

## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS**

## **SECCIÓN I**

# **CARACTERIZACIÓN DE ALTERACIONES PRODUCIDAS POR DIETAS RICAS EN CLA EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE RATÓN**

## 1.- ESTUDIO DEL STATUS METABÓLICO

Dentro de las variables que determinan el modelo experimental en estudio, podemos considerar las atinentes al animal: especie, edad, sexo, estado fisiopatológico y las referentes al compuesto en estudio: dosis, tiempo, formulación, tipo de isómero utilizado, relación con otros AG dietarios, etc.

La mayoría de los estudios referidos a los isómeros CLA se han realizado en ratas y/o ratones de laboratorio. En esta parte del estudio se seleccionó el empleo de ratones de la cepa CF-1 y para minimizar el efecto de las variaciones hormonales se utilizaron animales machos, excepto para los estudios de reproducción. La edad elegida tuvo en cuenta que los animales se encuentren en pleno desarrollo, para así evaluar el potencial impacto en un período etario de alta demanda nutricional. En los animales no se observaron signos toxicológicos ni alteraciones en la funcionalidad hepática evaluada a través de algunos parámetros indicativos como las actividades de las enzimas ASAT, ALAT y FAL (UI/l; ASAT, C:  $22,59 \pm 1,18$ ; API:  $16,77 \pm 1,48$ ; API+CLA:  $23,15 \pm 1,66$ ; ALAT, C:  $15,62 \pm 0,68$ ; API:  $16,61 \pm 0,72$ ; API+CLA:  $21,68 \pm 1,89$ ; FAL, C:  $201,62 \pm 11,71$ ; API:  $118,58 \pm 13,46$ ; API+CLA:  $141,96 \pm 8,18$ ).

### 1.A.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO CORPORAL

Los animales de todos los grupos dietarios tuvieron un continuo incremento del peso y no se observaron diferencias significativas en la ganancia de peso corporal al final de la experiencia. (Fig. 10)

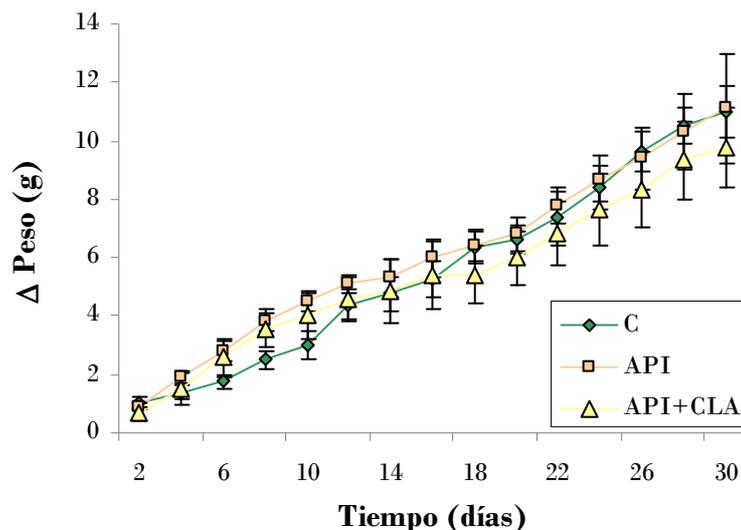


Figura 10: efecto de la ingesta de CLA sobre la ganancia de peso. Valores expresados como media  $\pm$  SEM de 5 animales en cada grupo.

### 1.B.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO DE HÍGADO, TEJIDO ADIPOSO Y MÚSCULO GASTROCNEMIUS

Como se observa en la Fig. 11, el incremento del contenido de grasa dietaria aumentó el peso del tejido adiposo (TA) epididimal, tanto en forma absoluta como relativa al peso del animal, sin modificar cambios en el peso del hígado ni del músculo gastrocnemius en cualquiera de sus expresiones. Los animales alimentados con CLA a altos niveles de grasa dietaria presentaron una marcada hepatomegalia y un notable descenso en el peso del TA epididimal, llegando a valores mucho más bajos que los observados en el grupo C. La ingesta de CLA no causó alteraciones en el peso del músculo gastrocnemius.

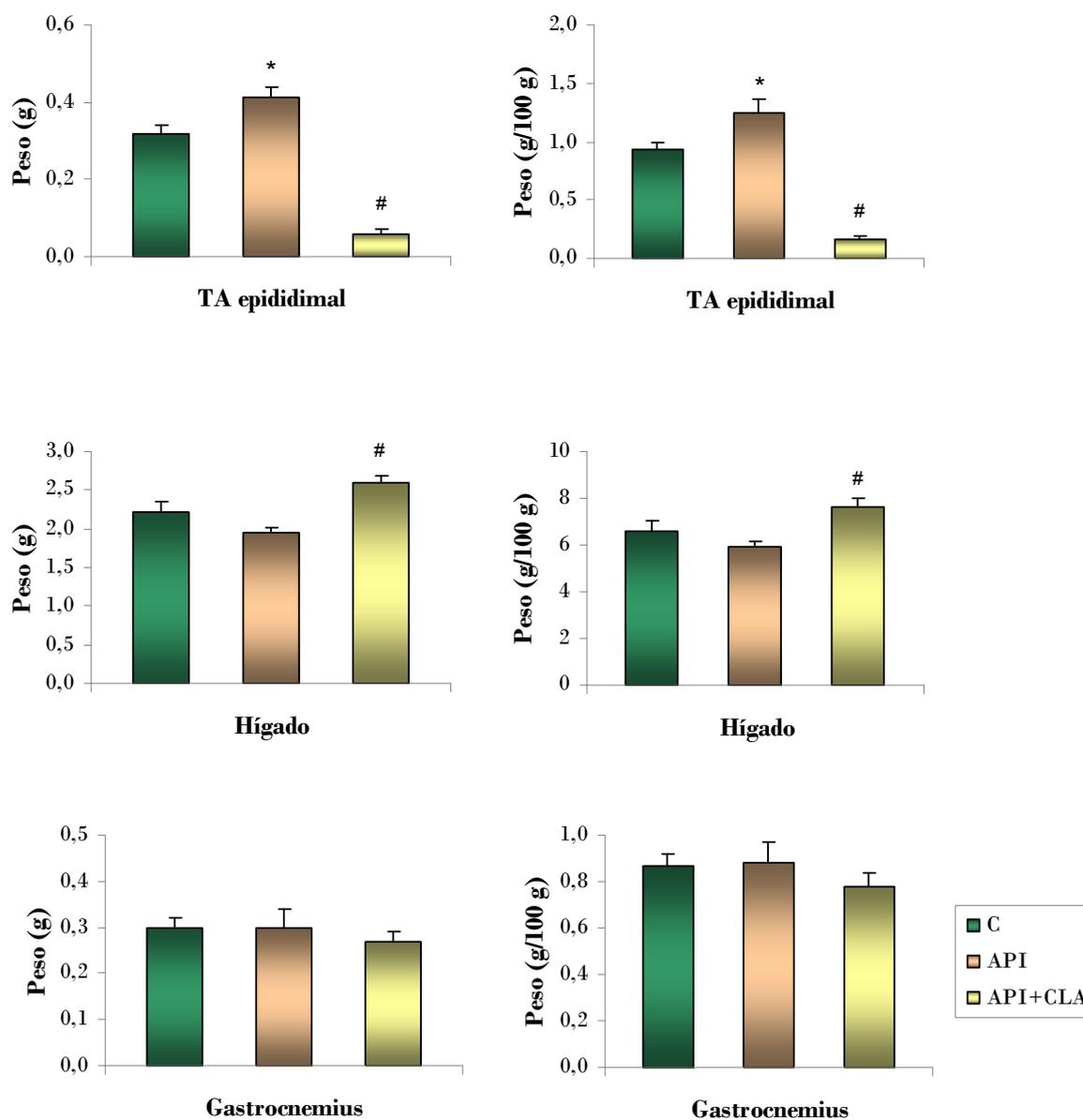


Figura 11: efecto de la ingesta de CLA sobre el peso absoluto y relativo del hígado, TA epididimal y músculo gastrocnemius. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C y API: n=6; API+CLA: n=5. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

