

INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DE LA DIETA SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y LA EXPRESIÓN DE ENZIMAS LIPOGÉNICAS EN TEJIDOS DE CERDOS IBÉRICOS

Benítez, R¹., Núñez, Y., Fernández, A., 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. E-mail: ovilo@inia.es

INTRODUCCIÓN

La composición de los tejidos animales, principalmente el músculo y la grasa, es determinante en la calidad de los productos, y especialmente en la calidad de los productos del 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 ácidos grasos monoinsaturados en el engorde de cerdos ibéricos para conseguir tejidos animales con 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 ácidos grasos de la dieta repercute en la de los distintos tejidos, ni de su influencia relativa sobre la deposición directa de ácidos grasos y sobre 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.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de la composición de ácidos grasos de la dieta de cerdos ibéricos en fase de cebo, sobre la composición y sobre la expresión génica de tres enzimas clave del metabolismo lipídico en tejido adiposo y hepático.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales, muestras biológicas y datos fenotípicos: Se utilizaron 40 machos Torbiscal nacidos en el CIA 'Dehesón del Encinar'. Los animales fueron castrados con dos meses de edad y estuvieron agrupados desde el destete con alimentación restringida hasta alcanzar un peso medio de 60 kg, momento en que se establecieron tres lotes experimentales que recibieron diferentes dietas: dieta rica en ácidos grasos saturados (aportados por la adición de un 5% de manteca hidrogenada, grupo **S**), monoinsaturados (aportados por 5% girasol de alto oleico, grupo **M**) o poliinsaturados (aportados por 5% girasol normal, grupo **P**). Las dietas fueron isocalóricas e isoproteicas. Los animales se pesaron quincenalmente y recibieron el tratamiento hasta que alcanzaron los 155 Kg de peso, momento en que fueron sacrificados. En los minutos siguientes al sacrificio se obtuvieron muestras de distintos tejidos que fueron recogidas en N₂ líquido y conservadas a -80°C. La extracción de lípidos a partir de la grasa subcutánea (capas interna y externa) y de hígado, así como el análisis de la composición de ácidos grasos 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 50-100 mg de hígado y de 100-150 mg de grasa dorsal (capa interna) de los 40 animales del ensayo. Los ARN obtenidos se evaluaron mediante cuantificación con Nanodrop, electroforesis en gel de agarosa y análisis con un equipo Agilent Bioanalyzer, mostrando una calidad muy elevada. Se realizó la cuantificación de la expresión génica de tres enzimas clave: *SCD* (*δ9-desaturasa*), *FASN* (*Sintasa de ácidos grasos*) y *ME1* (*Enzima málico*). Se diseñaron parejas de primers específicas para cada transcrito usando el software QuickPri, a partir de las secuencias disponibles de ARNm porcino. La cuantificación se realizó mediante qPCR con SYBR Green (Takara) en un equipo Stratagene Real Time PCR (MxPro 3000). Todas las reacciones se realizaron por triplicado. Se utilizaron los genes *GADPH* y *B2M* como endógenos para la normalización de los valores de expresión, utilizando el software Genorm.

Análisis estadístico: La influencia de la dieta sobre la composición de ácidos grasos se analizó con un modelo lineal incluyendo la media, dieta y efectos residuales. Asimismo, se

evaluó el efecto de la dieta sobre la expresión génica con un modelo similar. Los análisis se realizaron utilizando la aplicación GLM del software SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tres grupos experimentales mostraron pesos similares durante el ensayo y al sacrificio. La composición de ácidos grasos de la dieta tuvo un efecto muy significativo sobre la composición de los tejidos ($p < 0,0002$). Los análisis de la composición de AG muestran diferencias significativas para el grupo **P** (poliinsaturados), respecto a los grupos **S** (saturados) y **M** (monoinsaturados), que son similares, tanto en las dos capas de la grasa dorsal como en el hígado (Tabla 1). La composición de tejidos de los animales del grupo **P** refleja la composición de la grasa del pienso ingerido, con un porcentaje muy superior de AG poliinsaturados, principalmente linoleico, y menor de saturados y monoinsaturados, en relación a los de los otros dos grupos. 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 de recibir el grupo **S** un 22% más de AG saturados y un 7% menos de monoinsaturados 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. Composición media de los principales ácidos grasos en muestras de grasa subcutánea (capas interna y externa) e hígado obtenidas al sacrificio en cerdos alimentados con dietas con grasa saturada, monoinsaturada y poliinsaturada. Las medias con distinto superíndice son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Tejido	Dieta	C16:0	C18:0	C18:1, n-9	C18:2
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

Entre las enzimas que regulan el metabolismo lipídico, la *delta-9 desaturasa* (SCD), el *enzima málico* (ME1) y la *sintasa de ácidos grasos* (FASN) son tres enzimas especialmente relevantes y relacionadas directamente con la biosíntesis de ácidos grasos. Entre ellas, SCD cataliza la síntesis de AG monoinsaturados (palmitoléico y oléico) a partir de AG saturados (palmítico y esteárico) por lo que tiene una función fundamental en la composición y calidad de los tejidos del cerdo ibérico. Además el gen que codifica este enzima está regulado por distintos factores, incluyendo componentes de la dieta (Paton y Ntambi, 2009).

