

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



**Tesis para la obtención del Grado Académico de
Doctor en Ciencias Biológicas**

**ÁCIDOS GRASOS TRANS DIETARIOS: INTERACCIÓN NUTRICIONAL
CON LAS DIFERENTES FAMILIAS DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS**

Lic. Juliana Saín

Director de Tesis: Dr. Claudio Adrián Bernal

Co-director de Tesis: Dra. Marcela Aída González

Cátedra de Bromatología y Nutrición – Departamento de Ciencias Biológicas

FBCB – UNL

- 2014 -

*“Vive como si fueras a morir mañana.
Aprende como si fueras a vivir siempre”*

Mahatma Gandhi (1869 – 1948)

Agradecimientos

En este apartado quisiera agradecer a todos los que me acompañaron durante este tiempo y que hicieron posible la realización y finalización de mi Doctorado en Ciencias Biológicas.

A la Universidad Nacional del Litoral por la posibilidad de iniciarme en este camino otorgándome una beca doctoral, por darme la oportunidad de desempeñarme como docente y por proporcionarme los medios, a través de proyectos de investigación, para llevar adelante mi trabajo diario.

A la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, donde me formé inicialmente como Licenciada en Biotecnología y donde continué mi camino profesional en la carrera de posgrado.

Al CONICET por la beca de posgrado tipo II que hizo posible la finalización de mi Doctorado.

A Claudio, mi director, por abrirme las puertas de la cátedra para que me desarrolle como profesional y como persona, y por el tiempo dispuesto para la escritura de esta Tesis.

A Marcela, mi co-directora, por las palabras de aliento constantes, por la buena onda, por la sonrisa de todos los días, por el apoyo incondicional, por contenernos, pero sobre todo por ser una madre y una amiga.

A Victoria, por ser parte del motor que llevó adelante el trabajo diario, por enseñarme el paso a paso en el laboratorio, por "allanarme el camino", por su amistad, por sostenerme en momentos difíciles y por alegrarse con mis pequeños logros.

A Anita, por ser parte del trabajo de todos los días, por su sinceridad y palabras justas, por las risas y las lágrimas compartidas y por oficiar de chofer en muchos momentos.

A María Rosa, por los momentos de distracción compartiendo anécdotas e historias familiares, sobre todo en los almuerzos.

A Jimena, por escucharme, por su buena disposición, por su paciencia y por tratar de entenderme a pesar de mis excesos de rosa.

A Carolina, por compartir la travesía de volver a Paraná todos los días y por tenerme al tanto de los horarios de salida del colectivo.

A “mis chiquitas”: Ainelén, por haber transitado una parte de este camino ayudándome con algunas experiencias; y Emilse, por su sonrisa, buena onda y por cuidar de mi salud nutricional.

A Betty, por sus visitas descontracturadas al Box para hacerme tomar una pausa, mirar por la ventana, contemplar el maravilloso paisaje que nos brinda la Reserva y por enseñarme a apreciar cosas tan simples como la migración de las garzas.

Al resto de los docentes de la cátedra y a todos los que integran el Departamento de Ciencias Biológicas, por los intercambios de pasillo.

A María del Puy Portillo y Arrate Lasa por su contribución en parte de este trabajo, por las enseñanzas a distancia y por el tiempo dedicado.

A todo el LEM, por ser parte de mis recreítos obligados, por los mates, la buena onda y hacerme una más de sus innumerables festejos.

A Evange, mi amiga de toda la vida y hermana por elección, por tantos años de amistad, por su apoyo de siempre, por los chats matutinos y por la taza y el mate que me acompañaron durante todo el doctorado.

A mis amigas artistas, por su paciencia para entender lo que hago e interesarse siempre por mis avances. A Yas, por su amistad, por ser mi hermana mágica, por conocerme tanto. A Vane, por su luz. A Belu, por su arte.

A la familia Hartman, por el cariño que me brindaron desde el primer momento. A mis cuñados: Vanina, Mario y Ana por compartir con alegría mis logros. A mis sobrinos Juan, Juli y Flor por ser la lucecita constante que alegra mi corazón. A mis suegros, Aurora y Julio, por sus enseñanzas de perseverancia, lucha y, sobre todo, amor. Gracias por ser también mis padres.

A Oli, por su amor incondicional, por su alegría al recibirme todos los días y por su compañía durante los días de trabajo en casa.

A mis hermanos, Nicolás y Marcos, por el amor, la admiración, por estar siempre dispuestos para lo que necesite.

A mis papás, por hacerme la persona que soy, por estar siempre presentes en cada paso que doy, por ayudarme a tomar decisiones, por el empuje que me dan en todo lo que emprendo. Gracias por todo el amor que tienen para mí.

A Mati, mi compañero de vida, por demostrarme todos los días que no necesito más que su compañía para ser feliz. Gracias por escucharme, entenderme y apoyarme cada vez que lo necesité. Por compartir conmigo las alegrías y los fracasos de esta profesión. Gracias por el día a día. Gracias por toda la vida que nos resta vivir juntos.

Finalmente, gracias a todos los que estuvieron, están y estarán en mi vida, porque cada uno que pasa me deja una enseñanza, cada uno marca mi corazón en algún lugar especial... y porque nada es posible sin las personas que nos rodean.

A todos... muchas gracias.

Juliana

Publicaciones y Presentaciones a Congresos

Parte de los resultados de esta tesis fueron publicados, o se encuentran en revisión, en revistas de divulgación científica y se han presentado en numerosos congresos nacionales e internacionales.

Trabajos publicados

- Saín, J.; González, M.A.; Lasa, A.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A.; Portillo, M.P. (2013). *Effects of trans fatty acids on liver lipid metabolism in mice fed on diets showing different fatty acid composition*. Annals of Nutrition and Metabolism 62 (3): 240-247. DOI: 10.1159/000339453. ISSN: 0250-6807
- Saín, J.; González, M.A.; Lavandera, J.V.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A. (2014). *Interaction between trans fatty acid and dietary fats on tissue fatty acid composition in mice*. En revisión en European Journal of Lipid Science and Technology. Manuscript number: ejlst.201400287

Presentaciones a congresos

Resúmenes publicados en revistas internacionales de publicación periódica

- Saín, J.; González, M.A.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A. (2013). *Hepatic oxidative status in mice fed with diets containing trans fatty acids and different unsaturated fatty acid sources*. Biocell 37 (3), A156.

Presentado en XV Congreso y XXXIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario (SBR). 28 y 29 de noviembre de 2013, Zavalla, Santa Fe, Argentina.

- Bernal, C.A.; Saín, J.; Scalerandi, M.V.; González, M.A. (2011). *Effects of incorporation of trans Fatty Acids in Liver in Lipid Metabolism in Mice Fed with Diets Containing Different Fatty Acid Composition*. European Journal of Lipid Science and Technology 113 (S1) 58. ISSN (impresa): 1438-7697. ISSN (Online): 1438-9312

Presentado en 9th Euro Fed Lipid Congress, Oils, Fats and Lipids: for a Health and Sustainable World. 18 al 21 de Septiembre de 2011, Rotterdam, The Netherlands.

- González, M.A.; Saín, J.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A. (2010). *Efectos de la interacción de los ácidos grasos trans (AGt) con dietas ricas en diferentes ácidos grasos insaturados (AGI) sobre la lipogénesis y β -oxidación hepática en animales de experimentación*. Nutrición Hospitalaria, 25 (Supl. 1): p 135. ISSN (Versión papel): 0212-1611 ISSN (versión electrónica): 1699-5198.

Presentado en II Congreso de la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD). 3 a 5 de Marzo de 2010, Barcelona España.

- Lasa, A.; Saín, J.; González, M.A.; Bernal, C.A.; Portillo, M.P. (2010). *Effect of trans fatty acids on lipogenic and oxidative enzyme expression in liver of mice fed an olive oil enriched diet*. Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics 3(2-3): 49-126. ISSN: 1661-6499.

Presentado en 4th Congress of the International Society of Nutrigenetics/Nutrigenomics (ISNN). 18 al 20 de Noviembre de 2010, Pamplona, España.

Resúmenes publicados en revistas nacionales de publicación periódica

- Saín, J.; González, M.A.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A. (2011). *Incorporación e interconversión de Ácidos Grasos trans Vaccénico y Elaídico en ratones alimentados con diferente perfil de Ácidos Grasos*. INVENIO 14 (26): 34. ISSN 0329-3475.

Radosevich, A.; Saín, J.; Bernal, C.A.; González, M.A. (2011). *Efecto de los Ácidos Grasos trans dietarios sobre el metabolismo de lípidos hepáticos en animales alimentados con aceite de oliva*. INVENIO 14 (26): 35. ISSN 0329-3475.

Presentados en XXXIV Reunión anual del Capítulo Argentino de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (CASLAN) y II Jornadas Internacionales de Actualización en Nutrición y Tecnología de Alimentos. 15 y 16 de Septiembre de 2011, Rosario, Santa Fe, Argentina.

- Saín, J.; González, M.A.; Bernal, C.A. (2010). *Lipogénesis y β -oxidación hepática. Estudio de la interacción entre ácidos grasos trans (AGt) dietarios y ácidos grasos insaturados de las familias n-3, n-6 y n-9 en ratones*. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas 67 (2): 20. ISSN 0014-6722.

Presentado en XXXIII Reunión anual de CASLAN y II Jornadas Internacionales de Actualización en Nutrición y Tecnología de los Alimentos. 14 y 15 de Octubre de 2010, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Presentaciones orales en congresos, encuentros y jornadas

- Saín, J.; González, M.A.; Lavandera, J.V.; Bernal, C.A. *Interacción entre la ingesta de ácidos grasos trans y diferentes aceites comestibles en el perfil de ácidos grasos tisulares en ratón*. VI Jornadas de Bioquímica y Biología Molecular de Lípidos y Lipoproteínas. 31 de Julio y 1° de Agosto de 2014. FBCB, UNL. Santa Fe
- Saín, J.; González, M.A.; Lasa, A.; Scalerandi, M.V.; Portillo, M.P.; Bernal, C.A. *Efecto de los Ácidos Grasos trans sobre el metabolismo lipídico en ratones alimentados con dietas con diferente composición de Ácidos Grasos*. V Jornadas de Bioquímica y Biología Molecular de Lípidos y Lipoproteínas. 10 y 11 de julio de 2012. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Presentación de trabajos en congresos, encuentros y jornadas

- Saín, J.; González, M.A.; Lavandera, J.V.; Bernal, C.A. *Nutritional interaction between trans fatty acids and unsaturated fatty acids from different sources on regulation of triglyceride metabolism*. 20th International Congress of Nutrition (20th ICN). 15 al 20 de septiembre de 2013, Granada, España.
- Saín, J.; González, M.A.; Scalerandi, M.V.; Lavandera, J.; Bernal, C.A. *Regulación de triglicéridos en ratones alimentados con Ácidos Grasos trans y dietas con diferente perfil de Ácidos Grasos Insaturados*. XVI Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN). 11 al 16 de noviembre de 2012, La Habana, Cuba.
- Radosevich, A.; Saín, J. *Interacción nutricional entre ácidos grasos trans dietarios y ácidos grasos insaturados n-9. Efectos sobre el metabolismo lipídico*. 14º Encuentro de

Jóvenes Investigadores de la UNL y 5º Encuentro de Jóvenes Investigadores de Universidades de Santa Fe. 3 y 4 de Noviembre de 2010, UNL, Santa Fe, Argentina.

- Radosevich, A.; Saín, J.; Bernal, C.A.; González, M.A. *Efecto de los ácidos grasos trans (AG-t) dietarios sobre el metabolismo de lípidos hepáticos en dietas conteniendo aceite de oliva en animales de experimentación*. II Congreso Internacional en Nutrición y Tecnología de los Alimentos (CINTA). 20 y 21 de agosto de 2010, Mendoza, Argentina.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	10
ÍNDICE DE FIGURAS	15
ÍNDICE DE TABLAS	17
ABREVIATURAS	18
RESUMEN	21
ABSTRACT	24
INTRODUCCIÓN	28
1. Dieta y salud: una problemática en estudio	28
1.1. Evolución del consumo de grasas y sus recomendaciones	28
1.2. Los ácidos grasos	30
1.3. Ácidos grasos dietarios	32
1.4. Fuentes principales de ácidos grasos dietarios	37
2. Los ácidos grasos <i>trans</i>	38
2.1. Fuentes de ácidos grasos <i>trans</i>	38
2.2. Metabolismo de los ácidos grasos <i>trans</i>	40
2.2.1. Incorporación de los ácidos grasos <i>trans</i> en los tejidos	40
2.2.2. Oxidación de los ácidos grasos <i>trans</i>	41
2.2.3. Desaturación de los ácidos grasos y síntesis de prostaglandinas	41
2.3. Efectos de los ácidos grasos <i>trans</i> sobre la salud	42
2.3.1. Mecanismos de acción de los ácidos grasos <i>trans</i>	42
2.3.2. Perfil de lípidos plasmáticos y riesgo de enfermedad cardiovascular	43
2.3.3. Adiposidad e Inflamación	44
2.3.4. Sensibilidad a la insulina y diabetes	44
2.3.5. Disfunción endotelial	45
2.3.6. Cáncer	46
2.4. Los ácidos grasos <i>trans</i> de origen natural	46
OBJETIVOS	50
Objetivo General	50
Objetivos Específicos	50

MATERIALES Y MÉTODOS	53
1. Animales	53
2. Dietas experimentales	53
3. Parámetros relacionados a la composición corporal, retención energética corporal y eficiencia energética	55
3.1. Composición corporal	56
3.1.1. Determinación del contenido de proteína	56
3.1.2. Determinación del contenido de grasa	56
3.1.3. Determinación del contenido de agua	56
3.2. Retención energética corporal y eficiencia energética	57
3.2.1. Retención energética corporal	57
3.2.2. Eficiencia energética	57
4. Obtención de las muestras de tejidos	57
5. Perfil lipídico y glucosa en suero	58
5.1. Triglicéridos	58
5.2. Colesterol	58
5.3. Fosfolípidos	59
5.4. Glucosa	59
6. Perfil lipídico en tejidos	59
6.1. Triglicéridos	60
6.2. Colesterol	60
6.3. Fosfolípidos	60
7. Perfil de ácidos grasos	61
7.1. Obtención del extracto lipídico	61
7.2. Derivatización de los ácidos grasos	62
7.3. Corrida cromatográfica	62
8. Secreción hepática <i>in vivo</i> de triglicéridos-pre-β lipoproteínas	63
9. Capacidad de remoción plasmática de triglicéridos pre-β lipoproteínas	63
9.1. Actividad lipoproteína lipasa en tejido adiposo epididimal	64
9.2. Actividad lipoproteína lipasa en músculo gastrocnemio	65
10. Actividad de enzimas lipogénicas en hígado y tejido adiposo epididimal	65

10.1. Actividad de la enzima glucosa-6 fosfato deshidrogenasa	65
10.2. Actividad de la enzima málica	65
10.3. Actividad de la enzima ácido graso sintasa	66
10.4. Actividad de la enzima acetil-CoA carboxilasa	66
11. Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa I en hígado y músculo gastrocnemio	66
12. Extracción y análisis del ARN y cuantificación por PCR en tiempo real	67
13. Parámetros relacionados al estrés oxidativo hepático	68
13.1. Determinación del grado de lipoperoxidación	68
13.2. Determinación de la actividad de la enzima catalasa	69
13.3. Determinación del contenido de glutation reducido	69
14. Análisis Estadístico	70
RESULTADOS	72
1. Parámetros nutricionales	72
2. Pesos de tejidos	74
3. Concentraciones de triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y glucosa en suero	75
4. Contenido de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol en hígado	76
5. Contenido de triglicéridos y fosfolípidos en músculo gastrocnemio	77
6. Parámetros relacionados al estado oxidativo hepático	79
7. Parámetros relacionados al metabolismo lipídico	79
7.1. Velocidad de secreción hepática de triglicéridos-pre- β lipoproteínas	79
7.2. Remoción de triglicéridos séricos: actividad de la enzima lipoproteína lipasa en tejido adiposo epididimal y músculo gastrocnemio	80
7.3. Actividad de las enzimas relacionadas a la lipogénesis en hígado y tejido adiposo epididimal	82
7.4. Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-I en hígado y músculo gastrocnemio	86
7.5. Expresión de las enzimas relacionadas a la lipogénesis en hígado	88
7.6. Expresión de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-Ia en hígado	89
7.7. Expresión de factores de transcripción de genes lipogénicos y oxidativos	90
8. Composición de ácidos grasos en suero y tejidos	91
<hr/>	
<i>Lic. Juliana Saín – FBCB – UNL</i>	12

8.1. Retención de ácidos grasos <i>trans</i> en tejidos y suero	91
8.2 Suero post-prandial	93
8.3 Suero post-inhibición de la remoción de las VLDL	94
8.4 Hígado	96
8.4.1. Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en hígado	97
8.4.2. Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en hígado	99
8.4.3. Biosíntesis <i>de novo</i> de ácidos grasos en hígado	100
8.4.4. Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en hígado	101
8.5 Tejido adiposo epididimal	102
8.5.1. Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en tejido adiposo epididimal	103
8.5.2. Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en tejido adiposo epididimal	104
8.5.3. Biosíntesis <i>de novo</i> de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal	105
8.5.4. Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en tejido adiposo epididimal	105
8.6. Músculo gastrocnemio	106
DISCUSIÓN	114
1. Modelo experimental	114
2. Evaluación de parámetros nutricionales	115
3. Retención de isómeros en tejidos y suero	117
4. Contenido de lípidos en suero	117
5. Metabolismo y regulación de lípidos en hígado	120
5.1 Retención de isómeros en hígado	120
5.2 Contenido de lípidos hepáticos. Actividad y expresión de enzimas lipogénicas y de la β -oxidación	121
5.3 Biosíntesis de LC-PUFA en hígado. Índices de las enzimas desaturasas	124
5.4 Velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos	126
5.5. Parámetros relacionados al estrés oxidativo y defensas antioxidantes hepáticas	127
6. Regulación y metabolismo de lípidos en tejido adiposo epididimal	129
6.1. Retención de isómeros en el tejido adiposo epididimal	129
6.2. Regulación de la adiposidad	129
6.3. Actividad de la lipoproteína lipasa en tejido adiposo y efecto sobre la remoción de triglicéridos circulantes.	131
6.4. Biosíntesis de LC-PUFA y lipogénesis en tejido adiposo epididimal	132

7. Metabolismo de lípidos en músculo gastrocnemio	134
7.1. Retención de isómeros en músculo gastrocnemio	134
7.2. Contenido de lípidos en músculo gastrocnemio. Relación con los niveles de glucosa circulante	134
7.3. Remoción de triglicéridos circulantes. Actividad lipoproteína lipasa	137
7.4. Oxidación de ácidos grasos en músculo gastrocnemio. Actividad de la carnitina palmitoil transferasa I	137
CONCLUSIONES	140
BIBLIOGRAFÍA	144

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolución del consumo de grasa	29
Figura 2: Numeración de los átomos de carbono de un ácido graso	31
Figura 3: Representación de la isomería geométrica: <i>cis</i> y <i>trans</i>	31
Figura 4: Representación de la isomería posicional: no conjugada y conjugada	32
Figura 5: Vía de desaturación y elongación de ácidos grasos de 18 carbonos	34
Figura 6: Vías de síntesis de eicosanoides de la familia n 3 y n 6.....	36
Figura 7: Contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de diferentes aceites y grasas	37
Figura 8: Comparación del contenido de ácidos grasos <i>trans</i> en dos tipos de grasa.....	47
Figura 9: Evolución de la ganancia de peso durante el tratamiento	73
Figura 10: Ganancia de peso total: Δ (Día 30-Día 1).....	74
Figura 11: Contenido de triglicéridos en hígado	76
Figura 12: Contenido de fosfolípidos en hígado	77
Figura 13: Contenido de colesterol en hígado	77
Figura 14: Contenido de triglicéridos en músculo gastrocnemio.....	78
Figura 15: Contenido de fosfolípidos en músculo gastrocnemio.....	78
Figura 16: Velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos	80
Figura 17: Actividad lipoproteína lipasa por gramo de tejido adiposo epididimal.....	81
Figura 18: Actividad lipoproteína lipasa por tejido adiposo epididimal total.....	81
Figura 19: Actividad lipoproteína lipasa por gramo de músculo gastrocnemio.....	82
Figura 20: Actividad de la enzima sintasa de ácidos grasos en hígado	83
Figura 21: Actividad de la enzima glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en hígado	83
Figura 22: Actividad de la enzima málica en hígado	84
Figura 23: Actividad de la enzima acetil-CoA carboxilasa en hígado	84
Figura 24: Actividad de la sintasa de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal.....	85
Figura 25: Actividad de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en tejido adiposo epididimal	86
Figura 26: Actividad de la enzima málica en tejido adiposo epididimal.....	86
Figura 27: Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-Ia en hígado.....	87
Figura 28: Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-Ib en músculo gastrocnemio.....	87
Figura 29: Niveles de expresión de las enzimas sintasa de ácidos grasos (a), acetil -CoA carboxilasa (b) y enzima málica (c) en hígado	88

Figura 30: Nivel de expresión de la enzima carnitina palmitoil transferasa-1a en hígado...	89
Figura 31: Nivel de expresión de SREBP-1a (a) y SREBP-1c (b) en hígado.....	90
Figura 32: Nivel de expresión de PPAR- α en hígado.....	91
Figura 33: Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en hígado.....	98
Figura 34: Flujo a través de la enzima Δ 6-desaturasa en hígado.....	98
Figura 35: Flujo a través de la enzima Δ 5-desaturasa en hígado.....	99
Figura 36: Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en hígado.....	99
Figura 37: Flujo a través de la enzima elongasa en hígado.....	100
Figura 38: Flujo a través de la enzima Δ 9-desaturasa en hígado.....	101
Figura 39: Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en tejido adiposo epididimal.....	103
Figura 40: Flujo a través de la enzima Δ 6-desaturasa en tejido adiposo epididimal.....	104
Figura 41: Flujo a través de la enzima Δ 5-desaturasa en tejido adiposo epididimal.....	104
Figura 42: Flujo a través de la enzima elongasa en tejido adiposo epididimal.....	105
Figura 43: Flujo a través de la enzima Δ 9-desaturasa en tejido adiposo epididimal.....	106
Figura 44: Mapa metabólico propuesto de los efectos de los ácidos grasos <i>trans</i>	142

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición de las dietas experimentales (g/kg de dieta).....	54
Tabla 2: Perfil de ácidos grasos de los aceites experimentales (% del total de metil ésteres de ácidos grasos).....	55
Tabla 3: Parámetros nutricionales	72
Tabla 4: Pesos relativos de tejidos (g/100g).....	75
Tabla 5: Concentraciones circulantes de lípidos y glucosa (mmol/l).....	75
Tabla 6: Parámetros relacionados al estrés oxidativo hepático.....	79
Tabla 7: Porcentaje de retención de isómeros de ácidos grasos <i>trans</i> en diferentes tejidos de ratón y en suero post-prandial.....	92
Tabla 8: Perfil de ácidos grasos en suero post-prandial.....	108
Tabla 9: Perfil de ácidos grasos en suero post-inhibición de la remoción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).....	109
Tabla 10: Perfil de ácidos grasos en hígado	110
Tabla 11: Perfil de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal.....	111
Tabla 12: Perfil de ácidos grasos en músculo gastrocnemio.....	112

ABREVIATURAS

AA	ácido araquidónico
ACC	acetil-CoA carboxilasa
AE	ácido elaídico
AG	ácidos grasos
AGI	ácidos grasos insaturados
AGS	ácidos grasos saturados
AGt	ácidos grasos <i>trans</i>
AL	ácido linoleico
ALA*	ácido α -linolénico (por su nombre en inglés: <i>α-linoleic acid</i>)
AO	ácido oleico
AR	ácido ruménico
AV	ácido vaccénico
C	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de canola
CLA*	conjugados del ácido linoleico (por su nombre en inglés: <i>conjugated linoleic acid</i>)
CPT (-Ia, -Ib)	carnitina-palmitoil transferasa I
Ct	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de canola + aceite vegetal parcialmente hidrogenado
DGLA*	ácido di-homo γ -linolénico (por su nombre en inglés: <i>di-homo γ-linoleic acid</i>)
DHA*	ácido docosahexaenoico (por su nombre en inglés: <i>docosahexaenoic acid</i>)
EE	eficiencia energética
EM	enzima mállica
EPA*	ácido eicosapentaenoico (por su nombre en inglés: <i>eicosapentaenoic acid</i>)
FAS*	sintasa de ácidos grasos (por su nombre en inglés: <i>fatty acid synthase</i>)
FL	fosfolípidos
G6PDH	glucosa-6 fosfato deshidrogenasa
GLA*	ácido γ -linolénico (por su nombre en inglés: <i>γ-linoleic acid</i>)

GSH	glutación reducido
HDL*	lipoproteína de alta densidad (por su nombre en inglés: <i>high-density lipoprotein</i>)
IE	ingesta energética
LC-PUFA*	ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (por su nombre en inglés: <i>long chain polyunsaturated fatty acids</i>)
LDL*	lipoproteína de baja densidad (por su nombre en inglés: <i>low-density lipoprotein</i>)
LPL	lipoproteína lipasa
LPO	lipoperoxidación
M	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de maíz
MDA	malondialdehído
Mt	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de maíz + aceite vegetal parcialmente hidrogenado
MUFA*	ácidos grasos monoinsaturados (por su nombre en inglés: <i>monounsaturated fatty acids</i>)
O	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de oliva
Ot	hace referencia al grupo experimental alimentado con aceite de oliva + aceite vegetal parcialmente hidrogenado
PPAR (α y γ)*	receptor que activa la proliferación de peroxisomas (por su nombre en inglés: <i>peroxisome proliferator-activated receptors</i>)
PUFA*	ácidos grasos poliinsaturados (por su nombre en inglés: <i>polyunsaturated fatty acids</i>)
RETC	retención de energía total de la carcasa
RGD	retención de grasa diaria
RPD	retención proteica diaria
SCD*	enzima desaturasa (por su nombre en inglés: <i>stearoyl-CoA desaturase</i>)
SREBP (-1c, -1b, -2)*	proteína de unión al receptor de respuesta a esteroides (por su nombre en inglés: <i>sterol regulatory element binding protein</i>)
TAE	tejido adiposo epididimal
TG	triglicéridos
VLDL*	lipoproteínas de muy baja densidad (por su nombre en inglés <i>very low density lipoprotein</i>)
VLDL-TG	triglicéridos asociados a las lipoproteínas de muy baja densidad

*En inglés, debido a su reconocido empleo como acrónimo.

Resumen y Abstract

RESUMEN

En las últimas décadas, ha sido demostrado que elevados consumos de ácidos grasos *trans* (AGt) incrementan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas no transmisibles. Estos efectos deletéreos, han sido atribuidos, principalmente, a la alta ingesta de AGt de origen industrial, que contienen una elevada proporción de ácido eláídico (*t*9-18:1). Sin embargo, las fuentes naturales de AGt, como carne y lácteos derivados de animales rumiantes, poseen una proporción significativa de ácido vaccénico (-AV- *t*11-18:1), el cual puede ser bioconvertido a ácido ruménico (-AR- *c*9,*t*11-18:2), un conjugado del ácido linoleico, al cual se le han atribuido numerosos efectos funcionales sobre la salud. Los mecanismos exactos a través de los cuales los distintos AGt ejercerían sus efectos, no están del todo establecidos. Sin embargo, ha sido demostrado que la acumulación específica de cada isómero *trans* en los tejidos podría tener efectos metabólicos debido, entre otros, a su incorporación en las membranas lipídicas. Además, las diferentes proporciones relativas de ácidos grasos insaturados (AGI) dietarios de las series n-3, n-6 y n-9, podrían ser fundamentales para modular el metabolismo de los AGt, ya que ha sido demostrado que los isómeros de ácidos grasos (AG) podrían interferir en la vía de biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Esto podría conducir, no sólo a menores niveles de eicosanoides, afectando la composición y propiedades biológicas de las membranas, sino también a la formación de otros compuestos derivados de los AGt con efecto desconocido o impredecible. Pese a que se han realizado una serie de estudios tendientes a dilucidar los efectos de ingestas crónicas ricas en AGt, un gran número de interrogantes surgen de los mismos, principalmente respecto a los modelos experimentales empleados, al significado nutricional, al destino metabólico y a las alteraciones en el metabolismo lipídico. El presente trabajo de tesis tuvo como objetivo avanzar en el conocimiento de los potenciales efectos metabólico-nutricionales de las interacciones que podrían tener los AGt con aceites ricos en AG conteniendo diferentes proporciones relativas de AGI de las series n-3, n-6 y n-9. Además, es importante analizar esta interacción utilizando niveles de AGt que podrían ser alcanzables por la población y con aceites y grasas disponibles para el consumo humano.

Para lograr dicho objetivo, ratones de la cepa CF1 macho, a dos semanas luego del destete fueron sometidos a un tratamiento dietario, durante 30 días, con alguna de las seis dietas isocalóricas experimentales producto de la combinación de dos variables independientes: fuente de grasa dietaria y presencia de AGt. El nivel de lípidos dietarios

fue del 7%, siendo los aceites utilizados: aceite de oliva (O), maíz (M) o canola (C) los cuales proveen distintas proporciones de AGI de las familias n-3, n-6 y n-9; y en el caso de las dietas parcialmente sustituidas con AGt, parte del aceite experimental se sustituyó con aceite vegetal parcialmente hidrogenado (47% de AGt) para obtener dietas con un 1% de AGt: oliva + AGt (Ot), maíz + AGt (Mt) y canola + AGt (Ct). Para evaluar parámetros nutricionales se realizaron estudios de ganancia de peso, eficiencia energética de las dietas, composición corporal y retención energética corporal. En referencia al metabolismo lipídico, se puntualizó en la incorporación de AG en diferentes tejidos, específicamente retención de AGt, perfiles de lípidos tisulares y séricos, mecanismos de regulación y movilización de triglicéridos (TG) en tejidos y, además, se evaluaron actividades de enzimas reguladoras de la síntesis y oxidación de AG, como así también, la expresión de dichas enzimas y los factores de transcripción que regulan su expresión.

El consumo de aceite de canola incrementó el contenido de grasa en carcasa llevando a una mayor retención de energía y mayor eficiencia energética. Estos parámetros fueron reducidos en los animales que consumieron Ct. Así el impacto nutricional de los AGt pudo relacionarse con el contenido tisular de AR, y posiblemente de AV, los cuales son conocidos por su efecto potencial sobre la reducción de la adiposidad.

Todos los isómeros *t*-18:1 fueron incorporados y retenidos en hígado, tejido adiposo epididimal, músculo gastrocnemio y suero. Además, se observó una importante bioconversión de AV a AR en todos los tejidos analizados.

A nivel hepático, el contenido de TG, colesterol y fosfolípidos no fue modificado por el consumo de los aceites con diferente proporción de AGI. Sin embargo, la sustitución parcial con AGt a las dietas experimentales presentó alteraciones en el perfil de lípidos hepáticos que fueron diferentes dependiendo del tipo de grasa dietaria. Así, los animales alimentados con las dietas Ot y Ct presentaron una acumulación de TG respecto a sus controles; mientras que no se observaron alteraciones en los animales que consumieron la dieta Mt. Este efecto en la acumulación de lípidos se asoció a un desbalance diferencial entre la lipogénesis y la β -oxidación. En el grupo Ct, la misma se debió a una disminución de la β -oxidación hepática, reflejada por una reducción en la expresión y actividad de la CPT-Ia, asociada a una baja expresión del PPAR- α . Los elevados niveles hepáticos de TG, y también de colesterol, en los animales alimentados con Ot, se relacionaron con una mayor síntesis de lípidos, evidenciada por una elevada expresión del SREBP-1a, lo que condujo a niveles incrementados de expresión y actividad de enzimas lipogénicas. Esta mayor lipogénesis, fue exacerbada por un mayor flujo de sustratos a través de la enzima Δ 9-desaturasa inducida por el aceite de oliva, y se asoció a una mayor bioconversión de AV a AR. En relación al contenido hepático total de LC-PUFA de las familias n-6 y n-3, si bien

se observaron alteraciones en los flujos parciales de las diferentes enzimas involucradas en esta vía, tanto los niveles de EPA y DHA, como de AA en hígado, dependieron principalmente de las relaciones de AGI de las diferentes familias, más que de la presencia de AGt. Los elevados niveles de TG hepáticos en los animales alimentados con Ot y Ct se correlacionaron con una mayor secreción de VLDL-TG. Esto sugiere que los AGt, regulando la acumulación hepática de TG, promoverían la secreción de TG en las partículas de VLDL. No obstante, esta mayor secreción de VLDL-TG en Ot y Ct no se reflejó en un incremento en los niveles de TG circulantes en estos grupos, lo que pudo asociarse a la mayor remoción de TG a través de la enzima LPL del tejido adiposo epididimal. A pesar de esta mayor captación de TG y de los efectos observados en las actividades de las enzimas lipogénicas en tejido adiposo, la ausencia de efectos sobre la acumulación de lípidos en este tejido pudo estar asociada al efecto antiadipogénico mediado por el AV y el AR.

En ausencia de AGt, el grupo C presentó menores niveles de actividad LPL muscular, lo cual pudo haber llevado a los mayores niveles de TG circulantes observados. El contenido de TG en músculo gastrocnemio fue reducido por los AGt en los animales alimentados con aceite de oliva, y esta alteración se asoció a una β -oxidación incrementada, reflejada por la elevada actividad de la enzima CPT-Ib.

En relación a los principales resultados, podemos concluir que: 1) ingestas bajas de AGt caracterizadas por una elevada proporción de AV no indujeron los notables efectos deletéreos observados previamente por nuestro grupo y otros autores con dietas ricas en ácido eláidico; 2) las modificaciones en el perfil de AG tisulares dependió más del tipo de AGI dietario que de la presencia de AGt; 3) los AGt individuales se incorporaron en forma diferente en distintos tejidos, y la retención de los mismos fue influenciada por la relación de AGI de las familias n-3, n-6 y n-9; 4) la bioconversión de AV a AR hepática dependió de la proporción de AGI de la grasa dietaria, siendo mayor en los animales alimentados con aceite de oliva y 5) el efecto de los AGt sobre el metabolismo lipídico dependió de la proporción de AGI de la grasa dietaria, presentando mayores alteraciones en los animales alimentados con aceite de oliva y de canola, denotando principalmente una mayor acumulación de TG hepáticos.

Si bien los resultados experimentales en modelos animales no pueden extrapolarse directamente a los seres humanos, el conocimiento de los potenciales efectos metabólicos-nutricionales de las interacciones que podrían tener los AGt con aceites ricos en AG con diferentes proporciones relativas de AGI de las series n-3, n-6 y n-9, podría ser de gran utilidad para el desarrollo de estrategias nutricionales eficaces para la disminución de la incidencia de alteraciones relacionadas a enfermedades crónicas no transmisibles.

ABSTRACT

Over the last few decades, it has been demonstrated that a high intake of *trans* fatty acids (TFA) is associated with an increased risk of cardiovascular disease and other non-communicable diseases. These deleterious effects have been mainly attributed to the high intake of industrial TFA containing a high proportion of elaidic acid (*t*9-18:1). However, natural TFA, present in the meat and dairy products from ruminant animals, contain a significant proportion of vaccenic acid (-VA- *t*11-18:1), which could be bioconverted to rumenic acid (-RA- *c*9,*t*11-18:2), a conjugated linoleic acid with numerous functional effects on health. The exact mechanisms by which the various TFA would exert their effects are not yet fully established. However, it has been demonstrated that the specific accumulation of each *trans* isomer in the tissues could have metabolic effects due to their incorporation into the lipid membranes, among other reasons. Furthermore, the different proportions of dietary unsaturated fatty acids (UFA) of the n-3, n-6 and n-9 series could be essential to modulate the TFA metabolism. This is based on the fact that the fatty acid (FA) isomers could interfere in the long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) biosynthetic pathway. This might lead not only to lower levels of eicosanoids, thus altering the composition and biological properties of the lipid membrane, but also to the synthesis of another compounds derived from the TFA, with unknown or unpredictable effects. Despite the considerable number of studies aimed to elucidate the effects of the chronic intake of TFA, their results are still controversial due to the different experimental animal models, the metabolic fate of the TFA and the alterations on the lipid metabolism. The objective of the present work was to investigate the potential metabolic-nutritional effects of the interaction between TFA and oils rich in FA containing different n-3, n-6 and n-9 UFA proportions. Moreover, this interaction was analyzed using levels of TFA that could be reached by the population and oils that are available for human consumption.

In order to attain this objective, male CF1 mice at two weeks after weaning were fed 6 diets differing in the fat source (7%) during 30 d: olive oil diet (O), maize oil diet (M) and canola oil diet (C) providing different proportions of n-3, n-6 and n-9 FA. In diets containing TFA, an oil portion was replaced by partially hydrogenated vegetable oil (47% TFA) to obtain diets with 1% of TFA: olive + TFA (Ot), maize + TFA (Mt) and canola + TFA (Ct). To evaluate the nutritional parameters, weight gain, energy efficiency, corporal composition and corporal energy retention were measured. As regards the lipid metabolism, tissue FA incorporation, lipid profile of tissue and serum, mechanisms involved in the regulation and mobilization of triglycerides (TG) in tissues were analyzed.

The expression and activities of enzymes involved in the synthesis and oxidation of FA and the expression of its transcription factors were also measured.

The canola oil consumption increased the fat content in the carcass, leading to a high energy retention and energy efficiency. Those parameters were reduced in the Ct fed animals suggesting that the nutritional impact of the TFA might be associated to the RA tissue content, and possibly VA, which are known by their potential effect in reducing adiposity.

All t-18:1 isomers were incorporated in liver, epididymal adipose tissue, gastrocnemius muscle and serum. Moreover, an important bioconversion from VA to RA was observed in all the tissues analyzed.

The TG, cholesterol and phospholipid contents in liver were not modified by the different oils. However, the partial replacement with TFA of the experimental diets showed alterations in the liver lipid profile that were different depending on the source of dietary fat. Thus, the animals fed the Ot and Ct diets showed a TG accumulation versus their respective controls, while the animals fed Mt diets did not show alterations in this parameter. This effect was associated with an imbalance between lipogenesis and β -oxidation. In the Ct group, a reduced β -oxidation was observed, reflected by low CPT-1a expression and activity and a reduced PPAR- α expression. On the other hand, in the Ot group, the accumulation of hepatic TG was related to a high SREBP-1a expression, which led to an increased lipogenic enzymes expression and activities. This higher biosynthesis of FA was enhanced by an increased flux through the $\Delta 9$ -desaturase enzyme induced by olive oil and it was associated with a high bioconversion of RA from VA. In spite of the alterations observed in the flux through the enzymes involved in the biosynthesis of n-3 and n-6 LC-PUFA, the liver content of EPA, DHA and AA depended on the UFA relations rather than on the presence of TFA. The high levels of the hepatic TG in the Ot and Ct groups were correlated to an increased VLDL-TG secretion. Nevertheless, this was not accompanied by the serum TG content and this might be associated with a high LPL activity of the adipose tissue. In this tissue, despite both the enhanced TG secretion and the effects shown in the lipogenic enzymes activities, the absence of effects on the lipid accumulation might be associated with the antiadipogenic effect mediated by VA and RA.

In the absence of dietary TFA, the C group demonstrated low muscular LPL activity and this might lead to the high TG levels in this group. The TG content in the gastrocnemius muscle was reduced by TFA in the mice fed olive oil, and this alteration was associated with an increased β -oxidation reflected by an enhanced CPT-1b activity.

Therefore, we could conclude that: 1) low intakes of TFA rich in VA did not induce the deleterious effect associated with diets rich in elaidic acid observed by our group and

other research teams; 2) the alterations in the tissue FA profile depended on the dietary UFA rather than on the presence of TFA; 3) the levels of individual TFA incorporation depended on the tissue and their retention was influenced by the n-3, n-6 and n-9 UFA relations; 4) the bioconversion of VA to RA in liver was dependent on the dietary UFA ratios, being higher in olive oil fed animals than on those fed maize or canola; 5) the TFA effect on the lipid metabolism depended on the dietary UFA proportion, being exacerbated in olive and canola fed animals, thus showing a hepatic TG accumulation.

Even though the results obtained in experimental animal models cannot be directly extrapolated to humans, knowledge of the potential effects of the interaction between TFA and different dietary n-3, n-6 and n-3 UFA ratios might be relevant. This knowledge would allow us to develop nutritional strategies that are effective in reducing the incidence of the alterations involved in different non-communicable chronic diseases.

Introducción

INTRODUCCIÓN

1. DIETA Y SALUD: UNA PROBLEMÁTICA EN ESTUDIO

La incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles -entre las que se incluyen las enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, diabetes y cáncer- y de mortalidad, atribuida a este tipo de patologías, ha incrementado en los últimos años. Se ha estimado que, en el año 2008, el 62% de las muertes y cerca del 50% de la carga de enfermedad a nivel mundial se debieron a enfermedades crónicas no transmisibles (World Health Organization, 2010).

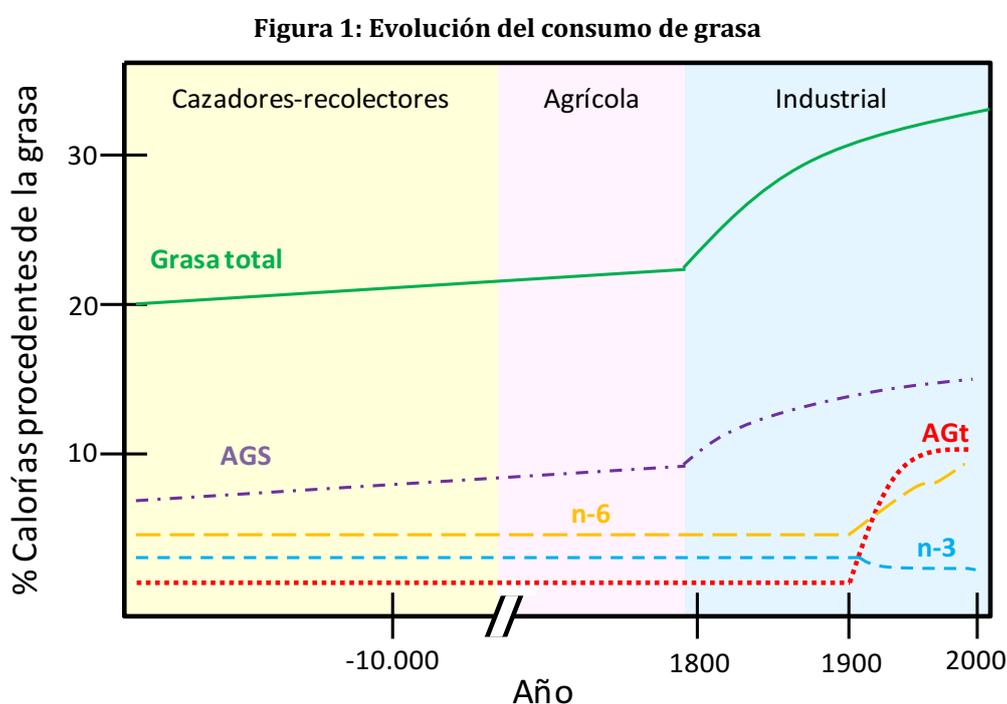
Según los últimos datos publicados por la Dirección de Estadísticas e Información en Salud, del Ministerio de Salud de la Nación, el 30% de las defunciones fueron consecuencia de enfermedades cardiovasculares, representando la principal causa de muerte en nuestro país, seguida de diversos tipos de cáncer (19,4%) y enfermedades del sistema respiratorio (15,4%) (Ministerio de Salud de la Nación, 2012a). Sin embargo, cabe destacar que, a pesar de este escenario, este tipo de enfermedades son, en su mayoría, prevenibles. Se estima que cerca de un 80% de los casos de enfermedades cardíacas, accidentes cerebrovasculares y diabetes tipo 2 pueden evitarse, así como un 40% de los cánceres (Ministerio de Salud de la Nación, 2012b). Asimismo, las evidencias científicas disponibles señalan la efectividad de intervenciones de promoción, prevención y tratamiento, que justifica llevar a cabo acciones de política pública. En Argentina, en el marco del Plan Argentina Saludable, en el año 2005 se realizó la primera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo, que permitió contar con una línea de base y priorizar acciones de prevención y control. En 2009, con la segunda encuesta, se pudieron observar tendencias para poder monitorear las acciones necesarias para la prevención de los factores de riesgo (Ministerio de Salud de la Nación, 2011).

1.1. EVOLUCIÓN DEL CONSUMO DE GRASAS Y SUS RECOMENDACIONES

A través de técnicas de biología molecular ha sido demostrado que “factores genéticos” determinan la susceptibilidad a ciertas enfermedades y que “factores ambientales” determinan qué individuos genéticamente susceptibles serán afectados (Simopoulos, 1990; 1997). Dado que en 10.000 años la tasa de mutaciones insertadas en el ADN se estima en un 0,005%, las alteraciones que llevan a cambios en la susceptibilidad a contraer enfermedades crónicas no transmisibles están asociadas fundamentalmente a factores ambientales (Eaton y col., 1985). Dentro de éstos se encuentra la nutrición, muy

importante y estrechamente relacionada al desarrollo de ciertas enfermedades. Los estudios sobre los aspectos evolutivos de la nutrición indican que los cambios más importantes han tenido lugar en nuestra dieta, sobre todo en el tipo y la cantidad de ácidos grasos (AG) consumidos y en el contenido antioxidante de los alimentos.

Como se puede observar en la **Figura 1**, como consecuencia del desarrollo industrial, se incrementó el consumo de grasa total producto del consumo de grasas saturadas. A comienzos del siglo XX incrementa significativamente la ingesta de ácidos grasos *trans* (AGt), con un concomitante aumento de AG n-6 y disminución de los AG n-3, generando un desbalance en la relación n-6/n-3 y alejándose de los parámetros recomendados (Simopoulos, 2001).



Esquema representativo de la ingesta de grasa total, ácidos grasos n-3 y n-6, ácidos grasos *trans* (AGt) y ácidos grasos saturados (AGS), expresados como porcentaje de calorías de la grasa, que muestra la evolución del consumo en épocas donde el hombre era cazador-recolector, agricultor y luego del desarrollo industrial. Adaptado de Simopoulos (2001).

Con respecto a la ingesta recomendada de grasas totales, estudios prospectivos observacionales no han encontrado, o han encontrado muy poca, relación entre la ingesta de grasa total y la obesidad, ganancia de peso, enfermedad cardiovascular y riesgo de cáncer (Beresford y col., 2006; Field y col., 2007; Howard y col., 2006). Recientemente, un estudio comparativo realizado por Aranceta y col. (2012) donde analiza los últimos trabajos referidos a ingestas recomendadas de grasa, indicó que la mayoría de los reportes sugieren, para adultos sanos, una ingesta total de grasa que va desde un 20% del total de

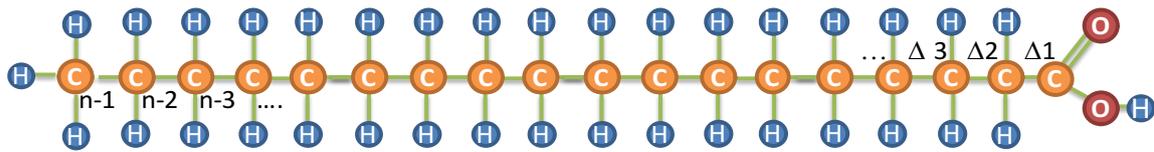
la energía a un 35%, existiendo en algunos casos recomendaciones del 15% en países asiáticos y del 40% para personas con un peso corporal óptimo, por lo que no existe una recomendación única entre los diferentes continentes. En relación a esto, no se han encontrado beneficios de ingestas muy bajas en grasas en estudios aleatorios controlados, dado que las mismas normalmente son acompañadas de altos niveles de hidratos de carbono (Appel y col., 2005; Gardner y col., 2007). No obstante, existen evidencias que indican que excesos de grasas dietarias tienen una directa correlación con la obesidad (Bray y col., 2004), diabetes tipo 2 (Riccardi y col., 2003) y con otras alteraciones frecuentes en diferentes enfermedades crónicas no transmisibles (Canete y col., 2007; Marshall y col., 2002).

Actualmente, nuestra grasa dietaria está compuesta por una mezcla compleja de AG saturados (AGS) e insaturados (AGI) y otros tipos de componentes lipídicos. Los AGS sólo difieren en la longitud de la cadena, mientras que los AGI varían en el número, posición y geometría de los dobles enlaces. De este modo, es posible que dos AGI tengan el mismo número de átomos de carbono e hidrógeno pero tengan diferentes características (Mensink, 2005).

Al tener en cuenta los aspectos evolutivos de la dieta y considerando, sobre todo, la gran variedad de AG que se consumen, es que se vuelve indispensable incrementar los estudios tendientes a dilucidar los efectos diferenciales que cada tipo de AG tiene sobre la salud y las interacciones que podría existir entre ellos, modificando o no el metabolismo general. Debido a esto, en la actualidad los mayores inconvenientes en relación al consumo de grasa y salud pública están centrados en el tipo de grasa ingerida (Zevenbergen y col., 2009).

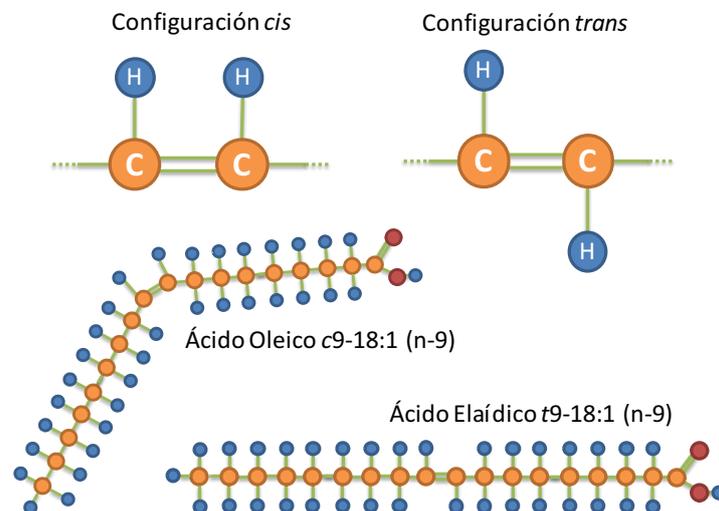
1.2. LOS ÁCIDOS GRASOS

Los AG son ácidos orgánicos con una cadena alifática y en uno de sus extremos poseen un grupo carboxilo. La mayoría de los AG naturales posee un número par de átomos de carbono debido a que son biosintetizados a partir de acetato (CH_3CO_2^-), el cual posee dos átomos de carbono (Wade, 1993). Químicamente, los átomos de carbono se numeran desde el carbono carboxílico (C_1 o C_α) al carbono metílico terminal (C_n o C_ω), pero, nutricionalmente se numeran en sentido opuesto. En este caso la denominación se antecede de la letra “ ω ” o “n” (**Figura 2**).

Figura 2: Numeración de los átomos de carbono de un ácido graso

Representación de un ácido graso de 18 carbonos saturado (ácido esteárico) con la numeración nutricional (n-) y química (Δ-) de los carbonos.

La presencia y el número de dobles enlaces entre los átomos de carbono de la cadena que conforma un AG, son determinantes importantes de propiedades físicas, químicas y biológicas. Los AGI pueden presentar dos tipos de isomería: geométrica o posicional. Los isómeros geométricos pueden ser *cis* o *trans* (**Figura 3**). La ubicación de los átomos de hidrógeno hace que varíe la configuración espacial de la cadena carbonada: los enlaces *cis* tienden a doblar la cadena formando una especie de codo donde se ubica la insaturación mientras que los isómeros *trans* son más lineales asemejándose a los AGS. Las dobles ligaduras que se presentan en un AG insaturado natural son, en general, del tipo *cis* y, debido a esto, los aceites naturales con alto contenido de AG con este tipo de isomería son líquidos a temperatura ambiente.