## 1.C.- EFECTO DE LOS CLA SOBRE NIVELES PLASMÁTICOS Y TISULARES DE LÍPIDOS

Las concentraciones de los lípidos plasmáticos (TG y colesterol) en condiciones de ayuno se muestran en la Fig. 12. La ingesta de elevados niveles de grasa dietaria produjo una tendencia a aumentar los TG circulantes, que fueron disminuidos por el consumo de CLA. Los niveles de colesterol no fueron modificados, ya sea por efecto de la cantidad de grasa dietaria o de la incorporación de CLA.

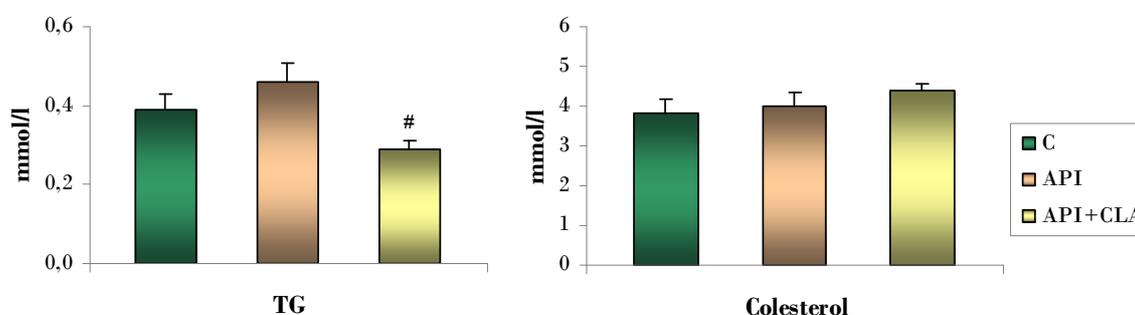


Figura 12: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de lípidos plasmáticos. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C y API: n=6; API+CLA: n=5. #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencia evaluada a través de test de Student.

El incremento de grasa dietaria aumentó significativamente el contenido hepático de TG (+57%). Este efecto fue mucho más marcado ante la presencia de CLA (+170%, API+CLA vs API), lo que podría indicar que al menos parte del aumento del peso del hígado observado se debe al fuerte acúmulo de TG que se evidencia en este órgano. En músculo gastrocnemius, el consumo de dietas ricas en grasa condujo a una marcada acumulación de TG, los que retornaron a valores normales como consecuencia de la adición de CLA a la dieta (Fig 13).

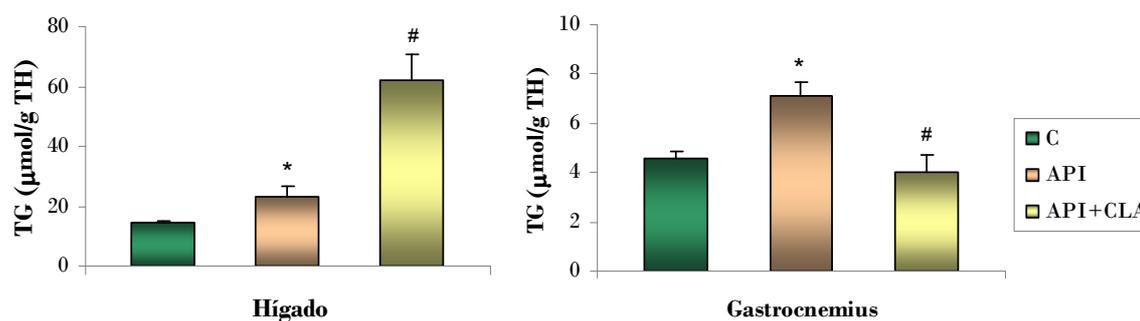


Figura 13: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de lípidos tisulares. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5; API y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

## 1.D.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO

Dada la capacidad de los CLA para modificar el metabolismo lipídico, y las marcadas alteraciones observadas en el contenido de TG en el hígado y TA epididimal de los ratones alimentados con CLA a elevados niveles de grasa dietaria, se evaluaron algunos parámetros fundamentales en la regulación de los TG.

### 1.D.1.- Actividad de la enzima Lipoproteína Lipasa (LPL)

Para evaluar la contribución de la remoción periférica de TG sobre el status metabólico se cuantificaron las actividades de las enzimas lipoproteínas lipasa (LPL) en músculo gastrocnemius y TA epididimal. Ambos tejidos contribuyen mayoritariamente a la remoción de los TG plasmáticos. La expresión de esta enzima se correlaciona tanto con la necesidad, como con la disponibilidad de energía de los tejidos. Por ello, en TA la mayor parte de los AG captados será esterificada para almacenarse como TG, y en músculo esquelético, su destino final será principalmente la oxidación.

### 1.D.1.1- Actividad LPL en músculo gastrocnemius

El consumo de dieta rica en grasa generó un aumento de la actividad LPL, que fue revertido por la ingesta de CLA (Fig. 14). Estos resultados mostraron correlación con los niveles musculares de TG (Fig. 13). De esta manera los resultados mostraron que ambos parámetros se vieron incrementados como consecuencia de la ingesta de una dieta con un 20% de grasa, pero fueron disminuidos por la presencia de CLA. Así, la ingesta de grandes cantidades de lípidos aumentaría la captación de AG por parte de la LPL muscular, que no sería compensado por una mayor oxidación, lo que estaría reflejado por un incremento del contenido de TG en este tejido. La incorporación de CLA a la dieta con elevado contenido lipídico podría prevenir este efecto, disminuyendo la actividad LPL con la consecuente normalización de los niveles musculares de TG.

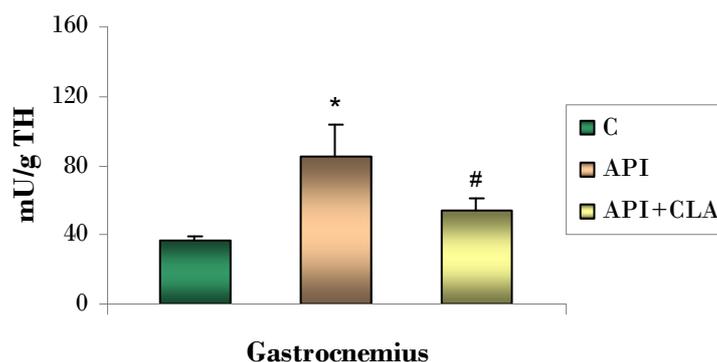


Figura 14: efecto de la ingesta de CLA sobre la actividad LPL en músculo gastrocnemius. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C, API y API+CLA: n=5. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

### 1.D.1.2.- Actividad LPL en tejido adiposo epididimal

Al analizar los efectos de la cantidad (7 o 20%) de grasa dietaria no se observaron modificaciones en la actividad de la enzima LPL en tejido adiposo epididimal. La ingesta de CLA incrementó la actividad enzimática expresada por gramo de tejido, no obstante, dado que el peso del tejido adiposo disminuyó en un

85%, la contribución de la actividad LPL del tejido adiposo a la remoción de TG en el animal entero fue disminuida a la mitad (Fig. 15).