Los resultados de la cuantificación de la expresión génica obtenidos en tejido graso muestran diferencias próximas a la significación estadística para los genes *SCD* y *ME1* en función del tipo de dieta, mostrando los tres genes estudiados una tendencia parecida con expresión ligeramente mayor en el grupo **M**, intermedia para el grupo **S** y menor en el **P**.

En el hígado, los resultados muestran un efecto muy significativo de la dieta sobre la expresión del gen *SCD*, con tendencia parecida a la observada en tejido adiposo (Figura 1). La mayor expresión de enzimas lipogénicas en el grupo **M**, especialmente *SCD*, en ambos tejidos, 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. Esta mayor capacidad de síntesis podría responder a procesos de regulación postranscripcional de estas u otras enzimas o a regulación a nivel de la actividad enzimática.

Por otra parte, 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 concuerdan con el efecto represor del ácido linoleico sobre la expresión de *SCD*, pues el grupo **P** presenta el menor nivel de expresión. Sin embargo, no se observa un similar efecto inhibitor de la expresión de este gen por parte del ácido oleico de la dieta **M**.

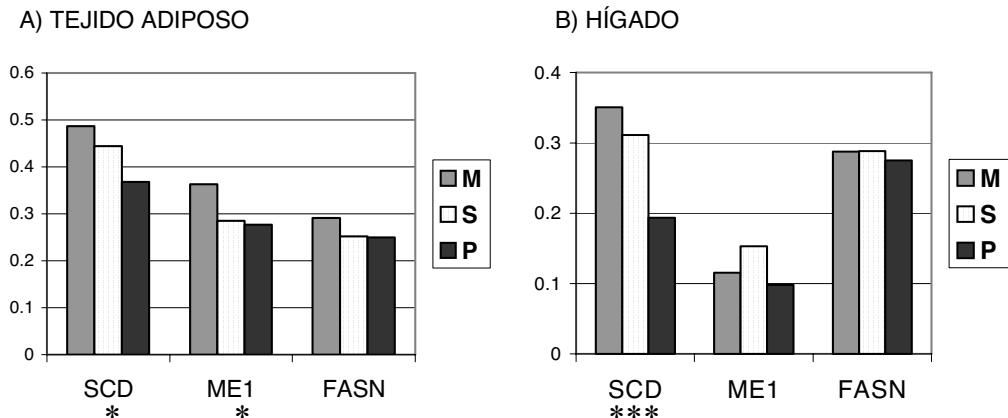


Figura 1. Expresión media de los genes *SCD*, *ME1* y *FASN* en tejido adiposo (A) y hepático (B) de los tres grupos experimentales. * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.005$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.

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).

INFLUENCE OF DIET COMPOSITION ON FATTY ACID COMPOSITION AND LIPOGENIC ENZYMES GENETIC EXPRESSION OF IBERIAN PIG TISSUES

ABSTRACT: Animal tissue composition is determinant in the quality of animal products and is influenced by several factors including diet, genetic type, age and sex. Diet effect on Iberian pig's tissue composition is a relevant issue with productive and economic implications, not well understood to date. In this work we evaluated the effect of the diet fatty acid composition of fattening Iberian pigs, with respect to different tissues FA composition and transcription of three key genes coding for lipid metabolism enzymes (*SCD*, *ME1* and *FASN*). Forty Torbiscal male pigs were subjected to three different diets: saturated fat (S), monounsaturated fat (M) and polyunsaturated fat (P) during the fattening period. Adipose tissue and liver fatty acid composition show great differences for P animals respect to S and M groups, which show a similar fatty acid profile. Regarding the diet effect on gene expression several effects are detected in the different tissues, suggesting a higher expression of lipogenic enzyme genes on the M group, and lower in the P group. These gene expression results do not explain the higher ability of S group for the endogenous synthesis of monounsaturated FA, which can be deduced from the tissue composition analyses.

Keywords: Iberian pig, nutrition, gene expression