FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA
Y BIOLOGIA MOLECULAR

COMPOSICION LIPIDICA DEL PLASMA, MICROSOMAS HEPATICOS Y MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATA. INFLUENCIA DE LA DIETA Y DE LA EDAD

José Luis Periago Mínguez

Universidad de Granada

1986

UNIVERSIDAD DE GRANADA
ARTAMENTO DE BIOQUIMICA

GRANADA

Tesis Doctoral, dirigida por las Dras. Dª Mª Dolores Suárez Ortega y Dª Mª Luisa Pita Calandre. Fue leida el dia 28 de Junio de 1986 en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, ante el Tribunal formado por los Profesores: Mataix Verdu, Granada; Boza López, Granada; Camacho Rubio, Granada; Sánchez de Medina Contreras, Granada; Medina Jimenez, Salamanca. Obtuvo la calificación de apto "cum laude".

R. 31.813

BIBLIOTECA
FACULTAD DE CIENCIAS
GRANADA
Estante 5
Tabla
Núm. 14

Departamento de Bioquímica
y Biología Molecular

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
SALIDA N.º 1175
Fecha 17 JUL. 1986

COMPOSICION LIPIDICA DEL PLASMA, MICROSOMAS HEPATICOS Y MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATA. INFLUENCIA DE LA DIETA Y DE LA EDAD.

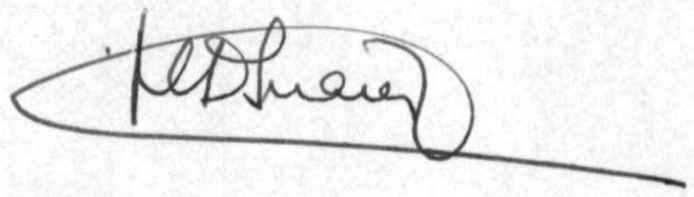
José Luis Periago Mínguez

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
Nº Documento 6135370 40
Nº Copia 1155190 41

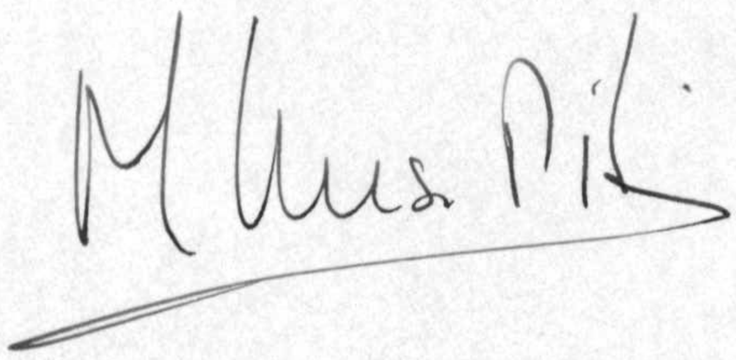
Universidad de Granada

1986

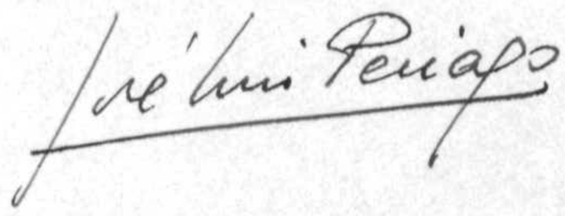
Memoria presentada para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias por el Licenciado D. José Luis Periago Mínguez, dirigida por las Dras. Dñª Mª Dolores Suarez Ortega y Dñª Mª Luisa Pita Calandre.



Fdo.: Mª Dolores Suarez Ortega



Fdo.: Mª Luisa Pita Calandre



Fdo.: José Luis Periago Mínguez

Licenciado D. José Luis Periago Mínguez, aspirante al Grado de Doctor en Ciencias.

Esta memoria ha sido realizada en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Granada durante los cursos académicos 1982-83, 1983-84, 1984-85 y 1985-86.

Parte de los resultados que se recogen en esta memoria han sido presentados en el XI Congreso Nacional de la SEB, Tenerife, 1984 y en el XII Congreso Nacional de la SEB de Valencia, 1985.

Cuando inicié el trabajo que iba a ser el origen de esta memoria anoté un "Buen viaje" en el cuaderno de laboratorio, que reflejaba la ilusión y el optimismo con que estaba dispuesto a abordarlo. Hoy, concluido este, he vuelto a esa primera página del cuaderno y aquel deseo que yo mismo me dirigía debo decir que se ha hecho realidad, ha sido efectivamente un "Buen viaje", un viaje feliz por el tren de la Bioquímica que han hecho posible tantas personas e instituciones a las que les estoy enormemente agradecido:

A la Dra. Mª José Faus Dader por sacarme ese primer billete a través de sus enseñanzas.

A los Drs. Juan Antonio Aguilera y Dolores Gonzalez Pacanowska por esa generosa renuncia que me permitió conseguir el suplemento del billete que hizo posible la continuación del viaje.

Al Dr. D. Eduardo García Peregrín,director del Departamento de Bioquímica,durante este trayecto por su buen hacer al frente del mismo y por la disponibilidad y capacidad de escucha que siempre ha tenido a cualquier tipo de problemas.

Al Dr. D. Fermín Sanchez de Medina Contreras, director del Departamento de Bioquímica en el inicio de este viaje,por haberme permitido entrar a formar parte de su grupo de colaboradores, por el estímulo que ha supuesto para mi el ser depositario de su confianza y por haberme aconsejado no apearme en una estación que no era la adecuada.

Al Dr. D. Angel Gil Hernandez quien con su gran capacidad científica y la gran humanidad que le caracteriza ha trocado cualquier problema o estado de pesimismo que han surgido a lo largo del camino en la solución más

acertada y el optimismo más esperanzado.

A todos los miembros del Departamento Interfacultativo de Bioquímica, hoy de Bioquímica y Biología Molecular, y muy especialmente a la Dra. Carolina De-Lucchi, Santiago Molina, Mª Antonia Sanchez, y Mª Teresa Abellán, compañeros en el mismo vagón, por la amistad y ayuda desinteresada que me han prestado en todo momento y que han hecho el viaje mucho más facil y atractivo.

A UNIASA por su buen hacer como empresa seria, así como por facilitarme el acceso a sus instalaciones, especialmente al Departamento de Control y al Departamento de Investigación. Al personal de estos departamentos mi gratitud, pues su esfuerzo ha supuesto un atajo considerable en la duración de este viaje.

A Glyco Ibérica la gentileza que ha tenido en poner a nuestra disposición puntual y desinteresadamente los MCT necesarios para la elaboración de las dietas.

Al Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia por las orientaciones recibidas tanto en cuanto a la composición como elaboración de las dietas utilizadas.

A mi familia y amigos quienes entre parada y parada en el andén o a través de la ventanilla con su comprensión, apoyo y cariño me han distraido lo suficiente como para proseguir el viaje sin cansancio.

Y finalmente quiero agradecer a las tres personas que han viajado conmigo en el mismo compartimento y a las que les debo no solo el pasado sino también el futuro:

A Mª Dolores porque ha dado de sí mucho más de lo que yo esperaba de ella, porque no solo ha sabido perdonarme los momentos de caracter agrio que han sido muchos,

sino que se ha volcado generosa y pacientemente en mi camino olvidandose bastante del suyo propio.

A las Dras. Mª Dolores Suarez y Mª Luisa Pita, almas de este trabajo, de quienes he aprendido trabajando codo con codo en el laboratorio, en el despacho o incluso fuera del Departamento no solo mucha de la Bioquímica que ellas saben sino que me han ayudado a madurar humanamente. Me siento orgulloso de haberlas tenido como directoras pues no solo han hecho posible la realización de este trabajo, sino que lo que es más importante me han hecho ser feliz trabajando a su lado.

A todos Gracias por este viaje.

A mis padres

A Mª Dolores

INDICE DE ABREVIATURAS

AA	Acido araquidónico (20:4w6)
ADP	Adenosin difostato
AGCL	Acidos grasos de cadena larga
AGCM	Acidos grasos de cadena media
AGE	Acidos grasos esenciales
AGL	Acidos grasos libres
AGPI	Acidos grasos poliinsaturados
AMP c	Adenosin monofosfato cíclico
ATP	Adenosin trifosfato
CAT (I yII)	Carnitina acil transferasa
C/P	Relación molar colesterol/fósforo lipídico
DHA	Acido docosahexenoico (22:6w3)
DHLA	Acido dihomo-γ-linolénico (20:3w6)
EC	Esteres del colesterol
EDTA	Acido etilenodiaminotetracético (en su forma tetrasódica)
EPA	Acido eicosapentenoico (20:5w3)
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HMG-CoA	Hidroximetil glutaril coenzima A
imOSM	Miliosmolaridad ideal
IP 3	Inositol trifosfato
LCT	Triacilglicéridos de cadena larga
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPC	Lisofosfatidilcolina
LPL	Lipoproteín lipasa
LT	Leucotrieno
M	Dieta con aceite de maíz
MCT	Triacilglicéridos de cadena media
MCT-M	Dieta con aceite de maíz y MCT al 50 %
MCT-O	Dieta con aceite de oliva y MCT al 50 %
MG	Mnoacilglicéridos

NADH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma reducida)
O	Dieta con aceite de oliva
PC	Fosfatidilcolina
PE	Fosfatidiletanolamina
PG	Prostaglandinas
PI	Fosfatidilinositol
PL	Fosfolípidos
PLT	Fosfolípidos totales
P/S	Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados y los ácidos grasos saturados
QM	Quilomicrones
RMN	Resonancia magnética nuclear
RSE	Resonancia de espín electrónico
SM	Esfingomielina
TG	Triacilglicéridos
TX	Tromboxanos
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

INDICE

Página

INTRODUCCION 15
1. PARTE TEORICA 19
1.1.- Funciones de los lípidos..... 20
1.2.- Fuentes de ácidos grasos..... 22
1.3.- Características generales de las membranas celulares..... 36
1.4.- Características generales del eritrocito.... 48
1.4.1.- Composición de la membrana del eritrocito..... 49
1.5.- Características generales de la membrana del retículo endoplasmático..... 57
1.6.- Biosíntesis de ácidos grasos insaturados y compuestos relacionados..... 60
1.7.- Influencia de la dieta sobre los niveles de colesterol plasmático..... 75
1.8.- Influencia de la dieta sobre la composición en ácidos grasos de los lípidos plasmáticos y tisulares..... 82
2. MATERIAL Y METODOS..... 93
2.1.- Material..... 94
2.1.1.- Material biológico..... 94
2.1.2.- Acondicionamiento de los animales..... 94
2.1.3.- Aparatos..... 95
2.1.3.1.- Centrifugación..... 95
2.1.3.2.- Cromatografia..... 95
2.1.3.3.- Termostatización y gaseo..... 96
2.1.3.4.- Espectrofotometria..... 96
2.1.3.5.- Aparatos de medida auxiliar y otros..... 96

Página

2.1.4.- Productos..... 97
2.1.4.1.- Reactivos..... 97
2.1.4.2.- Dietas..... 98
2.2.- Métodos.....104
2.2.1.- Tratamiento de los animales.....104
2.2.2.- Obtención del plasma.....104
2.2.3.- Obtención de membranas de eritrocitos.....105
2.2.4.- Obtención de microsomas hepáticos.....106
2.2.5.- Extracción lipídica.....108
2.2.6.- Cromatografia en capa fina del extracto lipídico.....109
2.2.6.1.- Preparación de las placas.....109
2.2.6.2.- Aplicación de la muestra.....109
2.2.6.3.- Desarrollo cromatográfico y revelado.....110
2.2.7.- Metilación.....112
2.2.8.- Cromatografia gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.....112
2.2.9.- Determinación de fósforo total....113
2.2.9.1.- Fundamento.....113
2.2.9.2.- Soluciones utilizadas ..114
2.2.9.3.- Técnica 114
2.2.9.4.- Cálculos 115
2.2.10.- Determinación de colesterol 116
2.2.10.1.-Fundamento 116
2.2.10.2.-Técnica 117
2.2.10.3.-Cálculos.....117
2.2.11.- Relación molar colesterol/fósforo 118

Página

2.2.12.- Determinación de proteínas..... 118
2.2.13.- Análisis estadístico de los resultados..... 119
2.2.14.- Expresión de los resultados..... 119
3. RESULTADOS..... 122
3.1. Composición en ácidos grasos de los lípidos plasmáticos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación..... 123
3.1.1.- Acidos grasos saturados..... 123
3.1.2.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9..... 130
3.1.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6. 137
3.1.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3..... 147
3.2. Composición en ácidos grasos de los lípidos de membranas de eritrocitos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación... 156
3.2.1.- Acidos grasos saturados..... 156
3.2.2.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9..... 162
3.2.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6 167
3.2.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3..... 176
3.3. Composición en ácidos grasos de los lípidos de microsomas hepáticos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación..... 187
3.3.1.- Acidos grasos saturados..... 187
3.3.2.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9..... 194

Página

3.3.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6..... 200
3.3.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3..... 209
3.4. Niveles de colesterol en plasma y membranas; fósforo lipídico y relación molar C/P en membranas. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación..... 233
4. DISCUSION..... 238
4.1. Consideraciones generales..... 239
4.2. Acidos grasos saturados..... 242
4.3. Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9..... 247
4.4. Acidos grasos insaturados de la serie w 6.. 251
4.5. Acidos grasos insaturados de la serie w 3.. 257
4.6. Colesterol y fósforo lipídico..... 262
5. CONCLUSIONES..... 266
6. BIBLIOGRAFIA..... 270

INTRODUCCION

INTRODUCCION

En la actualidad son numerosos los trabajos que se dirigen a conseguir un mejor conocimiento de la influencia que la grasa de la dieta ejerce sobre el desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria. Se dispone de un gran número de datos epidemiológicos que demuestran que dietas con niveles altos de colesterol y ácidos grasos saturados, dietas ricas en grasas animales, conducen a un aumento en los niveles de colesterol plasmático. Se ha demostrado, por otra parte, que existe una estrecha correlación entre los niveles de colesterol plasmático y la incidencia de muertes por infarto de miocardio.

Aunque no se conoce con certeza cual es el mecanismo, hoy se sabe que las grasas ricas en ácidos grasos insaturados, cuando sustituyen a la grasa saturada en la dieta, conducen a una disminución del colesterol plasmático y reducen la incidencia de enfermedad coronaria.

Es por ello, que en los últimos años la proporción de grasas vegetales, ricas en ácidos grasos poliinsaturados, en la dieta se ha incrementado considerablemente. Sin embargo, un elevado consumo de ácidos grasos poliinsaturados puede tener efectos indeseables, en animales de experimentación se ha demostrado que un elevado contenido de estos en las membranas, puede favorecer los procesos de carcinogénesis y envejecimiento celular como consecuencia de procesos de peroxidación y formación de radicales libres, disminuyen los niveles de lipoproteínas de alta densidad, modifican la composición de las membranas celulares,... Estudios llevados a cabo recientemente comparando los efectos de diferentes

tipos de grasa sobre el nivel de colesterol plasmático han demostrado que grasas enriquecidas en ácidos grasos monoinsaturados son tan eficaces como las ricas en ácidos grasos poliinsaturados en relación a los niveles de colesterol plasmático, sin poseer los potenciales efectos nocivos de los ácidos grasos poliinsaturados.

Sin embargo, la importancia del tipo de grasa de la dieta no se limita a su efecto sobre los niveles de colesterol plasmático. Los lípidos de la dieta influyen sobre la composición en ácidos grasos de los lípidos tisulares. Se han realizado numerosos estudios analizando los cambios inducidos por la dieta, sobre la distribución de lípidos totales o de fosfolípidos individuales en tejidos u órganos sin fraccionar. El estudio de los cambios producidos por la dieta, sobre los lípidos de membranas subcelulares, ha adquirido un gran interés por su papel como moduladores de las propiedades físicas de las membranas y su efecto sobre la actividad de algunas enzimas de membrana relacionadas con muchos procesos fisiológicos.

Particular interés tienen los efectos de la dieta sobre la composición lipídica de membranas en relación a los niveles de ácidos grasos saturados e insaturados, y la naturaleza de los insaturados presentes de las distintas series de ácidos grasos: oleico (w 9), linoleico (w 6) y linolénico (w 3). Además de los efectos biofísicos del cambio en la composición de ácidos grasos, el papel de estos como precursores de las distintas series de eicosanoides con actividades muy diversas justifica un profundo estudio de sus modificaciones por la dieta.

En este trabajo se ha realizado un estudio de la influencia que diferentes dietas, normalmente utili-

zadas en la alimentación, y de diferente composición de ácidos grasos podrían ejercer sobre la composición lipídica del plasma y membranas de rata. Los animales han sido alimentados (desde el destete y durante dos períodos de tiempo diferentes) con dietas que tenían como fuente lipídica aceite de oliva y triacilglicéridos de cadena media, y como control aceite de maíz.

Hemos seleccionado el aceite de oliva para nuestro trabajo porque, si bien son numerosos los trabajos realizados con dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados y su influencia sobre el perfil lipídico, no es este el caso del aceite de oliva que es la fuente natural más importante de ácidos grasos monoinsaturados, principalmente ácido oleico. Es además un hecho conocido, la menor incidencia de enfermedades cardiovascula — res en los paises mediterráneos cuya dieta lipídica ha sido clásicamente el aceite de oliva. Es por esto, que un estudio que permita un mejor conocimiento de las modificaciones del perfil lipídico de plasma y membranas, y su posible efecto beneficioso, tiene para nosotros un gran interés, máxime si se tiene en cuenta la gran im — portancia que desde el punto de vista socioeconómico tiene en nuestra región el cultivo del olivar.

Por otra parte y dado que los triacilglicéridos de cadena media se utilizan como fuente de energía fa — cilmente accesible en situaciones clínicas por su fácil digestión y absorción, nos ha parecido que tendría un gran interés evaluar su posible influencia sobre el perfil lipídico cuando de forma crónica sustituye parcialmente en la dieta a una grasa natural.

1. PARTE TEORICA

1. PARTE TEORICA

1.1.- Funciones de los lípidos

Las funciones que los lípidos van a desempeñar están,sin duda,determinadas por el caracter apolar que presentan.Por un lado,dado el alto potencial de oxidación de las moléculas de ácidos grasos constituyentes de los triacilglicéridos y a que estos se almacenan en forma anhidra,hace que estos compuestos sean los más eficientes como almacenadores de energía y cuantitatívamente los más importantes en la producción de esta. De otra parte,la naturaleza hidrofóbica de estos compuestos hace factible la separación del medio intra y extracelular,así como la diferenciación de las estructuras subcelulares en compartimentos acuosos distintos.

Siendo estas dos funciones,producción de energía y papel estructural,las más importantes cuantitatívamente hablando,no hemos de olvidar otras funciones que desempeñan los lípidos y que son de gran significado fisiológico.Entre ellas podemos citar:

- Control sobre los procesos metabólicos ejercido por prostaglandinas y hormonas esteroideas.
- Mantenimiento de la integridad alveolar
- Solubilización de sustancias no polares en los fluídos biológicos
- Coagulación sanguínea.

No trataremos aquí la clasificación de los compuestos lipídicos,pero dado que gran parte de estas moléculas contienen o provienen de los ácidos grasos y que las características hidrofóbicas que presentan derivan principalmente de ellos,nos detendremos especial

mente con este tipo de moléculas.

En mamíferos,al menos el 10% del peso corporal está constituido por lípidos,de los que la mayor parte son triacilglicéridos.Dado que a mayor grado de satura ción la energía originada en la oxidación de una molécula de ácido graso es mayor,la tendencia será la de almacenar los triacilglicéridos con el mayor número de moléculas de ácidos grasos lo más saturados posible, siempre que exista compatibilidad con el estado líqui do en que han de encontrarse necesariamente estos com puestos.

La inclusión de moléculas de ácidos grasos in saturados en los triacilglicéridos conlleva una dismi nución en el punto de fusión de estos,permaneciendo en estado líquido a la temperatura del organismo aún a - costa de ser menos eficientes como compuestos almacenadores de energía.Del compromiso participativo entre ácidos grasos saturados e insaturados,surge la regula ción que ejercen sobre el punto de fusión de los tria cilglicéridos de reserva,así como su contribución a la fluidez de membranas.

Los componentes químicos de la membrana,esto es,lípidos y proteínas,están adaptados de forma ideal para el papel dinámico de esta.La hipótesis actualmen te aceptada sobre la estructura de la membrana es la del modelo de "mosaico fluído" propuesta por Singer y Nicolson(1).Las membranas se consideran esencialmente como un mar de lípido semiestructurado y organizado en estado fluído en el que se pueden mover los diversos componentes.

Como veremos más adelante,el estado fluído de la membrana depende tanto del contenido acídico de las

moléculas de fosfolípidos presentes(aumenta cuanto mayor es la insaturación de los ácidos grasos) como del contenido en colesterol.El mantenimiento del estado fluído de la membrana es necesario,tanto para el funcionamiento apropiado de muchas proteínas integrales como para otros procesos tales como los de endo y exocitosis (2,3).

Además de las funciones reseñadas anteriormente,los ácidos grasos poliinsaturados tienen como propias el actuar como precursores de prostaglandinas y compuestos relacionados,así como su utilización en el tratamiento de enfermedades autoinmunes.Aunque el tratamiento de estas enfermedades con dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados está sujeto a controversia , existen datos en la bibliografía en los que se han empleado con éxito (4,5,6).Parece ser que altas concentraciones en ácidos grasos poliinsaturados actúan sobre los linfocitos reduciendo la actividad inmunológica,explicándose la etiología de estas enfermedades por el estado de anorexia en que se encuentran estos pacientes tras una infección por agentes patógenos,con la consiguiente disminución en la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en el sistema linfático (7).

1.2.- Fuentes de ácidos grasos

Los ácidos grasos presentes en mamíferos pueden tener su origen bien en la síntesis y/o transformaciones de moléculas de ácidos grasos preexistentes o bien de la ingesta dietaria.

La síntesis de ácidos grasos saturados es llevada a cabo por el complejo ácido graso sintetasa (8). El producto predominante que se forma es el palmitoil-CoA, el cual ejerce un control sobre esta ruta biosintética mediante una inhibición de la actividad ácido graso-sintetasa y una reducción en la disponibilidad de malonil-Co A (9).Es,así mismo,el palmitoil-Co A el sustrato preferido por el sistema de elongación microsomal dependiente de malonil-Co A,sintetizándose de esta forma ácidos grasos con mayor número de átomos de carbono (9). En la mayoría de los tejidos este sistema de alargamiento convierte casi exclusivamente el palmitato en estearato,a excepción del cerebro,el cual contiene uno o más sistemas de alargamiento adicionales,que sintetizan los ácidos grasos de cadena más larga que se encuentran formando parte de sus lípidos.

La síntesis endógena de ácidos grasos puede verse modificada por el contenido en grasa de la dieta,en tanto que este actúa sobre la síntesis de la acetil-CoA carboxilasa y de la ácido graso sintetasa aumentando la síntesis de ambas enzimas cuando la dieta está libre de grasa y disminuyendo cuando presenta un alto contenido en ella (10).

Los ácidos grasos insaturados son sintetizados por desaturación oxidativa directa de los ácidos grasos saturados de cadena larga anteriormente formados o de los procedentes de la dieta.La desaturación de los ácidos grasos tiene lugar en el retículo endoplasmático como trataremos con más detalle en el apartado 1.6.

Siendo una gran proporción de los ácidos grasos utilizados por los mamíferos suministrados por los alimentos,podríamos preguntarnos hasta que punto la dieta

incide en la composición acídica de sus lípidos,tanto de depósito como estructurales.Dada la capacidad de síntesis endógena y la adecuada utilización de los ácidos grasos tanto endógenos como exógenos,solo una manipulación drástica en la composición lipídica de la dieta se traducirá en una modificación del perfil lipídico,que de no existir esa alteración dietética sería característico para cada especie (11).

La modificación del perfil lipídico tras la instauración de una dieta manipulada se hará más patente en recién nacidos que en adultos puesto que es más rápida y apreciable.Hemos de tener en cuenta por otra parte, que del equilibrio entre los procesos de movilización y depósito depende la constancia en la cantidad de lípidos almacenados.En estado estacionario,la vida media de los lípidos de depósito en la rata es de alrededor de ocho dias,lo que implica que casi el 10% de los ácidos grasos en el tejido adiposo es reemplazado diariamente por nuevos ácidos grasos;en el hígado de la rata la vida media de estos es de aproximadamente dos dias (12).

No solo la dieta va a influir en la composición acídica de los lípidos de depósito y estructurales,sino que los niveles de lípidos circulantes son también afectados.Es un hecho comprobado que dietas hiperlipídicas compuestas fundamentalmente por ácidos grasos saturados aumentan los niveles plasmáticos de triacilglicéridos y colesterol tanto en el hombre como en animales de experimentación (13,14).

Dado que existe correlación entre los altos niveles de triacilglicéridos y colesterol en sangre con el desarrollo de aterosclerosis y enfermedades coronarias, es aconsejable una reducción en la ingesta de grasas de

forma que la contribución de esta a los requerimientos energéticos totales sea inferior al 35%.

El hecho de que la sustitución de ácidos grasos saturados por poliinsaturados reduzca los niveles de colesterol,ha aumentado el consumo de los productos ricos en ellos sin que,sin embargo,se haya producido un descenso en el consumo de grasas saturadas (15),cifrándose el porcentaje con que contribuye la ingesta de grasas a los requerimientos energéticos totales en un 40-45%,cuando hablamos de comunidades industrializadas.

Si la dieta es modificada de forma que solo esté constituída por ácidos grasos saturados se desarrolla un síndrome en los animales de experimentación(ratas) caracterizado por dermatitis,necrosis de la cola,esterilidad e hiperemia del tejido renal con hinchamiento de los riñones (16).En adultos humanos,la supresión de ácidos grasos poliinsaturados de la dieta conlleva una disminución en las concentraciones plasmáticas de estos,aunque debido a la amplia distribución de dichos compuestos en los alimentos comunes una deficiencia absoluta sea poco probable.

El síndrome es consecuencia de la incapacidad que tienen los mamíferos de sintetizar los ácidos grasos linoleico (18:2w6) y linolénico (18:3w3),por lo que estos han de ser necesariamente suministrados por la dieta.Las razones de este requisito no se conocen en su totalidad,siendo sin duda una de ellas el que sean precursores de las prostaglandinas,prostaciclinas,tromboxanos ...,productos de oxidación muy activos.

Aunque los animales jóvenes crecen satisfactoriamente con una dieta que suministre como única fuente lipídica los requerimientos mínimos en ácidos grasos

esenciales ,es aconsejable que el 30% de las calorías totales ingeridas proceda de los lípidos,contribuyendo como mínimo en 1 ó 2 % los ácidos grasos esenciales.En el caso de ratas macho,el porcentaje con que debe contribuir el ácido linoleico al total de calorías ingeridas es de 1.3 % (17).

La reducción de los niveles de colesterol sanguíneo por dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados,así como los descubrimientos y desarrollos tecnológicos que hicieron rentable la obtención de aceites a partir de numerosas semillas oleaginosas(cacahuete,girasol,haba de soja,etc) (18),impulsó el consumo de estos aceites con un elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados.

La entrada en el mercado de estos aceites y derivados, originó una competencia directa con las materias grasas tradicionales:mantequilla,manteca de cerdo y aceite de oliva (18),usadas como única fuente de grasas visibles hasta ese momento.

Sin embargo,en los últimos años ha crecido una cierta preocupación relacionada con el hecho de que la ingesta de cantidades demasiado elevadas de ácidos grasos poliinsaturados puede no ser saludable.En animales de experimentación la ingesta de este tipo de dietas ha favorecido la carcinogénesis (19,20),ha alterado la composición de las membranas celulares (21) y reducido los niveles de lipoproteínas de alta densidad(HDL)(22, 23,24).Gran parte de sus potenciales efectos nocivos van asociados a las reacciones de autooxidación que pueden sufrir en el organismo;estas reacciones llevan implícita la formación de radicales libres y se ha sugerido que la acumulación durante largo tiempo de daños

tisulares causados por reacciones de radicales libres conducen finalmente al deterioro funcional de los tejidos y a los síntomas asociados con el proceso del envejecimiento.La administración de antioxidantes como los tocoferoles(vitamina E),que reaccionan con cualquier radical libre producido,pero que no generan a su vez reacciones en cadena autopropagantes,protegen de la autooxidación a estos compuestos.La relación entre los ácidos grasos poliinsaturados y la vitamina E en la dieta es fundamental en la prevención de estos trastornos (25).Esta relación debe alcanzar un valor del orden de 0.6 mg de vitamina E por gramo de ácido linoleico.

La mayor parte de los ácidos grasos de los lípidos corporales son saturados o contienen solo un doble enlace;en consecuencia,aunque son rápidamente catabolizados por enzimas y cofactores adecuados,son químicamente bastante inertes.El menor grado de insaturación constituye otra ventaja adicional para su uso como depósito de energía.La mayor estabilidad de los ácidos grasos monoinsaturados frente a reacciones de autooxidación podría evitar los efectos anteriormente citados,lo que ha impulsado la investigación con dietas con un elevado contenido en estos compuestos.

El aceite de oliva es la fuente más importante de ácidos grasos monoinsaturados,principalmente de ácido oleico (18:1w9) que la naturaleza ha puesto a nuestra disposición.La utilización de esta fuente lipídica,además de evitar los efectos anteriores,presenta una serie de ventajas que se derivan del mismo procedimiento de obtención.Mientras que en la obtención

de aceites de semillas oleaginosas se aplican diversos procesos industriales(extracción con disolventes,refinación e hidrogenación),el aceite de oliva continua obteniéndose de acuerdo con los mismos principios básicos aplicados desde hace milenios.Estas diferencias hacen que el aceite de oliva se consuma crudo,integral,tal como se encuentra en las aceitunas,conservando por tanto los componentes del fruto solubles en él,algunos de los cuales poseen propiedades reconocidas e importantes desde el punto de vista de la fisiología y el metabolismo.

Existe por otra parte,un hecho fundamental que no puede pasar desapercibido:la incidencia de enfermedades cardiovasculares es inferior en las regiones mediterráneas en relación con la que presenta el mundo occidental (26,27,28).

Estos datos han impulsado recientemente trabajos de investigación que han puesto de manifiesto que grasas con un alto contenido en ácido oléico pueden ejercer un papel,si no tan efectivo como aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados,sí neutral en la reducción de los niveles de colesterol total en sangre (29).

El uso del aceite de oliva evitaría los efectos laterales de los ácidos grasos poliinsaturados e incluso pudiera ser más efectivo que estos,en tanto que la reducción qué ejercen sobre los niveles de HDL es inferior a la que ejercen los ácidos grasos poliinsaturados (29).

De los datos expuestos se deduce que debe existir un cierto compromiso entre la ingesta de diferentes tipos de grasa.Dado que una dieta baja en lípidos y alta en hidratos de carbono,consumida principalmente

en Oriente,es impensable aplicarla al mundo occidental, se recomienda que las grasas contribuyan en un 30 % o valores inferiores,a las calorías totales ingeridas.A este nivel las grasas saturadas,monoinsaturadas y poliinsaturadas contribuirían en un 10 %,10-15 % y 5-10 % respectivamente (30).

En la tabla I se detalla el porcentaje en ácidos grasos saturados,monoinsaturados y poliinsaturados de varias fuentes lipídicas (30).

TABLA I

TIPO DE GRASA	SATURADOS (%)	MONOINSATURADOS (%)	POLIINSATURADOS (%)
Mantequilla	66.0	30.0	4.0
Aceite de maíz	14.5	27.6	57.9
Aceite de oliva	17.1	72.3	10.6
Aceite de cacahuete	20.4	48.1	31.5
Aceite de cártamo	9.2	13.1	77.7
Aceite de soja	15.6	23.4	61.0

El aceite de oliva,con un contenido en ácidos grasos poliinsaturados relativamente bajo y un contenido en tocoferol (vitamina E) entre 50 y 300 mg por Kg de aceite,mantiene una relación adecuada de mg de vita

mina E por g de ácidos grasos poliinsaturados.De los cuatro tocoferoles conocidos en la naturaleza ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) el presente en el aceite de oliva es el α-tocoferol,que es el que presenta mayor actividad vitamínica (18).

Aproximadamente el 95 % de los lípidos de la dieta son triacilglicéridos,estando constituído el 5 % restante por ésteres de colesterol,esteroles vegetales,fosfolípidos y otros compuestos lipídicos en menor proporción.La mayoría de los triacilglicéridos contienen ácidos grasos de cadena larga (AGCL) saturados o insaturados,siendo relativamente pequeño el porcentaje de ácidos grasos de cadena media (AGCM) presentes en la dieta humana habitual.Existen,no obstante,algunas grasas como el aceite de coco y la mantequilla que contienen una gran cantidad de AGCM (31).

Los AGCM,ácidos grasos saturados cuya longitud de cadena está comprendida entre ocho y doce átomos de carbono,van a tener un comportamiento diferencial con respecto a los AGCL tanto en lo que se refiere a su absorción y transporte como en lo que respecta a su metabolización.

Los MCT,un tipo particular de grasa semisintética,obtenidos por hidrólisis y destilación de los ácidos grasos del aceite de coco seguida de reesterificación con glicerol de aquellas moléculas de ácido graso con una longitud de cadena adecuada,también muestran diferencias con respecto a los LCT,lo que les faculta para su aplicación en clínica (31,32,33).

Un gran número de aplicaciones clínicas de los MCT derivan de las diferencias existentes en el proceso de digestión.La digestión de los lípidos se inicia

con la secreción de la lipasa lingual,componente mayoritario de la llamada "actividad lipolítica gástrica",como respuesta a la ingestión oral de grasas,a la masticación y al estímulo nervioso (34).Esta enzima cuya acción lipolítica fue señalada por Borgström y col. (35),es particularmente actíva con los triacilglicéridos de la leche y los de cadena media,tanto en la rata como en el hombre (36,37).La lipasa lingual hidroliza preferentemente los ácidos grasos en posición sn-3 de los triacilglicéridos frente a los de posición sn-1.Es en la posición sn-3 donde se localizan prioritariamente los ácidos grasos de cadena corta o media de la leche y derivados (34).La acción de la lipasa lingual permite la absorción en el estómago de los ácidos grasos de cadena corta o media liberados,así como la posterior hidrólisis de los acilglicéridos restantes en el intestino delgado (38).

La secreción pancreática,con al menos tres actividades enzimáticas distintas,lipasa pancreática,fosfolipasa A_2 y colesterol esterasa,va a actuar sobre las partículas emulsionadas rindiendo productos más polares cuya absorción está facilitada.Sin el concurso de estas enzimas o en ausencia de sales biliares la absorción de la grasa va a verse muy disminuída,pudiendo corregirse los efectos que se derivan de este hecho por el empleo de dietas semisintéticas con MCT,los cuales pueden ser absorbidos intactos sin lipolisis previa en cantidades importantes (39,40,41),aunque en condiciones normales son hidrolizados totalmente por la lipasa pancreática. En el enterocito,los MCT absorbidos son hidrolizados por acción de una lipasa localizada en la fracción microsomal (42).Los AGCM procedentes de la hidrólisis de

los MCT por acción de la lipasa pancreática y posterior absorción,así como los procedentes de los MCT absorbi — dos y posteriormente hidrolizados por acción de la lipa sa de la célula de la mucosa intestinal,son escasamente reesterificados a triacilglicéridos,siendo transporta — dos unidos a la albúmina por vena porta hasta el hígado (43,44) (Figura I).

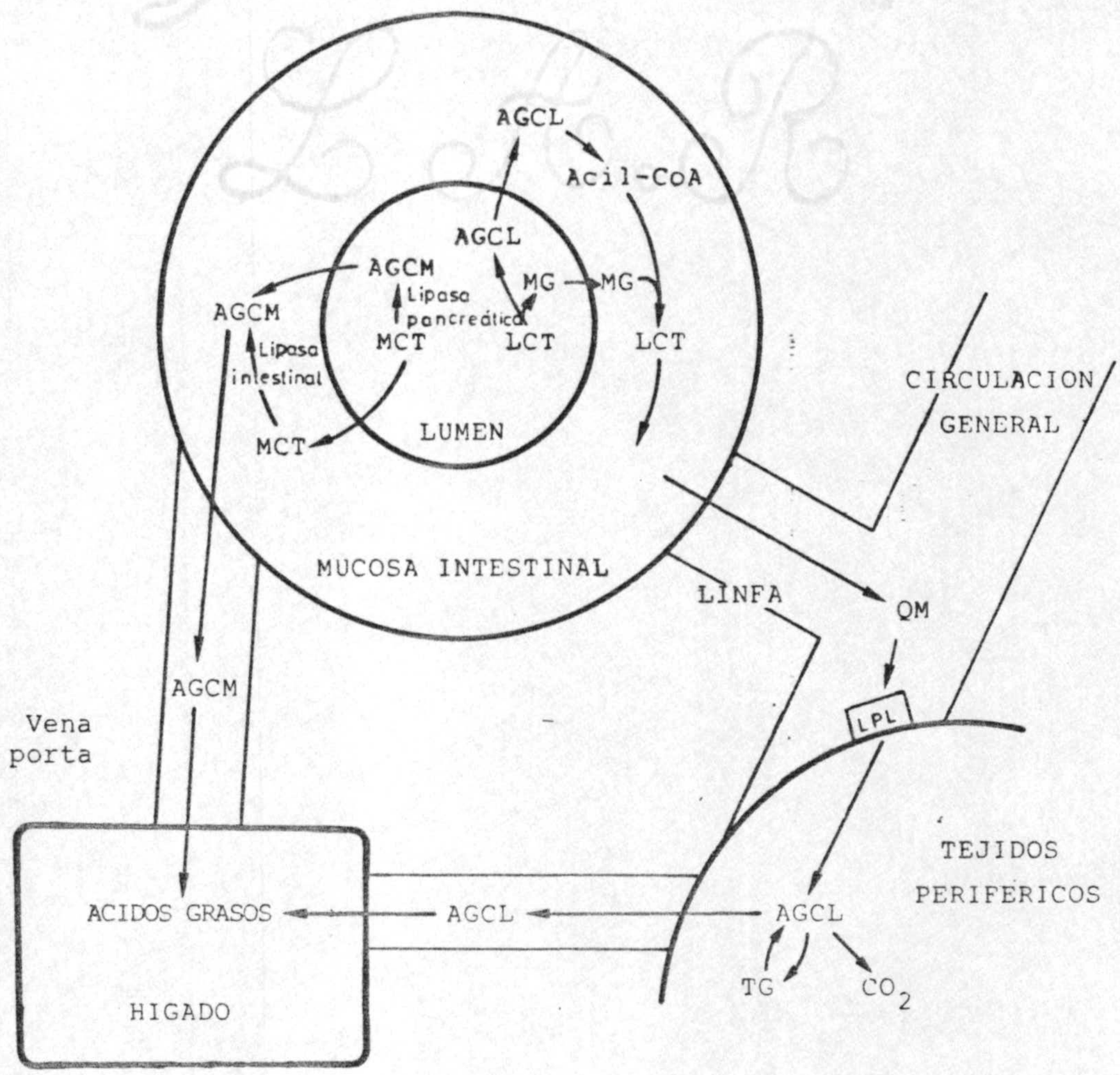


FIGURA I

Este punto los diferencia nuevamente de los AGCL,los cuales en forma de quilomicrones son liberados por exocitosis al espacio extracelular,desde donde ingresan a la circulación linfática (45).