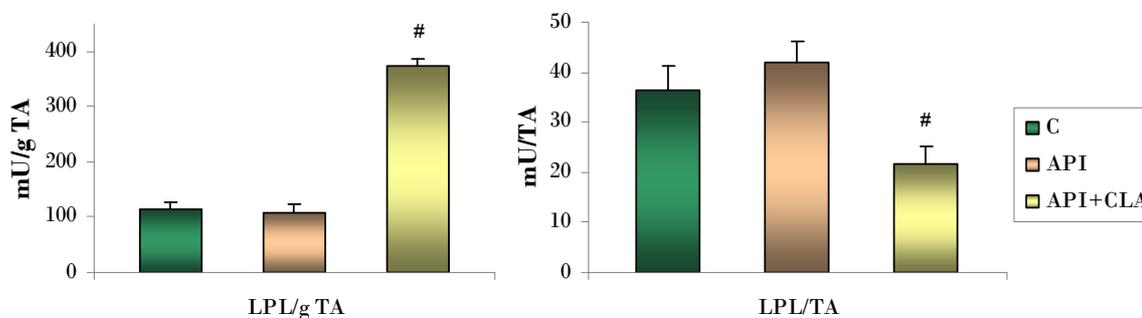


Figura 15: efecto de la ingesta de CLA sobre la actividad LPL en TA epididimal. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C y API: n=6; API+CLA: n=5. #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencia evaluada a través de test de Student.

### **1.D.2.- Secreción hepática “in vivo” de TG-pre- $\beta$ lipoproteínas (VSTG)**

La ingesta de elevados niveles de grasa dietaria incrementó en un 90% la VSTG, aunque la dieta conteniendo CLA disminuyó este parámetro (Fig. 16).

Con respecto al tamaño del pool de TG, que representa la cantidad total de TG que circulan en el animal en ayunas, los resultados obtenidos fueron; ( $\mu\text{mol}/100\text{g}$ ), C:  $4,10 \pm 0,56$ ; API:  $4,27 \pm 0,48$ ; API+CLA:  $3,09 \pm 0,19$ <sup>#</sup> (#  $p < 0,05$  API+CLA vs API).

El leve aumento de TG plasmáticos observado en los animales alimentados con altos niveles de grasa podría estar relacionado a la elevada VSTG. Por otro lado, la presencia de CLA en la dieta podría, a través de la disminución de la secreción hepática de TG observada en los animales alimentados con dietas de alto contenido graso, contribuir al acúmulo exacerbado de lípidos hepáticos que caracteriza a estos isómeros y que hemos observado en nuestro modelo dietario.

También podría relacionarse a la disminución del total de TG circulantes en ayunas.

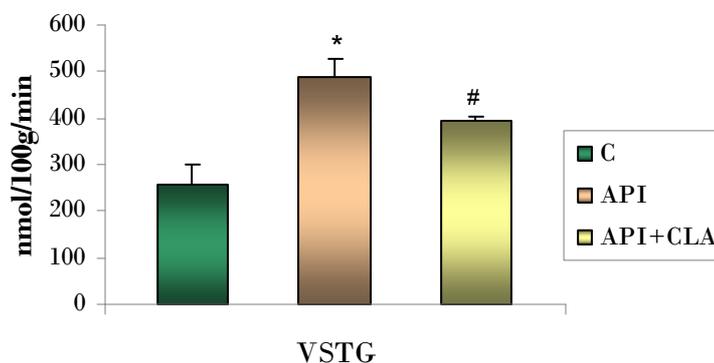


Figura 16: efecto de la ingesta de CLA sobre la VSTG. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C, API y API+CLA: n=6. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

### 1.E.- PARÁMETROS RELACIONADOS AL STRESS OXIDATIVO HEPÁTICO

En la Fig. 17 se muestran los resultados obtenidos de las determinaciones de parámetros relacionados al stress oxidativo hepático.

Al comparar los efectos de la cantidad (7 o 20%) de grasa dietaria, se observó un aumento en los niveles de LPO (+26,5%) en el grupo API, acompañado de un descenso significativo de la actividad catalasa (-26%).

La ingesta de CLA y alto contenido de grasa dietaria normalizó los niveles de LPO, alcanzando valores similares a los del grupo control. Dicha normalización no estuvo asociada a una actividad normal de la enzima catalasa hepática dado que la misma mostró niveles aun inferiores a los controles. En este sentido, los altos niveles de GSH encontrados en este grupo podrían quizás mediar la normalización del estado oxidativo a nivel hepático.

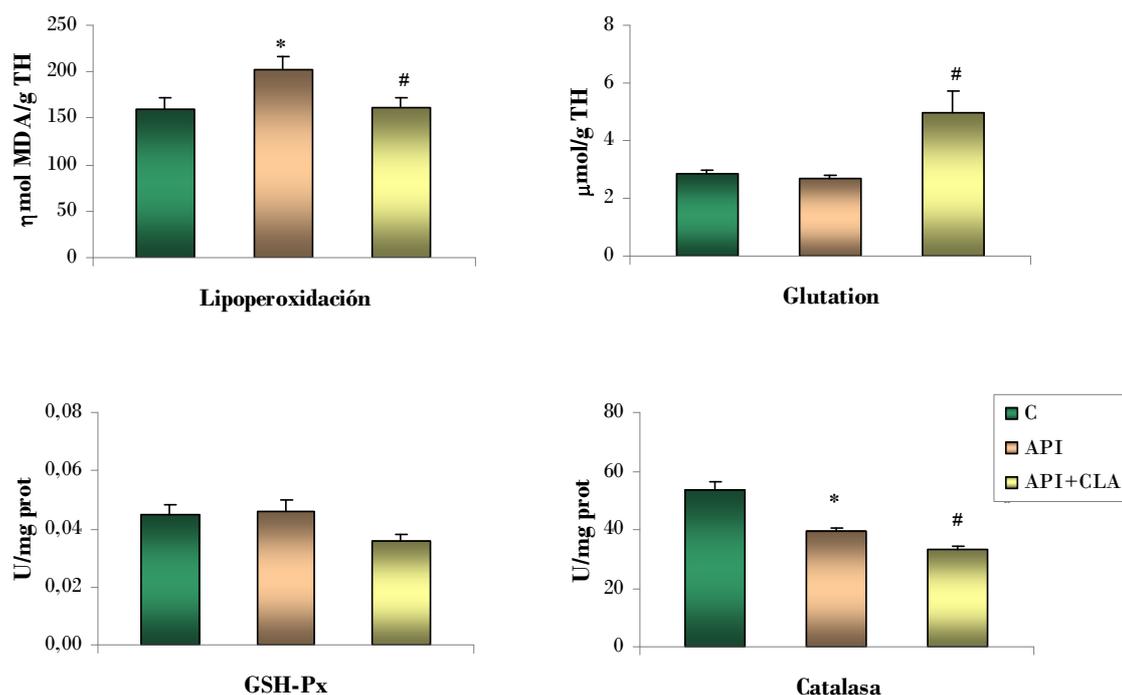


Figura 17: efecto de la ingesta de CLA sobre parámetros relacionados al stress oxidativo hepático. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C, API y API+CLA: n=5. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

## 1.F.- CONTENIDO DE METABOLITOS ENERGÉTICOS.

Se evaluó el efecto de los CLA sobre ciertos metabolitos energéticos: ATP, creatina-P y creatina en músculo, y ATP en hígado.