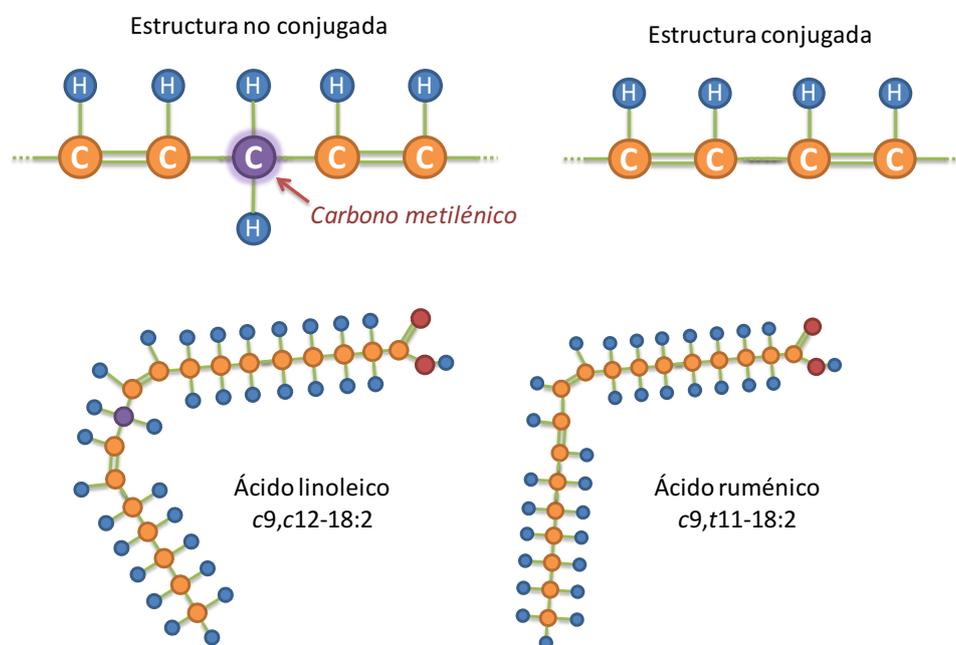
Figura 3: Representación de la isomería geométrica: *cis* y *trans*

Representación de la isomería *cis* y *trans* y ejemplo de dos isómeros geométricos comunes: ácido oleico (*cis*) y ácido eláidico (*trans*).

En el caso de los isómeros posicionales, la diferencia radica en la posición que presenta el doble enlace de la cadena alifática. En los AG di- y poli-insaturados, los dobles enlaces están separados por un carbono intermedio, que no participa de la estructura de insaturación, formando una estructura "no conjugada", y el carbono intermedio se

denomina: carbono metilénico (**Figura 4**). Este es el caso de la estructura de la mayoría de los AG en su forma natural. Sin embargo, como consecuencia de la manipulación tecnológica de las grasas y aceites o, en casos muy particulares, por efecto de la metabolización a nivel celular de ciertos AG, es posible que un doble enlace migre de posición al carbono adyacente, ocasionando la desaparición del carbono metilénico intermedio. El AG formado se transforma en una estructura “conjugada”, o sea, en un AG conjugado. La conjugación de los dobles enlaces puede, además, estar asociada a un cambio en la isomería geométrica del AG. Por ejemplo, en un AG diinsaturado, cuyos dos dobles enlaces tienen isomería *cis*, uno de estos dobles enlaces, o ambos, pueden adoptar la isomería *trans* (Sanhueza y col., 2002).

Figura 4: Representación de la isomería posicional: no conjugada y conjugada



Representación de la isomería no conjugada y conjugada, y ejemplo de dos ácidos grasos isoméricos: ácido linoleico y su conjugado, ácido ruménico.

1.3. ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS

El consumo de altos niveles de grasas saturadas ha sido asociado con un incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular, el cual está mediado, entre otros, por elevadas concentraciones de colesterol LDL circulantes (Katan y col., 1995; Mensink y col., 2003). En particular, este efecto hipercolesterolémico, ha sido asociado a los AG 12:0, 14:0, 16:0, mientras que el 18:0 tendría efecto neutro (Grundy y col., 1990). Ha sido informado, que el consumo de grasas saturadas incrementa, también, el riesgo de obesidad lo cual lleva a un aumento de la liberación de citoquinas proinflamatorias, acrecentando el riesgo de otras

patologías asociadas, como la diabetes y, en general, enfermedades crónicas no transmisibles. Por lo tanto, las recomendaciones actuales de reducir la ingesta de grasas saturadas, son tendientes a mitigar la incidencia de estas enfermedades crónicas no transmisibles. Sin embargo, la reducción del consumo de grasas, y particularmente grasas saturadas, implica usualmente, su reemplazo por carbohidratos (Lichtenstein y col., 2006) los cuales, consumidos en exceso, podrían exacerbar el desarrollo de un estado metabólico a favor de una dislipemia, caracterizada por un incremento de triglicéridos (TG), colesterol LDL y disminución de colesterol HDL (Parks y col., 2000).

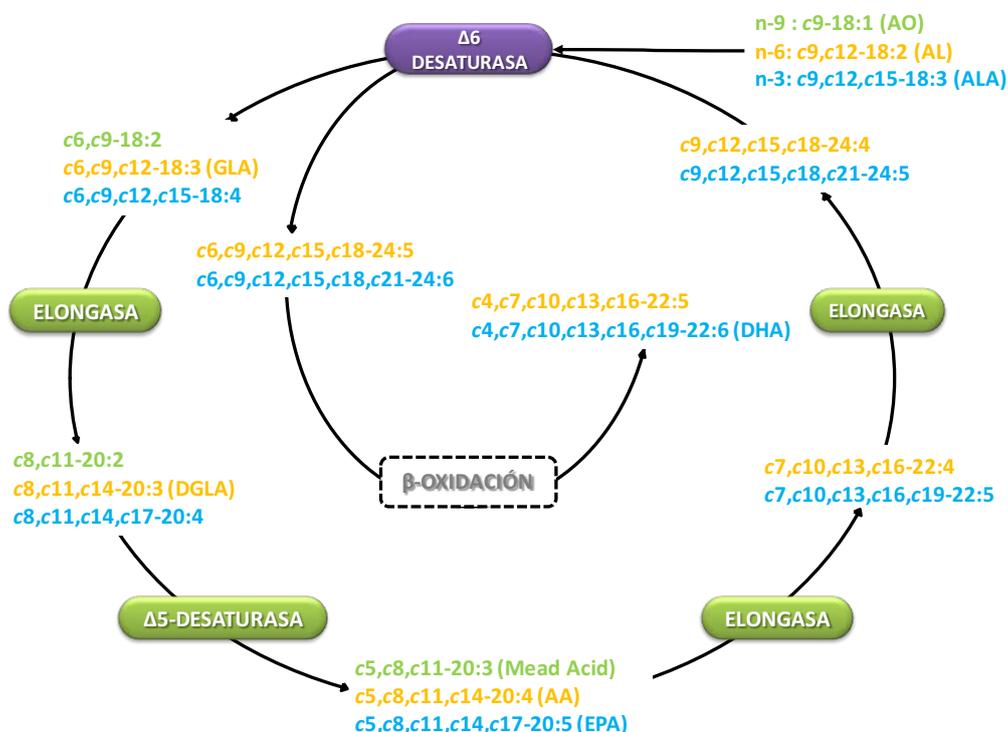
Los AG monoinsaturados (MUFA, por su denominación en inglés: *monounsaturated fatty acids*), se encuentran presentes en elevada cantidad en el aceite de oliva, siendo el $c9-18:1$, ácido oleico (AO) el principal representante de esta familia (Serra-Majem y col., 2004). El aceite de oliva es la principal fuente de grasa en la alimentación clásica de la Cuenca Mediterránea. Algunos estudios, demostraron que la dieta Mediterránea, redujo las concentraciones totales de colesterol y de insulina al compararla con dietas bajas en MUFA (Esposito y col., 2004; Estruch y col., 2006). Las propiedades saludables de esta dieta se evidenciaron en el Estudio de los Siete Países, diseñado para investigar la relación entre la dieta y las enfermedades cardiovasculares en 14 poblaciones pertenecientes a siete países diferentes (Estados Unidos, Finlandia, Países Bajos, Yugoslavia, Italia, Grecia y Japón). Se encontró que los individuos estudiados en Creta presentaban las menores tasas de enfermedad cardiovascular y cáncer comparados con las otras regiones del estudio (Keys, 1970), y se concluyó que este hecho podía deberse al bajo consumo de grasas saturadas y al elevado consumo de AO, aportado por la ingesta de aceite de oliva. Posteriormente, los resultados obtenidos tras 25 años de seguimiento de los participantes de dicho estudio, han indicado que la frecuencia de estas enfermedades continúa siendo menor en los países europeos del sur que en los del norte (Menotti y col., 2000; Wahrburg y col., 2002).

Los AG poliinsaturados (PUFA, por su denominación en inglés: *polyunsaturated fatty acids*) se destacan por tener efectos benéficos sobre la regulación de los niveles de lípidos plasmáticos, la función inmune, la acción de la insulina y el desarrollo neuronal y visual. La ingesta de PUFA lleva a su distribución por casi todas las células corporales, teniendo efectos principalmente en la composición y función de la membrana, la síntesis de eicosanoides, señalización celular y en la regulación de la expresión génica (Benatti y col., 2004). Existen dos familias principales de PUFA: n-6 y n-3. El ácido linoleico (AL) y el ácido α -linolénico (ALA), cuya fórmulas químicas son $c9,c12-18:2$ (n-6) y $c9,c12,c15-18:3$ (n-3), respectivamente, son los compuestos más representativos de estas familias, y son considerados AG esenciales en la nutrición, ya que los mamíferos no poseen en sus tejidos las enzimas necesarias para introducir la insaturación en las posiciones n-6 y n-3: las $\Delta 12-$

y $\Delta 15$ -desaturasas, respectivamente (Benatti y col., 2004). La importancia nutricional de los AG esenciales, radica fundamentalmente en ser precursores de AG de mayor longitud de cadena y grado de insaturación, los que poseen potentes efectos biológicos, como el ácido araquidónico (AA), derivado de la familia n-6, y ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), ambos de la familia n-3. Estos derivados confieren propiedades estructurales y funcionales específicas a las membranas celulares, son sustrato para la formación de mediadores lipídicos de múltiples procesos orgánicos (inositol, fosfoglicéridos y eicosanoides), están implicados en señalización celular y en la regulación de la expresión de genes relacionados al metabolismo energético celular (Jump, 2002), entre otros.

Tanto el AO como el AL y el ALA utilizan la misma vía metabólica para su elongación y desaturación (Holman, 1986; Sprecher y col., 1995). En varios estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, con diferentes modelos animales, se ha concluido que los tres AG compiten por la $\Delta 6$ -desaturasa, que es la primera enzima involucrada en esta cascada metabólica. La misma, es considerada la enzima clave en la biosíntesis de los LC-PUFA, participando en dos pasos metabólicos diferentes (Gibson y col., 2011) (Figura 5).

Figura 5: Vía de desaturación y elongación de ácidos grasos de 18 carbonos



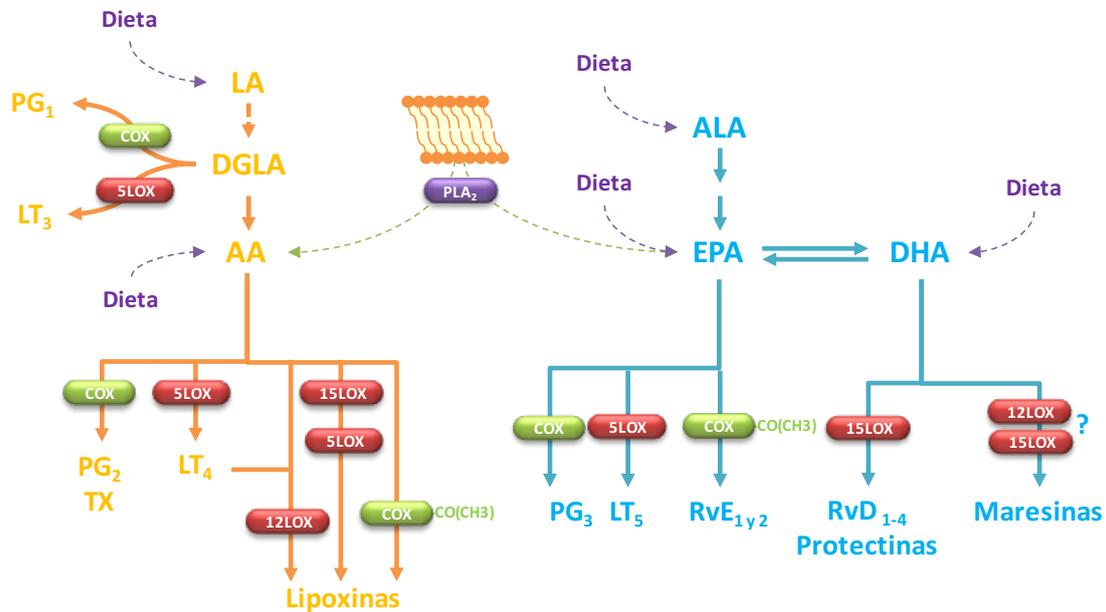
Esquema de la vía de elongación y desaturación del ácido oleico (AO), ácido linoleico (AL) y ácido α -linolénico (ALA). GLA: ácido γ -linolénico. DGLA: ácido di-homo γ -linolénico. AA: ácido araquidónico. EPA: ácido eicosapentaenoico. DHA: ácido docosahexaenoico. Adaptada de Gibson y col. 2011.

Actualmente, muchas investigaciones plantean controversias respecto a las recomendaciones de consumo de los AG de la dieta y el balance apropiado en el que deben consumirse. En principio, Lawrence (2013) planteó efectos benéficos tanto de las grasas saturadas, como de los MUFA con respecto al desarrollo de inflamación. Esto es debido a que varias sustancias producidas en la oxidación, tanto de los PUFA como de los hidratos de carbono, son conocidas por mediar procesos inflamatorios y promover el desarrollo de ciertas enfermedades como el cáncer, asma, diabetes tipo 2, aterosclerosis y disfunción endotelial. Sin embargo, es muy importante considerar los efectos nutricionales benéficos asociados al consumo de los LC-PUFA, especialmente los de la familia n-3.

Los LC-PUFA son incorporados en los fosfolípidos (FL) de la membrana celular y sirven como precursores en la síntesis de eicosanoides, los cuales tienen un rol biológico importante en la homeostasis y procesos inflamatorios. El AA y el EPA son liberados de los FL de membrana y convertidos a prostaglandinas, tromboxanos leucotrienos y prostaciclina, a través de la actividad de las enzimas fosfolipasa A2, ciclooxigenasas y lipooxigenasas (**Figura 6**) (Saldeen y col., 2006; Schmitz y col., 2008). Los LC-PUFA de ambas familias pueden competir entre sí por estas enzimas para dar lugar a diferentes clases de eicosanoides, los cuales pueden tener efectos opuestos (Surette y col., 2008). En general, se reconoce a los derivados del AA como eicosanoides más potentes fisiológicamente y de naturaleza pro-inflamatoria, por lo que una ingesta excesiva de LC-PUFA n-6 promueve la síntesis de eicosanoides pro-inflamatorios (Schmitz y col., 2008). Por otro lado, ha sido demostrado que el EPA y el DHA son precursores de importantes resolvinas E y D, protectinas y maresinas, los cuales son potentes agentes bioactivos en la resolución de la inflamación por lo que tienen actividades regulatorias inmunológicas anti-inflamatorias, inhibiendo la producción de citoquinas inflamatorias y disminuyendo el reclutamiento de leucocitos (Serhan y col., 2004), por lo que una elevada ingesta de LC-PUFA n-3 se ha asociado con efectos anti-inflamatorios. En adición a esto, es conocido que la inflamación está relacionada a varias enfermedades crónicas, como enfermedad coronaria, artritis reumatoidea, obesidad, diabetes, cáncer y enfermedades neurológicas (Calder, 2006), por lo que el balance n-6/n-3 es un determinante importante del mantenimiento de la homeostasis y del desarrollo normal (Simopoulos, 2008; 2009). Ha sido demostrado que la elevada relación n-6/n-3 de LC-PUFA (15/1 a 16,7/1), encontrada actualmente en las dietas occidentales, podría promover estas enfermedades (Griffin y col., 2006; Simopoulos, 2008), lo que lleva a considerar que la reducción de esta relación constituye una acción preventiva de enfermedades crónicas no transmisibles (Simopoulos, 2008; 2009). Así, una relación 4/1 fue asociada con una reducción del 70% en la mortalidad por enfermedad cardiovascular; una relación de 5/1 tuvo efectos

benéficos en pacientes con asma y relaciones de 2-3/1 suprimieron la inflamación en pacientes con artritis reumatoidea (Simopoulos, 2008).

Figura 6: Vías de síntesis de eicosanoides de la familia n 3 y n 6



Esquema resumido de la biosíntesis de prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) leucotrienos (LT), resolvinas (Rv), lipoxinas, protectinas y maresinas a partir del ácido araquidónico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) a través de ciclooxigenasas (COX), lipooxigenasas (LOX) y fosfolipasa A₂ (PLA₂). LA: ácido linoleico. DGLA. Ácido di-homo γ -linolénico. ALA: ácido α -linolénico. Adaptado de El Badry y col. (2007), Lorente-Cebrian y col. (2013) y Massaro y col. (2008)

Como se hiciera referencia anteriormente, una ingesta excesiva de AL lleva a una baja conversión de ALA a EPA (0,2 a 6%) e incluso a menor síntesis de DHA (0,05% o menos) (Goyens y col., 2006), por lo que las recomendaciones llevan, no sólo a incrementar la relación AL/ALA: 5/1 – 10/1, sino también a enfatizar en el consumo de alimentos ricos en EPA y DHA. En adición, los efectos benéficos atribuidos a los AG de la familia n-3 han sido asociados fundamentalmente a los LC-PUFA de esta familia, es decir EPA y DHA, más que al consumo de ALA (Lorente-Cebrian y col., 2013). Numerosas asociaciones internacionales y de diferentes países, tanto americanos como de la Unión Europea, recomiendan el consumo de alimentos ricos en EPA y DHA o cápsulas conteniendo estos AG. Así, la recomendación general es de dos porciones de alimentos ricos en EPA y DHA por semana, o bien, expresado en cantidad de AG entre 0,5 y 1 g por día de EPA+DHA como prevención primaria de enfermedades cardiovasculares (Lorente-Cebrian y col., 2013).

1.4. FUENTES PRINCIPALES DE ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS

En los últimos 100 años, se ha incrementado el consumo de AG de la familia n-6 debido a las nuevas tecnologías aplicadas en la agricultura y la industria de los aceites vegetales, que llevó a aumentar el cultivo de granos. La producción a gran escala de aceites vegetales se incrementó luego de la Primera Guerra Mundial por la elevada eficiencia y bajo costo de los granos, llevando a un mayor consumo poblacional de aceites como girasol y maíz (Kirschenbauer, 1960). Esto condujo a un importante desbalance en la relación n-6/n-3 ingerida, sobre todo en la dieta occidental (Simopoulos, 2008). En la **Figura 7** puede observarse la composición de AGS, MUFA y PUFA de diferentes aceites y grasas comercializadas.

Figura 7: Contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados de diferentes aceites y grasas

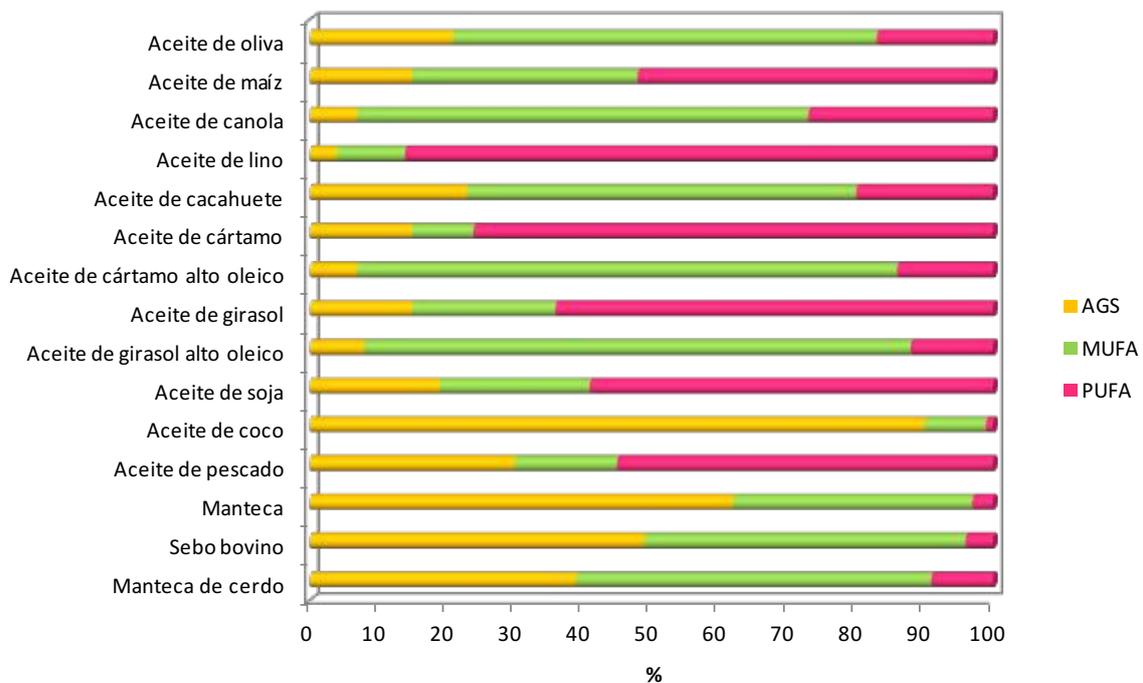


Figura comparativa del porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) presentes en diferentes aceites y grasas disponibles para su comercialización alrededor del mundo. Adaptada de Guillén y col.(2009).

La dieta Mediterránea ha sido ampliamente estudiada (Keys, 1995) por los efectos benéficos observados en la salud cardiovascular de la población. Esta dieta es principalmente a base de vegetales y difiere de la dieta occidental en que se consume menos cantidad de carnes y productos lácteos, y además, está caracterizada por la elevada ingesta de aceite de oliva. Como consecuencia de esto, y atribuyendo propiedades

benéficas al aceite de oliva, se han desarrollado aceites, como el aceite de girasol alto oleico y el aceite de cártamo alto oleico, con menores niveles de AL y ricos en AO.

Por otro lado, dado que numerosas organizaciones han recomendado el consumo de AG de la familia n-3, se han comenzado a comercializar aceites que contienen elevados niveles de AG de esta familia, como aceites de canola, lino y soja, ricos en ALA (Hunter, 1990). Sin embargo, como fue señalado anteriormente, los AG n-3 que han mostrado tener efectos benéficos sobre las alteraciones producidas en ciertas enfermedades crónicas no transmisibles, son el EPA y el DHA. Estos AG, se encuentran fundamentalmente en el aceite de pescado, pero debido a su bajo consumo en la comunidad occidental, se ha buscado enriquecer con estos AG, alimentos de consumo habitual. Sin embargo, ha sido difícil incorporarlos a la dieta de la población debido a que alteran el sabor de estos alimentos, por lo que se ha fomentado la comercialización de cápsulas que aportan EPA y DHA en las cantidades recomendadas de consumo (Kolanowski y col., 2006).

Con el advenimiento de la Revolución Industrial, y con el objetivo de incrementar el punto de fusión de los aceites vegetales para aplicarlos en la elaboración de otros tipos de alimentos, se desarrolló la hidrogenación parcial de los aceites. Durante este proceso los aceites son calentados bajo presión con gas hidrógeno y un metal catalítico (usualmente níquel), y como consecuencia de esto, diferentes proporciones de AGI con configuración *cis* son transformadas a AGS, isómeros posicionales con ubicación alterada del doble enlace dentro de la molécula, e isómeros geométricos como los AGt.

2. LOS ÁCIDOS GRASOS TRANS

Durante las últimas dos décadas, el consumo de AGt ha sido identificado como un importante factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares, el cual es considerado un factor modificable, ya que su consumo puede ser regulado. Las publicaciones surgidas de los estudios acerca de los efectos de la ingesta de AGt sugieren que éstos podrían causar disfunción metabólica e incrementar la adiposidad visceral, el peso corporal y el riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (Micha y col., 2009).

2.1. FUENTES DE ÁCIDOS GRASOS TRANS

El proceso de hidrogenación parcial de los aceites vegetales lleva a la formación de isómeros de AG del tipo *trans*. La cantidad de AGt producida depende tanto, de la composición química del aceite vegetal hidrogenado, como de las condiciones técnicas del proceso de hidrogenación (calor, presión, tiempo y tipo de catalizador). Desde el punto de vista tecnológico, es deseable que las condiciones de hidrogenación lleven a una alta proporción de AGt, ya que estos incrementan el punto de fusión y disminuyen el grado de

insaturación de los lípidos del aceite y, consecuentemente, la propensión a la auto-oxidación de los mismos. El alto punto de fusión resulta en una grasa más endurecida, lo que es útil en la fabricación de margarinas, grasas para frituras y otros productos. La baja proporción de compuestos auto-oxidables, por otro lado, son deseables para reducir el desarrollo de rancidez y extender la vida media de los productos (Koletzko y col., 1997).

Si bien, los AGt incorporados en la dieta del hombre provienen principalmente de los alimentos procesados industrialmente, como así también de aceites sometidos a condiciones inadecuadas, también se consume una pequeña parte de fuentes naturales como carne y leche de animales rumiantes (Koletzko y col., 1997). En estos animales, los AGt son sintetizados en el rumen a través de la actividad de las bacterias de la flora normal. La biohidrogenación del AL y del ALA produce, predominantemente, ácido vaccénico *t*11-18:1 (AV), y los niveles de producción de este isómero, dependen de la disponibilidad de AL y de ALA en el forraje que constituye el alimento de estos animales (Koletzko y col., 1997).

Tanto las grasas provenientes de carne y leche de rumiantes, como las provenientes de la hidrogenación industrial, contienen los mismos isómeros de AGt: ácido elaídico *t*9-18:1 (AE) y AV, entre otros; sin embargo la proporción entre ellos es notoriamente diferente (Weiland y col., 1999). La grasa de origen rumiante contiene principalmente AV, mientras que el AE es el principal isómero *trans* en la grasa manipulada industrialmente. El contenido de AGt en las grasas hidrogenadas de origen industrial varía ampliamente, pudiendo superar el 60% del contenido de AG totales, mientras que el contenido de AGt en la carne y productos lácteos es considerablemente bajo, encontrándose entre un 2-5% de los AG totales (Weggemans y col., 2004).

Un dato importante aportado por Tsuzuki y col. (2010), es que el impacto sobre el consumo total de AGt que produce la fritura de los aceites vegetales de uso común, es escaso. Esto indica que no hay formación de AGt durante el proceso de fritura convencional de los aceites comestibles, implicando que los AGt sólo pueden ser formados bajo condiciones de calentado drástico, es decir a altas temperaturas o reutilizando los aceites varias veces (Liu y col., 2006).

Debido a los efectos deletéreos asociados al consumo de AGt, fue inevitable regular el contenido de estos isómeros en los alimentos comercializados. De esta manera, en nuestro país, el Código Alimentario Argentino, en el ANEXO I "REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE EL ROTULADO NUTRICIONAL DE ALIMENTOS ENVASADOS" dentro de la clasificación de Grasas define a las "Grasas *trans*" como "los TG que contienen ácidos grasos insaturados con uno o más dobles enlaces en configuración *trans*, expresados como ácidos grasos libres".

A partir del 1º de agosto de 2006, el rotulado nutricional es obligatorio para todos los alimentos envasados, con pocas excepciones, especificadas en la legislación, y debe contar con la información nutricional correspondiente al alimento. Se debe declarar en el rotulado el contenido cuantitativo del valor energético de las grasas *trans*. Además, cuando se encuentren presentes, deben ser computados en el cálculo de grasas saturadas para la información nutricional complementaria relativa a grasa saturada y colesterol. En adición a esto, en 2010 se anexó el Artículo 155tris que especifica que “el contenido de AGt de producción industrial en los alimentos no debe ser mayor a: 2% del total de grasas en aceites vegetales y margarinas destinadas al consumo directo y 5% del total de grasas en el resto de los alimentos. Estos límites no se aplican a las grasas provenientes de rumiantes, incluyendo la grasa láctea.” Contemplando así las diferencias existentes entre los efectos asociados a las grasas *trans* de origen natural e industrial, como se verá más adelante.

2.2. METABOLISMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS *TRANS*

2.2.1. Incorporación de los ácidos grasos *trans* en los tejidos

Los AGt dietarios son, en su mayoría, rápidamente absorbidos e incorporados a los lípidos tisulares (Emken, 1979b; Kummerov, 1975; Kummerow, 1974; Kummerow, 1979). La cantidad incorporada, depende, entre otros factores, de su concentración en la dieta (Emken, 1979a). Además, la acumulación de los AGt en los tejidos podría ser selectiva. Así, el tejido adiposo y el hígado generalmente contienen altos niveles, comparados a otros tejidos (Heckers y col., 1977; Schrock y col., 1975). Algunos estudios indican que el cerebro, es un órgano altamente protegido contra la incorporación de isómeros *trans* en sus lípidos complejos, tanto en especies animales, como en humanos (Cook, 1981; Larque y col., 2001; Pettersen y col., 1992). Sin embargo, estudios realizados por Texeira y col. (2012), demostraron, luego de una ingesta prolongada de dietas conteniendo altos niveles de AGt, la incorporación de 0,3% de AGt en cerebro. En humanos, se ha demostrado que los AGt, son incorporados en todas las clases lipídicas de hígado, corazón, glóbulos rojos y plasma (Ohlrogge y col., 1982; Rocquelin y col., 1985). Estas diferencias en los niveles tisulares, podrían reflejar la incorporación preferencial de los AGt en clases particulares de lípidos, por ejemplo en ésteres de colesterol para el caso de tejido adrenal (Egwin y col., 1971) ó en FL en el caso de tejido hepático (Wood y col., 1970). Los AGt son también incorporados dentro de las lipoproteínas del suero, y se ha discutido, la posible significancia de esto en relación al desarrollo de aterosclerosis (Kummerow, 1974).

2.2.2. Oxidación de los ácidos grasos *trans*

Numerosos trabajos (Anderson y col., 1967; Coats, 1964; Lawson y col., 1979; Stearns y col., 1967; Wood, 1979), han informado que los AGt son oxidados a velocidades equivalentes que los correspondientes isómeros *cis*. Sin embargo, Stearns y col. (1967), en estudios con AG marcados (^{14}C), demostraron que los isómeros *cis*, fueron catabolizado en un grado ligeramente mayor que los correspondientes isómeros *trans*, y la mayor parte de éstos fueron retenidos en la carcasa de ratas de experimentación. Estos datos sugieren que los animales que consumen dietas conteniendo *t*-18:1 por un período prolongado de tiempo, acumulan isómeros *trans* en sus depósitos grasos. Posteriormente, un trabajo realizado por Guzmán y col. (1999), en hepatocitos de rata demostró que el AE y el AO, isómeros geométricos *trans* y *cis*, respectivamente, son metabolizados de forma diferente. Así, mientras que el AE es preferentemente oxidado, el AO es esterificado en moléculas de colesterol y FL.

2.2.3. Desaturación de los ácidos grasos y síntesis de prostaglandinas

Como se indicó anteriormente, en el metabolismo de los AG de 18 carbonos en la sección “1.3. Ácidos grasos dietarios”, la Δ 6-desaturasa, es la encargada de controlar la velocidad de síntesis de PUFA (Brenner, 1977), y tanto la Δ 6- como la Δ 5-desaturasas, están involucradas en la conversión de AG esenciales a precursores de prostaglandinas y eicosanoides. Se ha demostrado que los isómeros *trans* de AG con una o dos insaturaciones podrían inhibir estas desaturasas, por lo que se deben tener en cuenta los efectos de estos isómeros en el metabolismo de prostaglandinas y sus diversas funciones, ya que esto podría, en parte, explicar el mecanismo por el cual los AGt exacerban los síntomas de la deficiencia de AG esenciales (Kinsella y col., 1981). Por otro lado, varios isómeros posicionales de los *t*-18:1 pueden ser desaturados por la enzima Δ 9-desaturasa y, por lo tanto, podrían competir con el ácido esteárico (18:0), el cual es el sustrato normal para esta enzima (Mahfouz y col., 1980). Además, la acción de las enzimas desaturasas pareciera depender del tipo de AGt que es empleado como sustrato. Así por ejemplo, el AE podría inhibir las Δ 6- y Δ 9-desaturasas; sin embargo, el grado de inhibición, al menos para la desaturación en la posición 6, parece ser mucho menor que la producida por el isómero *trans*, *trans* del AL (Brenner, 1977).

2.3. EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS *TRANS* SOBRE LA SALUD

2.3.1. Mecanismos de acción de los ácidos grasos *trans*

Estudios experimentales sugieren que los AGt ejercen sus múltiples efectos alterando, entre otras, vías metabólicas de señalización, como fuera demostrado en distintos tipos de células. En hepatocitos, los AGt modifican la producción de lipoproteínas alterando, por un lado, la secreción, la composición lipídica y el tamaño de las partículas de apolipoproteína B100; como así también incrementando la acumulación y secreción celular de colesterol y ésteres de colesterol (Dashti y col., 2002; Mitmesser y col., 2005). En monocitos, los AGt inducen la producción de citoquinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral y su receptor, y los niveles de interleuquina 6 (Han y col., 2002; Mozaffarian y col., 2004). Los AGt también conducen a alteraciones que incrementan la disfunción endotelial (Baer y col., 2004; de Roos y col., 2001; Lopez-Garcia y col., 2005); y, en adipocitos, alteran el metabolismo de los AG, reduciendo los niveles de la proteína estimuladora de la acilación, la captación de TG y la esterificación del colesterol e incrementando la producción de AG libres (Matthan y col., 2001).

Todos estos tipos celulares tienen roles centrales en el incremento del riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles, como enfermedad cardiovascular y diabetes. Los mecanismos exactos involucrados en cada uno de estos efectos no están del todo claros, sin embargo, podrían tenerse en cuenta algunos aspectos por los cuales los AGt ejercerían estas alteraciones. Takatori y col. (1976) demostraron que la acumulación de pequeñas concentraciones de AGt en los tejidos podrían tener efectos metabólicos, independientemente de la proporción en que se los consuma. En relación a esto, la incorporación de los AGt en las membranas fosfolipídicas, podría alterar el empaquetado de los FL e influenciar, posiblemente, sobre las propiedades físicas de las membranas, así como sobre la actividad de enzimas asociadas a las mismas (Chapman y col., 1966).

Por otro lado, es ampliamente conocido que los AG son ligandos de diversos receptores citosólicos que regulan la expresión génica, entre los que se pueden mencionar: el receptor de activación de la proliferación de los peroxisomas (PPAR, del inglés: *peroxisome proliferator-activated receptors*), receptor hepático X, receptor de retinoide X y la proteína de unión al receptor de respuesta a esteroides (SREBP, del inglés: *sterol regulatory element binding protein*) (Diamond y col., 2002). Así, los AGt, uniéndose a estos receptores, alteran procesos intracelulares que inducen la secreción de hormonas y de agentes señalizadores, adipocitoquinas, mediadores inflamatorios, proteínas lipasas, entre otros. Estos mediadores cumplen roles centrales en diversos procesos (Micha y col., 2009), por lo que estos efectos inducidos por los AGt han sido asociados a alteraciones que llevan a

disfunciones celulares o a promover el desarrollo de ciertas patologías, con consecuencias sobre la salud. Si bien los estudios acerca de las consecuencias de elevadas ingestas de AGt sobre la salud son numerosos, a continuación se mencionarán algunos efectos de los AGt relacionados al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles.

2.3.2. Perfil de lípidos plasmáticos y riesgo de enfermedad cardiovascular

Los efectos de la grasa dietaria en el riesgo de padecer enfermedad coronaria, han sido tradicionalmente asociados por sus consecuencias sobre los niveles circulantes de colesterol LDL. Sin embargo, las grasas también afectan los niveles de colesterol HDL siendo la relación colesterol total/colesterol HDL un marcador más específico de riesgo de enfermedad coronaria (Mensink y col., 1990). Existen numerosos trabajos epidemiológicos, realizados en diferentes países, que relacionan a los AGt con alteraciones en los niveles de colesterol sérico. Al comparar su consumo con el de los AGS, muchos autores concluyen que los AGt poseen efectos mucho más deletéreos sobre el perfil de lipoproteínas plasmáticas, ya que los mismos no sólo incrementan el colesterol LDL, sino que además disminuyen los niveles de colesterol HDL, incrementando la relación colesterol total/colesterol HDL (Aro y col., 1997; de Roos y col., 2001; Judd y col., 1994; Mensink y col., 1990). En un meta-análisis realizado por Mensink y col. (2003) sobre 60 ensayos publicados entre 1970 y 1998 en 11 países, se calculó el efecto de la cantidad y tipo de grasa dietaria sobre la relación colesterol total/colesterol HDL. Los autores encontraron que, entre los macronutrientes estudiados, los AGt fueron los que mayor efecto deletéreo tuvieron sobre este parámetro y que incluso bajas concentraciones de AGt en la dieta, podrían incrementar el riesgo de enfermedad coronaria. Lichtenstein y col. (1999) demostraron que en pacientes con hipercolesterolemia, los niveles de colesterol total y colesterol LDL séricos fueron significativamente mayores en aquellos individuos que consumieron dieta con alto contenido de AGS. Sin embargo, el consumo de AGt redujo significativamente los niveles de colesterol HDL llevando a una mayor relación colesterol total/colesterol HDL. Van Tol y col. (1995) demostraron que los AGt incrementan la actividad plasmática de la proteína CETP (*Cholesteryl Ester Transfer Protein*), involucrada en la transferencia de ésteres de colesterol de las HDL a las LDL y VLDL, lo que podría explicar la reducción de los niveles de HDL y del incremento de las LDL.

Además del efecto sobre la colesterolemia en suero, los AGt incrementan los niveles séricos de TG cuando se los compara con la ingesta de otras grasas (Mensink y col., 2003) e incrementan los niveles de Lipoproteína a (Ascherio y col., 1999). El efecto observado sobre los niveles de colesterol HDL, la relación colesterol total/colesterol HDL y sobre los

TG circulantes, aumentan el riesgo de enfermedad cardiovascular. Un estudio realizado por Ascherio y col. (1994) arribó a la conclusión de que el riesgo relativo de enfermedad cardiovascular fue incrementado en un 27% por el consumo de AGt. Si bien, aún no está esclarecido el mecanismo por el cual los AGt aumentan el riesgo de padecer un evento cardiovascular, podría contemplarse el efecto de su incorporación en las membranas, la modificación de la estructura y la consecuente alteración de las vías enzimáticas.

2.3.3. Adiposidad e Inflamación

Los efectos de los AGt sobre la adiposidad son controversiales debido a la diversidad de isómeros. Mientras algunos estudios reportan un incremento de los depósitos de grasa por el consumo de AGt en humanos (Matthan y col., 2001; Smit y col., 2010), otros trabajos han demostrado un efecto opuesto (Atal y col., 1994; Faulconnier y col., 2006). Estas alteraciones en la acumulación de lípidos en el tejido adiposo tiene una estrecha relación con el desarrollo de inflamación, ya que este tejido, además de su función como reserva de energía, está involucrado en la secreción de moléculas bioactivas denominadas adipocitoquinas, como el factor de necrosis tumoral α , interleuquina 6, resistina, entre otras (Scherer, 2006). Estas moléculas son consideradas pro-inflamatorias y tienen un importante rol en la fisiopatología de diversos desórdenes metabólicos (Fruhbeck y col., 2001; Rajala y col., 2003; Trayhurn y col., 2001; Trayhurn y col., 2004), por lo que un desbalance en su producción facilita el desarrollo de diversas enfermedades como obesidad, resistencia a la insulina, aterosclerosis, entre otras (Trayhurn y col., 2006). Evidencias recientes sugieren que las grasas con alto contenido de AGt promueven la inflamación, lo cual podría estar parcialmente mediado por el tejido adiposo (Mozaffarian y col., 2004). Ingestas elevadas de AGt fueron asociadas con una incrementada actividad del factor de necrosis tumoral (Mozaffarian y col., 2004) e incrementados niveles de interleuquina-6 y proteína C reactiva en personas con elevado índice de masa corporal (Lopez-García y col., 2005), lo que podría representar un mecanismo potencial para los efectos sobre el riesgo de enfermedad coronaria y diabetes. Sin embargo, algunos trabajos han demostrado que los efectos de los AGt sobre la inflamación no difieren significativamente del de las grasas saturadas (Baer y col., 2004; Han y col., 2002).

2.3.4. Sensibilidad a la insulina y diabetes

Algunos estudios (Louheranta y col., 1999; Lovejoy y col., 2002) sugirieron que los AGt no tendrían efecto sobre los niveles de glucosa circulante y la sensibilidad a la insulina en mujeres y hombres sanos, con peso corporal normal. En estudios epidemiológicos, que incluyen individuos con sobrepeso o pacientes con diabetes *mellitus* establecida, los

efectos de una dieta con AGt sobre la sensibilidad a la insulina, son adversos, mostrando incrementos de los niveles de insulina circulantes sin disminución de la glucosa tanto en ayuno como en condición post-prandial (Christiansen y col., 1997; Lefevre y col., 2005; Vega-Lopez y col., 2006).

Estudios prospectivos han investigado la incidencia de la ingesta de AGt sobre la diabetes. Dentro de estos reportes, algunos resultados han mostrado una asociación positiva entre la ingesta de AGt y la incidencia de diabetes en la población estudiada (Hu y col., 2001), mientras que otros autores no han encontrado una relación significativa (van Dam y col., 2002). Sin embargo, en general, las evidencias de los efectos de los AGt sobre los marcadores de la homeostasis glucosa-insulina, en estudios aleatorios controlados, y en la incidencia de diabetes, en estudios observacionales, no son muy consistentes. Los estudios sugieren que el consumo de AGt podría exacerbar la resistencia a la insulina y, a largo plazo, incrementar la adiposidad visceral y el riesgo de diabetes mellitus, particularmente entre individuos predispuestos (Micha y col., 2009).

Con respecto a trabajos llevados a cabo en animales de experimentación, resultados hallados por nuestro grupo de investigación sugieren que los AGt no tendrían efecto sobre las vías de metabolización de la glucosa, tanto en hígado como en músculo esquelético de ratas (Bernal y col., 2006). Sin embargo, otros autores sugieren que el consumo de AGt tiene efectos adversos sobre los parámetros de insulino-resistencia, en comparación a dietas equivalentes conteniendo carbohidratos, MUFA o AGS. Estos efectos adversos incluyen, además de incrementados niveles de TG en suero (Axen y col., 2003; Ibrahim y col., 2005), hiperinsulinemia posprandial (Ibrahim y col., 2005; Kavanagh y col., 2007; Pisani y col., 2008) hiperglucemia (Albuquerque y col., 2006; Axen y col., 2003) y reducción de la captación de la glucosa por el músculo esquelético (Kavanagh y col., 2007; Natarajan y col., 2005) y músculo cardíaco (Osso y col., 2008). Estas disfunciones metabólicas han sido acompañadas por elevada grasa visceral y grasa hepática (Axen y col., 2003; Kavanagh y col., 2007) y una reducida expresión de los receptores de insulina hipotalámicos (Albuquerque y col., 2006).

2.3.5. Disfunción endotelial

La disfunción endotelial es un signo temprano clave en el desarrollo de la aterosclerosis. En un ensayo aleatorio controlado realizado en 50 hombres, se observó que una elevada ingesta de AGt resultó en niveles elevados de E-selectina, un marcador circulatorio de disfunción endotelial (Baer y col., 2004). Estos resultados son consistentes con lo hallado en otros estudios observacionales donde se demostró que, una dieta habitual rica en AGt está asociada a niveles incrementados de E-selectina y de moléculas

de adhesión celular (Lopez-Garcia y col., 2005). Por otro lado, los marcadores de la función endotelial también se vieron afectados. En este sentido, se observó una reducida vasodilatación en comparación a una dieta equivalente rica en AGS (de Roos y col., 2001).

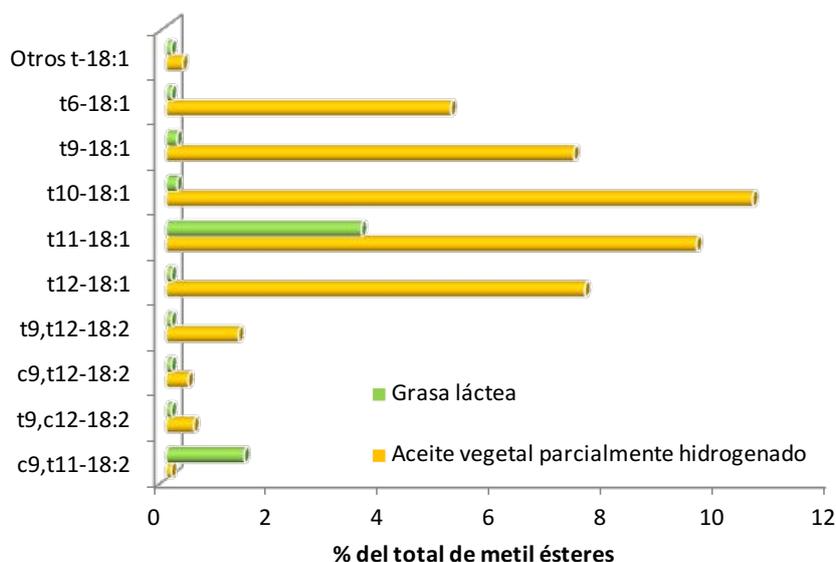
2.3.6. Cáncer

Existen algunos estudios que evalúan la relación entre la ingesta de AGt y el desarrollo de cáncer en diferentes sitios, los cuales fueron realizados en poblaciones con alto consumo de AGt. Sin embargo, a pesar de la elevada ingesta, es poca la evidencia existente que establezca una relación positiva entre el consumo de AGt y el riesgo de cáncer (Thompson y col., 2008). El cáncer de mama es el que presenta mayores estudios en relación a la ingesta de AGt, sin embargo, aún no hay mecanismos biológicos claros que expliquen los efectos adversos de los AGt sobre el desarrollo de este tipo de cáncer. En animales de experimentación, algunos trabajos demuestran que no existiría un efecto positivo de los AGt sobre la tumorigénesis mamaria. Por otro lado, en humanos, mientras que algunos trabajos hallaron una correlación positiva entre el consumo de AGt con la incidencia de cáncer de mama (Chajes y col., 2008; Rissanen y col., 2003; Voorrips y col., 2002), otros no lo han podido asociar (Byrne y col., 2002; Holmes y col., 1999; Kim y col., 2006).

Con respecto a estudios sobre otros tipos de cáncer, la información disponible es escasa y, aún, se requieren mayores evaluaciones. Entre ellos, es importante mencionar la relación con el cáncer de próstata, donde algunos estudios prospectivos muestran una correlación positiva con la ingesta de AGt (Chavarro y col., 2008; King y col., 2005). Es significativo destacar que, tanto para el cáncer de mama (Rissanen y col., 2003), como para el de próstata (King y col., 2005), se han establecido diferencias entre los efectos de los AGt naturales y los de origen animal.

2.4. LOS ÁCIDOS GRASOS *TRANS* DE ORIGEN NATURAL

La mayoría de los trabajos que han demostrado efectos negativos de los AGt, han sido llevado a cabo con grasas derivadas de la manipulación industrial y con alto contenido de AE. En los últimos años, la evidencia acerca de los efectos de los isómeros *trans* naturales, ha crecido ampliamente. El AV es el principal precursor del conjugado del ácido linoleico (CLA) *c9,t11-18:2*, también conocido como ácido ruménico (AR), y se lo puede encontrar, en una cantidad relativamente elevada, en productos lácteos derivados de animales rumiantes (Griinari y col., 2000) (**Figura 8**).

Figura 8: Comparación del contenido de ácidos grasos *trans* en dos tipos de grasa

Porcentaje de ácidos grasos *trans* y conjugados del ácido linoleico de una grasa láctea y un aceite vegetal parcialmente hidrogenado. Resultados obtenidos de análisis cromatográficos de nuestro laboratorio.

Ha sido demostrado que, cuando el AV es consumido a través de la dieta, puede ser bioconvertido a AR por la enzima $\Delta 9$ -desaturasa tanto en animales de experimentación (Santora y col., 2000) como en humanos (Turpeinen y col., 2002). Por lo tanto, es probable que la conversión de AV a AR, contribuya a la cantidad de AR disponible en el organismo y, además, la cantidad formada endógenamente podría tener efectos similares a los demostrados para el AR dietario (Tholstrup y col., 2006). Un trabajo publicado por Meijer y col. (2001), muestra una comparación sobre el efecto diferencial del AE y el AV en hámster sobre el metabolismo lipídico. La relación colesterol LDL/colesterol HDL en plasma fue significativamente más elevada en los animales que consumieron dieta rica en AE, en comparación al consumo de AV, a expensas de un incremento leve, no significativo, del colesterol LDL. Sin embargo, en este estudio, las diferencias en el impacto que tendría el consumo de AE o AV sobre el metabolismo lipídico en la patogénesis de la enfermedad coronaria, son muy sutiles y no sustentan la discriminación entre ambos isómeros *trans*. Posteriormente, en un trabajo realizado por Tholstrup y col. (2006), donde evalúan el efecto de los AGt presentes en leche de rumiantes, observan que estos AGt no tendrían el efecto colesterolémico observado para los AGt producidos industrialmente. Wang y col. (2008) demostraron que la suplementación con AV durante un período corto de tiempo a ratas obesas (JCR:LA-cp), no produce ningún efecto metabólico deletéreo y, contrariamente, tiene un efecto hipotrigliceridémico. Además, paralelamente, se pudo observar que, la suplementación crónica con AV a la dieta, mejora la dislipemia,

reduciendo la lipogénesis hepática *de novo* y la secreción de quilomicrones en el mismo modelo animal (Wang y col., 2009). Incluso, en un modelo de rata insulino-resistente (JCR:LA-cp), el AV suplementado a una dieta rica en AR, exacerba las propiedades hipolipemiantes del AR (Jacome-Sosa y col., 2010).

Estudios preclínicos y epidemiológicos, demostraron efectos benéficos o neutros de los AGt derivados de grasa de rumiantes, en dietas con niveles normales de grasa (Gebauer y col., 2011). Recientemente, algunos trabajos, sugieren que el consumo de grasas *trans* derivadas de rumiantes podría proteger contra eventos cardiovasculares (Bendsen y col., 2011) y, más aún, no han mostrado tener efectos adversos sobre los marcadores de enfermedad cardiovascular (Brouwer y col., 2013).

Es importante mencionar que, en un momento, la manipulación de grasas y aceites con el fin de inducir la formación de AGt fue un resultado buscado para obtener grasas con determinadas propiedades físicas, reduciendo así el consumo de grasas saturadas, las cuales tenían efectos negativos sobre la salud. Estudios posteriores asociaron la ingesta de AGt con efectos deletéreos sobre la salud, sin embargo, la evidencia acerca de los efectos diferenciales de los AGt de distinto origen, sugiere que se debe fomentar, principalmente, el consumo de alimentos o ingredientes de origen natural, más que aquellos alimentos que hayan surgido de la manipulación industrial.

Objetivos

OBJETIVOS

Finalmente, en virtud de lo anteriormente presentado podemos decir que los estudios nutricionales destinados a evaluar los efectos de los AGt son, en general, de difícil interpretación por el gran número de variables introducidas en relación al tratamiento dietario, especie animal utilizada, tiempo de tratamiento experimental, tipo de isómero utilizado, entre otros. Los mecanismos relacionados a las modificaciones producidas por los AGt en el metabolismo intermedio podrían estar asociados, entre otros, a alteraciones en la biosíntesis de LC-PUFA, por lo que el presente trabajo de tesis busca avanzar en el conocimiento de los potenciales efectos metabólicos-nutricionales de las interacciones que podrían tener los AGt con aceites ricos en AG con diferentes proporciones relativas de AGI de las series n-3, n-6 y n-9. En adición, es importante analizar esta interacción utilizando niveles de grasa que podrían ser alcanzables por la población evaluando los efectos de aceites y grasas disponibles para el consumo humano.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general del plan de trabajo es investigar los potenciales efectos metabólicos-nutricionales de las interacciones de los AGt con aceites ricos en diferentes tipos de AGI en un modelo animal experimental.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para responder al objetivo general, en ratones alimentados con dietas conteniendo aceites con diferentes proporciones de AGI de las familias n-9, n-6 y n-3 suplementadas o no con aceites ricos en AGt se propusieron los siguientes objetivos específicos:

- ✓ Determinar la eficiencia energética de las dietas.
- ✓ Explorar las probables alteraciones en la composición corporal.
- ✓ Investigar las potenciales alteraciones en parámetros del metabolismo intermedio de suero, hígado y músculo.
- ✓ Analizar la composición de AG de los lípidos circulantes y tisulares, y correlacionarla con las potenciales alteraciones observadas.
- ✓ Estudiar los mecanismos regulatorios de los niveles de TG séricos y hepáticos, mediante la evaluación de la capacidad de secreción hepática de TG “in vivo”, mediante la remoción plasmática de TG pre- β lipoproteínas.