Si añadimos a todo esto que su valor energético es de 8.3 Kcal/g,tan solo ligeramente inferior al de los AGCL,se comprende su utilidad en la corrección de determinadas alteraciones de la absorción de las grasas.Además,el hecho de que sean bien absorbidos por el prematuro y el recién nacido a término les otorga una gran importancia en el tratamiento del síndrome de malabsorción y malnutrición infantil (46,47).No obstante,se han descrito alteraciones gastrointestinales tanto en niños como en adultos alimentados con fórmulas conteniendo MCT (32,33).Estos síntomas pueden ser debidos a la rápida hidrólisis de los MCT que origina una concentración elevada de AGL en el estómago e intestino delgado.

El metabolismo hepático de los ácidos grasos de cadena media también difiere del de los ácidos grasos de cadena larga (Figura II).Los AGCM no se activan casi nunca en el espacio extramitocondrial ya que la Acil-CoA sintetasa específica para estos ácidos grasos se localiza en la matriz mitocondrial.Esto implica que los AGCM no sean incorporados significativamente en los lípidos sintetizados por el hígado (48).Los AGCM no requieren la presencia de carnitina para entrar en la mitocondria, donde son rápidamente oxidados originándose un exceso de acetil-CoA,el cual sigue varias rutas metabólicas en la mitocondria(ciclo de Krebs,cetogénesis y elongación de ácidos grasos) y en el citosol (síntesis "de novo" de ácidos grasos y colesterol).

Parchemin

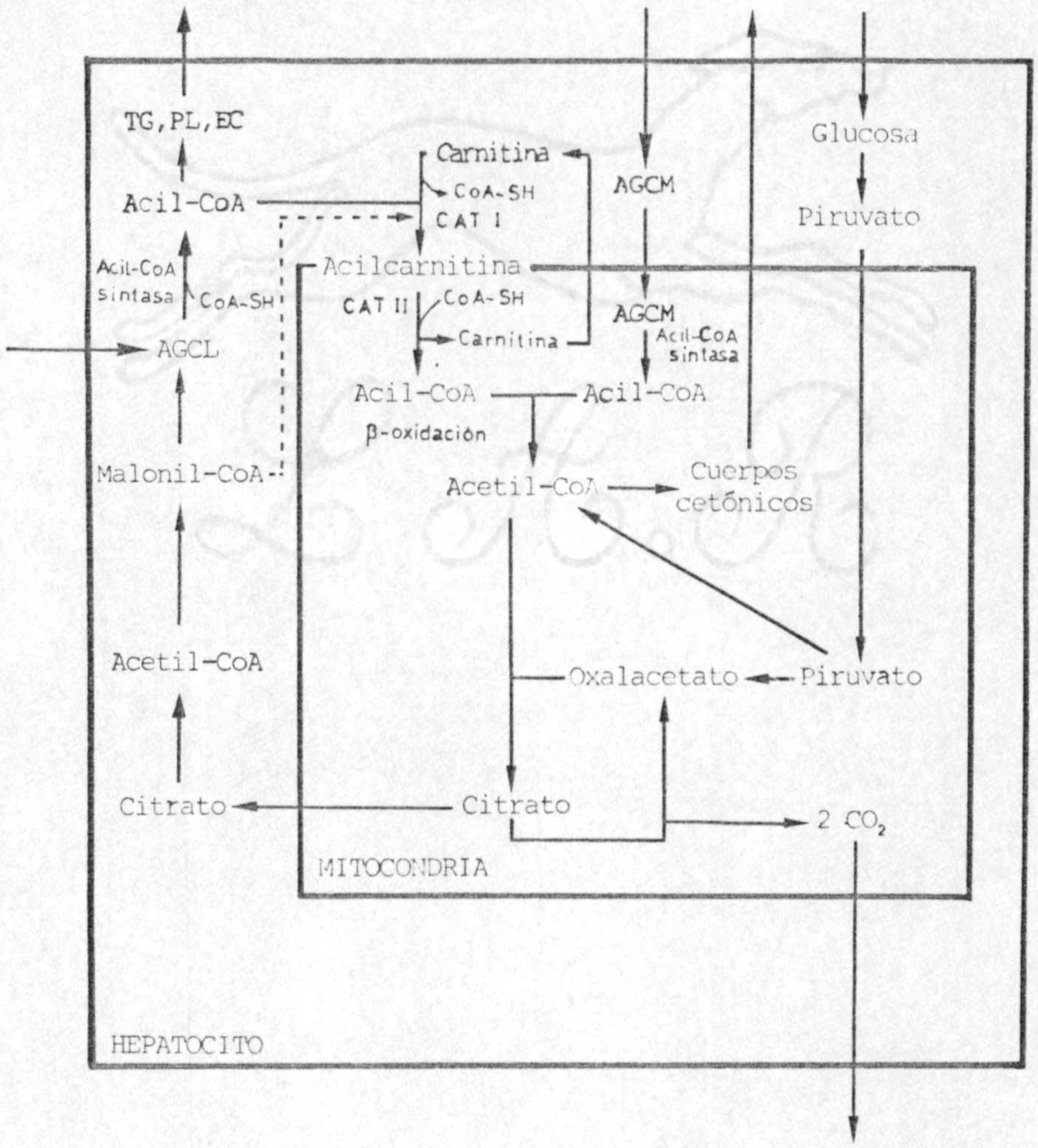


FIGURA II

Debido a la capacidad limitada del ciclo de Krebs y a la reducida disponibilidad del oxalacetato, la mayor parte del acetil-CoA interviene en la síntesis de cuerpos cetónicos. Es por esto que la capacidad cetogénica de los MCT es mayor que la de los LCT (49,50)

La ruta de elongación la sigue solo una pequeña cantidad del acetil-CoA originado en la β-oxidación,adquiriendo tan solo esta ruta una importancia relativa cuando los LCT de la dieta son sustituídos por MCT.

Los MCT tienen también un efecto hipocolesterolémico e hipoglucémico (49).El efecto hipocolesterolémico está causado por un descenso en la colesterogénesis hepática al encontrarse inhibida la 3-hidroxi-3-metil glutaril CoA reductasa (51,52).El efecto hipoglucémico está causado aparentemente por una disminución en la gluconeogénesis hepática y no por un aumento en la utilización periférica de glucosa,aunque hay que señalar un aumento en la concentración de insulina en sangre debido a la estimulación de los islotes de Langerhans bien por los cuerpos cetónicos,bien por los AGCM o por ambos (53).

Los MCT se apartan del comportamiento de las grasas convencionales,lo que los convierte en sustancias útiles ante ciertos problemas médicos.No obstante los MCT no son una panacea,estando contraindicados en pacientes con estados de cetosis y acidosis y en cirróticos además de las alteraciones gastrointestinales anteriormente citadas.Por otra parte,cuando se ingieren grandes cantidades de MCT,estos interfieren en la absorción de los LCT,aumentando las pérdidas de AGCL en las heces. Hirono y cols.(54)han encontrado que las necesidades en ácido linoleico son mayores cuando los recién nacidos se alimentan con una fórmula láctea basada en MCT.

1.3.- Características generales de las membranas celulares

Las membranas celulares no actúan solo como barreras físicas entre la célula y su medio ambiente o entre los distintos compartimentos intracelulares,sino que son estructuras dinámicas de cuya actividad (secreción, transporte,endocitosis) depende en gran medida el funcionamiento de las células.

Las membranas celulares están principalmente compuestas por lípidos y proteínas y una pequeña cantidad de glúcidos que en algunas membranas puede llegar a representar hasta un 10 % del peso seco.Las proporciones relativas de proteínas y lípidos varían ampliamente,siendo por lo general el contenido de proteínas mayor cuanto más activa metabólicamente es la membrana.

La estructura molecular de las membranas celulares puede ser explicada por el modelo de "mosaico fluido" propuesto por Singer y Nicolson,en el que los lípidos adoptan una disposición en doble capa en la que nos encontraremos las proteínas tanto embebidas en esta estructura (proteínas integrales),como presuntamente localizadas en la superficie (proteínas periféricas).

El conjunto de proteínas,con funciones de transportadores,receptores o enzimas,es característico de cada membrana celular,siendo la doble capa lipídica la matriz o armazón estructural de la que depende la continuidad de la membrana y sus propiedades de permeabilidad. Así como la heterogeneidad de las moléculas proteicas resulta evidente,no está perfectamente establecido el porqué de la heterogeneidad de los lípidos de membrana, aunque se intente explicar en base a requerimientos

específicos de estos por parte de las proteínas de membrana.La variación tanto en el contenido total lipídico como en la composición de las fracciones lipídicas se manifiesta entre membranas celulares de distintas especies,entre tejidos e incluso entre orgánulos diferentes dentro de la misma célula (55).

Los principales tipos de lípidos de membranas de células animales son fosfoglicéridos,esfingolípidos y colesterol.El contenido de colesterol en las membranas varía ampliamente;en la membrana plasmática puede representar un 25 % del contenido lipídico total,lo que equivale a un 50 % en una relación molar (55).Los fosfoglicéridos y esfingolípidos no solo van a variar en sus proporciones relativas,sino que van a diferir en las cadenas de ácidos grasos unidos por enlace éster o amida respectivamente.Todo ello conduce a un elevado número de especies moleculares en la doble capa lipídica(55,56). Las cadenas de ácidos grasos son las que proporcionan las características hidrofóbicas del interior de las membranas celulares,gastándose una considerable cantidad de energía no solo en sintetizar la gran variedad de ácidos grasos presentes en estas,sino también en mantener cada membrana y cada especie de fosfolípido con una composición acídica característica (57,58).Así por ejemplo, la mayoría de especies moleculares de fosfatidilcolina presentes en las células animales constan de un ácido graso saturado de 16 átomos de carbono (palmítico)en la posición sn-1,mientras que la posición sn-2 es ocupada por un ácido graso insaturado de 18 átomos de carbono (oleico y linoleico) (55,59).La fosfatidiletanolamina presenta esta misma disposición,pero los ácidos grasos tienen una longitud mayor así como un mayor número de

dobles enlaces que los de la fosfatidilcolina (60).En los esfingolípidos predominan los ácidos grasos saturados de cadena larga (20 a 24 átomos de carbono).

El modelo del"mosaico fluído" presupone que en las condiciones fisiológicas la bicapa lipídica se mantiene en estado líquido,fluído,de modo que los lípidos y las proteínas integrales pueden difundir lateralmente en el plano de la bicapa;este estado fluído es un requisito para el funcionamiento normal de las membranas biológicas (61,62).Actualmente,sin embargo,el término "fluidez de membrana" se refiere también al estado físico de las cadenas de ácidos grasos que forman parte de la bicapa lipídica (63);este estado no solo va a depender del grado de insaturación y de la longitud de la cadena del ácido graso,sino que dependerá de otros componentes de membrana como son el colesterol,proteínas y fosfolípidos.Todos estos componentes interaccionarán entre sí de forma que la relación entre fluidez de membrana y grado de insaturación no va a ser una relación simple y directa (63).

Cuando se ensayan especies moleculares de fosfolípidos definidos se observa que hay una transición,dependiente de la temperatura,desde una estructura ordenada más parecida a la de un sólido cristalino,a una estructura líquida,fluída.La naturaleza a nivel molecular de esta transición,denominada "transición de fase",está asociada con el aumento en el desorden y en la movilidad de las cadenas de ácidos grasos.

Estudios cristalográficos de rayos X (64,65) y espectroscopía Raman (66)en fosfolípidos con ácidos grasos saturados ponen de manifiesto que por debajo de la

temperatura de transición todos los enlaces carbono-carbono tienen una conformación "trans" que posibilita un estrecho empaquetamiento y por tanto un orden mayor en las cadenas de ácidos grasos.Por encima de la temperatura de transición se observa un aumento de la conformación "gauche" frente a la "trans".La introducción de un doble enlace imposibilita la adopción de esta conformación "trans",e incluso va acompañada de una conformación "gauche" que altera profundamente las propiedades físicas,originando un descenso en la temperatura de transición.

No obstante,hemos de señalar la importancia que tiene la posición del doble enlace en la cadena y así, se ha puesto de manifiesto para especies moleculares de ácidos grasos,que el punto de fusión experimenta una disminución mayor cuando el doble o los dobles enlaces ocupan una posición central en la cadena (67,68).Todo esto conduce a que la posición de los dobles enlaces sea un factor a veces más importante que el número de ellos.Un estudio reciente (69)muestra que para especies moleculares de fosfatidilcolina (di-18:0-PC),la sustitución del esteárico por oleico (18:0/18:1-PC) baja considerablemente la temperatura de transición,descenso que es más acusado en la 18:0 /18:2-PC,mientras que la sustitución por linolénico o araquidónico no conlleva más descensos en la temperatura de transición e incluso va acompañada por un ligero aumento.

Otros factores de los que depende la temperatura de transición son la longitud de la cadena de los ácidos grasos,la naturaleza de la cabeza polar de los lípidos (a igualdad de ácidos grasos es 20°C más baja para la

fosfatidilcolina que para la fosfatidiletanolamina) (55) y la presencia de iones divalentes (Ca^{++} y Mg^{++})que pueden interaccionar con aquellos fosfolípidos que poseen carga neta negativa(fosfatidilserina y fosfatidilglicerol),originando un aumento en la temperatura de transición (70,71).

La fluidez de las membranas celulares depende de estos mismos factores,pero debido a la complejidad de su composición lipídica no muestran una temperatura de transición definida,sino que el proceso de transición de fase abarca un rango muy amplio de temperaturas o incluso puede no detectarse un cambio de estado definido.Estudios de espectroscopía Raman han puesto de manifiesto la presencia de transiciones de fase a temperaturas fisiológicas en membranas de eritrocito,las cuales se interpretan como cambios en la microviscosidad en regiones de la bicapa lipídica (72).Estas separaciones de fase en las membranas pudieran jugar un papel muy importante en el control del funcionamiento celular (63).

El colesterol de las membranas celulares desempeña un papel como "factor regulador" de la fluidez de membrana.La disposición de su anillo rígido entre las cadenas de ácidos grasos imposibilita la asociación cooperativa de estos,con lo que se mantiene el estado fluído por debajo de la temperatura de transición y dificulta,por otro lado,la movilidad conformacional de las cadenas por encima de la temperatura de transición,con lo que disminuye el desorden y la fluidez de la membrana (55).Por espectroscopía Raman se ha puesto de manifiesto que el estado "trans-gauche" de las cadenas de ácidos grasos no es alterado por la presencia del coleste-

rol (73).

El estado fluído de las membranas posibilita la movilidad de sus componentes,algunos de los cuales no estan exentos de ciertas restricciones.Estudios de RMN o de RSE han puesto de manifiesto que los lípidos pueden difundir lateralmente en el plano de la bicapa con coeficientes de difusión (D) del orden de 10^{-8} cm^2s^{-1}.Las determinaciones de la velocidad de difusión lateral de distintas proteínas en diferentes membranas,han dado valores muy diversos,con coeficientes de difusión que oscilan desde 10^{-9}a $10^{-12}$$cm^2s^{-1}$ o más bajos.Estos resultados demuestran la existencia de restricciones a la movilidad lateral de las proteínas y la posibilidad de que su distribución en la membrana esté bajo control (74).

Otro tipo de movimiento que pueden presentar los lípidos,pero que en ningún caso se ha observado para las proteínas,es la rotación o volteo de la molécula desde una cara de la bicapa a otra,denominada difusión transversal o "flip-flop".La velocidad de este proceso va a depender de la especie de fosfolípido de que se trate, así como de la membrana celular.Esta difusión transversal va a ser importante a la hora de estudiar la distribución asimétrica de membranas.

Las membranas celulares tienen una asimetría funcional en tanto que separan compartimentos diferentes. Esta asimetría funcional va a traducirse en una disposición asimétrica tanto para las proteínas como para los lípidos de membrana,de tal forma que cada cara de la bicapa va a tener una composición determinada(55,75, 76,77).No obstante,no se pueden hacer generalizaciones de los estudios de la asimetría de membranas ya que hay

una serie de limitaciones que hay que tener presentes.

En primer lugar hay que considerar la posibilidad de que las técnicas usadas para detectar la asimetría puedan por sí mismas modificar la bicapa.

En segundo lugar,las diferencias que las distintas membranas muestran con respecto a la permeabilidad, desaconsejan extrapolar los resultados de un tipo de membrana a otro.

En tercer lugar,los movimientos de difusión transversal o "flip-flop" pueden facilitar la reacción de un componente de la cara interna de la bicapa por un reactívo de localización de componentes de la cara externa.Esta difusión transversal no se ha observado para las proteínas,pero sí en los lípidos,en los que este proceso puede ocurrir de forma natural o ser inducido por la técnica de localización empleada.

Como decíamos anteriormente,la velocidad de este proceso depende del tipo de fosfolípido,así como de la membrana celular.En las membranas de eritrocito el movimiento de fosfolípidos,o al menos de la fosfatidilcolina es un proceso relativamente lento (78,79),pero en microsomas hepáticos y en el retículo sarcoplasmático de rata la velocidad es mayor,lo que impide la utilización de algunas técnicas de localización (por ejemplo proteínas intercambiadoras) (80,81,82).

Por último,otra limitación proviene de la naturaleza de la membrana celular y del proceso de obtención. De esta forma las membranas de virus,membranas de eritrocito y algunas otras,a diferencia de las membranas intracelulares,no requieren pasos previos de purificación,los

cuales pueden originar membranas de orientación opuesta a la celular.

No solo la distribución asimétrica afecta a los lípidos y proteínas,sino que también afecta a la composición en ácidos grasos.Así,parece que para un mismo fosfolípido,la composición en ácidos grasos depende y será característica de la cara de la bicapa en que se encuentre (83,84).Todo esto eleva las posibilidades de regulación de las enzimas de membrana dependiendo de la zona de la bicapa en la que se situen.

De todas las consideraciones anteriores podemos decir que la asimetría en las membranas de eritrocito está muy bien definida,como más adelante trataremos (78).

Por lo que respecta a la síntesis de los componentes de membrana,los lípidos son sintetizados a nivel de las membranas del retículo endoplasmático y las cadenas polipeptídicas sintetizadas por los ribosomas:las de las proteínas periféricas internas,situadas en la cara hialoplasmática,por los ribosomas libres,y las de las proteínas periféricas externas y proteínas integrales, por los ribosomas unidos a las membranas del retículo (siendo luego inyectadas en la bicapa lipídica) (85).

Se han propuesto tres mecanismos moleculares que potencialmente dirigen el tráfico de lípidos en la célula y regulan la composición lipídica de los orgánulos(86).

1) Transporte de moléculas de un orgánulo a otro a través de la formación de vesículas y posterior fusión de estas con las membranas celulares.

2) Transporte de monómeros de lípidos (bien espontaneamente o unidos a proteínas) a través del citosol.

3) Transporte de moléculas por difusión lateral entre orgánulos conectados por puentes intermembranas.

Los procesos de fusión no ocurren al azar,sino de forma específica y muy controlada.Los iones Ca^{++} y las proteínas de membrana parecen jugar un papel fundamental como moduladores del proceso de fusión (87).El mecanismo por el que este proceso parece ocurrir es a través de la formación de zonas deshidratadas en los puntos de contacto,con la desaparición de las fuerzas de repulsión que mantenían alejadas a las bicapas lipídicas que van a fusionarse.El Ca^{++},en estudios "in vitro" con vesículas de fosfatidilserina,tiene la particularidad de formar un complejo "trans" con moléculas de fosfatidilserina de vesículas distintas,eliminando así las moléculas de agua del espacio intervesicular y favoreciendo la agregación y posterior fusión de estas.

Existe,por otra parte,un intercambio de lípidos entre las membranas plasmáticas y las lipoproteínas,pero a diferencia de los receptores específicos para las LDL y los receptores específicos para la Apo-E en el hepatocito,no implican la inclusión de las lipoproteínas por endocitosis.Esto trae como consecuencia que el intercambio de colesterol por esta vía,que se efectua a mayor velocidad que a la que lo hacen los fosfolípidos,puede ser significativo al no tener una regulación tan estricta como a la que está sometida la endocitosis de las LDL.

La composición lipídica de las membranas plasmáticas,aunque bajo control intrínseco,merced a este intercambio va a verse afectada por factores extrínsecos (dietas deficientes en ácidos grasos esenciales,alteración del contenido lipídico de una dieta adecuada nutricionalmente) que modifiquen las características de las

lipoproteínas (88),por lo que estos juegan un papel importante en la homeostasis de los lípidos de membrana.

Una vez en la membrana,los componentes sufren una constante renovación,intercambiándose entre todos los compartimentos celulares.Este tipo de procesos está comprobado para ciertas proteínas de membrana,mientras estudios recientes que utilizan un análogo fluorescente de la fosfatidilcolina,sugieren indirectamente intercambios continuos de este compuesto entre la membrana plasmática,vesículas endocíticas y aparato de Golgi (89).

En cuanto al origen de la asimetría lipídica,tanto en la bicapa como en diferentes membranas celulares se desconoce,habiéndose propuesto una serie de mecanismos:

1) La existencia de diferencias en la síntesis a ambos lados de la bicapa,dependiendo de la disponibilidad de sustrato.

2) Difusión transversal catalizada por proteínas ("flipasas"),que aumentan la velocidad de este proceso que tiene lugar de forma espontanea muy lentamente.En este sentido y dado que la síntesis de fosfolípidos ocurre en el lado citoplasmático del retículo endoplasmático, es interesante la evidencia señalada por Bishop y Bell de la existencia de una "flipasa" para la fosfatidilcolina en el retículo endoplasmático (90).

3) Modificación química posterior a la inser — ción del lípido en la membrana celular.Por ejemplo,el aumento relativo de esfingomielina en la membrana plasmática puede deberse a los altos niveles de esfinfomielina sintasa en dicha membrana (91).

Una vez establecida la asimetría lipídica,meca-

nismos dependientes de ATP,así como el citoesqueleto de membrana,han sido involucrados en el mantenimiento de esta.La asimetría,tanto lateral,transversal como interorganular,puede ser necesaria para muchos procesos de regulación en los que están implicadas las membranas,procesos de regulación en los que se ha hipotetizado y/o demostrado el papel que como mediadores los lípidos pueden desempeñar (86):

- Regulación vía ciclo del fosfatidilinositol. La unión de un agonista a un receptor de membrana activa a una fosfolipasa C que hidroliza el fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP_2) a inositoltrifosfato (IP_3) y 1,2-diacilglicerol.El IP_3 libera el Ca^{++} almacenado en el retículo endoplasmático,con lo que aumenta la concentración de Ca^{++} en el citosol (92).El 1,2-diacilglicerol parece activar a una proteinquinasa C,la cual puede regular a través de una fosforilación la actividad de otras enzimas celulares (92).

- Regulación de la biosíntesis de la fosfatidilcolina.La enzima que cataliza la reacción limitante en la biosíntesis de la fosfatidilcolina (CTP:fosfocolina-citidiltransferasa),se encuentra en el citosol en forma inactiva y unida a los microsomas en forma activa.Estudios "in vitro" han señalado los requerimientos de ciertos fosfolípidos (fosfatidilserina,fosfatidilinositol y lisofosfatidiletanolamina) para que la enzima exprese su máxima actividad.La enzima se encuentra regulada por una fosforilación reversible que la inactiva a través de una proteinquinasa dependiente de AMP_c y por los acil CoA de cadena larga que la activan e incluso revierten el efecto que la fosforilación ejerce sobre la activi-

dad (93).

- Suministran precursores para la biosíntesis de eicosanoides,compuestos de vida muy corta que derivan de los ácidos grasos poliinsaturados de veinte átomos de carbono que una vez liberados de los fosfolípidos de membrana siguen,bien la vía de la lipoxigenasa o bien la de la ciclooxigenasa.La liberación de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos puede ocurrir por dos rutas:

a) A partir de la fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina de la membrana por acción de la fosfolipasa A_2(94).

b) A partir del fosfatidilinositol,por un mecanismo que implica a la fosfolipasa C en combinación con la diacilglicerol lipasa y la diacilglicerolquinasa (95,96,97). No está claro cual de estas dos es la principal fuente de ácidos grasos poliinsaturados.La liberación del ácido araquidónico,ácido graso poliinsaturado mayoritario,por acción de la fosfatidilinositol fosfodiesterasa,origina cambios de naturaleza transitoria en la composición de ácidos grasos insaturados.Las especies degradadas se regeneran y parece probable que en esto actúan como reserva de ácidos grasos poliinsaturados otras especies de fosfolípidos celulares (63).

- Posible efecto protector del ácido liso-bisfosfatídico,presente únicamente en los lisosomas,sobre la degradación de los lípidos de la membrana lisosomal.

- Efecto de la asimetría lipídica de la membrana y el papel que esta juega en la regulación y expresión de la función de las proteínas de membrana.

1.4.- Características generales del eritrocito

El eritrocito,célula anucleada que además carece de orgánulos citoplasmáticos,puede decirse en sentido estricto que no es una célula viva,al menos como las demás,puesto que no puede sintetizar proteínas,glucógeno ni lípidos y es incapaz de llevar a cabo procesos degradativos mitocondriales.Constituye un "saco" cuya pared es la membrana plasmática y cuyo contenido es rico en hemoglobina.Su función es el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos y del dióxido de carbono en sentido contrario.Las rutas y reacciones que lleva a cabo son justamente ,las precisas para mantener las necesidades energéticas durante sus 120 dias de vida media celular.

El vaciado de esta célula por shock osmótico da lugar a un precipitado de los llamados "glóbulos rojos fantasmas" (85) constituído básicamente por membranas plasmáticas.La facilidad de obtención de estas membranas aisladas,junto con la posibilidad de disponer de grandes cantidades de estas células y el escaso riesgo que presenta la extracción en personas o animales de experimentación,ha hecho del eritrocito una célula ideal desde el punto de vista bioquímico,tanto teórico como aplicado. En el aspecto teórico ha sido utilizado para estudiar mecanismos de regulación enzimática y conocer la estructura interna de la membrana,entre otros (59,77,78, 98,99,100).

La forma bicóncava que se observa al microscopio electrónico indica ya de por sí una organización estructural muy definida.La estructura interna de la membrana

se compone de una bicapa lipídica en la que se encuentran insertadas las distintas proteínas.También presenta cadenas de polisacáridos unidas a lípidos y proteínas,determinantes de las propiedades antigénicas de la célula (56,85,101).

1.4.1.- Composición de la membrana del eritrocito

La composición química de la membrana del eritrocito viene a estar constituída aproximádamente por un 60 % de proteínas y un 40 % de lípidos;en estos valores va incluído un pequeño porcentaje de glúcidos,entre otros ,hexosaminas y ácido siálico (56,85).

Aproximadamente el 60 % de las proteínas de membrana entran a formar parte del citoesqueleto de la membrana (102),estudiado por vez primera en el eritrocito y que hoy se acepta que puede presentarse de forma general en todo tipo de células.Al microscopio electrónico aparece como una estructura reticular continua,situada en la cara interna de la membrana,donde parece jugar un papel importante en relación con la morfología normal bicóncava del eritrocito y su mantenimiento después de sufrir múltiples deformaciones impuestas por la corriente sanguínea y el paso por la microcirculación (56,98,101,102,103).Esta red proteica es el resultado de la interconexión de moléculas como la espectrina,actina y anquirina (103),la cual a su vez conecta con las proteínas integrales de la banda 3 (102).

La agregación entre las moléculas de actina y espectrina se modifica en pacientes con poiquilocitosis

hereditaria (104),originando una desorganización en el citoesqueleto que se traduce en la inestabilización de la bicapa lipídica y un aumento en la velocidad de difusión transversal o "flip-flop" para la fosfatidilcolina (105).Este mismo efecto se observa en pacientes con anemia falciforme, en los que hay una presencia importante de fosfatidilserina en la cara externa de la bicapa(106) cuando en condiciones normales se localiza en la cara interna.Estos datos corroboran la importancia del citoesqueleto sobre la estructura de membrana y como las velocidades de difusión transversal o "flip-flop" están controladas por él (59).

El 40 % restante de las proteínas lo constituyen o bien proteínas integrales que atraviesan la membrana o bien proteínas que estan tan solo en una de las dos mitades de la bicapa (98).

El 40 % de los lípidos de membrana se distribuyen en términos de relación molar en un 40 % de colesterol no esterificado,un 50 % de fosfolípidos y un 10 % de glucolípidos (56).

El colesterol de la membrana eritrocitaria constituye un único "pool" que se intercambia con el colesterol de las lipoproteínas séricas (99,107,108,109).Los mecanismos de intercambio no son totalmente conocidos. Debido a la baja solubilidad acuosa del colesterol,aparentemente,esta transferencia no podría realizarse por disociación en la fase acuosa,sino que se requeriría un contacto directo entre la membrana y la molécula de la lipoproteína (108).El intercambio podría tener lugar durante las colisiones transitorias entre hematíes y lipo

proteínas,pero también se requieren contactos más largos del tipo de la adsorción.En este sentido,Giraud y cols. han demostrado que la disminución del contenido en co — lesterol de eritrocitos incubados con vesículas de fos- fatidilcolina era dos veces menor en ausencia de iones Ca^{++} que en su presencia,lo cual indica que el intercam bio de colesterol entre los eritrocitos y vesículas li- pídicas requiere al menos trazas de Ca^{++} para que se pro duzca (110).

Es posible también que la tasa de intercambio esté controlada por el movimiento del colesterol dentro de las moléculas de lipoproteínas (108),o por las inte- racciones que ocurren entre el colesterol y los fosfolí pidos componentes de la membrana (111).Varios trabajos han evidenciado que la etapa limitante en el proceso de intercambio es la desorción del colesterol de la membra na (108,112,113),etapa que depende en gran medida de las interacciones que se producen entre los componentes de esta.El colesterol interacciona fuertemente con la esfin gomielina (114) y dado que el intercambio se produce en la bicapa externa,constituída fundamentalmente por esfin gomielina y fosfatidilcolina,se especula con que espe — cies de fosfatidilcolina con sus dos radicales acilo com pletamente saturados,establezcan interacciones fuertes de tipo hidrofóbico con la esfingomielina que desplacen a esta de su interacción con el colesterol,aumentando de esta forma la velocidad del proceso de intercambio (111).

El contenido en colesterol en las dos mitades de la bicapa es importante (109) y aunque la velocidad de difusión transversal es muy rápida (81,109) como para conocer con exactitud su distribución,la mayoría de los autores sugieren que hay más colesterol en la cara exter

na que en la interna (55,56).

El colesterol juega un importante papel en la determinación del contorno de la membrana eritrocitaria (109).Como la membrana está constreñida a cambiar de forma y la compresión y expansión de la bicapa puede ofrecer resistencia al doblamiento,una rápida redistribución del colesterol puede aliviar esta resistencia facilitando y estabilizando los cambios de forma (109).

El aumento o disminución del colesterol en la membrana produce alteraciones considerables en la organización de las moléculas lipídicas de la bicapa (107, 115),ya que la relación entre colesterol y fosfolípidos regula el mantenimiento de la fluidez de la bicapa,así como la permeabilidad,estabilidad y contorno de membrana necesarias para el funcionamiento normal de la célula (107,109,116).

La disminución del contenido en colesterol induce un cambio de forma de los eritrocitos a estomatocitos III y esferostomatocitos que se correlaciona con la disminución en la velocidad de recambio de los polifosfoinositoles.Dado que la forma bicóncava del eritrocito se mantiene por reacciones de componentes de membrana que requieren ATP,este recambio de polifosfoinositoles puede ser uno de los procesos involucrados (110).

Los fosfolípidos mayoritarios que nos encontramos en las membranas de eritrocitos son: esfingomielina (SM),fosfatidilcolina (PC),fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS),constituyendo el 95 % del total de los fosfolípidos (56).El porcentaje de esfingomielina más fosfatidilcolina se sitúa entre un 45 % y un 60 %, pero la proporción relativa de ambos varía ampliamente dependiendo de la especie (56).

En la tablaII y en la figuraIIIadjunta se repre sentan los porcentajes de fosfolípidos de membranas de eritrocito de rata,para los que entre unos estrechos márgenes,coinciden diversos autores (55,56,78).

TABLA II. PORCENTAJE DE FOSFOLIPIDOS EN LOS ERITROCITOS DE RATA

Fosfatidilcolina	43 %
Fosfatidiletanolamina	25 %
Esfingomielina	12 %
Fosfatidilserina	12 %
Fosfatidilinositol	5 %
Lisofosfatidilcolina	5 %

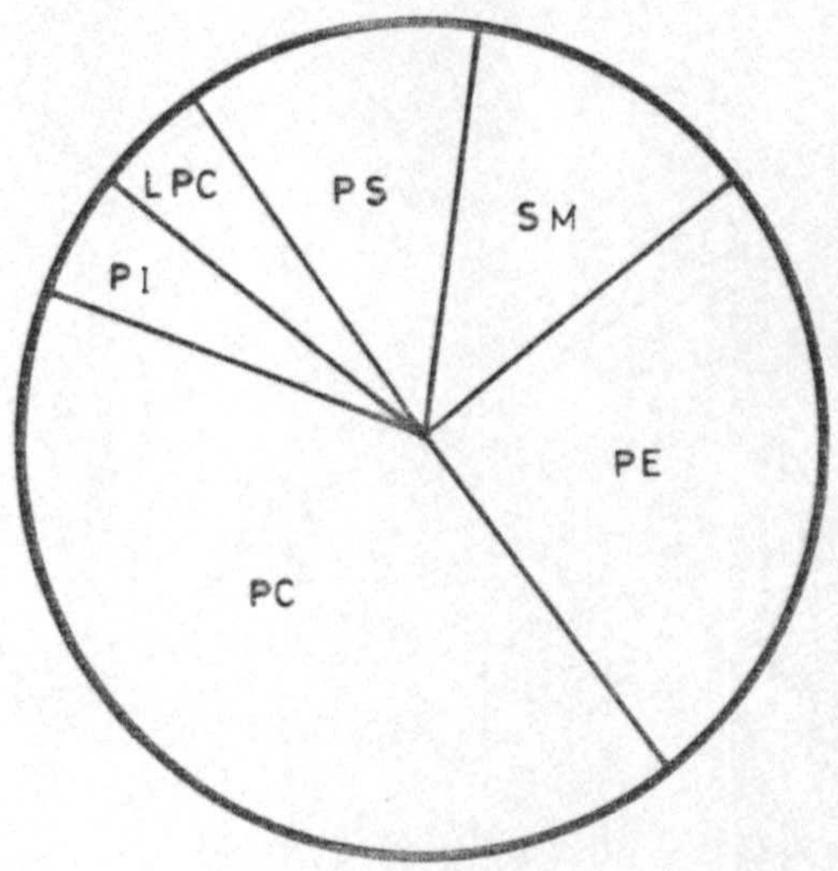


FIGURA III

El empleo de marcadores químicos,técnicas enzimáticas e inmunoquímicas,y procesos de intercambio de lípidos entre membranas donadoras y aceptoras que ocurre bien de forma espontánea (colesterol) o bien a través de proteínas intercambiadoras,han puesto de manifiesto la asimetría de la membrana del eritrocito (55,56,63,77, 78,98).

La distribución es muy similar a la propuesta para los eritrocitos humanos.La fosfatidilserina,fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol (lípidos con carácter aniónico) se localizan principalmente en la cara interna de la membrana,mientras que la fosfatidilcolina , esfingomielina y lisofosfatidilcolina lo hacen en la cara externa.La figura IV (78) representa esta distribución.

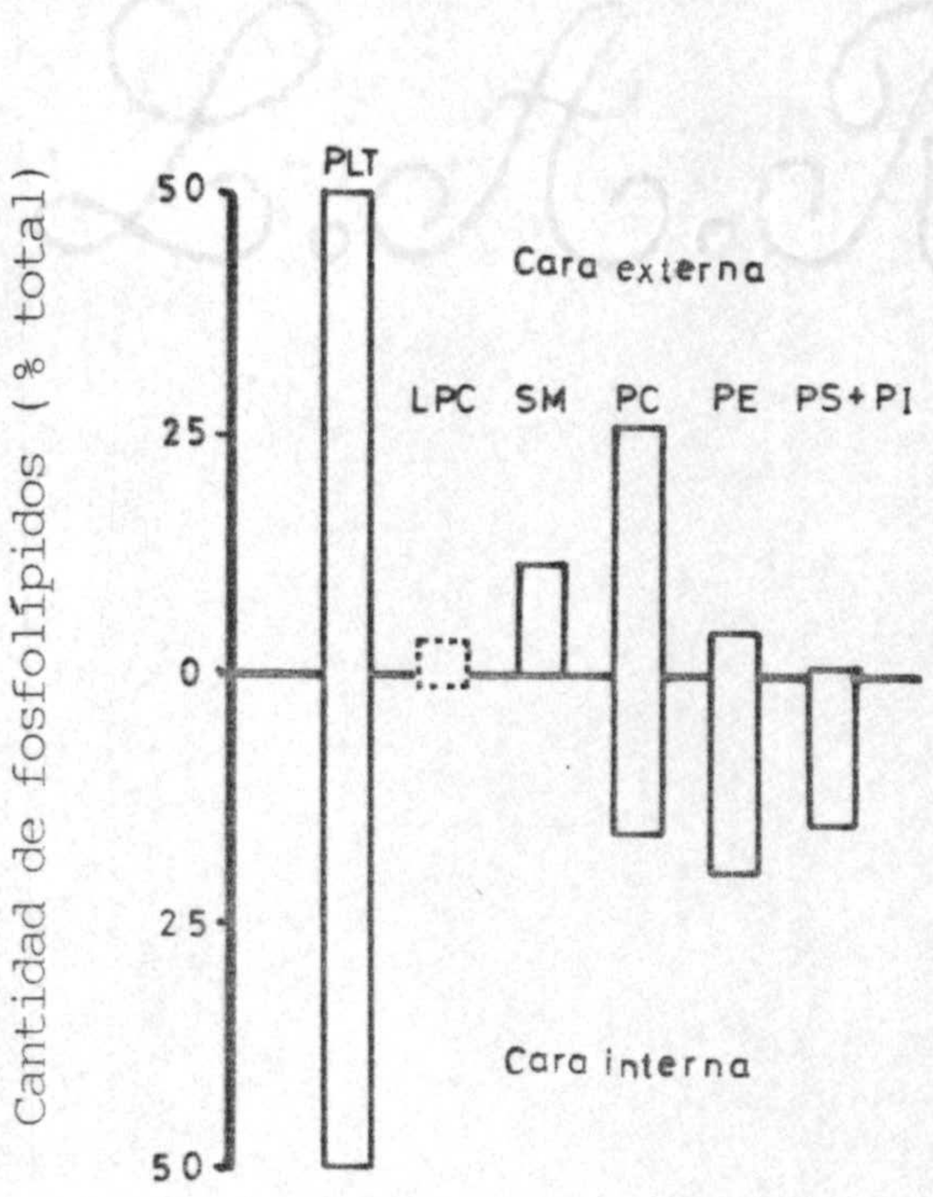


FIGURA IV

Estudios de ^{31}P-RMN han puesto de manifiesto el alto grado de estabilidad de la bicapa,incluso después de la acción de varias fosfolipasas,permaneciendo los fosfolípidos residuales en esta disposición estructural. (56).No obstante,las dos mitades de la bicapa no deben ser consideradas como entidades independientes,ya que pequeños cambios en el área de la cara externa respecto a la interna se traducen en cambios drásticos,tanto en la morfología como en el funcionamiento de la célula.