Como puede observarse en la tabla 5, los niveles de ATP en hígado y músculo gastrocnemius no mostraron variaciones entre los distintos grupos dietarios. A nivel muscular, se encontró un aumento del contenido de creatina-P como consecuencia de la ingesta de elevados niveles de grasa dietaria, asociado a una disminución de los valores de creatina, que no alcanzó significancia estadística. Estos cambios generaron un incremento de la relación creatina-P/creatina del 85% como consecuencia de la ingesta de altos niveles de grasa. La ingesta de CLA no modificó

los niveles de creatina y creatina-P alterados por la dieta API. Los valores de creatina total no fueron afectados por ninguno de los tratamientos dietarios.

	DC	API	API+CLA
<b>Hígado (<math>\mu\text{mol/g TH}</math>)</b>			
ATP	0,88 $\pm$ 0,08	1,14 $\pm$ 0,11	1,00 $\pm$ 0,09
<b>Músculo Gastrocnemius (<math>\mu\text{mol/g TH}</math>)</b>			
ATP	6,08 $\pm$ 0,68	5,51 $\pm$ 0,29	6,01 $\pm$ 0,21
Creatina	19,08 $\pm$ 4,28	14,35 $\pm$ 1,46	14,70 $\pm$ 0,75
Creatina-P	8,73 $\pm$ 0,44	11,93 $\pm$ 0,25*	11,91 $\pm$ 0,22
Creatina total	27,81 $\pm$ 2,66	26,27 $\pm$ 1,34	26,61 $\pm$ 0,83

Tabla 5: efecto de la ingesta de CLA sobre el contenido de metabolitos energéticos. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; diferencia evaluada a través de test de Student.

## 1.G.-PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO DE LA GLUCOSA

Dada la interrelación metabólica entre los lípidos y los hidratos de carbono, evaluamos la influencia de los CLA a elevados niveles de grasa dietaria sobre el contenido de distintos intermediarios relacionados a la utilización y metabolización de la glucosa en hígado y músculo gastrocnemius.

Primeramente se determinaron las concentraciones de glucosa en los animales en condición de alimentados, encontrándose los siguientes valores (g/l):

C:  $1,43 \pm 0,05$ ; API:  $1,86 \pm 0,15$ ; API+CLA:  $2,10 \pm 0,23$ ; sin observarse diferencias entre los grupos.

### **1.G.1.- Parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en hígado**

Los niveles de glucosa y G-6-P hepáticas no mostraron modificaciones como consecuencia de la ingesta de elevados niveles de grasa dietaria. Se observó un aumento significativo del contenido de F-6-P, como se observa en la Fig. 18, y una tendencia hacia valores menores de F-1,6-P<sub>2</sub> a causa de la ingesta de dietas ricas en grasa. De esta manera, se encontró alterado el flujo a través de la enzima FosfoFructo-Kinasa-1 $\alpha$  (PFK-1 $\alpha$ ), reflejado a través de una disminución en un 50% de la relación F-1,6-P<sub>2</sub>/ F-6-P. La ingesta de elevada cantidad de grasa dietaria también generó un aumento muy significativo del contenido hepático de citrato (Fig. 19). La ingesta de CLA a elevados niveles de grasa dietaria no modificó los niveles de glucosa y G-6-P hepáticas. Asimismo los niveles de F-6-P y F-1,6-P<sub>2</sub> se mantuvieron alterados como en el grupo API, manteniendo así la relación F-1,6-P<sub>2</sub>/ F-6-P un 40% menor que el grupo control. Sorprendentemente, la dieta rica en CLA produjo un gran aumento de la concentración hepática de lactato, sin afectar el contenido de piruvato, duplicando de esta manera la relación lactato/piruvato. En estos animales, si bien los niveles de citrato disminuyeron ligeramente, se mantuvieron por encima de los niveles controles.

