

INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LA DIETA SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y LA EXPRESIÓN GÉNICA EN TEJIDOS ADIPOSEO, MUSCULAR Y HEPÁTICO DE CERDOS IBÉRICOS

INFLUENCE OF DIET COMPOSITION ON FATTY ACID PROFILE AND GENE EXPRESSION IN ADIPOSE, MUSCULAR AND HEPATIC TISSUES OF IBERIAN PIGS

Benítez, R., Núñez, Y., Fernández, A., Alves, E., Martín Palomino P., Rodrigáñez J.,
Fernández A.I., Rodríguez C., López-Bote C., Silió L., Óvilo C.

Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040 Madrid.

RESUMEN

La composición de los tejidos animales es determinante en la calidad de los productos y está influida por varios factores como la dieta, el tipo genético, la edad y el sexo. En este trabajo se ha evaluado el efecto de la composición de ácidos grasos (AG) de la dieta de cerdos ibéricos en fase de cebo, sobre la composición de AG de los tejidos y la transcripción de genes codificantes para enzimas clave del metabolismo lipídico (*SCD*, *ME1*, *FASN*, *ACACA*, *LEP*, *CPT*, *HADH*). Se utilizaron 40 machos Torbiscal que recibieron diferentes dietas: saturada (S), monoinsaturada (M) y poliinsaturada (P). La composición de AG de los tejidos adiposo, hepático y muscular mostró grandes diferencias del grupo P respecto a M y S, que mostraron un perfil similar. La dieta afectó también a la expresión génica en hígado y tejido adiposo, sugiriendo una mayor expresión de enzimas lipogénicas en el grupo M y menor en el P. Estos resultados no explican la mayor capacidad del grupo S para la síntesis endógena de AG, que podría deducirse de los análisis de composición tisular.

Palabras clave: Cerdo ibérico, nutrición, expresión génica

INTRODUCCIÓN

La composición de los tejidos, principalmente músculo y grasa, es determinante en la calidad de los productos cárnicos de origen animal, y especialmente en los de cerdo ibérico. Esta composición está influida por distintos aspectos como la dieta, la edad, el sexo o el tipo genético. Entre éstos, la dieta supone una herramienta fácil de manejar para modular la composición tisular y adaptarla a los estándares de calidad; y por ello se ha propuesto el empleo de dietas ricas en AG monoinsaturados en el engorde de cerdos ibéricos para conseguir materia prima de calidad similar a la obtenida en cerdos alimentados en montanera (Ventanas et al., 2008; Pérez-Palacios et al., 2009). Sin embargo, no hay un conocimiento claro de cómo la composición de AG de la dieta repercute en la de los distintos tejidos, ni de su influencia relativa sobre la deposición directa de AG y la síntesis endógena, que puede verse influida por el efecto de componentes específicos de la dieta sobre la transcripción de genes responsables de la síntesis de enzimas del metabolismo lipídico.

En este trabajo se ha evaluado el efecto de la composición de AG de la dieta de cerdos ibéricos en fase de cebo, sobre la composición y sobre la expresión génica de enzimas clave del metabolismo lipídico en tejido adiposo, muscular (esquelético y cardíaco) y hepático.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales, muestras biológicas y datos fenotípicos: Se utilizaron 40 machos Torbiscal. Los animales fueron castrados con dos meses de edad y estuvieron agrupados desde el destete y sometidos a restricción alimentaria con un pienso estándar, hasta alcanzar un peso medio de 60 kg, momento en que se establecieron tres lotes experimentales que recibieron dietas isocalóricas e isoproteicas con composición de AG rica respectivamente en: **S**) saturados (5% de manteca hidrogenada,), **M**) monoinsaturados (5% girasol de alto oleico) y **P**) poliinsaturados (5% girasol normal). Los animales se pesaron quincenalmente y recibieron el tratamiento hasta que alcanzaron alrededor de 155 Kg de peso, momento en que fueron sacrificados. Tras el sacrificio se obtuvieron muestras de distintos tejidos y órganos. La extracción de lípidos a partir de la grasa subcutánea (capas interna y externa), del músculo *I.dorsi* y de hígado, así como el análisis de la composición de AG mediante cromatografía de gases se realizaron según los protocolos descritos por Rey et al. (2006).