- ✓ Determinar la actividad y expresión de enzimas implicadas en la lipogénesis en hígado y tejido adiposo, como de sus factores de transcripción.
- ✓ Evaluar la actividad y expresión de las enzimas de la β -oxidación en músculo esquelético e hígado como así también del factor de transcripción involucrado en sus expresiones.
- ✓ Estimar el daño peroxidativo y defensas hepáticas antioxidantes.

Materiales y Métodos

MATERIALES Y MÉTODOS

1. ANIMALES

Para investigar los posibles efectos metabólico-nutricionales de las interacciones de los AGt con aceites ricos en diferentes tipos de AGI, se emplearon ratones macho, de la cepa CF1, provistos por el Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, o propios reproducidos en las instalaciones de nuestro bioterio. Tanto durante el período de aclimatación como durante el período experimental, los animales fueron mantenidos en condiciones controladas (23 ± 2 °C y ciclo luz-oscuridad de 12 horas). Todos los estudios fueron programados según normas internacionales para el uso de animales de laboratorio (*Guide to the Care and Use of Experimental Animals of Laboratory*). Luego del destete, los mismos fueron aclimatados durante dos semanas, con libre acceso al agua y a una dieta estándar de laboratorio. Posteriormente, fueron distribuidos aleatoriamente en 6 grupos ($n= 5$ o 6 dependiendo de la experiencia) y alimentados durante 30 días con alguna de las dietas experimentales, controlando el peso corporal y otros parámetros nutricionales según la experiencia programada.

2. DIETAS EXPERIMENTALES

Las dietas experimentales, a las cuales fueron sometidos los diferentes lotes de animales, fueron preparadas en el laboratorio a partir de los componentes de grado alimenticio según un modelo de dieta estándar en base a las recomendaciones emanadas del comité *ad hoc* del Instituto Americano de Nutrición (AIN-93G) para roedores en crecimiento (Reeves y col., 1993) (**Tabla 1**). Las mismas fueron isocalóricas y contuvieron un 7% de grasa, diferenciándose en el tipo de aceite experimental empleado como fuente lipídica:

- **Oliva (O)**: 7% de aceite de oliva
- **Maíz (M)**: 7 % de aceite de maíz
- **Canola (C)**: 7% de aceite de canola
- **Oliva + AGt (Ot)**: se substituyó parte del aceite de oliva de la dieta “Oliva” por aceite vegetal parcialmente hidrogenado para alcanzar 1 % de AGt.
- **Maíz + AGt (Mt)**: se substituyó parte del aceite de maíz de la dieta “Maíz” por aceite vegetal parcialmente hidrogenado para alcanzar 1 % de AGt.
- **Canola + AGt (Ct)**: se substituyó parte del aceite canola de la dieta “Canola” por aceite vegetal parcialmente hidrogenado para alcanzar 1 % de AGt.

Tabla 1 Composición de las dietas experimentales (g/kg de dieta)

	O	Ot	M	Mt	C	Ct
Aceite de maíz	-	-	70	50	-	-
Aceite de canola	-	-	-	-	70	50
Aceite de oliva	70	50	-	-	-	-
Aceite vegetal parcialmente hidrogenado	-	20	-	20	-	20
Caseína	200	200	200	200	200	200
Almidón	529,5	529,5	529,5	529,5	529,5	529,5
Sacarosa	100	100	100	100	100	100
Fibras	50	50	50	50	50	50
Vitaminas	10	10	10	10	10	10
Minerales	35	35	35	35	35	35
L-cisteína + L-metionina	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Colina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Energía (KJ/Kg)	16569	16569	16569	16569	16569	16569

O, C y M corresponden a las dietas conteniendo aceite de oliva, maíz y canola, respectivamente; y Ot, Mt, Ct corresponden a las dietas conteniendo aceite de oliva, maíz y canola, respectivamente sustituidas parcialmente con aceite rico en AGt.

Los aceites de oliva, maíz y canola fueron utilizados como fuentes representativas de lípidos enriquecidos en AG de las familias n-9, n-6 y n-3, respectivamente. Se empleó aceite de oliva como fuente de aceite rico en AG de la serie n-9 (relación AO/AL/ALA: 55,2/17,2/0,7); aceite de maíz como fuente de aceite rico en AG de la serie n-6 (relación AO/AL/ALA: 31,3/ 53,3/ 0,9), aceite canola como fuente de aceite rico en AG de la serie n-3 (relación AO/AL/ALA: 63,2/19,0/10,9), y aceite vegetal parcialmente hidrogenado (47% AGt) como fuente de AGt. Todas las dietas cumplieron las recomendaciones de AG esenciales para así evitar cualquier posible alteración como consecuencia de un déficit dietario de los mismos.

Para garantizar la estabilidad y composición constante de los lípidos dietarios, se controló el estado de conservación de los aceites mediante la evaluación del Índice de peróxidos y AG libres; asimismo, una alícuota de cada una de los lotes de aceites dietarios a utilizar experimentalmente fue convertida a ésteres metílicos y la composición de sus AG constitutivos fue analizada por Cromatografía Gaseosa utilizando un cromatógrafo gaseoso marca Shimadzu GC 2014 (**Tabla 2**). Los aceites ricos en AGt fueron obtenidos por gentileza de CALSA S.A. y provienen de la hidrogenación parcial de aceites vegetales.

Tabla 2: Perfil de ácidos grasos de los aceites experimentales (% del total de metil ésteres de ácidos grasos)

Ácido graso	AVPH	Oliva	Maíz	Canola
14:0	0,09	0,00	0,03	0,07
16:0	11,06	17,10	12,21	3,99
16:1	0,00	1,97	0,12	0,19
18:0	10,78	1,58	1,93	2,22
<i>t</i> 6 + <i>t</i> 7 + <i>t</i> 8-18:1	5,66	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 9-18:1	7,29	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 10-18:1	10,67	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 11-18:1	9,65	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 12-18:1	7,49	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 6-18:1	8,26	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 9-18:1	9,03	55,18	31,95	61,11
<i>t</i> 15 + <i>c</i> 10-18:1	3,94	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 11-18:1	3,23	4,76	0,54	3,49
19:0	0,56	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 9, <i>t</i> 12-18:2	1,35	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 9, <i>t</i> 12-18:2	0,4	0,00	0,00	0,00
<i>t</i> 9, <i>c</i> 12-18:2	0,44	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 9, <i>c</i> 12-18:2	0,63	17,21	51,26	18,41
20:0	0,03	0,30	0,50	0,52
<i>c</i> 8-20:1	0,06	0,00	0,00	0,00
<i>c</i> 11-20:1	0,02	0,24	0,25	0,90
<i>c</i> 9, <i>c</i> 12, <i>c</i> 15-18:3	0,00	0,74	0,88	8,64
22:0	0,35	0,13	0,16	0,24
ΣNI	9,35	0,70	0,15	0,22

AVPH: aceite vegetal parcialmente hidrogenado; NI: No identificados

3. PARÁMETROS RELACIONADOS A LA COMPOSICIÓN CORPORAL, RETENCIÓN ENERGÉTICA CORPORAL Y EFICIENCIA ENERGÉTICA

Un lote de animales fue utilizado para evaluar la composición corporal y la eficiencia energética de las dietas. Para ello, se realizó diariamente, un registro del peso de los animales y de la ingesta de alimento (comida ofrecida y resto de alimento).

3.1. COMPOSICIÓN CORPORAL

Al finalizar el tratamiento, los animales de todos los grupos dietarios fueron anestesiados y eviscerados. Las carcasas se pesaron y colocaron en estufa a 60 °C para lograr el secado total de las mismas. Cada una de las carcasas secas fueron trituradas hasta obtener una muestra homogénea, a partir de la cual, distintas alícuotas se utilizaron para la determinación del contenido de proteína, grasa y agua.

3.1.1. Determinación del contenido de proteína

La cuantificación de nitrógeno en alícuotas de carcasas secas y trituradas se realizó mediante el método de Kjeldahl (Windham, 1999). Básicamente, la muestra se digirió con H₂SO₄ concentrado con el fin de destruir oxidativamente la materia orgánica. De esta manera el nitrógeno fue transformado en amoníaco, el cual quedó retenido en solución como (NH₄)₂SO₄. El proceso se aceleró mediante catalizadores como CuSO₄ y selenio, y por elevación de la temperatura de ebullición del H₂SO₄ mediante el agregado de Na₂SO₄ o K₂SO₄. Toda la materia orgánica se transformó en CO₂ y H₂O que se elimina por calentamiento. El NH₄⁺ se transformó en NH₃ por adición de una solución alcalina (NaOH concentrado), y este último fue arrastrado por vapor de agua y recibido en un frasco colector conteniendo HCl 0,1N. El exceso de HCl que no reaccionó con el NH₃ se tituló con NaOH. Los miliequivalentes de nitrógeno correspondieron a la diferencia entre los miliequivalentes de HCl totales presentes en el frasco colector y los miliequivalentes en exceso. El contenido total de nitrógeno de las carcasas secas se multiplicó por 6,25 con el fin de estimar la cantidad de proteínas presentes (Rafecas y col., 1994). Los resultados se expresaron como g de proteína/100 g de carcasa (%).

3.1.2. Determinación del contenido de grasa

La cuantificación del contenido de grasa total de la carcasa se realizó mediante la extracción con solvente utilizando el extractor de Twysselman (Windham, 1999). Para ello, en alícuotas de carcasas secas y trituradas se realizó una extracción con éter de petróleo. De esta forma se valoraron todas las sustancias solubles en éter. El contenido de grasa se obtuvo por gravimetría. Los resultados se expresaron como g de grasa/100 g de carcasa (%).

3.1.3. Determinación del contenido de agua

El contenido de agua se determinó por secado térmico (Windham, 1999). Para ello las carcasas fueron pesadas y colocadas en estufa a 60 °C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como g de agua/100 g de carcasa (%).

3.2. RETENCIÓN ENERGÉTICA CORPORAL Y EFICIENCIA ENERGÉTICA

3.2.1. Retención energética corporal

Se calculó a partir del contenido de proteínas y lípidos de la carcasa determinados según se explicara anteriormente. Se emplearon los factores de conversión de Canolty (1976): 18,62 KJ/g de proteína y 39,12 KJ/g de lípido para transformar en energía (KJ) el contenido de proteínas y grasas. La retención energética total de la carcasa (RETC) se calculó en función de la ganancia diaria de peso como proteínas y como grasa de cada animal.

$$\text{RETC (KJ/día)} = \text{RPD (KJ/día)} + \text{RGD (KJ/día)}$$

Donde:

$$\text{Retención Proteica Diaria (RPD)} = \text{g proteína/día} \times 18,62 \text{ KJ/g proteína}$$

$$\text{Retención de Grasa Diara (RGD)} = \text{g grasa/día} \times 39,12 \text{ KJ/g grasa}$$

3.2.2. Eficiencia energética

La eficiencia energética (EE) durante el período experimental se calculó mediante el cociente entre la ganancia de energía diaria de la carcasa y la ingesta energética (IE) (Bell y col., 1995; Dulloo y col., 1992; Specter y col., 1995). La ingesta energética se calculó multiplicando la cantidad de alimento consumido por el número de KJ aportados por gramo de dieta (**Tabla1**).

$$\text{EE} = \frac{\text{RETC (KJ/día)}}{\text{IE (KJ/día)}}$$

4. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS DE TEJIDOS

Para evaluar los parámetros relacionados al metabolismo lipídico a nivel tisular se utilizó otro lote de animales, los cuales fueron sometidos al mismo tratamiento experimental, utilizando las 6 dietas descritas anteriormente y un n=6 animales por grupo. Al finalizar dicho tratamiento, los animales fueron sacrificados (9.00-11.00 AM) bajo anestesia (1mg acepromacina + 100 mg ketamina/kg peso). Se extrajeron muestras de sangre por punción cardíaca y las mismas se centrifugaron a 4°C. Las alícuotas de suero obtenidas fueron congeladas a -20°C hasta el momento de su valoración. Hígado, tejido adiposo epididimal (TAE) y músculo gastrocnemio fueron extraídos en forma completa, pesados, y muestras de cada uno fueron congeladas con una pinza enfriada en nieve carbónica, morterizadas y conservadas en ultrafreezer (-80 °C) hasta su procesamiento.

Para las cuantificaciones en músculo esquelético se seleccionó el músculo gastrocnemio, ya que, por su constitución en tipos de fibras, es representativo del tejido

muscular total, el cual posee una elevada capacidad oxidativa y de utilización de glucosa y AG, como así también representa aproximadamente el 45 % del peso corporal. Con respecto al tejido adiposo, a pesar de que en roedores representa sólo un 7-10% de su peso corporal y que recibe menos del 5% del flujo sanguíneo, se ha demostrado que es el principal tejido responsable de la remoción de las lipoproteínas ricas en TG presentes en circulación en condiciones post-prandiales. Debido a esto, se utilizó el TAE como representante para el estudio del metabolismo lipídico.

5. PERFIL LIPÍDICO Y GLUCOSA EN SUERO

5.1. TRIGLICÉRIDOS

La concentración de TG en suero se determinó mediante un método enzimático, empleando un kit comercial (Sociedad de Bioquímicos, Santa Fe, Argentina). El método se fundamenta en la hidrólisis enzimática de los TG en glicerol y AG libres, por medio de una combinación especial de lipasas. El glicerol, es fosforilado a glicerol-fosfato en presencia de glicerol kinasa y ATP, luego este derivado fosforilado es oxidado con producción de peróxido de hidrógeno por acción de la enzima glicerol fosfato oxidasa. El indicador final de color es una quinoneimina roja formada a partir del peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y 4-clorofenol, con la acción catalítica de una peroxidasa. La quinoneimina posee un pico de absorción a 510 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de TG presentes en la muestra. Los resultados se expresaron en mmol/l.

5.2. COLESTEROL

La concentración de colesterol total en suero se determinó mediante un método enzimático empleando un kit comercial (Sociedad de Bioquímicos, Santa Fe, Argentina). El método se fundamenta en la hidrólisis enzimática de los ésteres de colesterol por la enzima colesterol esterasa liberando al medio colesterol y AG. El colesterol producido en esta reacción, más el colesterol libre, es oxidado a colesterol-3-ona por acción de una colesterol oxidasa, con formación de peróxido de hidrógeno. Este último, en presencia de peroxidasa, oxida el cromógeno 4-Aminofenazona/Fenol a un compuesto de color rojo. La quinoneimina roja formada posee un pico de absorción a 505 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de colesterol total presente en la muestra. Los resultados se expresaron en mmol/l.

5.3. FOSFOLÍPIDOS

El nivel de FL séricos se evaluó mediante la determinación del contenido de fósforo presente en un extracto de lípidos séricos. Así para la obtención del extracto se empleó la técnica propuesta por Folch (1957), la cual permite la extracción y purificación de los lípidos del suero, mediante la homogenización de una alícuota de suero con la mezcla de solventes cloroformo:metanol 2:1 (v/v), en una proporción 1/20, y posterior lavado del extracto obtenido por adición de agua o de una solución apropiada de sales. De la mezcla resultante se obtuvo un sistema bifásico. La fase superior que contiene todas las sustancias no lipídicas y sólo cantidades insignificantes de otros lípidos, fue desechada. Una alícuota de la fase inferior, que contiene esencialmente el total de los lípidos del suero, fue transferida a un tubo de vidrio largo (20 ml) con tapa a rosca y secada bajo corriente de N₂ (g) para su posterior procesamiento.

La cuantificación del contenido de fósforo en el extracto lipídico obtenido, se llevó a cabo mediante el método estándar de reducción del complejo fosfomolibdato con ácido ascórbico (Chen y col., 1956). El mismo emplea ácido perclórico para producir la oxidación del fósforo orgánico hasta fosfato inorgánico. Los iones fosfatos reaccionan con el molibdato de amonio en medio ácido para producir ácido fosfomolibdico, el cual es reducido a azul de molibdeno, de color intenso por acción del ácido ascórbico. La intensidad del color a 800 nm es proporcional a la concentración de fósforo de la muestra. Los resultados se expresaron en mmol/l

5.4. GLUCOSA

La concentración de glucosa en suero se determinó mediante un método enzimático empleando un kit comercial (Sociedad de Bioquímicos, Santa Fe, Argentina). La técnica se basa en la oxidación de la glucosa sérica, por la enzima glucosa oxidasa, a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Este último, en presencia de peroxidasa, oxida al cromógeno 4-Aminofenazona/Fenol a una quinona de color rojo cuya intensidad se mide espectrofotométricamente a 505 nm y es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra. Los resultados se expresaron en mmol/l.

6. PERFIL LIPÍDICO EN TEJIDOS

En muestras de hígado almacenadas a -80°C se determinaron las concentraciones de TG, FL y colesterol total, mientras que en las muestras de músculo gastrocnemio, se evaluaron las concentraciones de TG y FL.

6.1. TRIGLICÉRIDOS

Para cuantificar los niveles de triglicéridos tisulares (hígado y músculo gastrocnemio), una cantidad determinada del tejido conservado a -80 °C se homogenizó con solución fisiológica fría (4 °C) en una dilución 1/10.

El contenido de TG se determinó mediante la técnica propuesta por Laurell (1966). Para tal propósito, los TG se extrajeron utilizando una mezcla éter isopropílico:etanol (95/5; v/v) y luego fueron saponificados con una solución de KOH 6N:etanol (0,5/9,5; v/v). El glicerol liberado fue cuantificado, mediante su oxidación con peryodato, generando un mol de ácido fórmico y dos moles de formaldehído para cada mol de sustrato. El formaldehído obtenido, reacciona a 100 °C con ácido cromotrópico para dar un compuesto violeta, cuya intensidad de color se mide a 570 nm y es proporcional a la cantidad de TG presente en la muestra. Los resultados se expresaron como $\mu\text{mol/g}$ tejido húmedo.

6.2. COLESTEROL

Para cuantificar el contenido de colesterol total en hígado, una cantidad determinada del tejido conservado a -80 °C se homogenizó con solución fisiológica fría (4 °C) en una dilución 1/2. Sobre alícuotas de estos homogenados se realizó la extracción lipídica siguiendo la técnica de Folch (1957) indicada para FL séricos. Una porción del extracto lipídico obtenida fue transferida a otro tubo de extracción y secada a 40 °C bajo corriente de N_2 (g). Sobre este extracto seco se cuantificó el colesterol total según la técnica de Abell (1952). Este método comprende: 1) tratamiento del extracto lipídico con hidróxido de potasio para liberar el colesterol de los complejos lipoproteicos y saponificar los ésteres de colesterol; 2) extracción del colesterol en un volumen medido de éter de petróleo después de la dilución de la solución alcohólica con agua; y 3) medida del colesterol en una alícuota de la fase etérea por medio de la reacción de color de Liebermann-Burchard. Este método químico se basa en el desarrollo de una coloración verde en presencia de anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado con temperatura, después de 30 min. de reacción. La intensidad de la coloración es medida en el espectrofotómetro a 620 nm. La intensidad de color tiene una relación lineal con la concentración de colesterol presente en el extracto lipídico. Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol/g}$ tejido húmedo.

6.3. FOSFOLÍPIDOS

Para cuantificar los niveles de FL en hígado y músculo gastrocnemio, una cantidad determinada del tejido conservado a -80 °C se homogenizó con solución fisiológica fría

(4 °C) en una dilución 1:2 en todas las muestras de hígado y una dilución 1:10 en las muestras de músculo gastrocnemio. Sobre alícuotas de estos homogenados se realizó la extracción lipídica siguiendo la técnica de Folch (1957) anteriormente detallada, y posteriormente se continuó con la cuantificación del contenido de fósforo presente en el extracto lipídico obtenido mediante la técnica propuesta por Chen (1956). Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol/g}$ tejido húmedo.

7. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

El perfil de AG tisulares y circulantes, se cuantificó mediante cromatografía gaseosa, empleando un cromatógrafo gas-líquido marca Shimadzu (GC-2014), con detector FID y columna capilar CP-Sil 88 (100 mx 0,25 mm id x 20 mm de espesor). Los metil ésteres de los AG séricos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención relativos a estándares comerciales.

La identificación y cuantificación de ésteres metílicos correspondientes a AG presentes en materias grasas de origen animal por cromatografía gaseosa, requiere de tres etapas: obtención del extracto lipídico, derivatización de los AG, y corrida cromatográfica.

7.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO LIPÍDICO

La extracción de la materia grasa se realizó mediante el método de Bligh and Dyer (1959). Este método permite una rápida extracción de lípidos de tejidos o muestras que contienen una cantidad significativa de agua. El método se basa en la homogenización de la muestra con cloroformo, metanol y agua en proporciones 1:2:0,8 para formar una sola fase miscible con el agua de la muestra, que extrae, tanto la grasa libre, como estructural. La separación de fases se logra con la adición de alícuotas de cloroformo y agua. El material lipídico se encuentra en la fase orgánica, mientras que el material no lipídico se ubica en la fase acuosa. El volumen de suero utilizado fue de 0,8 ml para la extracción lipídica. En aquellos casos donde el volumen de suero no alcanzó a 0,8 ml se ajustó agregando la cantidad de agua necesaria, ya que el contenido acuoso de la muestra es crítico para conservar la proporción de cloroformo, metanol y agua, que permite la formación del sistema homogéneo.

En el caso de los tejidos, como el hígado, tejido adiposo o músculo gastrocnemio, se determinó el contenido de humedad de la muestra para ajustarla posteriormente a 80%. Así, se estableció que el tejido adiposo contenía aproximadamente 10% de humedad, el hígado 65-70% y el músculo gastrocnemio 75%. La fase orgánica que alberga el material lipídico de la muestra se evaporó bajo corriente de N_2 gas.

7.2. DERIVATIZACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Para la derivatización de los AG es importante considerar que, incluso al estado de vapor, los mismos se encuentran en forma de dímero, unidos por puente de hidrógeno. Esta estructura corresponde al doble de su peso molecular y se refleja en sus propiedades físicas, como el punto de ebullición. Así, los AG tienen sus puntos de ebullición anormalmente altos, lo cual impide su análisis directo por cromatografía gaseosa. Por esta razón los AG de los TG y los AG libres presentes en la muestra son convertidos en metil ésteres con KOH 2N, previa disolución del extracto lipídico en hexano calidad HPLC (ISO 5509:2000 (E)). Los ésteres metílicos formados tienen un peso molecular algo mayor que el respectivo AG, pero, al romperse el puente de hidrógeno, bajan su punto de ebullición a la mitad, pudiendo ser analizados perfectamente por cromatografía gaseosa, ya que son volátiles a las temperaturas en que se manejan las fases líquidas para su análisis.

7.3. CORRIDA CROMATOGRÁFICA

En referencia a la corrida cromatográfica, resulta pertinente definir a la cromatografía gaseosa como una técnica de partición que permite que todo compuesto químico que habitualmente es un gas o susceptible de ser transformado en un gas, pueda ser identificado y cuantificado por esta metodología. Así, la muestra en estado gaseoso se reparte entre dos fases no miscibles: una gaseosa que corresponde al gas de arrastre o gas portador que es móvil y una fase líquida estacionaria. A medida que va pasando el gas portador con la muestra formada por “n” componentes, la separación de cada uno de ellos se efectúa de acuerdo a su propio coeficiente de reparto entre el gas portador y la fase líquida. Debe señalarse que, todos los ésteres metílicos de los AG, de cualquier muestra de materia grasa, emergen como señales agudas denominadas picos, por lo tanto la identificación se basa en comparar el tiempo que demora (tiempo de retención) en emerger un pico determinado y compararlo con el tiempo de retención, en iguales condiciones, el éster metílico correspondiente al patrón conocido. El tiempo de retención del éster metílico, de un AG en particular, es característico para ese compuesto que se ha analizado en una columna con una fase líquida específica, en condiciones estandarizadas de temperatura de la columna, temperatura del detector y del inyector, flujo del gas portador e iguales condiciones de partición de flujo conocido como “*splits*”. Este tiempo de retención total, se compara con el obtenido para el respectivo éster metílico de referencia, sometido a las mismas condiciones cromatográficas.

A partir del cromatograma obtenido, los resultados fueron expresados como porcentaje relativo de cada área en función al total de áreas registradas (área %).

8. SECRECIÓN HEPÁTICA *IN VIVO* DE TRIGLICÉRIDOS-PRE- β LIPOPROTEÍNAS

Se determinó la velocidad de secreción de TG-pre- β lipoproteínas *in vivo* (VSTG) utilizando, para tal fin, la metodología propuesta por Otway (1967) modificada (Bernal y col., 1989). La misma se fundamenta en la inhibición de la remoción intravascular de las lipoproteínas de $\delta < 1,006$ g/ml por la administración de Triton WR 1339, de modo que los TG se acumulan en el tiempo en el sistema vascular en forma proporcional a la velocidad con la que son secretados por el hígado.

Los animales correspondientes a los tratamientos dietarios descritos anteriormente fueron ayunados 12 hs y bajo anestesia, se administró vía endovenosa una solución de Triton WR 1339 al 10 % (v/v) en NaCl 0,9 % (dosis: 600 mg/kg peso). Se tomaron muestras de sangre para el dosaje de TG al inicio y a los 120 minutos (previo y dos horas posteriores a la administración de la droga, respectivamente). El volumen plasmático se determinó en una experiencia paralela mediante la técnica de dilución del Azul de Evans (Wang y col., 1949).

La velocidad de secreción de triglicéridos fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\text{VSTG (nmol/100g/min)} = \frac{([\text{TG}_{120}] - [\text{TG}_0]) \times \text{Vp}}{\text{P} \times \text{t}}$$

Siendo $[\text{TG}_{120}]$ y $[\text{TG}_0]$, las concentraciones de TG a tiempo 120 y 0 min de la administración del Triton WR 1339 y expresadas en $\mu\text{mol/ml}$; P, el peso en gramos del animal; Vp, volumen plasmático en ml; y t, tiempo en minutos.

En trabajos previos (Bernal y col., 1989) ha sido demostrado que, en ratas, la dosis elegida es la que provee la máxima inhibición de la clarificación de los TG de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-TG) y que bajo esas condiciones el acumulo de TG en el plasma es lineal hasta los 150 min, razón por la que sólo se cuantificaron los niveles de TG a los tiempos 0 y 120 min. Estas condiciones fueron corroboradas para asegurar que fueran las adecuadas en ratones.

9. CAPACIDAD DE REMOCIÓN PLASMÁTICA DE TRIGLICÉRIDOS PRE- β LIPOPROTEÍNAS

La capacidad de remoción plasmática de VLDL-TG fue evaluada mediante la actividad Lipoproteína Lipasa (LPL) en los principales tejidos encargados de la captación de TG: TAE y músculo gastrocnemio.

9.1. ACTIVIDAD LIPOPROTEÍNA LIPASA EN TEJIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

La actividad enzimática LPL del TAE, fue cuantificada en polvo acetónico por el método fluorimétrico descrito por Del Prado (1994). La extracción del polvo acetónico fue realizada según el método de Hamosh (1970), excepto que no fue adicionada albúmina sérica bovina al tejido. El TAE fue homogeneizado en buffer Tris-HCl 0,2 M pH 8,2 en proporción 1:10. Posteriormente, se sometió a ciclos de agitaciones y centrifugaciones sucesivas, a baja velocidad y a 4°C, primero en acetona fría y posteriormente éter etílico frío para obtener, por precipitación, el polvo acetónico que contiene a la enzima. Finalmente, el extracto obtenido fue secado en corriente de nitrógeno y almacenado a -80°C hasta la cuantificación de la actividad. El método fluorimétrico para la determinación de la actividad de la enzima LPL descrito por Del Prado utiliza di-butiril fluoresceína como sustrato de la enzima, el cual fue sintetizado según fuera descrito por Kramer y col. (1963). Para esto, 10 g de fluoresceína se mezclaron con 10 ml de piridina y 30 ml de anhídrido butírico, almacenada a temperatura ambiente por 24 horas antes de la adición de 300 ml de etanol absoluto y finalmente, la mezcla se guardó en freezer a -20°C por 18 horas. La di-butiril fluoresceína fue recristalizada en 95% de etanol varias veces hasta remover las trazas de fluoresceína libre. La pureza del producto final se evaluó realizando un espectro de emisión, comprobando que no exista pico de excitación de fluoresceína a 490 nm.

La cuantificación de la actividad LPL se realizó midiendo el aumento de fluorescencia ($\lambda_{\text{excitación}} = 490 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emisión}} = 530 \text{ nm}$) producto de la liberación de fluoresceína como consecuencia de la hidrólisis enzimática de la di-butiril fluoresceína. La reacción se realiza a 37°C en buffer fosfato 0,1 M pH 8 en presencia de 5% de 2-etoxietanol y 10 mM de di-butiril fluoresceína y se inicia con la adición del polvo acetónico previamente resuspendido en 1 ml de Buffer NH_4Cl 25 mM pH 8,1 con 1 UI/ml de Heparina. Es importante considerar que los niveles de proteínas en la mezcla de reacción no deben superar los 15 mg, los cuales fueron cuantificados en el polvo acetónico resuspendido por la técnica de Lowry (1951). Paralelamente, el mismo ensayo fue llevado a cabo en presencia de 1M NaCl para inhibir la actividad enzimática inespecífica. La actividad LPL fue calculada como la diferencia entre los valores hallados en ausencia y presencia de NaCl 1M y fue expresada como nmol de fluoresceína liberada por minuto por gramo de tejido (nmol/min/g) o como nmol de fluoresceína liberada por minuto por tejido entero (nmol/min/tejido).

9.2. ACTIVIDAD LIPOPROTEÍNA LIPASA EN MÚSCULO GASTROCNEMIO

La actividad LPL en músculo gastrocnemio se determinó empleando la misma técnica descrita en el ítem anterior. El tejido fue previamente homogenizado en una solución buffer $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ - Heparina (50 mM, pH 8,6, conteniendo 4 UI/ml de heparina). La actividad medida fue expresada como nmol de fluoresceína liberada por minuto por gramo de tejido (nmol/min/g).

10. ACTIVIDAD DE ENZIMAS LIPOGÉNICAS EN HÍGADO Y TEJIDO ADIPOSE EPIDIDIMAL

Las enzimas relacionadas con la actividad lipogénica en hígado y TAE se encuentran en la fracción citosólica celular. Para la determinación de la actividad de estas enzimas se homogenizaron fracciones de hígado (0,5 g) y TAE (0,25 g) frescos en buffer pH 7,6 (KCl 150 mM, MgCl_2 1 mM, N-acetil-cisteína 10 mM y ditiotretitol 0,5 mM) en proporción 1:10 para hígado y 1:2,5 para TAE. Luego, se centrifugó el homogenado a 60.000 g a 4°C durante 90 minutos y se separó el sobrenadante el cual se almacenó a -80°C hasta la posterior determinación de la actividad de las enzimas (Herzberg y col., 1980). Por otro lado, una alícuota del sobrenadante se utilizó para la determinación de la concentración de proteínas a través de la técnica de Lowry (1951).

10.1. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GLUCOSA-6 FOSFATO DESHIDROGENASA

La actividad de la enzima Glucosa-6 Fosfato Deshidrogenasa (G6PDH, E.C. 1.1.1.49) se determinó espectrofotométricamente a 340 nm través de la formación de NADPH durante 5 minutos a 37°C, en buffer glicil-glicina 0,1 M pH 8,0 conteniendo glucosa 1,2 mM, NADP 0,4 mM y MgSO_4 12 mM. La actividad de G6PDH fue expresada como nmol de NADPH producidos por minuto por miligramo de proteína (nmol/min/mg proteína) (Kuby y col., 1966).

10.2. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA MÁLICA

La actividad de la enzima Málica (EM, E.C. 1.1.1.40) se determinó espectrofotométricamente a 340 nm, a través de la formación de NADPH durante 4 minutos a 37°C, en buffer trietanolamina 0,4 M pH 7,4 en presencia de NADP 0,2 mM, MnCl_2 4 mM y 0,5 mM de L-malato. La actividad de EM fue expresada como nmol de NADPH producidos por minuto por miligramo de proteína (nmol/min/mg proteína) (Hsu y col., 1969).

10.3. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ÁCIDO GRASO SINTASA

La enzima Ácido Graso Sintasa (FAS, E.C. 2.3.1.85) se determinó espectrofotométricamente a 340 nm, mediante la diferencia en la oxidación de NADPH en presencia de malonil-CoA y la oxidación de NADPH en ausencia de malonil-CoA. Para esta determinación, la enzima fue incubada previamente a 37°C en buffer KH_2PO_4 1 M pH 6,5 en presencia de EDTA 2,5 mM, cisteína 10 mM, albúmina sérica bovina 0,3 mg/ml, acetil-CoA 0,06 mM y NADPH 0,15 mM. La reacción se inició con la adición de 20 μl de malonil-CoA 7mM. La actividad de FAS fue expresada como nmol de NADPH consumidos por minuto por miligramo de proteína (nmol/min/mg proteína) (Lynen, 1969; Nepokroeff y col., 1975).

10.4. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETIL-COÁ CARBOXILASA

Para la determinación de la actividad de la enzima Acetil-CoA Carboxilasa (ACC, E.C. 6.4.1.2) se realizó otro homogenado a partir de tejido congelado (-80°C) de hígado y TAE, en buffer fosfato pH 7 (KH_2PO_4 9 mM, K_2HPO_4 85 mM, ditioneitol 1 mM y KHCO_3 70 mM) en relación 1:3. El mismo se centrifugó a 60.000 g a 4°C durante 90 minutos y una alícuota del sobrenadante (200 μl) se activó en igual cantidad de buffer de activación (citrato de potasio 20 mM, Tris-HCl 100 mM, albúmina sérica bovina 1,5 mg/ml, MgCl_2 20 mM y glutatión reducido pH 7,5 20 mM) durante 15 minutos a 37°C. Finalmente a 275 μl de homogenado activado se le agregaron 625 μl de medio de reacción (Tris-HCl 20 mM, MgCl_2 10 mM, EDTA 11 mM, albúmina sérica bovina 0,75 mg/ml, KHCO_3 52 mM, fosfoenolpiruvato 1,4 mM, ATP 4 mM, lactato deshidrogenasa 5,6 U/ml, piruvato kinasa 5,6 U/ml y NADH 0,5 mM) y la reacción se inició con la adición de 50 μl de Acetil-CoA 2,5 mM. La actividad de la enzima se determinó siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 340 nm por oxidación del NADH durante 3 minutos y se expresó como nmol de NADH oxidados por minutos por miligramo de proteína (nmol/min/mg proteína) (Zimmermann y col., 2003). La concentración de proteínas se estimó en el sobrenadante utilizando la técnica de Lowry (1951).

11. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA CARNITINA-PALMITOIL TRANSFERASA I EN HÍGADO Y MÚSCULO GASTROCNEMIO

El proceso de β -oxidación de los AG se realiza en la matriz mitocondrial de las células, siendo una de las enzimas clave en este proceso la carnitina-palmitoil transferasa I (CPT-I), que es la enzima encargada de transportar los AG, que se encuentran en el citosol, hacia el interior de las mitocondrias. Para la determinación de la actividad de la enzima

CPT-I se realizó un homogenado a partir de tejido congelado (-80°C), hígado y músculo gastrocnemio en relación 1:5, en solución de homogenado (sacarosa 0,25 M, EDTA 1 mM, fenil-metil-sulfonil fluoruro 0,2 mM, antipain 1 mg/l, aprotinin 1 mg/l, leupeptin 2 mg/l y pepstatin 0,7 mg/l). El homogenado se centrifugó a 300 g, durante 10 minutos a 4°C y luego el sobrenadante se centrifugó nuevamente a 12.000 g durante 5 minutos a 4°C para obtener, en el nuevo sobrenadante, un aislado de mitocondrias que se utilizó como fuente de enzima. La determinación de la actividad de la enzima mide la cantidad de coenzima A liberada a partir de palmitoil-CoA en presencia de 5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB). Para esto se incubaron las mitocondrias durante 5 minutos a 30°C en un medio conteniendo 800 µl de buffer Tris-HCl pH 8 (Tris-HCl 116 mM, EDTA 2,5 mM, DTNB 0,11 mM, Triton X-100 0,2%), 75 µl de solución de homogenado, palmitoil-CoA 0,05 mM y L(-) carnitina 0,11 mM. La reacción se largó con 25 µl de muestra y la actividad se determinó siguiendo la liberación del CoA (a través de la formación de CoA-SH) a 412 nm durante 3 minutos. Este resultado valora la actividad de un conjunto de enzimas que, al igual que la CPT-I, liberan CoA, por lo que se determinó paralelamente la actividad en ausencia de L(-) carnitina para cuantificar la actividad de todas estas enzimas excepto la CPT-I. Para expresar el resultado final se estimó la diferencia entre la actividad en presencia de L(-) carnitina y la actividad en ausencia de L(-) carnitina y la actividad de la CPT-I se expresó como nmol de CoA liberados por minuto por miligramo de proteína (nmol/min/mg proteína) (Bieber y col., 1972). La concentración de proteínas se analizó en el sobrenadante utilizando la técnica de Lowry (1951).

12. EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DEL ARN Y CUANTIFICACIÓN POR PCR EN TIEMPO REAL

El ARN total fue aislado a partir de 100 mg de hígado utilizando Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las muestras de ARN fueron tratadas luego con kit DNA-free (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) para remover cualquier contaminación con ADN genómico. El rendimiento y calidad del ARN fue evaluado por medidas de absorbancia a 260, 280 y 310 nm. y por electroforesis en gel de agarosa 1,3 %. De cada muestra, 1,5 µg de ARN total fue sometido a transcripción reversa para sintetizar la primera cadena de ADN complementaria (ADNc) usando un kit de síntesis de DNA iScript™ (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Se analizaron los niveles de ARN de las enzimas vinculadas a la lipogénesis: ACC, FAS, ME y de la principal enzima vinculada a la β-oxidación: CPT-I. También se evaluó el nivel de expresión de los factores de transcripción de las enzimas lipogénicas: SREBP-1a y

SREBP-1c (del inglés: *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins*) y de las enzimas de la β -oxidación: PPAR α (del inglés: *Peroxisome Proliferator Activated Receptors*). Los niveles de ARN fueron cuantificados usando PCR en tiempo real con un equipo de detección de *Real Time PCR iCycler™ - MyiQ™* (BioRad). Los niveles de β -actina fueron medidos de la misma manera y utilizados como gen de referencia. Se tomaron 0,1 μ l de cada ADNc que fueron agregados a la mezcla de reacción *SYBR® Green Master Mix* (Applied Biosystems) con los pares de oligonucleótidos correspondientes (300 nM para SREBP-1a y PPAR α ; 600 nM para FAS, ACC y ME, y 900 nM para CPT-I y SREBP-1c). Los oligonucleótidos específicos fueron diseñados utilizando información en Genbank, sintetizados comercialmente (Tib Molbiol, Berlin, Germany) y las secuencias fueron:

ACC: 5'-GGA CCA CTG CAT GGA ATG TTA A-3'(sentido); 5'-TGA GTG ACT GCC GAA ACA TCT C-3'(antisentido).

FAS: 5'-AGC CCC TCA AGT GCA CAG TG-3'(sentido); 5'-TGC CAA TGT GTT TTC CCT GA-3' (antisentido).

ME:5'-TGT GCA AGA TGC ATA CAA AGA AAA -3'(sentido). 5'-CAT CTG GGA GGA GAC AAA TTC TTC -3' (antisentido).

SREBP-1a: 5'-GGC TGT GGA ACA GGC ACT G-3'(sentido); 5'-AGC TGG AGC ATG TCT TCG ATG-3'(antisentido).

SREBP-1c: 5'-GCG GAC GCA GTC TGG G-3'(sentido); 5'-ATG AGC TGG AGC ATG TCT TCA AA-3' (antisentido).

CPT-I: 5'-GCA GAG GAC GGG CAT TGT A-3'(sentido); 5'-TGT AGC CTG GTG GGT TTG G-3' (antisentido).

PPAR α : 5'-ATT CTG GCC CAC CAA CTT CGG -3' (sentido); 5'-TGG AAG CCT GAT GCT TTA TCC CCA -3' (antisentido).

Las condiciones de amplificación de la PCR fueron: 2 minutos iniciales a 50°C, desnaturalización a 95°C por 10 minutos seguidos de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos combinados con anillado y extensión a 60°C por 1 minuto. En todas las muestras, los niveles de ARN mensajero fueron normalizados según los valores obtenidos para β -actina y los resultados expresados usando el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak y col., 2001).

13. PARÁMETROS RELACIONADOS AL ESTRÉS OXIDATIVO HEPÁTICO

13.1. DETERMINACIÓN DEL GRADO DE LIPOPEROXIDACIÓN

El daño peroxidativo a nivel hepático fue evaluado a través del grado de lipoperoxidación (LPO), analizado mediante las sustancias reactivas al ácido

tiobarbitúrico. Para tal fin, los hígados fueron rápidamente removidos y lavados con solución salina enfriada a 4 °C y conservados a -80 °C. La determinación se realizó en homogenados hepáticos preparados en una proporción 1:9 con KCL 1,15% de acuerdo al método de Ohkawa y col (1979). El método consiste en la reacción de ácido tiobarbitúrico con un producto secundario de la peroxidación lipídica, identificado como malondialdehido (MDA), formado durante la incubación de homogenados tisulares bajo condiciones aeróbicas, para producir, en medio acético y en caliente, un cromógeno rojo con un pico de absorción espectrofotométrica a 532 nm. Los resultados se expresaron en nmol MDA/g tejido húmedo.

13.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA CATALASA

Para la determinación de la actividad de la enzima catalasa se obtuvieron homogenados hepáticos en una relación 1:9 con buffer fosfato 50 mM, pH 7,0, los cuales fueron luego centrifugados a 4 °C y 10000 g durante 12 minutos. La actividad de la enzima se cuantificó en el sobrenadante obtenido luego de la centrifugación.

La determinación de la actividad catalasa se fundamenta en la cantidad de H₂O₂ degradada por la enzima, medida en buffer fosfato 50 mM, pH 7,0, con Triton X-100 al 1%. La disminución en el contenido de H₂O₂ fue medida espectrofotométricamente a 240 nm durante 30 segundos. La actividad enzimática fue expresada μmol/min/mg proteína (Aebi, 1984; Cohen y col., 1970). La concentración de proteínas en el sobrenadante obtenido luego de la centrifugación de los homogenados fue determinada por el método de Lowry (1951).

13.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUTATION REDUCIDO

La determinación de glutatión reducido (GSH) se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Ellman (1979) y se realizó en homogenados hepáticos obtenidos en una proporción 1:4 con ácido tricloroacético al 5% en HCl 0,01 M. Para obtener los tioles no proteicos, por precipitación de las proteínas, el homogenado se centrifugó a 4°C a 500 g durante 5 minutos. Luego, una alícuota del sobrenadante se neutralizó con NaOH 1 M y la reacción de color se llevó a cabo con 50 μl de sobrenadante neutralizado y 2 ml de DTNB (5,5 ditiobis-2-nitrobenzoico) 0,1 mM en buffer Tris-HCl 0,1 M pH 8. La absorbancia se evaluó espectrofotométricamente a 412 nm y se cuantificó el contenido de GSH frente a la absorbancia presentada por un testigo de concentración conocida. Los resultados se expresaron como μmol/g de tejido húmedo.

14. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como la media \pm SEM y el número de muestras fue indicado en cada caso, siendo siempre igual o mayor a 5.

Los datos utilizados para comparar los efectos de las diferentes dietas fueron analizados mediante un 2x3 ANOVA, utilizando el tipo de aceite base (aceite de maíz, aceite de canola, aceite de oliva) y la sustitución parcial con AGt (sin AGt y con AGt) como variables independientes. Las comparaciones post-hoc fueron realizadas utilizando el test de Tukey.

En todos los casos, valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

RESULTADOS

1. PARÁMETROS NUTRICIONALES

Las dietas suministradas a los distintos lotes experimentales fueron aceptadas sin manifestar rechazo o resistencia a la ingesta de las mismas en ningún grupo dietario, lo cual puede ser comprobado a través del consumo diario de alimento mostrado en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Parámetros nutricionales

	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
Consumo de alimento (g/día)	3,8±0,2	3,7±0,2	3,7±0,4	3,2±0,1	3,8±0,1	3,4±0,1	-
Ingesta energética (KJ/día)	62,5±4,2	61,5±2,6	61,4±4,7	53,5±1,9	62,3±1,8	55,9±2,2	-
Absorción aparente de grasa dietaria (%)	97,1±0,6	98,8±0,1	97,7±0,4	97,6±0,2	96,81±0,6	97,9±0,1	-
Composición corporal (%)							
Agua	60,8±0,3 ^a	62,1±0,6 ^a	61,5±0,6 ^a	61,4±0,8 ^a	57,8±0,4 ^b	62,4±0,7 ^a	G,t,Gxt
Proteína	20,8±0,3 ^{abc}	22,7±0,7 ^c	20,5±0,2 ^{ab}	22,0±0,3 ^{bc}	19,5±0,19 ^a	22,4±0,6 ^{bc}	t
Grasa	12,4±0,8 ^a	11,3±0,8 ^a	13,6±0,5 ^{ab}	12,7±1,2 ^a	17,3±0,5 ^b	11,3±1,0 ^a	G,t,Gxt
Retención energética diaria (KJ/día)							
RPD	1,4±0,1	1,9±0,2	1,5±0,1	1,4±0,1	1,4±0,1	1,8±0,2	t
RGD	2,4±0,1 ^a	1,9±0,2 ^a	2,5±0,2 ^a	1,9±0,3 ^a	3,6±0,1 ^b	1,8±0,1 ^a	G,t,Gxt
RETC	3,8±0,1 ^a	3,8±0,2 ^a	4,0±0,2 ^a	3,3±0,2 ^a	4,9±0,1 ^b	3,6±0,1 ^a	G,t,Gxt
Eficiencia energética (%)	7,2±0,1 ^a	6,2±0,3 ^a	7,2±0,3 ^a	6,5±0,4 ^a	10,7±0,2 ^b	6,8±0,2 ^a	G,t,Gxt

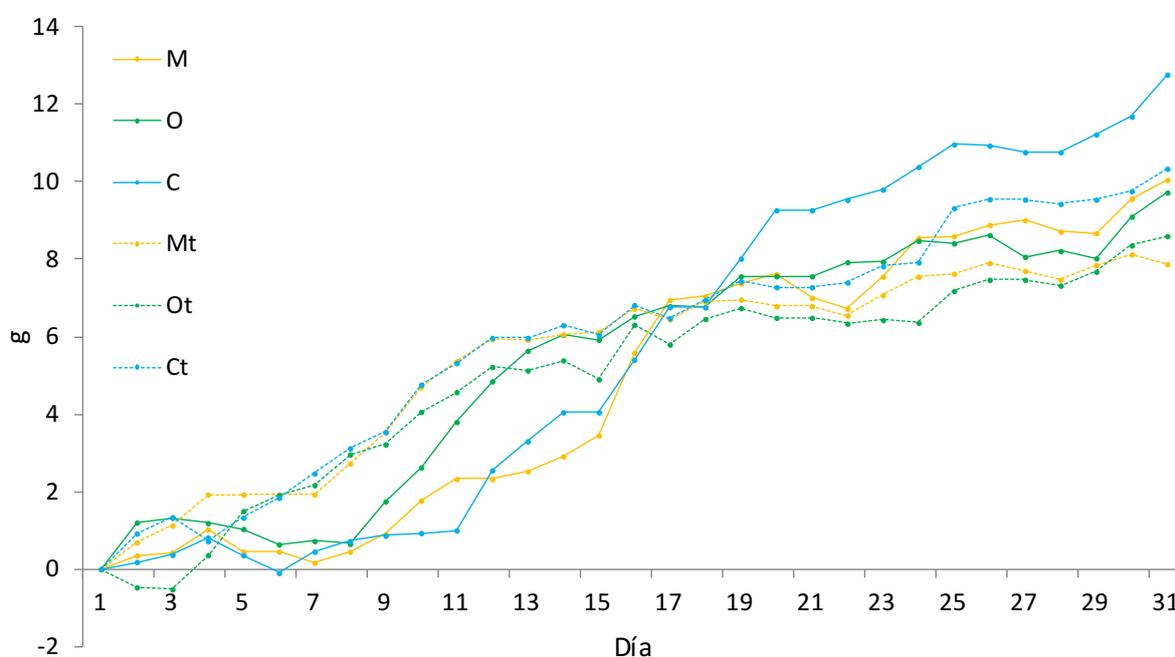
Valores expresados como media ± SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

El consumo diario de alimento no mostró ninguna diferencia significativa tanto, por el tipo de grasa dietaria, como por la sustitución parcial con AGt. Asimismo, no se observaron cambios significativos en la absorción aparente de grasas dietarias. En virtud que las

dietas fueron isocalóricas, la ingesta energética tampoco ha mostrado diferencias estadísticas.

Todos los animales pertenecientes a los distintos grupos dietarios mostraron un aumento del peso corporal desde el inicio hasta el final del período experimental (**Figura 9**). La comparación individual en el incremento de peso entre los días 0 y 30 mostró un efecto tanto por el origen de grasa dietaria ($p < 0,001$), como por la sustitución parcial con AGt ($p < 0,001$) (**Figura 10**). Respecto al origen de grasa dietaria, en ausencia de AGt, los animales alimentados con dieta C presentaron una mayor ganancia de peso que los animales alimentados con dietas O y M. Los AGt no tuvieron efecto sobre la ganancia de peso total, según el análisis no paramétrico.

Figura 9: Evolución de la ganancia de peso durante el tratamiento

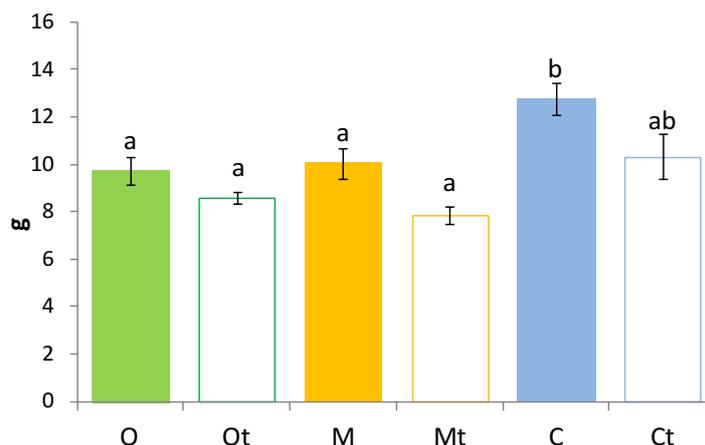


Valores correspondientes a la ganancia de peso de los ratones respecto al inicio del tratamiento, con un $n=6$ por grupo. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Los efectos observados a nivel de composición corporal y de RETC mostraron, en general, efectos estadísticamente significativos en la interacción de las variables evaluadas (**Tabla 3**), que estuvieron asociados a cambios en la grasa corporal. Así, el porcentaje de grasa de la carcasa mostró un incremento en el grupo C, lo que condujo a una mayor RGD en este mismo grupo. La sustitución parcial con AGt redujo estos parámetros en Ct vs C. De manera semejante, la EE también resultó significativamente más elevada en el grupo C, la cual fue reducida por el consumo de AGt en este grupo. Esta acumulación de grasa observada en el grupo C, estuvo relacionada a una reducción significativa del porcentaje

de agua en las carcasas de los animales pertenecientes a este grupo. Respecto al porcentaje proteico de la carcasa, el 2x3 ANOVA indica un efecto por la sustitución parcial con AGt a las dietas experimentales; no obstante, la comparación no paramétrica arroja diferencias significativas sólo en el grupo C vs. Ct. De manera similar, la RPD también muestra efecto significativo en los animales que consumieron AGt.

Figura 10: Ganancia de peso total: Δ (Día 30-Día 1)



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

2. PESOS DE TEJIDOS

Debido a la importancia del hígado, tejido adiposo y músculo esquelético en la regulación metabólica, y dado que dichos tejidos pueden ser modificados de acuerdo a la grasa dietaria consumida, se presentan los pesos del hígado, del TAE como característico del tejido adiposo blanco, y del músculo gastrocnemio como representativo del músculo esquelético total (**Tabla 4**).

El peso relativo del hígado mostró diferencias estadísticas para la grasa dietaria, sin embargo la comparación no paramétrica no presentó alteraciones significativas. En presencia de AGt, el peso del hígado fue mayor en los animales alimentados con aceite de oliva respecto a los alimentados con aceite de maíz. Tanto el peso del TAE, como el del músculo gastrocnemio, no fueron alterados ni por los distintos tipos de aceite, ni por la sustitución parcial con AGt.

