

ABREVIATURAS

- AA: ácido araquidónico
- ACC: Acetil-CoA Carboxilasa
- AG: ácidos grasos
- AG-*t*: ácidos grasos *trans*
- ALAT: Alanina AminoTransferasa
- API: dieta Control rica en AG poli-insaturados
- API+CLA: dieta API con CLA
- ASAT: Aspartato Amino Transferasa
- ATP: adenosín tri-fosfato
- BN: balance nitrogenado
- C: dieta Control
- Cb: Control basal
- CK: Creatina Kinasa
- CLA: Conjugados del Ácido Linoleico
- CPT-1: Carnitin-Palmitoil-Transferasa-1
- Creatina-P: creatina fosfato
- DHAP: dihidroxiacetona fosfato
- DTNB: ácido 5,5'- ditiobis 2-nitrobenzoico
- EE: eficiencia energética
- EPA: ácido eicosapentaenoico
- F-1,6-P₂: fructosa-1,6-difosfato
- F-6-P: fructosa-6-fosfato

FABP: proteína ligadora de AG

FAL: Fosfatasa Alcalina

FAS: Sintetasa de AG

FL: fosfolípidos

G-1-P: glucosa-1-fosfato

G-3-P DH: Gliceraldehído-3-Fosfato Dehidrogenasa

G-3-P: gliceraldehído-3-fosfato

G-6-P: glucosa-6-fosfato

G-6-PDH: G-6-Fosfato Deshidrogenasa

GSH: glutation reducido

GSH-Px: Glutation Peroxidasa

HDL: lipoproteína de alta densidad

HK: Hexoquinasa

IE: ingesta energética

IFN- γ : interferón- γ

Ig: inmunoglobulina

IL: interleuquina

LDH: Lactato Dehidrogenasa

LDL: lipoproteína de baja densidad

LPL: Lipoproteína Lipasa

LPO: lipoperoxidación

MDH: Malato Dehidrogenasa

MG: macro-glucógeno

MP: malnutrición proteica

N: nitrógeno

NAD: nicotinamida adenina dinucleótido

NADH: nicotinamida adenina dinucleótido reducido

NADP: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido

N_{ing}: N ingerido

N_{mf}: N excretado en materia fecal

N_u: N excretado en orina

P: peso

PEP: fosfoenolpiruvato

PFK-1 α : FosfoFructo-Kinasa-1 α

PG: pro-glucógeno

PGI: Fosfo-Glucosa Isomerasa

PGF₂: prostaglandina F 2

PGM: Fosfo-Gluco Mutasa

PK: Piruvato Kinasa

PPAR: receptor activado por proliferadores peroxisomales

PUFA: AG poli-insaturado (del inglés *Poli-Unsaturated Fatty Acid*)

RETC: retención energética total de la carcasa

RP: restricción proteica

SCD-1: Estearoil-CoA Desaturasa-1

SREBP-1: proteína ligadora de elementos reguladores de esteroides-1

TA: tejido adiposo

TBARs: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TG: triglicéridos

TGF- β : factor de crecimiento transformante- β

TNF- α : factor de necrosis tumoral- α

TTOG: test de tolerancia oral a la glucosa

UCP: proteína desacoplante

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad

Vp: volumen plasmático

VSTG: velocidad de secreción de TG-pre- β lipoproteínas

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
1.- CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS LÍPIDOS DIETARIOS.....	1
2.- CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS ISÓMEROS DE ÁCIDOS GRASOS.....	2
2.A.- PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.....	5
2.B.- FUENTES ALIMENTARIAS.....	5
2.C.- CONSUMO A NIVEL POBLACIONAL.....	7
2.D.- SÍNTESIS DE ISÓMEROS CONJUGADOS DEL ÁCIDO LINOLEICO.....	8
2.D.1.- Biosíntesis.....	8
2.D.2.- Síntesis química.....	9
3.- EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS CLA.....	10
3.A- CLA Y CARCINOGENÉNESIS.....	12
3.B- EFECTOS SOBRE EL PESO CORPORAL Y LA INGESTA ENERGÉTICA.....	13
3.C- EFECTOS SOBRE LA COMPOSICIÓN CORPORAL.....	13
3.C.1.- Disminución del tejido adiposo y aumento de la masa corporal magra.....	13
3.C.2.- Efectos sobre el músculo esquelético.....	14
3.D- CLA Y METABOLISMO DE LÍPIDOS.....	15
3.D.1.- Efectos sobre los lípidos hepáticos.....	15
3.D.2.- CLA, lípidos plasmáticos y aterosclerosis.....	16
3.D.3.- CLA y stress oxidativo.....	17
3.D.4.- CLA, ácido araquidónico y eicosanoides.....	19
3.E- EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS CLA.....	19
3.F- EFECTO DE LOS CLA SOBRE RESISTENCIA INSULÍNICA.....	20
3.G- EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA REPRODUCCIÓN.....	21
4.- DEPLECIÓN PROTEICA.....	25
4.A.- GENERALIDADES.....	25

