

EFFECTOS DE LOS PRINCIPALES HONGOS CULTIVADOS EN LA RIOJA EN ADIPOCITOS HUMANOS EN CULTIVO

MARÍA JESÚS VILLANUEVA-MILLÁN¹

JAVIER AGUILERA-LIZARRAGA²

MARGARITA PÉREZ-CLAVIJO³

JOSÉ A. OTEO⁴

PATRICIA PÉREZ-MATUTE^{5*}

RESUMEN

La obesidad es un grave problema de salud pública caracterizada por un aumento y mal funcionamiento del tejido adiposo. Por ello, el tejido adiposo constituye una diana interesante para establecer estrategias para prevenir o tratar la obesidad y sus co-morbilidades asociadas. En este sentido, uno de los grandes campos de investigación en la actualidad es el estudio de las propiedades de ciertos alimentos o nutrientes para combatir la obesidad y sus alteraciones metabólicas asociadas. Los hongos, y especialmente tres hongos cultivados en La Rioja (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*) parecen tener propiedades beneficiosas sobre la salud. No obstante, se desconocen sus efectos directos sobre el tejido adiposo. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de estos hongos sobre el metabolismo glucídico y lipídico de adipocitos humanos en cultivo. También se analizaron sus efectos sobre la producción de dos adipocinas producidas por los adipocitos con efectos sobre el control del peso corporal y la sensibilidad a la insulina.

Registrado el 18 de julio de 2016. Aprobado el 2 de diciembre de 2016

* Corresponding Author: Dr. Patricia Pérez-Matute E-Mail: cpperez@riojasalud.es

1. Unidad de VIH y Alteraciones Metabólicas Asociadas, Enfermedades Infecciosas. CIBIR. Logroño.
2. Translational Research Center for Gastrointestinal Disorders, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Leuven, 3000 Lovaina, Bélgica.
3. Centro Tecnológico del Champiñón de La Rioja (CTICH). Autol.
4. Departamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital San Pedro-CIBIR. Logroño.
5. Unidad de VIH y Alteraciones Metabólicas Asociadas, Enfermedades Infecciosas. CIBIR. Logroño.

Nuestros resultados demuestran que los tres hongos presentan efectos directos y diferenciales entre sí sobre los adipocitos, siendo más potentes los efectos observados tras el tratamiento con *P. ostreatus* y *L. edodes*. También es importante resaltar que los resultados variaron dependiendo del origen de los adipocitos cultivados.

Palabras clave: *adipocito, obesidad, setas, metabolismo glucídico y lipídico.*

Obesity is a serious public health problem characterized by an increased size of adipose tissue along with an important dysfunction of this fat depot. Thus, adipose tissue arises as an interesting target to prevent or treat obesity and its associated co-morbidities. There is growing interest in investigating the beneficial properties of certain foods or nutrients/ingredients to prevent and/or treat obesity and associated disorders. In this context, mushrooms and specially three mushrooms grown in La Rioja (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*) seem to exert beneficial actions in obesity and related disorders. However, the direct effects of these mushrooms on adipose tissue metabolism are still unknown. The aim of the present study was to analyze the direct effects of these mushrooms on glucose and lipid metabolism in human cultured adipocytes. Their actions on leptin and adiponectin, two adipokines with a key role in the control of body weight gain and insulin sensitivity, were also analyzed. Our results demonstrate that the three mushrooms have direct and differential effects on adipocytes, being the most powerful actions those observed after treatment with *P. ostreatus* and *L. edodes*. It is also worth mentioning that the results vary depending on the origin of the adipocytes.

Keywords: *adipocyte, obesity, mushrooms, glucose and lipid metabolism*

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es un grave problema de salud pública caracterizado por una acumulación excesiva de grasa lo cual está asociado a un incremento del riesgo de desarrollar diabetes, enfermedades cardiovasculares, y otras enfermedades altamente prevalentes (Fuster *et al.*, 2016). Se calcula que más de medio billón de personas en el mundo padece obesidad y lo que es más alarmante, cada año mueren, como mínimo, 2,8 millones de personas a causa de estas patologías.

El tejido adiposo blanco es el principal depósito energético del organismo y está constituido por diferentes tipos celulares entre los que se encuentran los adipocitos, preadipocitos y los macrófagos. Existen fundamentalmente dos tipos de tejido adiposo blanco en función de su localización: el tejido adiposo

subcutáneo (TAS) y el visceral (TAV). El TAS está mayoritariamente compuesto por adipocitos y se localiza debajo de la piel comportándose principalmente como aislante térmico y depósito energético (Klausen *et al.*, 1997). En cambio, el TAV se distribuye alrededor de los órganos y tiene una gran actividad metabólica. De hecho, está relacionado con un perfil de riesgo metabólico adverso (Shimamoto *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2014).

El tejido adiposo blanco es, además, un importante órgano endocrino ya que produce moléculas bioactivas, conocidas como adipoquinas, que participan en la regulación del metabolismo energético (Coles, 2016). Dos de las más importantes son la leptina y la adiponectina. La leptina es producida principalmente por los adipocitos blancos, aunque también por la placenta, el cordón umbilical (Cervero *et al.*, 2006), el estómago (Simón y Del Barrio, 2002), el músculo esquelético (Wang *et al.*, 1998), las células epiteliales mamarias (Smith-Kirwin *et al.*, 1998) y el hígado (Chen *et al.*, 1999). Está directamente relacionada con el control del peso corporal por sus efectos inhibitorios sobre la ingesta y su estimulación del gasto energético (Mantzoros *et al.*, 2011). Sus niveles de secreción y expresión se encuentran sujetos a regulación nutricional, aumentando con la ingesta y disminuyendo con la pérdida de peso. Normalmente, sus niveles son paralelos al tamaño de los depósitos grasos del organismo y, por tanto, se observan niveles muy elevados en la mayoría de los sujetos obesos, lo que supone una cierta “resistencia” a las acciones de esta hormona en obesidad (Salvador *et al.*, 2001). Otra adipoquina importante es la adiponectina, que es exclusivamente producida por los adipocitos (Pajvani *et al.*, 2004). En situaciones de obesidad e insulino-resistencia los niveles plasmáticos de adiponectina están disminuidos tanto en animales como en humanos obesos (Arita *et al.*, 1999; Yamauchi *et al.*, 2001). Estudios realizados en sujetos con normopeso han demostrado que esta hormona se relaciona negativamente con el índice de masa corporal (IMC), el nivel de glucosa en ayunas, la insulina, la resistencia a la insulina, el colesterol total y el colesterol LDL, los triacilglicéridos y el ácido úrico, y positivamente relacionada con el colesterol HDL (Yamamoto *et al.*, 2002).