Tabla 4: Pesos relativos de tejidos (g/100g)

	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
Hígado	5,47±0,19 ^{ab}	5,74±0,21 ^a	5,23±0,14 ^{ab}	4,93±0,23 ^b	5,59±0,18 ^{ab}	5,63±0,16 ^{ab}	G
Tejido adiposo epididimal	1,70±0,14	1,47±0,12	1,76±0,17	1,41±0,14	1,38±0,15	1,43±0,10	-
Músculo gastrocnemio	0,70±0,02	0,61±0,03	0,67±0,02	0,64±0,03	0,65±0,05	0,70±0,02	-

Valores expresados como media ± SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

3. CONCENTRACIONES DE TRIGLICÉRIDOS, FOSFOLÍPIDOS, COLESTEROL Y GLUCOSA EN SUERO

En la **Tabla 5** se presentan los niveles de TG, colesterol, FL y glucosa en suero; dichos parámetros fueron determinados con un ayuno previo de 8 horas. Las concentraciones de TG séricos presentaron un efecto significativo por el origen de grasa dietaria ($p < 0,001$), siendo dichos valores en los animales alimentados con la dieta C más elevados que los alimentados con dietas M y O. La sustitución parcial con AGt no alteró los niveles circulantes de TG comparado con sus respectivos controles.

Tabla 5: Concentraciones circulantes de lípidos y glucosa (mmol/l)

	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
Triglicéridos	0,57±0,02 ^{ab}	0,59±0,02 ^b	0,53±0,02 ^{ab}	0,46±0,03 ^a	0,76±0,03 ^c	0,81±0,04 ^c	G
Colesterol	2,55±0,31	2,83±0,21	3,09±0,18	2,51±0,31	3,45±0,34	2,59±0,12	-
Fosfolípidos	2,34±0,26 ^{ab}	2,53±0,28 ^{ab}	2,94±0,22 ^a	1,97±0,15 ^b	2,25±0,18 ^{ab}	2,32±0,18 ^{ab}	Gxt
Glucosa	5,40±0,24 ^a	4,68±0,49 ^a	3,08±0,38 ^{bc}	2,60±0,27 ^{bc}	3,99±0,54 ^{ac}	2,26±0,14 ^b	G,t

Valores expresados como media ± SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la sustitución parcial con AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

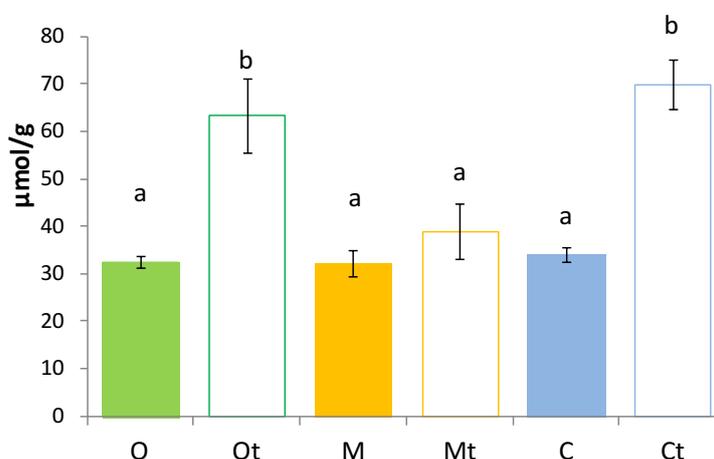
Los niveles de colesterol y FL no mostraron alteraciones ni por el tipo de grasa dietaria ni por la sustitución parcial con AGt. No obstante, la interacción de las dos variables analizadas para los niveles de FL mostró diferencia estadística ($p=0,023$), la cual fue reflejada en las comparaciones individuales de los grupos experimentales, donde el grupo Mt mostró menores niveles de FL respecto a M.

Por otro lado, la concentración de glucosa en suero fue dependiente tanto, del origen de grasa dietaria ($p<0,001$), como de la presencia de AGt en las dietas ($p=0,002$). Los animales alimentados con aceite de oliva mostraron valores más elevados de glucosa y la sustitución parcial con AGt disminuyó los niveles, alcanzando diferencia estadísticamente significativa sólo en el grupo Ct respecto a su control.

4. CONTENIDO DE TRIGLICÉRIDOS, FOSFOLÍPIDOS Y COLESTEROL EN HÍGADO

El análisis de variancia mostró significancia estadística para la interacción de las dos variables analizadas en los niveles de TG en hígado ($p=0,007$), reflejando un marcado incremento en el contenido de TG producido por la sustitución parcial con AGt en los animales alimentados con dietas aceite de oliva y de canola, pero no en los alimentados con aceite de maíz (**Figura 11**). El consumo de los distintos aceites no mostró alteraciones en este parámetro.

Figura 11: Contenido de triglicéridos en hígado

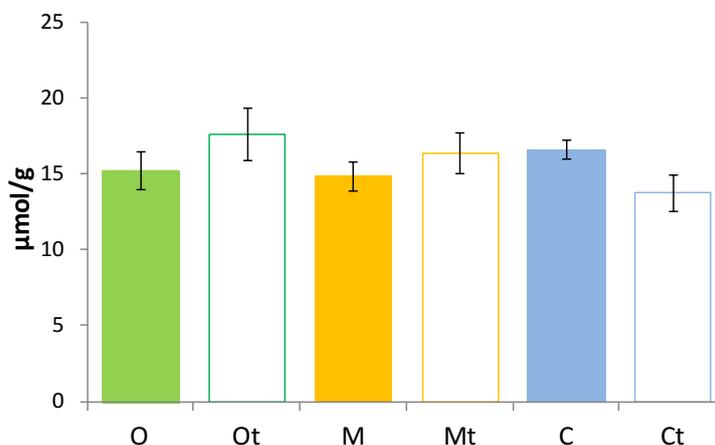


Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

El contenido de FL en hígado no mostró alteraciones significativas ni por el origen de grasa dietaria, ni por la sustitución parcial con AGt (**Figura 12**).

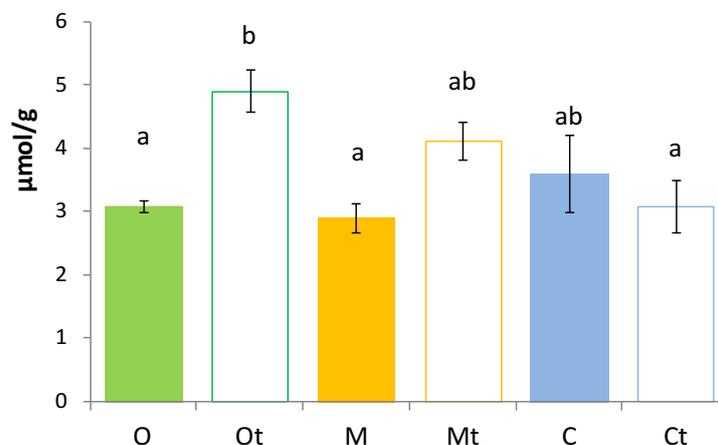
Por otro lado el colesterol hepático alcanzó significancia estadística en la interacción de las 2 variables estudiadas ($p=0,007$) (**Figura 13**). La sustitución parcial con AGt incrementó significativamente los niveles de colesterol en Ot vs O.

Figura 12: Contenido de fosfolípidos en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 13: Contenido de colesterol en hígado



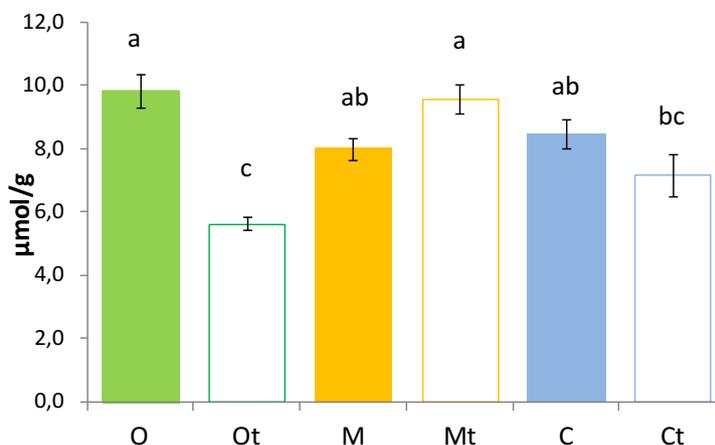
Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

5. CONTENIDO DE TRIGLICÉRIDOS Y FOSFOLÍPIDOS EN MÚSCULO GASTROCNEMIO

El contenido de TG en músculo gastrocnemio mostró significancia estadística en la interacción de las dos variables estudiadas: origen de grasa dietaria y sustitución parcial con AGt ($p<0,001$).

Si bien, como se observa en la **Figura 14**, no hay diferencias significativas por el tipo de grasa dietaria, la sustitución parcial con AGt redujo significativamente el contenido de TG sólo en los animales alimentados con Ot.

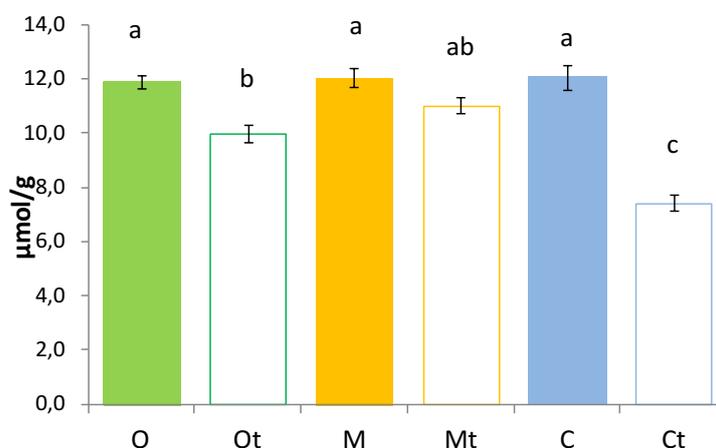
Figura 14: Contenido de triglicéridos en músculo gastrocnemio



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Los niveles de FL musculares también presentaron una interacción estadísticamente significativa entre las dos variables estudiadas ($p < 0,001$). Si bien, no hubo diferencia estadística entre los grupos M, O y C, la sustitución parcial con AGt disminuyó la concentración de FL en el grupo Ot y, más aún, en Ct respecto a sus controles (**Figura 15**).

Figura 15: Contenido de fosfolípidos en músculo gastrocnemio



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

6. PARÁMETROS RELACIONADOS AL ESTADO OXIDATIVO HEPÁTICO

En la **Tabla 6** se presentan los resultados obtenidos para los niveles de LPO y GSH hepáticos y la actividad catalasa en este mismo tejido. Respecto al grado de LPO, el análisis 2x3 ANOVA mostró significancia estadística para la interacción de las variables estudiadas, pudiendo observarse un incremento estadísticamente significativo en los niveles de MDA en hígado por el consumo de aceite de canola, independientemente de la sustitución parcial con AGt. Los demás grupos experimentales no mostraron diferencias en este parámetro, por ninguna de las dos variables.

De manera similar, la actividad catalasa, analizada como una de las defensas antioxidantes enzimáticas, muestra un efecto por la grasa dietaria, dado por un incremento significativo tanto en el grupo C, como en el grupo Ct respecto a los demás grupos.

Por otro lado, los niveles de GSH no mostraron el mismo comportamiento, existiendo diferencia significativa en la interacción de las dos variables dietarias estudiadas ($p=0,011$). En particular, se observó un incremento estadísticamente significativo en el grupo Ot respecto a O. Los demás grupos experimentales no mostraron alteraciones de los niveles de GSH por el consumo de diferentes aceites, ni por la sustitución parcial con AGt.

Tabla 6: Parámetros relacionados al estrés oxidativo hepático

	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
Lipoperoxidación (nmol MDA/g)	69,3±3,9 ^a	59,9±2,4 ^a	62,2±3,5 ^a	73,0±3,0 ^{ab}	86,6±3,3 ^b	85,4±3,2 ^b	G,Gxt
Catalasa (μmol/min/mg prot)	111,2±8,5 ^a	120,2±2,4 ^{ab}	96,6±8,5 ^a	100,0±2,3 ^a	137,7±5,7 ^b	139,5±4,0 ^b	G
GSH (μmol/g tejido)	3,15±0,24 ^a	5,03±0,14 ^b	3,78±0,40 ^{ab}	4,43±0,05 ^{ab}	4,80±0,49 ^b	4,33±0,60 ^{ab}	t,Gxt

Valores expresados como media ± SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la sustitución parcial con AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

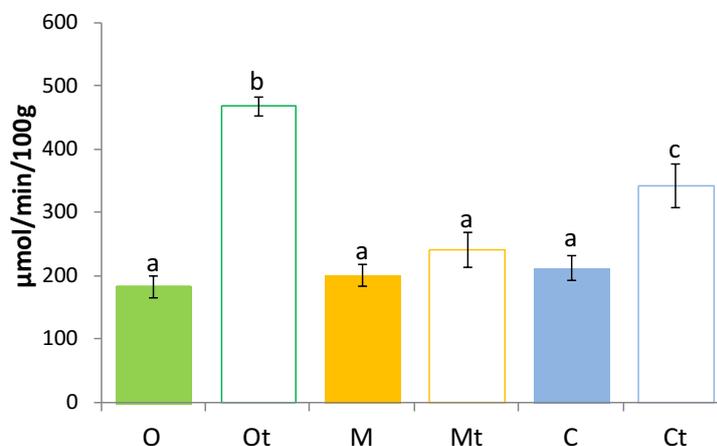
7. PARÁMETROS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO

7.1. VELOCIDAD DE SECRECIÓN HEPÁTICA DE TRIGLICÉRIDOS-PRE-β LIPOPROTEÍNAS

La secreción de TG por el hígado a través de las VLDL, representada en la **Figura 16**, mostró una fuerte interacción entre las dos variables dietarias: origen de grasa y presencia de AGt ($p < 0,001$). La sustitución parcial con AGt incrementó la secreción de TG en Ot y Ct

respecto a sus controles, siendo más acentuado el efecto en el grupo Ot. En los animales alimentados con aceite de maíz, los AGt no tuvieron efecto alguno.

Figura 16: Velocidad de secreción de triglicéridos hepáticos

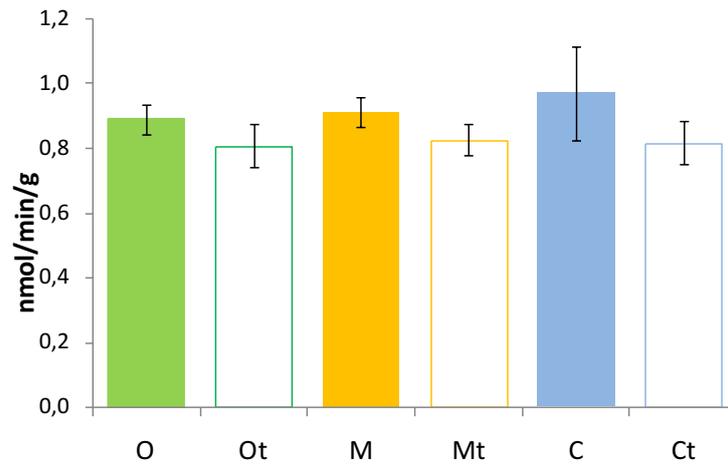


Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

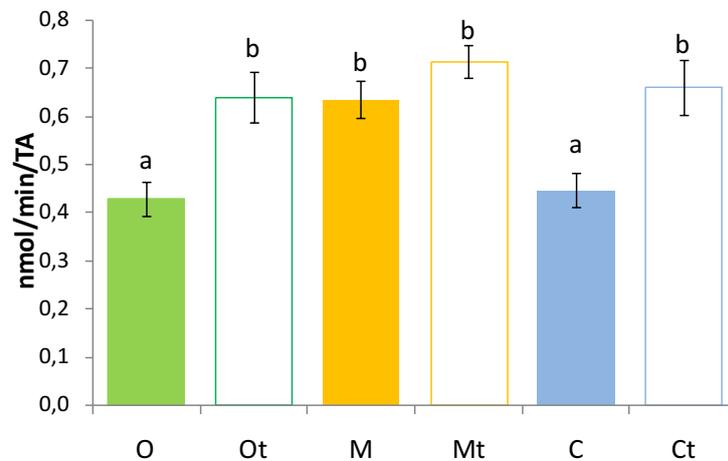
7.2. REMOCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS SÉRICOS: ACTIVIDAD DE LA ENZIMA LIPOPROTEÍNA LIPASA EN TEJIDO ADIPOSO EPIDIDIMAL Y MÚSCULO GASTROCNEMIO

En condiciones post-prandiales, el tejido adiposo es un órgano clave y muy activo en la remoción de TG, mientras que el músculo esquelético participa activamente en la clarificación de los TG circulantes en condiciones de ayuno. Es importante considerar, a su vez, que el tejido adiposo es un órgano que se expande en forma muy variada dependiendo de variables nutricionales, por lo cual su expresión a la contribución en la remoción de TG debe ser realizada por órgano total.

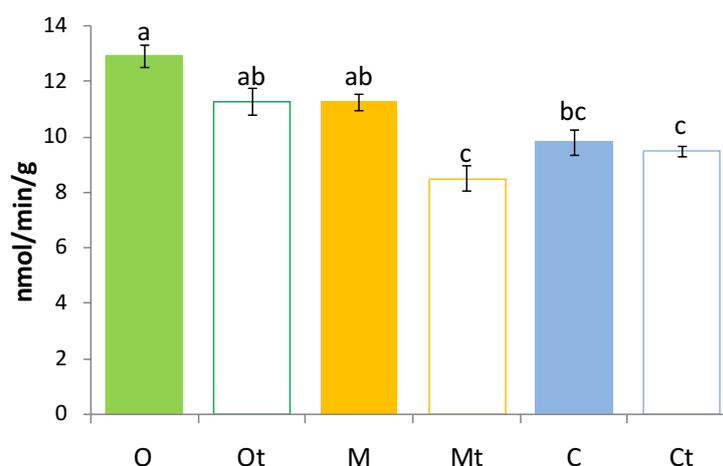
Los resultados de la actividad LPL en TAE, muestran, por gramo de tejido (**Figura 17**), que no existen variaciones significativas por el origen de grasa dietaria ($p=0,847$), ni por la sustitución parcial con AGt ($p=0,098$). No obstante, es muy diferente la interpretación de los resultados si analizamos la actividad LPL como medida de la remoción en el animal completo. La actividad LPL afectada por el peso del TAE (**Figura 18**), nos muestra que existe una significancia estadística ($p=0,004$) para el tipo de grasa empleada y para la sustitución parcial con AGt ($p < 0,001$). Así, los animales del grupo M presentan mayor actividad LPL en comparación a O y C. La sustitución parcial con AGt incrementó la actividad LPL en TAE en las dietas Ot y Ct respecto a su control, sin cambios en aquellos animales alimentados con aceite de maíz.

Figura 17: Actividad lipoproteína lipasa por gramo de tejido adiposo epididimal

Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 18: Actividad lipoproteína lipasa por tejido adiposo epididimal total

Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 19: Actividad lipoproteína lipasa por gramo de músculo gastrocnemio

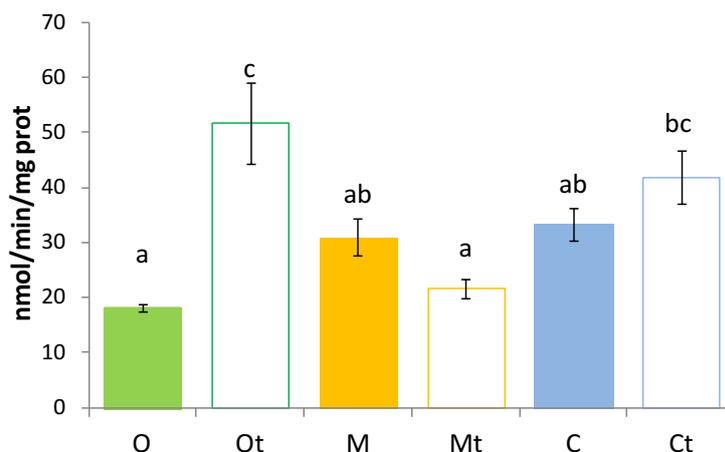
Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

El análisis estadístico de la actividad LPL en músculo gastrocnemio, elegido como representante de la composición fibrilar media del músculo esquelético, mostró un efecto por el origen de grasa dietaria ($p<0,001$) y por la presencia de AGt ($p<0,001$). Así, al comparar los distintos tipos de aceite utilizados en las dietas experimentales, se observó que para los grupos controles la actividad de la enzima fue $O>M>C$, alcanzando diferencia significativa en O vs. C (**Figura 19**). Con respecto a la sustitución parcial con AGt, ésta redujo significativamente la actividad LPL en los animales alimentados con aceite de maíz.

7.3. ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS RELACIONADAS A LA LIPOGÉNESIS EN HÍGADO Y TEJIDO ADIPOSO EPIDIDIMAL

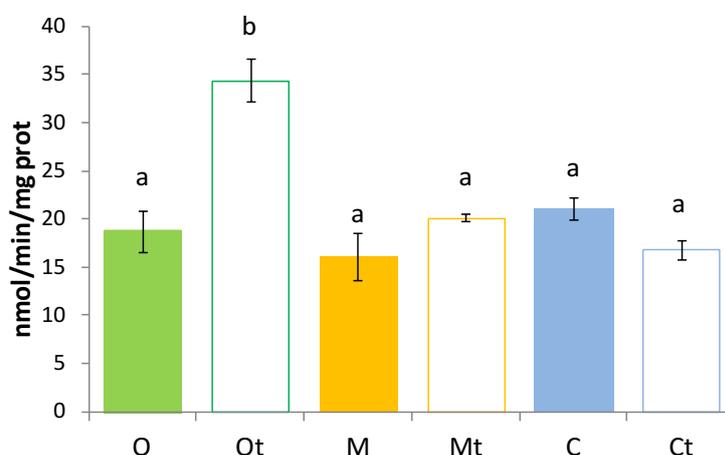
En la síntesis *de novo* de AG en hígado y TAE están implicadas diversas enzimas entre ellas: FAS, EM, G6PDH y ACC. Las mismas son determinantes de los niveles y disponibilidad de AG para su posterior esterificación, depósito, utilización o secreción dependiendo del tejido y requerimiento. Dichas enzimas son moduladas, entre otras, por diferentes componentes presentes en la dieta y, en particular en nuestras experiencias, los AGt en combinación con los diferentes aceites comestibles han afectado sus actividades.

El análisis de varianza, 2x3 ANOVA, arrojó diferencia estadística para los efectos de la interacción entre la grasa dietaria y la sustitución parcial con AGt ($p=0,001$) en la actividad de la enzima FAS hepática. Específicamente, los AGt incrementaron la actividad de dicha enzima sólo en Ot vs O (**Figura 20**).

Figura 20: Actividad de la enzima sintasa de ácidos grasos en hígado

Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

La enzima G6PDH hepática también presentó diferencia significativa para la interacción entre la grasa dietaria y la presencia de AGt ($p<0,001$), donde la sustitución parcial con AGt incrementó la actividad de la enzima sólo en el grupo Ot respecto a O (**Figura 21**).

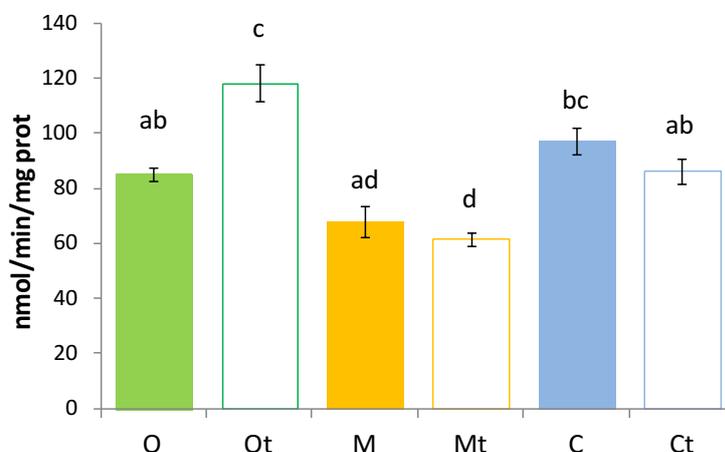
Figura 21: Actividad de la enzima glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en hígado

Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Para el caso de la EM en hígado, el 2x3 ANOVA arrojó diferencias estadísticamente significativas en la interacción del efecto de la grasa dietaria y la presencia de AGt ($p=0,004$). Así, la actividad de dicha enzima fue incrementada en los animales que

consumieron la dieta C en comparación al grupo M. Con respecto al consumo de AGt, se observó un incremento en la actividad en el grupo Ot respecto a O (**Figura 22**).

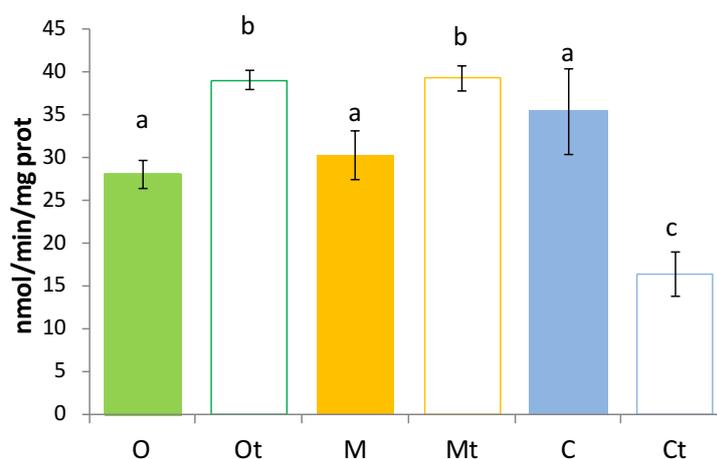
Figura 22: Actividad de la enzima málica en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

La actividad hepática de la enzima ACC presentó diferencia significativa para la interacción de las dos variables estudiadas ($p < 0,001$). Si bien, no hubo diferencias significativas entre O, M y C, la sustitución parcial con AGt incrementó la actividad en Ot y Mt, mientras que la disminuyó en el grupo Ct, en comparación a sus controles (**Figura 23**).

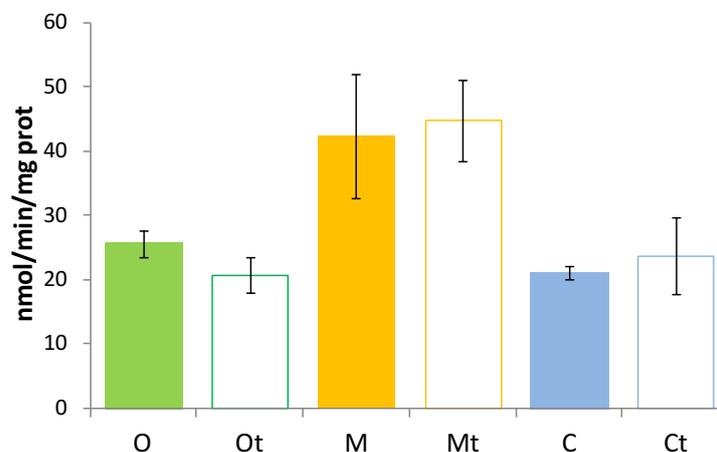
Figura 23: Actividad de la enzima acetil-CoA carboxilasa en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

En TAE, la actividad de la enzima FAS, mostró diferencias significativas según la grasa dietaria ($p=0,001$), encontrándose mayor actividad en los animales que consumieron la dieta a base de aceite de maíz, independientemente de la presencia de AGt (**Figura 24**).

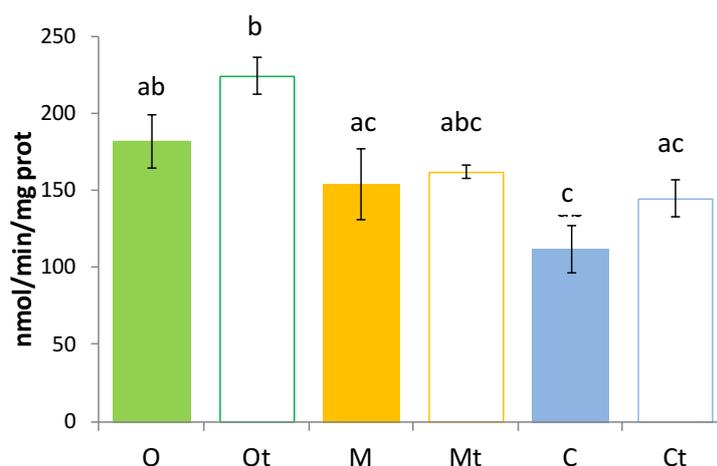
Figura 24: Actividad de la sintasa de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal



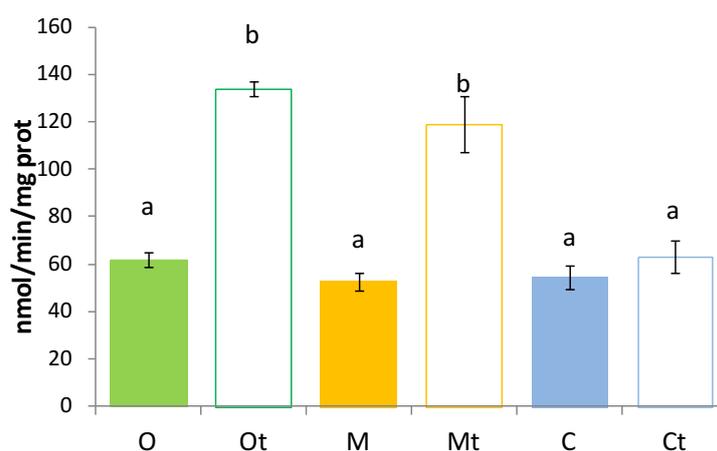
Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2×3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

La actividad de la G6PDH en TAE mostró significancia estadística para el tipo de grasa dietaria ($p < 0,000$) y para la sustitución parcial con AGt ($p = 0,035$). En relación al consumo de los distintos aceites, los grupos O y C mostraron diferencias estadísticamente significativas por una mayor actividad en el grupo O. La sustitución parcial con AGt no alteró la actividad de esta enzima entre los grupos experimentales (**Figura 25**).

Por último, el 2×3 ANOVA también arrojó diferencia significativa para la interacción de los efectos de la grasa dietaria y la presencia de AGt para la actividad de la EM en TAE ($p < 0,001$). Así, mientras que no hubo diferencias significativas entre los grupos M, O y C, la sustitución parcial con AGt produjo un incremento en la actividad de esta enzima en los grupos Ot y Mt frente a sus respectivos controles, sin cambios en el grupo Ct (**Figura 26**).

Figura 25: Actividad de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en tejido adiposo epididimal

Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 26: Actividad de la enzima málica en tejido adiposo epididimal

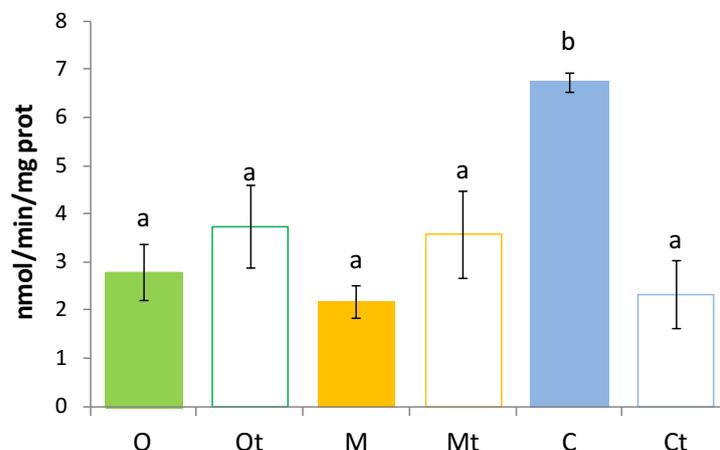
Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

7.4. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA CARNITINA-PALMITOIL TRANSFERASA-I EN HÍGADO Y MÚSCULO GASTROCNEMIO

Con respecto a la actividad de la enzima CPT-I, enzima clave de la β -oxidación, los tratamientos dietarios tuvieron un efecto aditivo de las dos variables estudiadas sobre la actividad en hígado ($p < 0,001$). Así, la actividad CPT-Ia hepática fue incrementada en los

animales alimentados con la dieta C respecto a O y M y la sustitución parcial con AGt redujo significativamente la actividad en Ct versus C (**Figura 27**).

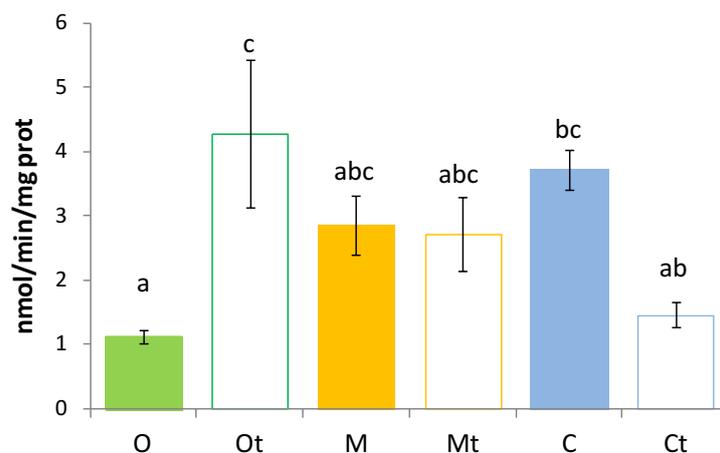
Figura 27: Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-Ia en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

En músculo gastrocnemio, si bien el 2x3 ANOVA también mostró diferencia significativa para la interacción de las dos variables estudiadas, la actividad CPT-Ib fue más alta en el grupo C con respecto a O. La sustitución parcial con AGt incrementó significativamente la actividad en el grupo Ot frente a su respectivo control (**Figura 28**).

Figura 28: Actividad de la enzima carnitina-palmitoil transferasa-Ib en músculo gastrocnemio

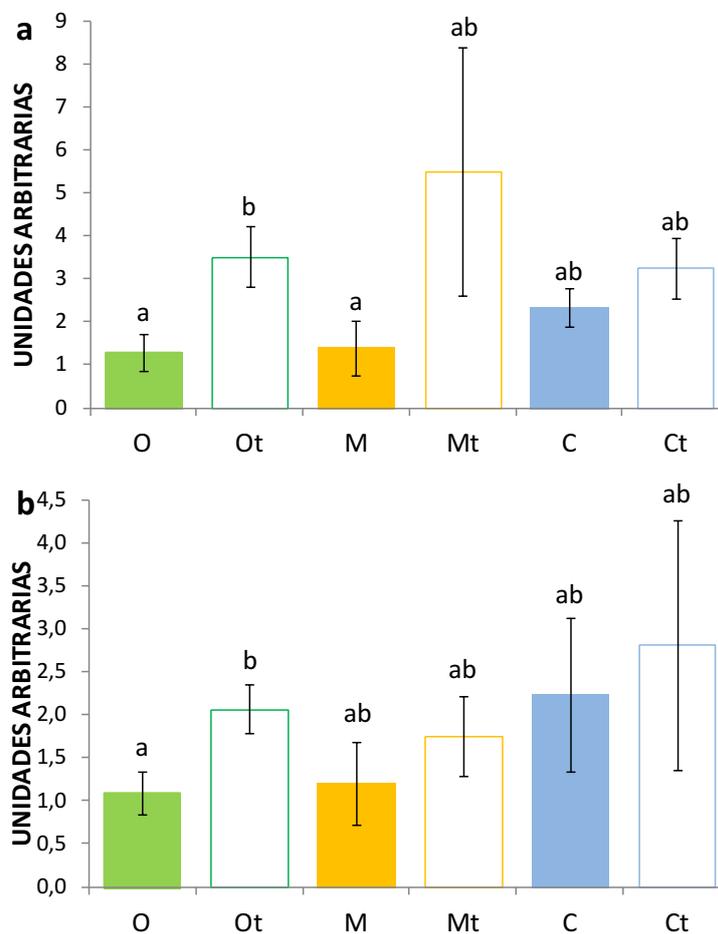


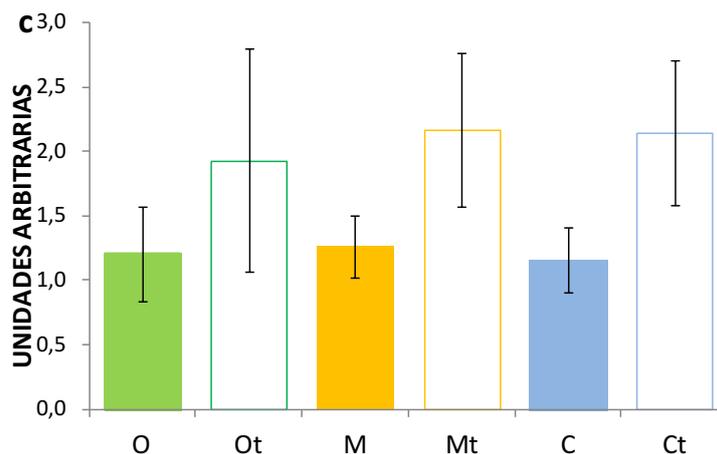
Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

7.5. EXPRESIÓN DE LAS ENZIMAS RELACIONADAS A LA LIPOGÉNESIS EN HÍGADO

Para complementar el estudio tendiente a dilucidar los mecanismos implicados en la regulación de la lipogénesis a nivel de tejido hepático, se evaluaron las expresiones de algunas enzimas clave en este proceso. Al comparar los distintos tipos de grasa dietaria no se observaron diferencias en la expresión de las enzimas, pero ha podido observarse que el incremento en la actividad de dichas enzimas como consecuencia del consumo de AGt, fundamentalmente en los animales alimentados con aceite de oliva, estuvo acompañado de un incremento en la expresión, alcanzando diferencias significativas para la expresión de las enzimas ACC y de FAS (**Figura 29**).

Figura 29: Niveles de expresión de las enzimas sintasa de ácidos grasos (a), acetil -CoA carboxilasa (b) y enzima málica (c) en hígado



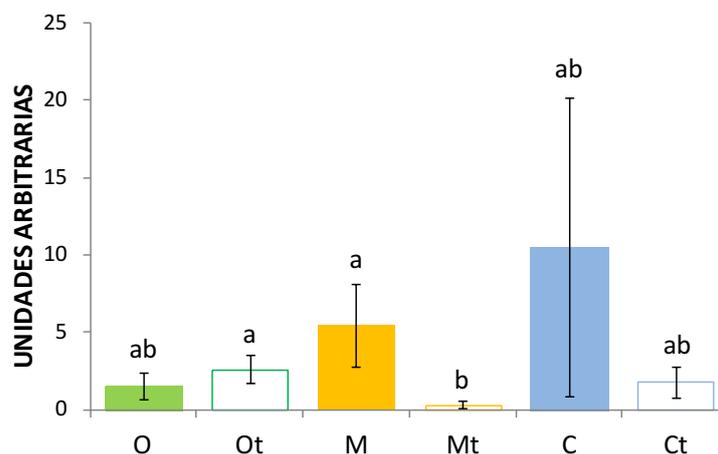


Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

7.6. EXPRESIÓN DE LA ENZIMA CARNITINA-PALMITOIL TRANSFERASA-IA EN HÍGADO

La cuantificación de los niveles de ARNm de la enzima CPT-Ia en hígado no mostró diferencias significativas por el consumo de los distintos tipos de aceite. Sin embargo, tanto en presencia de aceite de maíz, como de canola, la adición de AGt a la dieta redujo los niveles, alcanzando significancia estadística en Mt versus M (**Figura 30**).

Figura 30: Nivel de expresión de la enzima carnitina palmitoil transferasa-Ia en hígado

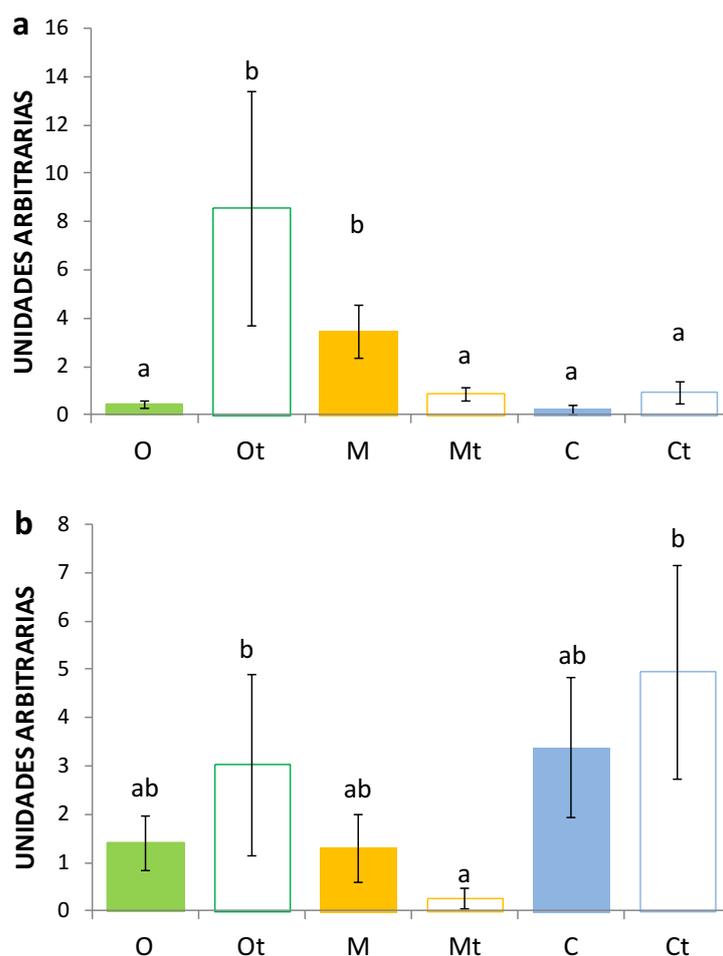


Valores expresados como la media \pm SEM de n=6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

7.7. EXPRESIÓN DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE GENES LIPOGÉNICOS Y OXIDATIVOS

SREBP-1a y SREBP-1c son factores de transcripción asociados a la expresión de genes lipogénicos. En particular, SREBP-1a media la expresión de genes involucrados en la síntesis de AG, colesterol y TG; mientras que SREBP-1c la transcripción de genes de síntesis de AG, pero no colesterol. En hígado, la expresión del SREBP-1a mostró un incremento en M, respecto a los grupos O y C. La sustitución parcial con AGt incrementó de manera muy significativa la expresión del SREBP-1a en Ot vs O y disminuyó los niveles en Mt vs M. Por otro lado, la expresión del SREBP-1c no mostró diferencias significativas por el consumo de las distintas fuentes de grasa, ni por la sustitución parcial con AGt en comparación a sus respectivos controles (**Figura 31**).

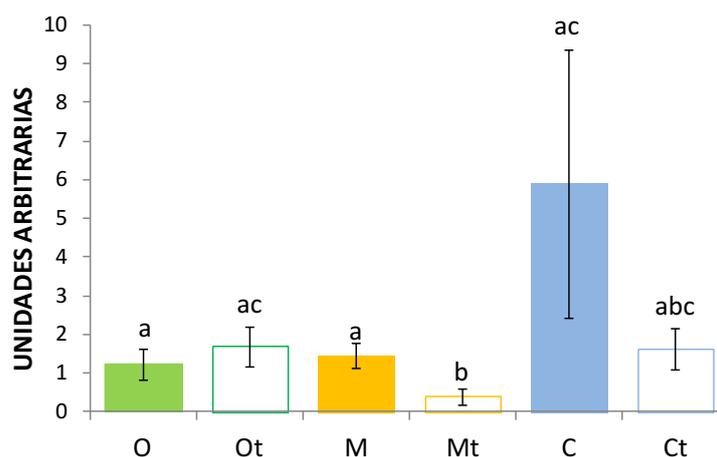
Figura 31: Nivel de expresión de SREBP-1a (a) y SREBP-1c (b) en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Con respecto a los factores de transcripción asociados a las enzimas involucradas en la β -oxidación de AG, se evaluó la expresión hepática del PPAR- α . La expresión de este factor de transcripción mostró un incremento significativo en C frente a los grupos M y O. La sustitución parcial con AGt presentó una tendencia a disminuir esta expresión en Mt y Ct, alcanzando diferencias estadísticamente significativas en el primer caso (**Figura 32**).

Figura 32: Nivel de expresión de PPAR- α en hígado



Valores expresados como la media \pm SEM de $n=6$ animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia $p<0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

8. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN SUERO Y TEJIDOS

8.1. RETENCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS *TRANS* EN TEJIDOS Y SUERO

Todos los isómeros de AGt fueron incorporados y retenidos en hígado, TAE y músculo gastrocnemio, como así también en suero post-prandial y suero post-inhibición de la remoción de las VLDL-TG (**Tabla 7**). La retención de cada isómero de AGt en suero y tejidos fueron estimados usando la relación entre el porcentaje de isómeros en la muestra respecto al porcentaje en la dieta. Este parámetro normaliza los niveles de AGt en relación a su ingesta.

En TAE se encontraron los valores más elevados de retención de AGt, y fue independiente de la proporción relativa de AG dietarios de las familias n-3, n-6 y n-9. En este tejido, el AE y el $t_{10-18:1}$ mostraron los mayores niveles respecto a los otros isómeros $t_{-18:1}$. De forma similar al TAE, en músculo gastrocnemio el AE presentó el porcentaje de retención de $t_{-18:1}$ más alto, pero en este tejido fue dependiente de la fuente de grasa dietaria, alcanzando los menores valores en el grupo Ct. Por otro lado, en hígado se encontró un patrón diferente en el contenido de AGt, siendo el AV el isómero de

AGt monoinsaturado encontrado en mayor cantidad, principalmente en los grupos Mt y Ct. A diferencia de los tejidos analizados, el patrón de retención de los isómeros individuales *t*-18:1 encontrado en suero fue similar entre los distintos isómeros y mostró dependencia con la fuente de grasa dietaria, siendo Ot > Ct > Rt.

Tabla 7: Porcentaje de retención de isómeros de ácidos grasos *trans* en diferentes tejidos de ratón y en suero post-prandial

	Ot	Mt	Ct
Hígado			
(t6+t7+t8)-18:1	9,05±1,32	13,92±2,43	17,45±3,79
t9-18:1	20,50±1,44	19,16±1,06	19,58±2,36
t10-18:1	17,01±0,93	14,96±1,60	14,12±3,02
t11-18:1	19,15±3,09 ^a	26,23±0,60 ^b	24,16±2,07 ^{ab}
t9,t12-18:2	66,25±9,43	52,71±9,59	45,08±7,35
AGt totales	18,47±1,14	19,44±0,65	19,16±0,88
Tejido adiposo epididimal			
(t6+t7+t8)-18:1	34,30±3,04	32,80±5,51	28,52±2,57
t9-18:1	51,52±5,21	40,88±6,49	50,52±6,85
t10-18:1	39,20±1,90	35,86±5,38	40,20±3,98
t11-18:1	20,61±2,57	25,26±4,98	27,34±1,34
t9,t12-18:2	124,57±7,33	104,99±10,23	118,38±23,31
AGt totales	38,83±1,34	35,71±4,98	39,54±3,00
Músculo gastrocnemio			
(t6+t7+t8)-18:1	20,30±2,18	17,40±4,22	23,75±2,05
t9-18:1	34,84±2,41 ^{ab}	35,69±1,12 ^a	29,06±1,39 ^b
t10-18:1	16,10±1,30	18,80±2,11	17,19±1,10
t11-18:1	10,55±1,08	18,89±3,76	11,63±2,28
t9,t12-18:2	67,75±10,31	61,00±6,79	66,49±5,63
AGt totales	21,23±0,94	23,78±1,40	19,26±0,86
Suero post-prandial			
(t6+t7+t8)-18:1	37,37±10,34	25,76±2,73	16,97±1,84
t9-18:1	42,48±11,42	28,60±4,35	26,04±1,15
t10-18:1	32,05±10,91	19,88±4,53	13,63±1,52
t11-18:1	41,85±14,74	30,77±1,23	25,11±1,24
AGt totales	37,06±11,38	25,21±2,75	19,74±1,17

AGt= ácidos grasos *trans*. Valores expresados como media±SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: One Way ANOVA para comparar los tres grupos experimentales alimentados con dietas enriquecidas en AGt. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. (p<0,05). O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

En la **Tabla 8** a la **Tabla 12**, observamos que tanto el origen de grasa dietaria, como la adición de AGt, han producido numerosos cambios en el perfil de los AG en el suero post-prandial, suero post-inhibición de la remoción de las VLDL-TG, hígado, TAE y músculo gastrocnemio. Dada la diversidad de AG que podemos identificar y cuantificar, se describen con mayor profundidad aquellos AG que tienen mayor relevancia cuantitativa y/o metabólica.

8.2 SUERO POST-PRANDIAL

La composición de AG presentes en suero de animales en condiciones alimentadas, reflejan el “pool de AG” correspondiente a los lípidos de la dieta más aquellos procedentes de la metabolización de lipoproteínas a nivel de diferentes tejidos. Los valores correspondientes al perfil de AG en suero post-prandial se presentan en la **Tabla 8**.

Los AG representantes de cada dieta: AO, AL y ALA guardaron una proporción acorde con la ingesta de los mismos. Los AGt redujeron los niveles de AL en las dietas con aceite de maíz y los niveles de ALA en las dietas con aceite de canola.

Con respecto a los niveles de los distintos isómeros de AGt: $\Sigma(t6-18:1 + t7-18:1 + t8-18:1)$, AE, $t10-18:1$, AV y $t9,t12-18:1$; se observó un comportamiento diferencial, según el tipo de aceite consumido, que se conserva entre los diferentes isómeros: menor cantidad de AGt circulantes conforme se incrementa el grado de insaturación de los AG dietarios. Es decir, aquellos animales que consumieron la dieta Ct presentaron menores niveles de AGt circulantes, que los que recibieron Mt y éstos menores que aquellos que consumieron la dieta Ot. Además de los AGt de origen dietario, se observó la presencia de AR en circulación, el cual proviene de la desaturación del AV a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en diferentes tejidos. Es importante denotar que éste isómero conjugado mostró un comportamiento opuesto al observado para los AGt, resultando en mayores niveles en los animales alimentados con la dieta Ct y Mt respecto a los animales que consumieron la dieta Ot.

Si bien, el análisis 2x3 ANOVA, mostró un efecto por la grasa dietaria en los niveles de ácido mirístico (14:0) y un efecto por la grasa dietaria y por la presencia de AGt en el ácido pentadecaenoico (15:0), estos AG no mostraron diferencias relevantes en sus niveles en las comparaciones individuales. Los niveles de ácido behénico (22:0) fueron mucho menores en los animales que consumieron dieta M respecto a O y C y la adición de AGt incrementó significativamente los niveles de este AG circulante respecto a cada dieta sin AGt. Esta alteración fue muy marcada en las dietas a base de aceite de maíz ($p < 0,001$). Tanto los demás AGS, como la sumatoria total de AGS, no mostraron efecto por el origen de grasa dietaria, ni por la presencia de AGt en las dietas.

Los niveles de ácido palmitoleico ($c9-16:1$) mostraron variaciones según el origen de la grasa dietaria, sin alteraciones producto del consumo de AGt. Los niveles de este AG fueron $O > C > M$ siendo diferentes estadísticamente O versus M. El contenido sérico de ácido *cis*-vaccénico ($c11-18:1$) fue en el grupo $O > C \geq M$, mostrando el mismo comportamiento que la grasa dietaria, mientras que los niveles de $c11-20:1$ fue en el grupo $C \geq O \geq M$ a pesar que el orden comparativo de los mismos en las grasas dietarias fueron diferentes ($C > M = O$)

La adición de AGt a la dieta sólo indujo modificaciones en la dieta Ct, disminuyendo los niveles de *c11-20:1* respecto a la dieta C.

Los niveles del *c6,c9,c12c-18:3*, ácido γ -linolénico (GLA) incrementaron significativamente en los animales alimentados con aceite de maíz comparados con los que recibieron aceite de oliva o de canola, disminuyendo significativamente con la adición de AGt a la dieta. Si bien, el análisis 2x3 ANOVA muestra un valor de *p* significativo para efecto de los AGt (*p*=0,048) para los niveles de *c8,c11,c14-20:3*, ácido dihomo- γ -linolénico (DGLA), las comparaciones individuales no reflejan esta diferencia, no existiendo cambios en los niveles de este AG entre los grupos experimentales. El AA fue significativamente mayor en los grupos que consumieron aceite de maíz, comparado a los que consumieron aceite de canola, pero no mostró diferencia frente a los que recibieron aceite de oliva. La sustitución parcial con AGt no introdujo diferencias en los niveles de este AG. El AG *c11,c14-20:2*, un intermediario de la vía alternativa de elongación de AL, como era de esperar, incrementó por la dieta rica en AL, sin observarse alteraciones por la sustitución parcial con AGt a la dieta.