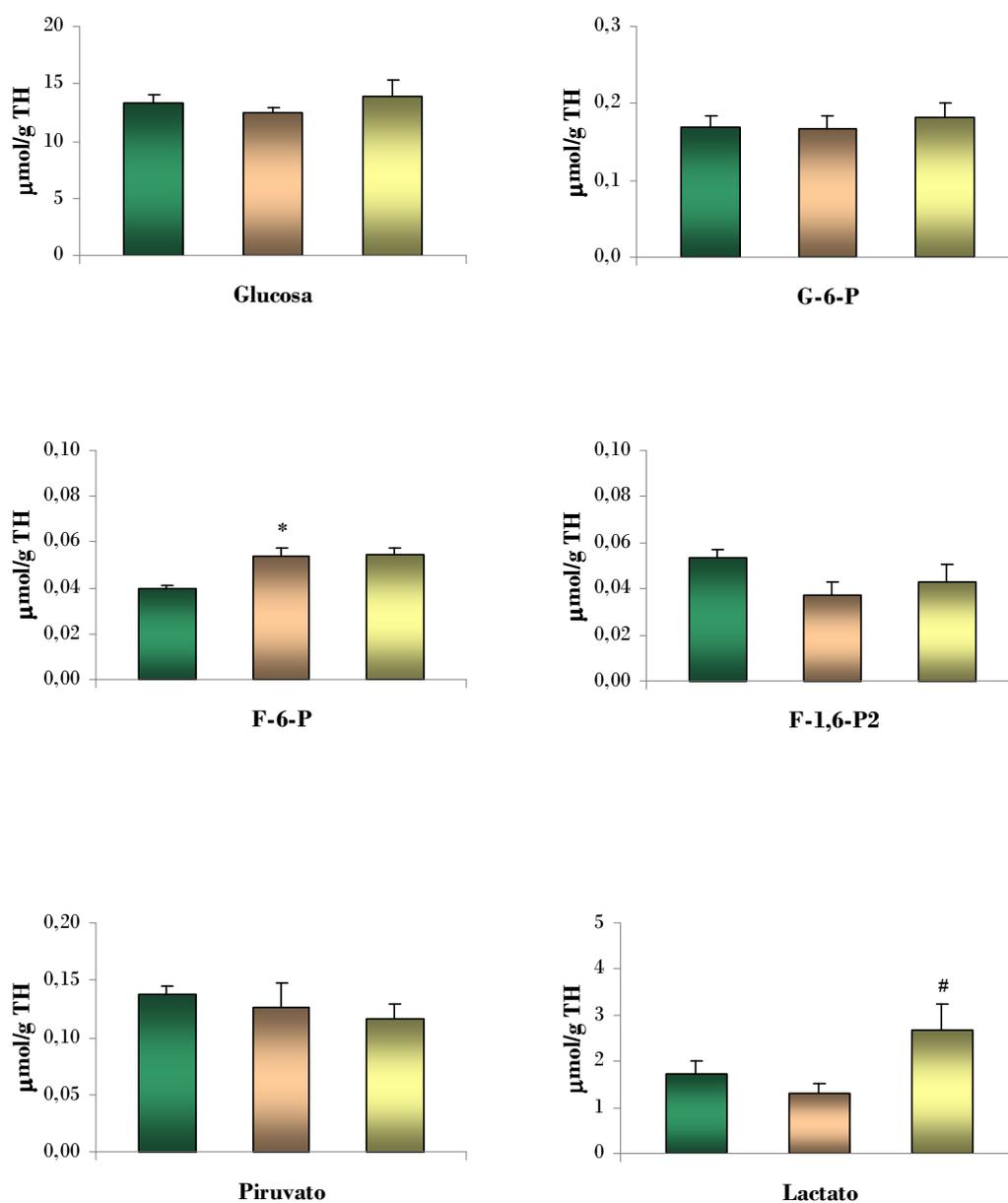


Figura 18: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de metabolitos glucolíticos en hígado. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

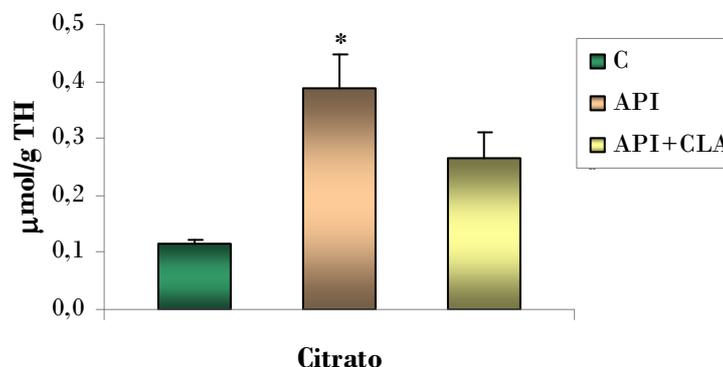


Figura 19: efectos de los CLA sobre los niveles de citrato en hígado. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; diferencia evaluada a través de test de Student.

Los niveles de G-1-P en hígado se encontraron aumentados por efecto de la ingesta de dietas ricas en grasa. A partir de este metabolito se lleva a cabo la síntesis de glucógeno, lo cual se ve reflejado en el aumento de su contenido hepático en el grupo API a expensas de un aumento en la fracción macroglucógeno (MG) (Fig. 21). La ingesta de CLA a elevados niveles de grasa dietaria incrementó aun más los elevados niveles de glucógeno observados con dietas ricas en grasa. Dicho incremento se vio asociado a un aumento del 34 y 18% en las fracciones MG y PG respectivamente, alcanzando diferencia significativa solo en este último.

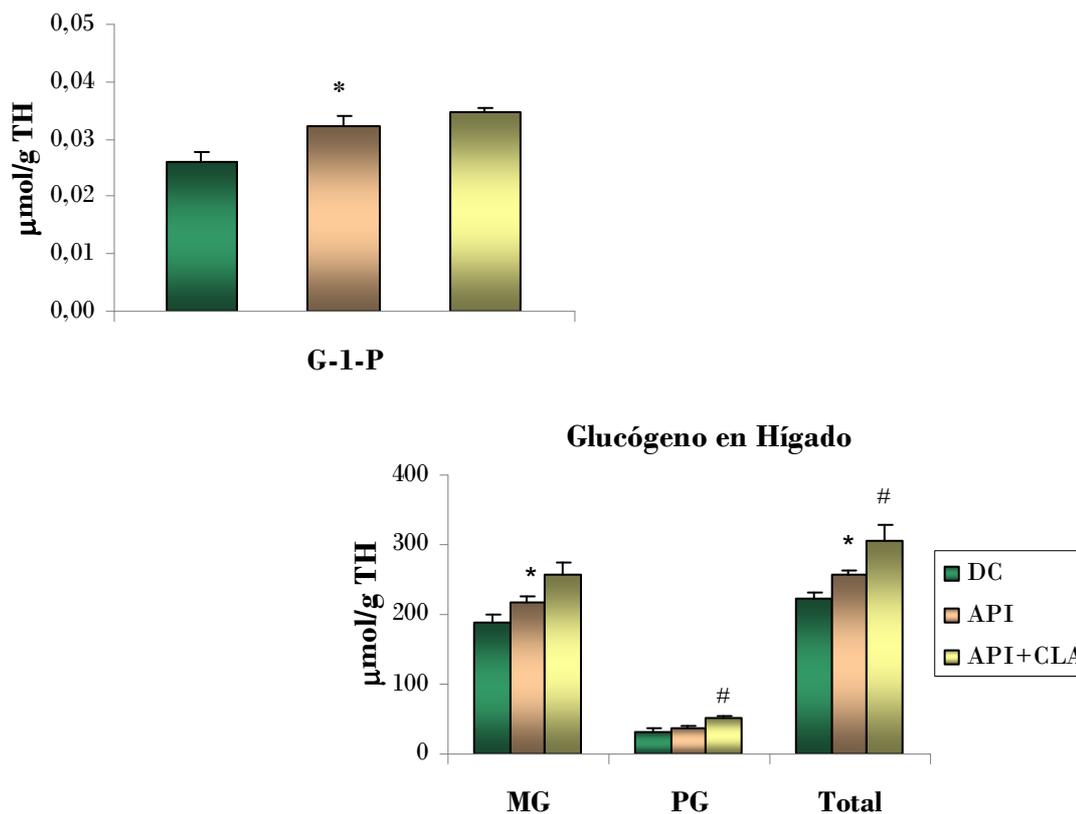


Figura 20: concentraciones de G-1-P y glucógeno total, pro- y macro-glucógeno en hígado. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

### 1.G.2.- Parámetros relacionados al metabolismo de la glucosa en músculo gastrocnemius

Con respecto a los metabolitos glucolíticos proximales en músculo gastrocnemius, se observó que la ingesta de elevadas cantidades de grasa dietaria no produjo efectos sobre las concentraciones de glucosa, G-6-P ni F-6-P (Fig. 21). Por otra parte, se halló una marcada disminución en el contenido de F-1,6-P<sub>2</sub>, con un concomitante descenso del flujo a través de la PFK-1 al 56% de su valor normal. Las concentraciones de lactato y piruvato, así como las de citrato (Fig. 22) no fueron alteradas por el consumo de altas cantidades de grasa. La ingesta de CLA a elevados niveles de grasa dietaria aumentó los niveles de G-6-P y F-6-P en músculo

gastrocnemius, mientras que la concentración de F-1,6-P<sub>2</sub> fue similar a la del grupo API e inferior a la del grupo control. Así, el flujo a través de la PFK-1 se vio disminuido aun en mayor medida (a un 30% del valor normal). Con respecto a las concentraciones de lactato, se pudo observar que incrementaron levemente en el grupo API+CLA, pero no en tanta magnitud como fue observado en el hígado. A diferencia de lo hallado en este órgano, la ingesta de CLA no afectó el contenido muscular de citrato (Fig. 22).