Por todo ello, el tejido adiposo constituye una diana interesante para establecer estrategias para prevenir o tratar la obesidad y las co-morbilidades asociadas. En este contexto, numerosos estudios han propuesto el uso de sustancias presentes en determinados alimentos como prometedoras terapias. Entre los diferentes alimentos que han sido estudiados, los hongos parecen despertar un gran interés para los científicos. De hecho, los hongos han sido consumidos por la humanidad durante años ya que además de su buen sabor contienen un bajo contenido calórico y una gran cantidad de nutrientes. Gracias a sus compuestos bioactivos se han relacionado con la prevención de numerosas enfermedades, tales como la hipertensión, la enfermedad de Parkinson y el cáncer (Chang, 1996; Guillamón *et al.*, 2010, Valverde *et al.*, 2015). Entre los hongos que pueden cultivarse en La Rioja destacan el champiñón (*Agaricus bisporus*), la seta ostra (*Pleurotus ostreatus*) y, además, el shiitake (*Lentinula edodes*) que a pesar de ser de origen

asiático también se cultiva en nuestra Comunidad.

El *A. bisporus* es el hongo más cultivado en nuestro país, y especialmente en nuestra comunidad, La Rioja, concentrándose su producción en la zona de La Rioja Baja. De hecho, La Rioja es la primera comunidad productora de *A. bisporus* con el 55% de la producción nacional, lo que supone un 10% de la producción europea. *A. bisporus* contiene cantidades importantes de hidratos de carbono complejos, fibra, cobre, fósforo, vitaminas del grupo B, ergosterol (precursor de la vitamina D) y antioxidantes. No contiene colesterol y no llega al 0,4% de contenido en grasa. Estudios realizados en animales han mostrado potenciales propiedades hipoglucémicas e hipolipidémicas de este hongo (Jeong *et al.*, 2009).

P. ostreatus es un hongo que se cultiva en casi todas las latitudes del mundo. Es un hongo ideal como alimento dietético y para la prevención y el tratamiento de la hipercolesterolemia, ya que tiene un alto contenido de fibra dietética, esterol, proteínas y microelementos (Hossain *et al.*, 2003). Varios estudios han descrito importantes efectos hipoglucémicos del consumo de hongos del género *Pleurotus* (Ravi *et al.*, 2013; Jayasuriya *et al.*, 2015).

Otro hongo con propiedades beneficiosas es *L. edodes*. Es el segundo hongo comestible más popular y el tercero más cultivado en el mundo (Lo *et al.*, 2007). Se ha demostrado que ciertos componentes de *L. edodes* tienen efectos hipolipemiantes (Handayani *et al.*, 2011).

Por todo ello, el objetivo principal de este estudio fue analizar los efectos metabólicos de los principales hongos cultivados en La Rioja sobre el metabolismo de los adipocitos humanos. Más concretamente, se propuso (1) evaluar los efectos de *A. bisporus*, *P. ostreatus* y *L. edodes* sobre el metabolismo de la glucosa, la lipólisis, y la secreción de leptina y adiponectina en adipocitos subcutáneos y omentales extraídos de sujetos con sobrepeso/obesos (2) y también comparar los efectos de los 3 extractos en los adipocitos subcutáneos y omentales.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Recolección de los Hongos y Liofilización

Los hongos se cultivaron en las naves climatizadas del Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón de La Rioja (CTICH). Una vez recogidos los hongos se lavaron con agua y se escurrieron. Posteriormente se eliminó el agua de lavado y se procedió a su laminado. Los hongos en láminas se congelaron a -20 °C y se mantuvieron a esta temperatura hasta su posterior deshidratación por liofilización. Para llevar a cabo la liofilización (separación del agua por sublimación) se introdujeron los hongos en un liofilizador

Christ Alpha 1-2 LDplus (Fisher Scientific, Madrid, España). Después se procedió a la molienda de la muestra y el polvo obtenido se guardó en nevera a 4 °C hasta su utilización posterior.

2.2. Cultivos celulares de adipocitos subcutáneos y omentales humanos

Para este estudio se utilizaron dos tipos de células humanas: preadipocitos subcutáneos procedentes de mujeres no diabéticas con sobrepeso (IMC 25,0-29,57 (kg/m²)) y preadipocitos viscerales (ometales) procedentes de mujeres obesas (IMC 39,1-60,2 (kg/m²)) (*ZenBio, Research Triangle Park, Durham, Carolina del Norte, EEUU*). Los preadipocitos fueron diferenciados a adipocitos maduros mediante un medio específico (cat #DM2 y #OM-DM respectivamente, Zen Bio, Inc). Después de 14 días tras la inducción de la diferenciación, los adipocitos se consideran completamente diferenciados, maduros. Estos adipocitos maduros se incubaron durante 24 horas con diferentes concen-

Tabla 1. Concentraciones no tóxicas utilizadas por extracto basándose en los resultados obtenidos con el WST-1.

Extracto	Rango de concentraciones no tóxicas (mg/mL)
<i>Agaricus bisporus</i>	0,025-0,10
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0,025-0,25
<i>Lentinula edodes</i>	0,025-0,10

traciones de extractos de *A. bisporus*, *P. ostreatus* y *L. edodes*. Las concentraciones óptimas para la realización del estudio se determinaron mediante el test de viabilidad que emplea como reactivo de proliferación celular WST-1 (*Roche, Mannheim, Alemania*) (Tabla 1).