Estudio de expresión diferencial: Se extrajo ARN total utilizando el sistema Ribopure (Ambion), a partir de muestras de 50-150 mg de hígado, músculos (cardíaco y *I.dorsi*) y grasa dorsal (capa interna). Los ARN obtenidos se evaluaron mediante cuantificación con Nanodrop y análisis con un equipo Agilent Bioanalyzer, mostrando una calidad muy elevada. Se realizó la cuantificación de la expresión génica de distintas enzimas: *SCD* ($\delta 9$ -desaturasa), *FASN* (Sintasa de ácidos grasos), *ME1* (Enzima málico), *ACACA* (Acetil CoA Carboxilasa), *LEP* (Leptina), *CPT* (Carnitina Palmitoil Transferasa) y *HADH* (L-3 Hidroxiacil CoA dehidrogenasa). La cuantificación se realizó mediante qPCR con SYBR Green (Takara) en un equipo Stratagene Real Time PCR (MxPro 3000). Se utilizaron *GAPDH* y *B2M* como genes control para la normalización de los valores de expresión.

Análisis estadístico: La influencia de la dieta sobre la composición de AG y sobre la expresión génica se analizó, en ambos casos, con un modelo lineal incluyendo la media, dieta y residuo. Los análisis se realizaron utilizando la aplicación GLM del software SAS 9.1 (SAS Institute Inc., USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tres grupos experimentales mostraron pesos similares durante el ensayo y al sacrificio. Los análisis de la composición de AG muestran diferencias significativas para el grupo **P**, respecto a los grupos **S** y **M**, que son similares, tanto en las dos capas de la grasa dorsal como en el hígado y músculo (Tabla 1). La composición de tejidos del grupo **P** refleja la composición del pienso ingerido, con un porcentaje muy superior de AG poliinsaturados (PUFA), principalmente linoleico, y menor de saturados (SFA) y monoinsaturados (MUFA), especialmente oleico, vaccénico y palmitoleico. Sin embargo no se observa un efecto de la dieta ingerida sobre la composición de los grupos **S** y **M**, que alcanzan unos porcentajes muy parecidos de AG a pesar que la dieta del grupo **S** contiene un 22% más de SFA y un 7% menos de MUFA que el grupo **M**. Este resultado sugiere una alta capacidad de los cerdos ibéricos para la síntesis endógena de lípidos monoinsaturados a partir de grasa saturada, que podría verse reflejada en un efecto regulador de la dieta sobre la transcripción de enzimas del metabolismo lipídico.

Tabla 1. Perfil de los principales AG en grasa subcutánea, hígado y músculo de cerdos alimentados con dietas saturada, monoinsaturada y poliinsaturada. Las medias con distinto superíndice son significativamente diferentes (P<0,05).