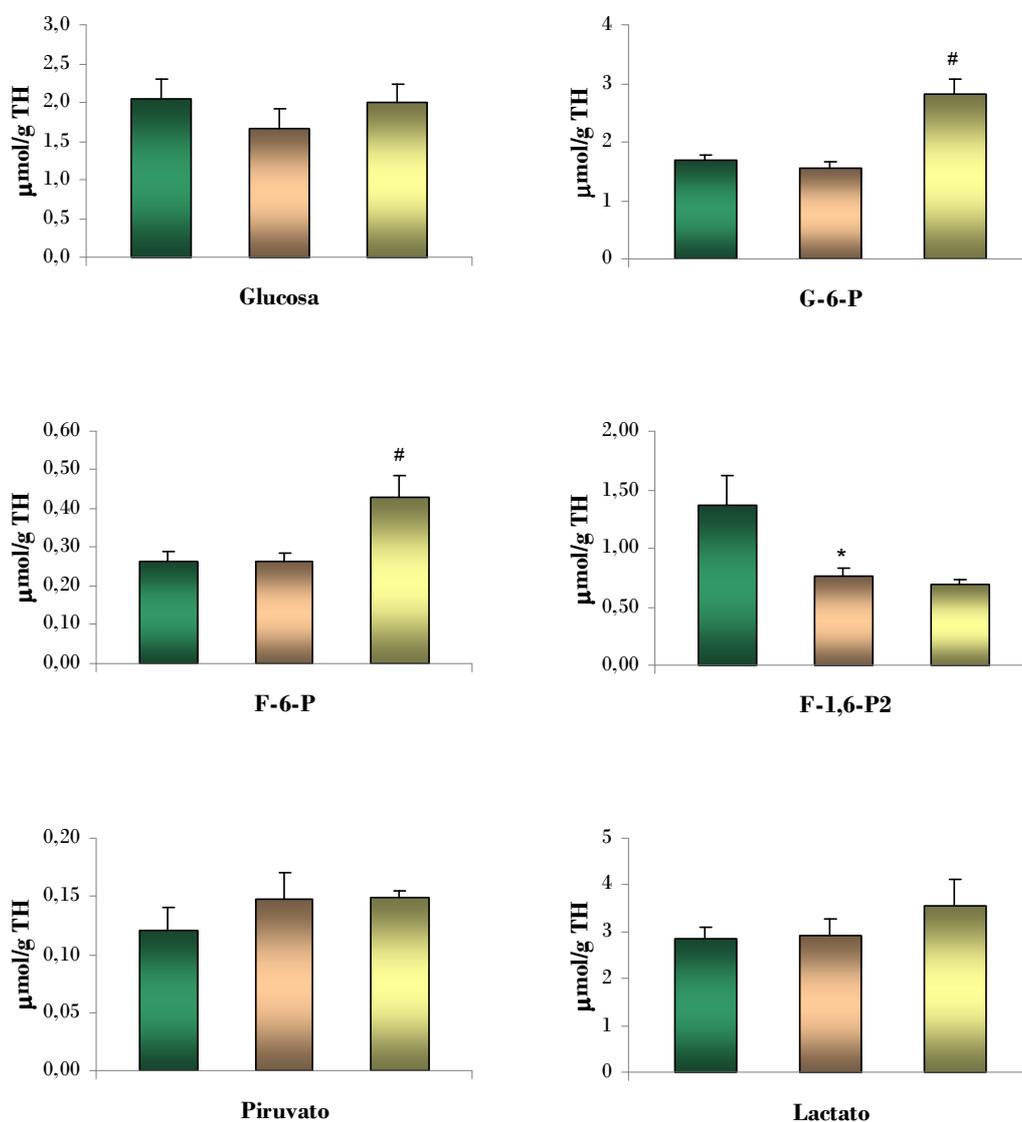


Figura 21: efecto de la ingesta de CLA sobre los niveles de metabolitos glucolíticos en músculo gastrocnemius. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

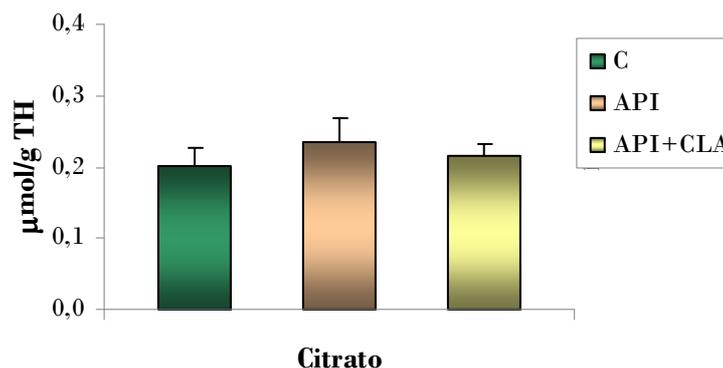


Figura 22: efectos de los CLA sobre los niveles de citrato en músculo gastrocnemius. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7.

La ingesta de dieta rica en grasa insaturada aumentó los niveles de glucógeno total en un 26%, relacionado a incrementos semejantes (26 y 43%) de las fracciones PG y MG, que no alcanzaron significancia estadística. La adición de CLA no previno las alteraciones inducidas por el elevado contenido de grasa dietaria (Fig. 23).

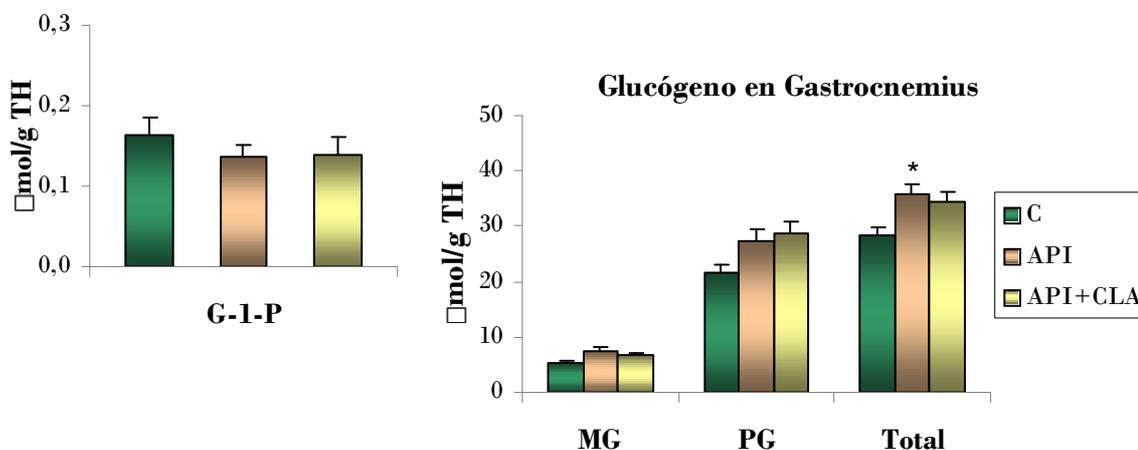


Figura 23: concentraciones de G-1-P, glucógeno total, pro- y macro-glucógeno en músculo gastrocnemius. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API: n=6 y API+CLA: n=7. \*  $p < 0,05$  API vs C, diferencia evaluada a través de test de Student.