Los AG de la familia n-3 derivados del ALA mostraron un comportamiento altamente asociado a la contribución de las grasas dietarias. Los animales alimentados con aceite de canola presentaron niveles detectables de EPA y DHA, no pudiéndose cuantificar EPA en el suero de los animales que consumieron el resto de las dietas experimentales. La presencia de AGt no mostró efectos notorios en los niveles de ninguno de los dos AG mencionados.

La sumatoria de SFA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales. El contenido de MUFA total en el hígado mostró una dependencia significativa sólo por el tipo de grasa dietaria, siendo mayor en los animales que consumieron las dietas con aceite de oliva y de canola. La sumatoria total de PUFA fue mayor en el suero de los animales alimentados con dieta conteniendo aceite de maíz, sin cambios por la presencia de AGt dietarios en ningún grupo experimental.

8.3 SUERO POST-INHIBICIÓN DE LA REMOCIÓN DE LAS VLDL

Estas muestras fueron obtenidas luego de la inyección de Triton WR 1339 a los animales, el cual inhibe la remoción periférica de las VLDL-TG secretadas por el hígado, por lo que luego de dos horas se obtiene un suero enriquecido en estas lipoproteínas. Por lo tanto, puede considerarse que la composición de AG obtenida en dicho suero refleja, en gran medida, la composición de las VLDL-TG. Hecha esta salvedad, de ahora en más se hará referencia a la composición de AG de las VLDL para simplificar la redacción de los resultados (**Tabla 9**).

Los niveles de AO, AL y ALA en las lipoproteínas secretadas por el hígado, presentaron perfiles relacionados a la ingesta de los mismos y fueron influenciados por la adición de AGt. Así en orden de contenido, el ácido oleico fue: C > O > M; y mostraron una disminución por la adición de AGt a la dieta en los animales que fueron alimentados con aceite de canola. El contenido de AL en las VLDL, que fue mayor en los animales alimentados con dietas ricas en aceite de maíz, fue reducido por la presencia de AGt, en los grupos Ot y Mt respecto a sus respectivos controles. Como era de esperar, los niveles de ALA fueron mucho mayores en los animales que consumieron las dietas a base de aceite de canola respecto a las otras dietas, sin embargo, la adición de AGt, en este grupo, redujo significativamente estos valores sólo en este grupo.

Los niveles de isómeros *trans* acumulados en circulación, post-inhibición de la clarificación de los TG circulantes, muestran un patrón diferente a lo que se observa en cuanto a los niveles de AGt circulantes basales y, como se verá más adelante, de hígado. Al comparar entre todos los isómeros de AGt, el que se secreta en mayor cantidad desde el hígado hacia el suero, es el AE, siendo mucho mayor en Mt y Ct respecto a Ot. El AV se secreta en mayor cantidad en los animales alimentados con dieta Ct en comparación con los animales que consumen Mt y Ot. Los niveles de *t*10-18:1 fueron semejantes en las VLDL de los animales que consumieron dietas adicionadas de AGt, independientemente de la grasa dietaria. Por otro lado, a diferencia de lo presentado para suero post-prandial, los niveles de AR secretados fueron iguales en todos los grupos experimentales, independientemente del AG predominante en cada una.

Si bien, el 2x3 ANOVA muestra un efecto por la grasa dietaria en el ácido palmítico, la comparación no paramétrica muestra menores valores de este AG en el grupo C vs O. La adición de AGt a la dieta no produjo variaciones en los niveles de ácido palmítico secretado por las VLDL. Por otro lado, el ácido esteárico, que también contribuye en gran medida a la sumatoria total de AGS, mostró efecto tanto por la grasa dietaria, como por la adición de AGt. Al comparar los niveles de este AG según el tipo de grasa consumida, puede observarse que los niveles fueron C<M=O y que la presencia de AGt dietario promovió una disminución en los niveles en los grupos Ot y Mt al compararlos con sus respectivos controles.

La comparación no paramétrica de los niveles secretados de ácido palmitoleico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tipos de grasas dietarias. La adición de AGt a la dieta incrementó los niveles en los grupos Ot y Mt respecto a sus controles sin AGt, sin modificaciones en el grupo Ct. El contenido de ácido *cis*-vaccénico fue mayor en los grupos O y C frente al grupo M. La sustitución parcial con AGt a la dieta incrementó ligeramente los niveles de *cis*-vaccénico en el grupo Ot y, por el

contrario, disminuyó el porcentaje secretado en los animales alimentados con dieta Ct respecto a sus controles.

El GLA tuvo niveles significativamente elevados por la dieta rica en AL (siendo $M > O > C$) y la adición de AGt redujo significativamente el contenido de dicho AG en los tres grupos experimentales. El $c11,c14-20:2$ presentó mayores niveles en los animales alimentados con la dieta M, seguido por los animales alimentados con C. Sin embargo, no fue detectado en aquellos animales alimentados con O u Ot. El DGLA, si bien el análisis de varianza sugiere un efecto significativo por el origen de grasa dietaria, no presentó diferencias estadísticas en las comparaciones no paramétricas de O, M y C; la sustitución parcial con AGt no indujo modificaciones al comparar cada grupo con su respectivo control. Los niveles de AA fueron significativamente reducidos en los animales alimentados con C y Ct sin observarse alteraciones por la adición de AGt en ningún grupo.

Los niveles de EPA y DHA sólo mostraron diferencia por el origen de grasa dietaria, es decir que en los grupos que consumieron aceite de canola fueron más elevados que en los grupos que consumieron aceite de maíz u oliva, destacando además que para el caso del EPA no pudo ser detectado en estos grupos. La sustitución parcial con AGt a la dieta no indujo cambios en los niveles de estos AG.

8.4 HÍGADO

El perfil de AG hepáticos (**Tabla 10**) mostró una dependencia significativa de la composición de AG dietarios consumidos. No obstante, muchos de ellos provienen de la síntesis *de novo* de AG o son productos intermediarios del metabolismo. En los animales que ingirieron dietas que contenían grasa hidrogenada se observó una importante incorporación de isómeros *trans* en hígado. Los niveles de AE y $t10-18:1$ no mostraron diferencias de acuerdo al origen de grasa dietaria consumida. Sin embargo, el AV presentó niveles menores en el grupo Ot, al compararlos con Mt y Ct. En concordancia con esto, se observó mayor cantidad de AR en el grupo Ot, denotando una mayor conversión de AV a AR en estos animales. Por otro lado, en aquellos animales que consumieron las dietas O, M o C sin AGt, no se detectó la presencia de isómeros a nivel hepático.

El AO, que en su orden de abundancia dietario es aceite de canola > aceite de oliva > aceite de maíz, presentó niveles significativamente diferentes en los 3 grupos de grasas dietarias, siendo los niveles porcentuales hepáticos de dicho AG en el grupo $O > C > M$. La adición de AGt a la dieta produjo una disminución de AO sólo en el grupo Mt, respecto a su control. Como se podía esperar el contenido de AL y de ALA guardaron una relación

directa con los niveles dietarios de los mismos, sin mostrar, a excepción de los niveles de AL en el grupo Mt, ninguna variación por la sustitución parcial con AGt.

El GLA presentó un elevado porcentaje de incorporación al hígado de los animales que consumieron M y Mt, no mostrando diferencias estadísticamente significativas por el consumo de AGt en ningún grupo experimental. Los niveles hepáticos de *c11,c14-20:2* y AA muestran el mismo comportamiento que el AL (M>C>O), no existiendo diferencias por la sustitución parcial con AGt a la dieta. El DGLA no presentó diferencias significativas por el origen de grasa dietaria ni por la sustitución parcial con AGt a la dieta.

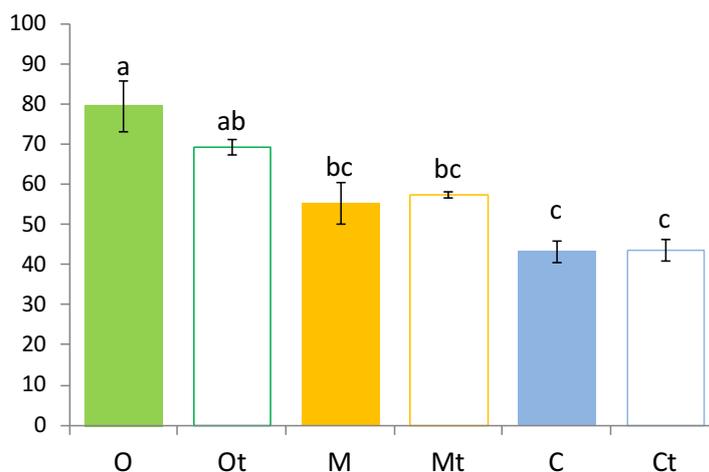
Los AG derivados intermediarios de la biosíntesis de LC-PUFA de la serie n-3, como es lógico esperar, mostraron valores inferiores que aquellos procedentes de la serie n-6, llegando a ser muy difícil la detección de algunos de ellos y, por lo tanto, sólo es posible presentar aquellos que mostraron niveles cuantificables y de importancia bioquímico-nutricional. Tanto el EPA como el DHA, mostraron niveles considerables sólo en aquellos animales alimentados con aceite de canola, sin verse alterados por la sustitución parcial con AGt.

La sumatoria de los niveles de AGS no muestra diferencias significativas entre los grupos experimentales, mientras que la sumatoria total de MUFA en hígado mostró correlación con la ingesta de AO, siendo O>C>M, y la misma fue disminuida por la presencia de isómeros AGt sólo en el grupo Mt vs. M. Por último, la sumatoria de PUFA fue dependiente del consumo de las distintas grasas, siendo mayor en los grupos M y C respecto a O sin alteraciones producto de la sustitución parcial con AGt a la dieta.

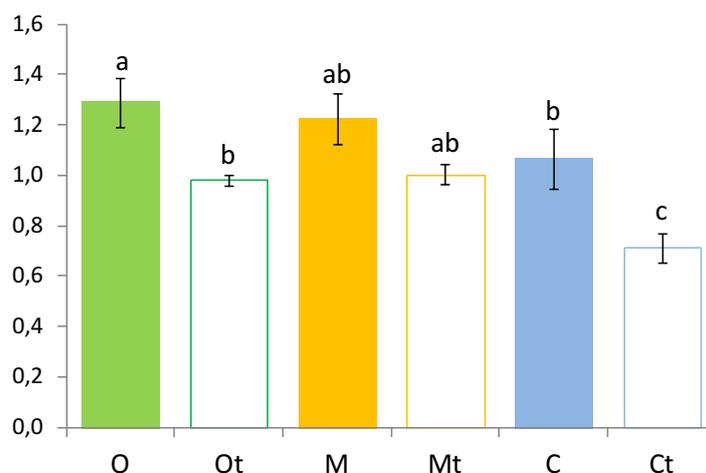
8.4.1. Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en hígado

La biosíntesis total de PUFA de la serie n-6, expresada por la relación porcentual producto/sustrato (AA/AL) (**Figura 33**), mostró una dependencia del origen de grasa dietaria siendo O>M≥C, sin ser alterada por la presencia de AGt dietarios.

Dado que la enzima clave de la biosíntesis de AA es la $\Delta 6$ -desaturasa, en la **Figura 34** se muestra la relación porcentual GLA/AL que representa el flujo de AL a través de dicha enzima. Este parámetro fue dependiente de la grasa dietaria siendo mayor en el grupo O respecto a C, sin presentar diferencias estadísticamente significativas con el grupo M. La sustitución parcial con AGt disminuyó significativamente el flujo a través de esta enzima en los grupos Ot y Ct vs O y C, respectivamente.

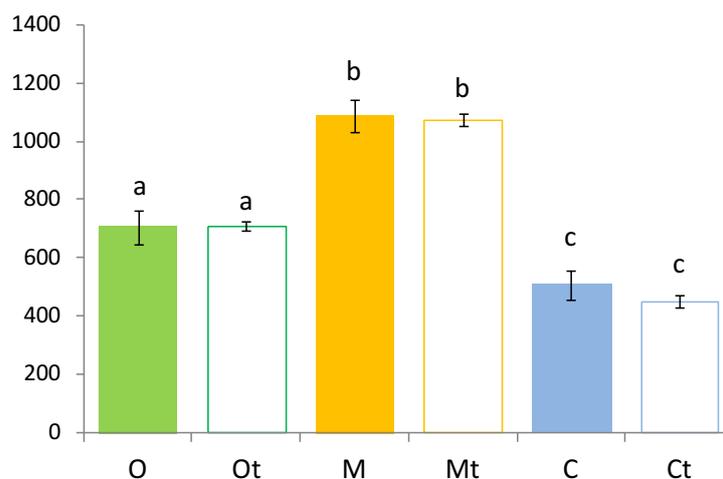
Figura 33: Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en hígado

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido araquidónico/ácido linoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 34: Flujo a través de la enzima $\Delta 6$ -desaturasa en hígado

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido γ -linolénico/ácido linoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Otra enzima importante en la biosíntesis de PUFA es la $\Delta 5$ -desaturasa, cuyo flujo en la biosíntesis de AA puede ser representado por la relación AA/ DGLA. Como puede observarse en la **Figura 35**, la misma sólo presentó dependencia del origen de grasa dietaria, pero no de la sustitución parcial con AGt. En este sentido el flujo de sustrato a través de la $\Delta 5$ -desaturasa fue (M y Mt) > (O y Ot) > (C y Ct).

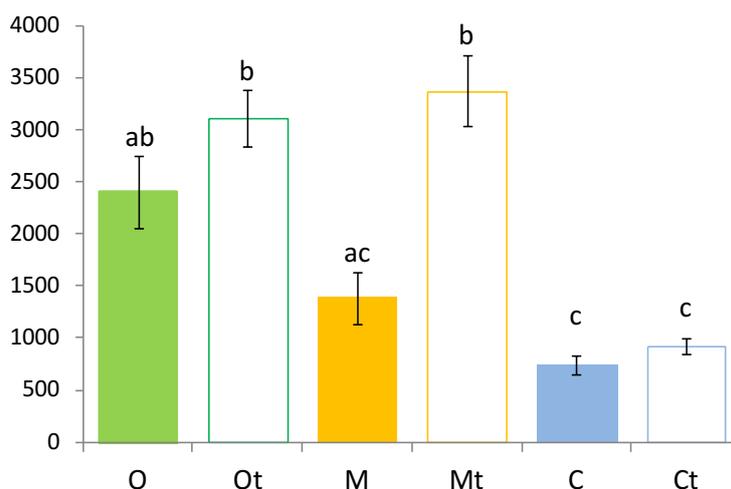
Figura 35: Flujo a través de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa en hígado

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido araquidónico/ácido di-homo- γ -linolénico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

8.4.2. Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en hígado

La biosíntesis de LC-PUFA de la serie n-3, expresada por la relación DHA/ALA, manifestó una dependencia con el origen de grasa dietaria, siendo mayor en los animales alimentados con dieta O y menor en los animales alimentados con dieta C y una diferente respuesta de los isómeros AGt en función de dicho origen de grasa (Figura 36).

Figura 36: Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en hígado



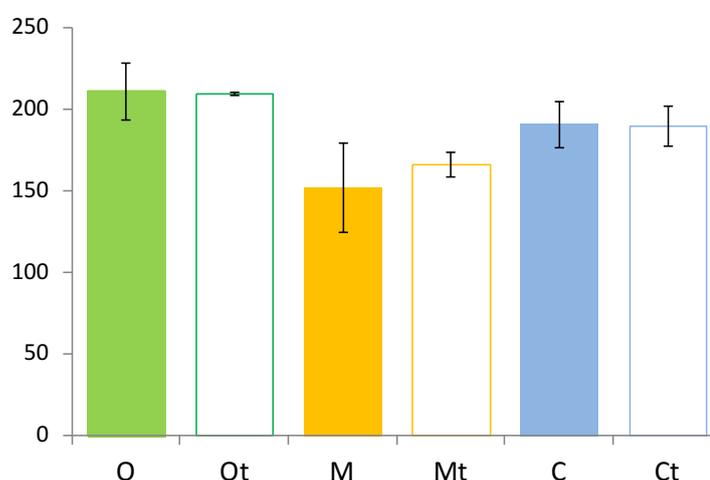
Expresada por la relación producto/sustrato: ácido docosahexaenoico/ácido α -linoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Así, mientras que en los grupos alimentados con aceite de oliva y de canola, los AGt no indujeron modificaciones, en los animales alimentados con dieta Mt se vio un incremento significativo de la biosíntesis de LC-PUFA n-3. Debido a los escasos niveles de algunos de los metabolitos intermediarios, no fue factible estimar los efectos en los flujos parciales de sustratos a través de las diferentes enzimas participantes en la biosíntesis total de DHA. El AG *c11,c14,c17-20:3*, producto secundario de la elongación del ALA, no mostró modificaciones en sus niveles según la grasa dietaria, pero la sustitución parcial con AGt a la dieta disminuyó los niveles de este AG en todas los grupos llevándolo a valores no detectables por el método utilizado.

8.4.3. Biosíntesis *de novo* de ácidos grasos en hígado

Los niveles de ácido palmitoleico y de ácido *cis*-vaccénico, intermediarios claves en la biosíntesis *de novo*, como procedentes de la dieta, fueron incrementados significativamente por el consumo de aceite de oliva y en ninguno de los orígenes de grasa dietaria se observó efecto por la adición de AGt. La relación entre ambos AG (ácido *cis*-vaccénico/ ácido palmitoleico) (**Figura 37**), que refleja el flujo a través de la enzima elongasa en la serie n-7, mostró efecto sólo por el origen de grasa dietaria (2x3 ANOVA, $p = 0,010$), independientemente de la presencia de AGt en la dieta.

Figura 37: Flujo a través de la enzima elongasa en hígado



Expresada por la relación producto/sustrato: ácido *cis*-vaccénico/ácido palmitoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

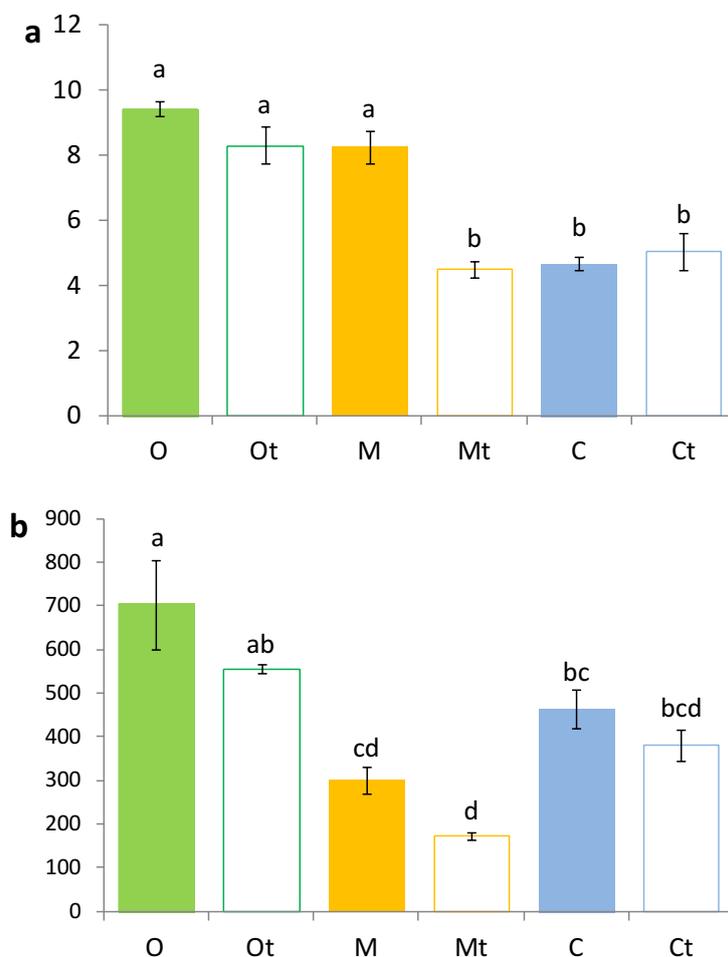
Los niveles más altos de ácido godoico (*c11-20:1*) fueron asociados a la ingesta de AO (grupos O y C) y no fueron influenciados por la adición de AGt. Por otro lado, el ácido

erúxico (c13-22:1) se encontró en elevados niveles en la dieta C respecto a M y O, y sólo en este grupo se vieron afectados sus valores por la presencia de AGt dietario, disminuyendo los niveles significativamente.

8.4.4. Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en hígado

Las relaciones ácido palmitoleico/ ácido palmítico (**Figura 38 a**) y AO/AE (**Figura 38 b**), reflejan el flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa. Los mayores niveles porcentuales de dichas relaciones estuvieron asociados al consumo de aceite de oliva. Particularmente, la relación ácido palmitoleico/ ácido palmítico fue mayor en O y M respecto a C y la adición dietaria de AGt sólo disminuyó los niveles en la dieta Mt respecto a M. Por otro lado, la relación AO/AE fue mayor en O respecto a M y C, y los AGt no afectaron los valores de esta relación en ningún grupo experimental.

Figura 38: Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en hígado



Expresada por la relación producto/sustrato: ácido palmitoleico/ácido palmítico (a) y ácido oleico/ácido esteárico (b) Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

8.5 TEJIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

El TAE mostró los valores de AGt totales más altos respecto a los demás tejidos. Como puede observarse en la **Tabla 11**, no hubo diferencia significativa en el contenido de los distintos isómeros según las diferentes dietas, ni en el contenido de AR.

El contenido de MUFA totales y el del principal contribuyente en dicho grupo: el AO, fue dependiente del origen de grasa dietaria, siendo significativamente mayor en los grupos O y C respecto al grupo M. La presencia de AGt dietarios no indujo modificaciones en estos niveles. Los contenidos de AL y ALA mostraron una dependencia con el origen de grasa dietaria y con la adición de AGt. Por un lado, como era de esperar, el contenido de AL fue mucho mayor en los animales que consumieron aceite de maíz. La presencia de AGt dietario redujo significativamente los niveles en los grupos Ot y Mt, sin presentar cambios significativos en la dieta con aceite de canola. Los animales que consumieron dietas con aceite de canola mostraron niveles de ALA significativamente más elevados que los demás grupos pero la presencia de AGt redujo el contenido porcentual de ALA en TAE. Los cambios en los PUFA totales fueron similares a aquellos observados para el AL que es cuantitativamente el más importante, sin embargo, la presencia de AGt sólo redujo significativamente el contenido de PUFA totales en el grupo Mt respecto a M.

Los LC-PUFA de la serie n-6 presentaron niveles significativamente diferentes en función del origen de grasa dietaria y de la presencia de AGt. Específicamente, tanto los niveles de GLA, como de DGLA, fueron significativamente mayores en los animales que recibieron aceite de maíz que en los que recibieron aceite de canola o de oliva. Para el caso del GLA, la presencia de AGt redujo los niveles en las dietas Ot y Mt, respecto a sus respectivos controles; pero para el DGLA, los AGt sólo tuvieron efecto en la dieta Mt. El c11,c14-20:2 también se encontró en niveles elevados en la dieta con aceite de maíz, pero no fue afectado por la presencia de AGt en ningún grupo experimental. El AA presentó un comportamiento similar al de sus precursores. Si bien, los niveles fueron elevados en la dieta M, su relación porcentual fue mucho más elevada al compararla con los otros AG, y la presencia de AGt dietario redujo drásticamente estos valores sólo en este grupo.

En todos los grupos dietarios analizados, no se lograron obtener niveles cuantitativamente detectables de los intermediarios y producto final de los LC-PUFA de la serie n-3.

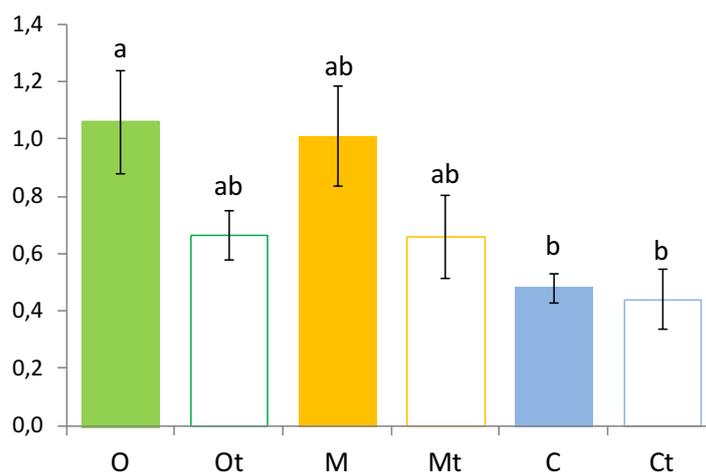
En general, los niveles de los AGS 14:0 y 20:0 no fueron modificados por el origen de grasa dietaria, ni por la presencia de AGt dietarios. El ácido palmítico mostró un efecto sólo por el tipo de grasa dietaria, encontrándose en menor cantidad en las dietas con aceite de canola. Este mismo efecto también puede observarse en el ácido palmitoleico.

Por el contrario, los niveles de ácido esteárico no fueron alterados por el tipo de aceite suministrado en la dieta, pero mostraron un tendiente incremento por el consumo de AGt, alcanzando la significancia estadística sólo en el grupo Mt. El contenido de ácido *cis*-vaccénico, fue dependiente del origen de grasa dietaria, siendo $O = C > M$, sin observarse efecto por la adición de AGt frente a sus respectivos controles.

8.5.1. Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en tejido adiposo epididimal

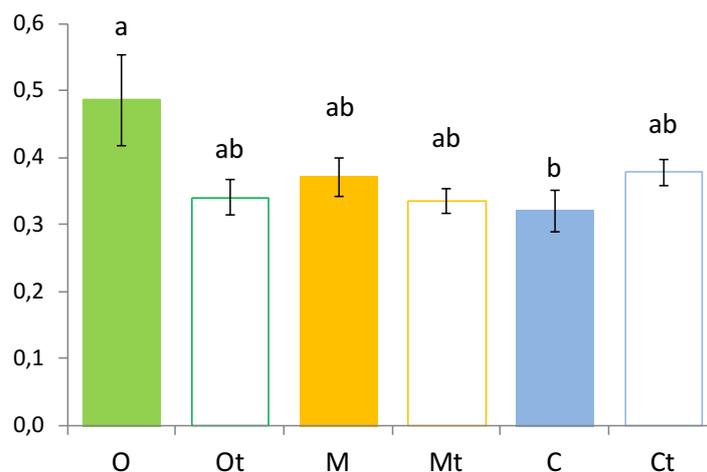
La biosíntesis total de PUFA de la familia n-6, reflejada por la relación AA/AL fue $O=M>C$, siendo diferente estadísticamente el grupo O vs C. Los valores de significancia correspondientes 2x3 ANOVA demuestran, además de una dependencia por el origen de grasa dietaria ($p=0,008$), un efecto por la presencia de AGt ($p=0,022$). No obstante, sólo una tendencia a valores inferiores fueron observados en esta relación en los grupos Mt y Ot, respecto a sus controles (**Figura 39**).

Figura 39: Biosíntesis de LC-PUFA n-6 en tejido adiposo epididimal

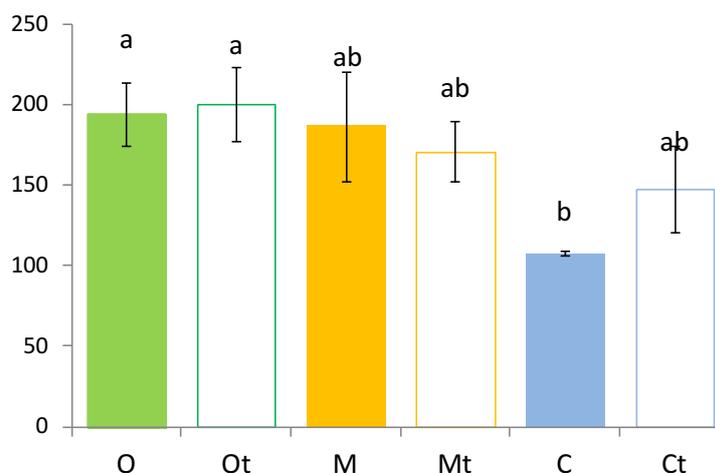


Expresada por la relación producto/sustrato: ácido araquidónico/ ácido linoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

El flujo a través de la enzima $\Delta 6$ -desaturasa, expresado por la relación GLA/AL fue afectado únicamente por el tipo de grasa dietaria, alcanzando los valores más altos en la dieta O y los más bajos en la dieta C. Este parámetro no fue afectado por la presencia de AGt en la dieta (**Figura 40**). La enzima $\Delta 5$ -desaturasa, cuyo flujo puede estimarse a partir de la relación AA/DGLA fue menor en el grupo C respecto a O. La sustitución parcial con AGt a la dieta no modificó este parámetro (**Figura 41**).

Figura 40: Flujo a través de la enzima $\Delta 6$ -desaturasa en tejido adiposo epididimal

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido γ -linolénico/ ácido linoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

Figura 41: Flujo a través de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa en tejido adiposo epididimal

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido araquidónico/ ácido di-homo γ -linolénico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

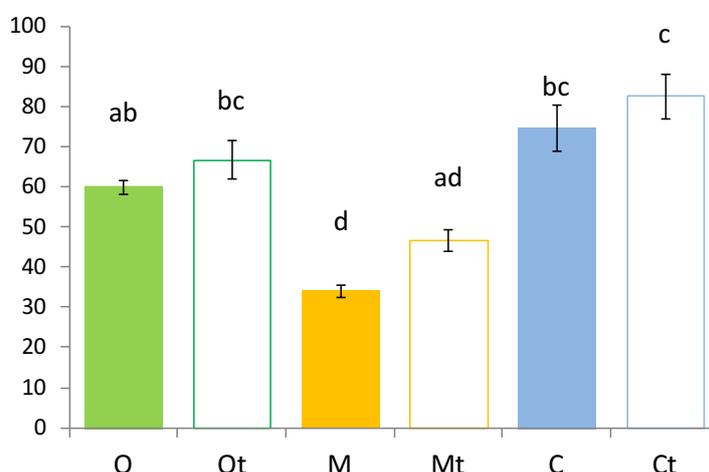
8.5.2. Biosíntesis de LC-PUFA n-3 en tejido adiposo epididimal

Dado que los niveles de LC-PUFA derivados de la familia n-3 (EPA y DHA), estuvieron por debajo del índice de detección, no fue factible estimar el flujo a través de las enzimas involucradas en la biosíntesis de PUFA n-3 en TAE.

8.5.3. Biosíntesis *de novo* de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal

Los niveles de ácido palmitoleico y de ácido *cis*-vaccénico fueron significativamente mayores en el TAE de los animales alimentados con aceite de oliva y no se observó efecto por la sustitución parcial con AGt en ninguno de los grupos con diferentes grasas dietarias. La relación entre ambos AG (ácido *cis*-vaccénico/ ácido palmitoleico) (**Figura 42**), que refleja el flujo a través de la enzima elongasa en la serie n-7, mostró efecto sólo por el origen de grasa dietaria, independientemente de la presencia de AGt en la dieta, siendo el grupo M el que presentó niveles más bajos respecto a O y C. Los niveles más altos de ácido godoico (c11-20:1) fueron asociados a la ingesta de la dieta O, siendo incrementados por la presencia de AGt en este grupo.

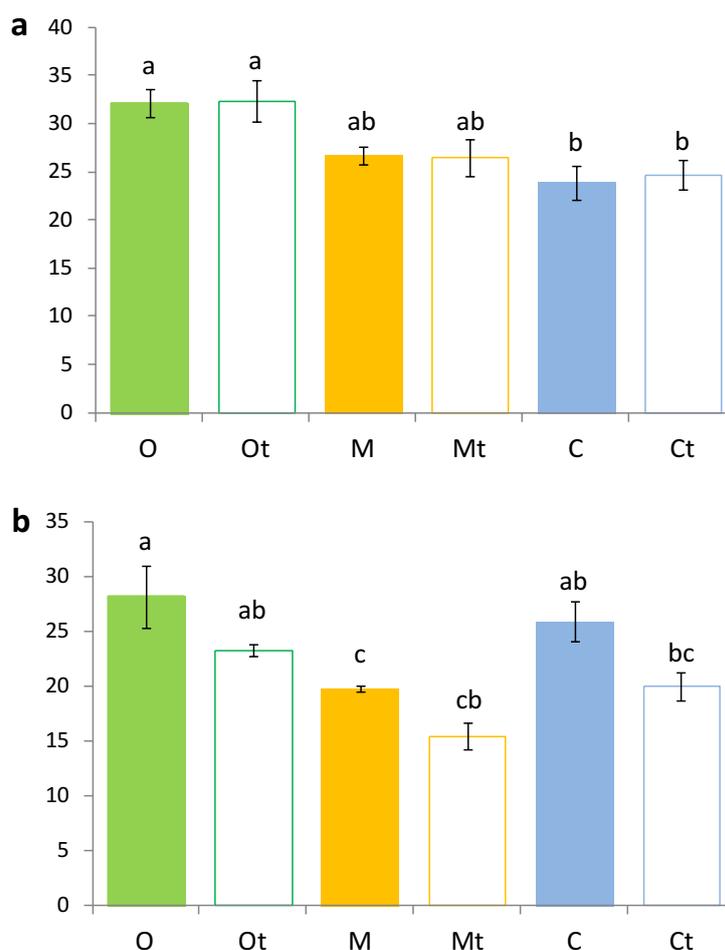
Figura 42: Flujo a través de la enzima elongasa en tejido adiposo epididimal



Expresada por la relación producto/sustrato: ácido *cis*-vaccénico/ácido palmitoleico. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

8.5.4. Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en tejido adiposo epididimal

La relación ácido palmitoleico/ ácido palmítico (**Figura 41 a**) fue ligeramente mayor en los animales alimentados con aceite de oliva que en aquellos con aceites de maíz o canola y la suplementación con AGt no afectó dicha relación. Por otra parte, la relación AO/AE (**Figura 41 b**) fue mayor en los animales alimentados con dieta O y C respecto a M y, si bien, se ve un efecto tendiente a disminuir por la presencia de los AGt, la diferencia no alcanza significancia estadística.

Figura 43: Flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa en tejido adiposo epididimal

Expresada por la relación producto/sustrato: ácido palmitoleico/ácido palmítico (a) y ácido oleico/ácido esteárico (b). Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA, seguido del test de Tukey. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt.

8.6. MÚSCULO GASTROCNEMIO

La **Tabla 12** muestra el perfil de AG del músculo gastrocnemio. Los AGt fueron cuantificados en cantidades mayores que en hígado. Los animales que consumieron la dieta Ct presentaron los menores niveles, probablemente a expensas del AE que fue menor en esta dieta y en ambos casos la diferencia fue estadísticamente significativa respecto al grupo Mt. El porcentaje de AV fue mayor en animales alimentados con la dieta Mt, alcanzando significancia estadística en su comparación frente al grupo Ot. Por otro lado, los niveles de AR encontrados en músculo gastrocnemio fueron equivalentes en todos los grupos experimentales.

De manera similar a lo hallado en los otros tejidos analizados, el músculo gastrocnemio presentó niveles de AG acorde a los perfiles de AG de la dieta. Así el contenido de AO fue

más elevado en los animales que consumieron O y C, el AL en la dieta M y el ALA en la dieta C. El consumo de AGt disminuyó el contenido de estos AG mayoritarios en cada grupo dietario experimental.

Con respecto a los AG derivados de la elongación y desaturación del AL, los niveles de GLA fueron más elevados en la dieta M, alcanzando significancia estadística sólo frente al grupo C. Sin embargo, el contenido de DGLA fue equivalente en todos los grupos experimentales y en ningún caso el GLA o el DGLA fueron alterados por la presencia de AGt en la dieta. El AA se encontró en alto porcentaje en el grupo O respecto a C y, si bien, el grupo M presentó niveles similares al O no fue estadísticamente diferente al C. Este AG tampoco fue modificado por el consumo de AGt. El intermediario de la vía alternativa de elongación del AL, *c11,c14-20:2*, fue significativamente mayor en el grupo M respecto a O y C, y fue significativamente menor en presencia de AGt en Mt y Ct.

Los LC-PUFA derivados del ALA estuvieron aumentados en los animales alimentados con las dietas C y Ct, sin diferencias significativas entre los mismos por el consumo de AGt. Sin embargo, los niveles de EPA se vieron incrementados en la dieta Ot respecto a O.

La sumatoria de AGS fue similar en todos los grupos, con excepción del grupo C, el cual presentó niveles menores en comparación a los demás grupos dietarios experimentales. Estos resultados están relacionados a los niveles encontrados para el ácido palmítico que presentó el mismo comportamiento. No obstante, el contenido de ácido esteárico no presentó diferencias significativas en ningún grupo experimental. Los niveles totales de MUFA fueron significativamente menores en la dieta Mt respecto a los demás grupos. Finalmente, la sumatoria total de PUFA fue mayor en los grupos M y Mt, asociado al alto contenido de AL en estos grupos experimentales.

Tabla 8: Perfil de ácidos grasos en suero post-prandial

Ácidos grasos	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
14:0	0,18±0,01	0,17±0,02	0,26±0,04	0,24±0,02	0,23±0,03	0,19±0,02	G
15:0	0,11±0,01 ^{ab}	0,06±0,03 ^a	0,15±0,03 ^b	0,13±0,01 ^{ab}	0,15±0,02 ^b	0,12±0,01 ^{ab}	G,t
16:0	24,97±1,20	25,72±0,32	26,94±1,01	24,54±0,77	23,14±0,79	25,47±0,47	-
17:0	0,23±0,01	0,26±0,02	0,26±0,02	0,20±0,01	0,27±0,03	0,26±0,02	-
18:0	8,66±0,62	9,39±0,72	9,66±0,31	9,29±0,30	9,22±0,77	9,65±0,70	-
20:0	0,23±0,03	0,22±0,03	0,36±0,09	0,23±0,01	0,26±0,02	0,19±0,02	-
22:0	0,09±0,02 ^a	0,20±0,03 ^b	0,01±0,01 ^d	0,40±0,01 ^c	0,09±0,01 ^a	0,14±0,01 ^{ab}	G,t,Gxt
c9-16:1	1,15±0,12 ^a	0,84±0,16 ^{ab}	0,69±0,09 ^b	0,76±0,03 ^{ab}	0,76±0,05 ^{ab}	0,85±0,04 ^{ab}	G
AO	22,87±0,75 ^a	20,16±1,64 ^a	12,39±0,66 ^b	13,98±1,02 ^b	23,11±0,54 ^a	19,52±1,16 ^a	G,Gxt
c11-18:1	3,05±0,24 ^a	2,81±0,37 ^{ab}	1,20±0,04 ^c	1,83±0,13 ^c	2,03±0,15 ^{bc}	1,98±0,23 ^{bc}	G
Σ(t6-t8)-18:1	0,00±0,00 ^a	0,60±0,13 ^b	0,00±0,00 ^a	0,41±0,03 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	0,27±0,02 ^c	G,t,Gxt
AE	0,00±0,00 ^a	0,96±0,20 ^b	0,00±0,00 ^a	0,65±0,08 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	0,59±0,02 ^c	t
t10-18:1	0,00±0,00 ^a	0,94±0,25 ^b	0,00±0,00 ^a	0,58±0,10 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	0,40±0,03 ^c	t
AV	0,00±0,00 ^a	1,05±0,29 ^b	0,00±0,00 ^a	0,77±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,63±0,02 ^b	t
c11-20:1	0,62±0,04 ^{ab}	0,42±0,05 ^{ac}	0,44±0,04 ^{ac}	0,41±0,03 ^c	0,73±0,04 ^b	0,49±0,07 ^{ac}	G,t
AL	18,35±0,25 ^a	20,14±0,77 ^a	29,84±0,63 ^b	25,46±1,44 ^c	20,32±0,45 ^a	20,51±0,40 ^a	G,Gxt
AR	0,00±0,00 ^a	0,06±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,14±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a	0,15±0,02 ^c	G,t,Gxt
GLA	0,08±0,02 ^{ab}	0,02±0,01 ^a	0,23±0,04 ^c	0,11±0,01 ^b	0,10±0,01 ^b	0,10±0,01 ^b	G,t,Gxt
ALA	0,15±0,03 ^a	0,18±0,02 ^a	0,16±0,02 ^a	0,13±0,02 ^a	1,27±0,09 ^b	0,79±0,13 ^c	G,t,Gxt
c11,c14-20:2	0,19±0,02 ^a	0,26±0,02 ^{ab}	0,28±0,03 ^b	0,27±0,03 ^{ab}	0,24±0,01 ^{ab}	0,23±0,02 ^{ab}	G
DGLA	1,71±0,21 ^{ab}	1,71±0,25 ^{ab}	1,10±0,08 ^{ab}	1,72±0,11 ^{ab}	1,68±0,16 ^{ab}	1,89±0,10 ^b	t
AA	8,77±0,49 ^a	8,42±0,18 ^a	9,85±0,78 ^a	11,24±1,42 ^a	4,53±0,48 ^b	4,99±0,48 ^b	G
EPA	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,61±0,03 ^b	0,50±0,08 ^b	G
DHA	2,42±0,13 ^a	1,88±0,25 ^a	1,81±0,16 ^a	2,27±0,34 ^a	5,02±0,53 ^b	6,50±0,49 ^b	G,Gxt
ΣAGt	0,00±0,00 ^a	3,55±0,85 ^b	0,00±0,00 ^a	2,42±0,20 ^b	0,00±0,00 ^a	2,32±0,43 ^b	t
ΣAGS	34,57±1,72	34,32±1,91	37,49±0,79	35,16±1,24	33,15±1,37	36,00±1,11	-
ΣMUFA	27,42±0,82 ^a	24,24±1,93 ^a	15,98±1,47 ^b	17,00±1,17 ^b	26,52±0,64 ^a	22,78±1,35 ^a	G,t
ΣPUFA	32,06±0,46 ^a	32,40±0,46 ^a	43,22±1,21 ^c	41,20±2,06 ^{bc}	36,36±1,00 ^{ab}	35,46±0,92 ^a	G
NI	3,75±0,62	3,47±0,13	3,20±0,44	3,16±0,16	2,56±0,48	2,60±0,52	

NI=Σ ácidos grasos no identificados. ΣAGt= sumatoria de ácidos grasos trans. ΣAGS= sumatoria de ácidos grasos saturados. ΣMUFA: sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados cis. ΣPUFA= sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados cis. AO= ácido oleico. AE= ácido eláidico. AV= ácido vaccénico. AL= ácido linoleico. AR= ácido ruménico. GLA= ácido γ -linolénico. ALA= ácido α -linolénico. DGLA= ácido dihomo- γ -linolénico. AA= ácido araquidónico. EPA= ácido eicosapentaenoico. DHA= ácido docosahexaenoico. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA seguido del test de Tukey (G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

Tabla 9: Perfil de ácidos grasos en suero post-inhibición de la remoción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

Ácidos grasos	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
14:0	0,30±0,02 ^a	0,60±0,03 ^b	0,42±0,04 ^a	0,66±0,05 ^b	0,66±0,02 ^b	0,44±0,04 ^a	G,t,Gxt
15:0	0,12±0,01 ^{ab}	0,06±0,03 ^a	0,22±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	0,30±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	t,Gxt
16:0	24,53±0,52 ^a	23,43±0,33 ^{ab}	22,79±0,82 ^{abc}	20,91±0,17 ^c	21,95±0,15 ^{bc}	22,56±0,54 ^{abc}	G
17:0	0,28±0,01	0,18±0,04	0,27±0,04	0,22±0,02	0,25±0,01	0,19±0,03	t
18:0	8,40±0,16 ^a	5,05±0,10 ^d	8,67±0,27 ^a	6,42±0,15 ^c	7,24±0,17 ^b	6,83±0,09 ^{bc}	G,t,Gxt
20:0	0,00±0,00 ^a	0,09±0,05 ^{ab}	0,14±0,04 ^{abc}	0,00±0,00 ^a	0,28±0,07 ^c	0,20±0,02 ^{bc}	G,Gxt
c9-16:1	2,42±0,01 ^a	5,31±0,57 ^c	2,46±0,12 ^a	4,02±0,37 ^b	2,74±0,08 ^a	2,83±0,01 ^{ab}	G,t,Gxt
AO	24,41±0,39 ^a	24,08±0,76 ^a	15,52±0,45 ^c	16,78±1,41 ^c	29,12±0,83 ^b	22,64±0,46 ^a	G,t,Gxt
c11-18:1	2,17±0,04 ^a	2,52±0,01 ^b	0,97±0,09 ^c	1,19±0,04 ^c	1,92±0,13 ^a	1,58±0,03 ^d	G,Gxt
Σ(t6-t8)-18:1	0,00±0,00 ^a	0,25±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,37±0,06 ^b	0,00±0,00 ^a	0,28±0,02 ^b	t
AE	0,00±0,00 ^a	0,84±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,96±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a	0,97±0,03 ^c	G,t,Gxt
t10-18:1	0,00±0,00 ^a	0,43±0,06 ^b	0,00±0,00 ^a	0,52±0,07 ^b	0,00±0,00 ^a	0,55±0,03 ^b	t
AV	0,00±0,00 ^a	0,36±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	0,40±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,58±0,01 ^c	G,t,Gxt
c11-20:1	0,53±0,05 ^a	0,46±0,02 ^{ab}	0,36±0,07 ^a	0,32±0,06 ^a	0,62±0,02 ^b	0,48±0,05 ^{ab}	G
c13-22:1	0,00±0,00	0,08±0,05	0,00±0,00	0,00±0,00	0,06±0,04	0,05±0,03	-
AL	18,00±0,26 ^a	14,58±0,01 ^d	31,12±1,13 ^c	25,44±0,26 ^b	19,29±0,44 ^a	18,85±1,07 ^a	G,t,Gxt
AR	0,00±0,00 ^a	0,40±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,45±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,44±0,04 ^b	t
t9,t12-18:2	0,00±0,00	0,08±0,05	0,00±0,00	0,11±0,06	0,00±0,00	0,03±0,02	t
GLA	0,71±0,00 ^a	0,41±0,02 ^{cd}	1,10±0,05 ^b	0,71±0,05 ^a	0,53±0,06 ^d	0,32±0,01 ^c	G,t
ALA	0,20±0,04 ^{ab}	0,39±0,03 ^b	0,23±0,05 ^{ab}	0,16±0,04 ^a	1,54±0,05 ^d	0,97±0,07 ^c	G,t,Gxt
c11,c14-20:2	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,21±0,03 ^b	0,16±0,09 ^{ab}	0,09±0,03 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	G
DGLA	0,68±0,07 ^{ab}	0,94±0,01 ^b	0,54±0,05 ^a	0,42±0,06 ^a	0,62±0,08 ^{ab}	0,71±0,14 ^{ab}	G
AA	11,44±0,33 ^a	9,06±0,04 ^{ab}	10,02±0,91 ^a	10,53±1,22 ^a	5,51±0,61 ^c	6,06±0,57 ^{bc}	G
EPA	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,40±0,05 ^b	0,36±0,01 ^b	G
DHA	3,16±0,00 ^{ab}	3,11±0,21 ^a	2,39±0,34 ^a	2,06±0,08 ^a	4,63±0,56 ^{bc}	5,34±0,40 ^c	G
ΣAGt	0,00±0,00 ^a	1,94±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	2,36±0,09 ^c	0,00±0,00 ^a	2,41±0,02 ^c	G,t,Gxt
ΣAGS	33,63±0,36 ^a	29,45±0,43 ^{bc}	32,51±0,68 ^a	28,21±0,35 ^c	30,54±0,05 ^b	30,23±0,46 ^b	G,t,Gxt
ΣMUFA	29,52±0,47 ^{ab}	32,45±1,35 ^{bc}	19,30±0,41 ^d	22,31±1,88 ^d	34,45±0,82 ^c	27,57±0,51 ^a	G,Gxt
ΣPUFA	34,20±0,11 ^a	28,49±0,20 ^d	45,61±0,52 ^c	39,47±0,76 ^b	32,60±0,90 ^a	32,61±0,01 ^a	G,t,Gxt
NI	2,65±0,00	3,80±0,16	2,48±0,10	4,30±0,41	2,30±0,08	4,25±0,23	

NI=Σ ácidos grasos no identificados. ΣAGt= sumatoria de ácidos grasos trans. ΣAGS= sumatoria de ácidos grasos saturados. ΣMUFA: sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados cis. ΣPUFA= sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados cis. AO= ácido oleico. AE= ácido eláidico. AV= ácido vaccénico. AL= ácido linoleico. AR= ácido ruménico. GLA= ácido γ -linolénico. ALA= ácido α -linolénico. DGLA= ácido dihomo- γ -linolénico. AA= ácido araquidónico. EPA= ácido eicosapentaenoico. DHA= ácido docosahexaenoico. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA seguido del test de Tukey (G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

Tabla 10: Perfil de ácidos grasos en hígado

Ácidos grasos	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
14:0	0,29±0,02	0,33±0,01	0,29±0,05	0,25±0,01	0,30±0,03	0,24±0,02	-
15:0	0,10±0,01 ^a	0,12±0,01 ^{ab}	0,08±0,01 ^a	0,15±0,01 ^b	0,12±0,01 ^{ab}	0,16±0,01 ^b	G,t
16:0	23,49±0,68	22,44±0,18	23,20±1,08	22,14±0,33	22,78±0,72	21,48±0,36	t
17:0	0,15±0,02 ^a	0,23±0,01 ^{bcd}	0,17±0,02 ^{ab}	0,29±0,01 ^d	0,20±0,02 ^{abc}	0,26±0,01 ^{cd}	G,t
18:0	5,35±0,34 ^a	5,94±0,13 ^{ab}	7,55±0,45 ^c	9,06±0,29 ^d	7,02±0,38 ^{bc}	7,30±0,31 ^{bc}	G,t
20:0	0,24±0,04	0,24±0,03	0,28±0,02	0,35±0,02	0,33±0,05	0,26±0,01	-
22:0	0,06±0,01 ^{ab}	0,11±0,01 ^b	0,16±0,01 ^c	0,09±0,01 ^b	0,20±0,02 ^c	0,03±0,01 ^a	G,t,Gxt
c9-16:1	2,17±0,07 ^a	1,86±0,11 ^{ab}	1,47±0,23 ^{bc}	1,00±0,07 ^c	1,35±0,24 ^{bc}	1,07±0,10 ^c	G,t
AO	37,99±2,38 ^a	32,99±0,47 ^{ab}	22,19±1,75 ^c	15,51±0,99 ^d	31,30±2,19 ^b	27,08±1,24 ^{bc}	G,t
c11-18:1	4,59±0,32 ^a	3,89±0,25 ^a	2,13±0,31 ^b	1,65±0,12 ^b	2,43±0,27 ^b	1,95±0,10 ^b	G,t
Σ(t6-t8)-18:1	0,00±0,00 ^a	0,14±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,22±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,28±0,04 ^b	G,t,Gxt
AE	0,00±0,00 ^a	0,46±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,43±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,44±0,03 ^b	t
t10-18:1	0,00±0,00 ^a	0,50±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,44±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,41±0,06 ^b	t
AV	0,00±0,00 ^a	0,48±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	0,66±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a	0,61±0,03 ^c	G,t,Gxt
c11-20:1	1,25±0,12 ^a	1,03±0,02 ^{ab}	0,76±0,09 ^{bc}	0,59±0,03 ^c	1,07±0,12 ^{ab}	0,83±0,02 ^{bc}	G,t
c13-22:1	0,11±0,02 ^{ab}	0,13±0,01 ^{bc}	0,08±0,01 ^{ad}	0,09±0,01 ^{abd}	0,18±0,01 ^c	0,05±0,01 ^d	G,t,Gxt
AL	9,55±0,66 ^a	11,48±0,28 ^{ab}	19,96±1,02 ^d	23,31±0,50 ^e	14,77±1,20 ^c	14,22±0,18 ^{bc}	G,t,Gxt
t9,t12-18:1	0,00±0,00 ^a	0,18±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,14±0,02 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	0,12±0,01 ^c	G,t,Gxt
AR	0,00±0,00 ^a	0,31±0,01 ^b	0,00±0,00 ^a	0,22±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a	0,24±0,03 ^c	G,t,Gxt
GLA	0,11±0,01 ^a	0,11±0,01 ^a	0,24±0,02 ^b	0,23±0,01 ^b	0,15±0,01 ^a	0,10±0,01 ^a	G
ALA	0,12±0,01 ^a	0,09±0,01 ^a	0,18±0,02 ^a	0,10±0,01 ^a	1,06±0,09 ^b	1,00±0,05 ^b	G
c11,c14-20:2	0,16±0,01 ^a	0,22±0,02 ^a	0,38±0,04 ^b	0,41±0,01 ^b	0,19±0,01 ^a	0,21±0,01 ^a	G,t
DGLA	1,07±0,10	1,13±0,05	1,44±0,24	1,25±0,04	1,20±0,09	1,37±0,06	-
c11,c14,c17-20:3	0,03±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,03±0,01 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	0,05±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	t
AA	7,41±0,70 ^a	7,96±0,19 ^a	11,62±0,58 ^b	13,40±0,17 ^b	6,37±0,59 ^a	6,23±0,42 ^a	G
EPA	0,12±0,01 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,89±0,07 ^b	0,83±0,03 ^b	G,t
DHA	2,03±0,21 ^a	2,67±0,07 ^a	2,38±0,06 ^a	3,19±0,05 ^a	7,48±0,55 ^b	9,00±0,44 ^b	G,t
ΣAGt	0,00±0,00 ^a	1,77±0,11 ^b	0,00±0,00 ^a	1,86±0,06 ^b	0,00±0,00 ^a	1,84±0,08 ^b	t
ΣAGS	30,08±0,99	29,42±0,22	31,64±1,29	32,33±0,04	31,59±0,82	29,74±0,62	G
ΣMUFA	45,82±2,69 ^a	39,90±0,75 ^{ab}	27,00±2,17 ^c	18,81±0,56 ^d	34,34±1,70 ^{bc}	30,98±1,46 ^c	G,t
ΣPUFA	20,87±2,10 ^a	23,67±0,50 ^a	38,28±2,52 ^{bc}	41,89±0,69 ^c	32,17±2,20 ^b	32,97±1,00 ^b	G
NI	3,21±0,31	3,73±0,08	3,07±0,20	3,31±0,11	1,91±0,16	2,92±0,12	