Tejido	Dieta	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico
Grasa subcutánea interna	Saturada	25,7 ^a ± 0,2	15,0 ^a ± 0,3	44,3 ^a ± 0,2	5,6 ^a ± 0,2
	Monoinsaturada	25,3 ^a ± 0,2	16,2 ^b ± 0,3	43,7 ^a ± 0,2	5,7 ^a ± 0,2
	Polinsaturada	22,8 ^b ± 0,2	13,8 ^c ± 0,3	37,9 ^b ± 0,2	16,8 ^b ± 0,2
Grasa subcutánea externa	Saturada	24,6 ^a ± 0,1	11,8 ^a ± 0,2	46,1 ^a ± 0,2	6,9 ^a ± 0,2
	Monoinsaturada	24,5 ^a ± 0,1	12,4 ^a ± 0,2	45,9 ^a ± 0,2	6,7 ^a ± 0,2
	Polinsaturada	21,8 ^b ± 0,1	10,9 ^b ± 0,2	39,5 ^b ± 0,2	18,2 ^b ± 0,2
Hígado	Saturada	17,3 ± 0,4	28,6 ± 0,4	20,7 ^a ± 0,6	8,5 ^a ± 0,3
	Monoinsaturada	17,1 ± 0,4	28,9 ± 0,4	20,2 ^a ± 0,6	9,0 ^a ± 0,3
	Polinsaturada	16,9 ± 0,4	29,5 ± 0,4	17,2 ^b ± 0,6	13,6 ^b ± 0,3
Músculo <i>l.dorsi</i>	Saturada	23,7 ± 0,6	10,8 ± 0,5	44,8 ± 1,2	5,3 ^a ± 0,9
	Monoinsaturada	24,3 ± 1,3	11,2 ± 0,4	44,8 ± 0,3	4,4 ^a ± 0,9
	Polinsaturada	24,0 ± 1,2	11,7 ± 0,7	41,2 ± 3,2	9,2 ^b ± 2,8

Entre las enzimas que regulan el metabolismo lipídico, la *delta-9 desaturasa*, el *enzima málico*, la *sintasa de ácidos grasos*, la *acetil coA carboxilasa* y la *leptina* son enzimas especialmente relevantes y relacionadas directamente con la biosíntesis de ácidos grasos y la adipogénesis. Entre ellas, SCD cataliza la síntesis de MUFA (palmitoléico y oléico) a partir de SFA (palmítico y esteárico) por lo que tiene una función fundamental en la composición y

calidad de los tejidos del cerdo ibérico. Además el gen *SCD* está regulado por distintos factores, incluyendo componentes de la dieta (Paton y Ntambi, 2009).

Los resultados de la cuantificación de la expresión génica en tejido graso muestran diferencias próximas a la significación estadística para los genes *SCD* y *ME1* en función del tipo de dieta, mostrando la mayor parte de los genes estudiados una tendencia parecida con expresión ligeramente mayor en el grupo **M**, y menor en el **P** (figura 1A). No se encontraron diferencias significativas de expresión para los genes *FASN*, *ACACA* y *LEP*, en contra de las evidencias previas en este sentido (Duran-Montge et al., 2009; Ovílo et al., 2009).

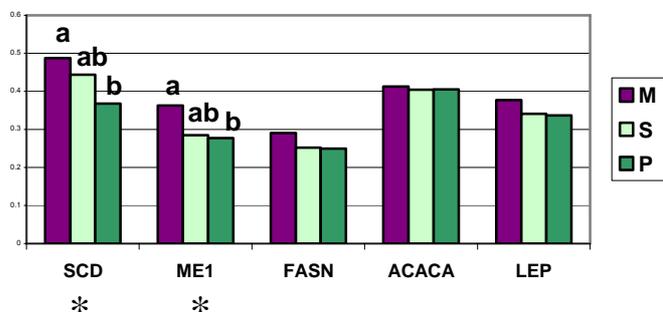
En el hígado, los resultados muestran un efecto muy significativo de la dieta sobre la expresión del gen *SCD*, con la misma tendencia a la observada en tejido adiposo (Figura 1B). La mayor expresión de enzimas lipogénicas en el grupo **M**, especialmente *SCD*, en grasa e hígado, contrasta con lo observado a nivel de composición de los tejidos, que indicaba mayor capacidad de síntesis para el grupo **S**, principalmente referida a la síntesis de AG monoinsaturados. Por tanto, esta mayor capacidad de síntesis podría responder a procesos de regulación postranscripcional de estas u otras enzimas o a regulación de la actividad enzimática.