Uno de los motivos por los que se pueden presentar diferencias en el área de las dos mitades de la bicapa es la sustitución de las especies de fosfatidilcolina nativas de la cara externa por medio de proteínas intercambiadoras específicas (59).El 80 % aproximadamente de las moléculas de fosfatidilcolina presentes en el eritrocito tienen en la posición sn-1 un ácido graso saturado (C 16 ó C 18) y en la posición sn-2 un ácido graso insaturado (C 18:1 ,C 18:2 ,C 20:4);la sustitución de estas moléculas por especies más saturadas (forma cilíndrica) o más insaturadas (forma cónica más abierta),conducen respectivamente,a una disminución y un aumento en el área de la cara externa que se traduce en un cambio de la forma normal bicóncava del eritrocito hacia la forma de equinocito o estomatocito respectivamente,con un aumento en ambos casos de la hemolisis celular (59).

Estos cambios observados "in vitro",se traducen "in vivo" en una eliminación rápida de los eritrocitos modificados de la circulación,lo cual indica un control rígido del eritrocito en la composición de sus propios fosfolípidos.

Dos mecanismos son los responsables del recambio de moléculas de fosfolípidos en la membrana del eritro-

cito,ya que estos carecen de las enzimas para elongar y desaturar las moléculas de ácidos grasos y para la síntesis de fosfolípidos (76,117):

1) Intercambio de moléculas de fosfolípidos entre el eritrocito y las lipoproteínas séricas que tiene lugar en la cara externa de la membrana.

2) Acilación de lisofosfolípidos endógenos en la cara interna de la membrana.

Estas dos rutas ocurren en lados distintos de la membrana,y como era de esperar,el intercambio de fosfatidilcolina entre eritrocitos y plasma "in vivo" ocurre a velocidades distintas,dependiendo del origen metabólico del fosfolípido.Las moléculas de fosfatidilcolina que proceden de la acilación de la lisofosfatidilcolina se intercambian a una velocidad inferior a la que lo hacen las de fosfatidilcolina cuyo origen ha sido un proceso de intercambio previo,lo cual es una consecuencia lógica de la diferente localización en la membrana (118).

La incorporación de ácidos grasos exógenos en los lípidos de membrana por acilación de lisofosfolípidos endógenos,se asume que procede a través de la activación de los ácidos grasos,que se esterifican con coenzima A en una reacción dependiente de ATP y catalizada por la Acil-CoA ligasa (117,119).Posteriormente ocurre una transesterificación del grupo acilo del Acil-CoA al lisofosfolípido por acción de una o más Acil-CoA lisofosfolípidoaciltransferasa.

No es necesario que ocurran grandes cambios en la composición lipídica de la membrana para que se afecte el comportamiento de esta,sino que es probable que pequeños cambios en la composición en ácidos grasos de grupos específicos de lípidos ejerzan un efecto regula-

lador en el microambiente y en el comportamiento de las proteínas de la membrana,sin que se produzcan cambios detectables en la composición de los ácidos grasos totales (117,120).También es posible que reacciones de acilación-desacilación de moléculas de fosfolípidos "in situ" sean un factor importante en el control endógeno de la función de la membrana (117).

El aspecto dinámico de la distribución de los fosfolípidos ha sido estudiado para la fosfatidilcolina. La difusión transversal de este fosfolípido es un proceso lento;el tiempo medio necesario para alcanzar el estado de equilibrio en los eritrocitos de rata oscila entre cuatro y siete horas,dependiendo de que se utilicen fosfolipasas (121) o proteínas intercambiadoras (79)respectivamente.También se ha estudiado para especies de fosfatidilcolina,encontrándose que oscila entre treinta, dieciseis,ocho y cuatro horas para la 16:0/16:0 PC,18:1/18:1 PC ,16:0/20:4 PC y 16:1/18:2 PC respectivamente(59).

El hecho de que las esfingomielinas se encuentren siempre en la cara externa,sugiere que estos lípidos no puedan atravesar la bicapa (77).La difusión transversal de la fosfatidiletanolamina no se conoce,pero es posible que movimientos muy rápidos de este fosfolípido ocurran o sean inducidos por el estado metabólico intracelular(77).

1.5.- Características generales de la membrana del retículo endoplasmático

Después de realizar una homogeneización celular, las cavidades del retículo endoplasmático se fragmentan en microsomas,que se pueden separar de los otros constituyentes celulares por centrifugación diferencial. La

fracción de microsomas así obtenida contiene microsomas rugosos,que llevan asociados ribosomas,y microsomas lisos,que proceden no solo del retículo endoplasmático liso sino también de otras membranas celulares que en el proceso de homogeneización se han fragmentado dando lugar a vesículas.

El grado de contaminación en la fracción microsomal de membranas distintas a las del retículo puede estimarse por métodos bioquímicos,midiendo la actividad de enzimas cuya concentración es elevada y están localizadas esencialmente en ciertos orgánulos.De esta forma se ha estimado que el 80 % de las proteínas presentes en la fracción microsomal proceden del retículo endoplasmático (85).

La composición y estructura de las membranas del retículo endoplasmático es similar a otras membranas celulares,estando constituídas por un 30 % de lípidos y un 70 % de proteínas.Es de destacar con respecto a la membrana del eritrocito,un mayor contenido en fosfatidilcolina y fosfatidilinositol y un menor contenido en colesterol y esfingomielina.La composición en % (P/P) de la membrana del retículo endoplasmático así como la de la membrana plasmática del hepatocito,posible contaminante de la fracción microsomal,se detalla en la tabla III (55).

En cuanto a la distribución asimétrica de los lípidos en la membrana (tabla IV) (77),los resultados obtenidos con distintas técnicas de localización son confusos y contradictorios,consecuencia de los inconvenientes mencionados anteriormente(pág. 42).

Los fosfolípidos de la membrana del retículo endoplasmático,o por extensión,de los microsomas que a diferencia de los eritrocitos carecen de un citoesqueleto

altamente organizado, experimentan una difusión transversal muy rápida, adaptándose a la situación metabólica existente de forma que la distribución adoptada puede ser solo el reflejo de un estado transitorio.

TABLA III. COMPOSICION LIPIDICA DE LAS MEMBRANAS

	Membrana del retículo	Membrana plasmática
Colesterol	7	17
Fosfatidilcolina	58	56
Esfingomielina	4	
Fosfatidiletanolamina	17	15
Fosfatidilserina	4	
Fosfatidilinositol	9	10

TABLA IV. LOCALIZACION PREFERENCIAL DE LOS FOSFOLIPIDOS

Cara externa	Cara interna	Igualmente distribuído	Método
PS , PE	PI , SM	PC	Fosfolipasa A_2
		PC,PE,PI	Fosfolipasa A_2,C
PC , SM	PE , PS , PI		Fosfolipasa C
PE			TNBS

La importancia del retículo endoplasmático reside en que las membranas poseen sistemas enzimáticos que catalizan reacciones del metabolismo lipídico:elongación y desaturación de ácidos grasos, biosíntesis de fosfolípidos, biosíntesis de colesterol y sus derivados. También

tienen lugar en él reacciones de glucosilación y procesos de destoxificación tanto de sustancias endógenas como exógenas.

1.6.- Biosíntesis de ácidos grasos insaturados y compuestos relacionados

La biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados tiene lugar en la fracción microsomal de la célula por una serie de reacciones en las que se alternan la elongación,dependiente de malonil-CoA,y la desaturación que requiere como cofactores oxígeno molecular y un nucleótido de piridina reducido.

De esta forma,a partir de los ácidos grasos de procedencia dietaria o de síntesis endógena,los mamíferos sintetizan todos los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presentes en los tejidos.

La desaturación es llevada a cabo por el complejo desaturasa que consta de NADH-citocromo b_5-reductasa, citocromo b_5 y la enzima desaturasa terminal (122,123), frecuentemente referida como"factor sensible al cianuro" (CSP).Las tres proteínas son integrales y están situadas en la cara citoplasmática de la membrana.La NADH-citocromo b_5 reductasa y el citocromo b_5 son los que canalizan el flujo de electrones necesarios para la reducción del ácido graso desde el NADH hasta la enzima desaturasa terminal que cataliza el paso limitante en la reacción de desaturación (124).

Por otra parte y dado que el complejo desaturasa está inmerso en la bicapa lipídica,la composición de esta y los cambios que experimente la fluidez,por la dieta o bien por otros factores, puede jugar un papel

muy importante sobre la actividad desaturasa como veremos más adelante.

Existen cuatro desaturasas terminales: Δ^9, Δ^6, Δ^5, y Δ^4, que con una amplia especificidad de sustrato y muchas propiedades en común, van a actuar sobre palmitoil-CoA, estearoil-CoA, linoleil-CoA y ∝-linolenil-CoA originando los ácidos grasos insaturados de las series w 7, w 9, w 6 y w 3 respectivamente (Esquema I). Hay que señalar como excepción, que la Δ^5desaturasa puede catalizar la desaturación del 20:3w6 en la posición sn-2 de la fosfatidilcolina (125).

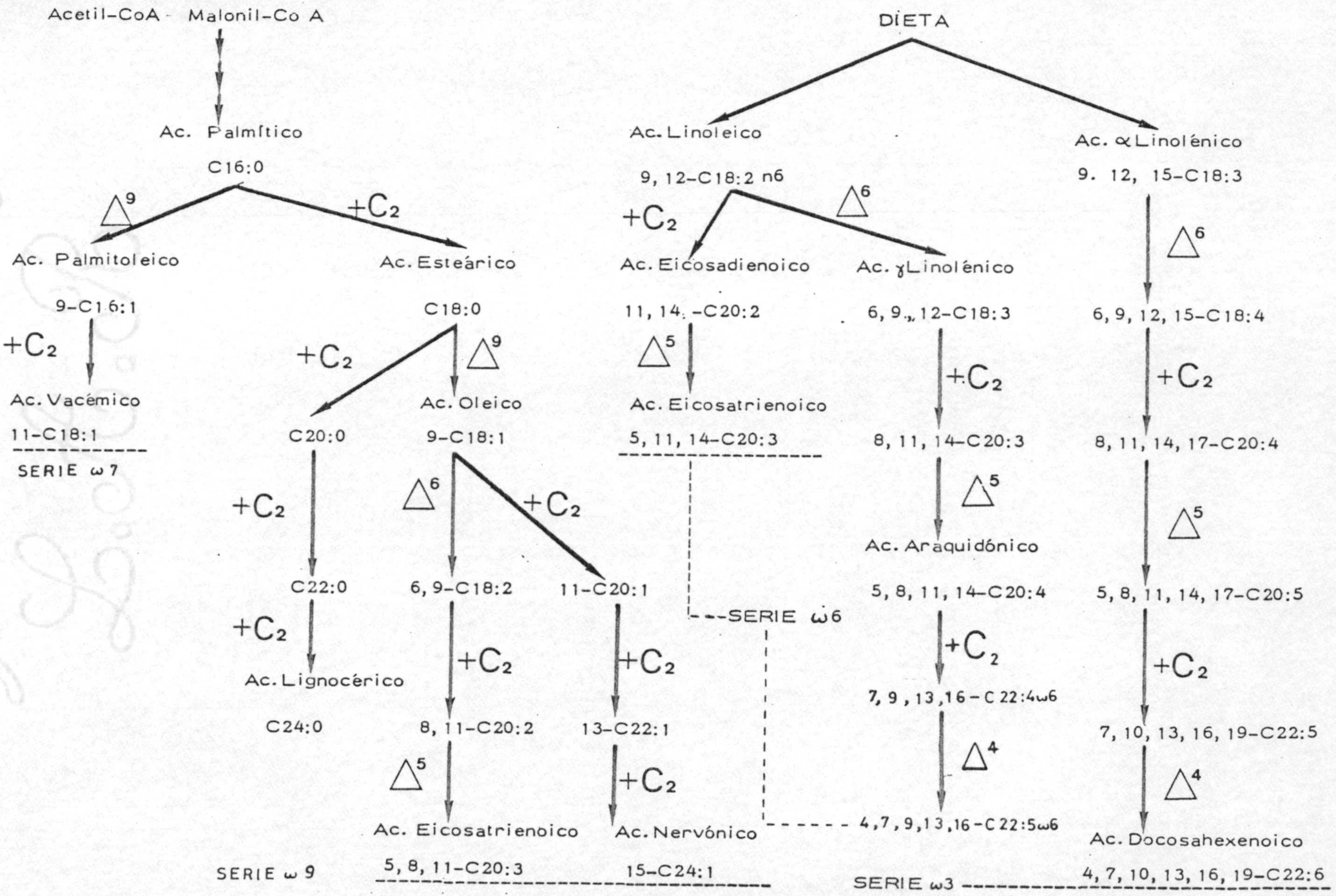
Una de las funciones de la Δ^9desaturasa es alterar el estado físico de los ácidos grasos para que puedan ser procesados por la célula. Los ácidos grasos monoinsaturados originan una disminución en el punto de fusión de los triacilglicéridos, lo que facilita su procesamiento bioquímico, su incorporación a las VLDL y su transporte por la sangre al tejido adiposo (9).

Las enzimas Δ^6 y Δ^5desaturasas catalizan la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados que son incorporados a los fosfolípidos de la membrana, siendo las responsables del mantenimiento de los niveles de ácido araquidónico en los tejidos. La actividad de la Δ^4desaturasa no ha sido bien determinada todavía (9,126).

El control de todas estas reacciones enzimáticas es sumamente complejo, ya que se han descrito:

-Interacciones de tipo competitivo entre los miembros de cada serie para la desaturasa terminal (127, 128,129).

-Inhibición "feed back" de la reacción de desaturación por los metabolitos de los ácidos grasos iniciales (129,130,131).


Acetil-CoA - Malonil-Co A
Ac. Palmítico
C16:0
Δ9
+C2
Ac. Palmitoleico
Ac. Esteárico
9-C16:1
+C2
Ac. Vacémico
11-C18:1
SERIE ω7
C18:0
+C2
Δ9
C20:0
9-C18:1
Ac. Oleico
+C2
Δ6
+C2
C22:0
6, 9-C18:2
11-C20:1
+C2
+C2
+C2
Ac. Lignocérico
C24:0
8, 11-C20:2
13-C22:1
Δ5
+C2
Ac. Eicosatrienoico
Ac. Nervónico
5, 8, 11-C20:3
15-C24:1
SERIE ω 9
DIETA
Ac. Linoleico
9, 12-C18:2 n6
Ac. α Linolénico
9. 12, 15-C18:3
+C2
Δ6
Ac. Eicosadienoico
Ac. γ Linolénico
11, 14. -C20:2
6, 9., 12-C18:3
Δ6
Δ5
+C2
+C2
Ac. Eicosatrienoico
5, 11, 14-C20:3
8, 11, 14-C20:3
6, 9, 12, 15-C18:4
Δ5
Ac. Araquidónico
8, 11, 14, 17-C20:4
+C2
Δ5
5, 8, 11, 14-C20:4
5, 8, 11, 14, 17-C20:5
SERIE ω6
+C2
+C2
7, 9, 13, 16-C 22:4ω6
7, 10, 13, 16, 19-C22:5
Δ4
Δ4
4, 7, 9, 13, 16-C 22:5ω6
Ac. Docosahexenoico
4, 7, 10, 13, 16, 19-C22:6
SERIE ω3

ESQUEMA I

- Interacción entre los procesos de desaturación y transacilación,los cuales estan implicados en la incorporación y utilización de los ácidos grasos en los lípidos tisulares (132,133).

- Diferencias en las velocidades de desaturación o elongación para un ácido graso,que determinan el tipo de ácidos grasos que son preferentemente sintetizados (134).

- Control hormonal de las desaturasas (124).

- Efectos de los componentes de la dieta sobre la actividad desaturasa (124,125,135-139).

Las desaturasas no van a verse afectadas del mismo modo por los factores anteriormente citados,pudiendo manifestarse de forma totalmente opuesta,lo cual es importante en el mantenimiento de la homeostasis de los lípidos de membrana.

De las cuatro desaturasas existentes,se considera que el control de la biosíntesis de los ácidos grasos poliinsaturados reside principalmente en las desaturasas Δ^9 y Δ^6,que son las primeras enzimas involucradas. Esto ha conducido a que los efectos sobre ambas enzimas hayan sido ampliamente estudiados.No obstante,no debe minimizarse el papel desempeñado por la Δ^5 desaturasa,aunque los estudios efectuados con ella son escasos y a veces contradictorios.

La Δ^9 desaturasa es activada por la insulina,aunque parece ser que de forma indirecta,al potenciar esta hormona el flujo de metabolitos desde la glucosa (140). Existe,por otra parte,un paralelismo muy estrecho entre las actividades del complejo ácido graso sintetasa y la Δ^9 desaturasa (141,142).Dado que los carbohidratos de la dieta ejercen un efecto inductor (fructosa > sacarosa > glucosa > almidón)sobre la síntesis hepática de ácidos

grasos (143,144,145),la alimentación con dietas ricas en hidratos de carbono estimula la actividad Δ^9 desatura sa en el mismo sentido que lo hace sobre el complejo ácido graso sintetasa u otras enzimas lipogénicas.El aumento de actividad de la Δ^9 desaturasa es significativo cuando en una dieta libre de grasa se sustituye la glucosa por sacarosa (136).Por el contrario,una dieta grasa inhibe la Δ^9 desaturasa,siendo las grasas poliinsaturadas las que tienen un efecto mayor (146).

La actividad Δ^9 desaturasa está inversamente relacionada con:

- el contenido de 18:2w6 en la dieta.Este punto es más efectivo en la reducción de la actividad Δ^9 desaturasa que el contenido en 18:1w9 de la dieta,siendo más bajos los valores obtenidos con una dieta de maíz que los de una dieta rica en ácido oleico (138,146).

- el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en la fracción microsomal.En este sentido se ha comprobado que el ácido araquidónico inhibe "in vitro" la Δ^9 - desaturasa (147) y la alimentación con una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 (22:5w3 y 22:6w3),los cuales se incorporan a los fosfolípidos de membrana,conlleva una disminución significativa de la desaturasa (135).

El ayuno provoca una disminución en la activi — dad Δ^9 desaturasa,así como en las Δ^6 y Δ^5 desaturasas.La realimentación con una dieta libre de grasa o deficiente en ácidos grasos esenciales,conlleva un aumento en la actividad de las desaturasas que se correlaciona con una disminución en la fluidez de la membrana (148,149).No obstante,aunque el entorno lipídico es vital para la expresión de la actividad desaturásica,no puede ser considerada la fluidez de la membrana como la única variable

ya que la utilización de dietas diferentes conteniendo todas ellas cantidades adecuadas de 18:2w6,lleva asociados cambios significativos en las actividades de las Δ^9, Δ^6 y Δ^5 desaturasas entre las distintas dietas,sin ninguna modificación en la fluidez de membranas (138).

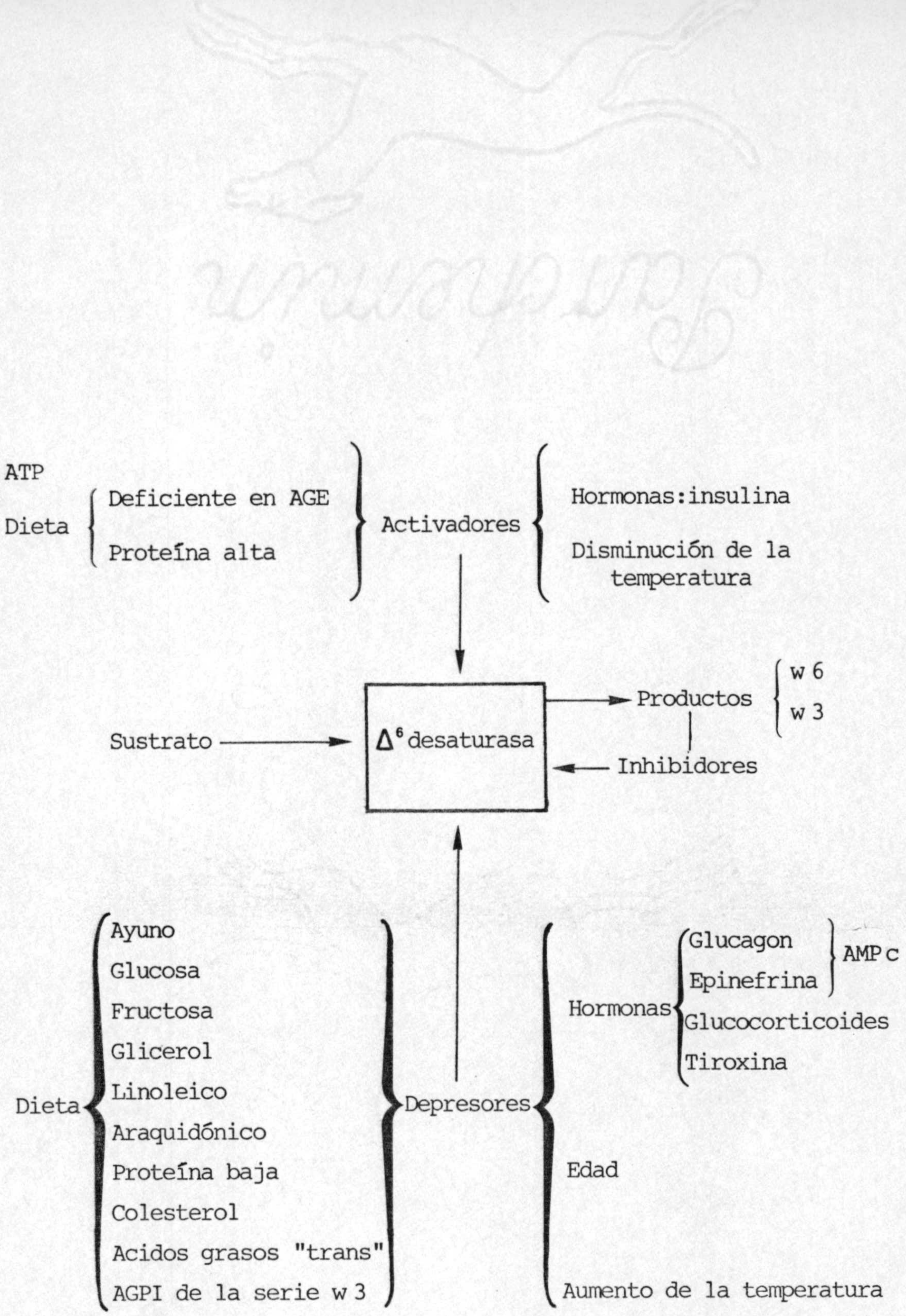
Las Δ^6 y Δ^5 desaturasas se modifican también por factores hormonales y dietarios,aunque los mecanismos de control sean diferentes y más complicados que para la Δ^9 desaturasa.La actividad de ambas enzimas experimenta cambios paralelos debido a la acción hormonal,a diferencia de los factores dietarios que inducen cambios que pueden ser de sentido opuesto.

De las dos enzimas,la Δ^6 desaturasa es probablemente la principal enzima reguladora en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados,ya que su actividad medida "in vitro" es menor que la actividad Δ^5 desaturasa (127,138). En el esquema II se detallan algunos de los factores que modifican la actividad de la Δ^6 desaturasa.

Sobre la Δ^6 y Δ^5 desaturasas actúan todas las hormonas que aumentan los niveles séricos de glucosa,disminuyendo su actividad.Esto se traduce en la existencia de un ritmo circadiano en la actividad desaturásica,como consecuencia de los cambios hormonales registrados por el estado nutricional del animal,explicándose por tanto, que en el ayuno la actividad desaturásica esté muy disminuida.

El glucagon y la epinefrina provocan rápidamente su efecto a través de un aumento en la concentración de AMP c (150).

La instauración de una dieta libre de grasa o una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales lleva asociada un aumento en las actividades Δ^9 y Δ^6 desaturasa


ATP
Dieta
Deficiente en AGE
Proteína alta
Activadores
Hormonas:insulina
Disminución de la temperatura
Sustrato
Δ6 desaturasa
Productos
w 6
w 3
Inhibidores
Dieta
Ayuno
Glucosa
Fructosa
Glicerol
Linoleico
Araquidónico
Proteína baja
Colesterol
Acidos grasos "trans"
AGPI de la serie w 3
Depresores
Hormonas
Glucagon
Epinefrina
AMP c
Glucocorticoides
Tiroxina
Edad
Aumento de la temperatura

ESQUEMA II

por encima de los valores encontrados para estas enzimas en animales alimentados con una dieta nutricionalmente adecuada.El efecto de estas dietas con respecto a la actividad Δ^5 desaturasa,si bien es mayor que cuando el animal está en estado de ayuno,es contradictorio cuando se compara con un estado nutricional adecuado.En este sentido,Brenner y cols.(124,137) señalan una reducción en la actividad Δ^5 desaturasa,mientras Schrijver y Privett (136) señalan el efecto opuesto,no existiendo una explicación aparente para estas diferencias.Brenner y cols. (124,137) tras la suplementación de estas dietas con 18:2w6, γ-linolénico o ácido araquidónico observan una disminución en las actividades Δ^9 y Δ^6 desaturasas y un aumento en la Δ^5 desaturasa aproximándose a los valores de actividad encontrados para una dieta equilibrada.

Vemos por tanto,que los mecanismos por los que la dieta modifica la actividad desaturásica son únicos para cada enzima,de manera que la consecuencia final sea el lograr un cambio coordinado en las actividades enzimáticas que determinen las cantidades relativas de 20:3w6 y 20:4w6 en los lípidos tisulares que son el origen de compuestos eicosanoides con diferentes actividades fisiológicas.

Los efectos que sobre la actividad desaturásica ejercen el colesterol y los isómeros "trans" de los ácidos grasos insaturados son de especial importancia debido a la presencia de estos componentes en la dieta occidental. Ambos compuestos inhiben la Δ^6 desaturasa (138,139,151), aumentando los requerimientos mínimos de ácidos grasos esenciales (138,139,151).

Los ácidos grasos "trans" se incorporan hasta en un 14 % en los lípidos tisulares y pueden ejercer su

efecto modificando el entorno lipídico o algún cofactor implicado en la desaturación (127),o incluso aumentando la oxidación peroxisomal del ácido araquidónico (152,153), lo que explicaría los valores tan bajos encontrados de ácido araquidónico con este tipo de dietas.

Uno de los puntos de control quizás más importante en la biosíntesis de ácidos grasos y que condiciona los niveles de ácidos grasos poliinsaturados de las series w 3,w 6 y w 9 en los lípidos tisulares,es la interacción de tipo competitivo entre los miembros de cada serie.Es perfectamente conocida la inhibición competitiva que existe entre los ácidos grasos insaturados C-18 de las tres series para la Δ^6 desaturasa.La afinidad de la enzima es mayor en el orden w 3 > w 6 > w 9 (128).Como consecuencia de esto y en condiciones normales,los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 9 prácticamente están ausentes de los lípidos tisulares,estando representados casi en su totalidad por los de las series w 3 y w 6.La proporción relativa de los AGPI de estas dos series en los lípidos tisulares depende de:

1) La relación linoleico/α-linolénico de la dieta.Una relación alta favorece la biosíntesis de ácidos grasos de la serie w 6,mientras que una relación baja favorece la formación de los derivados w 3.

2) Contenido de AGPI C-20 y C-22 de las series w 3 y w 6 en la dieta.Estos ácidos grasos actúan por inhibición "feed back" sobre las desaturasas.Los derivados superiores de la serie w 6 y w 3 en los aceites vegetales son prácticamente inexistentes,por lo que su presencia en los lípidos tisulares se debe exclusivamente a reacciones de desaturación.Los aceites de pescado,por el contrario,son muy ricos en derivados de la serie w 3,por lo que la alimentación con este tipo de aceites altera

profundamente el perfil acídico de los lípidos tisulares, que será la resultante de los AGPI de procedencia dietaria más los que se originan por desaturación.

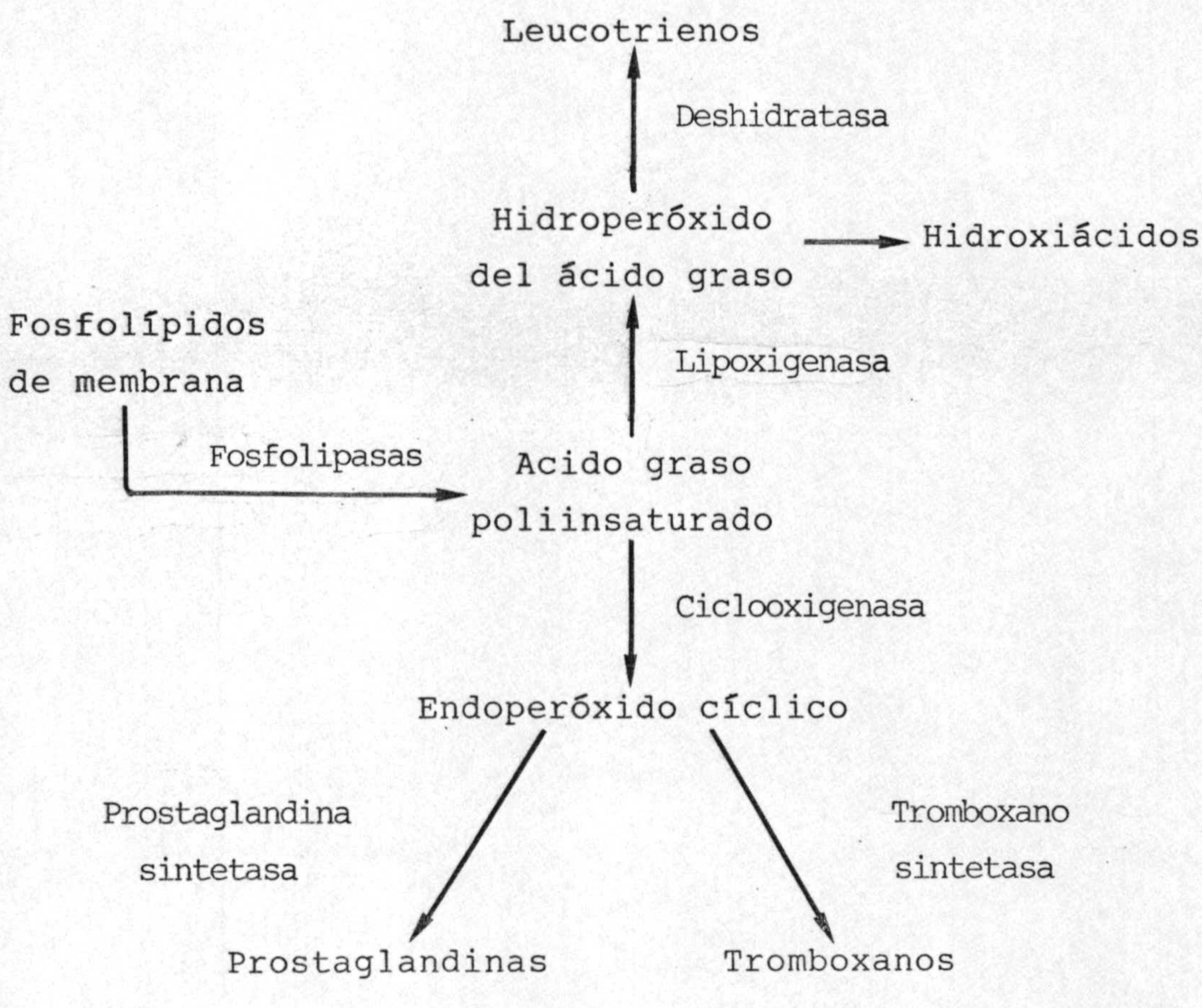
3) Interacción entre los procesos de desaturación y transacilación.Las desaturasas,salvo la Δ^5 desaturasa que puede actuar directamente sobre una molécula de fosfolípido,actuan sobre los acil-CoA,los cuales posteriormente han de ser incorporados en los fosfolípidos de membrana.Lands y cols. (154)señalaron que la 1-acil-glicerofosforilcolina aciltransferasa de los microsomas hepáticos es muy selectiva para los ácidos grasos poliinsaturados,pero no discrimina entre los que pertenecen a la serie w 3 u w 6.Iritani y cols. (155) han encontrado que la aciltransferasa de plaquetas y microsomas hepáticos presenta una mayor selectividad para los derivados w 6 que para los derivados w 3.

Aún cuando el ácido oleico (18:1w9) presenta una menor afinidad por la Δ^6 desaturasa que el α-linolénico (18:3w3) o linoleico (18:2w6),podríamos preguntarnos si un nivel alto de oleico en la dieta puede inhibir la formación de AGPI w 6 u w 3.Mohrhauer y cols.(156) han encontrado que el ácido oleico,aún cuando suministre el 22 % de las calorías totales ingeridas,no tiene efecto sobre la desaturación del linoleico,siempre que el aporte de este sea superior a los requerimientos mínimos. Shimp y cols.(157)han señalado que una concentración de oleico 400 nM añadida como inhibidor a un medio que contiene 50 nM de linoleico tiene poco efecto sobre la desaturación de este.

Los ácidos grasos poliinsaturados además de ser importantes estructural y funcionalmente para las membranas,son el origen de las prostaglandinas (PG),tromboxanos (TX)y leucotrienos (LT),compuestos que juegan un

papel fundamental en el control de los sistemas biológicos.

Los ácidos grasos poliinsaturados incorporados en los fosfolípidos de membrana,son liberados por acción de las fosfolipasas y en forma libre actuan como sustratos,bien siguiendo la ruta de la ciclooxigenasa,bien la de la lipooxigenasa.(Esquema III).



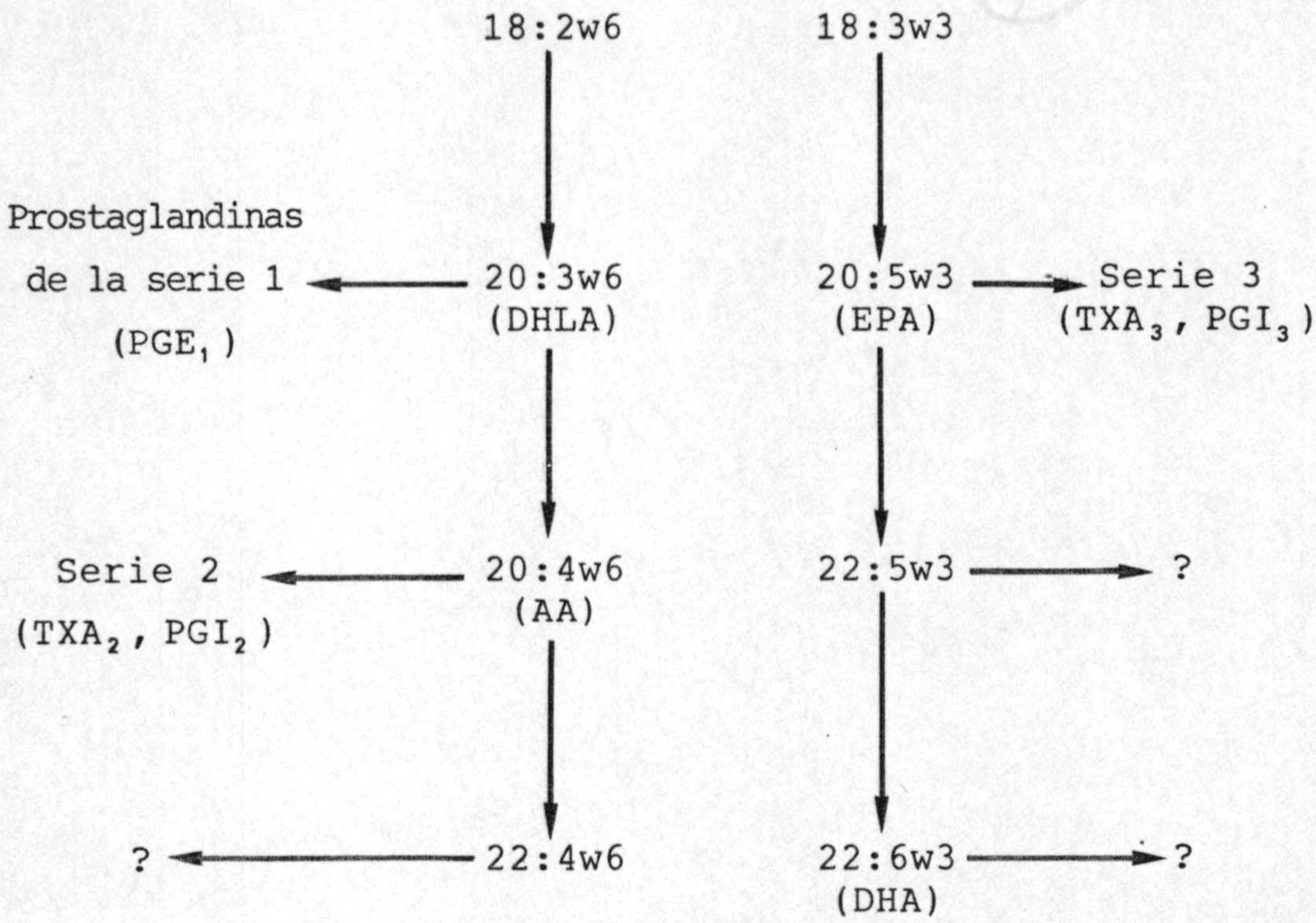
ESQUEMA III

Las prostaglandinas y tromboxanos se sintetizan dependiendo de los requerimientos del tejido y no se almacenan.Las primeras son moduladores de estímulos hormonales , neurohormonales y de otros tipos;presentan una gran variedad de acciones,dependiendo de las especies y órganos donde actuan y están implicadas en procesos tales como la reproducción,modulación de la presión sanguínea,agregación plaquetaria e inflamación.Los tromboxanos están implicados en la agregación plaquetaria y en la contracción del músculo liso.

Especial interes tienen las diferentes lipoxigenasas : C-5 ,C-12 y C-15 ,que se localizan en neutrófilos,plaquetas y en las células del endotelio capilar. Los productos sintetizados por estas enzimas tienen potentes actividades biológicas,están implicados en la interacción celular (neutrófilos-plaquetas) (158) y en la modulación de la ruta de la ciclo-oxigenasa al actuar como estimuladores o inhibidores en la síntesis de la PG I_2 y del TX A_2 (159,160).

La observación de que en los esquimales,(161,162) cuya dieta se basa fundamentalmente en animales marinos y por tanto en una ingesta elevada de AGPI de la serie w 3,las enfermedades cardiovasculares presentan una baja incidencia,aunque va acompañada de un riesgo mayor de hemorragias,dió pie a los estudios que relacionan la modificación de los ácidos grasos de la dieta con la síntesis de prostaglandinas y compuestos relacionados.

Los ácidos grasos de la dieta ejercen su efecto modulando la actividad desaturásica y la composición de los ácidos grasos de los lípidos tisulares que actuarán como sustrato en la síntesis de eicosanoides con diferentes actividades biológicas (Esquema IV).