## **2.- ESTUDIO DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA**

Para estas experiencias se seleccionó el empleo de ratones de la cepa CF-1 machos y hembras. La edad elegida tuvo en cuenta que los animales sean sometidos al tratamiento dietario a partir del destete para así evaluar el potencial impacto de la ingesta de CLA desde etapas tempranas de la vida sobre la reproducción. Se utilizaron las mismas dietas que en el estudio del status metabólico.

### **2.A.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRA**

No se observaron diferencias en la ganancia de peso corporal entre los diferentes grupos durante los 30 días de tratamiento dietario previos al apareo (media  $\pm$  SEM de los valores correspondientes a la primera generación expresados en g/30 d: C:  $9,42 \pm 1,31$ , API:  $10,97 \pm 1,37$ , API+CLA:  $11,45 \pm 1,36$ ;  $p > 0.05$ ). Estos resultados son similares a los obtenidos durante el estudio del status metabólico y en la experiencia de segunda generación.

### **2.B.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN RATONES HEMBRA**

Cuando se analizaron los efectos de la cantidad (7 o 20%) de grasa dietaria sobre parámetros reproductivos en hembras en la primera generación, no se observaron modificaciones estadísticamente significativas en el ciclo estral ni en el número de fetos. Sin embargo, las hembras que recibieron altos niveles de grasa dietaria presentaron resorciones (mientras que aquellas que recibieron dieta control

no lo hicieron) y una tendencia a disminuir el número de fetos (Tabla 6). La ingesta de CLA no modificó los parámetros estudiados.

En la segunda generación, el aumento del contenido de grasa dietaria produjo una tendencia más marcada que en la primera generación a disminuir el número de fetos y a aumentar la presencia de fetos resorbidos. En presencia de CLA estas alteraciones fueron agravadas.

	C	API	API+CLA
<b>Primera Generación</b>			
Número de Fetos	12,0±1,8	10,7±0,9	10,1±0,7
% de Hembras que presentaron resorciones	0	16	12,5
<b>Segunda Generación</b>			
Número de Fetos	12,0±0,7	8,8±1,7	6,6±1,4
% de Hembras que presentaron resorciones	0	25	37

Tabla 6: efecto de la ingesta de CLA sobre número de fetos por hembra y porcentaje de hembras que presentaron resorciones. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=6, API: n=8 y API+CLA: n=8.

## **2.C.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN PLACENTARIA DE IL-4**

En todos los casos se observó la expresión de interleuquina (IL)-4 en las áreas tanto de sincisio- como cito-trofoblasto de los cortes histológicos (Fig. 24).

Al analizar la expresión en la primera generación, el número de células con tinción positiva fue significativamente menor en el grupo API comparado con el grupo C. El tipo de ácido graso en las dietas experimentales afectó la expresión placentaria de IL-4, observándose niveles significativamente más bajos en el grupo PI+CLA (63% de decrecimiento comparado con el grupo API) (Fig 25).

En la segunda generación no se encontraron diferencias en los niveles de IL-4 entre los grupos C y API, mientras que cuando se compararon los niveles de expresión del grupo API+CLA con respecto al grupo API se encontró una disminución estadísticamente significativa (Fig 25).

## **2.D.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN PLACENTARIA DE TNF- $\alpha$**

En la mayoría de los casos, la expresión de factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) se detectó en el área de sincisiotrofoblasto (Fig. 24).

En las placentas procedentes de la primera generación, la expresión de TNF- $\alpha$  no fue afectada por la cantidad ni por el tipo de grasa dietaria (Fig. 25).

En la segunda generación, la cantidad de grasa dietaria afectó los niveles de TNF- $\alpha$ , siendo mayores en el grupo API que en el control. La ingesta de CLA indujo una disminución aun mayor (Fig. 25).

## 2.E.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE LA EXPRESIÓN PLACENTARIA DE TGF- $\beta$

Al evaluarse la expresión placentaria del factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), se observó que la distribución celular fue similar en todos los grupos; las células inmunoreactivas hacia TGF- $\beta$  se localizaron tanto en áreas de sincisio- como de citotro-foblasto (Fig. 24).

En la primera y segunda generación, la cantidad de grasa dietaria no afectó la expresión placentaria de TGF- $\beta$ . Sin embargo, la presencia de CLA en la dieta disminuyó significativamente la expresión placentaria de esta citoquina (Fig. 25).

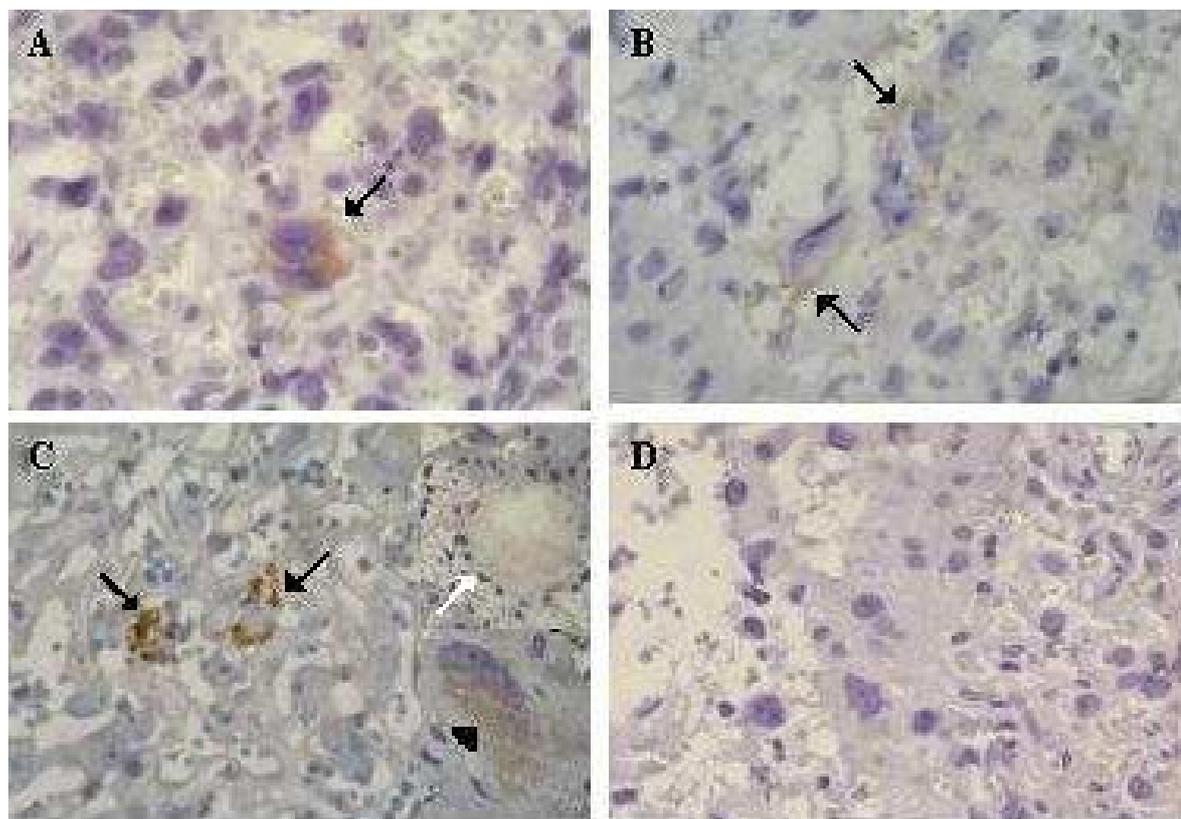


Figura 24: cortes histológicos representativos de la expresión placentaria de citoquinas en el grupo API+CLA (A, B, C). Los mismos fueron inmunomarcados con anticuerpos monoclonales anti- IL-4 (A), anti-TNF $\alpha$  (B) y anti-TGF $\beta$  (C). La flecha muestra células positivas en área de citotrofoblasto (A), y sincisiotrofoblasto (B). En el cuadro C, células inmunomarcadas en el área de citotrofoblasto (flecha), y célula positiva en el área de sincisiotrofoblasto (cabeza de flecha). D) Control negativo.

