\alpha$ -linolenic acid rich *Salvia hispanica* L (Salba) seed in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. *Journal of Clinical Medicine*, 5(2), 18.
- D'Alessandro, M. E., Chicco, A. G., & Lombardo, Y. B.** (2006). A long-term sucrose-rich diet increases diacylglycerol content and membrane nPKC $\theta$  expression and alters glucose metabolism in skeletal muscle of rats. *Nutrition Research*, 26(6), 289–296.
- Holloway, G. P., Luiken, J. J. F. P., Glatz, J. F. C., Spriet, L. L., & Bonen, A.** (2008). Contribution of FAT/CD36 to the regulation of skeletal muscle fatty acid oxidation: An overview. *Acta Physiologica*, 194(4), 293–309.
- Mozaffarian, D., Ascherio, A., Hu, F. B., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Siscovick, D. S., & Rimm, E. B.** (2005). Interplay between different polyunsaturated fatty acids and risk of coronary heart disease in men. *Circulation*, 111(2), 157–164.
- O'Neill, S., & O'Driscoll, L.** (2015). Metabolic syndrome: A closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity Reviews*, 16(1), 1–12.
- Oliva, M. E., Ferreira, M. R., Chicco, A., & Lombardo, Y. B.** (2013). Dietary salba (*salvia hispanica* L) seed rich in  $\alpha$ -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 89(5), 279–289.