4.B.- POTENCIALES EFECTOS DE LOS CLA SOBRE LA DEPLECIÓN PROTEICA.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS	30
SECCIÓN I: Caracterización de alteraciones producidas por dietas ricas en CLA en un modelo experimental de ratón	
1.- ANIMALES.....	30
2.-DIETAS	30
3.- ESTUDIO DEL STATUS METABÓLICO	33
3.A.- GRUPOS EXPERIMENTALES Y PROTOCOLO DE TRABAJO	33
3.B.- DETERMINACIONES REALIZADAS	33
3.B.1- Cuantificaciones en suero/plasma.....	33
3.B.1.1.- Cuantificación de metabolitos circulantes	34
3.B.1.1.1.- Triglicéridos	34
3.B.1.1.2- Colesterol	34
3.B.1.1.3.- Glucosa.	34
3.B.1.2.- Cuantificación de actividades enzimáticas.....	35
3.B.2.- Cuantificaciones tisulares	36
3.B.2.1.- Contenido de triglicéridos.....	36
3.B.2.2.- Contenido de metabolitos energéticos.....	37
3.B.2.2.1.- ATP	37
3.B.2.2.2.- Creatina fosfato	37
3.B.2.2.3.- Creatina	38
3.B.3.- Parámetros relacionados al metabolismo lipídico.....	39
3.B.3.1.- Actividad de la enzima lipoproteína lipasa (LPL).....	39
3.B.3.1.1- Actividad de LPL en músculo gastrocnemius	39
3.B.3.1.2.- Actividad de LPL en tejido adiposo epididimal	40
3.B.3.2.- Secreción hepática “ <i>in vivo</i> ” de TG-pre- β lipoproteínas	40
3.B.4.- Parámetros relacionados al stress oxidativo hepático.....	42
3.B.4.1.- Determinación del grado de lipoperoxidación.....	42
3.B.4.2.- Medida de la actividad de las enzimas antioxidantes hepáticas.....	42
3.B.4.3.- Determinación del contenido de glutatión reducido.....	43

3.B.5.-Parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa.....	43
3.B.5.1.-Glucosa.....	44
3.B.5.2.- Glucosa-6-fosfato	44
3.B.5.3.- Fructosa-6-fosfato (F-6-P)	44
3.B.5.4.- Fructosa-1,6-difosfato (F-1,6-P ₂)	45
3.B.5.5.- Piruvato	45
3.B.5.6.- Lactato	45
3.B.5.7.- Glucosa-1-fosfato (G-1-P).....	46
3.B.5.8.- Glucógeno total y sus fracciones pro- y macro-glucógeno	46
3.B.5.9.- Citrato	46
4- ESTUDIO DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA	48
4.A.- GRUPOS EXPERIMENTALES Y PROTOCOLO DE TRABAJO	48
4.A.1.- Estudios de primera generación.....	48
4.A.2.- Estudios de segunda generación.....	49
4.B.- DETERMINACIONES REALIZADAS	50
4.B.1- Determinación de expresión de IL-4, TNF- α y TGF- β en placenta	50
4.B.2- Recolección de espermatozoides, recuento y motilidad	51
4.B.3- Reacción acrosomal	51
5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	52
SECCIÓN II: Estudio de los efectos de los CLA sobre recuperación post depleción proteica leve en ratas	
1.- ANIMALES.....	53
2.-DIETAS	53
3.- GRUPOS EXPERIMENTALES.....	56
4. TOMA DE MUESTRAS	57
5.- DETERMINACIONES REALIZADAS	57
5.A.- CUANTIFICACIONES EN SUERO/PLASMA	57
5.A.1.- Cuantificación de metabolitos.....	57
5.A.1.1.- Triglicéridos:	57
5.A.1.2.- Colesterol:	57
5.A.1.3.- Urea.....	57
5.A.2.- Cuantificación de actividades enzimáticas	58