2.3. Bioquímica

Después de 24 horas del tratamiento de los adipocitos maduros con las concentraciones seleccionadas de *A. bisporus*, *P. ostreatus* y *L. edodes*, se recogió el medio de cultivo y se midieron los niveles de glucosa, lactato y glicerol en el medio de cultivo mediante el uso de dos autoanalizadores bioquímicos (Cobas 6000, *Roche* y ABX Pentra 400).

2.4. Determinación de la secreción de leptina y adiponectina

Los niveles de leptina y adiponectina se cuantificaron en el medio de cultivo de los adipocitos mediante ELISAs comerciales (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) (*Millipore*, Missouri, Estados Unidos).

2.5. Análisis estadístico

Para calcular la captación de glucosa por las células, se restó la cantidad de glucosa que contenía el medio inicialmente (3010 μg en el medio de los adipocitos subcutáneos y 3060 μg en el medio de adipocitos omentales) a la cantidad de glucosa cuantificada en el medio tras el tratamiento de 24 horas con los distintos extractos vegetales. La producción de lactato, glicerol y la secreción de leptina y adiponectina se cuantificaron directamente en dicho medio de cultivo.

Los datos se expresaron como media \pm error estándar de la media. Se consideró como significativo $p < 0,05$. La normalidad de los datos se comprobó mediante los test de Kolmogórov-Smirnov y Kruskal-Wallis. El test estadístico elegido para analizar los resultados fue el ANOVA de un factor de medias repetidas, seguido de un test a posteriori (Bonferroni o Dunnet). Para las muestras que no cumplían los requisitos de normalidad se llevaron a cabo los mismos análisis estadísticos pero con la opción de no-paramétrico. Las comparaciones entre dos grupos se realizaron mediante un test de *t-Student* para muestras pareadas o *U-Mann Whitney* en caso de la no normalidad de los datos. La asociación existente entre dos variables se estudió mediante el análisis del coeficiente de correlación *rho* de Spearman. El análisis estadístico se llevó a cabo empleando los programas *GraphPad Prism*, versión 5.0 (*GraphPad Software Inc*, San Diego, California, EEUU) y *SPSS/Windows*, versión 19.0 (*SPSS Inc*, Chicago, Illinois, EEUU).

3. RESULTADOS

3.1. Efectos de *Agaricus bisporus*

3.1.1. Adipocitos subcutáneos

En los adipocitos subcutáneos de mujeres con sobrepeso, el *A. bisporus* no mostró efectos significativos ni en la captación de glucosa ni en la lipólisis, aunque sí se observó un aumento significativo en la producción de lactato,

pero únicamente a la concentración de 0,05 mg/mL ($p=0,0307$). No se observaron cambios significativos en la secreción de la leptina ni en la adiponectina, aunque cabe resaltar una cierta tendencia a aumentar los niveles de producción de ambas hormonas tras el tratamiento con este hongo.

3.1.2. Adipocitos omentales

En adipocitos omentales de pacientes con obesidad, el *A. bisporus* no tuvo efectos significativos ni en la captación de glucosa, ni en la producción de lactato ni en la lipólisis. El tratamiento con extractos de *A. bisporus* tampoco produjo efectos significativos en la secreción de leptina ni adiponectina.

Dada la ausencia de efectos significativos en todos los parámetros analizados, los resultados concernientes a este hongo no se muestran en el presente trabajo con el objeto de no enturbiar los resultados obtenidos con los extractos de las otras setas testadas.

3.2. Efectos de *Pleurotus ostreatus*

3.2.1. Adipocitos subcutáneos

a) Metabolismo glucídico y lipólisis

El tratamiento durante 24 horas de *P. ostreatus* en adipocitos subcutáneos provocó un aumento dosis-dependiente tanto en la captación de glucosa ($p<0,001$) (figura 1A) como en la producción de glicerol ($p<0,001$) (figura 1C). En cambio, el tratamiento con *P. ostreatus* no tuvo efectos significativos en la producción de lactato (figura 1B).

b) Secreción de adipoquinas

La secreción de leptina se vió significativamente disminuida tras el tratamiento durante 24 horas con esta seta. De hecho, los niveles de secreción bajaron hasta niveles indetectables con las concentraciones más altas ensayadas ($p<0,001$) (figura 2).

En contraposición, el tratamiento durante 24 horas indujo un aumento significativo en la secreción de adiponectina ($p<0,05$) (figura 3A) y, este incremento se asoció positivamente con la captación de glucosa ($r=0,0679$, $p<0,01$) (figura 3B).

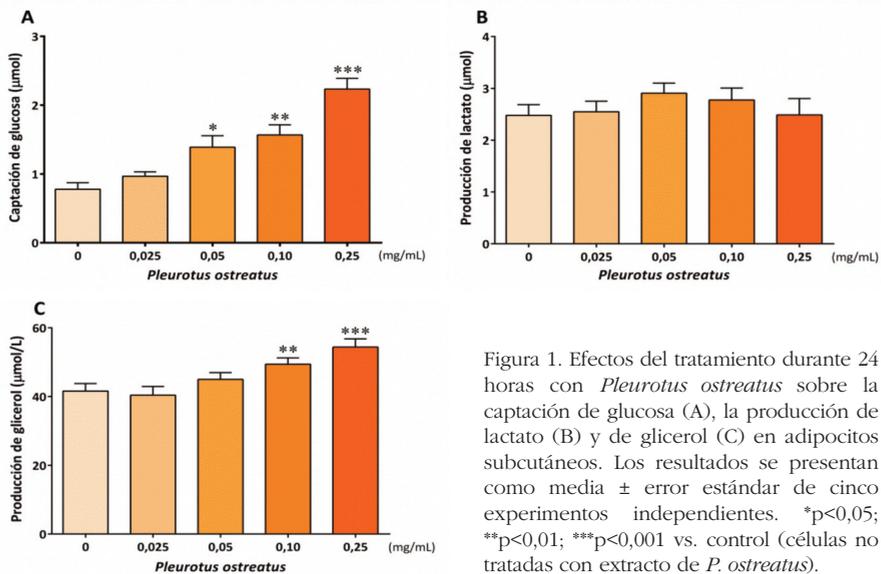


Figura 1. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Pleurotus ostreatus* sobre la captación de glucosa (A), la producción de lactato (B) y de glicerol (C) en adipocitos subcutáneos. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de cinco experimentos independientes. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs. control (células no tratadas con extracto de *P. ostreatus*).

