

ISSN: 1988-2688

<http://www.ucm.es/BUCM/revistasBUC/portal/modulos.php?name=Revistas2&id=RCCV&col=1>

<http://dx.doi.org/10.5209/RCCV.55215>



*Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 2017 11(especial):46-52*

## **LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS REVIERTE EL AUMENTO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN ÓRGANOS DE RATONES OBESOS**

### **SUPPLEMENTATION WITH UNSATURATED FATTY ACIDS REVERT THE INCREASE OF OXIDATIVE STRESS IN ORGANS OF OBESE MICE**

**Jiménez García, Beatriz**

Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid. España.  
bejime02@ucm.es

#### **RESUMEN**

Se ha demostrado que la obesidad está asociada con un mayor estrés oxidativo e inflamatorio, que ha sido analizado en sangre y en el tejido adiposo. No obstante, son pocos los estudios que han investigado el estado redox en otros órganos. El objetivo del trabajo fue evaluar el estado redox en distintos órganos (pulmón, hígado y riñón) de ratones obesos adultos, que fueron alimentados con una dieta rica en grasa durante la adolescencia, así como los cambios en dicho estado redox en ratones que recibieron la misma dieta obesogénica pero suplementada con ácidos grasos insaturados (hidroxiloléico y la combinación de ácido eicosapentaenoico y docosahexaenoico). Los resultados muestran que la suplementación con esos ácidos grasos es capaz de revertir el aumento de estrés oxidativo que tiene lugar en los ratones obesos, manteniendo los parámetros equiparables a los obtenidos en el grupo control que fue alimentado con una dieta estándar.

**Palabras clave:** obesidad, ácido hidroxiloléico, ácidos omega-3, estrés oxidativo.

## ABSTRACT

Several studies have shown that obesity is associated with an increased oxidative and inflammatory stress both in blood samples as well as in adipose tissue. However, there are less studies analyzing the redox state in other organs during obesity. The aim of the study was to analyze the redox state in different organs (lungs, liver and kidney) of adult obese mice, which were fed with a high-fat diet during their adolescence as well as the effect of a dietary supplementation with 2-hydroxyoleic acid or with eicosapentaenoic acid plus docosahexaenoic acid in those mice that received the obesogenic diet. Results show that dietary supplementation with unsaturated fatty acids is able to revert the oxidative stress increase detected in the organs of obese mice, maintaining similar oxidative stress parameters as the ones detected in the control group, which was fed by a standard diet.

**Keywords:** obesity, 2-hydroxyoleic acid, omega-3 acids, oxidative stress.

## INTRODUCCIÓN

Estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que la obesidad está asociada con un mayor estrés oxidativo e inflamatorio (*Lamas et al., 2002; De Heredia et al., 2012*). Entre los mecanismos subyacentes que han sido propuestos están la disminución en las defensas antioxidantes y/o el incremento en los compuestos oxidantes (*Savini et al., 2013*). En base a ese papel del estrés oxidativo en la obesidad, se han investigado los efectos de dietas ricas en ácidos grasos insaturados, los cuales actúan como antioxidantes, en individuos obesos, observándose los beneficios en la salud de las mismas (*Ruzickova et al., 2004; Pérez-Martínez et al., 2011*). De hecho, estudios de nuestro grupo de investigación sugieren que la suplementación con ácido hidroxiloléico (2-OHOA) o con una combinación de ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en ratones obesos, disminuye el estrés oxidativo y mejora la funcionalidad de leucocitos peritoneales, lo que se traduce en una mayor esperanza de vida de los mismos (datos en vías de publicación). Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de dicha suplementación con ácidos grasos insaturados en parámetros indicativos de estrés oxidativo (un antioxidante, un oxidante) y de daño a lípidos, en distintos órganos en ratones adultos que presentan obesidad por ser alimentados con una dieta rica en grasa (60%) durante la adolescencia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado ratones hembras ICR-CD1, siguiendo el siguiente diseño experimental:

Ratones	Grupo experimental	Dieta	Tiempo de ingesta	+ Suplementación (6 últimas semanas)
Cepa ♀ICR/CD1 14 semanas de edad	Control (n=7)	Estándar	14 semanas	
	Obesos (n=7)	HFD	14 semanas	
	Tratados con 2-OHOA (n=7)	HFD	14 semanas	2-OHOA (1.500 mg/kg HFD)
	Tratados con EPA+DHA (n=7)	HFD	14 semanas	EPA + DHA (3.000 mg/kg HFD)

Tabla 1. Diseño experimental grupos. *High-Fat Diet (HFD): Dieta hipercalórica al 60% de grasa*

A la edad adulta de 28 semanas, fueron sacrificados y se obtuvieron el hígado, pulmones y riñones. Se midieron los siguientes parámetros de estrés oxidativo:

- *Actividad de la enzima antioxidante Catalasa (CAT)*: Su actividad fue determinada por espectrofotometría siguiendo el método descrito por *Aebi (1984)*. Los resultados se expresan en U/mg proteínas.