5.A.3.- Cuantificación de proteínas.....	58
5.A.3.1.- Cuantificación de proteínas totales.....	58
5.A.3.2.- Cuantificación de albúmina.....	58
5.B.- BALANCE NITROGENADO	59
5.B.1.- Cuantificación de Nitrógeno	59
5.C.- COMPOSICIÓN CORPORAL	60
5.C.1.- Determinación de proteínas	61
5.C.2.- Determinación de agua.	61
5.C.3.- Determinación de grasa.....	61
5.D.- RETENCIÓN ENERGÉTICA CORPORAL Y EFICIENCIA ENERGÉTICA.....	62
5.D.1.- Retención energética corporal	62
5.D.2.- Eficiencia energética.....	62
5.E.- ABSORCIÓN APARENTE DE LÍPIDOS DIETARIOS	63
5.F.- CUANTIFICACIONES TISULARES	63
5.F.1.- Contenido de triglicéridos:	63
5.F.2.- Contenido de metabolitos energéticos.....	63
5.F.2.1.- ATP	63
5.F.2.2.- Creatina fosfato.....	63
5.F.2.3.- Creatina	63
5.G.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO	64
5.G.1.- Actividad de la enzima lipoproteína lipasa (LPL)	64
5.G.1.1.- Actividad de LPL en músculo gastrocnemius.....	64
5.G.1.2.- Actividad de LPL en tejido adiposo epididimal.	64
5.G.2.- Secreción hepática “in vivo” de TG-pre- β lipoproteínas:.....	64
5.H.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL STRESS OXIDATIVO	64
5.H.1.- Determinación del grado de lipoperoxidación	64
5.H.2.- Medida de la actividad de las enzimas antioxidantes hepáticas.....	64
5.H.3.- Determinación del contenido de glutation.	64
5.I.- TEST DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA	65
5.J.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA	65

5.J.1.-Glucosa.....	65
5.J.2.- Glucosa-6-fosfato	65
5.J.3.- Fructosa-6-fosfato (F-6-P)	65
5.J.4.- Fructosa-1,6-difosfato (F-1,6-P ₂).....	66
5.J.5.- Piruvato.	66
5.J.6.- Lactato	66
5.J.7.- Glucosa-1-fosfato (G-1-P).	66
5.J.8.- Glucógeno total y sus fracciones pro- y macro-glucógeno	66
5.J.9.- Citrato.	66
6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	66
 RESULTADOS	 67
SECCIÓN I: Caracterización de alteraciones producidas por dietas ricas en CLA en un modelo experimental de ratón	
1.- ESTUDIO DEL STATUS METABÓLICO	67
1.A.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO CORPORAL.....	67
1.B.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO DE HÍGADO, TEJIDO ADIPOSO Y MÚSCULO GASTROCNEMIUS	68
1.C.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE NIVELES PLASMÁTICOS Y TISULARES DE LÍPIDOS.....	70
1.D.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO.....	71
1.D.1.- Actividad de la enzima lipoproteína lipasa (LPL).....	71
1.D.1.1.- Actividad LPL en músculo gastrocnemius	72
1.D.1.2.- Actividad LPL en tejido adiposo epididimal	72
1.D.2.- Secreción hepática “ <i>in vivo</i> ” de TG-pre-β lipoproteínas(VSTG)	73
1.E.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL STRESS OXIDATIVO	74
1.F.- CONTENIDO DE METABOLITOS ENERGÉTICOS.	75
1.G.-PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA	76
1.G.1.- Parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en hígado.....	77
1.G.2.- Parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en músculo gastrocnemius.....	80