Figura 2. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Pleurotus ostreatus* sobre la secreción de leptina en adipocitos subcutáneos. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de al menos 2 experimentos independientes. *** $p < 0,001$ vs. control (células no tratadas con extracto de *P. ostreatus*).

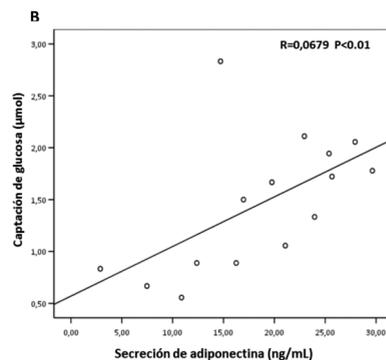
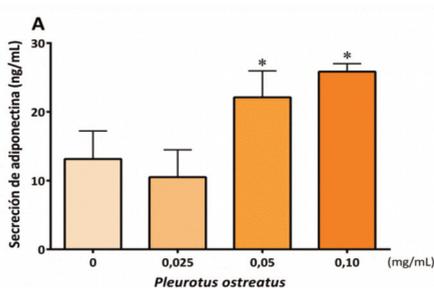
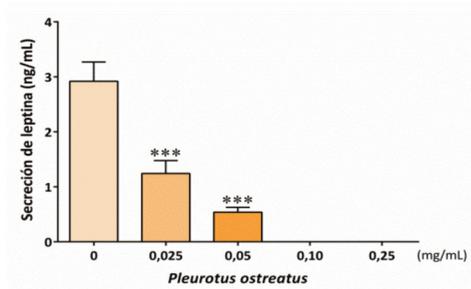


Figura 3. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Pleurotus ostreatus* sobre la secreción de adiponectina en adipocitos subcutáneos (A). Los resultados se presentan como media \pm error estándar de al menos 2 experimentos independientes. * $p < 0,05$ vs. control (células no tratadas con extracto de *P. ostreatus*). (B) Correlación positiva entre la captación de glucosa y la secreción de adiponectina en adipocitos subcutáneos tras el tratamiento con *P. ostreatus* ($r=0,0679$; $p < 0,01$).

3.2.2. Adipocitos omentales

a) Metabolismo glucídico y lipólisis

En adipocitos omentales de pacientes obesos, *P. ostreatus* no tuvo efectos significativos en la captación de glucosa (figura 4A). Sin embargo, a concentraciones bajas e intermedias si indujo un incremento en la producción de lactato ($p < 0,001$) (figura 4B), efecto que desapareció a la dosis más alta ensayada (0,25 mg/mL). En contraposición, la producción de glicerol se vio incrementada significativamente con el tratamiento de *P. ostreatus* a la concentración más alta ensayada en este hongo, la de 0,25 mg/mL ($p = 0,0084$) (figura 4C).

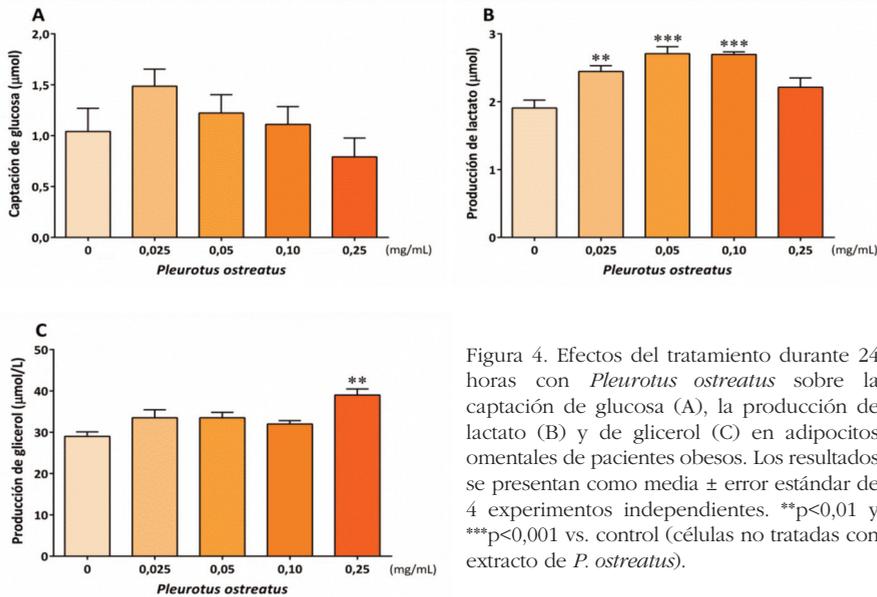


Figura 4. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Pleurotus ostreatus* sobre la captación de glucosa (A), la producción de lactato (B) y de glicerol (C) en adipocitos omentales de pacientes obesos. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de 4 experimentos independientes. ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ vs. control (células no tratadas con extracto de *P. ostreatus*).