NI=Σ ácidos grasos no identificados. ΣAGt= sumatoria de ácidos grasos trans. ΣAGS= sumatoria de ácidos grasos saturados. ΣMUFA: sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados cis. ΣPUFA= sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados cis. AO= ácido oleico. AE= ácido eláidico. AV= ácido vaccénico. AL= ácido linoleico. AR= ácido ruménico. GLA= ácido γ -linolénico. ALA= ácido α -linolénico. DGLA= ácido dihomo- γ -linolénico. AA= ácido araquidónico. EPA= ácido eicosapentaenoico. DHA= ácido docosahexaenoico. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA seguido del test de Tukey (G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

Tabla 11: Perfil de ácidos grasos en tejido adiposo epididimal

Ácidos grasos	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
14:0	1,11±0,07	0,95±0,04	1,01±0,08	1,00±0,02	1,21±0,20	0,94±0,03	-
15:0	0,19±0,01	0,18±0,01	0,18±0,01	0,20±0,01	0,19±0,01	0,20±0,01	-
16:0	18,85±0,53 ^a	17,90±0,34 ^a	17,92±0,53 ^a	18,34±0,25 ^a	14,99±0,41 ^b	15,45±0,26 ^b	G
17:0	0,18±0,02	0,19±0,01	0,17±0,01	0,21±0,02	0,20±0,02	0,22±0,01	t
18:0	1,63±0,10 ^a	1,88±0,06 ^{ab}	1,59±0,02 ^a	2,12±0,13 ^b	1,87±0,12 ^{ab}	2,29±0,14 ^b	G,t
20:0	1,63±0,10 ^{ab}	1,88±0,06 ^{ab}	1,59±0,02 ^{ab}	2,12±0,13 ^a	1,87±0,12 ^{ab}	2,29±0,14 ^b	G
c9-14:1	0,09±0,01 ^a	0,06±0,01 ^a	0,10±0,02 ^a	0,00±0,00 ^b	0,06±0,01 ^{ab}	0,06±0,01 ^a	t,Gxt
c9-16:1	5,96±0,35 ^a	5,79±0,38 ^a	4,76±0,12 ^{ab}	4,87±0,38 ^{ab}	3,59±0,30 ^b	3,81±0,23 ^b	G
AO	44,96±1,64 ^a	43,64±0,87 ^a	31,39±0,68 ^b	31,68±0,55 ^b	47,48±1,49 ^a	44,30±0,37 ^a	G
c11-18:1	3,50±0,30 ^{ab}	3,75±0,11 ^a	1,62±0,06 ^e	2,23±0,11 ^{de}	2,60±0,07 ^{cd}	3,06±0,07 ^{bc}	G,t
Σ(t6-t8)-18:1	0,00±0,00 ^a	0,55±0,04 ^b	0,00±0,00 ^a	0,52±0,09 ^b	0,00±0,00 ^a	0,45±0,03 ^b	t
AE	0,00±0,00 ^a	1,17±0,09 ^b	0,00±0,00 ^a	0,93±0,15 ^b	0,00±0,00 ^a	1,14±0,12 ^b	t
t10-18:1	0,00±0,00 ^a	1,15±0,04 ^b	0,00±0,00 ^a	1,05±0,16 ^b	0,00±0,00 ^a	1,18±0,09 ^b	t
AV	0,00±0,00 ^a	0,52±0,05 ^b	0,00±0,00 ^a	0,64±0,13 ^b	0,00±0,00 ^a	0,69±0,03 ^b	t
c11-20:1	3,50±0,30 ^a	3,75±0,11 ^{bc}	1,62±0,06 ^{ad}	2,23±0,11 ^d	2,60±0,07 ^{bc}	3,06±0,07 ^c	G
AL	19,36±1,14 ^a	16,34±0,28 ^d	37,18±0,38 ^c	30,44±0,64 ^b	21,19±0,86 ^a	18,36±0,34 ^{ad}	G,t,Gxt
AR	0,00±0,00 ^a	0,66±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,57±0,04 ^b	0,00±0,00 ^a	0,63±0,04 ^b	t
t9,t12-18:2	0,00±0,00 ^a	0,34±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,29±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,32±0,05 ^b	t
GLA	0,09±0,01 ^{ab}	0,06±0,00 ^d	0,14±0,01 ^c	0,10±0,01 ^b	0,07±0,01 ^{ad}	0,07±0,01 ^{ad}	G,t,Gxt
ALA	1,03±0,12 ^a	0,62±0,05 ^a	0,98±0,14 ^a	0,79±0,05 ^a	3,57±0,17 ^b	2,30±0,21 ^c	G,t,Gxt
c11,c14-20:2	0,09±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	0,19±0,01 ^c	0,14±0,01 ^{bc}	0,13±0,02 ^{ab}	0,11±0,01 ^{ab}	G,t
DGLA	0,10±0,01 ^{ab}	0,04±0,01 ^a	0,21±0,02 ^c	0,11±0,01 ^b	0,09±0,01 ^{ab}	0,06±0,01 ^{ab}	G,t
AA	0,18±0,01 ^a	0,11±0,02 ^a	0,38±0,07 ^b	0,15±0,01 ^a	0,11±0,01 ^a	0,08±0,02 ^a	G,t,Gxt
ΣAGt	0,00±0,00 ^a	4,42±0,18 ^b	0,00±0,00 ^a	4,12±0,65 ^b	0,00±0,00 ^a	4,54±0,36 ^b	t
ΣAGS	22,03±0,50 ^a	21,23±0,35 ^{ab}	20,98±0,57 ^{ab}	21,97±0,24 ^a	18,59±0,64 ^c	19,26±0,34 ^{bc}	G
ΣMUFA	54,91±2,11 ^a	54,05±0,69 ^a	38,53±0,74 ^b	39,40±0,99 ^b	54,61±1,45 ^a	52,20±0,30 ^a	G
ΣPUFA	21,09±2,19 ^{ab}	17,26±0,35 ^a	39,07±0,53 ^d	31,76±0,72 ^c	25,10±0,83 ^b	20,96±0,17 ^{ab}	G,t
NI	1,51±0,07	2,39±0,15	1,18±0,05	2,21±0,09	1,33±0,05	2,42±0,08	

NI=Σ ácidos grasos no identificados. ΣAGt= sumatoria de ácidos grasos trans. ΣAGS= sumatoria de ácidos grasos saturados. ΣMUFA: sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados cis. ΣPUFA= sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados cis. AO= ácido oleico. AE= ácido eláidico. AV= ácido vaccénico. AL= ácido linoleico. AR= ácido ruménico. GLA= ácido γ -linolénico. ALA= ácido α -linolénico. DGLA= ácido dihomo- γ -linolénico. AA= ácido araquidónico. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA seguido del test de Tukey (G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

Tabla 12: Perfil de ácidos grasos en músculo gastrocnemio

Ácidos grasos	O	Ot	M	Mt	C	Ct	2x3 ANOVA
14:0	1,15±0,06 ^{ab}	1,17±0,11 ^{ab}	1,37±0,04 ^b	0,89±0,05 ^a	1,03±0,16 ^{ab}	1,42±0,16 ^b	Gxt
15:0	0,12±0,01 ^{ab}	0,11±0,01 ^a	0,16±0,01 ^b	0,14±0,01 ^{ab}	0,15±0,01 ^b	0,15±0,02 ^{ab}	G,t
16:0	20,75±0,14 ^{ac}	21,79±0,42 ^c	20,22±0,25 ^a	20,43±0,40 ^a	18,10±0,10 ^b	21,18±0,37 ^{ac}	G,t,Gxt
17:0	0,13±0,01	0,13±0,01	0,16±0,02	0,16±0,01	0,13±0,01	0,14±0,01	G
18:0	4,44±0,16	5,14±0,36	4,96±0,49	5,65±0,38	4,82±0,40	5,09±0,35	t
c9-16:1	8,20±0,31 ^{ab}	9,64±0,55 ^a	6,69±0,47 ^b	6,37±0,36 ^b	6,06±0,63 ^b	8,58±1,20 ^{ab}	G,t
AO	28,43±0,50 ^{ab}	23,26±0,92 ^d	21,61±0,90 ^{cd}	18,63±1,15 ^c	30,92±1,18 ^b	24,46±0,69 ^{ad}	G,t
c11-18:1	5,68±0,16 ^a	5,21±0,19 ^{ad}	3,44±0,00 ^b	3,51±0,11 ^b	4,76±0,05 ^{cd}	4,43±0,10 ^c	G,t
Σ(t6-t8)-18:1	0,00±0,00 ^a	0,32±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,28±0,07 ^b	0,00±0,00 ^a	0,31±0,06 ^b	t
AE	0,00±0,00 ^a	0,79±0,05 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	0,81±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,66±0,02 ^c	G,t,Gxt
t10-18:1	0,00±0,00 ^a	0,47±0,04 ^b	0,00±0,00 ^a	0,55±0,06 ^b	0,00±0,00 ^a	0,41±0,08 ^b	t
AV	0,00±0,00 ^a	0,27±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,48±0,09 ^c	0,00±0,00 ^a	0,29±0,04 ^{bc}	t
c11-20:1	0,51±0,01 ^a	0,39±0,03 ^b	0,50±0,02 ^a	0,37±0,03 ^b	0,64±0,00 ^b	0,45±0,01 ^{ab}	G,t
AL	12,17±0,02 ^a	10,66±0,42 ^a	22,57±1,31 ^b	17,76±1,06 ^c	13,21±0,37 ^a	10,47±0,33 ^a	G,t
t9,t12-18:1	0,00±0,00 ^a	0,18±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,17±0,02 ^b	0,00±0,00 ^a	0,18±0,01 ^b	t
AR	0,00±0,00 ^a	0,46±0,03 ^b	0,00±0,00 ^a	0,45±0,04 ^b	0,00±0,00 ^a	0,45±0,03 ^b	t
GLA	0,09±0,01 ^{ab}	0,09±0,01 ^{ab}	0,12±0,01 ^b	0,10±0,01 ^{ab}	0,08±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	G
ALA	0,26±0,01 ^a	0,23±0,02 ^a	0,34±0,03 ^a	0,30±0,03 ^a	1,43±0,11 ^b	1,03±0,06 ^c	G,t,Gxt
c11,c14-20:2	0,14±0,01 ^{ab}	0,16±0,01 ^b	0,32±0,02 ^c	0,28±0,01 ^c	0,15±0,01 ^b	0,08±0,01 ^a	G,t,Gxt
DGLA	0,63±0,04 ^{ab}	0,82±0,08 ^b	0,49±0,03 ^a	0,68±0,06 ^{ab}	0,54±0,05 ^a	0,57±0,03 ^a	G,t
AA	6,17±0,17 ^{ab}	6,29±0,46 ^{ab}	6,07±0,64 ^{abc}	7,66±0,65 ^b	3,98±0,47 ^c	4,49±0,34 ^{ac}	G
EPA	0,02±0,01 ^a	0,08±0,01 ^b	0,02±0,01 ^a	0,02±0,01 ^a	0,18±0,02 ^c	0,20±0,01 ^c	G,t,Gxt
DHA	6,76±0,19 ^{ab}	7,46±0,53 ^{ab}	6,13±0,69 ^a	7,98±0,62 ^{ab}	9,92±1,44 ^b	10,07±1,12 ^b	G
ΣAGt	0,00±0,00 ^a	2,04±0,09 ^{bc}	0,00±0,00 ^a	2,28±0,13 ^b	0,00±0,00 ^a	1,85±0,08 ^c	G,t,Gxt
ΣAGS	26,60±0,36 ^a	28,34±0,61 ^a	26,87±0,80 ^a	27,27±0,74 ^a	24,24±0,14 ^b	27,97±0,17 ^a	G,t,Gxt
ΣMUFA	42,81±0,96 ^a	38,51±1,42 ^a	32,24±1,39 ^{ab}	28,88±1,01 ^c	42,38±1,86 ^a	37,92±1,61 ^{ab}	G,t
ΣPUFA	26,23±0,34 ^a	25,78±1,30 ^a	36,05±0,04 ^b	34,78±0,26 ^b	29,48±1,51 ^a	27,00±1,60 ^a	G
NI	3,31±0,19	3,99±0,36	3,71±0,41	5,16±0,22	3,61±0,26	3,75±0,19	

NI=Σ ácidos grasos no identificados. ΣAGt= sumatoria de ácidos grasos trans. ΣAGS= sumatoria de ácidos grasos saturados. ΣMUFA: sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados cis. ΣPUFA= sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados cis. AO= ácido oleico. AE= ácido eláidico. AV= ácido vaccénico. AL= ácido linoleico. AR= ácido ruménico. GLA= ácido γ -linolénico. ALA= ácido α -linolénico. DGLA= ácido dihomo- γ -linolénico. AA= ácido araquidónico. EPA= ácido eicosapentaenoico. DHA= ácido docosahexaenoico. O= Oliva, Ot= Oliva+AGt, M= Maíz, Mt= Maíz+AGt, C= Canola, Ct= Canola+AGt. Valores expresados como media \pm SEM de 6 animales por grupo. Análisis estadístico: 2x3 ANOVA seguido del test de Tukey (G= $p < 0,05$ para el efecto de la grasa dietaria; t= $p < 0,05$ para el efecto de la adición de AGt; Gxt= $p < 0,05$ para el efecto de la interacción de las dos variables). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,05$).

Discusión

DISCUSIÓN

El presente trabajo de tesis tuvo como objetivo evaluar el efecto diferencial de la ingesta de AGt el cual sustituyó parcialmente distintas grasas conteniendo proporciones variables de AGI de las familias n-9, n-6 y n-3 sobre aspectos nutricionales y del metabolismo de lípidos en animales de experimentación. Para evaluar parámetros nutricionales se realizaron estudios de ganancia de peso, eficiencia energética de las dietas, composición corporal y retención energética corporal. En referencia al metabolismo lipídico, se focalizó en la incorporación de AG en diferentes tejidos, específicamente retención de AGt, perfiles de lípidos tisulares y plasmáticos, mecanismos de regulación y movilización de TG en tejidos y, además, se evaluaron actividades de enzimas reguladoras de la síntesis y oxidación de AG, como así también, la expresión de dichas enzimas y los factores de transcripción que regulan su expresión.

1. MODELO EXPERIMENTAL

Este trabajo de tesis se desarrolló en un modelo experimental animal empleando ratones CF1 macho, los cuales han mostrado ser sensibles a alteraciones producidas por la ingesta de isómeros de AG, fundamentalmente a nivel del metabolismo lipídico hepático. Si bien esta susceptibilidad a los isómeros de AG ha sido demostrada principalmente frente al consumo de CLA (Kim y col., 2002; Terpstra, 2001), esta tesis fue planificada como la continuación de un trabajo de investigación iniciado en nuestro grupo, donde se evaluaron los efectos de un aceite rico en una mezcla equimolecular de CLA (AR + *t*10,*c*12-18:2), y un aceite rico en AR sobre dietas conteniendo aceites con diferente perfil de AGI (Scalerandi y col., 2014; Scalerandi y col., 2013). En este sentido, este trabajo nos permitió continuar con el estudio de los efectos diferenciales de los isómeros *trans* de AG en dietas conteniendo distintos tipos de aceites. La elección de animales macho se sustenta en la necesidad de reducir el número de variables introducidas en el diseño experimental, dado que es ampliamente conocido que las hormonas sexuales tienen diferentes efectos sobre el metabolismo lipídico. El tratamiento dietario se realizó en animales en crecimiento, para evaluar los potenciales cambios nutricionales que podrían afectar el desarrollo de los mismos, como asimismo, para investigar el efecto sobre las potenciales alteraciones lipídicas en una etapa con elevada tasa de recambio metabólico en la cual los isómeros son altamente incorporados y metabolizados en los tejidos y podrían, además, generar profundas alteraciones que condicionan el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles. Con respecto a la fuente de grasa dietaria utilizada para la elaboración de

las dietas se eligieron aceites que contienen diferentes proporciones de AGI de las familias n-3, n-6 y n-9 que se encuentran disponibles para el consumo humano: aceite de oliva, rico en AO; aceite de maíz, rico en AL y aceite de canola, rico en ALA. Los mismos se emplearon a niveles de grasa recomendados por el Comité *ad hoc* del “*American Institute of Nutrition*” para roedores en crecimiento, AIN-93G (Reeves y col., 1993). Además, como fuente de AGt se eligió una grasa vegetal parcialmente hidrogenada, utilizada en la elaboración de alimentos para consumo humano. Dicha grasa contiene principalmente AE, AV y t10-18:1 y cantidades menores de otros AGt. Numerosos trabajos evaluaron los efectos diferenciales de grasas enriquecidas con alguno de estos isómeros *trans* (Du y col., 2010; Faulconnier y col., 2006; Field y col., 2009; Lovejoy y col., 2002; Meijer y col., 2001; Roy y col., 2007; Shao y col., 2014; Wang y col., 2008), sin embargo, consumidos en cantidades equivalentes, tal como se presentan en la grasa vegetal parcialmente hidrogenada, pueden tener efectos diferentes dependiendo de la relación entre los isómeros presentes (Tyburczy y col., 2009). El contenido de AGt elegido fue compatible con niveles alcanzables por poblaciones que consumen dietas ricas en AGt. Para esto, parte del aceite experimental fue reemplazado por la grasa vegetal parcialmente hidrogenada, por lo que el efecto de las dietas conteniendo AGt será considerado como consecuencia de la sustitución parcial con AGt.

Al menos a nuestro conocimiento, no existen trabajos que hayan aportado al estudio de la interacción de AGt con aceites ricos en diferentes proporciones de AGI n-3, n-6 y n-9. En relación a esto, dado que la mayoría de los estudios evaluaron efectos de AG individuales, en particular o determinados tipos de aceites y, que en la dieta habitual de un individuo, se produce la interacción de diferentes factores, entre ellos diferentes grasas dietarias con contenidos variables de AGI, en este estudio se procuró, en cierto grado, reproducir condiciones que acontecen a nivel de consumo poblacional.

2. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS NUTRICIONALES

A partir de los resultados obtenidos, que no muestran diferencias en la ingesta de alimentos, y por lo tanto, en la energía consumida, ni en la absorción aparente de grasa dietaria, podemos inferir que los animales de los diferentes grupos aceptaron, todas las dietas experimentales suministradas de igual manera. Sin embargo, los distintos tipos de aceites utilizados mostraron un efecto diferencial sobre los parámetros nutricionales estudiados. Así, los ratones alimentados con la dieta C mostraron una mayor ganancia de peso corporal, la cual estuvo asociada a un aumento en la eficiencia y retención energética total, a expensas de una elevada retención de grasa corporal al compararlos con los animales que recibieron la dieta O y M. Este comportamiento estuvo acompañado de un

incremento en el porcentaje de grasa de la carcasa. Si bien este resultado puede resultar inesperado, corrobora información publicada previamente en un trabajo llevado a cabo en nuestro laboratorio (Scalerandi y col., 2014). Un análisis integral realizado por Lorente-Cebrian y col. (2013), agrupa numerosas publicaciones que demuestran que los PUFA de la familia n-3 reducen la adiposidad y el peso corporal en humanos, tanto en adultos saludables como en adultos con sobrepeso, pero la mayoría de estos efectos son atribuidos a dietas conteniendo cantidades significativas de los derivados de cadena larga de la familia n-3, EPA y DHA. Sin embargo, si bien existen trabajos que demuestran que aceites ricos en ALA tienden a disminuir el peso corporal y los depósitos de grasa en ratones hembra de la cepa C57BL/6J (Ikemoto y col., 1996), otros reportan que, al comparar frente al consumo de AL, el ALA no modifica los depósitos de grasa en ratones macho BALB/cAnN Cr1 (Javadi y col., 2004). En concordancia con nuestros resultados, Soares da Costa y col. (2012), en ratas Wistar alimentadas con aceite de canola, observaron un incremento de la masa corporal alrededor del día 35 del tratamiento dietario. Asimismo, en un trabajo realizado en ratones, el aceite de canola incrementó el tamaño de los depósitos grasos, frente a dietas conteniendo aceite de pescado, rico en DHA+EPA (Sealls y col., 2008).

Con respecto a los resultados obtenidos en este trabajo, no se observaron cambios en la ganancia de peso corporal en los animales alimentados con las dietas Ot, Mt y Ct, respecto a sus controles y, si bien, el grupo Ct mostró una tendencia a disminuir la ganancia total respecto al grupo C, ésta no alcanzó a ser significativa. Asimismo, la retención energética de grasa tendió a disminuir en los grupos que consumieron AGt, sin embargo, sólo alcanzó significancia estadística frente al grupo C, el cual presentó inicialmente un aumento en este parámetro. Esto podría parcialmente relacionarse con la cantidad de AR presente en los tejidos de estos animales y, más aún, a una conjunción de efectos entre estos dos isómeros. En concordancia con estos resultados, ha sido demostrado que, cuando el AV es adicionado a dietas conteniendo AR, en ratas obesas se observa una reducción de los depósitos grasos, que no es advertida en el grupo que sólo había consumido AR (Jacome-Sosa y col., 2010). En relación a esto, ha sido ampliamente demostrado que los CLA reducen la adiposidad, y, si bien, este efecto ha sido atribuido principalmente al isómero *t10,c12-18:2* en ratones (Clement y col., 2002; Park y col., 1999), algunos trabajos han encontrado un efecto antiadipogénico del AR, el cual no sería tan acentuado para este isómero como para el *t10,c12-18:2* (Akahoshi y col., 2003). Estos cambios en la retención energética de grasas y, por lo tanto, en la eficiencia energética, estuvieron acompañados del mismo efecto en la composición corporal, sin embargo, a pesar de estas modificaciones, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso de

los tejidos por el consumo de los diferentes tipos de aceites ni por la sustitución parcial con AGt a las dietas.

3. RETENCIÓN DE ISÓMEROS EN TEJIDOS Y SUERO

Los efectos demostrados para los isómeros de AG, dependen en gran medida de su incorporación y retención en cada tejido. Así, es importante mencionar que los niveles de AGt en un tejido particular podrían estar relacionados a diferentes variables, incluyendo: 1) tipo y nivel de isómero dietario, 2) captación, metabolización y liberación desde el tejido, 3) interferencia con diferentes AG dietarios, y 4) otros factores inherentes al diseño experimental, como especie, sexo, edad, estado fisiológico. Es por esto, que la evaluación de la retención de los distintos isómeros *trans* aportados por la grasa vegetal parcialmente hidrogenada, adquiere relevancia para poder relacionar los efectos hallados en los distintos parámetros con la presencia de AGt dentro del tejido. Todos los isómeros *t*-18:1 suministrados con la dieta fueron incorporados y retenidos en hígado, músculo gastrocnemio, TAE y suero. Sin embargo, el porcentaje de retención fue altamente dependiente del tejido y tipo de isómero por lo que estas diferencias serán discutidas cuando se considere el metabolismo de cada tejido.

4. CONTENIDO DE LÍPIDOS EN SUERO

El perfil de AG, determinado en el suero de los animales en condiciones alimentadas, refleja la contribución de los AG provenientes de los lípidos dietarios y los resultantes de la metabolización de lipoproteínas a nivel de diferentes tejidos. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que el perfil de AG circulantes refleja más el patrón de consumo de dichos AG que aquellos derivados de la metabolización tisular. Esto podría relacionarse, con el comportamiento observado en los lípidos circulantes, donde los niveles de TG séricos mostraron, sorprendentemente, niveles más elevados en los animales alimentados con aceite de canola. En principio, estos resultados no parecieran estar en concordancia con el efecto hipolipidémico asociado a los AG de la familia n-3. No obstante, es importante destacar que este reconocido efecto ha sido atribuido fundamentalmente al consumo de sus derivados LC-PUFA: EPA y DHA (Connor y col., 1997; Ruiz-Gutierrez y col., 1999; Sealls y col., 2008; Takeuchi y col., 2001) y no a sus precursores. En relación al efecto diferencial de los AG de la familia n-3 sobre los TG plasmáticos, Sealls y col. (2008) observaron que ratones macho alimentados con aceite de canola presentaron niveles de TG séricos más elevados que aquellos alimentados con una dieta conteniendo aceite de pescado. En este trabajo, los autores argumentan que, si bien, a partir del ALA presente en el aceite de canola se producen EPA y DHA, estos LC-PUFA

sintetizados “*de novo*” no tendrían el mismo efecto sobre los lípidos séricos y hepáticos que aquellos provenientes de la dieta. De manera semejante, Takeuchi y col. (2001) demostraron que una dieta al 20% de aceite de sardina redujo la concentración TG séricos en ratas macho Wistar, respecto a una dieta con aceite de linaza (rico en ALA), reafirmando el concepto planteado anteriormente. No obstante, en este mismo trabajo los autores muestran que el consumo de aceite de linaza resultó en menores niveles de TG circulantes que en los animales que consumieron la dieta conteniendo aceite de oliva. Así, si bien estos resultados se contraponen a los obtenidos en la presente tesis para los animales alimentados con las dietas C versus O es importante mencionar que, además del diferente contenido de grasa dietaria, el aceite de linaza posee una proporción de AO/AL/ALA muy diferente al de canola (1,00/0,92/3,30 vs 1,00/0,3/0,17), lo que permite esperar una conversión a EPA y DHA más acentuada en los animales alimentados con aceite de linaza, alcanzando así efectos más beneficiosos que con el aceite de canola.

Con respecto a la sustitución parcial con AGt a las dietas experimentales, no se encontraron alteraciones en los niveles de TG, ni de colesterol total circulantes. En relación a estos parámetros, existen numerosos estudios, tanto en humanos como en animales de experimentación, que evaluaron el efecto de dietas conteniendo AGt sobre el perfil de lípidos circulantes. Entre ellos, en estudios previos de nuestro grupo de investigación, hallamos que ratas alimentadas con altos niveles de grasa dietaria isomerizada rica en AGt, presentaron elevados niveles de TG circulantes (Bernal y col., 2006; Colandre y col., 2003). Estas diferencias encontradas, aún entre resultados en nuestro grupo, pueden ser atribuidas a la diferente composición de las grasas ricas en AGt. Específicamente, la grasa isomerizada antes empleada, contenía mayor proporción de AE, en comparación a la grasa vegetal parcialmente hidrogenada utilizada en estas experiencias, la cual posee cantidades equivalentes de tres isómeros *t*-18:1. No obstante, otras variables pueden estar presentes, dado que un estudio comparativo entre los efectos de una grasa vegetal parcialmente hidrogenada y dietas ricas en AE o AV en hamster, no mostraron alteraciones en el perfil de TG circulantes respecto a la dieta control (Tyburczy y col., 2009).

Existen trabajos que muestran que, en comparación con dietas ricas en AGI, las grasas saturadas inducen alteraciones en los niveles de colesterol sérico (Keys, 1965). En este sentido, ha sido demostrado que el AL y el AO disminuyen el colesterol cuando se utilizan para reemplazar AGS de la dieta (Hegsted y col., 1993; Hegsted y col., 1965). De manera similar, el efecto hipocolesterolémico demostrado para el aceite de canola se observa cuando se lo compara respecto al consumo de grasa de cerdo con alto contenido de AGS y colesterol (Sealls y col., 2008). Si bien, no todas las grasas insaturadas ni las saturadas

poseen el mismo efecto, los tres aceites experimentales empleados en el presente trabajo no ejercieron ningún efecto diferencial sobre los niveles de colesterol circulantes. A diferencia de esto, otros investigadores encontraron que el aceite de oliva indujo un incremento en los niveles de colesterol sérico en comparación con una dieta a base de aceite de maíz (Ruiz-Gutierrez y col., 1999). Este estudio, presentó otras variables respecto a nuestro trabajo, como un alto contenido de grasa y de colesterol, por lo que es apropiado destacar que las dietas no son totalmente comparables.

En forma semejante a los diferentes AGI, los AGt no mostraron efectos sobre la colesterolemia. Falta de efectos también han sido demostrados por otros investigadores en animales de experimentación (Colandre y col., 2003; Meijer y col., 2001; Nicolosi y col., 1998), y contrastan con numerosas evidencias en humanos (de Roos y col., 2001; Judd y col., 1994; Lichtenstein y col., 1999; Mensink y col., 1990). Es muy importante resaltar que los efectos hallados en ratas y en ratones no son directamente comparables a los demostrados en humanos u otros modelos experimentales. Específicamente, el ratón no constituye un modelo animal óptimo para el estudio del metabolismo del colesterol, razón por la cual nuestras investigaciones no se focalizaron en estudios sobre este parámetro. No obstante, dada la estrecha relación entre el consumo de AGt y el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular en humanos, fue relevante para esta tesis incluir al menos, la evaluación de este parámetro en el presente modelo experimental. Si bien, no es nuestro objetivo la discusión del efecto del consumo excesivo de AGt sobre el contenido de colesterol sérico en humanos y su potencial impacto sobre el riesgo de las enfermedades cardiovasculares, este tema constituye el principal sustento de las distintas acciones que llevaron a reducir el consumo de AGt y a otros tipos de intervenciones a nivel de salud pública. En este sentido, es importante destacar que estudios llevados a cabo con dietas con alto contenido de AGt no sólo incrementan el colesterol total y LDL, sino que disminuyen el HDL (de Roos y col., 2001; Judd y col., 1994; Lichtenstein y col., 1999; Mensink y col., 1990) y aumentan los niveles de Lipoproteína-a (Judd y col., 1994; Nestel y col., 1992).

Al menos a nuestro conocimiento, es escasa la bibliografía que aporte información sobre las alteraciones producidas por los AGt en el contenido de FL totales circulantes y, los moderados efectos hallados en nuestras experiencias, no estuvieron asociados a los cambios en los demás lípidos séricos. De esta forma, no observamos alteraciones en los niveles de FL totales séricos por el tipo de grasa dietaria, mientras que la sustitución parcial con AGt, disminuyó este parámetro sólo en los animales alimentados con aceite de maíz. Si bien, no centralizamos nuestro objetivo en la regulación de los FL, los resultados hallados podrían relacionarse con la posible localización diferencial de los distintos

isómeros de AGt en las distintas especies de FL, las cuales podrían estar moduladas por el tipo de AG dietario que interacciona con los isómeros. En este sentido, ha sido demostrado que los AGt se incorporan en los FL circulantes (Seppanen-Laakso y col., 1996) y, específicamente, el AE se incorpora más eficientemente en la posición sn-2 de los FL respecto al AV cuando se los suministra juntos en la dieta (Meijer y col., 2001).

5. METABOLISMO Y REGULACIÓN DE LÍPIDOS EN HÍGADO

5.1 RETENCIÓN DE ISÓMEROS EN HÍGADO

El patrón de retención de los AGt individuales en hígado fue diferente a los demás tejidos analizados, siendo el AV el principal isómero *t*-18:1 retenido. Además, los niveles de dicho isómero fueron reducidos, en paralelo a un incremento de AR, por el consumo de aceite de oliva. Estos menores niveles de AV, no estuvieron asociados a una mayor secreción en las VLDL, sino que parecieran estar relacionados a una mayor bioconversión a AR. En este sentido, es importante mencionar que la velocidad de bioconversión depende de numerosos factores como especie (Corl y col., 2001; Santora y col., 2000; Turpeinen y col., 2002), tejido (Lund y col., 2006), condiciones experimentales (Gruffat y col., 2005; Pollard y col., 1980), componentes dietarios (Ntambi, 1992), al tipo de grasa dietaria (Ntambi, 1999), entre otros. Debido a esto, la elevada bioconversión de AV a AR en los ratones alimentados con la dieta Ot respecto a Mt y Ct, podría estar asociada a los bajos niveles de PUFA dietarios en este grupo. En relación a esto, es ampliamente conocido que la enzima $\Delta 9$ -desaturasa hepática es inhibida por altos niveles dietarios de PUFA (Jeffcoat y col., 1978; Ntambi, 1992), específicamente por AA (Ntambi, 1992), el cual es más elevado en los ratones alimentados con aceite de maíz. Con respecto al porcentaje de AR en hígado, los bajos niveles hallados en comparación al músculo gastrocnemio y al TAE podrían estar asociados a una baja bioconversión de AV a AR (Gruffat y col., 2005), y en adición, a una alta proporción de AR en las partículas de VLDL secretadas por el hígado. A pesar de las diferencias en el contenido de AR hepático, el AR secretado por las partículas de VLDL no mostró dependencia por el tipo de grasa dietaria. Además, dado que tampoco se encontraron diferencias en los niveles de éste isómero en los tejidos periféricos, es posible suponer que, tanto la captación extrahepática, como la velocidad de oxidación de AR se encuentran incrementadas por la dieta con aceite de oliva. Esto a su vez, podría estar contribuyendo a los bajos niveles circulantes de AR en los animales alimentados con la dieta Ot.

5.2 CONTENIDO DE LÍPIDOS HEPÁTICOS. ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE ENZIMAS LIPOGÉNICAS Y DE LA B-OXIDACIÓN

Si bien numerosos trabajos han encontrado que la ingesta de diferentes tipos de aceites induce alteraciones en los lípidos hepáticos, en estas experiencias los niveles hepáticos de TG, colesterol y FL no fueron modificados por el consumo de los aceites con diferente proporción de AGI. Algunos autores, en estudios llevados a cabo en roedores, han asociado el consumo de aceite de oliva con un incremento de los TG hepáticos tanto a bajos niveles (Perona y col., 2000; Ruiz-Gutierrez y col., 1999; Ruiz-Gutierrez y col., 2001), como a altos niveles de grasa (Takeuchi y col., 2001). No obstante, este efecto pudo no haber sido asociado al perfil de AG, sino a otros componentes presentes en el aceite de oliva (Ruiz-Gutierrez y col., 1999; Ruiz-Gutierrez y col., 2001). Ferramosca y col. (2008) encontraron que ratones alimentados con aceite de maíz presentaron alteraciones temporales, en los niveles de TG, FL y colesterol hepáticos, que fueron diferentes a las halladas en animales alimentados con aceite de oliva. En este sentido, dichos autores mostraron que los niveles de TG hepáticos de animales alimentados con aceite de maíz incrementaron a las dos semanas de alimentación y posteriormente disminuyeron hasta la semana 8 alcanzando los niveles obtenidos al inicio de la experiencia; mientras que los animales que consumieron aceite de oliva mostraron un sostenido incremento de los TG hepáticos hasta las 8 semanas de experimentación. Los autores proponen un mecanismo posible para estos efectos diferenciales entre el aceite de maíz y oliva. Con respecto al primer caso, el efecto pudo haber estado asociado a una disminución en la actividad del transportador mitocondrial de citrato, el cual es el encargado de movilizar citrato desde la matriz mitocondrial al exterior de la organela para ser utilizado como sustrato en la síntesis *de novo* de AG, y a una disminución de la actividad de las enzimas lipogénicas FAS y ACC, lo que lleva a estabilizar progresivamente los niveles de TG hepáticos. En cambio, el aceite de oliva no modificó la actividad de las enzimas lipogénicas, ni del transportador mitocondrial de citrato, por lo que la síntesis *de novo* de AG no sería la causa de la acumulación de TG en el hígado de estos animales. Con respecto al consumo de aceites ricos en ALA, el trabajo llevado a cabo por Takeuchi y col. (2001), utilizando altos niveles de grasa y aceites con una composición similar a los utilizados en el presente trabajo -aceite de oliva, girasol (rico en AL) y lino (rico en ALA)- hallaron niveles similares de TG en hígado entre los aceites de girasol y lino, lo cual concuerda con nuestros resultados. Sin embargo, los autores hallaron que el consumo de aceite de oliva indujo un incremento en este parámetro y asocian este efecto diferencial de los aceites con las alteraciones observadas en la actividad de las enzimas lipogénicas. Otros trabajos utilizando aceite de

canola como fuente de grasa, muestran que los niveles de TG hepáticos serían similares a los observados para una dieta rica en AGS, pero mayores a los hallados en aquellos animales alimentados con aceite de pescado (Sealls y col., 2008). Estas diferencias también estarían acompañadas por alteraciones producidas en la expresión de enzimas y factores de transcripción asociados a la lipogénesis. Al menos a nuestro conocimiento, no existen trabajos que estudien el efecto de los tres aceites utilizados en este trabajo de tesis sobre la composición de lípidos hepáticos. Y, si bien, esta última comparación no puede relacionarse directamente con los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos inferir que la ausencia de cambios en los niveles de TG hepáticos podría ser debida a que no existieron alteraciones ni en la expresión, ni en la actividad de las enzimas lipogénicas en los animales alimentados con las dietas O, M y C.

En forma ciertamente semejante a nuestro estudio, el trabajo de Ferramosca y col. (2008) muestra que los niveles de colesterol hepático no presentaron diferencias entre las dietas ricas en aceite de maíz y oliva, mientras que a elevados niveles de grasa (20%, p/p) animales alimentados con aceite de oliva presentaron mayores niveles de colesterol en hígado que aquellos alimentados con aceite de girasol (rico en AL) o de lino (rico en ALA) (Takeuchi y col., 2001). Otros estudios (Perona y col., 2000; Ruiz-Gutierrez y col., 1999; Ruiz-Gutierrez y col., 2001) mostraron resultados muy diferentes en función del grupo control con el cual se lo comparó. Respecto a los niveles de FL totales, al igual que nuestros hallazgos, Takeuchi y col. (2001) no encontraron cambios significativos entre animales alimentados con dietas ricas en AO, AL y ALA, mientras que Ferramosca y col. (2008), encontraron mayores niveles de FL en animales con dietas ricas en aceite de oliva vs aceite de maíz.

Numerosos trabajos han asociado a los AGt con un incremento en el contenido lipídico en hígado a expensas de un aumento en los niveles de TG, más que a un aumento del colesterol (Bernal y col., 2006; Colandre y col., 2003; de Roos y col., 2001; Meijer y col., 2001). En el presente estudio, la sustitución parcial con AGt a las dietas experimentales presentó alteraciones en el perfil de lípidos hepáticos que fueron dependientes del tipo de grasa dietaria. Específicamente, los animales alimentados con las dietas Ot presentaron una acumulación de lípidos hepáticos que estuvo asociada a un aumento en los niveles de TG y colesterol respecto al grupo control; mientras que los alimentados con la dieta Ct presentaron sólo un incremento en los TG hepáticos. Este efecto de los AGt no fue observado en los animales que consumieron la dieta conteniendo aceite de maíz, donde no se observó ninguna modificación en el contenido lipídico del hígado. En contraposición a esto, numerosos trabajos han utilizado el aceite de maíz como fuente de grasa para la elaboración de las dietas control observando incrementos en los niveles de TG hepáticos al

agregar AGt (Bernal y col., 2006; Colandre y col., 2003; Dorfman y col., 2009; Giudetti y col., 2003). Esta discrepancia observada en comparación a nuestros resultados, puede ser explicada por variaciones en el diseño experimental, como diferentes niveles de grasa dietaria (7, 10, 12, 20%), alto contenido y tipo de AGt en las dietas, entre otras variables. El efecto diferencial inducido por los AGt en los animales alimentados con aceites de oliva y canola en relación a los lípidos hepáticos, podemos asociarlo a un desbalance entre la lipogénesis y la β -oxidación. En este sentido, en el grupo Mt las modificaciones inducidas por la presencia de AGt dietarios sobre la actividad y expresión de las enzimas tanto lipogénicas, como de la β -oxidación de AG y sus respectivos factores de transcripción no llevan a cambios en el perfil lipídico de estos animales. Algunos autores han demostrado que los AGt inducen una disminución en la actividad CPT-Ia, enzima clave en la regulación de la oxidación mitocondrial de los AG (Giudetti y col., 2003). En el presente trabajo de tesis, este efecto negativo de los AGt sobre la actividad CPT-Ia se observa sólo en los animales que consumieron la dieta Ct, lo que podría relacionarse con la acumulación de TG hepáticos observada. En adición a esto, y basándonos en los resultados obtenidos, podría inferirse que el efecto de los AGt sobre la enzima CPT-Ia en hígado se da a nivel transcripcional. Ha sido demostrado que los AGI de la familia n-3 pueden modificar la activación de los PPARs, factores de transcripción asociados a la regulación de la expresión de las enzimas relacionadas a la β -oxidación de AG. Un trabajo llevado a cabo por Pawar y col. (2003) demuestra que, si bien el ALA tiene un efecto más débil que sus derivados de cadena larga, puede activar estos factores de transcripción. En el presente trabajo, la expresión del PPAR- α , que si bien por la elevada dispersión en sus valores no fue estadísticamente significativa, mostró un incremento en el hígado de los animales del grupo C; lo que podría relacionarse al aumento en la expresión y actividad de la enzima CPT-Ia en este grupo. La sustitución parcial con AGt a la dieta con aceite de canola produjo una disminución en la expresión del PPAR- α , y en la expresión y actividad de la CPT-Ia, lo que podría explicar, al menos en parte, la acumulación de TG en los animales del grupo Ct en comparación al grupo C.

Por otro lado, los animales alimentados con la dieta Ot mostraron un marcado incremento de los TG y colesterol hepático, pero los mecanismos involucrados en dichas alteraciones parecieran ser muy diferentes al efecto encontrado en el aceite de canola. Esto se fundamenta en que los animales del grupo Ot no mostraron alteraciones en la expresión, ni en la actividad de la CPT-Ia a nivel hepático, lo que indicaría una β -oxidación mitocondrial normal. No obstante, este grupo presentó un marcado aumento de la actividad de las enzimas lipogénicas FAS, ACC, G6PDH y EM, paralelo a cambios en la expresión de las enzimas. Además, estas alteraciones indicarían que el incremento en la

actividad de las enzimas es regulado a nivel transcripcional. En adición, se determinaron los niveles de SREBP-1a y SREBP-1c, los cuales son factores de transcripción involucrados en el control de la lipogénesis (Horton y col., 1999), observándose que el SREBP-1a, pero no el SREBP-1c, fue incrementado significativamente por la suplementación con AGt en la dieta con aceite de oliva (Sain y col., 2013). La razón de este efecto diferencial de los AGt en las diferentes dietas es desconocida. Sin embargo, en hígado de roedores, el SREBP-1a se expresa a niveles mucho menores que el SREBP-1c (Shimomura y col., 1997) por lo que se podría pensar que SREBP-1c es predominante en el control de la síntesis de AG. En adición a esto, ha sido indicado que SREBP-1c es un activador mucho más débil que SREBP-1a (Shimano y col., 1996), y ha sido observado que el incremento de los TG hepáticos en ratones que sobreexpresan SREBP-1a es mucho mayor que en ratones que sobreexpresan SREBP-1c (Horton y col., 2002). Teniendo en cuenta estos trabajos, se podría proponer que el incremento de la expresión de SREBP-1a inducido por la suplementación con AGt a una dieta a base de aceite de oliva, llevaría a una incrementada actividad de las enzimas lipogénicas, y esto explicaría, al menos en parte, la acumulación de TG inducida en hígado en este grupo (Sain y col., 2013).

El incremento de la expresión del SREBP-1a podría ser el causante no sólo de la mayor lipogénesis hepática observada en Ot, sino que también podría explicar el aumento de los niveles de colesterol en dicho grupo respecto a O, ya que esta proteína, además de estar involucrada en la expresión de genes involucrados en la síntesis de AG, también participa en la transcripción de genes relacionados a la síntesis de colesterol (Horton y col., 1999). Ha sido demostrado que ratones que sobreexpresan el SREBP-1a presentaron una marcada lipogénesis hepática con elevados niveles, tanto de TG, como de colesterol (Shimano y col., 1996). Es importante destacar que estudios de sobreexpresión indican que el SREBP-2 es el principal factor de transcripción involucrado en la activación de genes que participan en la síntesis de colesterol (Horton y col., 2002). No obstante, dado que los niveles de ARNm de esta proteína no fueron cuantificados en el presente trabajo, no podemos inferir sobre su relación con el efecto de los AGt sobre el colesterol hepático.

5.3 BIOSÍNTESIS DE LC-PUFA EN HÍGADO. INDICES DE LAS ENZIMAS DESATURASAS

El contenido hepático de AO, AL y ALA, y de sus derivados LC-PUFA, guardó una relación directa con los niveles dietarios de las respectivas familias de AGI. El flujo a través de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa, o índice $\Delta 9$ -desaturasa, estimado a través de las relaciones producto/sustrato: $c9-16:1/16:0$ y $c9-18:1/18:0$, fue modificada en función del tipo de grasa dietaria y de la presencia de AGt. Si bien las mismas también se relacionan con la incorporación de los AG dietarios, claramente observamos que animales alimentados con

aceite de oliva, tanto en presencia, como en ausencia de AGt, mostraron un mayor flujo a través de dicha enzima, indicando una mayor actividad $\Delta 9$ -desaturasa. Estos resultados están relacionados a la mayor capacidad de síntesis *de novo* de AG observada a través de las actividades de enzimas lipogénicas y concuerdan también con otros autores quienes reportaron una exacerbada biosíntesis *de novo* por el consumo de aceite de oliva (Ferramosca y col., 2008; Hurtado de Catalfo y col., 2013; Ntambi, 1999). Sin embargo, en nuestros resultados sólo la presencia de AGt dietarios en los animales alimentados con aceite de oliva resultó en una acumulación de TG en el hígado. Así, el mayor contenido de TG hepáticos en el grupo Ot puede relacionarse, no sólo a una mayor expresión y actividad de las enzimas lipogénicas evaluadas, sino también a una mayor biosíntesis *de novo* de AG reflejada por un mayor flujo de sustratos a través de la $\Delta 9$ -desaturasa hepática. Además, este incrementado índice $\Delta 9$ -desaturasa, como ha sido discutido previamente, sería el responsable de la mayor bioconversión de AV a AR en el hígado de los animales alimentados con aceite de oliva.

Como fuera demostrado por otros investigadores (Hurtado de Catalfo y col., 2013), cuando distintas fuentes de AG son proporcionados a animales de experimentación, un comportamiento diferente ha sido observado en las relaciones que reflejan la biosíntesis de LC-PUFA. Como era de esperar, en nuestras experiencias, el aceite de oliva presentó un mayor flujo a través de las vías de biosíntesis de LC-PUFA de las familias n-3 y n-6, lo cual estuvo reflejado por las relaciones AA/AL y DHA/ALA. Sin embargo, estos cambios no estuvieron relacionados con los flujos parciales a través de la $\Delta 6$ - y $\Delta 5$ -desaturasas. Si bien, Hurtado de Catalfo y col. (2013) observaron una mayor biosíntesis de LC-PUFA n-3 y n-6 en animales alimentados con aceite de oliva, ellos lo relacionan a una mayor actividad de las enzimas involucradas en esta vía, inducida por altos niveles de AO.

Con respecto a los AG de la familia n-6, el agregado de AGt a las dietas no modificó el contenido total hepático de AA, independientemente de la fuente de grasa dietaria. Ha sido demostrado que los AGt inhiben la $\Delta 6$ -desaturasa tanto *in vivo* como *in vitro* (Kinsella y col., 1981; Larque y col., 2003; Larque y col., 2000; Mahfouz y col., 1984; Sugano y col., 1989). Si bien, nuestros resultados podrían indicar que existe una disminución del flujo a través de la $\Delta 6$ -desaturasa en presencia de aceite de oliva y canola por el consumo de AGt, esto no resulta en un menor contenido de AA. Además, en el presente estudio, la vía alternativa de elongación del AL que involucra la biosíntesis del ácido eicosadienoico, *c11,c14-20:2* (Horrobin, 1981; 1993; Huang y col., 2011; Park y col., 2009), no se encontró disminuida por la adición de AGt. Si bien el aporte de esta vía alternativa es menor a la vía de principal de la biosíntesis de AA, podría ser un mecanismo compensatorio frente a

alteraciones en la biosíntesis de LC-PUFA de la familia n-6 que contribuya al contenido total de AA, tanto en ausencia, como en presencia de AGt dietarios. Si bien a partir de resultados de otros investigadores, pero no los nuestros, podría considerarse que los AGt inhiben la actividad de la enzima $\Delta 6$ -desaturasa, los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que los AGt no reducen la biosíntesis de LC-PUFA de la familia n-3. En este sentido, la biosíntesis de LC-PUFA de la familia n-3 se encuentra incrementada en presencia de altos niveles de AG n-6. Esto podría ser explicado por la teoría de Gibson (**Figura 5**), la cual presenta un esquema de la vía biosintética de LC-PUFA donde se observa, no sólo que ambas familias, n-3 y n-6, comparten el mismo sistema enzimático, si no que las enzimas participan en distintos puntos de la ruta metabólica; y que, además, el balance AL/ALA es determinante en la biosíntesis de LC-PUFA (Gibson y col., 2011). Las diferencias en la actividad y/o en el flujo a través de la $\Delta 6$ -desaturasa, y en consecuencia en la biosíntesis de LC-PUFA n-6 y n-3, puede deberse a que en la mayoría de los trabajos que reportan inhibición de la enzima por parte de los AGt utilizan grasas enriquecidas en AE, o bien, dietas adicionadas en este AGt purificado, por lo que no se evalúa el efecto de una grasa vegetal parcialmente hidrogenada con cantidades similares de distintos *t*-18:1.

5.4 VELOCIDAD DE SECRECIÓN DE TRIGLICÉRIDOS HEPÁTICOS

Tal como se discutiera anteriormente, los niveles de TG hepáticos no fueron alterados por el consumo de aceites con diferentes proporciones de AGI, mientras que el agregado de AGt incrementó este parámetro en los grupos Ot y Ct en comparación a sus respectivos controles y en comparación con Mt. Los cambios en los niveles de TG hepáticos son regulados por diversos mecanismos, entre ellos es importante destacar la síntesis de TG, el ensamble y formación de lipoproteínas VLDL y la secreción de las mismas al sistema circulatorio. En referencia a la capacidad de secreción de VLDL, numerosos trabajos han evaluado este parámetro tanto *in vivo*, como *in vitro*, mostrando una relación con el pool de TG hepáticos y/o con la síntesis de apolipoproteínas. En el presente trabajo observamos una correlación entre los mayores niveles de TG hepáticos presentes en los grupos Ot y Ct con una mayor velocidad de secreción de TG, lo cual sugiere que, según nuestro diseño experimental, los AGt regulando la acumulación hepática de TG promoverían la secreción de TG en las partículas de VLDL. Esta mayor secreción de TG puede estar asociada a una mayor síntesis de apolipoproteína-B. En este sentido, bajo otras condiciones, Arrol y col. (2000) hallaron una correlación positiva entre la acumulación intracelular de TG en cultivo de células HepG2 con la secreción de apolipoproteína-B al medio, lo que podría sugerir que ambos factores podrían ser determinantes de la estimulación de la secreción de VLDL. Mitmesser y col. (2005),

encontraron que el AE incrementó la secreción de apolipoproteína-B en células HepG2 respecto al AO y, de manera similar, los CLA tendrían el mismo efecto en comparación al AL. Esto podría indicar que los AG con isomería *trans* a través de un incremento en la síntesis y secreción de apolipoproteína-B, incrementarían la secreción de VLDL cuando se los compara con su contraparte *cis*. No obstante, los autores no descartan la posibilidad que el incremento en la síntesis de TG inducida por los CLA y el AE sea el mecanismo por el cual se aumente la secreción de apolipoproteína-B. De manera contrastante, Dashti y col. (2002; 1980), demostraron que el AE incrementó la secreción de apolipoproteína-B en comparación al ácido palmítico, pero no frente al AO. Sin embargo, estos autores demostraron que los distintos AG tuvieron efectos sobre la composición más que sobre la cantidad de lipoproteínas secretadas por los hepatocitos.