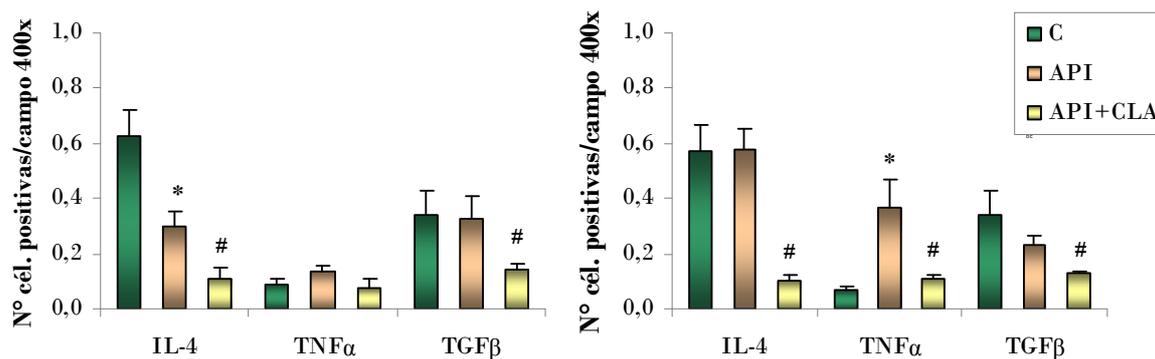


Figura 25: Efecto de la ingesta de CLA sobre la expresión en placenta de IL-4, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$  en primera (izquierda) y segunda (derecha) generación. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=8, API y API+CLA: n=10 en ambas generaciones. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

## 2.F.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PESO CORPORAL Y PESO DE ÓRGANOS DE RATONES MACHO EN REPRODUCCIÓN

Como se había observado en el estudio del status metabólico, la ganancia de peso corporal no mostró diferencias entre los grupos dietarios durante el período experimental, (media  $\pm$  SEM de los valores correspondientes a la primera generación expresados en g/30 d: C:  $11,10 \pm 0,70$ ; API:  $14,19 \pm 1,33$ ; API+CLA:  $13,34 \pm 1,63$ ;  $p > 0,05$ ).

Tanto en la primera como en la segunda generación se halló un marcado descenso en el peso del tejido adiposo epididimal, tal como se había observado en el estudio del status metabólico. Este hallazgo no se vio acompañado por diferencias en los pesos de los testículos de los grupos pertenecientes a la primera y a la segunda generación (data no mostrada).

## 2.G.-EFECTO DE LOS CLA SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE RATONES MACHO

Los efectos de las diferentes dietas sobre el recuento espermático, motilidad y reacción acrosomal se evaluaron en machos de la primera y segunda generación. No se hallaron diferencias en recuento ni en motilidad espermáticas (Tabla 7), aunque se observó una tendencia hacia la disminución de ambos parámetros en los animales alimentados con CLA en en la primera generación.

	C	API	API+CLA
<b>Primera Generación</b>			
Recuento de Espermatozoides ( $\times 10^6$ )	20,1 $\pm$ 1,5	21,1 $\pm$ 2,5	15,2 $\pm$ 1,3
Motilidad (%)	83 $\pm$ 3	77 $\pm$ 4	69 $\pm$ 3
<b>Segunda Generación</b>			
Recuento de Espermatozoides ( $\times 10^6$ )	19,7 $\pm$ 3,3	22,9 $\pm$ 2,7	21,9 $\pm$ 3,8
Motilidad (%)	76 $\pm$ 1	74 $\pm$ 2	67 $\pm$ 8

Tabla 7: efecto de la ingesta de CLA sobre recuento y motilidad espermáticas. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=5, API y API+CLA: n=8. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.

En la primera generación, la cantidad de grasa dietaria afectó la reacción acrosomal inducida a todos los tiempos evaluados, pero a altos niveles de grasa dietaria, la presencia de CLA no afectó an más dicha reacción. (Fig. 26). Sin embargo, en la segunda generación, la cantidad de grasa dietaria no afectó la reacción acrosomal inducida a ninguno de los tiempos evaluados, pero sí se observó

una modificación por el tipo de isómero consumido: la dieta rica en CLA redujo la tasa de reacción acrosomal en un 45% a los 30 min, 19% a los 60 min y 26% a los 90 min con respecto al grupo API (Fig. 26).

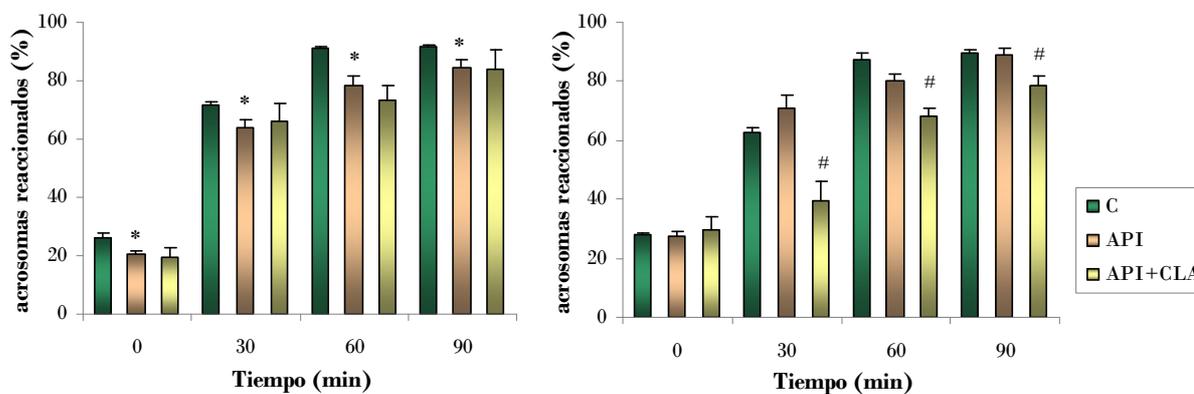


Figura 26: Efecto de los CLA sobre la reacción acrosomal inducida por el ionóforo de calcio A23187 en espermatozoides de ratón. Valores expresados como media  $\pm$  SEM. C: n=8, API y API+CLA: n=10. \*  $p < 0,05$  API vs C; #  $p < 0,05$  API+CLA vs API, diferencias evaluadas a través de test de Student.