b) Secreción de adipocinas

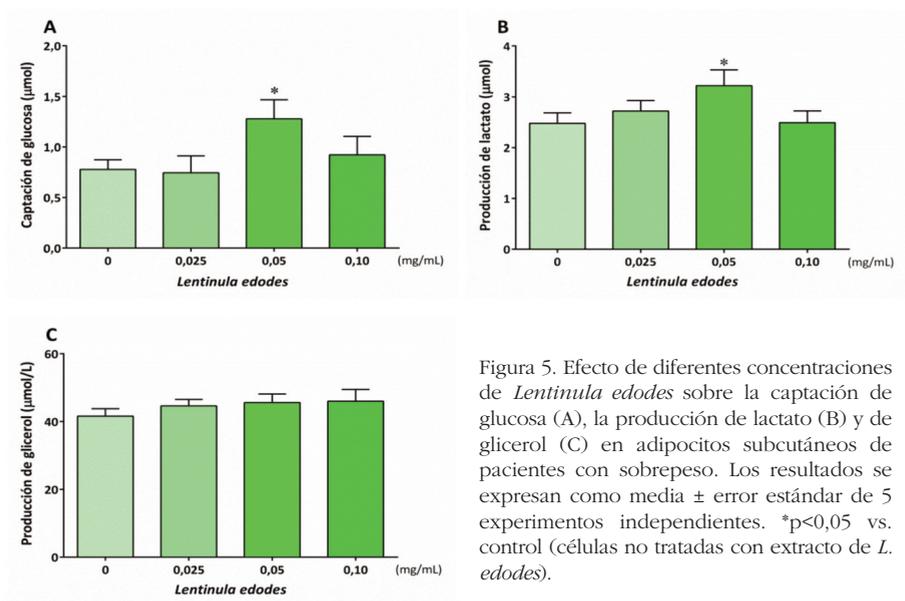
En lo que refiere a la leptina, los niveles de esta hormona en el medio de cultivo disminuyeron hasta valores indetectables tras el tratamiento durante 24 horas con *P. ostreatus* a cualquier concentración (ver datos comparados en figura 9B). En cuanto a la adiponectina no se observaron diferencias significativas tras el tratamiento.

3.3. Efectos de *Lentinula edodes*

3.3.1. Adipocitos subcutáneos

a) Metabolismo glucídico y lipólisis

El tratamiento de adipocitos subcutáneos con *L. edodes* aumentó de forma significativa la captación de glucosa de adipocitos subcutáneos siendo significativo a la dosis de 0,05 mg/mL ($p=0,0465$) (figura 5A). De forma similar, el tratamiento de los adipocitos subcutáneos con esa dosis aumentó la producción de lactato ($p=0.025$) (figura 5B). En lo que refiere a la producción de glicerol, el tratamiento con extracto de *L. edodes* no indujo ningún efecto en los adipocitos subcutáneos (figura 5C).



b) Secreción de adipocinas

La producción de leptina disminuyó hasta niveles indetectables tras el tratamiento con cualquier concentración de *L. edodes* (figura 6A). La secreción de adiponectina se vio incrementada tras el tratamiento con este hongo, aunque no se alcanzaron diferencias significativas (figura 6B).

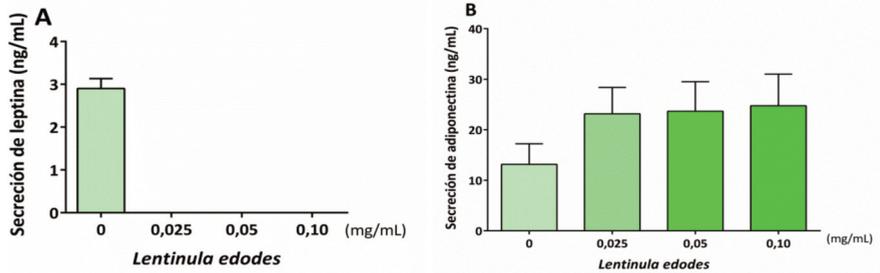


Figura 6. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Lentinula edodes* sobre la producción de leptina (A) y adiponectina (B) en adipocitos subcutáneos de pacientes con sobrepeso. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de al menos 3 experimentos independientes.

3.3.2. Adipocitos omentales

a) Metabolismo glucídico y lipólisis

En adipocitos omentales provenientes de pacientes obesos, la captación de glucosa se vio incrementada de forma significativa ($p=0,0064$), así como la producción de lactato (figura 7A y 7B). La producción de glicerol se vio también incrementada con el tratamiento con *L. edodes* a la concentración más alta ensayada ($p=0,0048$) (figura 7C).

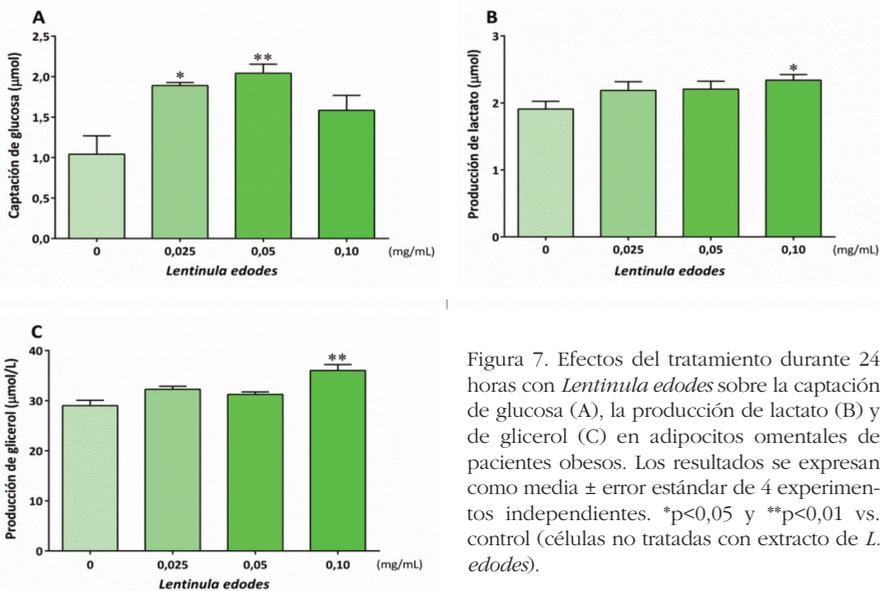


Figura 7. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Lentinula edodes* sobre la captación de glucosa (A), la producción de lactato (B) y de glicerol (C) en adipocitos omentales de pacientes obesos. Los resultados se expresan como media \pm error estándar de 4 experimentos independientes. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ vs. control (células no tratadas con extracto de *L. edodes*).

b) Secreción de adipocinas

La producción de leptina cayó hasta niveles indetectables a partir de la concentración de 0,05 mg/mL ($p < 0,001$) (figura 8). No se observaron efectos significativos en la secreción de adiponectina.