En tejidos musculares, las enzimas que participan en el transporte de AG al interior de la mitocondria y su β -oxidación, tales como *CPT* y *HADH*, podrían influir en la regulación de los niveles tisulares de ácidos grasos y por tanto su expresión podría estar modulada por la abundancia de dichos AG y en definitiva por la dieta. En el músculo esquelético se cuantificó la expresión de tres enzimas lipogénicas (*SCD*, *ME1* y *FASN*) y las enzimas *CPT* y *HADH* no detectándose diferencias significativas de expresión (figura 1D). En el caso del músculo cardiaco se realizó la cuantificación de los genes *SCD*, *CPT* y *HADH* y tampoco se observaron diferencias significativas de expresión (figura 1C).

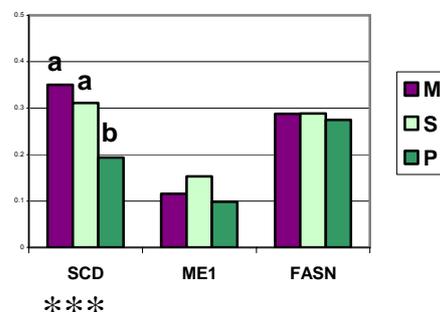
Estudios previos describen una represión de la expresión del gen *SCD* en respuesta al tratamiento con ciertos ácidos grasos, como el linoleico y el oleico, siendo el primero un represor más potente (Zulkifli et al, 2010). Los resultados de nuestro estudio en tejidos graso y hepático concuerdan con este efecto represor, pues el grupo **P** presenta el menor nivel de expresión de *SCD*. Sin embargo, no se observa un similar efecto inhibitor de la expresión de este gen por parte del ácido oleico de la dieta **M**.

Figura 1. Expresión génica en tejido adiposo (A), hepático (B), muscular cardiaco (C) y esquelético (D) de los tres grupos experimentales. * p<0.10, * p<0.005**

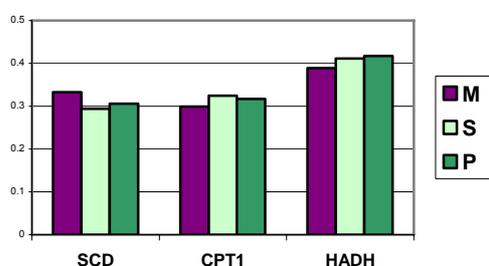
A) Tejido adiposo



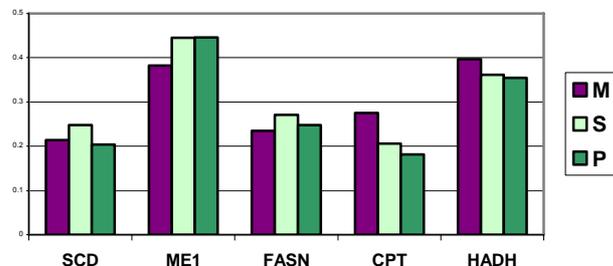
B) Hígado



C) Músculo cardiaco



D) Músculo esquelético (*l.dorsi*)



Agradecimientos: Trabajo financiado por los proyectos RTA2007-00075-00-00 y CAM-S2009/AGR-1704. Agradecemos la colaboración del personal del CIA 'Dehesón del Encinar' (Oropesa, Toledo).

BIBLIOGRAFIA

- Duran-Montge et al. 2009. *Animal* 3(11): 1580-90.
 Ovilo et al. 2009. 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, nº15, p. 246.
 Paton C.M., Ntambi J.M. 2009. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297(1): E28-E37.
 Pérez-Palacios T., Ruiz J., Tejada J.F., Antequera T. 2009. *Meat Science* 81: 632-640
 Rey et al. 2006. *Meat Science* 73: 66-74.
 Ventanas S., Tejada J.F., Estévez M. 2008. *Animal* 2(4): 621-630.
 Zulkifli R.M., Parr T., Salter A.M., Brameld J.M. 2010. *J. Anim. Sci.* 88: 2565-2575.