ESQUEMA IV

Todos estos compuestos actuan estimulando o inhibiendo la agregación plaquetaria que se produce por la adhesión de las plaquetas a un endotelio vascular dañado, por lo que el equilibrio entre ellos es fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del sistema cardiovascular.

La relación existente entre la ingesta de un dieta rica en grasas saturadas y enfermedades cardiovasculares, puede ser debida entre otros factores, a una elevación en los niveles de 20:3w9 en los fosfolípidos de plaquetas, que se correlaciona con el efecto agregante

inducido por la trombina (163).En este efecto pueden estar implicados productos formados por la ruta de la lipoxigenasa (164).

Los aceites de pescado disminuyen la actividad procoagulante y la agregación plaquetaria inducida por bajas concentraciones de ADP y colágeno (165).La mayoría de los estudios señalan una disminución en la producción de TX A_2 en las plaquetas.Varios son los mecanismos propuestos por los que actuan los AGPI de la serie w 3:

- Disminuyen el contenido de ácido araquidónico (20:4w6) de los fosfolípidos de membrana.
- Actuan como inhibidores competitivos del ácido araquidónico para la ciclo-oxigenasa,alterando la formación de eicosanoides (166,167).
- El 20:5w3,aunque no el 22:6w3,actúa como sustrato para la ciclo-oxigenasa,originando el TX A_3 con escasa capacidad agregante,y una prostaglandina (PG I_3) antiagregante,en el endotelio vascular (168).

El papel que el 22:6w3 puede desempeñar es cuestionable,ya que cuando se estimulan con trombina plaquetas enriquecidas por medio de la dieta con 20:5w3 y 22:6w3,la cantidad de este que se libera es mínima comparada con la cantidad de 20:5w3 (169).

La suplementación de una dieta con ácidos grasos de la serie w 6 y particularmente de 18:2w6,conduce a unos efectos moderados sobre la función plaquetaria.

El 20:3w6 dietario se incorpora en los lípidos de plaquetas y del endotelio capilar,produciendo una disminución en la agregación plaquetaria (165).El 20:3w6 origina una prostaglandina (PG E_1) que es antiagregante, y recientes estudios muestran que dicho ácido graso puede transformarse por la ruta de la lipoxigenasa en un inhibidor de la ciclo-oxigenasa (170), aunque también

se ha descrito que reduce la producción de PG I_2 en el endo_ telio capilar (171).

El ácido araquidónico da origen en las plaque — tas a endoperóxidos que se transforman en TX A_2 ,que es un potente vasoconstrictor y agregante plaquetario (172). Por otro lado,en el endotelio capilar el ácido araquidó_ nico se transforma en endoperóxidos,que son los precur- sores junto con algún endoperóxido de procedencia pla — quetaria,de la prostaciclina PG I_2 que actua como un po- tente vasodilatador y antiagregante plaquetario (173). Estos dos eicosanoides son los que permiten a las pla — quetas la reparación del endotelio vascular sin producir una agregación plaquetaria mayor,que daría lugar a la formación del trombo.

Estudios recientes (174) en conejos alimentados con dietas saturadas (mantequilla),poliinsaturadas (maíz) y monoinsaturadas (oliva),han puesto de manifiesto que si bien la dieta de maíz se asociaba con una disminución en la colesterolemia,la liberación del TX B_2 ,metabolito del TX A_2 ,era ligeramente mayor,y la liberación de PG I_2 de la pared arterial era sensiblemente más baja;a la die_ ta de oliva le correspondía un nivel de colesterolemia intermedio y un mantenimiento en la producción de PG I_2 en la pared arterial.

Por todo ello,a la hora de abordar la modifica- ción por la dieta de la síntesis de compuestos eicosa — noides,hay que tener en cuenta la gran diversidad de fun_ ciones que estos pueden desempeñar en los distintos te- jidos.Un hecho de extraordinario interés que a nosotros no nos puede pasar desapercibido,es la baja incidencia de enfermedades cardiovasculares en los paises medite — rráneos,en los que la ingesta lipídica clásicamente se ha basado en su mayor parte en el aceite de oliva.Sería

pues de desear un conocimiento más profundo de los efectos que una alimentación a base de este podría tener sobre la formación de todos estos compuestos.

1.7.- Influencia de la dieta sobre los niveles de colesterol plasmático

Un elevado número de estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales han puesto de manifiesto la importancia de los lípidos séricos, y particularmente de los niveles de colesterol, como un factor de riesgo en las enfermedades cardiovasculares.

Dado que el colesterol es vehiculizado en forma de lipoproteínas y que estas difieren en cuanto a su síntesis y catabolismo, va a ser el contenido en colesterol de estas un factor de relación más directo que los niveles plasmáticos de colesterol con estas enfermedades. Así, se ha establecido que tanto los remanentes de QM como las VLDL y LDL son partículas altamente aterogénicas, existiendo por el contrario, una correlación negativa entre la incidencia de la isquemia cardíaca y la concentración plasmática de las HDL.

Actualmente se consideran los niveles séricos elevados de apoproteína B como un factor de riesgo frente a estas enfermedades en base a la correlación existente entre los niveles de LDL - Colesterol y dicha apoproteína, y a los resultados obtenidos por varios autores que describen una alta relación apoproteína B / LDL - Colesterol en estos enfermos (175,176).

Además de la posible influencia de factores genéticos sobre los niveles de lípidos plasmáticos, existe una estrecha asociación entre la ingesta de grasa sa

turada y colesterol plasmático, por lo que una buena parte de los intentos de reducción de los niveles de colesterol se ha centrado sobre la limitación de la grasa en general y de la grasa saturada y el colesterol en particular. No obstante, todos los principios inmediatos pueden ser precursores de colesterol al ser el iniciador de su síntesis el acetil-CoA , metabolito común de las diversas vías del metabolismo intermediario. La incidencia de una dieta modificada sobre la dinámica corporal del colesterol, por tanto, va a ser la resultante de todos sus componentes, por lo que estos deben ser considerados separadamente a la hora de evaluar sus implicaciones, manifestándose las respuestas sobre el colesterol sérico en tres o cuatro semanas una vez instaurada la dieta (28).

En la administración de una dieta han de tenerse en cuenta una serie de factores; en primer lugar que esta no sea perjudicial, en segundo lugar que logre una reducción selectiva en los niveles de LDL colesterol no afectando a los niveles de HDL colesterol, siendo aconsejable que produzca una elevación de estos, y en tercer lugar que la dieta sea aceptable tanto en la disponibilidad como en su palatabilidad.

De entre los diversos componentes de una dieta señalaremos la fuerte correlación positiva existente entre la incidencia de enfermedades coronarias y la cantidad de proteína animal ingerida en la dieta (177). En este sentido,un trabajo realizado en conejos (178) ha puesto de manifiesto que la sustitución de dietas conteniendo caseína y proteínas de origen animal por dietas cuyas proteínas procedían de un aislado de soja u otro vegetal no indujeron en los animales, a diferencia de la caseína, ni hipercolesterolemia ni aterosclerosis.

Múltiples experimentos han indicado que el tipo de fibra incluído en la dieta tiene influencia sobre la capacidad aterogénica de la misma. Entre los efectos observados por la administración de fibra o alguno de sus componentes en la dieta se puede incluir: un descenso en los niveles séricos de colesterol, un aumento en la eliminación de esteroles fecales y una reducción en la severidad de las lesiones ateroscleróticas, así como un efecto antagonista disminuyendo los niveles séricos de colesterol cuando es administrada conjuntamente con este.

El mecanismo inicial por el que actúa podría ser a través de su unión a ácidos biliares y su posterior excreción (179). Esta acción traería como consecuencia una reducción en la absorción intestinal de colesterol y un aumento en el recambio.

Otro componente de capital importancia en los niveles plasmáticos de colesterol es el propio colesterol de la dieta, que actúa inhibiendo la síntesis hepática de este compuesto en todos aquellos animales con capacidad de sintetizarlo (180). Se ha comprobado una relación más directa del colesterol de la dieta con niveles plasmáticos de colesterol en individuos con antecedentes hipercolesterolémicos que en individuos normales, en los cuales parece tener una mayor incidencia sobre los niveles de colesterol la relación ácidos grasos poliiinsaturados / ácidos grasos saturados (P/S) de la grasa, así como la cantidad total de esta que es ingerida como veremos más adelante.

Está bien establecido que la saturación de la grasa dietaria aumenta los niveles plasmáticos de colesterol, tanto en el hombre como en los animales de experimentación. El efecto pudiera ser consecuencia en primer término de una modificación en la cantidad de tria-

cilglicéridos o colesterol absorbidos, o bien a diferencias en la composición, estructura y tamaño y por extensión, en el metabolismo de las lipoproteínas linfáticas. Varios estudios han señalado que cuando los animales son alimentados con dietas con una relación P/S alta,el tamaño de estas lipoproteínas es mayor que cuando la relación P/S es baja (181,182).

La sustitución de grasa saturada por poliinsaturada lleva consigo una disminución en los niveles de colesterol plasmático. Este tipo de grasa podría afectar entre otros a los siguientes procesos:

1) Absorción de colesterol exógeno en el intestino delgado (183).

2) Síntesis de colesterol (183,184).

3) Excreción de esteroides fecales (183,185).

4) Secreción biliar (186).

5) Distribución del colesterol entre los "pools" plasmáticos y extrahepáticos (183).

6) Síntesis lipoproteica.

7) Catabolismo lipoproteico reflejado en la toma periférica de esteroles o lipoproteínas (187)

8) Recambio de colesterol o ácidos biliares(186,188).

La mayoría de estos estudios se han realizado con dietas con un alto contenido en ácido linoleicó; este ácido puede ser metabolizado a ácido γ-linolénico y otros ácidos grasos poliinsaturados de mayor número de átomos de carbono. Recientemente Horrobin y cols.(189)han comunicado que tras la administración de un preparado comercial ,Efamol® , con un 9% de ácido γ- linolénico, hay una mayor contribución de los derivados del ácido linoleico a la disminución de los niveles plasmáticos del colesterol. Esta disminución se manifiesta sobre los niveles de LDL colesterol,no viéndose afectados ni los ni-

veles de HDL colesterol ni los de triacilglicéridos. Tampoco afecta a individuos con unos niveles plasmáticos de colesterol normales, por lo que se sugiere que su actuación es a nivel fisiológico, careciendo de efectos farmacológicos. En individuos cuyos niveles de colesterol están elevados la Δ^6 desaturasa, enzima que convierte el ácido linoleico en ácido γ - linolénico, funciona deficientemente. Esta enzima probablemente tenga una gran importancia en la comprensión de los factores de riesgo frente a las enfermedades cardiovasculares. Brenner y otros autores (124,190) han encontrado que la edad, sexo, diabetes mellitus, alcohol, catecolaminas, ácidos grasos "trans" y probablemente los ácidos grasos saturados, todos ellos factores de riesgo, reducen la actividad desaturásica.

La ingesta durante un tiempo prolongado de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados puede originar la aparición de efectos indeseables tal como vimos anteriormente ; es por esto, que estudios epidemiológicos en los que se ha puesto de manifiesto la baja incidencia de enfermedades cardiovasculares en la zona mediterránea (26), donde el consumo de aceite de oliva es predominante, han impulsado la investigación con este tipo de grasas.

La dieta típicamente mediterránea viene definida por una ingesta baja de grasa, proteína animal y colesterol y una ingesta alta de fibra, y está basada fundamentalmente en el consumo de cereales, vegetales y aceite de oliva con una relación P/S de 0.48. Esta dieta está siendo sustituída por una dieta occidentalizada caracterizada por una alta ingesta de grasa, fundamentalmente saturada, proteína animal y colesterol y una ingesta baja de fibra. Estudios llevados a cabo en comunidades de

vida abierta, relativos a la sustitución de una dieta mediterránea por una dieta occidental han puesto de manifiesto un aumento significativo y semejante del colesterol total y LDL colesterol tanto en hombres como en mujeres. La concentración sérica de apoproteína B aumenta en ambos sexos, encontrándose un incremento significativo de HDL colesterol en mujeres.

Varios estudios epidemiológicos muestran niveles de HDL colesterol más elevados en mujeres que en hombres en varias poblaciones (27,191,192), pero datos referentes al efecto de la dieta sobre los niveles de HDL colesterol son contradictorios. La mayoría de los estudios con dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados muestran un descenso en los niveles de HDL colesterol paralelamente a la disminución del contenido total de colesterol sérico (29,193,194). Sin embargo, a excepción de la evidencia anteriormente citada, no hay un claro efecto en el incremento de HDL colesterol como resultado de la ingesta de dietas con un alto contenido en grasa y colesterol (195,196).

Recientemente Mattson y Grundy (29) han puesto de manifiesto en pacientes normotrigliceridémicos que una grasa monoinsaturada (aceite enriquecido con ácido oleico) se muestra tan efectíva como una poliinsaturada en la disminución de los niveles de LDL colesterol. La mayor disminución en los niveles de colesterol total por las grasas poliinsaturadas se explica tanto por la reducción que ejercen sobre los niveles de LDL colesterol como también sobre los niveles de HDL colesterol puestos de manifiesto en su estudio.

Un tipo de grasa semisintética utilizada son los triacilglicéridos de cadena media (MCT); la ingestión de esta conduce a un descenso en los niveles séricos de co

lesterol (49). Lutton y cols. (197) han puesto de manifiesto que mientras el coeficiente de absorción no es significativamente modificado por la naturaleza de los ácidos grasos saturados de la dieta, sí se produce un aumento en la síntesis de colesterol cuando las ratas son alimentadas con trimiristina frente las que son alimentadas con tricaproína (un 80% superior). Este aumento es consecuencia de una estimulación en la colesterogénesis hepática, encontrándose esta disminuída en las ratas alimentadas con triacilglicéridos de cadena corta o media,como lo demuestran las medidas de la actividad 3-hidroxi- 3 - metil glutaril - CoA reductasa (51,52) o las experiencias de incorporación de acetato radiactivo (196).

En general, se puede decir que los niveles de lípidos séricos se elevan con la edad, observándose en humanos una disminución en los niveles de HDL (192,198).

Cuando los estudios se llevan a cabo con animales de experimentación hay que considerar la raza, actividad física (199) y el sexo como factores que afectan a los niveles de lípidos plasmáticos. En ratas de la raza Wistar los niveles de colesterol aumentan con la edad (200,201), siendo mayores en ratas machos que en hembras (202). También aumentan con la edad los niveles de triacilglicéridos y de ácidos grasos libres en las lipoproteínas, así como los niveles plasmáticos de esfingomielina, disminuyendo la relación P/S en los ácidos grasos del plasma.(201).

La síntesis de colesterol, la degradación y el recambio metabólico disminuyen con la edad (203)por lo que es de esperar un aumento del colesterol en los tejidos. Cuando se estudian los lípidos de la aorta humana se encuentran unos niveles de colesterol esterificado

mayores en individuos con una edad más avanzada (204), siendo el contenido más alto en la aorta dañada que en tejidos adyacentes (205). La rata va a tener un comportamiento diferente de otros animales en tanto que la actividad lipolítica de la aorta aumenta con la edad (206), lo que le convierte en una especie resistente a la aterosclerosis.

1.8.- Influencia de la dieta sobre la composición en ácidos grasos de los lípidos plasmáticos y tisulares

Los primeros estudios realizados surgen de la investigación con animales alimentados con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales. Posteriormente el efecto profiláctico de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w6 de la dieta sobre las enfermedades cardiovasculares,y más recientemente el interés que han suscitado los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w3, presentes fundamentalmente en animales marinos, sobre este punto,han impulsado la investigación en este campo y han permitido conocer algunos aspectos sobre la composición de los ácidos grasos en los distintos lípidos tisulares, de las modificaciones que experimentan por medio de la dieta y de los cambios compensatorios que se producen.

Independientemente de la dieta y del tejido que se trate, los niveles de ácidos grasos insaturados de la serie w7 (16:1w7 fundamentalmente) son muy bajos(135, 138,207) y están directamente relacionados con la cantidad de este en la dieta (135). Estos niveles pueden ser debidos a la preferencia del estearoil-CoA frente al palmitoil-CoA como sustrato de la Δ^9 desaturasa (208) y

además, como han demostrado Bernert y Sprecher (134) el paso de elongación es apreciablemente más rápido que el de desaturación.

Los ácidos grasos insaturados de las series w 9, w 6 y w 3 muestran una distribución característica que depende de la especie, del tejido y de la fracción lipídica. Esta distribución puede verse afectada por la dieta, aunque existen ciertos tejidos como es el caso del cerebro, que oponen una mayor resistencia (209).

Los primeros estudios con dietas libres de grasa y con posterioridad, una vez establecida la necesidad del 18:2w6 y 18:3w3 (este último discutido) con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales, mostraron las modificaciones que se producen en la composición acídica de los diferentes lípidos tisulares. En general se observa una disminución muy marcada del 18:2w6 y 20:4w6 y un aumento en el 20:3w9. El criterio para considerar según Holman (210) un animal deficiente en ácidos grasos esenciales es que la relación trieno / tetraeno en el plasma sea mayor que 0.4.

La suplementación de una dieta libre de grasas con 1.5 g % de 18:2w6, 18:3w6 o 20:4w6 corrige la composición acídica, manifestándose a las veinticuatro horas una reducción notable del 20:3w9 y un aumento del 18:2w6 y 20:4w6 con lo que el índice trieno / tetraeno se hace inferior a 0.4. En esta reducción el 18:3w6 fue más efectivo que los otros ácidos grasos (137).

La evolución del ácido araquidónico y de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 se ha estudiado en ratas alimentadas durante dos semanas con aceite de pescado o aceite de maíz intercaladas entre períodos en los que se alimentan con una dieta libre de gra-

sas (155). Los cambios que experimentan los ácidos grasos en la transición de una dieta libre de grasas a la dieta con aceite de pescado o maíz coinciden con los anteriormente citados, reduciendo de forma similar los dos aceites los niveles de 20:3w9 en los fosfolípidos del plasma, hígado y plaquetas. El ácido araquidónico en la posición sn-2 de la fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina, presente en mayor proporción cuando los animales se alimentan con aceite de maíz, es sustituído por el 20:5w3 y 22:5w3 en la dieta con aceite de pescado, donde estos ácidos alcanzan sus porcentajes más altos. El cambio de nuevo a una dieta libre de grasas pone de manifiesto que mientras que en el plasma los niveles de ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 disminuyen de forma similar, la tendencia de la disminución del ácido araquidónico es menor en las plaquetas y en los fosfolípidos hepáticos, lo cual puede indicar la importancia fisiológica de este y la limitación a la sustitución de los derivados de la serie w 6 por los de la serie w 3 presentes en la dieta u originados por una mayor disponibilidad de 18:3w3, sustrato preferente de la Δ^6 desaturasa.

Es precisamente la Δ^6 desaturasa, que actua preferentemente en el orden w 3 > w 6 > w 9, la que condiciona los niveles de ácidos grasos poliinsaturados en los tejidos y explica el aumento del 20:3w9 al actuar sobre el 18:1w9 cuando no se aportan en la dieta 18:3w3 ni 18:2w6.

No obstante, no existen evidencias inequívocas del caracter esencial del α-linolénico (18:3w3) en la dieta de mamíferos. Tinoco y cols. (211) en una experiencia en la que alimentan a ratas durante dos generaciones con una dieta deficiente en ácido α-linolénico

(38 mg / Kg de dieta) frente a una dieta control no deficiente, encontraron una sustitución del 22:6w3 en los lípidos tisulares analizados por el 22:5w6, no observando ninguna diferencia en la curva de crecimiento o peso de los órganos entre los dos lotes de animales. La sustitución específica del docosahexenoico por el docosapentenoico puede indicar unos requerimientos estructurales por parte de los lípidos de membrana para los ácidos grasos poliinsaturados de veintidos átomos de carbono y que el caracter esencial del α- linolénico más que residir en la formación de ácidos grasos de caracter estructural, resida en la de ser el precursor de compuestos eicosanoides con lo que las necesidades pudieran ser inferiores a la cantidad suministrada por la dieta deficiente en ácido α- linolénico.

Recientemente se ha descrito un caso de deficiencia de ácido linolénico en una niña alimentada con nutrición parenteral total, con un contenido muy bajo en α - linolénico, que presentaba anormalidades de tipo neurológico (parestesia, visión borrosa...) que se corrigieron con la administración de este, estimándose sus requerimientos en el 0.54 % de las calorías ingeridas (212).

Lamptey y Walter (213) han señalado que el α-linolénico y sus derivados pueden desempeñar un papel importante en los procesos de aprendizaje ya que las ratas alimentadas con aceite de cártamo (< 0.5 % de α-linolénico) frente a las ratas alimentadas con aceite de soja (4.0 - 11 % de α-linolénico) tuvieron un mayor número de fallos en la prueba a la que fueron sometidas, bien por el menor contenido de 22:6w3 en los fosfolípidos cerebrales, bien por una alteración de la visión, extremo que no pudo confirmarse al no ser analizados los

lípidos de la retina.

Los ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3 presentan una distribución característica del lípido tisular analizado. Entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3, el 22:6w3 es el mayoritario, localizándose preferentemente en la fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina del tejido analizado. El porcentaje de este ácido graso es normalemte inferior al 5 % en los ácidos grasos totales o en los ácidos grasos de los fosfolípidos de la mayoría de los tejidos, no obstante, ciertos órganos y orgánulos contienen una elevada proporción de él, como son los lípidos del cerebro, retina, espermatozoides y testículos (214). La rata, sin embargo, es uno de los animales en que como excepción el contenido de 22:6w3 es minoritario en los testículos y espermatozoides, siendo mayoritario el 22:5w6 (214).

La distribución de los ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3 se modifica por la dieta como más adelante veremos.

Los niveles de los ácidos oleico (18:1w9) y linoleico (18:2w6) en los lípidos plasmáticos y tisulares están en relación directa con el porcentaje de estos ácidos grasos en las dietas utilizadas, salvo que existan compuestos como el colesterol y ácidos grasos "trans" que inhiben a la Δ^6 desaturasa lo que aumentaría el porcentaje del 18:2w6 en los lípidos tisulares y plasmáticos (135,138,139,207,215,216) o que la relación linoleico / linolénico de la dieta sea muy diferente. Este último caso es el que se presenta en la experiencia de Høy y cols.(217) en la que tras la alimentación de ratas durante once semanas con aceite de soja (53 % de linoleico, 7 % de α- linolénico) o aceite de cártamo (76 % de linolei-

co, 0.3 % de α- linolénico) al 10 %, observan que el contenido de 18:2w6 en los diferentes lípidos tisulares, a excepción de la fosfatidilcolina del corazón, eran iguales e incluso superiores en los animales alimentados con soja frente a los animales alimentados con cártamo.

El ácido α- linolénico, precursor de la serie w 3, a diferencia del oleico y linoleico, se encuentra prácticamente ausente en la mayoría de los tejidos analizados, aún cuando las ratas reciben una dieta suplementada con aceite de linaza (61 % de α- linolénico), lo cual sugiere que este ácido graso es un sustrato favorable para la β- oxidación cuando sus metabolitos presentes en los tejidos frenan su propia síntesis (209,218).

Es interesante comentar en este punto los resultados obtenidos por Horrobin y cols. (11) que ponen de manifiesto el alto porcentaje de ácido linoleico y la elevada relación linoleico / derivados del linoleico en los lípidos tisulares y plasmáticos de especies como el conejo y el cobaya que son muy susceptibles a la formación de ateromas. Estas diferencias entre especies no se deben a las diferencias en los porcentajes de los ácidos grasos en las dietas ya que estos fueron similares. Aunque dietas con un alto contenido en ácido linoleico se utilizan en la prevención de enfermedades cardiovasculares parece ser que el agente responsable no es el ácido linoleico "per se" ,como ya vimos anteriormente. En este sentido concuerdan los datos de Swell y cols. (219) que muestran que la susceptibilidad de una especie a la aterosclerosis está inversamente relacionada con el nivel del ácido araquidónico en los ésteres del colesterol plasmáticos.

En general puede decirse que la dieta tiene un efecto mínimo sobre el porcentaje de ácidos grasos satu

rados presentes tanto en los lípidos plasmáticos como tisulares, por lo que la relación P / S prácticamente permanece constante con independencia del valor de esta relación en la dieta (138,207,215,220). Esta relación es característica de cada tejido así como de la fracción lipídica de que se trate. En este sentido hay que destacar las diferencias existentes entre la membrana del eritrocito y los lípidos hepáticos. La fosfatidilcolina de la membrana del eritrocito se caracteriza por tener un elevado contenido de ácidos grasos saturados (aproximadamente un 60 %) (215,221), mientras que en la fosfatidiletanolamina el porcentaje es mucho más bajo (alrededor de un 30 %) (215,221). Estas diferencias, por el contrario, no se manifiestan en los lípidos hepáticos,en los que el porcentaje de saturados en la fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina se situa en torno a un 50 % (222).

Iritani y Fujikawa (220) encontraron que independientemente de la naturaleza y del contenido en grasa de la dieta, el porcentaje de ácidos grasos saturados de los fosfolípidos hepáticos y plasmáticos era del 45 %, lo que está de acuerdo con el hecho de que la distribución de los ácidos grasos en los lípidos hepáticos no es al azar (223,224), sino que la mayoría de los ácidos grasos insaturados ocupan la posición sn-2, mientras que los saturados ocupan la posición sn-1. El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados con más de tres dobles enlaces era mayor en los fosfolípidos hepáticos ($\simeq$ 30 %) que en los fosfolípidos plasmáticos ($\simeq$ 20 %).

No obstante, resultados recientes obtenidos con un cultivo de células de riñón de hamster (225) ponen de manifiesto que la presencia de 18:2w6 en el medio de cultivo provoca la sustitución de los ácidos grasos monoinsaturados de la posición sn-1 en la fosfatidilcolina

mientras que la presencia de 20:3w6 o 20:4w6 produce la sustitución de monoinsaturados por ácidos grasos saturados. Estos resultados podrían explicar la paradoja de porqué las dietas con un elevado contenido en 18:2w6,que pueden elevar los niveles de 20:3w6 y 20:4w6, originen unos niveles ligeramente mayores de ácidos grasos saturados en algunas membranas.

El aspecto en el que la dieta tiene una mayor incidencia es en la distribución de los ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3, siendo diferentes los efectos que se producen con un aceite vegetal o una grasa animal (exentos de 20:5w3 y 22:6w3) de los que se producen con un aceite de pescado.

La alimentación con una dieta en la que la única fuente de grasa visible sea un aceite vegetal o grasa animal modifica el perfil de ácidos grasos dependiendo de la relación existente entre el 18:2w6 y 18:3w3 en la dieta. Una relación baja se traduce en un aumento de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3, principalmente del 22:6w3, y una disminución del 22:5w6 y 22:4w6 con pequeñas variaciones en el contenido de 20:4w6 (138,207,215). Una relación alta tiene un efecto opuesto sobre estos niveles, originándose una deplección principalmente del 22:6w3. Estos cambios ocurren de forma no traumática salvo que en la dieta el porcentaje de α - linolénico sea muy elevado, como ocurre cuando se suplementa una dieta con aceite de linaza (61 %) o se utiliza una mezcla al 50 % de aceite de soja y linaza (38%) observándose en ambos casos una deplección importante del 20:4w6 en los fosfolípidos de la membrana del eritrocito (209) o en la fosfatidiletanolamina del hígado de la rata (226).

La influencia que el contenido del ácido linolei

co de la dieta ejerce sobre el porcentaje de metabolitos del 18:2w6 no es uniforme. En los fosfolípidos plasmáticos se observa un aumento en los derivados w 6 cuando los animales se alimentan con una dieta insaturada frente a una dieta saturada (207). Los eritrocitos por el contrario, presentan unos niveles variables de derivados w 6 en las distintas fracciones lipídicas analizadas (215), aunque Gibson y cols. (207) no establecen ninguna diferencia en el porcentaje de estos derivados en los fosfolípidos de membrana. Estos mismos autores indican un aumento de los niveles de los derivados w 6 en los fosfolípidos de microsomas hepáticos de ratas alimentadas con una dieta insaturada frente a una dieta saturada, mientras que Mahfouz y cols. (138), aunque señalan una disminución significativa en los niveles de metabolitos de la serie w 6 en los lípidos totales de microsomas hepáticos de ratas alimentadas con manteca de cerdo (10 % de 18:2w6) cuando se comparan con ratas alimentadas con aceite de maíz (60 % de 18:2w6) o aceite de cártamo enriquecido con ácido oleico (15 % de 18:2w6), no encuentran entre estos dos últimos grupos diferencias significativas.

La naturaleza de los cambios compensatorios que ocurren entre los derivados de las series w 6 y w 3 puede comprenderse mejor cuando se utiliza como fuente lipídica un aceite de pescado. Los ácidos eicosapentenoico (20:5w3) y docosahexenoico (22:6w3) de la dieta se incorporan en los lípidos plasmáticos y tisulares, a excepción de los lípidos del tejido adiposo, en donde tan solo se encuentran cantidades trazas de estos ácidos grasos (209), por lo que este tejido no puede ser considerado como un buen indicador de la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3.

La acumulación de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 origina una disminución importante de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 en los lípidos tisulares. Esta disminución no ocurre por igual en todos los tejidos,presentando por ejemplo el cerebro y la retina una disminución fundamentalmente del 20:4w6, en sus fosfolípidos y fosfatidiletanolamina respectivamente (209).

La sustitución de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 por los de la serie w 3 parece estar bajo control metabólico y supeditada a los niveles de ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 en los lípidos de membrana como pusieron de manifiesto Schrijver y Privett (135). En la experiencia diseñada por ellos , utilizaron tres dietas conteniendo 0, 5 y 10 % de un aceite de pescado y un nivel similar en ácido linoleico, comprobando que se producía un aumento significativo de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 en las dietas con un 5 % y 10 % de aceite de pescado con respecto a la dieta control, sin ninguna diferencia significativa entre ellas. Una cuarta dieta con un 10 % de aceite de pescado pero deficiente en ácido linoleico, originó una depleción y un aumento significativamente mayores en los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 y w 3 respectivamente que las dietas no deficientes en ácido linoleico.

El porcentaje de grasa de la dieta tiene poca incidencia sobre la composición acídica, teniendo un efecto modulador más efectivo sobre esta la naturaleza de la grasa utilizada. Moses y Craig (215) tras alimentar durante cuatro semanas cuatro lotes de ratas, dos con sebo al 5 y 25 % y otras dos con aceite de maíz al 5 y 25 % ,obsevaron que el tipo y porcentaje de grasa de la

dieta tenían poca incidencia sobre los niveles de ácidos grasos palmítico, esteárico y araquidónico en la totalidad de los fosfolípidos del eritrocito de la rata. Los niveles de los ácidos grasos de la serie w 9 fueron mayores en los fosfolípidos de las ratas alimentadas con sebo, mientras que los de la serie w 6 (excepto el araquidónico) fueron mayores en los fosfolípidos de las ratas alimentadas con aceite de maíz.

Los resultados obtenidos por Iritani y Fujikawa (220) tras alimentar durante dos semanas unos lotes de ratas con dietas conteniendo todas las combinaciones posibles de 0, 1 y 5 % de un aceite de pescado y un aceite de maíz, completando en caso necesario hasta un 10 % con sebo de vaca hidrogenado, ponen de manifiesto como en los fosfolípidos del hígado, plasma y corazón aumenta el porcentaje del ácido linoleico cuando se utiliza la dieta con un 5 % de aceite de maíz frente a la del 1 %, así como las pequeñas variaciones y los cambios compensatorios que se producen entre los derivados superiores de las series w 6 y w 3. Cuando se compara la dieta conteniendo un 1 % de ambos aceites frente a la que contiene un 5 % se observa un aumento en los niveles de 18:2w6, permaneciendo prácticamente constantes los niveles de los ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3.

2. MATERIAL Y METODOS

2. MATERIAL Y METODOS

2.1.- MATERIAL

2.1.1.- Material biológico

El estudio ha sido realizado en ratas machos de la raza Wistar,suministradas por el servicio de animales de la Universidad de Granada en el momento del destete.

2.1.2.- Acondicionamiento de los animales

Los animales fueron colocados en jaulas dotadas de bebederos y comederos suficientemente amplios que permitían una alimentación "ad libitum".

El animalario consistía en una habitación cerrada,ventilada mediante un extractor automatizado e iluminada durante un período de doce horas,coincidente aproximadamente con el natural,temporizado automáticamente.La temperatura se mantuvo entre 22°C y 24°C gracias a un termostato conectado a una fuente de calor.

La renovación del agua y de la dieta fue diaria desechándose los restos existentes.Los animales cuyo comportamiento era visiblemente anormal,fueron retirados inmediatamente de las jaulas.

2.1.3.- Aparatos

2.1.3.1.- Centrifugación

La separación del plasma,así como los lavados previos necesarios para la obtención de membranas de eritrocitos,se llevaron a cabo en una centrífuga refrigerada BECKMAN TJ-6.

Para la obtención de membranas de eritrocitos así como en la preparación de suspensiones microsomales se utilizó una centrífuga refrigerada BECKMAN J2-21.

La separación definitiva de microsomas se realizó con una ultracentrífuga BECKMAN L3-50.

2.1.3.2.- Cromatografía

La cromatografía en capa fina se realizó en placas de vidrio de 20×5 cm y de 3 mm de espesor.Sobre estas placas se extendió,mediante un dispositivo Shandon-Unoplan con posibilidad de regular el espesor de la capa adsorbente,el silica gel preparado.

El transporte de las placas se realizó con un soporte metálico,utilizándose una estufa SELECTA mod. 210 para la activación y un desecador de amplias dimensiones para la conservación de estas hasta el momento en que fueron usadas.

Las muestras fueron aplicadas con micropipetas de cristal EMIL-WORKS de enrase automático por estrangulamiento.

La separación cromatográfica se llevó a cabo en cubetas de vidrio de 56×56×10 cm con tapadera de vidrio ajustada a esmeril,efectuándose el revelado de las placas en una campana saturada con vapores de yodo.

La cromatografía gas-líquido fue realizada en un cromatógrafo HEWLETT-PACKARD modelo 5880 A,dotado con detector de ionización de llama y conectado a un ordenador-HP 5880 series GC terminal.La columna utilizada,de vidrio y 4 m de longitud y 2 mm de diámetro interior,rellena con - una fase estacionaria de SP 2330 al 10% sobre Chromosorb WAW 100/120 mesh,fue suministrada por TEKNOKROMA (Barcelona).

La inyección de la muestra en el cromatógrafo de gases se efectuó con microjeringas HAMILTON de 10 microlitros de capacidad.

2.1.3.3.- Termostatización y gaseo

La metilación y evaporación de las muestras se llevó a cabo en un baño termostatizado SELECTA Precis-term (precisión ± 1ºC).

2.1.3.4.- Espectrofotometría

Las medidas fotocolorimétricas de la concentración de proteínas y de colesterol se realizaron en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER 35 (Coleman Instruments Division). En la determinación fotocolorimétrica de fósforo se utilizó un espectrofotómetro COLEMAN modelo 6/20.

2.1.3.5.- Aparatos de medida auxiliar y otros

Las pesadas de los reactivos se realizaron en una balanza METTLER H 20 T (P max 160 g,error =0.01 mg).Para

pesadas que no requerían tanta exactitud se utilizó una balanza SARTORIUS (P max 160 g ;error =0.1 mg).Los componentes mayoritarios de las dietas se pesaron en una balanza METTLER PC 4000 (P max 4000 g;error =0.1 g).

La medida del pH de las soluciones amortiguadoras se llevó a cabo en un pHmetro PHM 84 Research de la firma RADIOMETER (Copenhaguen).

Los tubos se agitaron con un vibrador de la firma HEIDOLPH (Alemania).

La homogeneización del tejido se realizó en un aparato tipo "potter mecánico" con pistilo de vidrio sin esmerilar.

Las muestras se conservaron en un congelador LIEHBER.

Para la adición de pequeñas cantidades de reactivo se utilizaron pipetas automáticas.

2.1.4.- Productos

2.1.4.1.- Reactivos

Los reactivos generales procedían de las casas CARLO ERBA (Italia),MERCK (Alemania),PANREAC(España) y SIGMA(USA).

La determinación del colesterol se llevó a cabo con un kit: Monotest-colesterol,método CHOD-PAP de la casa BOEHRINGER(Alemania).

Los gases,N_2 H_2 y aire,de elevado grado de pureza fueron suministrados por OXIMESA(Granada).

La mezcla estándar de los ésteres metílicos de ácidos grasos procedía de TEKNOKROMA(Barcelona).

2.1.4.2.- Dietas

La composición general de las dietas utilizadas se muestra en la tabla A ,detallándose los correctores minerales y vitamínicos en las tablas B (227) y C (228) respectivamente. En la elaboración de las dietas se utilizaron tres fuentes distintas de grasa: aceite puro de oliva Carbonell® con acidez max 0.4°, aceite refinado de germen de maíz Mazola® con acidez max 0.15°, triglicéridos de cadena media (MCT) suministrados por Glyco Ibérica (Barcelona). Se utilizaron un total de cuatro dietas:

-Oliva (100 %) (O)
-Maíz (100 %) (M)
-MCT (50 %) + Oliva (50%) (MCT-O)
-MCT (50 %) + Maíz (50%) (MCT-M)

Para la elaboración, se pulverizaron los componentes y se mezclaron en orden de menor a mayor proporción en la composición de la dieta, con excepción de la grasa, que era adicionada al final junto a las vitaminas liposolubles. Finalmente se tamizó el preparado para conseguir una mezcla homogénea. La cantidad de dieta preparada se estimó en base a asegurar una alimentación de los animales durante tres semanas, manteniendose en una cámara a 4°C.

Sobre las dietas preparadas y los componentes mayoritarios de estas, se determinaron en el laboratorio de UNIASA (Granada) una serie de parámetros que quedan reflejados en las tablas D1 y D2. Finalmente, la composición en ácidos grasos de las cuatro dietas utilizadas se detalla en la tabla E .

TABLA A

COMPOSICION BASE DE LAS DIETAS UTILIZADAS

Ingredientes	% en la dieta
Caseína[a]	10.0
D,L-Metionina[a]	0.5
Grasa	10.0
Celulosa[b]	8.0
Corrector mineral	4.5
Corrector vitamínico	1.0
Almidón de maíz[a]	65.67
Colina bitartrato	0.33

[a] Suministrados por Laboratorios Muñoz (Granada)

[b] ELCEMA®P-100. Laboratorios Torrecilla (Madrid).

TABLA B

COMPOSICION DEL CORRECTOR MINERAL

Componentes	Cantidades para 1000 g
ClNa	122.224 g
PO_4HCa	326.958 g
CO HK	244.144 g
CO_3Ca	171.227 g
PO_4HK	80.053 g
CO Mg	42.230 g
SO_4Fe	10.370 g
SO_4Mn	1.316 g
SO_4Cu	0.178 g
$(SO_4)_2AlK$	0.089 g
Cl_2Ca	0.089 g
IK	0.669 g
CO_3Zn	0.446 g
FNa	0.009 g

TABLA C

COMPOSICION DEL CORRECTOR VITAMINICO

Componentes	Cantidades (g/Kg de mezcla)
Clorhidrato de tiamina	0.6
Riboflavina	0.6
Clorhidrato de piridoxina	0.7
Acido nicotínico	3.0
Pantotenato cálcico	1.6
Acido fólico	0.2
Biotina	0.02
Cianocobalamina	0.001
Vitamina K	0.005
Vitamina A	—[a]
Vitamina D_3	—[a]
Vitamina E	—[a]
Sacarosa finamente pulverizada,c.s.p.	1000.0 g

[a] Las vitaminas A, D_3 y E se adicionaron con la grasa, aportando cada Kg de dieta 4000 U.I., 1000 U.I. y 50 U.I. de cada una de ellas respectivamente.