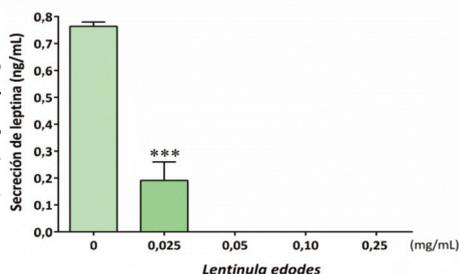


Figura 8. Efectos del tratamiento durante 24 horas con *Lentinula edodes* sobre la producción de leptina en adipocitos omentales de pacientes obesos. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de al menos 3 experimentos independientes. *** $p < 0,001$ vs. control (células no tratadas con extracto de *L. edodes*).

3.4. Comparación de efectos entre *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*

La figura 9 resume los efectos diferenciales más relevantes obtenidos tras el tratamiento de adipocitos en cultivo con *P. ostreatus* y *L. edodes*. No se ha incluido *A. bisporus* debido a su total falta de efectos sobre los adipocitos.

El tratamiento de adipocitos tanto con *P. ostreatus* como con *L. edodes* provocó un aumento significativo de la captación de glucosa, en los adipocitos tanto de origen subcutáneo como omental. Este aumento fue mayor con *P. ostreatus* en adipocitos subcutáneos, especialmente a la concentración de 0,10 mg/mL ($p = 0,0095$), mientras que el tratamiento con *L. edodes* fue el más potente activando la captación de glucosa en los adipocitos omentales. En esta estirpe adipocitaria, de hecho, se observaron diferencias significativas entre ambas setas a la concentración de 0,05 mg/mL ($p = 0,0403$) (figura 9A).

Ambas setas redujeron la secreción de leptina al medio de cultivo, tanto en adipocitos subcutáneos como omentales. Esta disminución fue mucho más potente con el tratamiento de *L. edodes* en los adipocitos subcutáneos mientras que *P. ostreatus* parece ser más potente en la reducción de la leptina desde la primera concentración utilizada en los adipocitos omentales (figura 9B). Finalmente, ambas setas incrementaron la secreción de adiponectina en adipocitos subcutáneos, sin observarse grandes diferencias entre ellas (figura 9C). La producción de adiponectina por adipocitos omentales apenas se vio modificada por el tratamiento durante 24 horas con ambas setas.

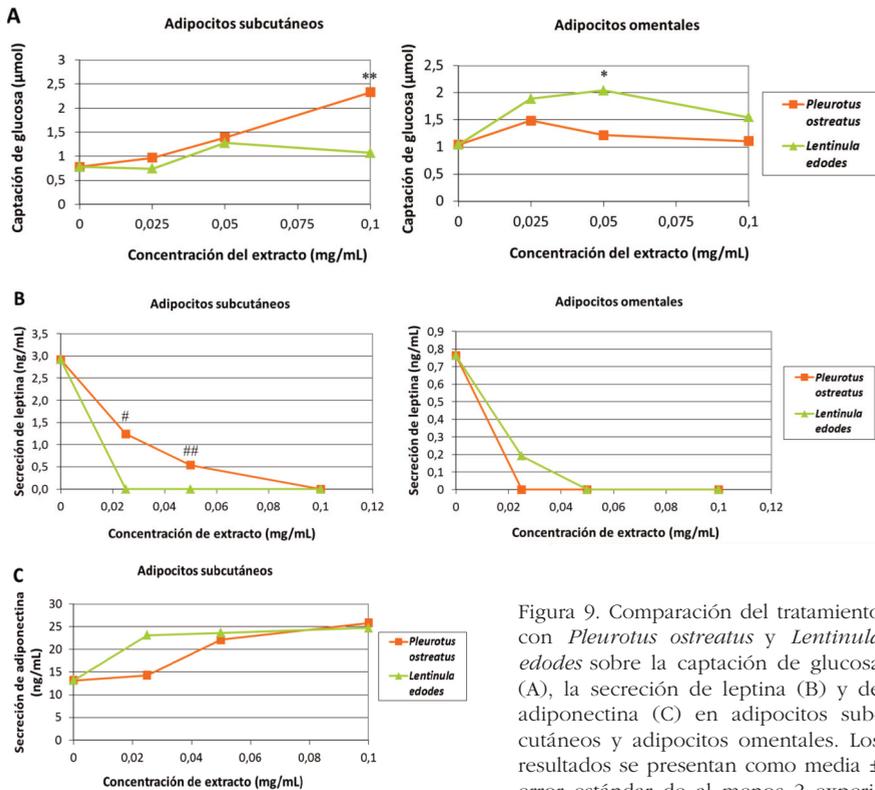


Figura 9. Comparación del tratamiento con *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes* sobre la captación de glucosa (A), la secreción de leptina (B) y de adiponectina (C) en adipocitos subcutáneos y adipocitos omentales. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de al menos 2 experimentos diferentes ($n=2-5$, dependiendo de la determinación). * $p<0,05$ vs. células tratadas con 0,05 mg/mL de *P. ostreatus*; ** $p<0,01$ vs. células tratadas con 0,1 mg/mL de *L. edodes*; # $p<0,05$ vs. células tratadas con 0,025 mg/mL de *L. edodes*; ## $p<0,01$ vs. células tratadas con 0,05 mg/mL de *L. edodes*.

4. DISCUSIÓN

Estudios previos sugieren un papel beneficioso de *A. bisporus* en situaciones de obesidad y diabetes (Jeong *et al.*, 2009). Sin embargo, en nuestro estudio únicamente se observó una tendencia (no significativa) a incrementar la secreción de leptina y adiponectina en los adipocitos subcutáneos y también una tendencia a aumentar la producción de adiponectina en los adipocitos omentales procedentes de pacientes obesos. Por ello, este hongo no parece tener importantes efectos sobre el metabolismo de los adipocitos blancos, al menos bajo nuestras condiciones de estudio y otros mecanismos y otros tejidos/células podrían estar implicados en sus acciones previamente descritas.