- *Actividad de la enzima oxidante Xantina oxidasa (XO)*: Su actividad fue determinada por fluorescencia utilizando el kit comercial “Amplex Red Xanthine/Xanthine Oxidase Assay Kit” (Molecular Probes, Paisley, UK). Los resultados se expresaron en mU/mg proteína.

- *Niveles de Peroxidación lipídica (Malondialdehído: MDA)*: La estimación de los niveles de MDA se evaluó con el kit comercial de MDA (Biovision, Mountain View, CA, USA). Los resultados se expresaron en nmol/mg proteína.

Para la determinación de proteína se utilizó el kit comercial del ácido bicinónico (BCA, Sigma-Aldrich).

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el software SPSS 21.0. Los resultados se expresaron como media aritmética  $\pm$  desviación estándar (DE). Se analizó la normalidad (test Kolmogorov-Smirnov), la homogeneidad de varianzas (test Levene) y la comparación de medias entre los distintos grupos mediante la “t” de Student para muestras independientes. El nivel de significación se estableció para un  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

La actividad catalasa (Fig. 1), la cual es una enzima antioxidante que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, se encontró disminuida en el grupo de ratones obesos respecto al grupo control. Por otro lado, los grupos suplementados con 2-OHOA y con EPA + DHA presentaron una mayor actividad de CAT que los ratones obesos, siendo los valores de la misma similar, en todos los órganos analizados, a los del grupo control.

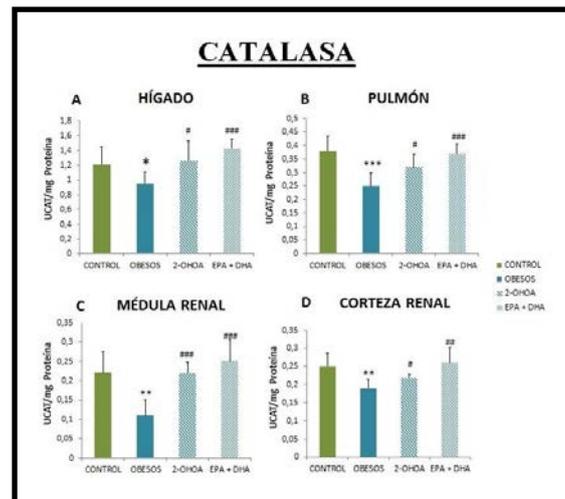


Figura 1. Actividad de catalasa (U CAT/mg proteína) en hígado (A), pulmón (B), médula renal (C) y corteza renal (D). Las barras muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos en cada grupo experimental (n = 7). \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 respecto al grupo control. #p < 0,05; ##p < 0,01 y ###p < 0,001 respecto al grupo de obesos.

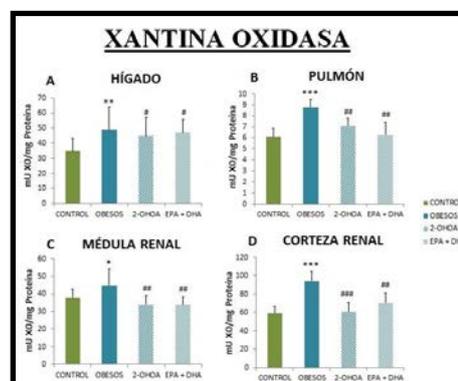


Figura 2. Actividad de xantina oxidasa (mU XO/mg proteína) en hígado (A), pulmón (B), médula renal (C) y corteza renal (D). Las barras muestran la media y desviación estándar de

los valores obtenidos en cada grupo experimental ( $n = 7$ ).  $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$  y  $***p < 0,001$  respecto al grupo control;  $\#p < 0,05$ ;  $\#\#p < 0,01$  y  $\#\#\#p < 0,001$  respecto al grupo de obesos.

La actividad xantina oxidasa (XO) (Fig.2), la cual está asociada a la producción de radicales libres, apareció aumentada en los ratones obesos respecto al grupo control, en todos los órganos analizados. En cambio, los grupos suplementado con 2-OHOA y con EPA + DHA mostraron una menor actividad de la misma que los ratones obesos y muy similares a la que muestra el grupo control, salvo en el hígado.