2.- ESTUDIO DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA	83
2.A.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRA	83
2.B.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN RATONES HEMBRA	83
2.C.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN DE IL-4	85
2.D.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN DE TNF- α	85
2.E.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN DE TGF- β	86
2.F.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PESO CORPORAL Y PESO DE ÓRGANOS DE RATONES MACHO	87
2.G.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE RATONES MACHO	88
 SECCIÓN II: Estudio de los efectos de los CLA sobre recuperación post depleción proteica leve en ratas	
1.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO CORPORAL E INGESTA DE ALIMENTO	91
2.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO DE HÍGADO, MÚSCULO GASTROCNEMIUS Y TEJIDO ADIPOSO	93
3.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL BALANCE NITROGENADO	94
4.- RETENCIÓN ENERGÉTICA CORPORAL Y EFICIENCIA ENERGÉTICA.....	96
5.- COMPOSICIÓN CORPORAL	98
6.- ABSORCIÓN APARENTE DE LÍPIDOS DIETARIOS	99
7.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE NIVELES PLASMÁTICOS Y TISULARES DE LÍPIDOS.....	100
8.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO	101
8.A.- ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPOPROTEÍNA LIPASA (LPL)	102
8.A.1- Actividad LPL en músculo gastrocnemius.....	102
8.A.2.- Actividad LPL en tejido adiposo epididimal.....	103
8.B.- SECRECIÓN HEPÁTICA “ <i>in vivo</i> ” DE TG-PRE- β LIPOPROTEÍNAS (VSTG).....	104
9.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL STRESS OXIDATIVO HEPÁTICO	104
10.- CONTENIDO DE METABOLITOS ENERGÉTICOS.	106

11.-TEST DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA (TTOG)	107
12.-PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA.....	109
12.A.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN HÍGADO	109
12.B.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN MÚSCULO GASTROCNEMIUS.....	112
 DISCUSIÓN	 116
SECCIÓN I: Caracterización de alteraciones producidas por dietas ricas en CLA en un modelo experimental de ratón	
1.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO Y LA COMPOSICIÓN CORPORAL.....	117
2.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS.....	120
2.A.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE LOS LÍPIDOS PLASMÁTICOS	120
2.B.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE LOS LÍPIDOS HEPÁTICOS	121
2.C.- MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO LIPÍDICO	123
3.- CLA Y SÍNDROME LIPODISTRÓFICO	131
4.- CLA Y METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO	134
5.- CLA Y STRESS OXIDATIVO	138
6.- CLA Y REPRODUCCIÓN	141
SECCIÓN II: Estudio de los efectos de los CLA sobre recuperación post depleción proteica leve en ratas	
1.- COMPOSICIÓN CORPORAL Y EFICIENCIA ENERGÉTICA.....	145
2.- METABOLISMO DE LÍPIDOS	152
2.A.- LÍPIDOS PLASMÁTICOS.....	152
2.B.- LÍPIDOS TISULARES.....	154
3.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL STRESS OXIDATIVO	156
4.- METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO	157
 CONCLUSIONES	 162

RESUMEN	164
REFERENCIAS	171

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PÁGINA
Tabla 1: contenido de CLA en alimentos de diversos orígenes.....	7
Tabla 2.: Composición de las dietas utilizadas (1).....	31
Tabla 3: Composición de ácidos grasos de los aceites utilizados.....	32
Tabla 4: Composición de las dietas utilizadas (2).....	55
Tabla 5: efecto de la ingesta de CLA sobre el contenido de metabolitos energéticos.....	76
Tabla 6: efecto de la ingesta de CLA sobre número de fetos por hembra y porcentaje de hembras que presentaron resorciones.	84
Tabla 7: efecto de la ingesta de CLA sobre recuento y motilidad espermáticas.	88
Tabla 8: consumo de alimento, ingesta energética y ganancia de peso.....	91
Tabla 9: pesos de diferentes órganos y tejidos.	93
Tabla 10: parámetros relacionados a la utilización de nitrógeno.....	95
Tabla 11: niveles plasmáticos de proteínas totales, albúmina y urea.....	96
Tabla 12: retención energética en carcasa y eficiencia energética.....	97
Tabla 13: composición corporal.....	98
Tabla 14: ingesta y excreción de grasa.	99
Tabla 15: metabolitos energéticos en hígado y músculo gastrocnemius.....	106
Tabla 16: área integrada bajo la curva (AIC).....	107