A pesar de este incremento de los TG hepáticos en los grupos Ot y Ct con una concomitante estimulación de la secreción de VLDL, los niveles de TG séricos no acompañaron este comportamiento. Es ampliamente conocido que en condiciones ayunadas, los niveles circulantes de TG dependen de un equilibrio entre la secreción hepática y la remoción a través de los tejidos periféricos por lo que esta discrepancia en el contenido de TG séricos entre los distintos grupos experimentales, podría deberse a una remoción diferencial a través de las enzimas lipoproteína lipasas extrahepáticas.

5.5. PARÁMETROS RELACIONADOS AL ESTRÉS OXIDATIVO Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES HEPÁTICAS

Los parámetros relacionados al estado oxidativo y las defensas antioxidantes hepáticas no mostraron alteraciones que indiquen desarrollo de estrés oxidativo en los ratones sometidos a los diferentes tratamientos dietarios. Sin embargo, independientemente de la presencia de AGt, el aceite de canola incrementó el grado de LPO respecto a los animales alimentados con aceite de oliva y maíz. Ha sido previamente demostrado que los PUFA, tanto de las familias n-6, como n-3, inducen estrés oxidativo cuando son incorporados a la matriz celular (Maziere y col., 1999). En concordancia con nuestros resultados, Hurtado de Catalfo y col. (2013) observaron un incremento en los niveles de LPO en el hígado de ratas alimentadas con dietas conteniendo aceites de soja y uva, con alto contenido de PUFA. Sin embargo, en nuestros resultados no hallamos alteraciones en el grado de LPO en los animales alimentados con aceite de maíz. González y col. (1992) demostraron que el DHA es muy susceptible a la oxidación, incluso en presencia de antioxidantes. En este sentido, los animales pertenecientes a los grupos C y Ct presentaron porcentajes significativamente más elevados de DHA en hígado que los alimentados con aceites de maíz y oliva, por lo que

el elevado grado de LPO podría deberse a la oxidación de este PUFA, independientemente de la presencia de AGt.

La actividad de la enzima catalasa fue determinada como uno de los mecanismos enzimáticos que participa en la defensa contra la injuria oxidativa. De forma semejante a lo observado para el grado de LPO, la actividad catalasa incrementó significativamente en los animales alimentados con aceite de canola, probablemente como un mecanismo para compensar el elevado grado de LPO. Este efecto se dio de manera independiente a la presencia de AGt en las dietas. En concordancia, Hurtado de Catalfo y col. (Hurtado de Catalfo y col., 2013) observaron que aquellos animales alimentados con aceite de soja y uva también presentaron elevada actividad tanto de la enzima catalasa, como de la superóxido dismutasa.

Por otro lado, dado que los MUFA, al igual que los AGS, no son sustratos preferenciales para la generación de especies reactivas al oxígeno (Hurtado de Catalfo y col., 2013), es razonable suponer que la presencia de AGt no genere alteraciones en los parámetros relacionados al estrés oxidativo. En adición, la suplementación con AGt no indujo alteraciones en los niveles de LPO, ni en la actividad catalasa en ningún grupo experimental. No obstante, se observó un incremento significativo en los niveles de GSH en el grupo Ot respecto a su control. Ha sido demostrado que en pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólico puede generarse un estrés oxidativo crónico producto del ambiente pro-oxidante inducido por la esteatosis (Videla y col., 2004). Los autores observaron una disminución de las defensas antioxidantes (GSH y superóxido dismutasa) y un marcado incremento del grado de LPO hepática. En este sentido, en el presente trabajo de tesis, las alteraciones observadas en el hígado de los animales alimentados con Ot no son tan acentuadas y esto podría deberse a que si bien existen mayores niveles de TG, estos no alcanzarían a desarrollar esteatosis. Así, los niveles de GSH estarían protegiendo al hígado de la generación de un ambiente pro-oxidante, evitando el incremento en la LPO. En adición a este efecto observado, los animales alimentados con la dieta Ot, presentaron mayores niveles de AR. Diversos autores han demostrado que los CLA dietarios inducen estabilidad oxidativa (Kim y col., 2005; Palacios y col., 2003) incrementando la síntesis de GSH y evitando el desarrollo de LPO (Arab y col., 2006), por lo que la bioconversión a AR observada en los hígados de los animales pertenecientes al grupo Ot, también podría estar participando en la prevención del estrés oxidativo hepático.

6. REGULACIÓN Y METABOLISMO DE LÍPIDOS EN TEJIDO ADIPOSO EPIDIDIMAL

6.1. RETENCIÓN DE ISÓMEROS EN EL TEJIDO ADIPOSO EPIDIDIMAL

Como se mencionara anteriormente, los isómeros *trans* también fueron incorporados en el TAE mostrando una mayor capacidad de retención en comparación con el hígado y el músculo gastrocnemio. Estos resultados están en concordancia con otros estudios, tanto en humanos (Baylin y col., 2002) como en modelos experimentales animales (Hodson y col., 2008), que proponen a los niveles de AGt en tejido adiposo como un marcador de ingesta crónica de AGt. Independientemente de la proporción de AGI presentes en los aceites consumidos, el patrón de retención de AGt monoinsaturados fue $AE > t10-18:1 > AV$, y esto podría ser explicado, en parte, por las diferentes velocidades de metabolización relativa de cada uno de ellos. En este sentido, los niveles reducidos de AV podrían estar asociados a la alta bioconversión de este AGt a AR, la cual ha sido reportada tanto en humanos (Turpeinen y col., 2002), como en diferentes modelos de animales de experimentación (Gruffat y col., 2005; Santora y col., 2000). Por otro lado, los bajos niveles encontrados del isómero *t10-18:1* en comparación al AE podrían relacionarse con una mayor velocidad de oxidación y/o metabolización de este isómero. Si bien, no existen trabajos que comparen las velocidades de oxidación de los distintos isómeros *t-18:1*, ha sido demostrado que la capacidad de oxidación del isómero conjugado *t10,c12-18:2* es mucho mayor que para los demás isómeros CLA (Martin y col., 2000), lo que, por analogía en la posición de la insaturación con isomería *trans*, podría llevarnos a suponer que el *t10-18:1* es extensamente más oxidado. En adición a esto, Lock y col. (2007) evaluando el perfil de AG en la leche producida por vacas lecheras alimentadas con dietas ricas en *t10-18:1*, hallaron bajos porcentajes del isómero en la leche. Los autores proponen que este efecto sería consecuencia de una alta tasa de oxidación del *t10-18:1* más que de una baja absorción a nivel intestinal. Por otro lado, es importante mencionar que, en TAE los niveles de *t-18:1*, *t9,t12-18:2* y AR no fueron alterados en presencia de diferentes proporciones relativas de AG, n-3, n-6 y n-9. Además, los niveles de AR fueron más elevados en TAE que en el resto de los tejidos analizados. Esto está en concordancia con los resultados hallados por Alasnier y col. (2002) y podría estar asociado al hecho que los CLA son incorporados principalmente en las moléculas de TG y el 99% del tejido adiposo está compuesto por este lípido neutro (Hirsch y col., 1960).

6.2. REGULACIÓN DE LA ADIPOSIDAD

El tejido adiposo ha sido definido como el principal órgano de reserva para proveer energía en situaciones de déficit y actualmente es conocido el rol fundamental en la

bioregulación de distintos procesos metabólicos. En períodos de elevada ingesta de alimentos frente a una escasa demanda energética, el exceso de energía es depositado en este tejido como TG neutros (Sethi y col., 2007). En humanos, y la mayoría de las especies animales, el tejido adiposo está compuesto en un 99% por TG y contribuciones menores de colesterol (0,3%) y FL (menos de 0,1%) (Hirsch y col., 1960). Así, estudiar los depósitos de lípidos en el tejido adiposo, nos limita, casi exclusivamente a la regulación del contenido de TG, teniendo en cuenta diferentes mecanismos, tales como: captación de TG desde las lipoproteínas circulantes, síntesis de AG en el tejido, hidrólisis de los TG y liberación de AG libres, entre otros. Al menos a nuestro conocimiento, existe escasa referencia bibliográfica referida al efecto de diferentes aceites dietarios y AGt sobre la acumulación de TG en el tejido adiposo. Algunos trabajos han demostrado que los AGt alteran la adiposidad modificando la captación de TG por parte del tejido adiposo en humanos (Matthan y col., 2001; Smit y col., 2010). Este efecto de la ingesta de AGt sobre la adiposidad, podría a su vez modificar la regulación del metabolismo intermedio lipídico y glucídico a través de la liberación de mediadores biológicos como adipoquinas. Asimismo, los AGt incrementan la liberación desde el tejido adiposo de interleuquina-6 y proteína C reactiva a la circulación induciendo procesos inflamatorios (Mozaffarian y col., 2004). Además, algunos autores han encontrado en animales de experimentación que el consumo de AGt altera la expresión de PPAR- γ , resistina y LPL (Saravanan y col., 2005), compuestos que tienen un rol importante no sólo en el metabolismo de lípidos, sino también en el de la glucosa (Vanden Heuvel, 2004). Por lo tanto, existen varios mecanismos posibles por los cuales los AGt podrían exacerbar factores de riesgo lipídicos y no-lipídicos alterando la incidencia de enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas no transmisibles (Mozaffarian y col., 2006). De manera contrastante, otros autores demostraron que los AGt pueden disminuir los depósitos de grasa (Atal y col., 1994; Faulconnier y col., 2006). Las causas de estos efectos controversiales podrían estar asociadas al tipo de isómero *trans* utilizado en las dietas, incluyendo los isómeros CLA y a la especie estudiada. En relación a los isómeros CLA, es ampliamente conocido que el *t10,c12-18:2* reduce la acreción de grasa corporal, fundamentalmente en el tejido adiposo (Jaudszus y col., 2010; Poirier y col., 2005; Warren y col., 2003). Este efecto sobre el tejido adiposo puede tener una importante repercusión en la reducción de la adiposidad, pero dependiendo de la especie, puede estar asociado a profundas alteraciones metabólicas. Así en ratones ha sido descrito que el *t10,c12-18:2* es el responsable del conocido síndrome lipodistrófico que involucra la disminución de los depósitos de grasa y la acumulación de lípidos en el hígado. En relación a los AGt, algunos autores han establecido que el *t10-18:1* podría utilizar un mecanismo común al indicado para el *t10,c12-18:2* sobre la adiposidad

(Atal y col., 1994; Faulconnier y col., 2006). En acuerdo con esto, Panigrahi y col. (1993) reportaron que una mezcla de *t*-18:1 redujo *in vitro* la acumulación de grasa en adipocitos 3T3-L1. Por otro lado, existen reportes bibliográficos controversiales acerca del efecto del AR sobre la adiposidad. Algunos trabajos han demostrado una leve disminución en este parámetro (de Roos y col., 2001; Scalerandi y col., 2014), mientras que otros no han encontrado efecto alguno. No obstante, los mecanismos implicados en la regulación de la adiposidad por el AR no son claros (Lopes y col., 2008). En función de lo antes mencionado, es probable que, en nuestras experiencias, la ausencia de alteraciones en este parámetro entre los distintos grupos experimentales se deba a un efecto conjunto entre la mezcla de *t*-18:1 dietarios y la presencia de AR, producto de la bioconversión a partir del AV.

6.3. ACTIVIDAD DE LA LIPOPROTEÍNA LIPASA EN TEJIDO ADIPOSO Y EFECTO SOBRE LA REMOCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS CIRCULANTES.

El tejido adiposo es un órgano clave y muy activo en la remoción de TG, y además, tiene la capacidad de modificar su tamaño dependiendo de variables nutricionales, por lo que es interesante considerar la contribución de la enzima LPL en la remoción de TG por tejido entero. Así, si bien no observamos cambios en la actividad LPL del TAE expresada por gramo de tejido, los pequeños cambios en el peso del tejido adiposo, contribuyeron a cambios significativos de la capacidad total de remoción de TG por la LPL. Esta forma de expresión condujo a que en ausencia de AGt, los animales alimentados con la dieta M, en comparación con los animales pertenecientes a los grupos O y C, presenten mayor capacidad de remoción de TG por el tejido adiposo. Otros estudios han encontrado cambios inducidos por AGI tanto en la actividad, como en la expresión de la LPL en TAE. Así, Michaud y col. (2001) en macrófagos J774 incubados con distintos AG encontraron que la masa y la actividad de la enzima LPL fueron mayores en aquellas células incubadas con AL y AA que con AO o EPA. Cryer y col. (1978) han demostrado que la actividad LPL en TAE fue incrementada significativamente en cerdos alimentados con dietas ricas en aceite de maíz en comparación con dietas ricas en grasa vacuna, atribuyendo tal efecto al mayor porcentaje de AGI presentes en el aceite de maíz. En el mismo sentido, Murphy y col (1993) en ratas Wistar alimentadas con diferentes dietas a bajos niveles de grasa han demostrado que, a mayores niveles de PUFA en la dieta, mayor actividad de la enzima LPL. Estos resultados concuerdan con lo presentado en este trabajo, donde las dietas M que son las que presentan mayor grado de insaturación, poseen mayor capacidad de remoción que las dietas O y C, pese a que esta última tiene un elevado contenido de ALA. Esta respuesta diferencial entre M y C en la actividad LPL podría explicar, al menos en parte, los mayores

niveles de TG circulantes en el grupo C. No obstante esto, en contraposición a lo anteriormente mencionado, otros autores (Baba y col., 1999; Baba y col., 2000; Hulsmann y col., 1979) reportaron mayores niveles de LPL en el tejido adiposo de animales alimentados con aceite de canola en comparación con diferentes aceites ricos en AG n-9 y n-6.

En relación a la sustitución parcial con AGt, la misma llevó a un incremento en la actividad LPL, sin embargo esto fue dependiente de la grasa dietaria. En este sentido, los animales alimentados con las dietas Ot y Ct mostraron una mayor capacidad de remoción de TG por parte del tejido adiposo. Las causas de este efecto diferencial entre los distintos aceites nos resultan desconocidas. En contraposición a nuestros resultados, Saravanan y col. (2005) observaron a dos niveles de ingesta de AGt, que los niveles de mRNA de la enzima LPL se encuentran disminuidos, sin embargo, esto no concuerda con la alta tasa de lipólisis observada en estas ratas. Por otro lado, otros autores no han encontrado alteraciones en la actividad LPL de tejido adiposo de ratas alimentadas con una grasa vegetal parcialmente hidrogenada, similar a la utilizada en el presente trabajo de tesis (Pereira-Assumpcao y col., 2004; Silva y col., 2006). Si bien muy pocos trabajos evaluaron el efecto de los AGt sobre la actividad LPL en tejido adiposo, la mayor actividad LPL observada en los grupos Ot y Ct nos permitirían explicar, al menos en parte, la ausencia de elevados niveles de TG circulantes, a pesar de la mayor secreción hepática.

6.4. BIOSÍNTESIS DE LC-PUFA Y LIPOGÉNESIS EN TEJIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

Otro punto importante que puede asociarse a la adiposidad es la biosíntesis *de novo* de AG en el TAE. En relación a esto, en el presente trabajo no hallamos modificaciones en las actividades de las enzimas lipogénicas, FAS, G6PDH y EM en ausencia de AGt entre los diferentes aceites dietarios. En concordancia con esto, Rodriguez y col. (2001) demostraron que el tipo de grasa dietaria no afectaría la actividad de las enzimas lipogénicas en el TAE de ratas alimentadas con diferentes fuentes de grasa, entre ellas aceite de oliva y girasol. Por otro lado, y en el mismo sentido, Silva y col. (2006) no encontraron diferencias en la lipogénesis del TAE en ratas jóvenes alimentadas con aceite de canola y de soja evaluada a través de la captación *in vivo* de $^3\text{H}_2\text{O}$. Otro estudio comparativo demostró que la capacidad lipogénica del TAE en ratas fue reducida por la ingesta de aceite de pescado, pero no de soja, comparado con el grupo control que consumió alimento balanceado (Gaiva y col., 2001), demostrando el conocido efecto hipolipemiante diferencial atribuido a los LC-PUFA n-3. En comparación con sus respectivos grupos controles, la sustitución parcial con AGt incrementó la actividad de la G6PDH en Ot y la de la enzima málica en Ot y Mt. Silva y col. (2006) demostraron que

dietas ricas en grasa vegetal parcialmente hidrogenada indujeron un incremento en la velocidad de lipogénesis *de novo* en comparación a ratas alimentadas con aceite de canola o de soja. En el presente trabajo de tesis no encontramos diferencias en la actividad de la enzima FAS, principal responsable de la lipogénesis, y las modificaciones en los niveles de G6PDH y de EM no se vieron reflejadas en una mayor biosíntesis de AG en dicho tejido. Estas 2 últimas enzimas son importantes en la provisión de NADPH para la síntesis de novo, por lo cual, es probable que otros reguladores podrían estar compensando esta mayor tendencia lipogénica. En este sentido, los niveles de AG lipogénicos: AL y AA, se encuentran significativamente reducidos tanto en Ot, como en Mt respecto a sus respectivos controles, justificando dicha hipótesis.

Las vías de biosíntesis de MUFA tienen continuidad metabólica por la acción de las enzimas desaturasas (SCD, por su acrónimo en inglés: *stearoyl-CoA desaturase*), o $\Delta 9$ -desaturasa, que se presentan bajo dos isoformas en el tejido adiposo. La actividad de dichas enzimas puede ser estimada a través del flujo de sustratos: el flujo a través de la SCD-1 está reflejado por la relación $c9-16:1/16:0$ y el flujo a través de la SCD-2 por la relación $c9-18:1/18:0$. En este sentido, en ausencia de AGt ambos índices estuvieron afectados por el tipo de grasa dietaria, específicamente la relación $c9-16:1/16:0$ fue ligeramente mayor en los animales alimentados con aceite de oliva, siendo significativo frente al grupo C, y en la relación $c9-18:1/18:0$ se alcanzó significancia frente al grupo M. Esto podría estar relacionado con una inhibición ejercida por el AL y el ALA en las dietas M y C, los cuales poseen un efecto represor de la actividad y expresión de la enzima SCD en diversos tejidos, entre ellos el tejido adiposo (Jump y col., 1994; Ntambi, 1999; Park y col., 2000). Estos efectos no condujeron a una acumulación diferencial de grasa. Por otro lado, en presencia de AGt dietarios no se observaron alteraciones en el índice $\Delta 9$ -desaturasa con ninguna fuente de grasa dietaria, lo cual está en acuerdo con los niveles semejantes de grasa epididimal frente a sus respectivos controles.

Finalmente, no se pudieron detectar LC-PUFA, por lo que no fue posible calcular los flujos parciales a través de las enzimas involucradas en las vías biosintéticas de los mismos. Es importante destacar que el control del almacenamiento de los PUFA en el tejido adiposo depende tanto de la síntesis de lípidos, como de la movilización (Raclot, 2003). Es conocido que existe una selectividad para la captación y liberación de los PUFA de las familias n-6 y n-3 (Raclot y col., 1994), por lo que los bajos niveles de AL en Ot y Mt, AA en Mt, así como ALA en Ct respecto a sus controles, podría estar asociado con una movilización diferencial de PUFA inducida por los AGt.

7. METABOLISMO DE LÍPIDOS EN MÚSCULO GASTROCNEMIO

7.1. RETENCIÓN DE ISÓMEROS EN MÚSCULO GASTROCNEMIO

De manera similar a lo discutido en el TAE, la retención de AE en músculo gastrocnemio fue significativamente más alta que para el resto de los isómeros *t*-18:1, lo que podría explicarse por mecanismos similares que los mencionados anteriormente. Sin embargo, los niveles totales alcanzados son menores que en el tejido adiposo, y muestran dependencia por el tipo de grasa dietaria. Al menos a nuestro conocimiento, no existe bibliografía que reporte la influencia de los diferentes tipos de AGI sobre la retención y/o incorporación de isómeros de AGt, lo que no hace posible contrastar nuestros resultados. Por otro lado, las diferentes proporciones de AGI no modificaron la conversión de AV a AR en el músculo gastrocnemio. Esto puede ser respaldado, al menos en parte, por los porcentajes similares de AR hallados para los diferentes tratamientos dietarios. En concordancia con Alasnier y col. (2002), el músculo retuvo mayores niveles de AR respecto al hígado, y esto podría estar asociado a que el hígado secreta una considerable masa de AR a través de las VLDL.

7.2. CONTENIDO DE LÍPIDOS EN MÚSCULO GASTROCNEMIO. RELACIÓN CON LOS NIVELES DE GLUCOSA CIRCULANTE

Numerosos trabajos han relacionado la composición de AG de las membranas de las células musculares con el metabolismo de la glucosa. Si bien el objetivo del presente trabajo de tesis no se focaliza en el estudio de los cambios producidos en la sensibilidad a la insulina, producida por el consumo de las diferentes dietas, no podemos dejar de mencionar los cambios en el contenido lipídico del músculo esquelético debido a la estrecha relación entre este parámetro y el metabolismo de la glucosa. En este sentido, el músculo es el principal sitio de utilización de la glucosa, siendo este proceso mediado por insulina. La unión de la insulina a los receptores ubicados en la membrana plasmática de la célula del músculo desencadena una serie de respuestas que inducen el transporte de glucosa al interior de la célula donde será metabolizada o almacenada como glucógeno (Corcoran y col., 2007). Cualquier disfunción en esta vía puede promover el desarrollo de insulino-resistencia y, por lo tanto, una utilización deficiente de la glucosa. En relación a esto, existen factores que pueden producir alteraciones en esta ruta, entre los que podemos mencionar el tipo de grasa dietaria, que ha mostrado tener efectos sobre la respuesta a la insulina en ratas alimentadas con dietas ricas en grasa (Storlien y col., 1986). Así, ha sido demostrado que existe una relación directa entre la ingesta de PUFA

(Borkman y col., 1993; Matravadia y col., 2014; Storlien y col., 1987), y MUFA (Soriguer y col., 2004) y la sensibilidad a la insulina; mientras que los AGS promueven un efecto opuesto, induciendo una disminución en la utilización de la glucosa (Marshall y col., 2002). Una explicación posible para este efecto es la capacidad de los distintos AG dietarios de incorporarse a los FL de membrana, modificar la composición de AG y, por lo tanto la fluidez de membranas, llevando potencialmente a alteraciones en la respuesta a la insulina (Storlien y col., 1998).

En relación a los niveles de glucosa circulante, observamos que los animales alimentados con aceite de maíz y canola presentaron menores niveles de este parámetro respecto al consumo de aceite de oliva. Estos resultados podrían estar asociados al incremento en la captación de glucosa inducida por los PUFA (Matravadia y col., 2014). En este sentido, la sumatoria total de PUFA fue más elevada en los animales alimentados con dietas conteniendo aceite de maíz y, asimismo, el contenido total de DHA y EPA fue mayor en los animales alimentados con aceite de canola. Si bien, existe muy poca información disponible en la bibliografía en la cual se estudie el efecto de distintas grasas dietarias sobre la composición de lípidos del músculo esquelético, teniendo en cuenta que los FL totales no fueron modificados y en concordancia con lo observado en los niveles de glucosa circulante, podemos proponer que existiría una mayor incorporación de PUFA en los FL de membrana en los animales alimentados con aceite de maíz y de canola, lo que estimularía la incorporación de glucosa circulante.

Con respecto a la sustitución parcial con AGt, la misma condujo a un menor contenido de FL en el músculo gastrocnemio. Estos cambios no estuvieron acompañados por modificaciones en el perfil de AG. En la bibliografía, existe muy poca información sobre el efecto de las grasas *trans* en el contenido de lípidos en el músculo esquelético y la potencial relación con la resistencia a la insulina. No obstante, existen numerosos trabajos que evalúan el efecto de los AGt sobre las vías de oxidación de la glucosa, existiendo controversias entre los distintos autores. Alstrup y col. (1999) demostraron que los AGt potencian la secreción de insulina estimulada por glucosa en células beta de ratones, más que sus correspondientes AG con isomería *cis*, induciendo una mayor utilización periférica de glucosa. En contraposición, otros autores demuestran que los AGt no tendrían efecto sobre los niveles de glucosa circulantes y la sensibilidad a la insulina (Louheranta y col., 1999; Lovejoy y col., 2002), como tampoco sobre las vías de metabolización de la misma tanto en hígado como en músculo esquelético (Bernal y col., 2006). De manera contrastante, Cromer y col. (1995), han demostrado que los AGt inhibirían la oxidación de glucosa, reduciendo su utilización por los tejidos periféricos, en animales de experimentación. Así, esta diferente respuesta en los niveles y capacidad de

metabolización de la glucosa hallada por los distintos autores podría estar asociada, entre otros factores, a los niveles de grasa y a la composición de los AGt de la dieta. Con respecto a nuestros resultados, la suplementación con AGt indujo una disminución de los niveles de glucosa circulantes respecto a sus controles. En contraposición con el estudio mencionado anteriormente (Bernal y col., 2006), en el cual se emplearon dietas ricas en grasas con alto contenido de AE, la grasa hidrogenada utilizada en esta tesis presentó niveles similares de AE y AV, los cuales se incorporaron en los tejidos y en el caso del AV mostró una elevada conversión a AR. En relación a esto, es conocido que tanto el AR, como diferentes mezclas de isómeros CLA, presentan efectos significativos en la regulación de la glucemia. Así, en un trabajo recientemente publicado por nuestro grupo de investigación demostramos que los CLA incrementan la utilización de la glucosa en músculo esquelético aislado de ratas (Farina y col., 2014). Por lo tanto, podemos inferir que existiría una interacción entre los AGt circulantes y tisulares, y del AR, producto de la bioconversión en los tejidos, que lleva a incrementar la captación y metabolización de la glucosa. Sin embargo, para clarificar y comprender el efecto de los AGt, y su interacción con las diferentes grasas dietarias sobre los mecanismos involucrados en la utilización de glucosa se deben evaluar metabolitos y enzimas implicados en este proceso.

Junto con los cambios inducidos por la dieta en la composición de los AG de membrana, el tipo de grasa consumida puede determinar la composición de AG del pool de TG de la célula muscular. En humanos, alteraciones en el contenido de TG en el músculo esquelético también se han relacionado con el desarrollo de insulino-resistencia (Manco y col., 2000; Pan y col., 1997). Con respecto a nuestros resultados, el contenido de TG en músculo no fue alterado por el consumo de distintos aceites. Ha sido demostrado que dietas ricas en grasa pueden inducir una acumulación de TG en músculo en humanos (Kiens y col., 1987), sin embargo no es bien claro el mecanismo que pueden ejercer dietas conteniendo distinta proporción de AGI. La sustitución parcial con AGt indujo efectos dependientes de la grasa dietaria, disminuyendo los niveles de TG sólo en los animales alimentados con aceite de oliva. Si bien no disponemos de una base bibliográfica muy amplia para contrastar estos resultados, es posible establecer una relación entre los efectos sobre los TG circulantes con alteraciones en la acumulación de TG en el músculo (Storlien y col., 1991), dado que los TG circulantes poseen dos destinos metabólicos: el almacenamiento en el tejido adiposo, o la oxidación en el músculo esquelético (Ferraro y col., 1993; Greenwood, 1985; Voshol y col., 2001). Por lo que es fácil suponer que una alterada actividad de la LPL muscular o modificaciones en la β -oxidación sean los mecanismos responsables de la diferencia en el contenido de TG musculares.

7.3. REMOCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS CIRCULANTES. ACTIVIDAD LIPOPROTEÍNA LIPASA

Además del tejido adiposo, el músculo gastrocnemio es otro tejido con una importante contribución a la remoción de los TG circulantes, debido a la actividad LPL (Goldberg, 1996; Olivecrona y col., 1993). En ausencia de AGt el grupo C presentó menores niveles de actividad, alcanzando significancia estadística respecto a O. Si bien, se ha demostrado que elevados niveles de expresión y mayor actividad LPL pueden llevar a una acumulación de TG en el músculo (Voshol y col., 2001), estos cambios no estuvieron acompañados por alteraciones en este parámetro. En los animales alimentados con aceite de canola, esta menor remoción por parte del músculo gastrocnemio en adición a la menor actividad de la enzima en el TAE serían, al menos en parte, los mecanismos involucrados en el incremento de los niveles de TG circulantes. Por otro lado, en los animales alimentados con aceite de oliva y con aceite de maíz las diferencias halladas en los valores de actividad de la enzima LPL no llevarían a cambios significativos en el perfil de TG circulantes.

Con respecto a la sustitución parcial con AGt, la menor actividad LPL observada en los animales del grupo Mt en comparación a su control no indujo cambios en el contenido de TG en este tejido. El consumo de AGt acompañado de aceite de oliva o canola no promovió cambios en este parámetro, por lo que la clarificación de los TG circulantes estaría regulada, al menos en parte, por la LPL del TAE.

7.4. OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN MÚSCULO GASTROCNEMIO. ACTIVIDAD DE LA CARNITINA PALMITOIL TRANSFERASA I

Los tejidos extrahepáticos, como músculo esquelético y cardíaco tienen una elevada actividad CPT-Ib mitocondrial, la cual tiene una función análoga a la CPT-Ia hepática, que es la de intercambiar coenzima A por carnitina para facilitar la transferencia de grupos acilos al interior de la mitocondria para la β -oxidación (Power y col., 1997). En nuestra experiencia encontramos que, en ausencia de AGt, los animales alimentados con aceite de canola presentaron mayor actividad de la enzima CPT-Ib respecto a los animales alimentados con aceite de oliva. Power y col. (1997), encontraron en ratas alimentadas con dietas ricas en grasa y diferentes aceites comestibles, que aquellos que consumieron aceite de pescado, el cual posee mayores niveles de LC-PUFA, mostraron mayores niveles de actividad CPT-Ib. Esta mayor actividad CPT-I podría relacionarse con un incremento en el mRNA de la enzima en presencia de LC-PUFA dietarios, lo cual ha sido demostrado previamente en cultivos de hepatocitos (Chatelain y col., 1996). Este incremento en la transcripción estaría relacionado a una activación del PPAR α ejercida por los LC-PUFA (Clarke, 2001). El agregado de AGt sólo modificó la actividad de la enzima en los animales

alimentados con aceite de oliva, siendo $Ot < 0$, lo cual se refleja en los niveles de TG en músculo, los cuales mostraron una disminución en el grupo Ot respecto a su control. Bruce y col. (2007) han demostrado que la sobreexpresión de CPT-I disminuye la esterificación de AG en los TG en mitocondrias aisladas de músculo de rata, lo cual está en concordancia con nuestros resultados hallados en los animales alimentados con aceite de oliva.

Conclusiones

CONCLUSIONES

Los distintos *t*-18:1 aportados con la dieta fueron incorporados en hígado, músculo gastrocnemio, tejido adiposo epididimal y suero, y el nivel de retención dependió fundamentalmente del tejido analizado, como así también del isómero considerado y de la interacción con los AG insaturados de las familias n-3, n-6 y n-9. Los efectos de los AGt y su interacción con las diferentes proporciones relativas de AGI, hallados a nivel de metabolismo lipídico, fueron asociados a la mezcla de *t*-18:1 y al contenido de AR presente en el tejido, más que a un isómero en particular.

El consumo de aceite de canola incrementó el contenido de grasa en carcasa conduciendo a una mayor retención de energía y mayor eficiencia energética. Estos parámetros fueron reducidos en los animales que consumieron la dieta Ct. Así, el impacto nutricional de los AGt pudo relacionarse con el contenido tisular de AR, y posiblemente de AV, los cuales son conocidos por su potencial efecto en la reducción de la adiposidad.

En la **Figura 44** se propone un mapa metabólico con los principales efectos hallados de los AGt en las dietas conteniendo diferentes proporciones relativas de AGI de las distintas familias sobre el metabolismo y regulación de TG. En relación a esto, los efectos de la sustitución parcial con AGt, fueron diferentes en función del tipo de grasa dietaria consumida. En este sentido, los animales alimentados con las dietas Ot y Ct presentaron una mayor acumulación de TG hepáticos respecto a sus controles, lo cual se asoció a diferentes desbalances entre la lipogénesis y la β -oxidación. Específicamente, en el grupo Ct el incremento de TG hepáticos pudo relacionarse a una menor β -oxidación hepática, reflejada por una disminución en la expresión del PPAR- α y en la expresión y actividad de la CPT-1a; mientras que, la elevada acreción de lípidos hepáticos en los animales alimentados con Ot, se relacionó con una mayor expresión del SREBP-1a, lo que condujo a una incrementada expresión y actividad de enzimas lipogénicas. De manera diferente, en los animales alimentados con aceite de maíz, los AGt no indujeron acumulación de TG, ni alteraciones en la lipogénesis y β -oxidación hepática. La mayor lipogénesis inducida por los AGt en los animales alimentados con aceite de oliva pudo estar exacerbada por un ambiente proclive a mayor síntesis de lípidos. Así, el flujo a través de la enzima Δ 9-desaturasa hepática fue mayor en los animales alimentados con aceite de oliva, independientemente de la presencia de AGt dietarios. Esto podría relacionarse con los menores niveles de PUFA en este aceite y podría sugerir que existiría una exacerbada síntesis *de novo* de AG. Además, el mayor contenido de AR hallado en los animales alimentados con Ot pudo estar asociado a una mayor bioconversión a partir de AV,

producto de un mayor flujo a través de la enzima Δ^9 -desaturasa. En relación al contenido hepático total de LC-PUFA de las familias n-3 y n-6, si bien se observaron alteraciones en los flujos parciales de las diferentes enzimas involucradas en esta vía, tanto los niveles de EPA y DHA, como de AA en hígado, dependieron principalmente de las relaciones de AGI de las diferentes familias, más que de la presencia de AGt.

Los elevados niveles de TG en hígado de animales alimentados con Ot y Ct se correlacionaron con una mayor secreción hepática de VLDL-TG. Estos datos sugieren que los AGt, regulando la acumulación hepática de TG, promoverían la secreción de TG en las partículas de VLDL. No obstante, este efecto no se reflejó en un incremento en los niveles de TG circulantes, lo que pudo asociarse a la mayor remoción de TG a través de la enzima LPL del TAE.

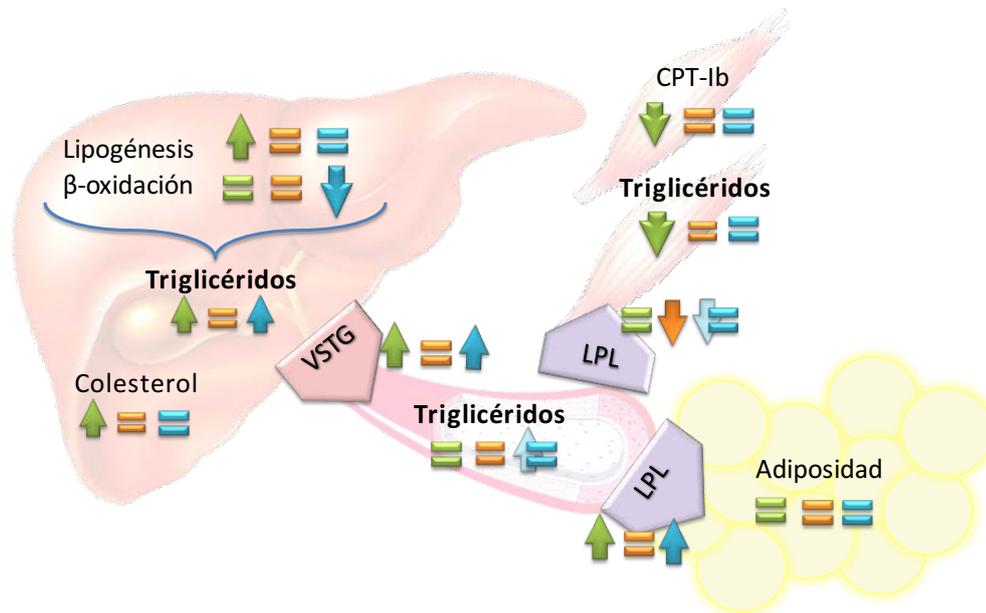
A pesar de la mayor captación de TG por el tejido adiposo y de los efectos observados en las actividades de las enzimas lipogénicas, la ausencia de acumulación de tejido adiposo pudo estar asociada al efecto antiadipogénico, mencionado anteriormente, mediado por el AV y el AR.

En ausencia de AGt, el grupo C presentó menores niveles de actividad LPL muscular, lo cual pudo haber conducido a mayores niveles de TG circulantes en este grupo. El contenido de TG en músculo gastrocnemio fue reducido por los AGt en los animales alimentados con aceite de oliva, y esta alteración se asoció a una incrementada β -oxidación, reflejada por la elevada actividad de la enzima CPT-1b.

Finalmente, de lo antes expuesto se pueden extraer los siguientes puntos importantes:

- ✓ Ingestas bajas de AGt caracterizadas por una elevada proporción de AV no indujeron a los efectos deletéreos observados previamente por nuestro grupo y otros autores con dietas ricas en ácido eláidico.
- ✓ Las modificaciones en el perfil de AG tisulares dependió más del tipo de AGI dietario que de la presencia de AGt.
- ✓ Los AGt individuales se incorporaron en forma diferente en distintos tejidos, y la retención de los mismos fue influenciada por la relación de AGI de las familias n-3, n-6 y n-9.
- ✓ La bioconversión hepática de AV a AR dependió de la proporción de AGI de la grasa dietaria, siendo mayor en los animales alimentados con aceite de oliva.
- ✓ El efecto de los AGt sobre el metabolismo lipídico dependió de la proporción de AGI de la grasa dietaria, presentando mayores alteraciones en los animales alimentados con aceite de oliva y de canola, denotando principalmente una mayor acumulación de TG hepáticos.

Figura 44: Mapa metabólico propuesto de los efectos de los ácidos grasos *trans*



Este esquema plantea un mapa metabólico con los principales efectos hallados de los ácidos grasos *trans* en dietas conteniendo diferentes relaciones de ácidos grasos insaturados. Los símbolos verdes indican el efecto de Ot vs O, los símbolos anaranjados indican el efecto de Mt vs M y los símbolos celestes de Ct vs C.

En conclusión, a partir de lo anteriormente mencionado, y del objetivo planteado inicialmente en la presente tesis, se desprende que el efecto de ingesta de bajos niveles de AGt, caracterizados por una elevada proporción de AV, depende de las relaciones de AGI de las familias n-3, n-6 y n-9.

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

Abell, L.; Levy, B.; Brodie, B. y Kendall, F. (1952) *A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity.* J Biol Chem 195: 357-366.

Aebi, H. (1984) *Catalase in vitro.* Methods Enzymol 105: 121-126.

Akahoshi, A.; Koba, K.; Ohkura-Kaku, S.; Kaneda, N.; Goto, C.; Sano, H.; Iwata, T.; Yamauchi, Y.; Tsutsumi, K. y Sugano, M. (2003) *Metabolic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) isomers in rats.* Nutrition Research 23: 1691-1701.

Alasnier, C.; Berdeaux, O.; Chardigny, J.M. y Sebedio, J.L. (2002) *Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of different tissues in rats fed individual conjugated linoleic acid isomers given as triacylglycerols small star, filled.* J Nutr Biochem 13: 337-345.

Albuquerque, K.T.; Sardinha, F.L.; Telles, M.M.; Watanabe, R.L.; Nascimento, C.M.; Tavares do Carmo, M.G. y Ribeiro, E.B. (2006) *Intake of trans fatty acid-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring.* Nutrition 22: 820-829.

Alstrup, K.K.; Gregersen, S.; Jensen, H.M.; Thomsen, J.L. y Hermansen, K. (1999) *Differential effects of cis and trans fatty acids on insulin release from isolated mouse islets.* Metabolism 48: 22-29.

Anderson, R.L. y Coats, R.H. (1967) *The catabolism of the geometric isomers of uniformly ¹⁴C-labeled delta 9-octadecenoic acid and uniformly ¹⁴C-labeled delta 9,12-octadecadienoic acid by the fasting rat.* Biochim Biophys Acta 144: 525-531.

Appel, L.J.; Sacks, F.M.; Carey, V.J.; Obarzanek, E.; Swain, J.F.; Miller, E.R., 3rd; Conlin, P.R.; Erlinger, T.P.; Rosner, B.A.; Laranjo, N.M.; Charleston, J.; McCarron, P. y Bishop, L.M. (2005) *Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial.* JAMA 294: 2455-2464.

Arab, K.; Rossary, A.; Soulere, L. y Steghens, J.P. (2006) *Conjugated linoleic acid, unlike other unsaturated fatty acids, strongly induces glutathione synthesis without any lipoperoxidation.* Br J Nutr 96: 811-819.

Aranceta, J. y Perez-Rodrigo, C. (2012) *Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review*. Br J Nutr 107: S8-22.

Aro, A.; Jauhiainen, M.; Partanen, R.; Salminen, I. y Mutanen, M. (1997) *Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects*. Am J Clin Nutr 65: 1419-1426.

Arrol, S.; Mackness, M.I. y Durrington, P.N. (2000) *The effects of fatty acids on apolipoprotein B secretion by human hepatoma cells (HEP G2)*. Atheroscler Suppl 150: 255-264.

Ascherio, A.; Katan, M.B.; Zock, P.L.; Stampfer, M.J. y Willett, W.C. (1999) *Trans fatty acids and coronary heart disease*. N Engl J Med 340: 1994-1998.

Ascherio, A. y Willett, W.C. (1994) *Are body iron stores related to the risk of coronary heart disease?* N Engl J Med 330: 1152-1154.

Atal, S.; Zarnowski, M.; Cushman, S. y Sampugna, J. (1994) *Comparison of body weight and adipose tissue in male C57Bl/6J mice fed diets with and without trans fatty acids*. Lipids 29: 319-325.

Axen, K.V.; Dikeakos, A. y Sclafani, A. (2003) *High dietary fat promotes syndrome X in nonobese rats*. J Nutr 133: 2244-2249.

Baba, N.; Antoniadou, K. y Habbal, Z. (1999) *Effects of dietary canola, olive, and linolenic acid enriched olive oils on plasma lipids, lipid peroxidation and lipoprotein lipase activity in rats*. Nutrition Research 19: 601-612.

Baba, N.; Ghossoub, Z. y Habbal, Z. (2000) *Differential effects of dietary oils on plasma lipids, lipid peroxidation and adipose tissue lipoprotein lipase activity in rats*. Nutrition Research 20: 1113-1123.

Baer, D.J.; Judd, J.T.; Clevidence, B.A. y Tracy, R.P. (2004) *Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study*. Am J Clin Nutr 79: 969-973.

Baylin, A.; Kabagambe, E.K.; Siles, X. y Campos, H. (2002) *Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake*. Am J Clin Nutr 76: 750-757.

Bell, R.R.; Spencer, M.J. y Sherriff, J.L. (1995) *Diet-induced obesity in mice can be treated without energy restriction using exercise and/or a low fat diet*. J Nutr 125: 2356-2363.

Benatti, P.; Peluso, G.; Nicolai, R. y Calvani, M. (2004) *Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties*. J Am Coll Nutr 23: 281-302.

Bendsen, N.T.; Christensen, R.; Bartels, E.M. y Astrup, A. (2011) *Consumption of industrial and ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of cohort studies*. Eur J Clin Nutr 65: 773-783.

Beresford, S.A.; Johnson, K.C.; Ritenbaugh, C.; Lasser, N.L.; Snetselaar, L.G.; Black, H.R.; Anderson, G.L.; Assaf, A.R.; Bassford, T.; Bowen, D.; Brunner, R.L.; Brzyski, R.G.; Caan, B.; Chlebowski, R.T.; Gass, M.; Harrigan, R.C.; Hays, J.; Heber, D.; Heiss, G.; Hendrix, S.L.; Howard, B.V.; Hsia, J.; Hubbell, F.A.; Jackson, R.D.; Kotchen, J.M.; Kuller, L.H.; LaCroix, A.Z.; Lane, D.S.; Langer, R.D.; Lewis, C.E.; Manson, J.E.; Margolis, K.L.; Mossavar-Rahmani, Y.; Ockene, J.K.; Parker, L.M.; Perri, M.G.; Phillips, L.; Prentice, R.L.; Robbins, J.; Rossouw, J.E.; Sarto, G.E.; Stefanick, M.L.; Van Horn, L.; Vitolins, M.Z.; Wactawski-Wende, J.; Wallace, R.B. y Whitlock, E. (2006) *Low-fat dietary pattern and risk of colorectal cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial*. JAMA 295: 643-654.

Bernal, C.A.; Basilico, M.Z.; Gutman, R. y Lombardo, Y.R. (1989) *Secretion and removal rates of very low density lipoprotein triglycerides at the three metabolic periods of hypertriglyceridemia induced by a sucrose rich diet*. Nutrition Reports International 40: 71-79.

Bernal, C.A.; Rovira, J.; Colandre, M.E.; Cusso, R. y Cadefau, J.A. (2006) *Effects of dietary cis and trans unsaturated and saturated fatty acids on the glucose metabolites and enzymes of rats*. Br J Nutr 95: 947-954.

Bieber, L.L.; Abraham, T. y Helmrath, T. (1972) *A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyltransferase*. Anal Biochem 50: 509-518.

Bligh, E.G. y Dyer, W.J. (1959) *A rapid method of total lipid extraction and purification*. Can J Biochem Physiol 37: 911-917.

Borkman, M.; Storlien, L.H.; Pan, D.A.; Jenkins, A.B.; Chisholm, D.J. y Campbell, L.V. (1993) *The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids*. N Engl J Med 328: 238-244.

Bray, G.A.; Paeratakul, S. y Popkin, B.M. (2004) *Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies*. Physiol Behav 83: 549-555.

Brenner, R.R. (1977) *Regulatory function of delta6 desaturate -- key enzyme of polyunsaturated fatty acid synthesis*. Adv Exp Med Biol 83: 85-101.

Brouwer, I.A.; Wanders, A.J. y Katan, M.B. (2013) *Trans fatty acids and cardiovascular health: research completed?* Eur J Clin Nutr 67: 541-547.

Bruce, C.R.; Brodin, C.; Turner, N.; Cleasby, M.E.; van der Leij, F.R.; Cooney, G.J. y Kraegen, E.W. (2007) *Overexpression of carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle in vivo increases fatty acid oxidation and reduces triacylglycerol esterification*. Am J Physiol Endocrinol Metab 292: E1231-1237.

Byrne, C.; Rockett, H. y Holmes, M.D. (2002) *Dietary fat, fat subtypes, and breast cancer risk: lack of an association among postmenopausal women with no history of benign breast disease*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11: 261-265.

Calder, P.C. (2006) *n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases*. Am J Clin Nutr 83: 1505S-1519S.

Canete, R.; Gil-Campos, M.; Aguilera, C.M. y Gil, A. (2007) *Development of insulin resistance and its relation to diet in the obese child*. Eur J Nutr 46: 181-187.

Canolty, N.L. y Koong, L.J. (1976) *Utilization of energy for maintenance and for fat and lean gains by mice selected for rapid postweaning growth rate*. J Nutr 106: 1202-1208.

Clarke, S.D. (2001) *Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome*. J Nutr 131: 1129-1132.

Clement, L.; Poirier, H.; Niot, I.; Bocher, V.; Guerre-Millo, M.; Krief, S.; Staels, B. y Besnard, P. (2002) *Dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse.* J Lipid Res 43: 1400-1409.

Coats, R.H. (1964) *A comparison of the metabolism of cis,cis-linoleic, trans,trans-linoleic and a mixture of cis,trans- and trans,cis-linoleic acids in the rat.* J Lipid Res 5: 473-476.

Cohen, G.; Dembiec, D. y Marcus, J. (1970) *Measurement of catalase activity in tissue extracts.* Anal Biochem 34: 30-38.

Colandre, M.E.; Diez, R.S. y Bernal, C.A. (2003) *Metabolic effects of trans fatty acids on an experimental dietary model.* Br J Nutr 89: 631-639.

Connor, S.L. y Connor, W.E. (1997) *Are fish oils beneficial in the prevention and treatment of coronary artery disease?* Am J Clin Nutr 66: 1020S-1031S.

Cook, H.W. (1981) *The influence of trans-acids on desaturation and elongation of fatty acids in developing brain.* Lipids 16: 920-926.

Corcoran, M.P.; Lamon-Fava, S. y Fielding, R.A. (2007) *Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise.* Am J Clin Nutr 85: 662-677.

Corl, B.A.; Baumgard, L.H.; Dwyer, D.A.; Griinari, J.M.; Phillips, B.S. y Bauman, D.E. (2001) *The role of Delta(9)-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA.* J Nutr Biochem 12: 622-630.

Cromer, K.D.; Jenkins, T.C. y Thies, E.J. (1995) *Replacing cis octadecenoic acid with trans isomers in media containing rat adipocytes stimulates lipolysis and inhibits glucose utilization.* J Nutr 125: 2394-2399.

Cryer, A.; Kirtland, J.; Jones, H.M. y Gurr, M.I. (1978) *Lipoprotein lipase activity in the tissues of guinea pigs exposed to different dietary fats from conception to three months of age.* Biochem J 170: 169-172.

Chajes, V.; Thiebaut, A.C.; Rotival, M.; Gauthier, E.; Maillard, V.; Boutron-Ruault, M.C.; Joulin, V.; Lenoir, G.M. y Clavel-Chapelon, F. (2008) *Association between serum trans-*

monounsaturated fatty acids and breast cancer risk in the E3N-EPIC Study. Am J Epidemiol 167: 1312-1320.

Chapman, D.; Owens, N.F. y Walker, D.A. (1966) *Physical studies of phospholipids. II. Monolayer studies of some synthetic 2,3-diacyl-DL-phosphatidylethanolamines and phosphatidylcholines containing trans double bonds.* Biochim Biophys Acta 120: 148-155.

Chatelain, F.; Kohl, C.; Esser, V.; McGarry, J.D.; Girard, J. y Pegorier, J.P. (1996) *Cyclic AMP and fatty acids increase carnitine palmitoyltransferase I gene transcription in cultured fetal rat hepatocytes.* Eur J Biochem 235: 789-798.

Chavarro, J.E.; Stampfer, M.J.; Campos, H.; Kurth, T.; Willett, W.C. y Ma, J. (2008) *A prospective study of trans-fatty acid levels in blood and risk of prostate cancer.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17: 95-101.

Chen, P.S.; Toribara, T.Y. y Warner, H. (1956) *Microdetermination of phosphorus.* Analytical Chemistry 28: 1756-1758.

Christiansen, E.; Schnider, S.; Palmvig, B.; Tauber-Lassen, E. y Pedersen, O. (1997) *Intake of a diet high in trans monounsaturated fatty acids or saturated fatty acids. Effects on postprandial insulinemia and glycemia in obese patients with NIDDM.* Diabetes Care 20: 881-887.

Dashti, N.; Feng, Q.; Freeman, M.R.; Gandhi, M. y Franklin, F.A. (2002) *Trans polyunsaturated fatty acids have more adverse effects than saturated fatty acids on the concentration and composition of lipoproteins secreted by human hepatoma HepG2 cells.* J Nutr 132: 2651-2659.

Dashti, N.; McConathy, W.J. y Ontko, J.A. (1980) *Production of apolipoproteins E and A-I by rat hepatocytes in primary culture.* Biochim Biophys Acta 618: 347-358.

de Roos, N.; Schouten, E. y Katan, M. (2001) *Consumption of a solid fat rich in lauric acid results in a more favorable serum lipid profile in healthy men and women than consumption of a solid fat rich in trans-fatty acids.* J Nutr 131: 242-245.

Del Prado, M.; Hernandez-Montes, H. y Villalpando, S. (1994) *Characterization of a fluorometric method for lipoprotein lipase*. Arch Med Res 25: 331-335.

Diamond, F.B., Jr. y Eichler, D.C. (2002) *Leptin and the adipocyte endocrine system*. Crit Rev Clin Lab Sci 39: 499-525.

Dorfman, S.E.; Laurent, D.; Gounarides, J.S.; Li, X.; Mullarkey, T.L.; Rocheford, E.C.; Sari-Sarraf, F.; Hirsch, E.A.; Hughes, T.E. y Commerford, S.R. (2009) *Metabolic implications of dietary trans-fatty acids*. Obesity (Silver Spring) 17: 1200-1207.