Un incremento de la captación basal de glucosa podría sugerir un papel beneficioso en situaciones de hiperglucemia/insulino-resistencia o diabetes, alteraciones que suelen acompañar a la obesidad. El tratamiento con *P.*

ostreatus indujo un incremento significativo en la captación de glucosa en adipocitos subcutáneos, lo cual corrobora estudios previos llevados a cabo tanto en humanos sanos y con diabetes tipo 2 como en ratones y ratas a los que se le indujo diabetes, en los que se describe la capacidad de este hongo para controlar y mejorar la tolerancia a la glucosa (Punithavathi *et al.*, 2010; Ravi *et al.*, 2013; Jayasuriya *et al.*, 2015). También el tratamiento con *L. edodes* produjo un incremento de la captación basal de glucosa, en este caso no sólo en adipocitos subcutáneos sino también en adipocitos omentales de pacientes obesos, lo cual también corrobora las propiedades insulino-sensibilizadoras previamente descritas para este hongo (Yang *et al.*, 2002; Islam y Moyen Uddin, 2014). Por tanto, y aunque nuestros resultados son preliminares, avalarían las anteriormente citadas propiedades insulino-sensibilizadoras descritas para estos dos hongos.

Un mecanismo para reducir el tamaño del tejido adiposo es la inducción de la lipólisis que supone la hidrólisis de triacilglicéridos para generar ácidos grasos y glicerol que se liberan al torrente sanguíneo para su uso como fuente de energía por otros órganos. De hecho, un aumento de la lipólisis es considerada como una opción terapéutica de interés para disminuir el tamaño del tejido adiposo y, con ello, disminuir la obesidad (Ahmadian *et al.*, 2009; Ahmadian *et al.*, 2010). El tratamiento con *P. ostreatus* indujo un incremento de la lipólisis tanto en adipocitos subcutáneos como en los omentales. Además, este incremento se vio acompañado en los adipocitos subcutáneos de un aumento de la producción de adiponectina, lo cual se asocia con una mejora de la sensibilidad a la insulina y podría también sugerir un aumento de la β -oxidación de los ácidos grasos que se generan tras la lipólisis (Díez y Iglesias, 2003; Fernández-Galilea *et al.*, 2012), todos ellos efectos muy beneficiosos en el contexto de obesidad. Por otro lado, el tratamiento con *L. edodes* incrementó también la lipólisis en la grasa omental de pacientes obesos, por lo que al igual que se ha comentado con *P. ostreatus*, podría suponer efectos beneficiosos en situaciones de obesidad-incremento del tamaño del tejido adiposo. No obstante, es obvio que se necesitan de más estudios para confirmar estos hallazgos.

Los tratamientos con *P. ostreatus* y *L. edodes* produjeron un efecto inhibitorio en la secreción de leptina, por lo que el consumo de estos hongos podría resultar de gran interés en el tratamiento de la obesidad, condición que, como se ha indicado en la introducción, suele cursar con hiperleptinemia. No obstante, se necesitan de más estudios, tanto en modelos animales como en humanos que corroboren dichos resultados.

5. CONCLUSIONES

Nuestros resultados demuestran, por primera vez, que las tres especies de hongos testadas en este estudio y cultivadas en nuestra Comunidad ejer-

cen efectos directos y diferenciales entre sí sobre el metabolismo glucídico y lipídico de los adipocitos en cultivo. *A. bisporus* apenas parece tener efectos sobre los adipocitos mientras que *P. ostreatus* y *L. edodes* parecen ejercer efectos beneficiosos sobre la captación de glucosa, la lipólisis y la secreción de leptina y adiponectina. Es interesante también señalar que en este trabajo se han observado diferentes acciones de las setas dependiendo del origen de los adipocitos (TAS vs. TAV). Se necesitan de más estudios para corroborar los resultados aquí hallados, ya que éstos se circunscriben únicamente a los efectos obtenidos en este modelo celular *in vitro* y, por tanto, han de ser corroborados mediante estudios en animales de experimentación y ensayos clínicos antes de proceder a recomendaciones nutricionales en la población general y/o obesa.

REFERENCIAS

- AHMADIAN, M., DUNCAN, R.E., SUL, H.S. (2009). The skinny on fat: lipolysis and fatty acid utilization in adipocytes. *Trends in endocrinology and metabolism*, 20, 424-428.
- AHMADIAN, M., WANG, Y., SUL, H.S. (2010). Lipolysis in adipocytes. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42, 555-559.
- ARITA, Y., KIHARA, S., OUCHI, N., TAKAHASHI, M., MAEDA, K., MIYAGAWA, J., Hotta, K., SHIMOMURA, I., NAKAMURA, T., MIYAOKA, K., KURIYAMA, H., NISHIDA, M., YAMASHITA, S., OKUBO, K., MATSUBARA, K., MURAGUCHI, M., OHMOTO, Y., FUNAHASHI, T., MATSUZAWA, Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*, 257, 79-83.
- CERVERO, A., DOMINGUEZ, F., HORCAJADAS, J.A., QUINONERO, A., PELLICER, A., SIMON, C. (2006). The role of the leptin in reproduction. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 18, 297-303.
- CHANG R. (1996). Functional properties of edible mushrooms. *Nutr rev*, 54, s91-s93.
- CHEN, X.L., HARTZELL, D.L., MCGRAW, R.A., HAUSMAN, G.J., DEAN, R.G. (1999). Analysis of a 762-bp proximal leptin promoter to drive and control regulation of transgene expression of growth hormone receptor in mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 262, 187-192.
- COLES, C.A. (2016). Adipokines in healthy skeletal muscle and metabolic disease. *Adv Exp Med Biol*, 900, 133-160.
- DÍEZ, J.J., IGLESIAS, P. (2003). The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *European Journal of Endocrinology*, 148, 293-300.