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1: distintos tipos de isomería que pueden presentar los ácidos grasos.....	3
Figura 2: estructuras químicas de los isómeros <i>t10,c12</i> -CLA, <i>c9,t11</i> -CLA, y del ácido linoleico.....	4
Figura 3: vías de síntesis de <i>c9,t11</i> -CLA en rumen y en tejidos.....	9
Figura 4: esquema de la reacción de isomerización e hidrogenación del ácido linoleico para la síntesis química de CLA.....	10
Figura 5: efectos del isómero <i>t10,c12</i> -CLA sobre adipocitos y preadipocitos.....	14
Figura 6: efectos del isómero <i>t10,c12</i> -CLA sobre músculo esquelético.....	15
Figura 7: representación esquemática del diseño experimental del estudio de los efectos de los CLA sobre la reproducción (primera generación).....	49
Figura 8: representación esquemática del diseño experimental del estudio de los efectos de los CLA sobre la reproducción (segunda generación).....	49
Figura 9: representación esquemática del diseño experimental del estudio de los efectos de los CLA sobre recuperación de estados de malnutrición proteica.....	56
Figura 10: efecto de la ingesta de CLA sobre la ganancia de peso.	68
Figura 11: efecto de la ingesta de CLA sobre el peso absoluto y relativo del hígado, TA epididimal y músculo gastrocnemius.....	69
Figura 12: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de lípidos plasmáticos.....	70
Figura 13: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de lípidos tisulares....	71

Figura 14: efecto de la ingesta de CLA sobre la actividad LPL en músculo gastrocnemius.....	72
Figura 15: efecto de la ingesta de CLA sobre la actividad LPL en TA epididimal.....	73
Figura 16: efecto de la ingesta de CLA sobre la VSTG.....	74
Figura 17: efecto de la ingesta de CLA sobre parámetros relacionados al stress oxidativo hepático.....	75
Figura 18: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de metabolitos glucolíticos en hígado.....	78
Figura 19: efectos de los CLA sobre los niveles de citrato en hígado.....	79
Figura 20: concentraciones de G-1-P y glucógeno total, pro- y macroglucógeno en hígado.....	80
Figura 21: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de metabolitos glucolíticos en músculo gastrocnemius.....	81
Figura 22: efectos de los CLA sobre los niveles de citrato en músculo gastrocnemius.....	82
Figura 23: concentraciones de G-1-P, glucógeno total, pro- y macroglucógeno en músculo gastrocnemius.....	82
Figura 24: fotografías representativas de la expresión placentaria de citoquinas.....	86
Figura 25: Efecto de la ingesta de CLA sobre la expresión en placenta de IL-4, TNF α y TGF β en primera y segunda generación.....	87
Figura 26: Efecto de los CLA sobre la reacción acrosomal inducida por el ionóforo de calcio A23187 en espermatozoides de ratón.....	89

Figura 27: ganancia de peso en los diferentes grupos dietarios.	92
Figura 28: balance nitrogenado diario.....	94
Figura 29: absorción aparente de las grasas dietarias.....	99
Figura 30: niveles de lípidos plasmáticos.....	100
Figura 31: niveles de lípidos tisulares.....	101
Figura 32: actividad LPL en músculo gastrocnemius.....	102
Figura 33: actividad de LPL en tejido adiposo epididimal.....	103
Figura 34: velocidad de secreción de TG.....	104
Figura 35: parámetros relacionados al stress oxidativo hepático.....	105
Figura 36: test de tolerancia oral a la glucosa.....	108
Figura 37: parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en hígado.....	110
Figura 38: contenido de citrato en hígado.....	111
Figura 39: contenido de G-1-P, glucógeno y sus fracciones en hígado.....	111
Figura 40: parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en músculo gastrocnemius.....	113
Figura 41: contenido de glucógeno y sus fracciones en músculo gastrocnemius.....	114
Figura 42: contenido de citrato en músculo gastrocnemius.....	114
Figura 43: efectos de la ingesta de CLA a elevados niveles de grasa dietaria observados en nuestro modelo experimental.....	123
Figura 44: mecanismos asociados a las alteraciones del metabolismo lipídico y modelo cronológico de la lipodistrofia generada por los CLA.....	133