Du, Z.Y.; Degrace, P.; Gresti, J.; Loreau, O. y Clouet, P. (2010) *Dissimilar properties of vaccenic versus elaidic acid in beta-oxidation activities and gene regulation in rat liver cells*. Lipids 45: 581-591.

Dulloo, A.G. y Girardier, L. (1992) *Influence of dietary composition on energy expenditure during recovery of body weight in the rat: implications for catch-up growth and obesity relapse*. Metabolism 41: 1336-1342.

Eaton, S.B. y Konner, M. (1985) *Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications*. N Engl J Med 312: 283-289.

Egwin, P.O. y Sgoutas, D. (1971) *The fatty acids of adrenal lipids from rats fed partially hydrogenated soybean fat*. J Nutr 101: 315-321.

El-Badry, A.M.; Graf, R. y Clavien, P.A. (2007) *Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver?* J Hepatol 47: 718-725.

Ellman, G. y Lysko, H. (1979) *A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups*. Anal Biochem 93: 98-102.

Emken, E.A. (1979a) *Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers*. Am Oil Chem Soc 151-175.

Emken, E.A. (1979b) *Utilization and effects of isomeric fatty acids in humans*. En: *Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers* (Eds.: Emken, E.A. y Dutton, H.J.) Am Oil Chem Soc, Champaign, IL, p. 99-123.

Esposito, K.; Marfella, R.; Ciotola, M.; Di Palo, C.; Giugliano, F.; Giugliano, G.; D'Armiento, M.; D'Andrea, F. y Giugliano, D. (2004) *Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial*. JAMA 292: 1440-1446.

Estruch, R.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Corella, D.; Salas-Salvado, J.; Ruiz-Gutierrez, V.; Covas, M.I.; Fiol, M.; Gomez-Gracia, E.; Lopez-Sabater, M.C.; Vinyoles, E.; Aros, F.; Conde, M.; Lahoz, C.; Lapetra, J.; Saez, G. y Ros, E. (2006) *Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial*. Ann Intern Med 145: 1-11.

Farina, A.C.; Hirabara, S.; Sain, J.; Latorre, M.E.; Gonzalez, M.; Curi, R. y Bernal, C. (2014) *Conjugated linoleic acid improves glucose utilization in the soleus muscle of rats fed linoleic acid-enriched and linoleic acid-deprived diets*. Nutr Res 34: 1092-1100.

Faulconnier, Y.; Roy, A.; Ferlay, A.; Chardigny, J.M.; Durand, D.; Lorenz, S.; Gruffat, D. y Chilliard, Y. (2006) *Effect of dietary supply of butters rich either in trans-10-18 : 1 or in trans-11-18 : 1 plus cis-9, trans-11-18 : 2 on rabbit adipose tissue and liver lipogenic activities*. Br J Nutr 96: 461-468.

Ferramosca, A.; Savy, V. y Zara, V. (2008) *Olive oil increases the hepatic triacylglycerol content in mice by a distinct influence on the synthesis and oxidation of fatty acids*. Biosci Biotechnol Biochem 72: 62-69.

Ferraro, R.T.; Eckel, R.H.; Larson, D.E.; Fontvieille, A.M.; Rising, R.; Jensen, D.R. y Ravussin, E. (1993) *Relationship between skeletal muscle lipoprotein lipase activity and 24-hour macronutrient oxidation*. J Clin Invest 92: 441-445.

Field, A.E.; Willett, W.C.; Lissner, L. y Colditz, G.A. (2007) *Dietary fat and weight gain among women in the Nurses' Health Study*. Obesity 15: 967-976.

Field, C.J.; Blewett, H.H.; Proctor, S. y Vine, D. (2009) *Human health benefits of vaccenic acid*. Appl Physiol Nutr Metab 34: 979-991.

Folch, J.; Lees, M. y Sloane Stanley, G.H. (1957) *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues*. J Biol Chem 226: 497-509.

Fruhbeck, G.; Gomez-Ambrosi, J.; Muruzabal, F.J. y Burrell, M.A. (2001) *The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation*. Am J Physiol Endocrinol Metab 280: E827-847.

Gaiva, M.H.; Couto, R.C.; Oyama, L.M.; Couto, G.E.; Silveira, V.L.; Riberio, E.B. y Nascimento, C.M. (2001) *Polyunsaturated fatty acid-rich diets: effect on adipose tissue metabolism in rats*. Br J Nutr 86: 371-377.

Gardner, C.D.; Kiazand, A.; Alhassan, S.; Kim, S.; Stafford, R.S.; Balise, R.R.; Kraemer, H.C. y King, A.C. (2007) *Comparison of the Atkins, Zone, Ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors among overweight premenopausal women: the A TO Z Weight Loss Study: a randomized trial*. JAMA 297: 969-977.

Gebauer, S.K.; Chardigny, J.M.; Jakobsen, M.U.; Lamarche, B.; Lock, A.L.; Proctor, S.D. y Baer, D.J. (2011) *Effects of ruminant trans fatty acids on cardiovascular disease and cancer: a comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies*. Adv Nutr 2: 332-354.

Gibson, R.A.; Muhlhausler, B. y Makrides, M. (2011) *Conversion of linoleic acid and alpha-linolenic acid to long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs), with a focus on pregnancy, lactation and the first 2 years of life*. Matern Child Nutr 7: 17-26.

Giudetti, A.M.; Beynen, A.C.; Lemmens, A.G.; Gnoni, G.V. y Geelen, M.J. (2003) *Hepatic fatty acid metabolism in rats fed diets with different contents of C18:0, C18:1 cis and C18:1 trans isomers*. Br J Nutr 90: 887-893.

Goldberg, I.J. (1996) *Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis*. J Lipid Res 37: 693-707.

Gonzalez, M.J.; Gray, J.I.; Schemmel, R.A.; Dugan, L., Jr. y Welsch, C.W. (1992) *Lipid peroxidation products are elevated in fish oil diets even in the presence of added antioxidants*. J Nutr 122: 2190-2195.

Goyens, P.L.; Spilker, M.E.; Zock, P.L.; Katan, M.B. y Mensink, R.P. (2006) *Conversion of alpha-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio*. Am J Clin Nutr 84: 44-53.

Greenwood, M.R. (1985) *The relationship of enzyme activity to feeding behavior in rats: lipoprotein lipase as the metabolic gatekeeper*. Int J Obes 9: 67-70.

Griffin, M.D.; Sanders, T.A.; Davies, I.G.; Morgan, L.M.; Millward, D.J.; Lewis, F.; Slaughter, S.; Cooper, J.A.; Miller, G.J. y Griffin, B.A. (2006) *Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on insulin sensitivity, lipoprotein size, and postprandial lipemia in men and postmenopausal women aged 45-70 y: the OPTILIP Study*. Am J Clin Nutr 84: 1290-1298.

Griinari, J.M.; Corl, B.A.; Lacy, S.H.; Chouinard, P.Y.; Nurmela, K.V. y Bauman, D.E. (2000) *Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Delta(9)-desaturase*. J Nutr 130: 2285-2291.

Gruffat, D.; De La Torre, A.; Chardigny, J.M.; Durand, D.; Loreau, O. y Bauchart, D. (2005) *Vaccenic acid metabolism in the liver of rat and bovine*. Lipids 40: 295-301.

Grundy, S.M. y Denke, M.A. (1990) *Dietary influences on serum lipids and lipoproteins*. J Lipid Res 31: 1149-1172.

Guillen, N.; Acin, S.; Navarro, M.A.; Surra, J.C.; Arnal, C.; Lou-Bonafonte, J.M.; Muniesa, P.; Martinez-Gracia, M.V. y Osada, J. (2009) *Knowledge of the biological actions of extra virgin olive oil gained from mice lacking apolipoprotein E*. Rev Esp Cardiol 62: 294-304.

Guzman, M.; Klein, W.; Gomez del Pulgar, T. y Geelen, M.J. (1999) *Metabolism of trans fatty acids by hepatocytes*. Lipids 34: 381-386.

Hamosh, M.; Cary, T.R.; Chernik, S.S. y O., S.R. (1970) *Lipoprotein lipase activity of adipose and mammary tissue and plasma triglyceride in pregnant and lactating rats*. Biochim Biophys Acta 210: 473-482.

Han, S.N.; Leka, L.S.; Lichtenstein, A.H.; Ausman, L.M.; Schaefer, E.J. y Meydani, S.N. (2002) *Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia*. J Lipid Res 43: 445-452.

Heckers, H.; Korner, M.; Tuschen, T.W. y Melcher, F.W. (1977) *Occurrence of individual trans-isomeric fatty acids in human myocardium, jejunum and aorta in relation to different degrees of atherosclerosis*. *Atheroscler Suppl* 28: 389-398.

Hegsted, D.M.; Ausman, L.M.; Johnson, J.A. y Dallal, G.E. (1993) *Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data*. *Am J Clin Nutr* 57: 875-883.

Hegsted, D.M.; McGandy, R.B.; Myers, M.L. y Stare, F.J. (1965) *Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man*. *Am J Clin Nutr* 17: 281-295.

Herzberg, G.R. y Janmohamed, N. (1980) *Regulation of hepatic lipogenesis by dietary maize oil or tripalmitin in the meal-fed mouse*. *Br J Nutr* 43: 571-579.

Hirsch, J.; Farquhar, J.W.; Ahrens, E.H., Jr.; Peterson, M.L. y Stoffel, W. (1960) *Studies of adipose tissue in man. A microtechnic for sampling and analysis*. *Am J Clin Nutr* 8: 499-511.

Hodson, L.; Skeaff, C.M. y Fielding, B.A. (2008) *Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake*. *Prog Lipid Res* 47: 348-380.

Holman, R.T. (1986) *Control of polyunsaturated acids in tissue lipids*. *J Am Coll Nutr* 5: 183-211.

Holmes, M.D.; Hunter, D.J.; Colditz, G.A.; Stampfer, M.J.; Hankinson, S.E.; Speizer, F.E.; Rosner, B. y Willett, W.C. (1999) *Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer*. *JAMA* 281: 914-920.

Horrobin, D.F. (1981) *Loss of delta-6-desaturase activity as a key factor in aging*. *Med Hypotheses* 7: 1211-1220.

Horrobin, D.F. (1993) *Fatty acid metabolism in health and disease: the role of delta-6-desaturase*. *Am J Clin Nutr* 57: 732S-736S.

Horton, J.D.; Goldstein, J.L. y Brown, M.S. (2002) *SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver*. *J Clin Invest* 109: 1125-1131.

Horton, J.D. y Shimomura, I. (1999) *Sterol regulatory element-binding proteins: activators of cholesterol and fatty acid biosynthesis*. *Curr Opin Lipidol* 10: 143-150.

Howard, B.V.; Van Horn, L.; Hsia, J.; Manson, J.E.; Stefanick, M.L.; Wassertheil-Smoller, S.; Kuller, L.H.; LaCroix, A.Z.; Langer, R.D.; Lasser, N.L.; Lewis, C.E.; Limacher, M.C.; Margolis, K.L.; Mysiw, W.J.; Ockene, J.K.; Parker, L.M.; Perri, M.G.; Phillips, L.; Prentice, R.L.; Robbins, J.; Rossouw, J.E.; Sarto, G.E.; Schatz, I.J.; Snetselaar, L.G.; Stevens, V.J.; Tinker, L.F.; Trevisan, M.; Vitolins, M.Z.; Anderson, G.L.; Assaf, A.R.; Bassford, T.; Beresford, S.A.; Black, H.R.; Brunner, R.L.; Brzyski, R.G.; Caan, B.; Chlebowski, R.T.; Gass, M.; Granek, I.; Greenland, P.; Hays, J.; Heber, D.; Heiss, G.; Hendrix, S.L.; Hubbell, F.A.; Johnson, K.C. y Kotchen, J.M. (2006) *Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial*. *JAMA* 295: 655-666.

Hsu, R.Y. y Lardy, H.A. (1969) *Malic enzyme*. *Methods in enzymology* 13: 230-235.

Hu, F.B.; Manson, J.E. y Willett, W.C. (2001) *Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review*. *J Am Coll Nutr* 20: 5-19.

Huang, Y.S.; Huang, W.C.; Li, C.W. y Chuang, L.T. (2011) *Eicosadienoic acid differentially modulates production of pro-inflammatory modulators in murine macrophages*. *Mol Cell Biochem* 358: 85-94.

Hulsmann, W.C.; Geelhoed-Mieras, M.M.; Jansen, H. y Houtsmuller, U.M. (1979) *Alteration of the lipase activities of muscle, adipose tissue and liver by rapeseed oil feeding of rats*. *Biochim Biophys Acta* 572: 183-187.

Hunter, J.E. (1990) *n-3 fatty acids from vegetable oils*. *Am J Clin Nutr* 51: 809-814.

Hurtado de Catalfo, G.; Alaniz, M.J.T.d. y Marra, C.A. (2013) *Dietary lipid-induced changes in enzymes of hepatic lipid metabolism*. *Nutrition* 29: 462-469.

Ibrahim, A.; Natrajan, S. y Ghafoorunissa, R. (2005) *Dietary trans-fatty acids alter adipocyte plasma membrane fatty acid composition and insulin sensitivity in rats*. *Metabolism* 54: 240-246.

Ikemoto, S.; Takahashi, M.; Tsunoda, N.; Maruyama, K.; Itakura, H. y Ezaki, O. (1996) *High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils*. Metabolism 45: 1539-1546.

Jacome-Sosa, M.M.; Lu, J.; Wang, Y.; Ruth, M.R.; Wright, D.C.; Reaney, M.J.; Shen, J.; Field, C.J.; Vine, D.F. y Proctor, S.D. (2010) *Increased hypolipidemic benefits of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in combination with trans-11 vaccenic acid in a rodent model of the metabolic syndrome, the JCR:LA-cp rat*. Nutr Metab 7: 60.

Jaudszus, A.; Moeckel, P.; Hamelmann, E. y Jahreis, G. (2010) *Trans-10,cis-12-CLA-caused lipodystrophy is associated with profound changes of fatty acid profiles of liver, white adipose tissue and erythrocytes in mice: possible link to tissue-specific alterations of fatty acid desaturation*. Ann Nutr Metab 57: 103-111.

Javadi, M.; Everts, H.; Hovenier, R.; Kocsis, S.; Lankhorst, A.E.; Lemmens, A.G.; Schonewille, J.T.; Terpstra, A.H. y Beynen, A.C. (2004) *The effect of six different C18 fatty acids on body fat and energy metabolism in mice*. Br J Nutr 92: 391-399.

Jeffcoat, R. y James, A.T. (1978) *The control of stearoyl-CoA desaturase by dietary linoleic acid*. FEBS Lett 85: 114-118.

Judd, J.T.; Clevidence, B.A.; Muesing, R.A.; Wittes, J.; Sunkin, M.E. y Podczasy, J.J. (1994) *Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women*. Am J Clin Nutr 59: 861-868.

Jump, D.B. (2002) *The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids*. J Biol Chem 277: 8755-8758.

Jump, D.B.; Clarke, S.D.; Thelen, A. y Liimatta, M. (1994) *Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids*. J Lipid Res 35: 1076-1084.

Katan, M.B.; Mensink, R.; Van Tol, A. y Zock, P.L. (1995) *Dietary trans fatty acids and their impact on plasma lipoproteins*. Can J Cardiol 11: 36G-38G.

Kavanagh, K.; Jones, K.L.; Sawyer, J.; Kelley, K.; Carr, J.J.; Wagner, J.D. y Rudel, L.L. (2007) *Trans fat diet induces abdominal obesity and changes in insulin sensitivity in monkeys*. Obesity 15: 1675-1684.

Keys, A. (1965) *Effects of Different Dietary Fats on Plasma-Lipid Levels*. Lancet 1: 318-319.

Keys, A. (1970) *Coronary heart disease in seven countries*. Circulation 41: 186-195.

Keys, A. (1995) *Mediterranean diet and public health: personal reflections*. Am J Clin Nutr 61: 1321S-1323S.

Kiens, B.; Essen-Gustavsson, B.; Gad, P. y Lithell, H. (1987) *Lipoprotein lipase activity and intramuscular triglyceride stores after long-term high-fat and high-carbohydrate diets in physically trained men*. Clin Physiol 7: 1-9.

Kim, E.H.; Willett, W.C.; Colditz, G.A.; Hankinson, S.E.; Stampfer, M.J.; Hunter, D.J.; Rosner, B. y Holmes, M.D. (2006) *Dietary fat and risk of postmenopausal breast cancer in a 20-year follow-up*. Am J Epidemiol 164: 990-997.

Kim, H.K.; Kim, S.R.; Ahn, J.Y.; Cho, I.J.; Yoon, C.S. y Ha, T.Y. (2005) *Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats*. J Nutr Sci Vitaminol 51: 8-15.

Kim, M.; Park, Y.; Albright, K. y Pariza, M. (2002) *Differential responses of hamsters and rats fed high-fat or low-fat diets supplemented with conjugated linoleic acid*. Nutr Res 22: 715-722.

King, I.B.; Kristal, A.R.; Schaffer, S.; Thornquist, M. y Goodman, G.E. (2005) *Serum trans-fatty acids are associated with risk of prostate cancer in beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14: 988-992.

Kinsella, J.E.; Bruckner, G.; Mai, J. y Shimp, J. (1981) *Metabolism of trans fatty acids with emphasis on the effects of trans, trans-octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acid, and prostaglandins: an overview*. Am J Clin Nutr 34: 2307-2318.

Kirschenbauer, H.G. (1960) *Fats and Oils*. 2nd. Ed (Eds.:Reinhold) New York.

Kolanowski, W. y Laufenberg, G. (2006) *Enrichment of food products with polyunsaturated fatty acids by fish oil addition*. European Food Research and Technology 222: 472-477.

Koletzko, B. y Decsi, T. (1997) *Metabolic aspects of trans fatty acids*. Clin Nutr 16: 229-237.

Kramer, D.N. y Guilbault, G.G. (1963) *A substrate for the fluorimetric determination of lipase activity*. Analytical Chemistry 35: 588-589.

Kuby, S.A. y Noltmann, E.A. (1966) *Glucose 6-phosphate dehydrogenase from brewer's yeast*. Methods in enzymology 9: 116-117.

Kummerow, F.A. (1975) *Nutritional perspectives and atherosclerosis. Symposium*. J Food Sci 40: 12-17.

Kummerow, F.A. (1974) *Current studies on relation of fat to health*. J Am Oil Chem Soc 51: 255-259.

Kummerow, F.A. (1979) *Effects of isomeric fats on animal tissue lipid classes and atherosclerosis*. En: *Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers* (Eds.: Emken, E.A. y H.J., D.) Am Oil Chem Soc, Champaign, IL, p. 151-175.

Larque, E.; Garcia-Ruiz, P.A.; Perez-Llamas, F.; Zamora, S. y Gil, A. (2003) *Dietary trans fatty acids alter the compositions of microsomes and mitochondria and the activities of microsomal delta6-fatty acid desaturase and glucose-6-phosphatase in livers of pregnant rats*. J Nutr 133: 2526-2531.

Larque, E.; Perez-Llamas, F.; Puerta, V.; Giron, M.D.; Suarez, M.D.; Zamora, S. y Gil, A. (2000) *Dietary trans fatty acids affect docosahexaenoic acid concentrations in plasma and liver but not brain of pregnant and fetal rats*. Pediatr Res 47: 278-283.

Larque, E.; Zamora, S. y Gil, A. (2001) *Dietary trans fatty acids in early life: a review*. Early Hum Dev 65: S31-41.

Laurell, S. (1966) *A method for routine determination of plasma triglycerides*. Scand J Clin Lab Invest 18: 668-672.

Lawrence, G.D. (2013) *Dietary fats and health: dietary recommendations in the context of scientific evidence*. *Adv Nutr* 4: 294-302.

Lawson, L.D. y Kummerow, F.A. (1979) *beta-Oxidation of the coenzyme A esters of vaccenic, elaidic, and petroselaidic acids by rat heart mitochondria*. *Lipids* 14: 501-503.

Lefevre, M.; Lovejoy, J.C.; Smith, S.R.; Delany, J.P.; Champagne, C.; Most, M.M.; Denkins, Y.; de Jonge, L.; Rood, J. y Bray, G.A. (2005) *Comparison of the acute response to meals enriched with cis- or trans-fatty acids on glucose and lipids in overweight individuals with differing FABP2 genotypes*. *Metabolism* 54: 1652-1658.

Lichtenstein, A.H.; Appel, L.J.; Brands, M.; Carnethon, M.; Daniels, S.; Franch, H.A.; Franklin, B.; Kris-Etherton, P.; Harris, W.S.; Howard, B.; Karanja, N.; Lefevre, M.; Rudel, L.; Sacks, F.; Van Horn, L.; Winston, M. y Wylie-Rosett, J. (2006) *Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee*. *Circulation* 114: 82-96.

Lichtenstein, A.H.; Ausman, L.M.; Jalbert, S.M. y Schaefer, E.J. (1999) *Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels*. *N Engl J Med* 340: 1933-1940.

Liu, W.H.; Stephen Inbaraj, B. y Chen, B.H. (2006) *Analysis and formation of trans fatty acids in hydrogenated soybean oil during heating*. *Food Chemistry* 104: 1740-1749.

Livak, K.J. y Schmittgen, T.D. (2001) *Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method*. *Methods* 25: 402-408.

Lock, A.L.; Tyburczy, C.; Dwyer, D.A.; Harvatine, K.J.; Destailats, F.; Mouloungui, Z.; Candy, L. y Bauman, D.E. (2007) *Trans-10 octadecenoic acid does not reduce milk fat synthesis in dairy cows*. *J Nutr* 137: 71-76.

Lopes, P.A.; Martins, S.V.; Pinho, M.S.; Alfaia, C.M.; Fontes, C.M.; Rodrigues, P.O.; Morais, G.S.; Castro, M.F.; Pinto, R. y Prates, J.A. (2008) *Diet supplementation with the cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid isomer affects the size of adipocytes in Wistar rats*. *Nutr Res* 28: 480-486.

Lopez-Garcia, E.; Schulze, M.B.; Meigs, J.B.; Manson, J.E.; Rifai, N.; Stampfer, M.J.; Willett, W.C. y Hu, F.B. (2005) *Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction*. J Nutr 135: 562-566.

Lorente-Cebrian, S.; Costa, A.G.; Navas-Carretero, S.; Zabala, M.; Martinez, J.A. y Moreno-Aliaga, M.J. (2013) *Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence*. J Physiol Biochem 69: 633-651.

Louheranta, A.M.; Turpeinen, A.K.; Vidgren, H.M.; Schwab, U.S. y Uusitupa, M.I. (1999) *A high-trans fatty acid diet and insulin sensitivity in young healthy women*. Metabolism 48: 870-875.

Lovejoy, J.C.; Smith, S.R.; Champagne, C.M.; Most, M.M.; Lefevre, M.; DeLany, J.P.; Denkins, Y.M.; Rood, J.C.; Veldhuis, J. y Bray, G.A. (2002) *Effects of diets enriched in saturated (palmitic), monounsaturated (oleic), or trans (elaidic) fatty acids on insulin sensitivity and substrate oxidation in healthy adults*. Diabetes Care 25: 1283-1288.

Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. y Randall, R.J. (1951) *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. J Biol Chem 193: 265-275.

Lund, P.; Sejrsen, K. y Straarup, E.M. (2006) *Incorporation of conjugated linoleic acid and vaccenic acid into lipids from rat tissues and plasma*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 108: 991-998.

Lynen, F. (1969) *Yeast fatty acid synthase*. Methods in enzymology 14: 14-17.

Mahfouz, M.M.; Johnson, S. y Holman, R.T. (1980) *The effect of isomeric trans-18:1 acids on the desaturation of palmitic, linoleic and eicosa-8,11,14-trienoic acids by rat liver microsomes*. Lipids 15: 100-107.

Mahfouz, M.M.; Smith, T.L. y Kummerow, F.A. (1984) *Effect of dietary fats on desaturase activities and the biosynthesis of fatty acids in rat-liver microsomes*. Lipids 19: 214-222.

Manco, M.; Mingrone, G.; Greco, A.V.; Capristo, E.; Gniuli, D.; De Gaetano, A. y Gasbarrini, G. (2000) *Insulin resistance directly correlates with increased saturated fatty acids in skeletal muscle triglycerides*. Metabolism 49: 220-224.

Marshall, J.A. y Bessesen, D.H. (2002) *Dietary fat and the development of type 2 diabetes*. Diabetes Care 25: 620-622.

Martin, J.C.; Gregoire, S.; Siess, M.H.; Genty, M.; Chardigny, J.M.; Berdeaux, O.; Juaneda, P. y Sebedio, J.L. (2000) *Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats*. Lipids 35: 91-98.

Massaro, M.; Scoditti, E.; Carluccio, M.A. y De Caterina, R. (2008) *Basic mechanisms behind the effects of n-3 fatty acids on cardiovascular disease*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 79: 109-115.

Matravadia, S.; Herbst, E.A.; Jain, S.S.; Mutch, D.M. y Holloway, G.P. (2014) *Both linoleic and alpha-linolenic acid prevent insulin resistance but have divergent impacts on skeletal muscle mitochondrial bioenergetics in obese Zucker rats*. Am J Physiol Endocrinol Metab 307: E102-114.

Matthan, N.R.; Cianflone, K.; Lichtenstein, A.H.; Ausman, L.M.; Jauhiainen, M. y Jones, P.J. (2001) *Hydrogenated fat consumption affects acylation-stimulating protein levels and cholesterol esterification rates in moderately hypercholesterolemic women*. J Lipid Res 42: 1841-1848.

Maziere, C.; Conte, M.A.; Degonville, J.; Ali, D. y Maziere, J.C. (1999) *Cellular enrichment with polyunsaturated fatty acids induces an oxidative stress and activates the transcription factors AP1 and NFkappaB*. Biochem Biophys Res Commun 265: 116-122.

Meijer, G.W.; van Tol, A.; van Berkel, T.J. y Weststrate, J.A. (2001) *Effect of dietary elaidic versus vaccenic acid on blood and liver lipids in the hamster*. Atheroscler Suppl 157: 31-40.

Menotti, A.; Lanti, M.; Puddu, P.E. y Kromhout, D. (2000) *Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for a European coronary risk chart*. Heart 84: 238-244.

Mensink, R.P. (2005) *Metabolic and health effects of isomeric fatty acids*. Curr Opin Lipidol 16: 27-30.

Mensink, R.P. y Katan, M.B. (1990) *Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects*. N Engl J Med 323: 439-445.

Mensink, R.P.; Zock, P.L.; Kester, A.D. y Katan, M.B. (2003) *Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials*. Am J Clin Nutr 77: 1146-1155.

Micha, R. y Mozaffarian, D. (2009) *Trans fatty acids: effects on metabolic syndrome, heart disease and diabetes*. Nat Rev Endocrinol 5: 335-344.

Michaud, S.E. y Renier, G. (2001) *Direct regulatory effect of fatty acids on macrophage lipoprotein lipase: potential role of PPARs*. Diabetes 50: 660-666.

Ministerio de Salud de la Nación (2011) *Segunda Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No Transmisibles*. Primera Edición, Buenos Aires. 1. http://www.msal.gov.ar/ent/images/stories/vigilancia/pdf/fr_encuesta-nacional-factores-riesgo-2011.pdf.

Ministerio de Salud de la Nación (2012a) *Cantidad de defunciones por grupo de edad y sexo, según grupo de causas seleccionadas. Ambos sexos*. Estadísticas Vitales. Información básica 2012 5: 35. <http://www.deis.gov.ar/publicaciones/archivos/Serie35Nro56.pdf>.

Ministerio de Salud de la Nación (2012b) *Estado nutricional en Argentina. Información epidemiológica*. Plan Argentina Saludable 1. <http://www.msal.gov.ar/argentina-saludable/plan/epiinfo.html>.

Mitmesser, S.H. y Carr, T.P. (2005) *Trans fatty acids alter the lipid composition and size of apoB-100-containing lipoproteins secreted by HepG2 cells*. J Nutr Biochem 16: 178-183.

Mozaffarian, D.; Katan, M.B.; Ascherio, A.; Stampfer, M.J. y Willett, W.C. (2006) *Trans fatty acids and cardiovascular disease*. N Engl J Med 354: 1601-1613.

Mozaffarian, D.; Pischon, T.; Hankinson, S.E.; Rifai, N.; Joshipura, K.; Willett, W.C. y Rimm, E.B. (2004) *Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women*. Am J Clin Nutr 79: 606-612.

Murphy, M.C.; Zampelas, A.; Puddicombe, S.M.; Furlonger, N.P.; Morgan, L.M. y Williams, C.M. (1993) *Pretranslational regulation of the expression of the lipoprotein lipase (EC 3.1.1.34) gene by dietary fatty acids in the rat*. Br J Nutr 70: 727-736.

Natarajan, S. y Ibrahim, A. (2005) *Dietary trans fatty acids alter diaphragm phospholipid fatty acid composition, triacylglycerol content and glucose transport in rats*. Br J Nutr 93: 829-833.

Nepokroeff, C.M.; Lakshmanan, M.R. y Porter, J.W. (1975) *Fatty-acid synthase from rat liver*. Methods in enzymology 35: 37-44.

Nestel, P.; Noakes, M.; Belling, B.; McArthur, R.; Clifton, P.; Janus, E. y Abbey, M. (1992) *Plasma lipoprotein lipid and Lp[a] changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet*. J Lipid Res 33: 1029-1036.

Nicolosi, R.J.; Wilson, T.A.; Rogers, E.J. y Kritchevsky, D. (1998) *Effects of specific fatty acids (8:0, 14:0, cis-18:1, trans-18:1) on plasma lipoproteins, early atherogenic potential, and LDL oxidative properties in the hamster*. J Lipid Res 39: 1972-1980.

Ntambi, J.M. (1992) *Dietary regulation of stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in mouse liver*. J Biol Chem 267: 10925-10930.

Ntambi, J.M. (1999) *Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol*. J Lipid Res 40: 1549-1558.

Ohkawa, H.; Ohishi, N. y Yagi, K. (1979) *Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction*. Anal Biochem 95: 351-358.

Ohlrogge, J.B.; Gulley, R.M. y Emken, E.A. (1982) *Occurrence of octadecenoic fatty acid isomers from hydrogenated fats in human tissue lipid classes*. Lipids 17: 551-557.

Olivecrona, T.; Liu, G.; Hultin, M. y Bengtsson-Olivecrona, G. (1993) *Regulation of lipoprotein lipase*. Biochem Soc Trans 21: 509-513.

Osso, F.S.; Moreira, A.S.; Teixeira, M.T.; Pereira, R.O.; Tavares do Carmo, M. y Moura, A.S. (2008) *Trans fatty acids in maternal milk lead to cardiac insulin resistance in adult offspring*. Nutrition 24: 727-732.

Otway, S. y Robinson, D.S. (1967) *The use of a non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions*. J Physiol 190: 321-332.

Palacios, A.; Piergiacomini, V. y Catala, A. (2003) *Antioxidant effect of conjugated linoleic acid and vitamin A during non enzymatic lipid peroxidation of rat liver microsomes and mitochondria*. Mol Cell Biochem 250: 107-113.

Pan, D.A.; Lillioja, S.; Kriketos, A.D.; Milner, M.R.; Baur, L.A.; Bogardus, C.; Jenkins, A.B. y Storlien, L.H. (1997) *Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action*. Diabetes 46: 983-988.

Panigrahi, K. y Sampugna, J. (1993) *Effects of trans fatty acids on lipid accumulation in 3T3-L1 cells*. Lipids 28: 1069-1074.

Park, W.J.; Kothapalli, K.S.; Lawrence, P.; Tyburczy, C. y Brenna, J.T. (2009) *An alternate pathway to long-chain polyunsaturates: the FADS2 gene product Delta8-desaturates 20:2n-6 and 20:3n-3*. J Lipid Res 50: 1195-1202.

Park, Y.; Storkson, J.M.; Albright, K.J.; Liu, W. y Pariza, M.W. (1999) *Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice*. Lipids 34: 235-241.

Park, Y.; Storkson, J.M.; Ntambi, J.M.; Cook, M.E.; Sih, C.J. y Pariza, M.W. (2000) *Inhibition of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives*. Biochim Biophys Acta 1486: 285-292.

Parks, E.J. y Hellerstein, M.K. (2000) *Carbohydrate-induced hypertriglycerolemia: historical perspective and review of biological mechanisms*. Am J Clin Nutr 71: 412-433.

Pawar, A. y Jump, D.B. (2003) *Unsaturated fatty acid regulation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activity in rat primary hepatocytes*. J Biol Chem 278: 35931-35939.

Pereira-Assumpcao, R.; Duarte dos Santos, F.; de Mattos Machado Andrade, P.; Freire Barreto, G. y Tavares do Carmo, M.d.G. (2004) *Effect of variation of trans-fatty acid in lactating rats' diet on lipoprotein lipase activity in mammary gland, liver, and adipose tissue.* Nutrition 20: 806-811.

Perona, J.S. y Ruiz-Gutierrez, V. (2000) *Effect of two high-oleic oils on the liver lipid composition of spontaneously hypertensive rats.* Life Sci 66: 521-531.

Pettersen, J. y Opstvedt, J. (1992) *Trans fatty acids: Fatty acid composition of lipids of the brain and other organs in suckling piglets.* Lipids 27: 761-769.

Pisani, L.P.; Oller do Nascimento, C.M.; Bueno, A.A.; Biz, C.; Albuquerque, K.T.; Ribeiro, E.B. y Oyama, L.M. (2008) *Hydrogenated fat diet intake during pregnancy and lactation modifies the PAI-1 gene expression in white adipose tissue of offspring in adult life.* Lipids Health Dis 7: 13.

Poirier, H.; Niot, I.; Clement, L.; Guerre-Millo, M. y Besnard, P. (2005) *Development of conjugated linoleic acid (CLA)-mediated lipotrophic syndrome in the mouse.* Biochimie 87: 73-79.

Pollard, M.R.; Gunstone, F.D.; James, A.T. y Morris, L.J. (1980) *Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver.* Lipids 15: 306-314.

Power, G.W. y Newsholme, E.A. (1997) *Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle.* J Nutr 127: 2142-2150.

Raclot, T. (2003) *Selective mobilization of fatty acids from adipose tissue triacylglycerols.* Prog Lipid Res 42: 257-288.

Raclot, T. y Groscolas, R. (1994) *Individual fish-oil n-3 polyunsaturated fatty acid deposition and mobilization rates for adipose tissue of rats in a nutritional steady state.* Am J Clin Nutr 60: 72-78.

Rafecas, I.; Esteve, M.; Fernandez-Lopez, J.A.; Remesar, X. y Alemany, M. (1994) *Whole-rat protein content estimation: applicability of the N x 6.25 factor*. Br J Nutr 72: 199-209.

Rajala, M.W. y Scherer, P.E. (2003) *Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis*. Endocrinology 144: 3765-3773.

Reeves, P.G.; Nielsen, F.H. y Fahey, G.C., Jr. (1993) *AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet*. J Nutr 123: 1939-1951.

Riccardi, G.; Giacco, R. y Parillo, M. (2003) *Lifestyle modification to prevent type 2 diabetes*. International Congress Series 1253: 231-236.

Rissanen, H.; Knekt, P.; Jarvinen, R.; Salminen, I. y Hakulinen, T. (2003) *Serum fatty acids and breast cancer incidence*. Nutr Cancer 45: 168-175.

Rocquelin, G.; Guenot, L.; Justrabo, E.; Grynberg, A. y David, M. (1985) *Fatty acid composition of human heart phospholipids: data from 53 biopsy specimens*. J Mol Cell Cardiol 17: 769-773.

Rodriguez, V.M.; Macarulla, M.T.; Chavarri, M.; Duran, D. y Portillo, M.P. (2001) *Lipoprotein lipase and lipogenic enzyme activities in adipose tissue from rats fed different lipid sources*. J Physiol Biochem 57: 245-254.

Roy, A.; Chardigny, J.M.; Bauchart, D.; Ferlay, A.; Lorenz, S.; Durand, D.; Gruffat, D.; Faulconnier, Y.; Sebedio, J.L. y Chilliard, Y. (2007) *Butters rich either in trans-10-C18:1 or in trans-11-C18:1 plus cis-9, trans-11 CLA differentially affect plasma lipids and aortic fatty streak in experimental atherosclerosis in rabbits*. Animal 1: 467-476.

Ruiz-Gutierrez, V.; Perez-Espinosa, A.; Vazquez, C.M. y Santa-Maria, C. (1999) *Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic-acid sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver*. Br J Nutr 82: 233-241.

Ruiz-Gutierrez, V.; Vazquez, C.M. y Santa-Maria, C. (2001) *Liver lipid composition and antioxidant enzyme activities of spontaneously hypertensive rats after ingestion of dietary fats (fish, olive and high-oleic sunflower oils)*. Biosci Rep 21: 271-285.

Sain, J.; Gonzalez, M.A.; Lasa, A.; Scalerandi, M.V.; Bernal, C.A. y Portillo, M.P. (2013) *Effects of trans-fatty acids on liver lipid metabolism in mice fed on diets showing different fatty acid composition*. Ann Nutr Metab 62: 242-249.

Saldeen, P. y Saldeen, T. (2006) *Omega-3 Fatty acids: structure, function, and relation to the metabolic syndrome, infertility, and pregnancy*. Metab Syndr Relat Disord 4: 138-148.

Sanhueza, J.C.; Nieto, S.K. y Valenzuela, A.B. (2002) *Acido Linoleico Conjugado: un ácido graso con isomería trans potencialmente beneficioso*. Rev. Chil. Nutr. 29:

Santora, J.E.; Palmquist, D.L. y Roehrig, K.L. (2000) *Trans-vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice*. J Nutr 130: 208-215.

Saravanan, N.; Haseeb, A.; Ehtesham, N.Z. y Ghafoorunissa (2005) *Differential effects of dietary saturated and trans-fatty acids on expression of genes associated with insulin sensitivity in rat adipose tissue*. Eur J Endocrinol 153: 159-165.

Scalerandi, M.V.; Gonzalez, M.A.; Sain, J.; Fariña, A.C. y Bernal, C.A. (2014) *Effect of conjugated linoleic acid mixtures and different edible oils on body composition and lipid regulation in mice*. Nutr Hosp 29: 591-601.

Scalerandi, M.V.; González, M.A.; Saín, J.; Reus, V.; Lavandera, J. y Bernal, C.A. (2013) *Efecto diferencial de la fuente de grasas dietarias sobre las alteraciones hepáticas inducidas por los conjugados del ácido linoleico en ratones*. FABICIB 17: 51-65.

Scherer, P.E. (2006) *Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ*. Diabetes 55: 1537-1545.

Schmitz, G. y Ecker, J. (2008) *The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids*. Prog Lipid Res 47: 147-155.

Schrock, C.G. y Connor, W.E. (1975) *Incorporation of the dietary trans fatty acid (C18:1) into the serum lipids, the serum lipoproteins and adipose tissue*. Am J Clin Nutr 28: 1020-1027.

Sealls, W.; Gonzalez, M.; Brosnan, M.J.; Black, P.N. y DiRusso, C.C. (2008) *Dietary polyunsaturated fatty acids (C18:2 omega6 and C18:3 omega3) do not suppress hepatic lipogenesis*. *Biochim Biophys Acta* 1781: 406-414.

Seppanen-Laakso, T.; Laakso, I.; Backlund, P.; Vanhanen, H. y Viikari, J. (1996) *Elaidic and trans-vaccenic acids in plasma phospholipids as indicators of dietary intake of 18:1 trans-fatty acids*. *J Chromatogr B Biomed Appl* 687: 371-378.

Serhan, C.N.; Arita, M.; Hong, S. y Gotlinger, K. (2004) *Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their endogenous aspirin-triggered epimers*. *Lipids* 39: 1125-1132.

Serra-Majem, L.; Trichopoulou, A.; Ngo de la Cruz, J.; Cervera, P.; Garcia Alvarez, A.; La Vecchia, C.; Lemtouni, A. y Trichopoulos, D. (2004) *Does the definition of the Mediterranean diet need to be updated?* *Public Health Nutr* 7: 927-929.

Sethi, J.K. y Vidal-Puig, A.J. (2007) *Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation*. *J Lipid Res* 48: 1253-1262.

Shao, F. y Ford, D.A. (2014) *Elaidic acid increases hepatic lipogenesis by mediating sterol regulatory element binding protein-1c activity in HuH-7 cells*. *Lipids* 49: 403-413.

Shimano, H.; Horton, J.D.; Hammer, R.E.; Shimomura, I.; Brown, M.S. y Goldstein, J.L. (1996) *Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a*. *J Clin Invest* 98: 1575-1584.

Shimomura, I.; Bashmakov, Y.; Shimano, H.; Horton, J.D.; Goldstein, J.L. y Brown, M.S. (1997) *Cholesterol feeding reduces nuclear forms of sterol regulatory element binding proteins in hamster liver*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 12354-12359.

Silva, A.P.; Guimaraes, D.E.; Mizurini, D.M.; Maia, I.C.; Ortiz-Costa, S.; Sardinha, F.L. y do Carmo, M.G. (2006) *Dietary fatty acids early in life affect lipid metabolism and adiposity in young rats*. *Lipids* 41: 535-541.

Simopoulos, A.P. (1990) *Genetics and nutrition: or what your genes can tell you about nutrition*. *World Rev Nutr Diet* 63: 25-34.

Simopoulos, A.P. (1997) *Genetic variation: nutrients, physical activity and gene expression*. World Rev Nutr Diet 81: 61-71.

Simopoulos, A.P. (2001) *Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids*. World Rev Nutr Diet 88: 18-27.

Simopoulos, A.P. (2008) *The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases*. Exp Biol Med 233: 674-688.

Simopoulos, A.P. (2009) *Omega-6/omega-3 essential fatty acids: biological effects*. World Rev Nutr Diet 99: 1-16.

Smit, L.A.; Willett, W.C. y Campos, H. (2010) *trans-fatty acid isomers in adipose tissue have divergent associations with adiposity in humans*. Lipids 45: 693-700.

Soares da Costa, C.A.; Santana Carlos, A.; Lopes Gonzalez G de, P.; Reis, R.P.; dos Santos Ribeiro, M.; A., S.d.S.; Vieira Monteiro, A.M.; de Moura, E.G. y Alves do Nascimento-Saba, C.C. (2012) *Diet containing low n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids ratio, provided by canola oil, alters body composition and bone quality in young rats*. Eur J Nutr 51: 191-198.

Soriguer, F.; Esteva, I.; Rojo-Martinez, G.; Ruiz de Adana, M.S.; Dobarganes, M.C.; Garcia-Almeida, J.M.; Tinahones, F.; Beltran, M.; Gonzalez-Romero, S.; Oliveira, G. y Gomez-Zumaquero, J.M. (2004) *Oleic acid from cooking oils is associated with lower insulin resistance in the general population (Pizarra study)*. Eur J Endocrinol 150: 33-39.

Specter, S.E.; Hamilton, J.S.; Stern, J.S. y Horwitz, B.A. (1995) *Chronic protein restriction does not alter energetic efficiency or brown adipose tissue thermogenic capacity in genetically obese (fa/fa) Zucker rats*. J Nutr 125: 2183-2193.

Sprecher, H.; Luthria, D.L.; Mohammed, B.S. y Baykousheva, S.P. (1995) *Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids*. J Lipid Res 36: 2471-2477.

Stearns, E.M., Jr.; Rysavy, J.A. y Privett, O.S. (1967) *Metabolism of cis-11, cis-14- and trans-11,trans-14-eicosadienoic acids in the rat*. J Nutr 93: 485-490.

Storlien, L.H.; Hulbert, A.J. y Else, P.L. (1998) *Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1: 559-563.

Storlien, L.H.; James, D.E.; Burleigh, K.M.; Chisholm, D.J. y Kraegen, E.W. (1986) *Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats*. *Am J Physiol* 251: E576-583.

Storlien, L.H.; Jenkins, A.B.; Chisholm, D.J.; Pascoe, W.S.; Khouri, S. y Kraegen, E.W. (1991) *Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid*. *Diabetes* 40: 280-289.

Storlien, L.H.; Kraegen, E.W.; Chisholm, D.J.; Ford, G.L.; Bruce, D.G. y Pascoe, W.S. (1987) *Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats*. *Science* 237: 885-888.

Sugano, M.; Watanabe, M.; Yoshida, K.; Tomioka, M.; Miyamoto, M. y Kritchevsky, D. (1989) *Influence of dietary cis and trans fats on DMH-induced colon tumors, steroid excretion, and eicosanoid production in rats prone to colon cancer*. *Nutr Cancer* 12: 177-187.

Surette, M.E.; Stull, D. y Lindemann, J. (2008) *The impact of a medical food containing gammalinolenic and eicosapentaenoic acids on asthma management and the quality of life of adult asthma patients*. *Curr Med Res Opin* 24: 559-567.

Takatori, T.; Phillips, F.C.; Shimasaki, H. y Privett, O.S. (1976) *Effects of dietary saturated and trans fatty acids on tissue lipid composition and serum LCAT activity in the rat*. *Lipids* 11: 272-280.

Takeuchi, H.; Nakamoto, T.; Mori, Y.; Kawakami, M.; Mabuchi, H.; Ohishi, Y.; Ichikawa, N.; Koike, A. y Masuda, K. (2001) *Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats*. *Biosci Biotechnol Biochem* 65: 1748-1754.

Teixeira, A.M.; Dias, V.T.; Pase, C.S.; Roversi, K.; Bouffleur, N.; Barcelos, R.C.; Benvegno, D.M.; Trevizol, F.; Dolci, G.S.; Carvalho, N.R.; Quatrin, A.; Soares, F.A.; Reckziegel, P.; Segat, H.J.; Rocha, J.B.; Emanuelli, T. y Burger, M.E. (2012) *Could dietary trans fatty acids induce*

movement disorders? Effects of exercise and its influence on Na(+)/K(+)-ATPase and catalase activity in rat striatum. *Behav Brain Res* 226: 504-510.

Terpstra, A.H. (2001) Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: role of metabolic rate. *J Nutr* 131: 2067-2068.

Tholstrup, T.; Raff, M.; Basu, S.; Nonboe, P.; Sejrsen, K. y Straarup, E.M. (2006) Effects of butter high in ruminant trans and monounsaturated fatty acids on lipoproteins, incorporation of fatty acids into lipid classes, plasma C-reactive protein, oxidative stress, hemostatic variables, and insulin in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 83: 237-243.

Thompson, A.K.; Shaw, D.I.; Minihane, A.M. y Williams, C.M. (2008) Trans-fatty acids and cancer: the evidence reviewed. *Nutr Res Rev* 21: 174-188.

Trayhurn, P. y Beattie, J.H. (2001) Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc* 60: 329-339.

Trayhurn, P. y Bing, C. (2006) Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1237-1249.

Trayhurn, P. y Wood, I.S. (2004) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 92: 347-355.

Tsuzuki, W.; Matsuoka, A. y Ushida, K. (2010) Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process. *Food Chemistry* 123: 976-982.

Turpeinen, A.M.; Mutanen, M.; Aro, A.; Salminen, I.; Basu, S.; Palmquist, D.L. y Griinari, J.M. (2002) Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr* 76: 504-510.

Tyburczy, C.; Major, C.; Lock, A.L.; Destailats, F.; Lawrence, P.; Brenna, J.T.; Salter, A.M. y Bauman, D.E. (2009) Individual trans octadecenoic acids and partially hydrogenated vegetable oil differentially affect hepatic lipid and lipoprotein metabolism in golden Syrian hamsters. *J Nutr* 139: 257-263.

van Dam, R.M.; Rimm, E.B.; Willett, W.C.; Stampfer, M.J. y Hu, F.B. (2002) *Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men*. Ann Intern Med 136: 201-209.

Van Tol, A.; Zock, P.L.; Van Gent, T. y Katan, M.B. (1995) *Dietary trans fatty acids increase serum cholesterylester transfer protein activity in man*. Atherosclerosis 115: 129-134.

Vanden Heuvel, J. (2004) *Diet, fatty acids, and regulation of genes important for heart disease*. Curr Atheroscler Rep 6: 432-440.

Vega-Lopez, S.; Ausman, L.M.; Jalbert, S.M.; Erkkila, A.T. y Lichtenstein, A.H. (2006) *Palm and partially hydrogenated soybean oils adversely alter lipoprotein profiles compared with soybean and canola oils in moderately hyperlipidemic subjects*. Am J Clin Nutr 84: 54-62.

Videla, L.A.; Rodrigo, R.; Araya, J. y Poniachik, J. (2004) *Oxidative stress and depletion of hepatic long-chain polyunsaturated fatty acids may contribute to nonalcoholic fatty liver disease*. Free Radic Biol Med 37: 1499-1507.

Voorrips, L.E.; Brants, H.A.; Kardinaal, A.F.; Hiddink, G.J.; van den Brandt, P.A. y Goldbohm, R.A. (2002) *Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer*. Am J Clin Nutr 76: 873-882.

Voshol, P.J.; Jong, M.C.; Dahlmans, V.E.; Kratky, D.; Levak-Frank, S.; Zechner, R.; Romijn, J.A. y Havekes, L.M. (2001) *In muscle-specific lipoprotein lipase-overexpressing mice, muscle triglyceride content is increased without inhibition of insulin-stimulated whole-body and muscle-specific glucose uptake*. Diabetes 50: 2585-2590.

Wade, L.G.J. (1993) *Química Orgánica* (Eds.:Hispanoamericana, P.H.) México.

Wahrburg, U.; Kratz, M. y Cullen, P. (2002) *Mediterranean diet, olive oil and health*. Eur J Lipid Sci Tech 104: 698-705.

Wang, C.F. y Hegsted, D.M. (1949) *Determination of blood and plasma volumes, thiocyanate space, and bromsulfalein clearance in rats*. Am J Physiol 156: 227-232.

Wang, Y.; Jacome-Sosa, M.M.; Ruth, M.R.; Goruk, S.D.; Reaney, M.J.; Glimm, D.R.; Wright, D.C.; Vine, D.F.; Field, C.J. y Proctor, S.D. (2009) *Trans-11 vaccenic acid reduces hepatic lipogenesis and chylomicron secretion in JCR:LA-cp rats*. J Nutr 139: 2049-2054.

Wang, Y.; Lu, J.; Ruth, M.R.; Goruk, S.D.; Reaney, M.J.; Glimm, D.R.; Vine, D.F.; Field, C.J. y Proctor, S.D. (2008) *Trans-11 vaccenic acid dietary supplementation induces hypolipidemic effects in JCR:LA-cp rats*. J Nutr 138: 2117-2122.

Warren, J.M.; Simon, V.A.; Bartolini, G.; Erickson, K.L.; Mackey, B.E. y Kelley, D.S. (2003) *Trans-10,cis-12 CLA increases liver and decreases adipose tissue lipids in mice: possible roles of specific lipid metabolism genes*. Lipids 38: 497-504.

Weggemans, R.M.; Rudrum, M. y Trautwein, E. (2004) *Intake of ruminant versus industrial trans fatty acids and risk of coronary heart disease – what is the evidence?* European Journal of Lipid Science and Technology 106: 390-397.

Weiland, S.K.; von Mutius, E.; Husing, A. y Asher, M.I. (1999) *Intake of trans fatty acids and prevalence of childhood asthma and allergies in Europe. ISAAC Steering Committee*. Lancet 353: 2040-2041.

Windham, W.R. (1999) *Animal feed*. En: *Official Methods of Analysis* (Eds.: Cunniff, P.) AOAC International, Gaithersburg, MD, p. 4.1-4.45.

Wood, R. (1979) *Distribution of dietary geometrical and positional isomers in brain, heart, kidney, liver, lung, muscle, spleen, adipose and hepatoma*. En: *Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers* (Eds.: Emken, E.A. y Dutton, H.J.) Am Oil Chem Soc, Champaign, IL, p. 213-281.

Wood, R.; Chumbler, F. y Weigand, R. (1970) *Incorporation of dietary cis- and trans-isomers of octadecanoate in lipid classes of liver and hepatoma*. J Biol Chem 252: 1965-1976.

World Health Organization, W.H.O. (2010) *Part II: World health indicators. Cause specific mortality and morbidity*. World health statistics 2010 Ginebra, Suiza: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS10_Full.pdf.

Zevenbergen, H.; de Bree, A.; Zeelenberg, M.; Laitinen, K.; van Duijn, G. y Floter, E. (2009) *Foods with a high fat quality are essential for healthy diets*. Ann Nutr Metab 54: 15-24.

Zimmermann, R.; Haemmerle, G.; Wagner, E.M.; Strauss, J.G.; Kratky, D. y Zechner, R. (2003) *Decreased fatty acid esterification compensates for the reduced lipolytic activity in hormone-sensitive lipase-deficient white adipose tissue*. J Lipid Res 44: 2089-2099.