TABLA D 1

ANALISIS EFECTUADOS A LAS DIETAS

Dietas	O	MCT-O	M	MCT-M
Humedad(%)	9.20	9.02	9.15	9.31
Proteínas(%)	9.02	9.24	9.44	9.23
Cenizas(%)	4.09	4.09	4.09	4.09
Na^{+}	0.37	0.36	0.36	0.38
K^{+}	0.57	0.59	0.58	0.55
Ca^{2+}	1.49	1.50	1.51	1.53
PO_4^{3-}	1.21	1.22	1.19	1.19
Cl^{-}	0.47	0.48	0.46	0.46

TABLA D 2

% DE HUMEDAD EN LOS INGREDIENTES MAYORITARIOS

Ingredientes	Humedad(%)
Caseína	9.76
Celulosa	7.49
Almidón de maíz	11.50

TABLA E

PORCENTAJE DE ACIDOS GRASOS PRESENTES EN LAS DIETAS

Acido graso	Oliva	MCT-Oliva	Maíz	MCT-Maíz
8:0	—	14.36	—	14.42
10:0	0.23	33.65	—	34.29
12:0	0.55	1.95	0.06	0.91
14:0	0.53	0.45	0.39	0.50
16:0	12.53	6.34	12.64	6.33
16:1	1.06	0.50	0.21	0.22
18:0	3.00	1.56	1.85	1.12
18:1	71.90	36.10	24.10	12.10
18:2w6	9.08	4.64	59.17	29.35
20:0	0.30	0.16	0.36	0.18
18:3w3	0.80	0.42	1.00	0.50
20:1	0.20	0.15	0.24	0.13

2.2.- METODOS

2.2.1.- Tratamiento de los animales

El presente estudio se ha llevado a cabo en 150 ratas alimentadas,desde el momento del destete (21 dias de edad),con cuatro dietas diferentes:oliva,maíz,MCT-oliva y MCT-maíz,cuya composición ha sido descrita en la sección 2.1.4.2.

Las determinaciones se realizaron a las tres y cinco semanas de iniciada la alimentación,utilizando además un grupo control de animales que fueron sacrificados en el mismo momento del destete.

2.2.2.- Obtención del plasma

El sacrificio de los animales se inició siempre a las 10 horas,transcurriendo aproximadamente un intervalo de 30 minutos entre la primera extracción de sangre y la última de cada lote de ratas.

Las ratas fueron previamente anestesiadas con 0.5 ml de etiluretano al 20% por cada 100 g de peso.La sangre se obtuvo a partir de la arteria aorta abdominal con la ayuda de una jeringuilla heparinizada,extrayéndose el máximo volumen de sangre posible.

La sangre fue depositada en tubos de polietileno heparinizados que se mantuvieron en un baño hielo-agua hasta que fueron centrifugados a 4°C durante 10 minutos a 2500 r.p.m.;el plasma se recogió con ayuda de una pipeta pasteur siendo congelado y mantenido a -36°C hasta el momento de ser analizado.

2.2.3.- Obtención de membranas de eritrocitos

Se ha seguido el método descrito por Hanahan y Ekholm (229) ligeramente modificado. Una vez separado el plasma por centrifugación se procedió a la eliminación de los leucocitos de la muestra por medio de un lavado con tampón isotónico Tris 310 imOSM de pH 7.6 y posterior centrifugación a 1000×g durante 15 minutos a 4ºC, eliminándose el sobrenadante y la capa superficial de células por medio de una pipeta pasteur; esta operación se realizó dos veces más.

Los eritrocitos lavados se resuspendieron en igual volumen de tampón Tris isotónico, adicionando a dicha suspensión tampón Tris hipotónico 20 imOSM de pH 7.6 en una proporción 1:5. Tras la centrifugación a 20000×g durante 20 minutos y a 4ºC, se retiró el sobrenadante con ayuda de una pipeta pasteur dada la labilidad de las membranas.

La operación de lavado con tampón hipotónico se repitió tres veces. Tras el último lavado las membranas quedaron con una ligera tonalidad rosácea y el sobrenadante, procedente de la hemolisis de los eritrocitos, totalmente incoloro. Al finalizar el segundo lavado se procedió al trasvase de las membranas a otro tubo de polietileno con objeto de dejar atrás el coágulo de pseudofibrina que comunicaba a las membranas una coloración rojiza; la visualización de estas se facilitó por iluminación lateral del tubo que las contenía.

Tras la eliminación del sobrenadante del último lavado, las membranas se resuspendieron en 1 ml de tampón hipotónico, siendo congeladas y mantenidas a -36°C hasta el momento de ser analizadas.

2.2.4.- Obtención de microsomas hepáticos

El procedimiento seguido fue el descrito por Philipp y Shapiro (230) con ligeras modificaciones.Los animales se sacrificaron según se describe en el apartado 2.2.2.;se les extrajo rápidamente el hígado que se colocó en solución salina al 0.9% en frío.Los órganos,una vez secos y pesados se trocearon,colocándose en tubos de homogeneización con tampón fosfato potásico 10 mM pH 6.8 EDTA 2 mM y sacarosa 250 mM * en una proporción de peso de tejido/volumen de tampón 1/3.

La homogeneización se llevó a cabo mediante un potter mecánico con pistilo de vidrio sin esmerilar.Todos los homogenados se mantuvieron en un baño de hielo fundente hasta que fueron centrifugados.

Los homogenados se sometieron a dos centrifugaciones (esquema 1) a 12000×g durante 15 minutos a 4ºC, desechándose en ambos casos los sedimentos;este primer paso tiene por objeto desprenderse de los restos celulares groseros,mitocondrias,lisosomas y partículas relacionadas.

El sobrenadante se sometió a una nueva centrifugación a 105000 × g durante 60 minutos a 4ºC,sedimentando la denominada fracción microsomal integrada fundamentalmente por ribosomas y fragmentos del retículo endoplasmático liso y rugoso y aparato de Golgi.

(*) Dado que el EDTA basifica considerablemente el medio,para preparar los tampones se disuelven previamente el EDTA y los demás componentes en la solución madre ácida hasta conseguir el pH apropiado;posteriormente se enrasa hasta el volumen adecuado con tampón.

Homogeneización

↓

Centrifugación

(12000 x g,15',4°C)

Sedimento

(Desechar)

Sobrenadante

↓

Centrifugación

(12000 x g,15',4°C)

Sedimento

(Desechar)

Sobrenadante

↓

Centrifugación

(105000 x g,60',4°C)

Sedimento

↓

Resuspender en tampón

↓

Centrifugación

(105000 x g,60',4°C)

Sedimento

↓

Resuspender en 1 ml de

tampón y guardar

Sobrenadante

(Desechar)

Sobrenadante

(Desechar)

ESQUEMA 1

Este sedimento fue resuspendido de nuevo en el tampón utilizado para la homogeneización y centrifugado durante 60 minutos a 105000 × g y a 4°C.El sedimento fue resuspendido a 4°C con un volumen de 1 ml del tampón inicial, siendo congelado y mantenido a -36°C hasta el momento de ser analizado.

2.2.5.- Extracción lipídica

El método empleado ha sido el de Haan y col.(231) ligeramente modificado.A un volumen de 0.4 ml de plasma se le adicionaron 5 ml de cloroformo:metanol (2:1),1.5 ml de HCl 0.01 N y 0.05 ml de $MgCl_2$ al 0.5%,agitándose la mezcla durante un minuto en dos intervalos de 30 segundos y centrifugando a continuación a 2500 r.p.m. durante 10 minutos a 4°C.

La mezcla se separó en dos fases entre las cuales se visualiza una capa de proteínas precipitadas.La fase inferior o fase clorofórmica se recoge con ayuda de una pipeta pasteur.La fase superior o fase hidroalcohólica y la interfase proteica se sometieron a una segunda extracción con 3 ml de cloroformo:metanol (2:1). Esta segunda extracción,al igual que la primera,es facilitada por la agitación de la mezcla durante 1 minuto en dos intervalos de 30 segundos,tras los cuales se centrifuga a 2500 r.p.m. durante 10 minutos y a 4°C,recogiéndose de nuevo la fase inferior con ayuda de una pipeta pasteur.

Las dos fases clorofórmicas se mezclaron y fueron llevadas a sequedad bajo corriente de nitrógeno en un baño a 40°C.El extracto lipídico se mantuvo a -36°C en un tubo cerrado herméticamente y en atmósfera de nitró-

geno durante un período no superior a doce horas,en el cual se llevó a cabo la separación e identificación cromatográfica de los componentes del mismo.

Para la extracción de los lípidos de las membranas de eritrocito y los microsomas hepáticos se procedió de idéntica manera.

2.2.6.- Cromatografía en capa fina del extracto lipídico

2.2.6.1.- Preparación de las placas

Sobre la plantilla del dispositivo extensor se colocaron 20 placas que se desengrasaron perfectamente con acetona.

La capa adsorbente se preparó mezclando 50 g de sílica gel G 60 con 100 ml de agua destilada,agitando enérgicamente la mezcla en un matraz erlenmeyer con tapón esmerilado durante 1 minuto 30 segundos para conseguir una pasta uniforme y sin grumos.La suspensión se colocó sobre el extensor graduado a 0.5 mm de espesor,extendiendose rápidamente por las placas que se dejaron secar a temperatura ambiente.

Para la activación de las placas,estas se introdujeron en una estufa a 110ºC durante 1 hora 15 minutos. Pasado este tiempo se colocaron en un desecador hasta el momento de ser utilizadas.

2.2.6.2.- Aplicación de la muestra

El extracto lipídico se disolvió en 100λ de clo

roformo en un baño de hielo fundente.De esta disolución clorofórmica se aplicaron 25 λ sobre la placa en forma de pequeñas gotas en disposición horizontal,a 1.5 cm del borde inferior y a 1 cm aproximadamente de los bordes laterales,siendo utilizada para la separación cromatográfica de lípidos totales.

Para la separación de los distintos fosfolípidos se procedió de forma similar,siendo de 50 λ el volumen de disolución clorofórmica aplicado.

2.2.6.3.- Desarrollo cromatográfico y revelado

La cromatografía de lípidos totales se realizó de acuerdo con Skipski (232)modificando la fase móvil cuya composición fue: Hexano:Eter etílico:Acido acético (80:20:1),dejando transcurrir un período de dos horas antes de introducir las placas con objeto de que la cubeta alcanzase una atmósfera saturada en este líquido de desarrollo;la saturación de la campana fue facilitada al introducir dos tiras de papel de filtro perfectamente adheridas a las paredes.

Una vez saturadas las campanas se introdujeron las placas con el origen hacia abajo y dispuestas lo más verticalmente posible para facilitar el ascenso de la fase móvil.Una vez completado el desarrollo (30 min) se sacaron las placas y se dejaron secar a temperatura ambiente.

En el revelado se usó una campana saturada con vapores de yodo;en ella se introdujeron las placas apareciendo rápidamente las típicas manchas de coloración parda,correspondientes a las distintas fracciones lipídicas;estas se identificaron según el valor de su R_f.Las

fracciones recogidas en el plasma fueron:

Fosfolípidos (PL) R_f 0.000
Acidos grasos libres (AGL) R_f 0.300
Triacilglicéridos (TG) R_f 0.525
Esteres de colesterol (EC) R_f 0.675

recogiéndose solo la fracción de fosfolípidos cuando las muestras analizadas correspondían a membranas de eritrocito o a microsomas.

Cada una de las fracciones se delimitó,y una vez eliminado el yodo se procedió a su raspado,conservándose en tubos de metilación herméticamente cerrados y a una temperatura de - 36ºC hasta su metilación,efectuada en un período de tiempo no superior a 2 horas.

La separación de los distintos fosfolípidos,presentes en membranas de eritrocito y en microsomas hepáticos,se llevó a cabo utilizando como fase móvil una mezcla de acetato de metilo:n-propanol:cloroformo:metanol:solución acuosa de KCl al 0.25% (25:25:25:10:9) (233).La preparación de la campana se hizo de modo idéntico a la anterior,salvo que el tiempo necesario para alcanzar la saturación fue de 18 horas.La aplicación de la muestra,revelado e identificación de los distintos fosfolípidos fue también similar.Las fracciones que se recogieron en membranas de eritrocito fueron las siguientes:

Fosfatidilcolina(PC) R_f 0.120
Fosfatidiletanolamina (PE) R_f 0.390

En los microsomas hepáticos se recogieron las dos fracciones anteriormente citadas mas:

Fosfatidilinositol (PI) R_f 0.280
Glucolípidos

La conservación y metilación de estas fracciones fue

idéntica a las fracciones recogidas de la cromatografía anterior.

2.2.7.- Metilación

La metodología seguida en la obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos ha sido la descrita por Morrison y Smith (234),utilizando el compuesto Trifluoruro de boro en metanol al 14% como agente encargado de efectuar la saponificación de los lípidos y la posterior metilación de los ácidos grasos.

A cada una de las fracciones recogidas,contenida en un tubo de metilación,se le adicionó bajo corriente de nitrógeno 1 ml de Trifluoruro de boro-metanol al 14%. Los tubos se cerraron herméticamente y se llevaron a un baño a temperatura de ebullición durante 10 minutos.Pasado este tiempo se sacaron los tubos y una vez fríos se les añadió 2 ml de n-heptano y 1 ml de agua destilada.Se agitaron durante 1 minuto en dos intervalos de 30 segundos y se centrifugaron a 2500 r.p.m. durante 10 minutos. Tras la centrifugación se recogió la fase superior u orgánica con ayuda de una pipeta pasteur,evaporandola bajo corriente de nitrógeno a 40ºC.

Las muestras desecadas y perfectamente cerradas, se conservaron a - 36ºC hasta el momento de ser analizadas por cromatografía gas-líquido.

2.2.8.- Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

Para el análisis cromatográfico se ha utilizado

una columna de vidrio de 4 m de longitud x 2 mm de diámetro interior,con una fase estacionaria de SP 2330 sobre Chromosorb WAW.

La muestra a analizar fue disuelta en 50λ de hexano,inyectando con ayuda de una microjeringa 0.5μl de la disolución.

Las condiciones de trabajo fueron perfectamente normalizadas,fijándose los flujos de:

Nitrógeno	30 ml/ minuto
Hidrógeno	30 ml/ minuto
Aire	400 ml/ minuto

El programa de temperatura empleado fue el siguiente: una temperatura inicial de 185ºC que se mantuvo durante 10 minutos a partir de la cual se aumentó a razón de 5ºC/ minuto hasta alcanzar los 240ºC,temperatura a la que se mantenía el horno 10 minutos.

Para la identificación de los ácidos grasos se utilizó una solución estandar AGPI nº 2 suministrada por Teknokroma.

2.2.9.- Determinación de fósforo total

La metodología seguida fue la descrita por Fiske y Subbarow (235) modificada por Bartlett (236).

2.2.9.1.- Fundamento

El fosfato presente reacciona con el ácido molíbdico para formar el ácido fosfomolíbdico,el cual se reduce selectivamente por adición de ácido 1-amino-2-naftol-

-3-sulfónico para dar un color azul oscuro cuya intensidad,medida a 830 nm,es proporcional a la cantidad de fósforo presente.

2.2.9.2.- Soluciones utilizadas

-Solución patrón de fosfato disódico en agua desionizada con una concentración de 10 γ/ ml de P.

-Molibdato amónico al 5% (P/V) en H_2SO_4 2M.

-Reactivo de Fiske-Subbarow:Se disuelven 0.1 g de 1-amino-2-naftol-3-sulfónico,6 g de metabisulfito sódico y 0.6 g de sulfito sódico anhidro en 50 ml de agua desionizada;para su perfecta disolución se deja 1 minuto a baño maría.

2.2.9.3.- Técnica

Un extracto lipídico obtenido a partir de 0.4 ml de membranas de eritrocito,se resuspendió en 200 λ de cloroformo,del que se tomaron dos alícuotas de 25 λ y 50 λ . La curva patrón se realizó con 0.15,0.3 y 0.6 ml de la solución patrón de fosfato disódico.

A todos los tubos se les agregó 1.2 ml de ácido perclórico al 70%,dos gotas de molibdato amónico al 5% y se completó hasta 2 ml con agua desionizada.Esta operación se realizó en tubos graduados de 10 ml,lavados con detergente especial exento de fosfatos.Los tubos se agitaron suavemente con la mano tapándose con bolas de cristal;a continuación se colocaron en un baño de arena a 180°C,iniciándose la hidrólisis por el ácido perclórico.

El tiempo que debe estar a esta temperatura viene indicado por el momento en que todos los tubos han perdido completamente el color azul(aproximadamente 30 minutos).

Transcurrido este tiempo,los tubos se sacaron del baño de arena y una vez fríos se les añadió 0.4 ml de molibdato amónico al 5% y 0.4 ml del reactivo de Fiske y Subbarow;los tubos se completaron con agua desionizada hasta 10 ml y se agitaron,colocándolos en un baño a 100°C durante 15 minutos para que apareciera el color azul.

Finalmente se procedió a su lectura en un espectrofotómetro a 830 nm,utilizando como blanco un tubo con agua desionizada tratada de igual forma.

Cuando se investigó el contenido en fósforo microsomal,el extracto lipídico obtenido procedía de 0.1ml de la suspensión de microsomas.Este extracto fue resuspendido en 0.4 ml de cloroformo,tomándose dos alícuotas de 25 λ y 50 λ respectivamente y procediendo de manera idéntica a la descrita con anterioridad.

2.2.9.4.- Cálculos

La cantidad de fósforo total se determinó por la fórmula siguiente:

$$P_t = \frac{D.O._{P_t} \times a \times V_1}{V_t \times V_i \times P}$$

siendo:

$D.O._{P_t}$: Densidad óptica debida al fósforo total.

a : Pendiente de la recta de regresión,obtenida para la curva patrón por el método de mínimos cuadrados,en µg/u.D.O.

V_t: Volumen de la alícuota,en ml,tomado del extracto lipídico utilizado en la colorimetría.

V_1 : Volumen del extracto en ml.

V_i: Volumen en ml de la alícuota tomada de la suspensión de membranas de la que se parte.

P : Concentración de proteínas de la suspensión de membranas (mg/ml).

2.2.10.- Determinación de colesterol

Para la determinación del colesterol se ha utilizado un test enzimático-colorimétrico (método CHOD-PAP) realizado con un kit de la casa Böehringer y basado en el método de Röschlau,Bernt y Gruber (237).

2.2.10.1.- Fundamento

Los ésteres del colesterol se hidrolizan en presencia de colesterol esterasa,produciendo colesterol y ácidos grasos.La oxidación del colesterol en presencia de colesterol oxidasa da lugar a la formación de Δ^4-Colestenona y peróxido de hidrógeno.Este peróxido,junto con 4-aminofenazona y fenol y en presencia de una peroxidasa da lugar a la formación de 4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona y agua.

2.2.10.2.- Técnica

Los reactivos se emplearon según las normas dadas por el kit.La determinación de colesterol plasmático se efectuó sobre 30 λ de la muestra.La curva patrón se realizó con volúmenes de 10,20 y 30 λ de una disolución de colesterol en isopropanol de concentración 200 mg/100ml A todos los tubos se les adicionó 2.5 ml del reactivo,determinándose tras su incubación la D.O. en un espectrofotómetro a 500 nm.

La determinación del colesterol de las membranas de eritrocito se llevó a cabo de forma similar,salvo que para favorecer la disgregación total da las membranas , se añadió un detergente, Tritón X-100 al 0.05% (238).

El contenido en colesterol de los microsomas se determinó sobre un extracto lipídico de 50 λ de la suspensión microsomal.El extracto lipídico fue disuelto en 30 λ de isopropanol procediendose de forma idéntica a la descrita anteriormente.

2.2.10.3.- Cálculos

El contenido total de colesterol se determinó por la fórmula siguiente:

$$C_t = \frac{D.O._{C_t} \times a}{V_i \times P}$$

siendo:

$D.O._{Ct}$: Densidad óptica debida al colesterol total.

a : Pendiente de la recta de regresión obtenida para la curva patrón por el método de mínimos cuadrados,en µg/ u.D.O.

V_i : Volumen en ml de la alícuota de la suspensión de membranas de la que se parte.

P : Concentración de proteínas en la suspensión de membranas (mg/ml).

2.2.11.- Relación molar colesterol/fósforo

La determinación de la relación molar colesterol/fósforo se obtuvo según la siguiente fórmula:

$$C/P = \frac{C \times P_{at}}{P \times P_{mc}}$$

siendo:

C : µg de colesterol por mg de proteínas.

P : µg de fósforo total por mg de proteínas.

P_{mc} : Peso molecular del colesterol (388.6)

P_{at} : Peso atómico del fósforo (30.9).

2.2.12.- Determinación de proteínas

La concentración proteica de las suspensiones de

membranas de eritrocito y suspensiones microsomales,expresada en mg de proteína por ml de suspensión,se determinó mediante el método de Lowry y col. (239),basado en la asociación de las reacciones de Biuret y de Folin,la primera característica del enlace peptídico y la segunda de los grupos aromáticos de la tirosina y del triptófano.

Como paso previo para la determinación,la alícuota de la suspensión microsomal se diluyó con un volumen igual de desoxicolato sódico al 0.2% .

2.2.13.- Análisis estadístico de los resultados

Los efectos de la dieta y del tiempo de alimentación para cada uno de los parámetros se realizó mediante análisis de varianza doble con estimación de errores para el caso de celdillas con número de repeticiones desigual,mediante el procedimiento de las medias no ponderadas.La igualdad de valores medios se comprobó mediante el test "a posteriori" de Scheffe (241).

Todos los procesos de datos y cálculos estadísticos se llevaron a cabo mediante programas desarrollados por el Departamento de Control de UNIASA (Granada) en un ordenador Eclipse Data General.

2.2.14.- Expresión de los resultados

Los ácidos grasos han sido expresados como porcentaje del área registrada para el total de los picos correspondientes a los ésteres metílicos de los ácidos grasos en cada fracción lipídica.No se realizaron correcció

nes de área de acuerdo con los diferentes factores de respuesta para cada ácido graso.

Para indicar el nivel de significancia obtenido en cada caso se ha utilizado la siguiente nomenclatura:

a: Nivel de significación respecto al destete.

b: Nivel de significación respecto al tiempo de alimentación de 3 semanas.

c: Nivel de significación respecto a la dieta con aceite de oliva.

d: Nivel de significación respecto a la dieta con aceite de maíz.

e: Nivel de significación respecto a la dieta con MCT-oliva.

Cada una de las letras lleva a su vez un subíndice,donde el 1 corresponde a un valor de $p<0.05$;el 2 a un valor de $p<0.01$ y el 3 a un valor de $p<0.001$.

El cálculo de los diferentes índices bioquímicos de ácidos grasos se ha realizado de la forma siguiente:

AGPI w 6>18 C ; se ha obtenido sumando todos los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 con más de diecio cho átomos de carbono en su cadena.

AGPI w 3>18 C ; se ha obtenido sumando todos los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 con más de diecio cho átomos de carbono en su cadena.

Rw 18 ; es la relación existente entre AGPI w 3 > 18 y AGPI w 6 >18.

LINO ; es la relación existente entre el contenido en ácido linoleico (18:2w6) y el ácido araquidónico (20:4w6).

Indice de insaturación (UNID) ; equivale a la suma de to

dos los ácidos grasos insaturados multiplicado, cada uno de ellos, por el número de dobles enlaces presentes en su molécula.

Indice de saturación (SAT) ; equivale a la suma de todos los ácidos grasos saturados presentes en la fracción lipídica analizada.

3. RESULTADOS

3. RESULTADOS

Dado el elevado número de datos obtenidos y la complejidad del análisis estadístico efectuado, hemos considerado conveniente suprimir, tanto en las tablas como en las figuras, la explicación de la nomenclatura utilizada, indicándola detalladamente en la sección 2.2. 14. dentro del apartado de Material y Métodos.

3.1.- Composición en ácidos grasos de los lípidos plasmáticos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación

3.1.1.- Acidos grasos saturados

En las fracciones lipídicas analizadas se observa que los ácidos grasos saturados mayoritarios son los ácidos palmítico y esteárico, los cuales,muestran una distribución característica en cada fracción.

En los ésteres del colesterol (Tabla 1) el ácido palmítico es,de entre los ácidos grasos saturados, el que participa casi con exclusividad en la formación del enlace tipo éster, contribuyendo el mirístico y el esteárico con un 2 % aproximadamente. En los triacilglicéridos (Tabla 2) y ácidos grasos libres (Tabla 3) se observa un aumento en el porcentaje del ácido esteárico frente a los porcentajes que existen en los ésteres del colesterol, si bien,sigue siendo en estas fracciones el ácido palmítico el ácido graso saturado mayoritario. En los fosfolípidos (Tabla 4) los ácidos palmítico y esteárico se equiparan en sus porcentajes, que se sitúan alrededor del 25 %.

TABLA 1. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LOS ESTERES DEL COLESTEROL DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.00±0.00(7)	O	0.01±0.00(6)	0.35±0.17(6)
		MCT-O	0.05±0.03(9)	0.36±0.25(6)
		M	0.19±0.09(10)a_1	0.02±0.00(6)
		MCT-M	0.54±0.21(6)a_1e_1	0.13±0.13(6)
14	2.35±0.51(7)	O	0.30±0.16(6)a_2	2.73±0.99(6)b_1
		MCT-O	2.48±0.72(9)c_1	2.46±0.84(6)
		M	1.36±0.23(10)c_2	1.14±0.11(6)a_1
		MCT-M	4.24±1.42(6)	0.99±0.55(6)
16	17.80±0.41(7)	O	15.81±0.27(6)a_2	17.12±1.61(6)
		MCT-O	17.67±1.52(9)	17.89±0.64(6)
		M	14.51±0.98(10)a_2	24.69±1.39(6)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	19.08±0.82(6)d_2	19.06±1.69(6)d_1
18	1.76±0.14(7)	O	1.93±0.13(6)	2.36±0.48(6)
		MCT-O	2.93±0.63(9)	2.30±0.22(6)
		M	1.86±0.33(10)	2.31±0.11(6)a_2
		MCT-M	3.49±0.65(6)a_1d_1	2.28±0.25(6)
24	1.33±0.30(7)	O	0.00±0.00(6)a_2	0.00±0.00(6)a_1
		MCT-O	0.00±0.00(9)a_3	0.00±0.00(6)a_1
		M	0.00±0.00(10)a_3	0.00±0.00(6)a_1
		MCT-M	0.00±0.00(6)a_2	0.00±0.00(6)a_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 2. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LOS TRIACILGLICERIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.68±0.32(6)	O	0.00±0.00(6)	0.21±0.11(6)
		MCT-O	0.23±0.10(10)c_1	0.15±0.07(6)
		M	0.94±0.55(9)	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.38±0.16(6)	0.09±0.09(5)
14	3.19±0.73(6)	O	0.61±0.08(6)a_2	2.03±1.06(6)
		MCT-O	1.52±0.26(10)a_1c_2	1.51±0.13(6)a_1
		M	2.45±0.82(9)c_1	0.17±0.17(6)a_2b_1
		MCT-M	4.38±1.98(6)	2.21±1.54(5)
16	29.03±0.99(6)	O	23.55±0.58(6)a_3	23.70±1.89(6)a_1
		MCT-O	34.65±1.32(10)a_2c_3	30.81±1.04(6)b_1c_2
		M	27.03±1.29(9)c_1	34.17±1.50(6)$a_1b_2c_2$
		MCT-M	34.58±0.79(6)a_2d_3	31.73±1.40(5)
18	5.71±0.35(6)	O	3.11±0.15(6)a_3	2.94±0.41(6)a_3
		MCT-O	3.94±0.27(10)a_2c_1	3.37±0.16(6)a_3
		M	4.70±0.64(9)c_1	7.89±1.18(6)b_1c_1
		MCT-M	4.04±0.29(6)a_2	4.59±0.75(5)d_1
24	1.12±0.25(6)	O	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_2
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.00±0.00(6)a_2
		M	0.00±0.00(9)a_3	0.00±0.00(6)a_2
		MCT-M	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(5)a_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 3.ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LA FRACCION DE ACIDOS GRASOS LIBRES DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	O	0.07±0.07(6)	0.67±0.41(6)
	MCT-O	0.12±0.08(10)	1.82±0.83(6)
0.39±0.23(7)	M	0.30±0.16(9)	0.30±0.03(6)
	MCT-M	2.27±1.14(6)	0.13±0.13(6)
14	O	0.95±0.52(6)a_1	5.01±2.12(6)
	MCT-O	4.13±0.97(10)c_1	7.83±1.99(6)
3.81±0.77(7)	M	3.87±0.77(9)c_2	2.89±1.13(6)
	MCT-M	6.19±1.35(6)	1.75±0.60(6)b_1e_1
16	O	28.74±2.35(6)	36.11±2.09(6)b_1
	MCT-O	42.87±1.74(10)a_2c_3	39.89±2.38(6)
34.45±1.76(7)	M	36.18±2.15(9)c_1	42.68±2.78(6)a_1
	MCT-M	39.38±1.59(6)	37.41±2.22(6)
18	O	9.52±1.19(6)	9.40±0.64(6)
	MCT-O	9.26±0.93(10)	11.01±0.69(6)
11.75±1.50(7)	M	9.02±0.78(9)	12.17±1.81(6)
	MCT-M	8.92±0.44(6)	9.91±1.31(6)
24	O	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3
	MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.00±0.00(6)a_3
1.08±0.15(7)	M	0.00±0.00(9)a_3	0.00±0.00(6)a_3
	MCT-M	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 4. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.03±0.00(7)	O	0.02±0.00(6)	0.10±0.04(6)
		MCT-O	0.02±0.00(9)	0.00±0.00(6)c_1
		M	0.55±0.31(10)	0.00±0.00(6)c_1
		MCT-M	0.04±0.03(6)	0.01±0.00(6)
14	0.71±0.15(7)	O	0.31±0.05(6)a_1	0.59±0.18(6)
		MCT-O	0.66±0.09(9)c_2	0.41±0.08(6)
		M	1.66±0.50(10)c_1	0.17±0.05(6)$a_2b_1c_1$
		MCT-M	o.38±0.07(6)d_1e_1	0.45±0.10(6)d_1
16	24.38±0.55(7)	O	24.42±0.59(6)	25.61±0.90(6)
		MCT-O	25.16±0.68(9)	25.07±0.84(6)
		M	24.72±0.45(10)	26.64±0.89(6)
		MCT-M	26.44±0.49(6)a_1d_1	27.91±0.69(6)a_2e_1
18	22.99±0.68(7)	O	19.56±0.80(6)a_2	20.94±0.76(6)
		MCT-O	20.63±0.59(9)a_1	24.18±0.61(6)b_2c_2
		M	20.87±0.44(10)a_1	27.42±1.08(6)$a_2b_3c_3$
		MCT-M	20.88±0.44(6)a_1	25.71±0.52(6)a_2b_3
24	0.71±0.04(7)	O	0.89±0.17(6)	0.79±0.04(6)
		MCT-O	0.64±0.08(9)	0.91±0.08(6)a_1b_1
		M	0.61±0.08(10)	1.66±0.19(6)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	1.06±0.17(6)d_1e_1	0.77±0.04(6)d_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

Los cambios que experimentan los ácidos grasos saturados en función tanto del tiempo como de la dieta son característicos en cada una de las fracciones lipídicas analizadas. En términos generales se observa que los animales alimentados con aceite de oliva presentan unos niveles de palmítico y esteárico inferiores a los que presentan los animales en el destete; los animales alimentados con aceite de maíz presentan unos niveles superiores, tanto frente a los animales en el destete como a los alimentados con aceite de oliva; mientras que los lotes alimentados con las dietas que contienen MCT tienen un comportamiento intermedio, si bien en las ratas alimentadas con la dieta de MCT-M los porcentajes de palmítico y esteárico tienden a ser mayores que los porcentajes que presentan los animales alimentados con MCT-O.

El índice de saturación de los ésteres del colesterol (Tabla 16, Figura 1), triacilglicéridos (Tabla 17, Figura 1), ácidos grasos libres (Tabla 18, Figura 1) y fosfolípidos (Tabla 19, Figura 1) presenta un comportamiento paralelo al de los ácidos grasos saturados mayoritarios, observándose como en los animales alimentados con aceite de oliva, en general, los porcentajes son significativamente inferiores al de los animales en el destete y los alimentados con aceite de maíz, siendo normalmente el porcentaje de estos últimos, significativamente mayor que el de los animales al destete. Los lotes alimentados con las dietas con MCT presentan un comporta — miento intermedio. Estos cambios son más patentes a las cinco semanas.

En todas las fracciones lipídicas analizadas no se han detectado ácidos grasos saturados mayores de 18 átomos de carbono a excepción del lignocérico (C 24), el

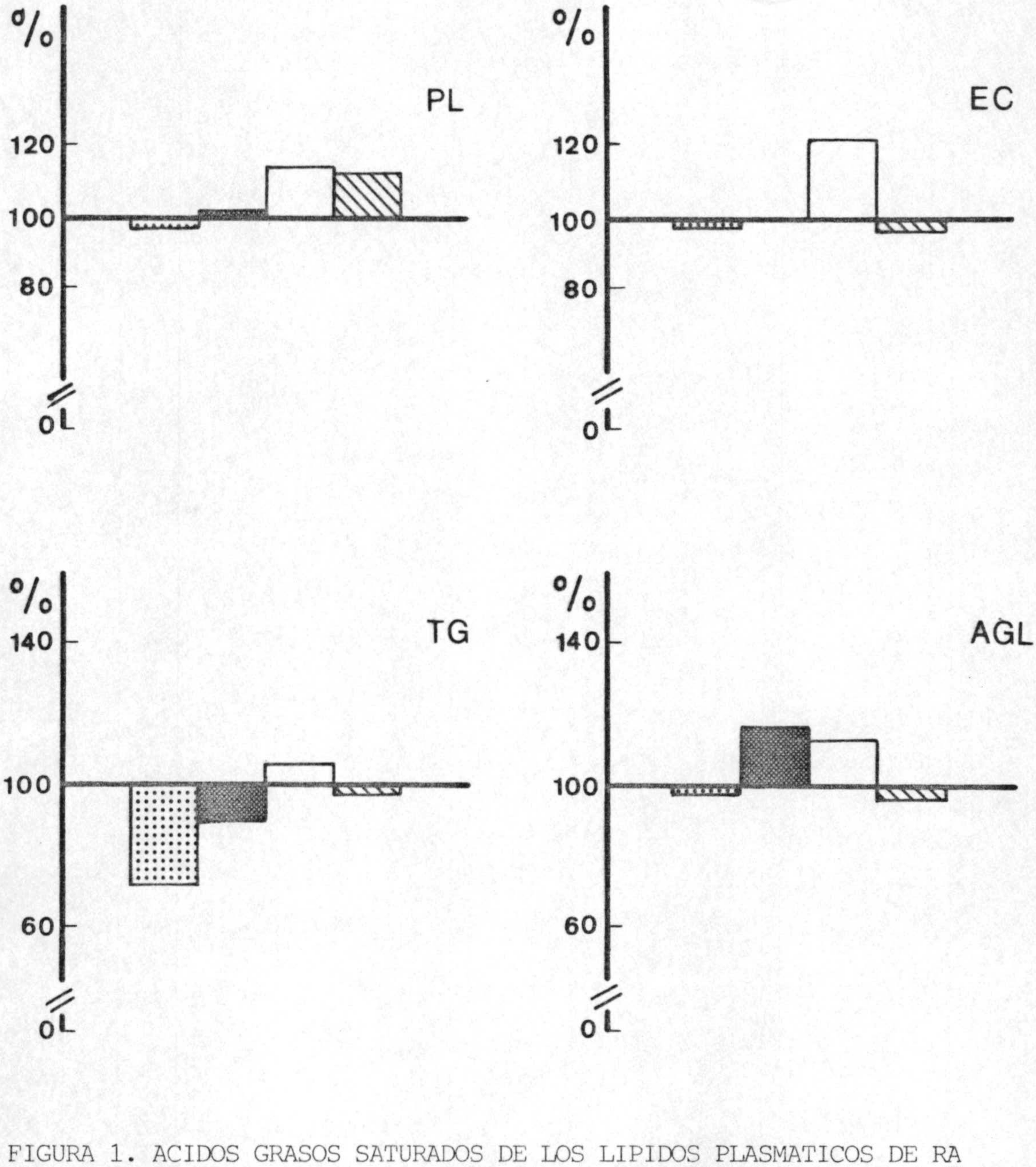


FIGURA 1. ACIDOS GRASOS SATURADOS DE LOS LIPIDOS PLASMATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

cual experimenta una reducción significativa en todas las fracciones lipídicas, excepto en los fosfolípidos (Tabla 4), en los que presenta unos porcentajes próximos a los encontrados en el destete.

3.1.2.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9

El ácido palmitoleico (16:1w7) se encuentra en un porcentaje característico de cada fracción lipídica, correspondiendo el porcentaje más bajo a los fosfolípidos (Tabla 8) donde oscila alrededor del 1 %. En todas las fracciones analizadas: ésteres del colesterol (Tabla 5), triacilglicéridos (Tabla 6), ácidos grasos libres (Tabla 7) y fosfolípidos (Tabla 8), se observa que los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva tienen unos valores significativamente mayores que los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz; estando entre los lotes de animales alimentados con el mismo aceite los niveles de ácido palmitoleico significativamente elevados en los animales que ingieren MCT, en estos últimos lotes los porcentajes se mantienen constantes en el tiempo y por encima de los encontrados en el destete. Los animales que son alimentados exclusivamente con aceite de oliva o aceite de maíz, por el contrario, experimentan una reducción de las tres a las cinco semanas, aproximándose a los porcentajes de palmitoleico presentes en los animales al destete.