Los niveles de MDA (Fig. 3), los cuales son un buen marcador de peroxidación lipídica o daño oxidativo a lípidos, se encontraron aumentados en el grupo de ratones obesos respecto al grupo control, en todos los órganos analizados a excepción del hígado. Por otro lado, los grupos suplementados con 2-OHOA y con EPA + DHA presentaron menores niveles que los ratones obesos, a excepción del hígado.

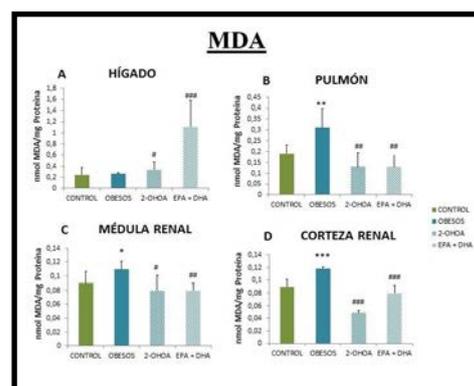


Figura 3. Niveles de MDA (nmol MDA/mg proteína) en hígado (A), pulmón (B), médula renal (C) y corteza renal (D). Las barras muestran la media y desviación estándar de los valores obtenidos en cada grupo experimental ( $n = 7$ ).  $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$  y  $***p < 0,001$  respecto al grupo control.  $\#p < 0,05$ ;  $\#\#p < 0,01$  y  $\#\#\#p < 0,001$  respecto al grupo obesos.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que aquellos ratones que han sido alimentados con una dieta rica en grasa (60%) durante la adolescencia tienen mayores niveles de estrés oxidativo en hígado, pulmón, corteza y médula renal en la edad adulta, que los controles alimentados con dieta estándar de mantenimiento. Así, presentaron una menor actividad CAT, mayor actividad XO y mayores niveles de peroxidación lipídica (MDA). Este aumento de estrés

oxidativo en estos órganos podría explicarse debido a la lipotoxicidad que tiene lugar cuando los adipocitos alcanzan su límite de máximo almacenamiento. La grasa comienza a almacenarse de forma inapropiada en los órganos y se ha demostrado que la acumulación de triglicéridos a nivel intracelular reduce la velocidad de la cadena de transporte electrónico causando desacoplamiento y liberación de radicales libres (*Savini et al., 2013*).

En cambio, aquellos ratones que han ingerido la misma dieta obesogénica pero suplementada con ácidos grasos insaturados, tanto con un sintético de ácido oleico (2-OHOA) como con derivados de omega-3 (EPA y DHA), tienen una actividad antioxidante mayor, una actividad pro-oxidante menor así como niveles más bajos de peroxidación lipídica en los mismos órganos, respecto a los ratones obesos. De hecho, la actividad CAT, XO así como los niveles de MDA son similares a los del grupo control en todos los órganos tras la suplementación. El hecho de que en el hígado se observe un comportamiento diferente tras la suplementación, en la actividad XO y en los niveles de MDA podría deberse a su papel en el metabolismo de lípidos y en la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos.

## **CONCLUSIÓN**

La ingestión de una dieta obesogénica durante la adolescencia se traduce, en la edad adulta, en un aumento del estrés oxidativo en órganos como el hígado, pulmón y riñón. La suplementación con ácidos grasos insaturados es capaz de revertir ese aumento, manteniendo los valores de los parámetros de estrés oxidativo más similares a los obtenidos en el grupo control alimentado con una dieta estándar.

## **AGRADECIMIENTOS**

Financiación: MINECO (BFU2011-30336); FIS (PI15/01787-FEDER). Se agradece la ayuda técnica de Caroline Hunsche.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*; 105:121-6.

- De Heredia, FP *et al.* 2012. Obesity, inflammation and the immune system. *Proc Nutr Soc.*;71(2):332-8.
- Lamas, O *et al.* 2002. Obesity and immunocompetence. *Eur J Clin Nutr.*;56(3):42-5.
- Pérez-Martínez, P *et al.* 2001. Mediterranean diet rich in olive oil and obesity, metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Curr Pharm Des*;17:769-77.
- Ruzickova, J *et al.* 2004. Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. *Lipids*;39:1177-85.
- Savini, I *et al.* 2013. Obesity-Associated Oxidative Stress: Strategies Finalized to Improve Redox State. *Int. J. Mol. Sci.*;14(5):10497-10538.