- FERNÁNDEZ-GALILEA, M., PÉREZ-MATUTE, P., PRIETO-HONTORIA, P.L., MARTINEZ, J.A., MORENO-ALIAGA, M.J. (2012). Effects of lipoic acid on lipolysis in 3t3-L1 adipocytes. *J Lipid Res*, 53, 2296-2306.
- FUSTER, J.J., OUCHI, N., GOKCE, N., WALSH, K. (2016). Obesity-Induced Changes in Adipose Tissue Microenvironment and Their Impact on Cardiovascular Disease. *Circ Res*, 118, 1786-1807.
- GUILLAMÓN, E., GARCÍA-LAFUENTE, A., LOZANO, M., D'ARRIGO, M., ROSTAGNO, M.A., VILLARES, A., MARTÍNEZ, J.A. (2010). Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia*, 81, 715-723.
- HANDAYANI, D., CHEN, J., MEYER, B.J., HUANG, X.F. (2011). Dietary Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) Prevents Fat Deposition and Lowers Triglyceride in Rats Fed a High-Fat Diet. *Journal of obesity*, 2011, 258051.
- HOSSAIN, S., HASHIMOTO, M., CHOUDHURY, E.K., ALAM, N., HUSSAIN, S., HASAN, M., CHOUDHURY, S.K., MAHMUD, I. (2003). Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 30, 470-475.
- ISLAM, S., MOYEN UDDIN, M. (2014). Antihyperglycemic Activity of Edible Mushroom, *Lentinus edodes* in Alloxan Induced Diabetic Swiss Albino Mice. *IJPCR*, 6, 121-126.
- JAYASURIYA, W.J., WANIGATUNGE, C.A., FERNANDO, G.H., ABEYTUNGA, D.T., SURESH, T.S. (2015). Hypoglycaemic activity of culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* mushrooms in healthy volunteers and type 2 diabetic patients on diet control and the possible mechanisms of action. *Phytotherapy Research*, 29, 303-309.
- JEONG, S.C., JEONG, Y.T., YANG, B.K., ISLAM, R., KOYALAMUDI, S.R., PANG, G., CHO, K.Y., SONG, C.H. (2009). White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition research*, 30, 49-56.
- KLAUSEN, B., TOUBRO, S., ASTRUP, A. (1997). Age and sex effects on energy expenditure. *The American journal of clinical nutrition*, 65, 895-907.
- LO, T.C., JIANG, Y.H., CHAO, A.L., CHANG, C.A. (2007). Use of statistical methods to find the polysaccharide structural characteristics and the relationships between monosaccharide composition ratio and macrophage stimulatory activity of regionally different strains of *Lentinula edodes*. *Analytica chimica acta*, 584, 50-56.
- MANTZOROS, C.S., MAGKOS, F., BRINKOETTER, M., SIENKIEWICZ, E., DARDENO, T.A., KIM, S., HAMNVIK, O.R., KONIARIS, A. (2011). Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 301, E567-E584.
- PAJVANI, U.B., HAWKINS, M., COMBS, T.P., RAJALA, M.W., DOEBBER, T., BERGER, J.P., WAGNER, J.A., WU, M., KNOPPS, A., XIANG, A.H., UTZSCHNEIDER, K.M., KAHN, S.E., OLEFSKY, J.M., BUCHANAN, T.A., SCHERER, P.E. (2004). Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedio-

- ne-mediated improvement in insulin sensitivity. *The Journal of biological chemistry*, 279, 12152-12162.
- PUNITHAVATHI, V.R., PRINCE, P.S., KUMAR, R., SELVAKUMARI, J. (2010). Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 650, 465-471.
- RAVI, B., RENITTA, R.E., PRABHA, M.L., ISSAC, R., NAIDU, S. (2013). Evaluation of antidiabetic potential of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in alloxan-induced diabetic mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 35, 101-109.
- SALVADOR, J., GOMEZ-AMBROSI, J., FRUHBECK, G. (2001). Perspectives in the therapeutic use of leptin. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 2, 1615-1622.
- SHAH, R.V., MURTHY, V.L., ABBASI, S.A., BLANKSTEIN, R., KWONG, R.Y., GOLDFINE, A.B., JEROSCH-HEROLD, M., LIMA, J.A., DING, J., ALLISON, M.A. (2014). Visceral adiposity and the risk of metabolic syndrome across body mass index: the MESA Study. *JACC Cardiovasc Imaging*, 7, 1221-1235.
- SHIMAMOTO, Y., MIZUKOSHI, M., KUROI, A., IMANISHI, T., TAKESHITA, T., TERADA, M., AKASAKA, T. (2013). Is visceral fat really a coronary risk factor? A multi-detector computed tomography study. *Int Heart J*, 54, 273-278.
- SIMÓN, E., DEL BARRIO, AS. (2002). [leptin and obesity]. *Anales del sistema sanitario de navarra*, 1, 53-64.
- SMITH-KIRWIN, S.M., O'CONNOR, D.M., DE JOHNSTON, J., LANCEY, E.D., HASSINK, S.G., FUNANAGE, V.L. (1998). Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83, 1810-1813.
- VALVERDE, M.E., HERNÁNDEZ-PÉREZ, T., PAREDES-LÓPEZ, O. (2015). Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Int J Microbiol*, 2015, 376387.
- WANG, J., LIU, R., HAWKINS, M., BARZILAI, N., ROSSETTI, L. (1998). A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*, 393, 684-688.
- YAMAMOTO, Y., HIROSE, H., SAITO, I., TOMITA, M., TANIYAMA, M., MATSUBARA, K., OKAZAKI, Y., ISHII, T., NISHIKAI, K., SARUTA, T. (2002). Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)*, 103, 137-142.
- YAMAUCHI, T., KAMON, J., WAKI, H., TERAUCHI, Y., KUBOTA, N., HARA, K., MORI, Y., IDE, T., MURAKAMI, K., TSUBOYAMA-KASAOKA, N., EZAKI, O., AKANUMA, Y., GAVRILOVA, O., VINSON, C., REITMAN, M.L., KAGECHIKA, H., SHUDO, K., YODA, M., NAKANNO, Y., TOBE, K., NAGAI, R., KIMURA, S., TOMITA, M., FROGUEL, P., KADOWAKI, T. (2001). The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nature medicine*, 7, 941-946.

YANG, B. K., KIM, D. H., JEONG, S.C., DAS, S., CHOI, Y. S., SHIN, J. S., LEE, S. C.,
SONG, C. H. (2002). Hypoglycemic effect of a *Lentinus edodes* exo-polymer produced from a submerged mycelial culture. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66, 937-942.