Los ácidos grasos insaturados de la serie w 9: oleico (18:1w9) y 20:3w9, son altamente dependientes del tipo de dieta que ha ingerido el animal (Figura 2) encontrándose en unos porcentajes característicos en cada

TABLA 5. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LOS ESTERES DEL COLESTEROL DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	3.29±0.24(7)	O	7.29±0.36(6)a_3	3.87±0.44(6)b_3
		MCT-O	7.45±0.95(9)a_3	8.73±1.04(6)a_3c_2
		M	1.67±0.11(10)a_3c_3	1.75±0.20(6)a_3c_2
		MCT-M	4.32±0.21(6)$a_2d_3e_2$	3.89±0.61(6)d_2e_2
18:1w9	9.97±0.91(7)	O	32.96±1.15(6)a_3	22.29±1.45(6)a_3b_3
		MCT-O	24.78±1.82(9)a_3c_2	25.10±1.85(6)a_3
		M	7.04±0.54(10)a_1c_3	6.67±0.55(6)a_1c_3
		MCT-M	9.92±0.58(6)d_2e_3	9.79±0.90(6)d_1e_3
20:3w9	0.00±0.00(7)	O	2.12±0.30(6)a_3	1.79±0.19(6)a_3
		MCT-O	2.52±0.32(9)a_3	3.12±0.37(6)a_3c_1
		M	0.00±0.00(10)c_3	1.99±0.32(6)a_3b_3
		MCT-M	0.29±0.24(6)e_3	0.62±0.24(6)$a_1d_2e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 6. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LOS TRIGLICERIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	2.22±0.37(6)	O	4.14±0.22(6)a_2	2.59±0.27(6)b_2
		MCT-O	4.46±0.69(10)a_1	5.16±0.34(6)a_3c_3
		M	2.27±0.27(9)c_3	0.99±0.24(6)$a_1b_2c_2$
		MCT-M	5.33±0.58(6)a_2d_3	4.34±0.57(5)a_1d_3
18:1w9	33.75±1.83(6)	O	61.28±0.63(6)a_3	60.92±3.34(6)a_3
		MCT-O	51.74±1.39(10)a_3c_3	53.27±1.40(6)a_3
		M	23.54±0.94(9)a_3c_3	21.97±1.70(6)a_3c_3
		MCT-M	27.02±1.56(6)a_1e_3	31.29±1.49(5)d_2e_3
20:3w9	0.00±0.00(6)	O	1.27±0.10(6)a_3	1.17±0.27(6)a_2
		MCT-O	0.00±0.00(10)c_3	0.72±0.15(6)a_3b_3
		M	0.17±0.11(9)c_3	0.79±0.72(6)
		MCT-M	0.40±0.11(6)a_2e_2	0.53±0.14(5)a_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ±S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 7. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LA FRACCION DE ACIDOS GRASOS LIBRES DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	2.46±0.33(7)	O	4.85±0.76(6)a_1	2.85±0.27(6)b_1
		MCT-O	4.76±0.57(10)a_2	5.38±0.46(6)a_3c_3
		M	3.99±0.30(9)a_2	3.03±0.42(6)
		MCT-M	6.67±0.61(6)$a_3d_2e_1$	4.97±0.68(6)a_2d_1
18:1w9	27.06±2.14(7)	O	50.02±2.43(6)a_3	38.85±3.35(6)a_1b_1
		MCT-O	34.96±2.41(10)a_1c_3	28.69±2.98(6)c_1
		M	21.35±1.27(9)a_1c_3	18.19±1.91(6)a_1c_3
		MCT-M	20.47±0.84(6)a_1e_3	23.58±2.20(6)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 8. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LOS FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS LIPIDICAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.61±0.10(7)	O	1.74±0.11(6) a_3	1.03±0.08(6) a_2b_3
		MCT-O	1.66±0.13(9) a_3	1.48±0.09(6) a_3c_2
		M	0.63±0.04(10) c_3	0.30±0.03(6) $a_1b_3c_3$
		MCT-M	0.93±0.12(6) d_1e_2	0.73±0.11(6) d_2e_3
18:1w9	9.08±0.60(7)	O	23.17±0.77(6) a_3	19.54±0.74(6) a_3b_2
		MCT-O	20.32±0.88(9) a_3c_1	19.29±0.93(6) a_3
		M	6.95±0.32(10) a_2c_3	5.58±0.18(6) $a_3b_2c_3$
		MCT-M	8.17±0.23(6) d_2e_3	7.80±0.27(6) d_3e_3
20:3w9	0.17±0.03(7)	O	2.19±0.08(6) a_3	1.42±0.05(6) a_3b_3
		MCT-O	2.23±0.22(9) a_3	2.23±0.20(6) a_3c_2
		M	0.00±0.00(10) a_3c_3	0.25±0.08(6) b_2c_3
		MCT-M	0.02±0.00(6) a_3e_3	0.06±0.04(6) e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia vienen explicados en la sección 2.2.14.

fracción lipídica analizada.

El 20:3w9 no se ha detectado en los animales al destete. Los animales alimentados con dietas que contie nen aceite de oliva presentan unos porcentajes alrede — dor del 2 % que son significativamente más elevados que los que se hallan en los animales alimentados con las dietas de maíz.

El ácido oleico se encuentra en un porcentaje más elevado en los triacilglicéridos (Tabla 6) y ácidos grasos libres (Tabla 7) que en los ésteres del coleste- rol (Tabla 5) y fosfolípidos (Tabla 8) en los que pre — senta unos porcentajes similares. Son así mismo, los tria cilglicéridos y ácidos grasos libres las fracciones en donde la diferencia en los porcentajes relativos de áci do oleico entre los animales alimentados con dietas con aceite de oliva y con dietas con aceite de maíz es más pequeña. Los resultados ponen de manifiesto que los ani males que han sido alimentados con dietas que contienen aceite de oliva,tienen en todas las fracciones lipídi — cas analizadas,unos porcentajes significativamente mayo res que los que se encuentran tanto en los animales ali mentados con dietas que contienen aceite de maíz como en el de los animales al destete. Independientemente de sus valores relativos y característicos de cada fracción, los animales que ingieren MCT no experimentan cambios en los porcentajes de ácido oleico frente al tiempo, mientras que los animales alimentados exclusivamente con aceite de oliva o aceite de maíz muestran una tendencia a disminuir, con lo que a las cinco semanas (Figura 2) se observa que existe una similitud en los porcentajes de ácido oleico entre los dos lotes de animales alimen- tados con las dietas de oliva por una parte y entre los alimentados con MCT-M y el destete por otra, siendo los

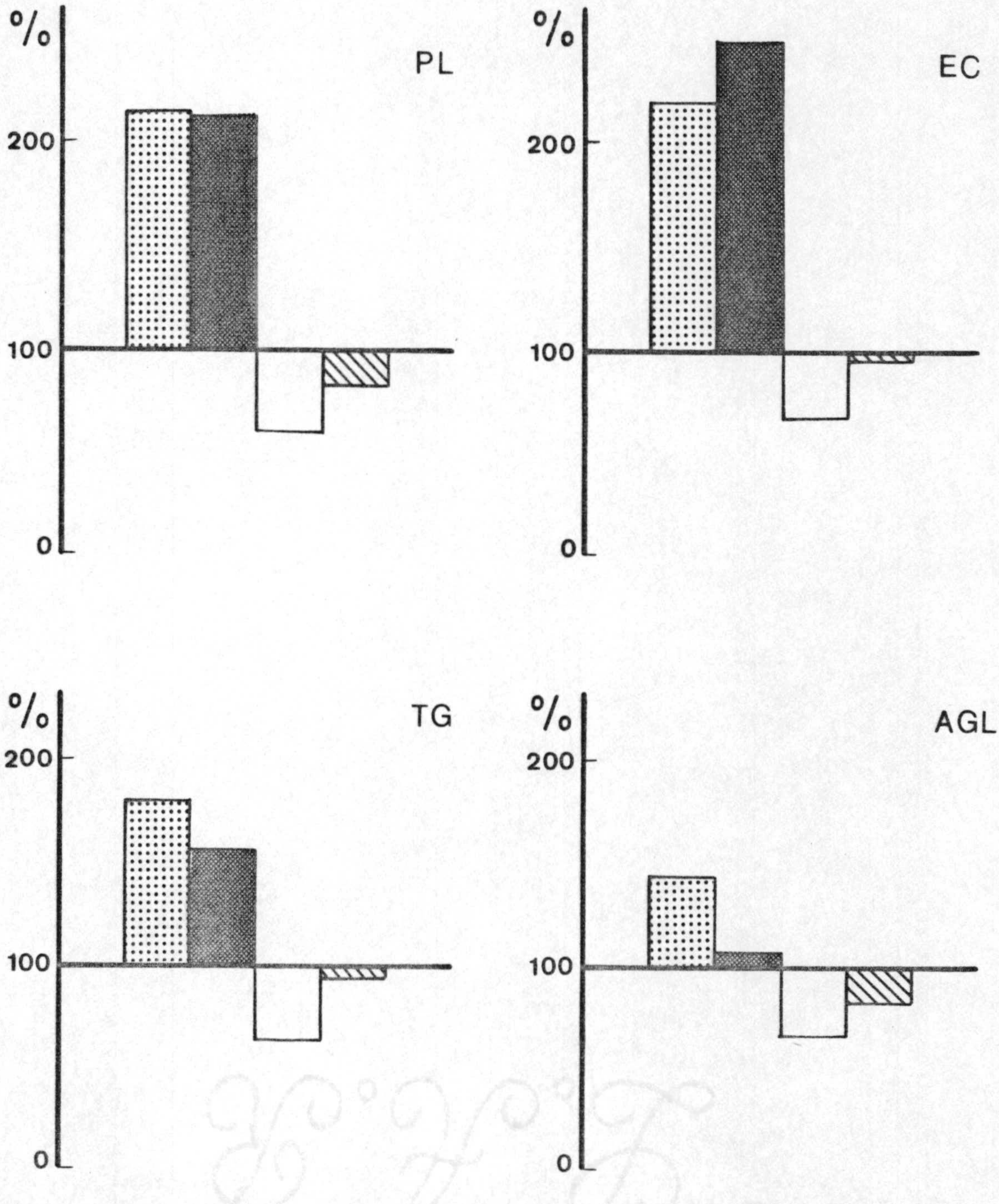


FIGURA 2. ACIDO OLEICO EN LOS LIPIDOS PLASMATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

porcentajes en los animales alimentados con aceite de maíz significativamente inferiores que los encontrados en los animales al destete.

3.1.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6

De las fracciones lipídicas analizadas los éste res del colesterol (Tabla 9) y los fosfolípidos (Tabla 12) son los que presentan unos porcentajes mayores de ácidos grasos insaturados de la serie w 6. Los triacilglicéridos (Tabla 10) y ácidos grasos libres (Tabla 11), por el contrario, y a excepción del linoleico,presentan unos porcentajes minoritarios de estos ácidos grasos. Estas dos últimas fracciones (Figura 3) son las que expresan las mayores diferencias en cuanto a los porcentajes relativos de ácido linoleico entre los diferentes lotes de animales. En los lotes alimentados con dietas que contie nen aceite de oliva, los triacilglicéridos y ácidos grasos libres tienen unos porcentajes muy bajos de ácido linoleico (4 %) que son significativamente menores que los que presentan estas fracciones en los animales al destete y los alimentados con dietas que contienen acei te de maíz; en estos últimos animales los porcentajes son así mismo significativamente mayores que los de los animales al destete. De los otros ácidos grasos insaturados de la serie w 6 solo hay que destacar la disminución que se produce en los niveles del ácido araquidóni co en las dos fracciones (Figura 5) y el aumento en los triacilglicéridos del 22:4w6 y 22:5w6 en todos los lotes de animales con respecto al destete.

Independientemente de la fracción analizada, los porcentajes de ácido linoleico en los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva son signi-

ficativamente inferiores a los que se presentan en los animales al destete y los alimentados con dietas con aceite de maíz; en estos últimos animales, excepción hecha en los triacilglicéridos y ácidos grasos libres,los porcentajes no difieren de los encontrados en los animales al destete (Figura 3).

Los porcentajes de 18:3w6 y 20:2w6 son muy bajos en los ésteres del colesterol y fosfolípidos y experimentan cambios mínimos. El 20:3w6, sin embargo, participa en ambas fracciones hasta con un 2 % , presentando todos los grupos de animales unos porcentajes significativamente mayores que los encontrados en el destete. Entre los distintos lotes de animales, los que han sido alimentados con dietas con aceite de oliva tienen unos porcentajes de 20:3w6 mayores que los que han sido alimentados con aceite de maíz, presentando dentro de estos dos grandes grupos, los animales que ingieren MCT unos porcentajes ligeramente mayores que el de los animales alimentados exclusivamente con aceites de oliva o maíz.

El ácido araquidónico (20:4w6) en los ésteres del colesterol (Tabla 9 y Figura 4) y en los fosfolípidos (Tabla 12 y Figura 4) presenta unos porcentajes a las cinco semanas inferiores en todos los lotes de animales a los encontrados en el destete; es de destacar el aumento en el porcentaje de ácido araquidónico en los animales alimentados con aceite de oliva y la disminución en los alimentados con aceite de maíz que se produce de las tres a las cinco semanas.

En los ésteres del colesterol (Tabla 9) y fosfolípidos (Tabla 12) los porcentajes de los ácidos 22:4w6 y 22:5w6 son significativamente inferiores en los animales alimentados con dietas con aceite de oliva que los que se presentan en los animales al destete, mientras

TABLA 9. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 6 EN LOS ESTERES DE COLESTEROL DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	27.48±1.16(7)	O	16.82±0.50(6)a_3	15.14±0.81(6)a_3
		MCT-O	15.09±0.91(9)a_3	16.35±0.83(6)a_3
		M	27.56±0.50(10)c_3	29.06±1.05(6)c_3
		MCT-M	24.55±1.10(6)d_1e_3	28.83±0.92(6)b_1e_3
18:3w6	1.27±0.09(7)	O	1.21±0.12(6)	0.78±0.04(6)a_3b_2
		MCT-O	0.72±0.38(9)	0.92±0.09(6)a_1
		M	1.39±0.10(10)	0.98±0.12(6)b_1
		MCT-M	1.33±0.25(6)	0.84±0.19(6)
20:2w6	0.00±0.00(7)	O	0.10±0.07(6)	0.00±0.00(6)
		MCT-O	0.74±0.23(9)a_2c_1	0.00±0.00(6)b_2
		M	0.26±0.22(10)	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.05±0.05(6)e_1	0.00±0.00(6)
20:3w6	0.00±0.00(7)	O	0.76±0.16(6)a_3	0.78±0.10(6)a_3
		MCT-O	0.99±0.18(9)a_3	1.13±0.16(6)a_3
		M	0.51±0.09(10)a_3	0.57±0.22(6)a_1
		MCT-M	1.53±0.23(6)a_3d_2	0.95±0.27(6)a_2
20:4w6	33.74±1.27(7)	O	18.58±0.59(6)a_3	30.21±2.80(6)b_2
		MCT-O	23.78±2.22(9)a_2c_1	18.56±1.85(6)a_3c_2
		M	42.24±2.27(10)a_2c_3	27.35±1.48(6)a_2b_3
		MCT-M	27.61±1.72(6)a_1d_3	29.77±2.61(6)e_2
22:5w6	0.00±0.00(7)	O	1.02±0.10(6)a_3	1.26±0.18(6)a_3
		MCT-O	0.40±0.20(9)c_1	1.46±0.23(6)a_3b_2
		M	0.76±0.33(10)a_1	2.23±0.53(6)a_2b_1
		MCT-M	1.95±0.27(6)$a_3d_1e_3$	1.43±0.19(6)a_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 10. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 6 EN LOS TRIGLICERIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	17.16±0.69(6)	O	3.59±0.15(6)a_3	4.38±0.05(6)a_3b_3
		MCT-O	3.30±0.18(10)a_3	3.14±0.31(6)a_3c_2
		M	29.89±2.32(9)a_3c_3	24.16±2.06(6)a_2c_3
		MCT-M	17.35±0.55(6)d_3e_3	19.21±1.05(5)e_3
18:3w6	0.75±0.12(6)	O	0.31±0.00(6)a_2	0.32±0.00(6)a_2
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.20±0.04(6)$a_2b_3c_1$
		M	0.35±0.18(9)	0.68±0.25(6)
		MCT-M	0.88±0.10(6)d_1e_3	0.70±0.09(5)e_2
20:2w6	0.00±0.00(6)	O	0.47±0.00(6)	0.08±0.08(6)b_3
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.19±0.08(6)a_1b_1
		M	0.19±0.13(9)c_1	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.71±0.05(6)$a_3d_2e_3$	0.60±0.16(5)$a_2d_2e_1$
20:3w6	0.00±0.00(6)	O	0.13±0.06(6)	0.13±0.04(6)a_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.11±0.04(6)a_1b_1
		M	0.97±0.14(9)a_3c_3	0.45±0.26(6)
		MCT-M	0.92±0.03(6)a_3e_3	1.00±0.15(5)a_3e_3
20:4w6	6.37±1.33(6)	O	0.38±0.09(6)a_2	0.42±0.03(6)a_2
		MCT-O	0.16±0.06(10)a_3	0.36±0.05(6)a_2b_1
		M	6.69±0.81(9)c_3	3.68±0.54(6)b_2c_3
		MCT-M	2.12±0.22(6)$a_2d_3e_3$	1.64±0.31(5)$a_2d_1e_2$
22:4w6	0.00±0.00(6)	O	0.03±0.00(6)	0.03±0.00(6)
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.04±0.03(6)
		M	0.37±0.19(9)	1.56±0.62(6)a_1c_1
		MCT-M	0.60±0.06(6)a_3e_3	0.65±0.11(5)a_3e_3
22:5w6	0.00±0.00(6)	O	0.34±0.03(6)a_3	0.37±0.00(6)a_3
		MCT-O	0.00±0.00(10)c_3	0.23±0.08(6)a_1b_1
		M	0.39±0.20(9)	3.47±1.05(6)$a_2b_1c_1$
		MCT-M	0.65±0.07(6)a_3e_3	0.64±0.11(5)$a_3d_1e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia vienen explicados en la sección 2.2.14.

TABLA 11. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LA FRACCION DE ACIDOS GRASOS LIBRES DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	15.40±1.45(7)	O	4.83±0.42(6)a_3	4.65±0.41(6)a_3
		MCT-O	3.60±0.24(10)a_3c_1	4.16±0.52(6)a_3
		M	23.12±1.60(9)a_2c_3	20.33±3.59(6)c_2
		MCT-M	13.76±0.93(6)d_3e_3	19.95±0.96(6)$a_1b_3e_3$
18:3w6	0.44±0.12(7)	O	0.33±0.09(6)	0.39±0.13(6)
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_2c_2	0.62±0.22(6)b_1
		M	0.19±0.09(9)	0.57±0.09(6)b_1
		MCT-M	0.49±0.03(6)d_1e_3	0.58±0.06(6)
20:2w6	0.27±0.27(7)	O	0.31±0.10(6)	1.56±0.56(6)b_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)c_1	0.00±0.00(6)c_1
		M	0.00±0.00(9)c_1	0.00±0.00(6)c_1
		MCT-M	0.65±0.30(6)d_1	1.03±0.42(6)d_1e_1
20:3w6	0.83±0.17(7)	O	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.00±0.00(6)a_3
		M	0.29±0.22(9)	0.00±0.00(6)a_3
		MCT-M	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3
20:4w6	2.06±0.18(7)	O	0.37±0.19(6)a_3	0.51±0.24(6)a_3
		MCT-O	0.29±0.18(10)a_3	0.47±0.30(6)a_3
		M	1.68±0.83(9)	0.11±0.10(6)a_3
		MCT-M	1.19±0.15(6)a_2e_2	0.69±0.17(6)$a_3b_1d_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes + S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 12. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 6 EN LOS FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	20.82±1.53(7)	O	12.41±0.30(6)a_3	14.43±0.93(6)a_2
		MCT-O	12.66±0.55(9)a_3	12.55±0.49(6)a_3
		M	19.95±1.07(10)c_3	17.84±0.52(6)c_2
		MCT-M	21.23±1.07(6)e_3	19.63±0.56(6)d_1e_3
18:3w6	0.20±0.05(7)	O	0.32±0.00(6)	0.22±0.00(6)
		MCT-O	0.08±0.05(9)c_3	0.24±0.00(6)b_2
		M	0.45±0.04(10)a_2c_2	0.38±0.03(6)a_1c_3
		MCT-M	0.31±0.07(6)e_1	0.28±0.00(6)d_1
20:2w6	0.41±0.04(7)	O	0.40±0.00(6)	0.47±0.03(6)
		MCT-O	0.86±0.18(9)a_1c_1	0.48±0.08(6)
		M	0.59±0.08(10)c_1	0.57±0.07(6)
		MCT-M	0.51±0.08(6)	0.47±0.03(6)
20:3w6	1.16±0.09(7)	O	1.99±0.08(6)a_3	1.79±0.07(6)a_3
		MCT-O	2.42±0.18(9)a_3c_1	2.20±0.18(6)a_3
		M	1.16±0.05(10)c_3	1.00±0.09(6)c_3
		MCT-M	2.02±0.08(6)a_3d_3	1.85±0.10(6)a_3d_3
20:4w6	13.64±0.50(7)	O	8.51±0.78(6)a_3	9.63±0.69(6)a_3
		MCT-O	9.44±0.53(9)a_3	7.53±1.10(6)a_3
		M	15.76±0.55(10)a_1c_3	12.22±0.70(6)b_2c_1
		MCT-M	13.64±0.78(6)d_1e_3	9.80±0.60(6)$a_3b_2d_1$
22:4w6	0.78±0.06(7)	O	0.58±0.08(6)	0.55±0.45(6)a_1
		MCT-O	0.41±0.10(9)a_2	0.43±0.04(6)a_3
		M	1.50±0.13(10)a_3c_3	1.57±0.14(6)a_3c_3
		MCT-M	0.90±0.09(6)d_2e_2	0.81±0.15(6)d_2e_1
22:5w6	1.19±0.11(7)	O	0.96±0.12(6)	0.69±0.06(6)a_2
		MCT-O	1.50±0.17(9)c_1	0.80±0.16(6)b_2
		M	2.85±0.25(10)a_3c_3	2.72±0.22(6)a_3c_3
		MCT-M	1.62±0.16(6)a_1d_2	1.44±0.36(6)d_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

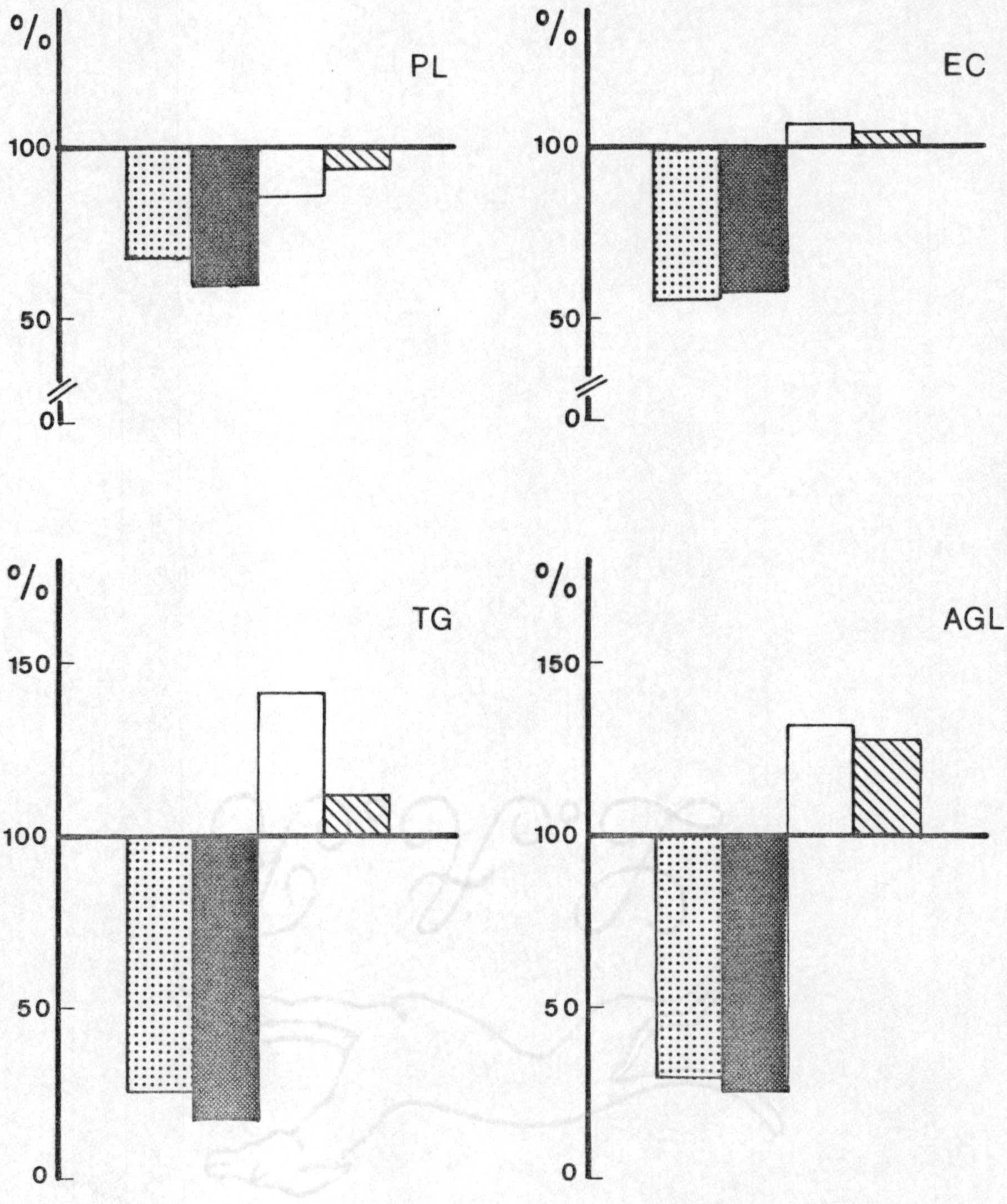


FIGURA 3. ACIDO LINOLEICO EN LOS LIPIDOS PLASMATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ☐ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

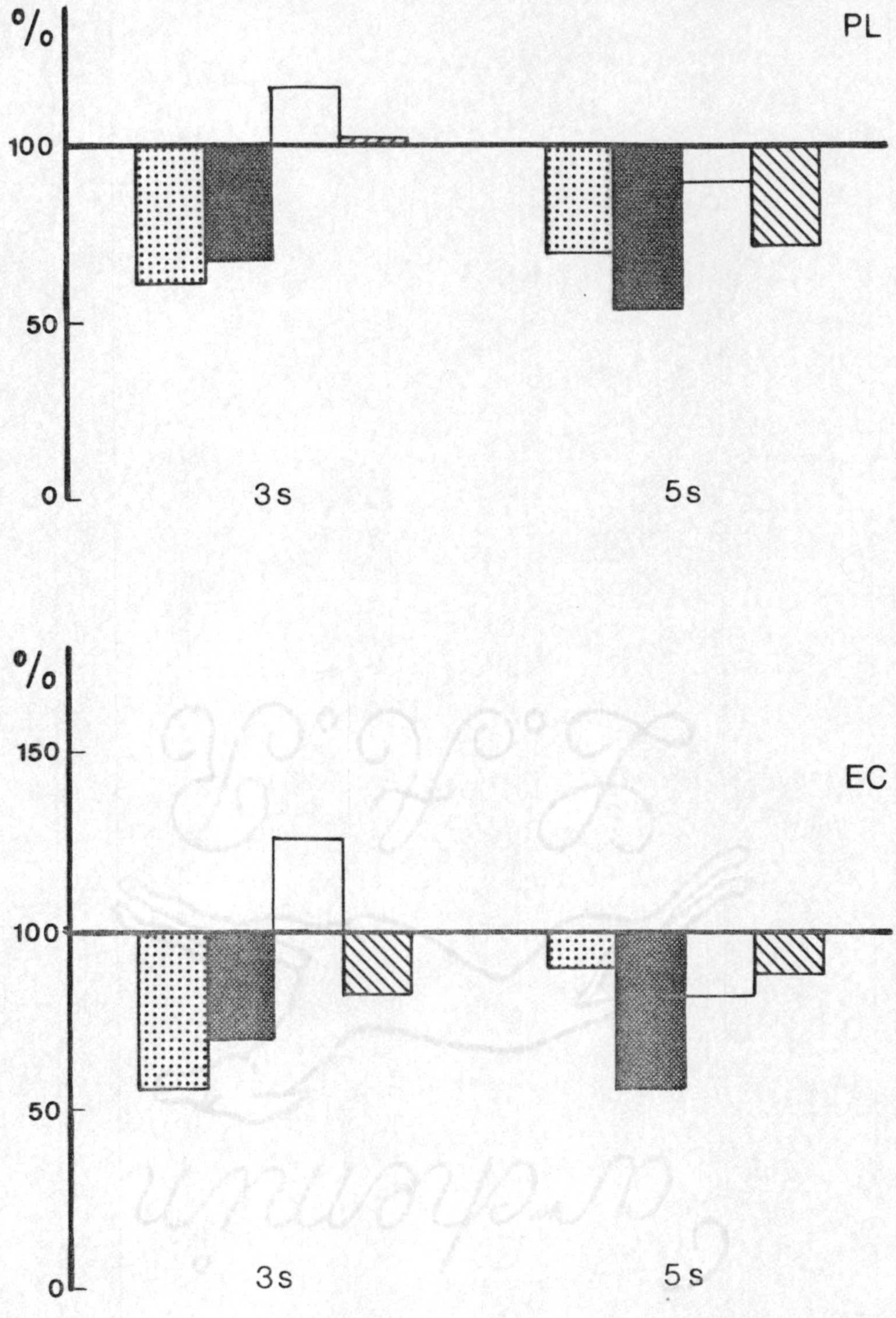


FIGURA 4. ACIDO ARAQUIDONICO EN LOS FOSFOLIPIDOS Y ESTERES DEL COLESTEROL PLASMATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

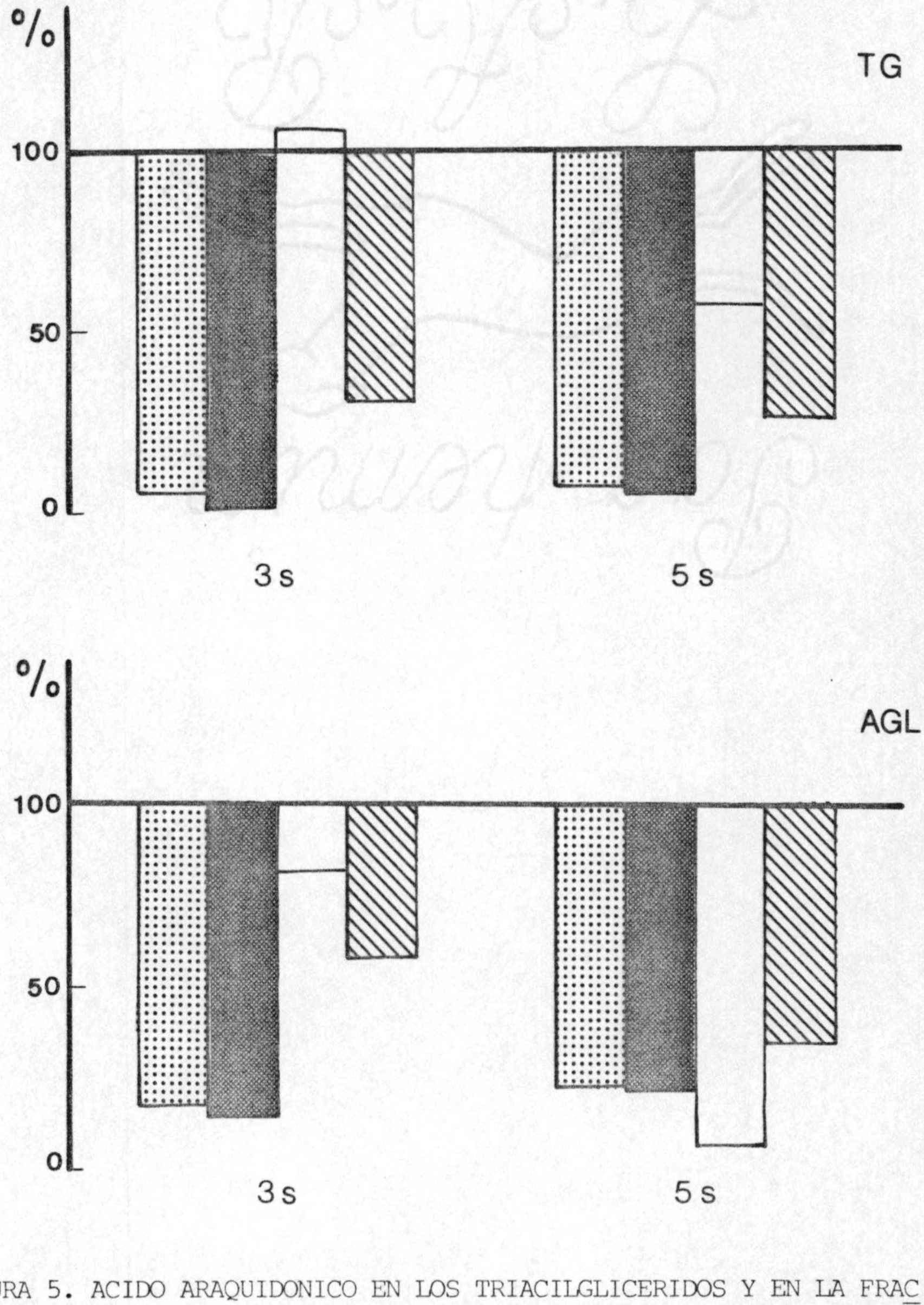


FIGURA 5. ACIDO ARAQUIDONICO EN LOS TRIACILGLICERIDOS Y EN LA FRACION DE ACIDOS GRASOS LIBRES DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ☐ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

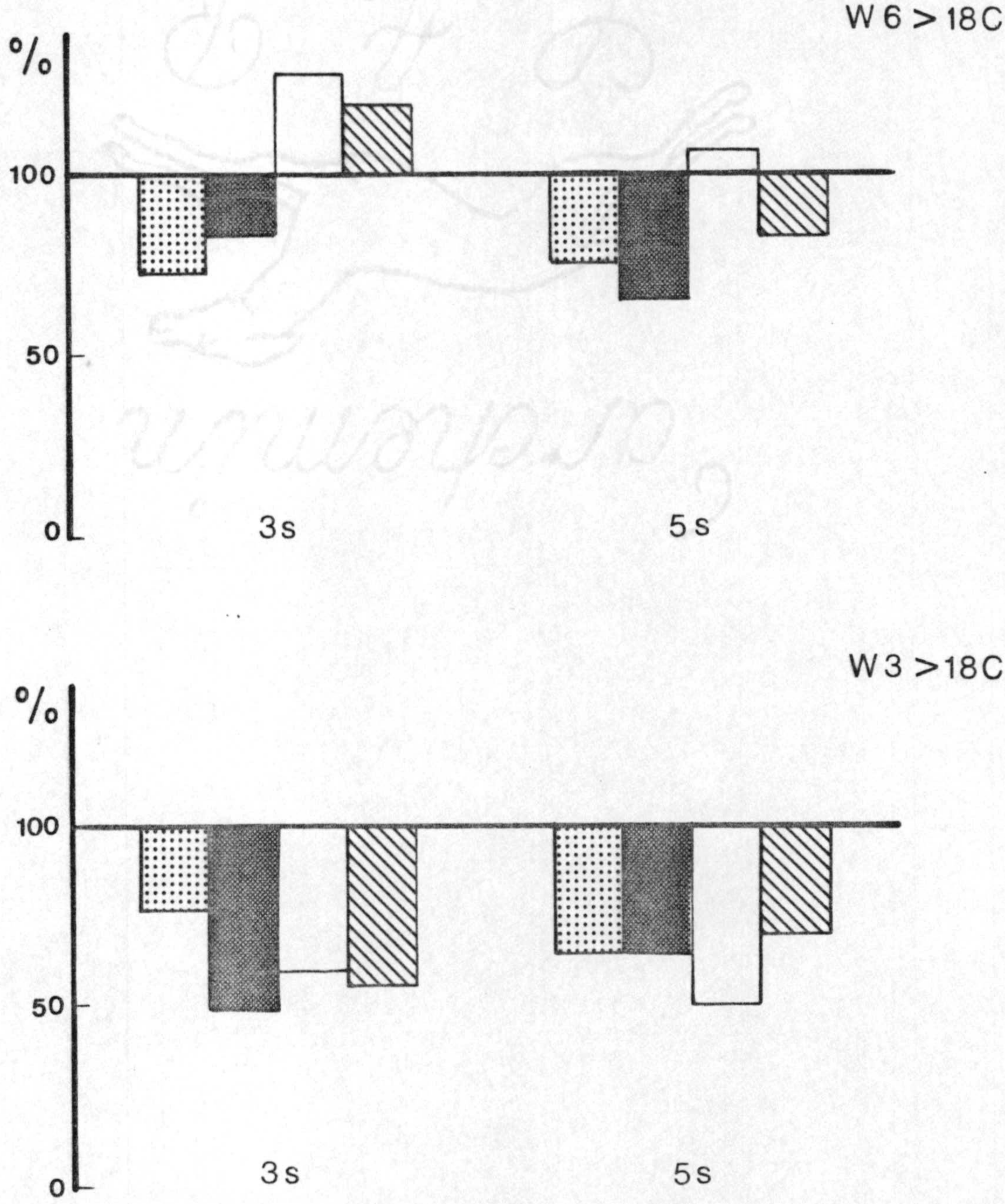


FIGURA 6. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LAS SERIES w 6 Y w 3 CON MAS DE DIECIOCHO ATOMOS DE CARBONO EN LOS FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▧ ACEITE DE MAIZ-MCT.

que, los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz presentan unos niveles significativamente superiores a ambos grupos de animales. Una excepción a esto la constituye el porcentaje de 22:5w6 en los ésteres del colesterol ya que todos los lotes de animales tratados tienen unos porcentajes sin grandes diferencias entre sí pero mayores que el de los animales al destete.

El índice w 6 > 18 (Tablas 16-19 y Figura 6) a las cinco semanas suele ser significativamente inferior en todos los lotes de animales que el que presentan los animales al destete, no presentándose grandes diferencias entre los distintos lotes de animales tratados. En los ésteres del colesterol (Tabla 16) el valor significativamente más bajo corresponde al lote alimentado con MCT-M, mientras que en los fosfolípidos (Tabla 19 y Figura 6) el más alto corresponde a los animales alimentados con aceite de maíz. En ambas fracciones se observa un aumento y un descenso significativos de este índice de las tres a las cinco semanas en los lotes de animales alimentados con aceite de oliva o aceite de maíz respectivamente.

3.1.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3

Los ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 3 en los lípidos plasmáticos se encuentran en unos porcentajes minoritarios que no superan el 2 %. En todos los lotes analizados los porcentajes suelen ser mayores en los animales que han sido alimentados con dietas con aceite de oliva. Destacaremos el aumento del porcentaje de 18:3w3 en la fracción de los triacilglicéridos (Tabla 14), el aumento en el porcentaje de 20:5w3 en los és

TABLA 13. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN LOS ESTERES DEL COLESTEROL DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.18±0.18(7)	O	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(6)
		MCT-O	0.00±0.00(9)	0.00±0.00(6)
		M	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(6)
20:5w3	0.00±0.00(7)	O	1.09±0.13(6)a_3	1.31±0.24(6)a_3
		MCT-O	0.28±0.14(9)c_2	1.62±0.32(6)a_3b_2
		M	0.53±0.30(10)a_1	1.26±0.53(6)a_1
		MCT-M	1.10±0.37(6)	1.39±0.39(6)a_2
22:6w3	0.83±0.15(7)	O	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3
		MCT-O	0.13±0.06(9)a_3	0.00±0.00(6)a_3
		M	0.10±0.05(10)a_3	0.00±0.00(6)a_3
		MCT-M	0.00±0.00(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 14. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN LOS TRIGLICERIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.00±0.00(6)	O	0.79±0.16(6)a_3	0.69±0.23(6)a_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)c_3	0.73±0.16(6)a_2b_2
		M	0.07±0.07(9)c_2	0.00±0.00(6)c_1
		MCT-M	0.64±0.13(6)$a_3d_2e_3$	0.78±0.21(5)a_2d_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ±S.E.M.,entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 15. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 3 EN LA FRACCION DE FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.47±0.05(7)	O	0.49±0.05(6)	0.48±0.03(6)
		MCT-O	0.03±0.03(9) a_3c_3	0.47±0.05(6) b_3
		M	0.13±0.08(10) a_2c_2	0.36±0.00(6) b_1c_2
		MCT-M	0.33±0.09(6) e_2	0.38±0.03(6)
20:5w3	0.15±0.04(7)	O	0.57±0.08(6) a_3	0.34±0.07(6) a_1b_1
		MCT-O	0.06±0.04(9) c_3	0.44±0.00(6) a_3b_3
		M	0.15±0.03(10) c_3	0.29±0.16(6)
		MCT-M	0.38±0.10(6) d_1e_1	0.66±0.07(6) $a_3b_1e_1$
22:5w3	0.66±0.04(7)	O	0.39±0.04(6) a_2	0.24±0.00(6) a_3b_2
		MCT-O	0.17±0.05(9) a_3c_2	0.21±0.04(6) a_3
		M	0.48±0.05(10) a_1	0.37±0.03(6) a_3c_2
		MCT-M	0.30±0.06(6) a_3d_1	0.33±0.07(6) a_2
22:6w3	1.83±0.10(7)	O	1.04±0.05(6) a_3	1.10±0.07(6) a_3
		MCT-O	1.06±0.12(9) a_3	1.06±0.11(6) a_3
		M	0.97±0.06(10) a_3	0.65±0.04(6) $a_3b_2c_3$
		MCT-M	0.82±0.06(6) a_3	0.88±0.14(6) a_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M., entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

teres del colesterol (Tabla 13) y fosfolípidos (Tabla 15), y la disminución del 22:5w3 y del 22:6w3 en los ésteres del colesterol y fosfolípidos cuando se comparan todos ellos con los porcentajes de cada ácido graso encontrado en los animales al destete. Todos estos cambios se condensan en el índice w 3 > 18; este índice no muestra grandes diferencias significativas, si bien en los ésteres del colesterol (Tabla 16) es ligeramente superior en todos los lotes, y en los fosfolípidos (Tabla 19 y Figura 6) inferior que el correspondiente índice en ambas fracciones en los animales al destete.

La relación Rw > 18 adolece de diferencias significativas en todas las fracciones analizadas cuando se hacen las comparaciones entre cualquier grupo de animales.

El índice de insaturación de los ésteres del colesterol (Tabla 16), ácidos grasos libres (Tabla 18) y fosfolípidos (Tabla 19) a las cinco semanas no manifiesta grandes diferencias entre las distintas dietas, teniendo en todos los lotes unos valores significativamente más bajos que el de los animales al destete. En los triacilglicéridos (Tabla 17), por el contrario, sí existen diferencias; los animales alimentados con dietas con aceite de oliva tienen unos índices inferiores tanto frente a los índices de los animales al destete como de los alimentados con dietas con aceite de maíz, presentando estos últimos animales los índices más elevados. Dentro del grupo de animales alimentados con el mismo aceite los que ingieren MCT presentan los valores más bajos.

TABLA 16. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS ESTERES DEL COLESTEROL DE PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	35.01±1.28(7)	O	21.66±0.78(6)a_3	33.03±2.73(6)b_2
		MCT-O	26.63±2.69(9)a_1	22.07±1.86(6)a_3c_2
		M	45.17±2.00(10)a_3c_3	31.13±1.54(6)b_3
		MCT-M	32.47±1.74(6)d_3	33.03±2.96(6)e_1
w3>18	0.83±0.15(7)	O	1.09±0.13(6)	1.31±0.24(6)
		MCT-O	0.41±0.20(9)c_1	1.62±0.32(6)a_1b_2
		M	0.63±0.29(10)	1.26±0.53(6)
		MCT-M	1.10±0.37(6)	1.39±0.39(6)
Rw>18	0.02±0.00(7)	O	0.04±0.00(6)	0.04±0.00(6)
		MCT-O	0.01±0.00(9)	0.06±0.00(6)
		M	0.01±0.00(10)	0.04±0.00(6)
		MCT-M	0.03±0.00(6)	0.04±0.00(6)
LINO	0.82±0.05(7)	O	0.90±0.03(6)	0.51±0.04(6)a_2b_3
		MCT-O	0.67±0.08(9)c_1	0.93±0.12(6)c_2
		M	0.67±0.04(10)a_1c_3	1.07±0.07(6)$a_1b_3c_3$
		MCT-M	0.89±0.04(6)d_2e_1	1.01±0.11(6)
SAT	23.24±0.77(7)	O	18.05±0.45(6)a_3	22.57±3.19(6)
		MCT-O	23.12±2.69(9)	23.01±1.49(6)
		M	17.92±1.25(10)a_2	28.15±1.55(6)a_1b_3
		MCT-M	27.35±2.57(6)d_2	22.47±2.54(6)
UNID	212.51±4.62(7)	O	171.22±3.45(6)a_3	200.18±11.45(6)b_1
		MCT-O	175.85±11.16(9)a_2	171.67±7.19(6)a_3
		M	246.10±6.48(10)a_3c_3	204.00±4.80(6)b_3
		MCT-M	198.58±9.73(6)d_2	211.83±12.12(6)e_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 17. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS TRIACILGLICERIDOS DE PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	7.12±1.37(6)	O	1.65±0.10(6)a_2	1.34±0.10(6)a_2
		MCT-O	0.16±0.06(10)a_3c_3	1.12±0.15(6)a_2b_3
		M	8.95±0.82(9)c_3	9.84±1.15(6)c_3
		MCT-M	5.88±0.46(6)d_2e_3	5.22±0.82(5)d_2e_3
LINO	3.57±0.93(6)	O	7.38±1.93(6)	10.56±0.52(6)a_3
		MCT-O	3.39±1.40(10)	9.28±0.61(6)a_3b_2
		M	5.00±0.76(9)	7.01±0.71(6)a_1c_2
		MCT-M	8.61±0.90(6)$a_2d_2e_2$	13.72±3.12(5)a_1
SAT	39.74±1.73(6)	O	27.27±0.56(6)a_3	28.89±3.43(6)a_1
		MCT-O	40.34±1.42(10)c_3	35.84±1.27(6)b_1
		M	35.12±2.84(9)c_1	42.23±1.98(6)c_2
		MCT-M	43.38±2.59(6)d_1	38.62±2.85(5)
UNID	98.03±3.99(6)	O	84.38±1.26(6)a_2	83.01±3.26(6)a_1
		MCT-O	63.44±1.49(10)a_3c_3	73.10±1.70(6)$a_3b_3c_1$
		M	120.80±4.58(9)a_2c_3	115.39±3.84(6)a_1c_3
		MCT-M	91.12±3.73(6)d_3e_3	96.61±5.47(5)d_1e_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 18. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FRACCION DE ACIDOS GRASOS LIBRES DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	3.61±0.46(7)	O	1.02±0.23(6)a_3	2.46±0.43(6)b_1
		MCT-O	0.29±0.18(10)a_3c_1	1.10±0.52(6)a_2
		M	2.16±0.98(9)	0.68±0.16(6)a_3c_2
		MCT-M	2.33±0.39(6)e_3	2.30±0.55(6)d_1
LINO	7.68±0.86(7)	O	2.99±1.39(6)a_1	2.52±1.23(6)a_2
		MCT-O	1.59±0.96(10)a_3	1.20±0.76(6)a_3
		M	7.97±3.81(9)	8.85±8.85(6)
		MCT-M	12.29±1.53(6)a_1e_3	22.49±5.82(6)a_1e_2
SAT	51.47±3.12(7)	O	39.29±1.85(6)a_2	51.19±3.70(6)b_1
		MCT-O	56.38±2.80(10)c_3	60.55±2.46(6)a_1
		M	49.38±2.30(9)c_2	57.77±4.76(6)
		MCT-M	56.76±1.63(6)d_1	49.20±3.32(6)e_1
UNID	72.93±4.82(7)	O	67.64±1.97(6)	57.33±4.37(6)a_1
		MCT-O	48.09±2.78(10)a_3c_3	46.50±2.78(6)a_3
		M	79.74±5.61(9)	64.03±8.51(6)
		MCT-M	62.21±2.55(6)d_1e_2	75.02±4.84(6)b_1e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 19. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DEL PLASMA DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	17.37±0.76(7)	O	12.78±0.86(6)a_2	13.37±0.75(6)a_2
		MCT-O	14.70±0.89(9)a_1	11.69±1.48(6)a_2
		M	22.31±0.71(10)a_3c_3	18.45±0.80(6)b_2c_3
		MCT-M	19.01±0.89(6)d_1e_2	14.66±0.89(6)$a_1b_2d_1$
w3>18	2.64±0.13(7)	O	2.01±0.14(6)a_2	1.68±0.12(6)a_3
		MCT-O	1.30±0.19(9)a_3c_1	1.71±0.14(6)a_3
		M	1.60±0.09(10)a_3c_1	1.31±0.17(6)a_3
		MCT-M	1.50±0.14(6)a_3	1.87±0.26(6)a_1
Rw>18	0.15±0.00(7)	O	0.15±0.00(6)	0.12±0.00(6)
		MCT-O	0.08±0.00(9)	0.15±0.00(6)
		M	0.07±0.00(10)	0.07±0.00(6)
		MCT-M	0.07±0.00(6)	0.12±0.00(6)
LINO	1.56±0.16(7)	O	1.50±0.12(6)	1.53±0.15(6)
		MCT-O	1.38±0.12(9)	1.90±0.33(6)
		M	1.27±0.07(10)	1.48±0.11(6)
		MCT-M	1.60±0.16(6)	2.06±0.20(6)d_1
SAT	48.82±0.62(7)	O	45.20±0.62(6)a_2	48.04±1.80(6)
		MCT-O	47.10±0.88(9)	50.57±0.80(6)b_1
		M	48.42±1.06(10)c_1	55.90±0.59(6)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	48.82±0.20(6)	54.85±0.50(6)$a_3b_3e_2$
UNID	136.82±1.71(7)	O	117.82±3.49(6)a_3	115.84±4.18(6)a_3
		MCT-O	117.72±3.16(9)a_3	107.73±5.79(6)a_3
		M	146.14±3.01(10)a_1c_3	124.63±2.44(6)a_2b_3
		MCT-M	135.23±1.70(6)d_2e_3	116.39±3.53(6)a_3b_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

3.2.- Composición en ácidos grasos de los lípidos de membranas de eritrocitos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación

3.2.1.- Acidos grasos saturados

Al igual que en los lípidos plasmáticos, los ácidos grasos saturados mayoritarios son los ácidos palmítico y esteárico, encontrándose el conjunto de los otros ácidos grasos saturados en un porcentaje que no supera en ningún caso el 4 % . Los ácidos grasos palmítico y esteárico presentan un porcentaje característico en cada fracción lipídica analizada, no existiendo diferencias en las proporciones relativas entre ambos ya que el porcentaje de ácido palmítico se ha encontrado siempre que es superior en 2-3 veces al porcentaje del ácido esteárico en las tres fracciones analizadas.

En los fosfolípidos (Tabla 20), fosfatidilcolina (Tabla 21) y fosfatidiletanolamina (Tabla 22) se observa una disminución muy significativa en el porcentaje del ácido mirístico en los animales alimentados con cualquier dieta frente al que presentan los animales en el destete.

Los ácidos palmítico y esteárico experimentan en el tiempo cambios totalmente opuestos, aunque característicos de cada fracción. En los fosfolípidos (Tabla 20) el porcentaje del ácido palmítico muestra un aumento significativo a las tres semanas en todos los lotes de animales respecto al encontrado en los animales al destete, presentando a las cinco semanas una disminución, más o menos significativa,con lo que se alcanzan unos niveles similares a los existentes en los animales al destete. En la fosfatidilcolina (Tabla 21) los niveles

TABLA 20. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12 0.04±0.04(7)	O	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(6)
	MCT-O	0.00±0.00(10)	0.03±0.03(5)
	M	0.04±0.04(10)	0.00±0.00(7)
	MCT-M	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(13)
14 1.02±0.13(7)	O	0.44±0.09(6)a_2	0.18±0.00(6)a_3b_1
	MCT-O	0.32±0.04(10)a_3	0.51±0.18(5)a_1
	M	0.34±0.05(10)a_3	0.24±0.00(7)a_3
	MCT-M	0.00±0.00(6)$a_3d_3e_3$	0.19±0.03(13)a_3b_3
16 30.90±0.48(7)	O	32.89±0.76(6)a_1	27.74±0.36(6)a_3b_3
	MCT-O	34.09±0.52(10)a_3	32.57±0.93(5)c_3
	M	35.46±0.61(10)a_3c_1	32.28±0.69(7)b_2c_3
	MCT-M	32.88±0.58(6)a_1d_2	32.91±1.82(13)
18 13.90±0.40(7)	O	12.74±0.38(6)	16.00±0.19(6)a_3b_3
	MCT-O	12.98±0.29(10)	15.76±0.67(5)a_1b_2
	M	15.54±0.48(10)a_1c_3	18.51±0.76(7)$a_3b_2c_2$
	MCT-M	15.05±0.41(6)e_2	17.13±0.55(13)a_3b_2
24 0.53±0.03(7)	O	0.52±0.12(6)	0.00±0.00(6)a_3b_2
	MCT-O	0.50±0.05(10)	0.40±0.05(5)c_3
	M	0.72±0.24(10)	0.84±0.13(7)a_1c_3
	MCT-M	1.07±0.18(6)a_1e_1	0.63±0.11(13)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 21. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.18±0.09(7)	O	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(5)
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(9)
		M	0.05±0.04(9)	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.07±0.07(9)	0.00±0.00(13)
14	3.05±0.60(7)	O	0.44±0.03(6)a_2	0.20±0.09(5)a_3b_1
		MCT-O	0.54±0.05(10)a_3	0.43±0.06(9)a_3
		M	0.50±0.03(9)a_3	0.34±0.07(6)a_3
		MCT-M	0.24±0.09(9)$a_3d_1e_1$	0.26±0.03(13)a_3e_1
16	47.29±0.74(7)	O	42.35±1.43(6)a_1	35.57±1.20(5)a_3b_2
		MCT-O	46.16±0.77(10)c_1	43.14±1.07(9)$a_2b_1c_3$
		M	45.72±1.02(9)	43.29±0.76(6)a_2c_3
		MCT-M	45.05±1.08(9)	41.02±0.93(13)a_3b_1
18	13.14±0.17(7)	O	13.87±0.39(6)	18.71±1.02(5)a_3b_2
		MCT-O	13.42±0.60(10)	19.63±0.79(9)a_3b_2
		M	17.17±0.24(9)a_3c_3	20.76±0.77(6)a_3b_3
		MCT-M	18.59±1.09(9)a_3e_3	21.30±0.82(13)a_3
24	0.20±0.09(7)	O	0.00±0.00(6)a_1	0.00±0.00(5)a_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_1	0.07±0.03(9)b_1c_1
		M	0.10±0.05(9)	0.18±0.08(6)c_1
		MCT-M	0.07±0.05(9)	0.07±0.03(13)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 22. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.26±0.26(5)	O	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(6)
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(14)
		M	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(9)
		MCT-M	0.10±0.10(11)	0.03±0.03(13)
14	3.13±0.80(5)	O	0.98±0.08(6)a_1	1.30±0.18(6)
		MCT-O	1.58±0.05(10)c_3	1.76±0.15(14)
		M	1.64±0.26(10)c_1	1.09±0.30(9)a_1
		MCT-M	1.01±0.34(11)a_1	1.01±0.19(13)a_1e_2
16	14.41±0.47(5)	O	12.48±0.40(6)a_1	14.90±0.47(6)b_2
		MCT-O	14.37±0.38(10)c_2	16.37±0.87(14)b_1
		M	15.31±0.68(10)c_2	16.21±1.23(9)
		MCT-M	15.70±1.21(11)	13.09±0.90(13)e_1
18	6.43±0.44(5)	O	4.60±0.19(6)a_2	8.22±0.85(6)b_2
		MCT-O	7.11±0.69(10)c_2	6.75±0.44(14)
		M	5.74±0.30(10)c_2	7.90±0.75(9)b_1
		MCT-M	8.99±0.61(11)a_2d_3	7.78±0.92(13)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

de ácido palmítico manifiestan una disminución en todos los lotes de animales a las tres semanas, disminución que llega a ser muy significativa a las cinco semanas frente a los niveles encontrados en los animales al destete. La fosfatidiletanolamina (Tabla 22) es,por el contrario, una fracción que opone resistencia al cambio, siendo los porcentajes del ácido palmítico en todos los lotes de animales, tanto a las tres como a las cinco semanas,muy similares a los existentes en los animales al destete.

El ácido esteárico experimenta, por el contrario, en todas las fracciones analizadas y en todos los lotes de animales un aumento, más o menos significativo, en su porcentaje a las cinco semanas con respecto al que presentan estas mismas fracciones en los animales al destete.

Los animales alimentados con aceite de oliva presentan normalemente valores significativamente más bajos tanto de palmítico como de esteárico en todas las fracciones analizadas que los alimentados con aceite de maíz, presentando estos últimos animales, por regla general, porcentajes más altos que los alimentados con otro tipo de dieta. Los animales alimentados con MCT presentan un comportamiento intermedio, si bien los alimentados con MCT-M tienen unos porcentajes ligeramente superiores a los alimentados con MCT-O.

Los cambios de tipo opuesto que se producen en los ácidos palmítico y esteárico ejercen un efecto moderador sobre el índice de saturación de los fosfolípidos (Tabla 32), fosfatidilcolina (Tabla 33) y fosfatidiletanolamina (Tabla 34 y Figura 7) cuyos valores oscilan dentro de un estrecho margen. En general se observa una tendencia paralela a la de los lípidos plasmáticos aunque los cambios ocurren de una forma más controlada y

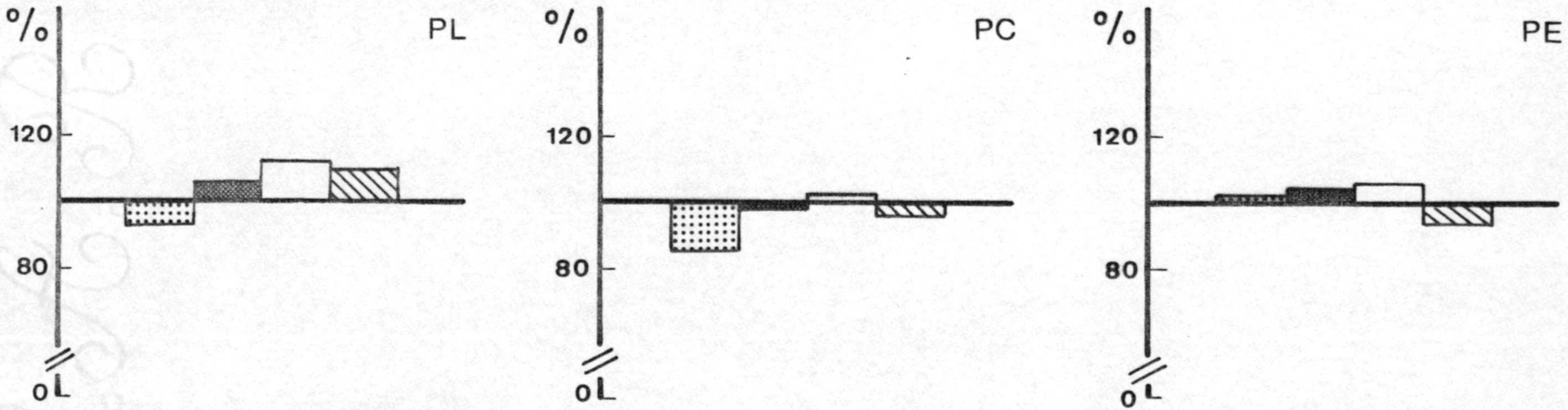


FIGURA 7. ACIDOS GRASOS SATURADOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ACEITE DE OLIVA; ACEITE DE OLIVA-MCT; ACEITE DE MAIZ; ACEITE DE MAIZ-MCT.

uniforme. Los animales alimentados con aceite de oliva presentan unos porcentajes significativamente inferiores a los que presentan los animales al destete o los alimentados con aceite de maíz, siendo los porcentajes de estos últimos ligeramente superiores a los encontrados en los animales al destete. De las tres fracciones lipídicas analizadas, la fosfatidiletanolamina es la que opone una mayor resistencia al cambio.

Es de destacar la diferencia existente en el porcentaje de ácidos grasos saturados presentes en cada fosfolípido. La fosfatidilcolina presenta un porcentaje muy superior de ácidos grasos saturados ($\simeq$ 60 %) que la fosfatidiletanolamina ($\simeq$ 25 %). Los fosfolípidos mantienen un porcentaje de ácidos grasos saturados en torno al 50 %.

3.2.2.- Acidos grasos insaturados de las series w7 y w9

Los porcentajes de ácido palmitoleico en los fosfolípidos analizados, excepto en la fosfatidiletanolamina (Tabla 25) en donde alcanzan valores cercanos al 2 %, son muy bajos y experimentan cambios mínimos. Los resultados muestran que los porcentajes en los animales alimentados con dietas con aceite de oliva son significativamente mayores que los que presentan los animales en el destete y los alimentados con dietas que contienen aceite de maíz.

El ácido oleico (18:1w9) es el ácido graso monoinsaturado mayoritario y su porcentaje es característico tanto del fosfolípido analizado como de la dieta empleada. La fosfatidiletanolamina (Tabla 25 y Figura 8) es la fracción en donde alcanza su nivel más elevado e independientemente de la dieta sus porcentajes son mayores

TABLA 23. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.47±0.08(7)	O	0.70±0.14(6)	0.51±0.18(6)
		MCT-O	0.97±0.09(10)a_2	1.41±0.16(5)$a_3b_1c_2$
		M	0.52±0.06(10)	0.75±0.12(7)
		MCT-M	0.36±0.05(6)e_3	0.27±0.09(13)d_2e_3
18:1w9	12.20±0.44(7)	O	21.29±0.63(6)a_3	17.50±0.35(6)a_3b_3
		MCT-O	17.90±0.27(10)a_3c_3	20.51±2.30(5)a_2
		M	10.97±0.29(10)a_1c_3	10.64±0.27(7)a_1c_3
		MCT-M	11.23±0.32(6)e_3	10.55±0.35(13)a_2e_3
24:1w9	0.00±0.00(7)	O	0.59±0.14(6)a_2	0.00±0.00(6)b_2
		MCT-O	0.54±0.05(10)a_3	0.00±0.00(5)b_3
		M	0.40±0.12(10)a_2	0.00±0.00(7)b_2
		MCT-M	0.00±0.00(6)d_2e_3	0.11±0.04(13)$a_1b_1d_1e_1$
20:3w9	0.00±0.00(7)	O	0.85±0.04(6)a_3	0.57±0.03(6)a_3b_3
		MCT-O	0.73±0.04(10)a_3	1.24±0.13(5)$a_3b_2c_3$
		M	0.25±0.08(10)a_2c_3	0.54±0.28(7)
		MCT-M	0.00±0.00(6)d_2e_3	0.06±0.03(13)$a_1b_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 24. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w7 Y w9 EN LA FOSFATIDIL-COLINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.50±0.09(7)	O	0.95±0.03(6)a_3	0.47±0.20(5)b_1
		MCT-O	1.00±0.10(10)a_2	0.98±0.04(9)a_3c_1
		M	0.60±0.09(9)c_2	0.49±0.08(6)
		MCT-M	0.17±0.11(9)$a_1d_2e_3$	0.22±0.08(13)$a_1d_1e_3$
18:1w9	10.76±0.33(7)	O	19.35±0.37(6)a_3	14.76±0.60(5)a_3b_3
		MCT-O	16.89±0.47(10)a_3c_2	14.64±0.99(9)a_2
		M	8.13±0.34(9)a_3c_3	7.66±0.34(6)a_3c_3
		MCT-M	9.52±0.54(9)d_1e_3	8.28±0.29(13)a_3e_3
20:3w9	0.14±0.14(7)	O	0.95±0.08(6)a_3	0.93±0.28(5)a_1
		MCT-O	1.01±0.08(10)a_3	1.30±0.07(9)a_3b_1
		M	0.37±0.09(9)c_3	0.21±0.13(6)c_1
		MCT-M	0.07±0.04(9)d_2e_3	0.05±0.00(13)e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 25. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LA FOSFATIDIL-ETANOLAMINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	1.21±0.08(5)	O	1.83±0.15(6)a_2	2.74±0.16(6)a_3b_2
		MCT-O	2.09±0.14(10)a_3	3.02±0.20(14)a_3b_3
		M	1.47±0.13(10)	1.38±0.23(9)c_3
		MCT-M	1.32±0.22(11)e_2	1.03±0.09(13)e_3
18:1w9	15.11±0.39(5)	O	21.39±0.32(6)a_3	22.69±0.57(6)a_3
		MCT-O	22.54±0.94(10)a_3	22.17±0.69(14)a_3
		M	16.70±0.24(10)a_2c_3	18.43±0.88(9)a_2c_2
		MCT-M	19.54±0.87(11)$a_3d_2e_1$	15.57±0.82(13)$b_2d_1e_3$
20:3w9	0.00±0.00(5)	O	1.02±0.13(6)a_3	0.94±0.18(6)a_3
		MCT-O	1.17±0.13(10)a_3	1.47±0.18(14)a_3c_1
		M	0.64±0.09(10)a_3c_1	0.84±0.24(9)a_2
		MCT-M	0.42±0.19(11)a_1e_2	0.09±0.03(13)$a_1d_2e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

L.A.F.P.

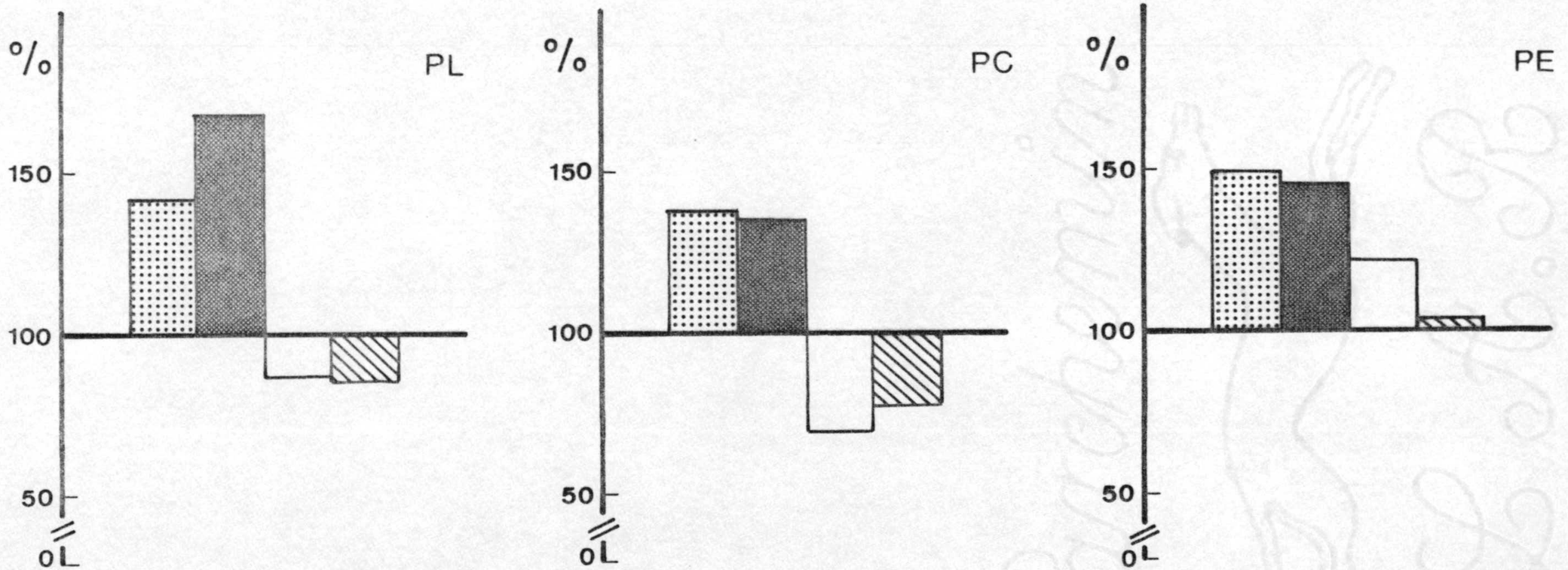


FIGURA 8. ACIDO OLEICO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA--MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

que los de los animales al destete. En todas las fracciones (Tablas 23-25 y Figura 8), los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva tienen unos porcentajes de ácido oleico significativamente mayores que los de los animales en el destete o los alimentados con dietas con aceite de maíz tanto a las tres como a las cinco semanas, a pesar de que en este tiempo muestren un ligero descenso en sus valores respecto al encontrado a las tres semanas. Los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz presentan en todas las fracciones, excepto en la fosfatidiletanolamina, unos porcentajes inferiores a los de los animales al destete.

El 20:3w9 es un ácido graso minoritario en todas las fracciones analizadas con unos porcentajes inferiores al 1 %, correspondiendole los valores más elevados a los lotes alimentados con dietas que incluyen aceite de oliva.

3.2.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6

El ácido graso precursor de esta serie, ácido linoleico (18:2w6), se encuentra en unos porcentajes característicos tanto del tipo de fracción analizada como del tipo de dieta que ha ingerido el animal. De las fracciones lipídicas analizadas, la fosfatidiletanolamina (Tabla 28) es la que presenta los porcentajes más bajos aunque es el fosfolípido en donde se observan los cambios relativos más acusados. A los animales alimentados con dietas con aceite de oliva les corresponden los porcentajes más bajos de todos los lotes de animales; los alimentados con dietas con aceite de maíz les corresponden los porcentajes más altos a las tres semanas pero dada la tendencia a la disminución que presentan con el tiempo

TABLA 26. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	9.34±0.28(7)	O	6.09±0.16(6)a_3	6.39±0.09(6)a_3
		MCT-O	5.97±0.10(10)a_3	5.61±0.17(5)a_3c_2
		M	12.23±0.39(10)a_3c_3	10.57±0.60(7)b_1c_3
		MCT-M	10.85±0.16(6)$a_3d_2e_3$	9.93±0.13(13)b_3e_3
18:3w6	0.49±0.03(7)	O	0.07±0.07(6)a_3	0.24±0.08(6)a_1
		MCT-O	0.19±0.05(10)a_3	0.38±0.04(5)b_1
		M	0.21±0.11(10)a_1	0.21±0.08(7)a_2
		MCT-M	0.48±0.05(6)d_1e_2	0.04±0.04(13)$a_3b_3e_3$
20:2w6	0.67±0.05(7)	O	0.16±0.05(6)a_3	0.00±0.00(6)a_3b_1
		MCT-O	0.35±0.06(10)a_2c_1	0.00±0.00(5)a_3b_3
		M	0.61±0.17(10)c_1	0.28±0.13(7)a_1
		MCT-M	0.58±0.08(6)e_1	0.32±0.04(13)$a_3b_1e_3$
20:3w6	1.23±0.04(7)	O	1.30±0.21(6)	1.08±0.04(6)a_1
		MCT-O	1.33±0.11(10)	1.24±0.05(5)c_1
		M	0.69±0.15(10)a_2c_1	0.92±0.06(7)a_2
		MCT-M	1.39±0.14(6)d_2	0.97±0.05(13)$a_2b_1e_2$
20:4w6	20.25±0.42(7)	O	17.67±0.99(6)a_1	23.99±0.29(6)a_3b_3
		MCT-O	19.22±0.47(10)	14.83±1.62(5)$a_2b_1c_3$
		M	17.54±0.70(10)a_2	17.41±0.91(7)a_1c_3
		MCT-M	18.08±0.23(6)a_3e_1	20.10±1.66(13)e_1
22:4w6	2.63±0.08(7)	O	1.66±0.08(6)a_3	2.45±0.13(6)b_3
		MCT-O	1.58±0.08(10)a_3	1.56±0.17(5)a_3c_2
		M	2.03±0.09(10)a_3c_2	2.57±0.13(7)b_2
		MCT-M	2.97±0.15(6)d_3e_3	2.63±0.24(13)e_2
22:5w6	1.75±0.11(7)	O	0.84±0.17(6)a_3	0.77±0.55(6)a_3
		MCT-O	1.15±0.08(10)a_3	0.92±0.14(5)a_2
		M	1.35±0.08(10)a_1c_1	1.85±0.27(7)c_2
		MCT-M	2.75±0.17(6)$a_3d_3e_3$	1.67±0.22(13)b_2e_1

Los resultados se expresan comola media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 27. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	10.91±0.44(7)	O	7.07±0.22(6)a_3	7.68±0.44(5)a_3
		MCT-O	7.06±0.13(10)a_3	5.97±0.33(9)$a_3b_2c_2$
		M	12.52±0.52(9)a_1c_3	11.55±0.69(6)c_2
		MCT-M	12.58±0.28(9)a_2e_3	10.75±0.43(13)b_2e_3
18:3w6	1.56±0.08(7)	O	0.00±0.00(6)	0.00±0.00(5)
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(9)
		M	0.00±0.00(9)	0.00±0.00(6)
		MCT-M	0.00±0.00(9)	0.00±0.00(13)
20:2w6	1.56±0.10(7)	O	0.78±0.20(6)a_2	0.00±0.00(5)a_3b_2
		MCT-O	1.37±0.15(10)c_1	0.23±0.10(9)$a_3b_3c_1$
		M	0.85±0.14(9)a_2	0.73±0.04(6)a_3c_3
		MCT-M	0.61±0.16(9)a_3e_2	0.33±0.04(13)a_3d_3
20:3w6	0.96±0.08(7)	O	0.91±0.07(6)	1.13±0.14(5)
		MCT-O	1.14±0.09(10)	1.05±0.08(9)
		M	0.54±0.06(9)a_3c_2	0.49±0.05(6)a_3c_2
		MCT-M	0.70±0.15(9)e_1	0.74±0.07(13)$a_1d_1e_2$
20:4w6	8.29±0.23(7)	O	11.12±0.74(6)a_2	15.70±0.74(5)a_3b_2
		MCT-O	9.77±0.75(10)	10.16±0.85(9)a_1c_3
		M	11.85±0.65(9)a_3	10.50±0.56(6)a_2c_3
		MCT-M	10.40±0.73(9)a_1	13.94±0.50(13)$a_3b_3d_3e_2$
22:4w6	0.37±0.00(7)	O	0.49±0.14(6)	3.07±0.92(5)a_1b_1
		MCT-O	0.33±0.03(10)	0.48±0.05(9)b_1c_1
		M	0.46±0.05(9)	0.86±0.08(6)$a_3b_3c_1$
		MCT-M	0.38±0.06(9)	1.14±0.40(13)
22:5w6	0.74±0.03(7)	O	0.60±0.08(6)	0.42±0.11(5)a_1
		MCT-O	0.46±0.05(10)a_3	0.49±0.17(9)
		M	0.67±0.09(9)	1.61±0.33(6)$a_1b_1c_2$
		MCT-M	0.52±0.08(9)a_1	1.03±0.16(13)b_1e_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 28. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LA FOSFATIDIIETANOLAMINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	4.61±0.19(5)	O	3.52±0.16(6)a_2	3.99±0.31(6)
		MCT-O	4.39±0.25(10)c_1	2.81±0.08(14)$a_3b_3c_1$
		M	8.96±0.33(10)a_3c_3	8.87±0.45(9)a_3c_3
		MCT-M	7.50±0.33(11)$a_3d_2e_3$	6.25±0.35(13)$a_3b_1d_3e_3$
18:3w6	0.00±0.00(5)	O	1.37±0.44(6)a_1	0.16±0.11(6)b_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)c_2	0.48±0.27(14)
		M	0.00±0.00(10)c_2	1.39±0.51(9)$a_1b_1c_1$
		MCT-M	0.44±0.23(11)	1.20±0.38(13)a_2
20:2w6	0.35±0.22(5)	O	0.06±0.04(6)	0.00±0.00(6)
		MCT-O	0.05±0.04(10)	0.00±0.00(14)
		M	1.25±0.14(10)a_2c_3	0.84±0.32(9)c_1
		MCT-M	0.72±0.19(11)d_1e_2	0.48±0.09(13)e_3
20:3w6	1.40±0.08(5)	O	1.96±0.11(6)a_2	1.00±0.15(6)a_1b_3
		MCT-O	2.63±0.28(10)a_3c_1	1.97±0.24(14)a_1c_2
		M	2.47±0.43(10)a_1	2.04±0.41(9)c_1
		MCT-M	1.33±0.16(11)d_1e_3	2.32±0.30(13)a_1b_2
20:4w6	32.71±0.98(5)	O	36.80±1.32(6)a_1	31.50±1.30(6)b_1
		MCT-O	32.69±1.28(10)c_1	31.51±1.16(14)
		M	33.44±1.01(10)	27.13±1.57(9)$a_1b_2c_1$
		MCT-M	31.13±1.63(11)	34.10±1.23(13)d_2
22:4w6	7.03±0.44(5)	O	5.85±0.11(6)a_1	6.31±0.29(6)
		MCT-O	4.95±0.24(10)a_2c_2	4.14±0.23(14)$a_3b_1c_3$
		M	6.75±0.19(10)c_2	7.36±0.40(9)
		MCT-M	5.27±0.49(11)a_1d_1	8.21±0.51(13)b_3e_3
22:5w6	3.17±0.16(5)	O	2.00±0.14(6)a_3	1.07±0.06(6)a_3b_3
		MCT-O	1.73±0.15(10)a_3	1.85±0.17(14)a_3c_3
		M	2.30±0.22(10)a_2	2.97±0.26(9)c_3
		MCT-M	1.86±0.20(11)a_3	3.11±0.44(13)b_1e_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

de tratamiento, a las cinco semanas se equiparan con los porcentajes encontrados en el destete, excepto en la fosfatidiletanolamina (Tabla 28 y Figura 9) en los que permanecen significativamente por encima de los porcentajes encontrados en los animales tanto en el destete como en los alimentados con dietas con aceite de oliva.

El 18:3w6 y el 20:2w6 presentan unos porcentajes muy bajos e inferiores que los que presentan los animales al destete en todas las fracciones, excepto en la fosfatidiletanolamina (Tabla 28) de los animales alimentados con dietas con aceite de maíz que son mayores que los de los animales al destete.

El 20:3w6 (Tablas 26-28 y Figura 10) interviene en todas las fracciones con un porcentaje de aproximadamente un 1 %. Este porcentaje es similar entre los lotes alimentados con dietas con aceite de oliva y los animales al destete, siendo significativamente mayor en ambos grupos de animales que en los alimentados con dietas con aceite de maíz, excepto en la fosfatidiletanolamina (Tabla 28) en donde prácticamente se mantienen en unos niveles similares.

El ácido araquidónico (20:4w6) (Figura 11) se presenta en unos porcentajes característicos de cada fracción. La fosfatidiletanolamina (Tabla 28) es el fosfolípido en el que el porcentaje de este ácido graso es más elevado (30 %) mientras que la fosfatidilcolina (Tabla 27) es la que presenta el porcentaje más bajo (10 %). En general y dentro de las variaciones características que se presentan en cada fracción lipídica, los animales alimentados con aceite de oliva tienen unos porcentajes superiores que los alimentados con aceite de maíz, acentuándose estas diferencias a las cinco semanas.

El 22:4w6 y el 22:5w6 participan con unos porcen

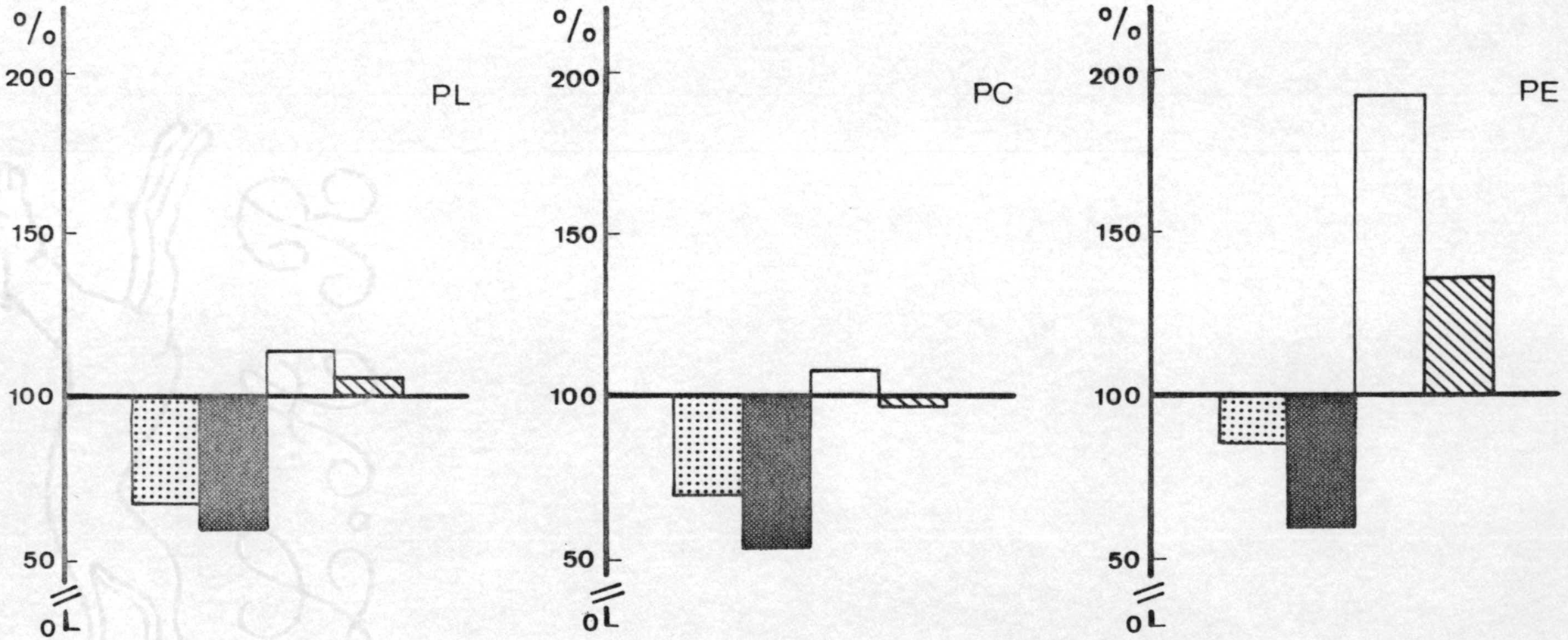


FIGURA 9. ACIDO LINOLEICO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

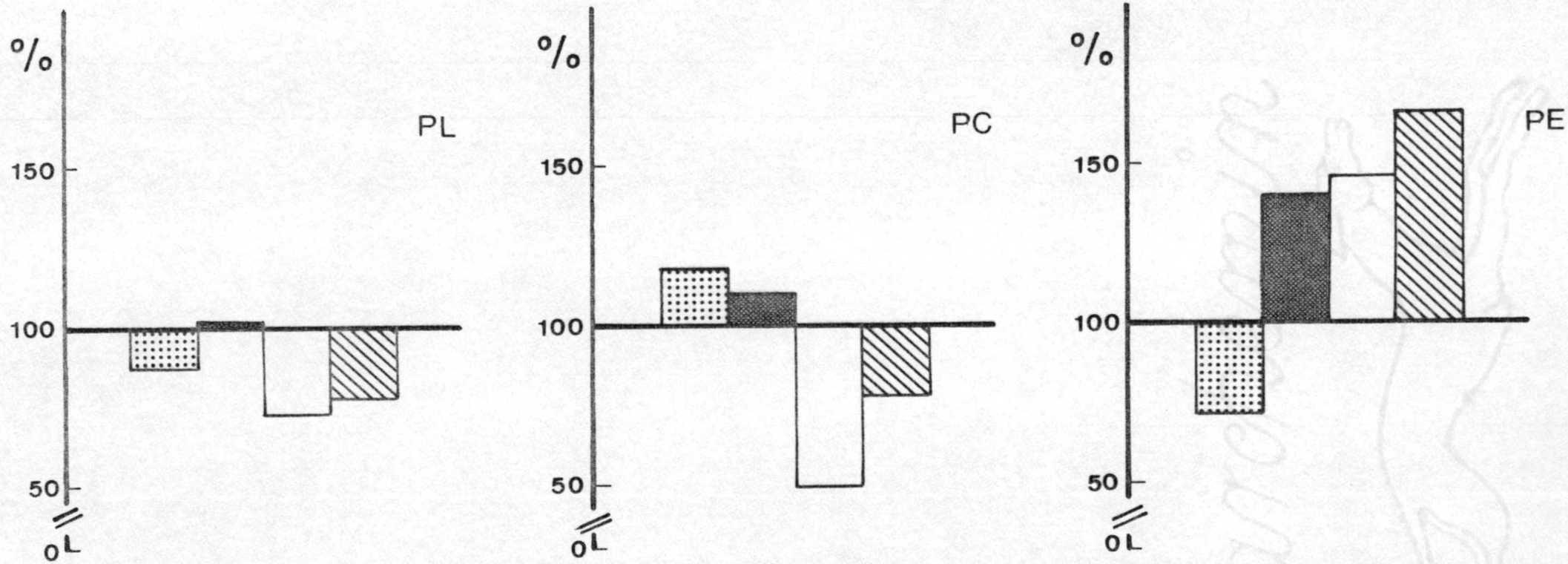


FIGURA 10. ACIDO DIHOMO-γ-LINOLENICO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⁘ ACEITE DE OLIVA; ▒ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

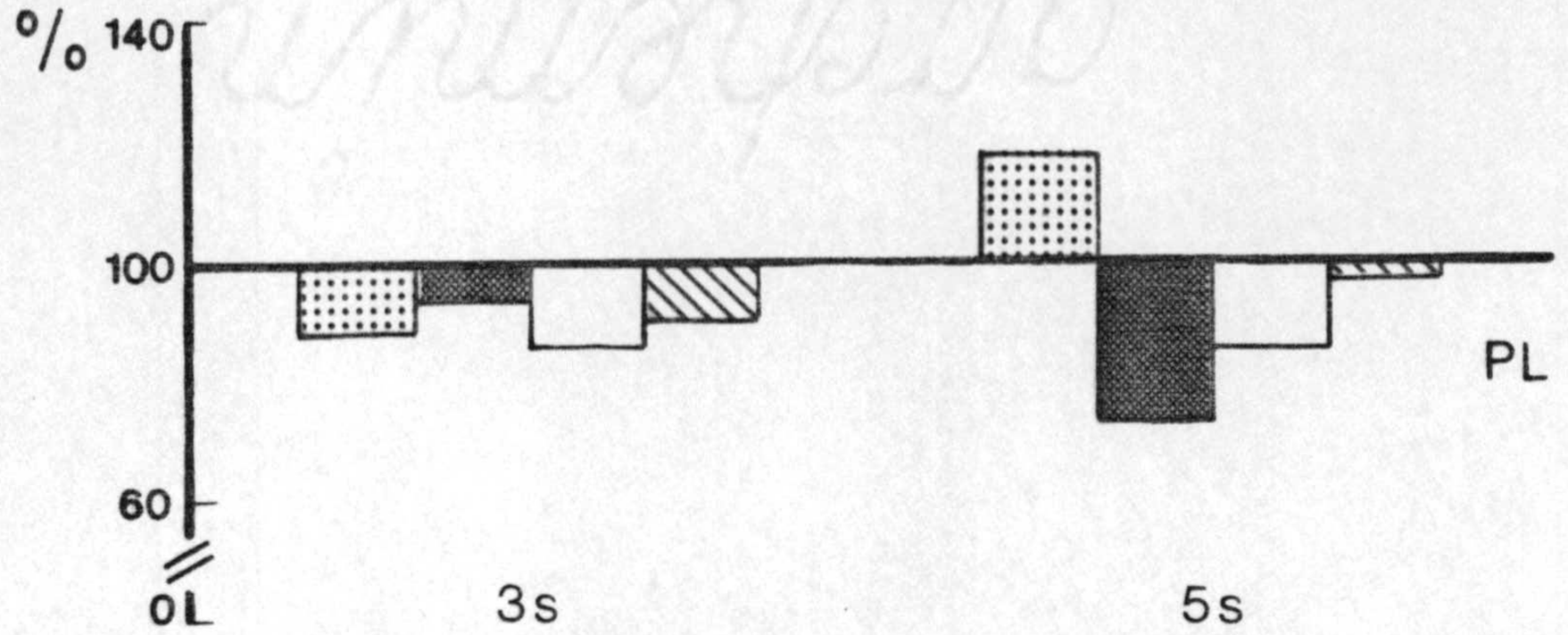


FIGURA 11. ACIDO ARAQUIDONICO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⣿ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

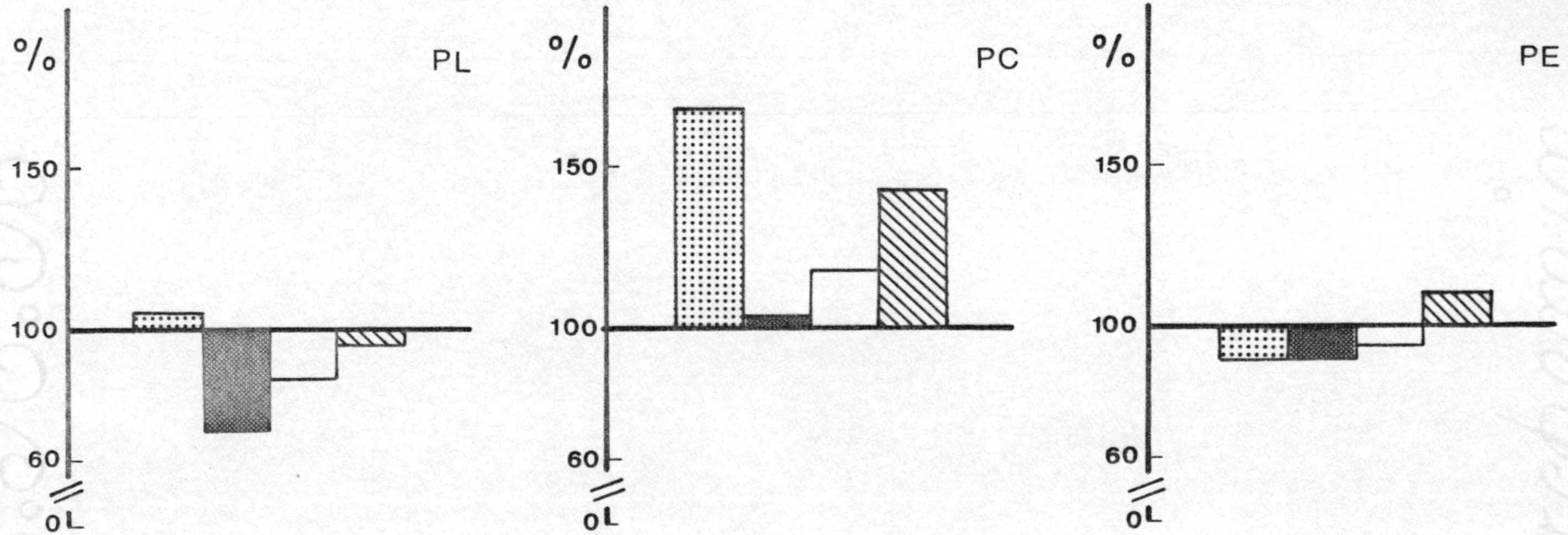


FIGURA 12. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LA SERIE w 6 CON MAS DE DIECIOCHO ATOMOS DE CARBONO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVO CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ■ ACEITE DE OLIVA-MCT; □ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

tajes relativamente importantes sobre todo en la fosfatidiletanolamina (Tabla 28) en donde en la proporción de 2:1 constituyen de un 6-10 % de los ácidos grasos totales en esta fracción. En todas las fracciones los porcentajes de estos ácidos grasos en los animales alimentados con dietas con aceite de oliva son inferiores a los de los animales al destete y los alimentados con dietas que contienen aceite de maíz; en estos últimos animales los porcentajes de ambos ácidos grasos no experimentan ninguna modificación ni en el tiempo ni frente al valor encontrado en los animales al destete, excepto en la fosfatidiletanolamina de los animales alimentados con MCT-M que aumentan sus porcentajes significativamente a las cinco semanas.

El conjunto de estos cambios se refleja en el índice w 6 > 18 (Tablas 32-34 y Figura 12) el cual presenta un valor y comportamiento característico de cada fracción. Es de destacar los niveles más altos en los animales alimentados con aceite de oliva, así como el aumento de este índice a las cinco semanas en la fosfatidiletanolamina de los animales alimentados con MCT-M.

3.2.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3

Los ácidos grasos poliinsaturados originados a partir del α-linolénico de la dieta contribuyen con un porcentaje muy bajo al total de los ácidos grasos de los lípidos analizados. De los miembros de esta serie, el 22:5w3 y 22:6w3 son los que participan con un porcentaje mayor, sobre todo en la fosfatidiletanolamina (Tabla 31), por lo que el efecto que la dieta ejerce sobre esta serie se aprecia mejor atendiendo al porcentaje de los ácidos grasos mayoritarios (Figura 13). En

TABLA 29. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.20±0.19(7)	O	0.39±0.16(6)	0.00±0.00(6)b_1
		MCT-O	0.23±0.04(10)	0.47±0.16(5)c_1
		M	0.30±0.09(10)	0.56±0.25(7)
		MCT-M	0.28±0.14(6)	0.07±0.04(13)e_1
20:5w3	0.06±0.03(7)	O	0.49±0.13(6)a_2	0.00±0.00(6)b_2
		MCT-O	0.49±0.08(10)a_3	0.27±0.03(5)$a_3b_1c_3$
		M	0.00±0.00(10)c_2	0.21±0.13(7)
		MCT-M	0.27±0.16(6)	0.09±0.05(13)e_1
22:5w3	2.16±0.08(7)	O	0.54±0.12(6)a_3	0.80±0.03(6)a_3
		MCT-O	0.59±0.03(10)a_3	0.64±0.10(5)a_3
		M	0.31±0.05(10)a_3	0.53±0.13(7)a_3
		MCT-M	0.94±0.06(6)$a_3d_3e_3$	0.74±0.17(13)a_3
22:6w3	2.16±0.15(7)	O	0.67±0.15(6)a_3	1.77±0.09(6)a_1b_3
		MCT-O	0.84±0.04(10)a_3	1.65±0.23(5)b_2
		M	0.30±0.05(10)a_3c_1	1.04±0.15(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	0.82±0.07(6)a_3d_3	1.37±0.32(13)a_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 30. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.37±0.16(7)	O	0.31±0.14(6)	0.21±0.21(5)
		MCT-O	0.41±0.11(10)	0.29±0.04(9)
		M	0.30±0.12(9)	0.22±0.07(6)
		MCT-M	0.35±0.27(9)	0.04±0.03(13)d_1e_3
20:5w3	0.19±0.06(7)	O	0.30±0.15(6)	0.00±0.00(5)a_1
		MCT-O	0.15±0.07(10)	0.15±0.04(9)c_2
		M	0.00±0.00(9)a_2	0.14±0.04(6)b_2c_2
		MCT-M	0.00±0.00(9)a_2e_1	0.00±0.00(13)$a_2d_2e_2$
22:5w3	0.60±0.03(7)	O	0.05±0.03(6)a_3	0.30±0.12(5)a_1
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.22±0.07(9)a_3b_2
		M	0.01±0.00(9)a_3	0.30±0.10(6)a_1b_1
		MCT-M	0.10±0.09(9)a_3	0.20±0.07(13)a_3
22:6w3	0.60±0.03(7)	O	0.44±0.05(6)a_1	0.85±0.10(5)a_1b_2
		MCT-O	0.30±0.05(10)a_3c_1	0.62±0.11(9)b_1
		M	0.17±0.08(9)a_3c_2	0.26±0.10(6)a_2c_2
		MCT-M	0.48±0.19(9)	0.62±0.11(13)d_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 31. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 3 EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	1.00±0.26(5)	O	0.87±0.57(6)	0.58±0.25(6)
		MCT-O	0.52±0.27(10)	0.47±0.13(14)
		M	0.00±0.00(10)a_2	0.06±0.04(9)a_2
		MCT-M	0.00±0.00(11)a_2	0.15±0.10(13)a_2
20:5w3	0.07±0.07(5)	O	1.07±0.29(6)a_1	0.06±0.06(6)b_2
		MCT-O	1.35±0.15(10)a_3	1.18±0.06(14)a_3c_3
		M	0.92±0.29(10)a_1	0.34±0.17(9)
		MCT-M	0.28±0.17(11)e_3	0.51±0.11(13)a_2e_3
22:5w3	5.50±0.15(5)	O	2.50±0.19(6)a_3	1.73±0.09(6)a_3b_2
		MCT-O	1.71±0.19(10)a_3c_1	1.75±0.16(14)a_3
		M	1.34±0.19(10)a_3c_3	1.70±0.22(9)a_3
		MCT-M	1.65±0.30(11)a_3	2.11±0.22(13)a_3
22:6w3	3.61±0.08(5)	O	1.70±0.15(6)a_3	2.50±0.20(6)a_3b_2
		MCT-O	1.10±0.13(10)a_3c_1	2.13±0.21(14)a_3b_3
		M	0.88±0.19(10)a_3c_2	1.05±0.24(9)a_3c_3
		MCT-M	2.36±0.58(11)$a_1d_1e_1$	2.09±0.45(13)a_2d_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

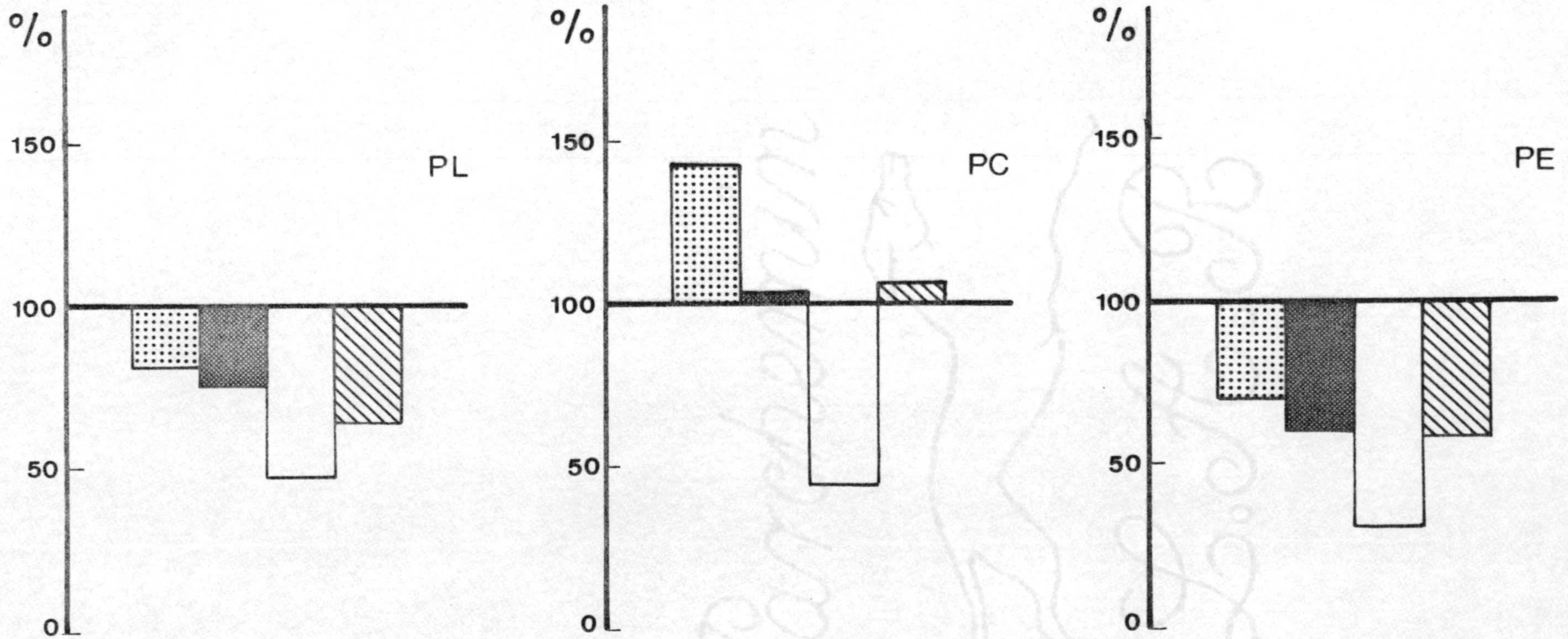


FIGURA 13. ACIDO DOCOSAHEXENOICO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ■ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

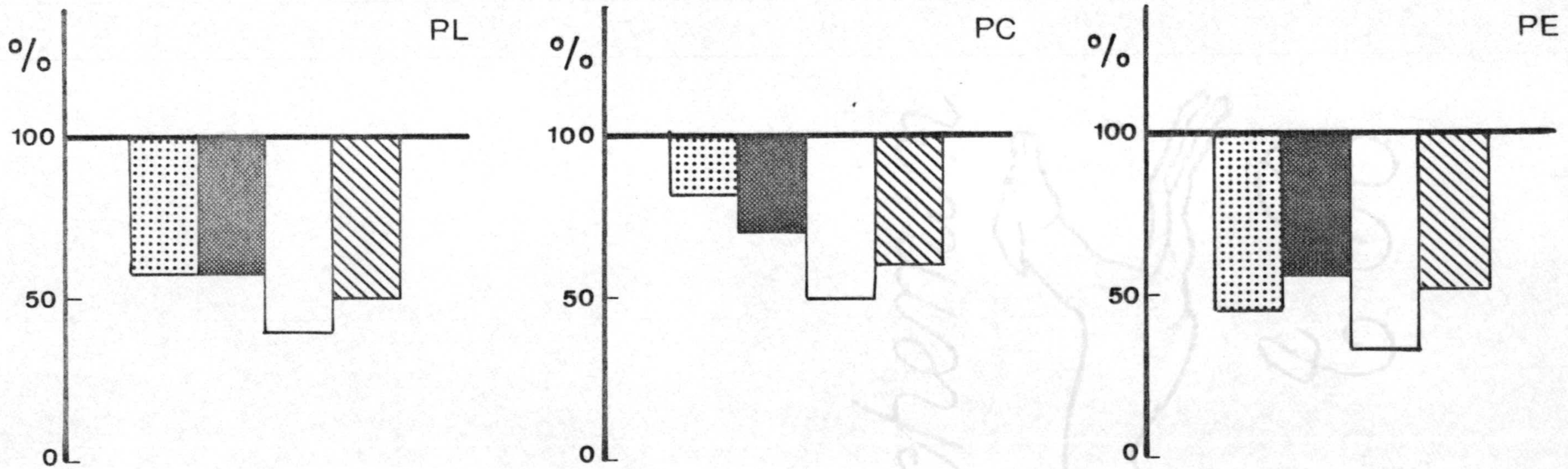


FIGURA 14. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LA SERIE w 3 CON MAS DE DIECIOCHO ATOMOS DE CARBONO EN LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

general se observa una disminución de los niveles en todos los lotes con respecto al que presentan los animales al destete, correspondiéndoles a los lotes alimentados con dietas con aceite de maíz los porcentajes menores.

El índice w 3 > 18 (Tablas 32-34 y Figura 14) recoge todos estos cambios lo que se traduce en un comportamiento paralelo. Se observa una disminución en todos los lotes de animales con respecto al valor encontrado en los animales al destete, así como unos niveles inferiores en los animales alimentados con dietas con aceite de maíz.

La relación Rw > 18 (Tablas 32-34) no muestra diferencias significativas entre los distintos lotes por efecto de la dieta y edad postnatal, si bien esta relación tiene unos niveles mayores en los animales al destete con respecto al de los animales alimentados con las dietas experimentales, siendo entre estos, mayores en los alimentados con dietas que contienen aceite de oliva.

El índice de insaturación (Tabla 32-34 y Figura 15) presenta unos valores característicos en cada fracción. Los fosfolípidos (Tabla 32) y fosfatidileta — nolamina (Tabla 34) presentan unos niveles en los animales tratados con dietas experimentales, inferiores a los que presentan los animales al destete, mientras que en la fosfatidilcolina (Tabla 33) los niveles en los animales tratados son superiores. Los distintos lotes adolecen de grandes diferencias significativas entre sí, si bien estas tienden a acentuarse ligeramente a las cinco semanas.

TABLA 32. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	27.03±0.30 (7)	O	21.70±0.97(6)a_3	28.53±0.26(6)a_2b_3
		MCT-O	23.83±0.38(10)a_3	18.94±1.94(5)$a_2b_1c_3$
		M	22.43±0.54(10)a_3	23.24±1.04(7)a_2c_3
		MCT-M	26.25±0.33(6)d_3e_3	25.72±2.11(13)e_1
w3>18	4.37±0.21(7)	O	1.70±0.36(6)a_3	2.57±0.09(6)a_3b_1
		MCT-O	1.93±0.12(10)a_3	2.54±0.29(5)a_3
		M	0.61±0.10(10)a_3c_1	1.77±0.20(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	2.03±0.22(6)a_3d_3	2.21±0.52(13)a_2
Rw>18	0.16±0.00(7)	O	0.07±0.00(6)	0.09±0.00(6)
		MCT-O	0.07±0.00(10)	0.13±0.00(5)
		M	0.02±0.00(10)	0.07±0.00(7)
		MCT-M	0.07±0.00(6)	0.07±0.00(13)
LINO	0.46±0.00(7)	O	0.34±0.00(6)	0.26±0.00(6)
		MCT-O	0.31±0.00(10)	0.40±0.05(5)c_1
		M	0.70±0.00(10)	0.61±0.04(7)a_2c_3
		MCT-M	0.60±0.00(6)	0.55±0.07(13)
SAT	46.39±0.74(7)	O	46.67±1.02(6)	43.92±0.50(6)a_1b_1
		MCT-O	47.89±0.57(10)	49.27±1.44(5)c_2
		M	52.29±0.76(10)a_3c_3	51.94±1.49(7)a_2c_3
		MCT-M	48.99±0.55(6)a_1d_2	51.08±2.04(13)a_1
UNID	162.77±1.83(7)	O	133.64±5.48(6)a_3	160.69±1.20(6)b_3
		MCT-O	138.98±2.10(10)a_3	127.72±7.45(5)a_2c_2
		M	130.29±3.03(10)a_3	138.81±5.39(7)a_2c_2
		MCT-M	149.84±2.19(6)$a_3d_3e_2$	146.51±10.43(13)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 33. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	12.07±0.26(7)	O	13.91±0.90(6)	20.32±1.43(5)a_3b_2
		MCT-O	13.08±0.67(10)	12.41±1.03(9)c_3
		M	14.37±0.69(9)a_2	14.18±0.67(6)a_1c_2
		MCT-M	12.61±0.64(9)	17.19±0.81(13)$a_3b_3d_1e_2$
w3>18	1.39±0.09(7)	O	0.80±0.21(6)a_1	1.15±0.21(5)
		MCT-O	0.44±0.03(10)a_3	0.99±0.18(9)b_2
		M	0.18±0.08(9)a_3c_1	0.70±0.15(6)a_2b_1
		MCT-M	0.58±0.28(9)a_1	0.82±0.15(13)a_2
Rw>18	0.11±0.00(7)	O	0.05±0.00(6)	0.06±0.00(5)
		MCT-O	0.03±0.00(10)	0.07±0.00(9)
		M	0.01±0.00(9)	0.04±0.00(6)
		MCT-M	0.04±0.00(9)	0.04±0.00(13)
SAT	63.86±0.62(7)	O	56.65±1.23(6)a_3	54.48±2.10(5)a_2
		MCT-O	60.11±0.65(10)a_3c_1	63.32±1.78(9)c_2
		M	63.53±0.94(9)c_3	64.66±1.27(6)c_2
		MCT-M	64.13±0.86(9)e_2	62.65±1.01(13)
UNID	86.95±1.74(7)	O	96.46±4.79(6)	121.22±6.28(5)a_3b_1
		MCT-O	87.66±2.56(10)	86.60±5.17(9)c_2
		M	92.79±3.10(9)	93.02±3.96(6)c_2
		MCT-M	88.52±3.61(9)	103.40±3.60(13)$a_3b_2e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 34. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MEMBRANAS DE ERITROCITO DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	44.67±1.39(5)	O	48.04±1.64(6)	40.04±1.33(6)a_1b_2
		MCT-O	42.06±1.53(10)c_1	39.94±1.60(14)a_1
		M	46.21±1.42(10)	41.74±1.75(9)
		MCT-M	40.76±1.75(11)d_1	49.43±2.14(13)$b_2d_1e_2$
w3>18	9.18±0.22(5)	O	5.26±0.43(6)a_3	4.29±0.24(6)a_3
		MCT-O	4.16±0.41(10)a_3	5.06±0.39(14)a_3
		M	3.14±0.42(10)a_3c_2	3.10±0.53(9)a_3c_1
		MCT-M	4.29±0.97(11)a_3	4.72±0.67(13)a_3
Rw>18	0.20±0.00(5)	O	0.10±0.00(6)	0.10±0.00(6)
		MCT-O	0.09±0.00(10)	0.12±0.00(14)
		M	0.06±0.00(10)	0.07±0.00(9)
		MCT-M	0.09±0.00(11)	0.09±0.00(13)
SAT	24.22±1.59(5)	O	18.06±0.62(6)a_2	24.72±1.32(6)b_2
		MCT-O	23.06±1.02(10)c_3	25.05±1.23(14)
		M	22.88±1.18(10)c_2	25.58±1.78(9)
		MCT-M	26.16±1.56(11)	22.75±1.85(13)
UNID	257.77±6.67(5)	O	254.64±4.64(6)	222.01±4.72(6)a_2b_3
		MCT-O	227.63±6.22(10)a_2c_2	223.23±7.57(14)a_2
		M	236.75±5.90(10)a_1c_1	221.61±8.44(9)a_2
		MCT-M	222.65±10.70(11)a_1	251.87±9.37(13)$b_1d_1e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi cancia se explican en la sección 2.2.14.

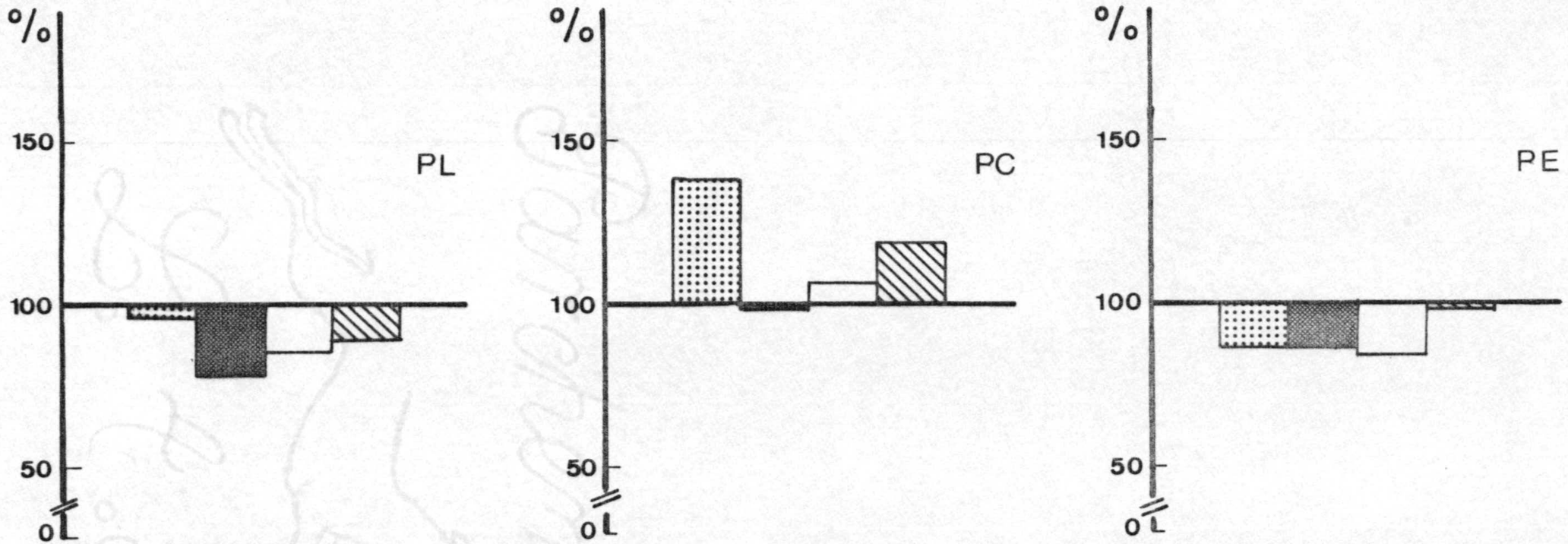


FIGURA 15. INDICE DE INSATURACION DE LOS FOSFOLIPIDOS DE LA MEMBRANA PLASMATICA DEL ERITROCITO EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

3.3.- Composición en ácidos grasos de los lípidos de microsomas hepáticos. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación

3.3.1.- Acidos grasos saturados

De los ácidos grasos saturados, son de nuevo los ácidos palmítico y esteárico los que mayoritariamente nos encontramos en los microsomas hepáticos y con una distribución propia de cada fracción lipídica. En los fosfolípidos (Tabla 35), fosfatidilcolina (tabla 36) y fosfatidiletanolamina (Tabla 37) estos ácidos grasos participan con unos porcentajes similares alrededor del 25 %, mientras que los ácidos laurico, mirístico y lignocérico están prácticamente ausentes con unos porcentajes inferiores al 1 %. El fosfatidilinositol (Tabla 38) y los glucolípidos (Tabla 39) se caracterizan por un aumento en los porcentajes de mirístico que llegan a alcanzar valores de hasta un 5 % y un predominio de uno de los dos ácidos grasos mayoritarios, en el fosfatidilinositol del ácido esteárico, mientras que en los glucolípidos lo es del ácido palmítico.

Los resultados ponen en evidencia que no hay grandes diferencias significativas entre los lotes de animales alimentados con dietas que contienen MCT y los alimentados con dietas que contienen exclusivamente aceites de oliva o de maíz, lo cual nos permite agrupar los resultados en dos grandes grupos: los alimentados con dietas que contienen aceite de oliva y los que son alimentados con dietas que contienen aceite de maíz. Estos aceites inciden de forma individualizada y característica sobre cada ácido graso y fracción.

Los porcentajes del ácido palmítico en los ani-

males alimentados con las dietas que llevan aceite de oliva muestran una tendencia a la disminución con respecto a los porcentajes encontrados en los animales al destete, mientras que los alimentados con las dietas de maíz presentan la tendencia opuesta. El aumento o disminución experimentado suele ser significativo a las cinco semanas de instaurada la dieta con respecto al nivel en el destete, así como entre los porcentajes de los lotes alimentados con las dietas con aceite de oliva y los que lo son con las dietas con aceite de maíz.

A las tres semanas el ácido esteárico en todos los lotes de animales presenta unos porcentajes significativamente inferiores en todas las fracciones analizadas a los encontrados en el destete, observándose un aumento significativo a las cinco semanas, excepto en los glucolípidos (Tabla 39), con lo que los porcentajes se acercan a los del destete. Los lotes de animales alimentados con las dietas de maíz tienen unos porcentajes que suelen ser significativamente superiores a los de los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva.

Todos estos cambios se observan de forma global en el índice de saturación en los fosfolípidos (Tabla 55 y Figura 20), fosfatidilcolina (Tabla 56 y Figura 21), fosfatidiletanolamina (Tabla 57 y Figura 21), fosfatidilinositol (Tabla 58 y Figura 21) y glucolípidos (Tabla 59 y Figura 21). El nivel de ácidos grasos saturados es significativamente inferior en todas las fracciones a las tres semanas que el encontrado en los animales al destete;este nivel experimenta un aumento significativo a las cinco semanas en todas las fracciones analizadas, excepto en los glucolípidos. El incremento que se produce a las cinco semanas es inferior en los animales

TABLA 35. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.08±0.08(6)	O	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.27±0.13(10)c_1	0.00±0.00(9)b_1
		M	0.00±0.00(9)	0.25±0.13(7)
		MCT-M	0.04±0.03(7)	0.05±0.03(10)
14	0.76±0.24(6)	O	0.28±0.04(10)	0.59±0.21(4)
		MCT-O	0.66±0.13(10)c_1	0.23±0.04(9)a_1b_2
		M	0.29±0.03(9)	0.75±0.33(7)
		MCT-M	0.40±0.09(7)	0.38±0.04(10)e_1
16	24.67±0.92(6)	O	24.92±0.35(10)	22.36±0.97(4)b_1
		MCT-O	23.79±0.56(10)	21.78±0.48(9)a_1b_1
		M	25.48±0.55(9)	29.29±0.43(7)$a_3b_3c_3$
		MCT-M	26.19±0.66(7)e_1	29.04±0.82(10)$a_2b_1e_3$
18	29.79±1.13(6)	O	24.22±0.87(10)a_2	27.91±1.77(4)
		MCT-O	22.09±0.49(10)a_3c_1	27.48±0.51(9)b_3
		M	26.18±0.65(9)a_1	33.17±1.01(7)$a_1b_3c_1$
		MCT-M	26.46±0.65(7)a_1e_3	32.34±1.07(10)b_3e_3
24	0.48±0.08(6)	O	0.00±0.00(10)a_3	0.94±0.25(4)b_2
		MCT-O	0.52±0.04(10)c_3	0.63±0.10(9)
		M	0.40±0.05(9)c_3	1.10±0.18(7)a_2b_2
		MCT-M	0.55±0.09(7)	1.08±0.13(10)$a_2b_2e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 36. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.00±0.00(6)	O	0.01±0.00(9)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.03±0.00(10)	0.04±0.03(11)
		M	0.02±0.00(9)	0.03±0.03(7)
		MCT-M	0.01±0.00(7)	0.06±0.03(10)
14	0.57±0.07(6)	O	0.38±0.03(9)a_1	0.30±0.06(4)a_1
		MCT-O	0.49±0.05(10)	0.38±0.07(11)
		M	0.45±0.05(9)	0.81±0.47(7)
		MCT-M	0.45±0.06(7)	0.54±0.15(10)
16	23.19±0.59(6)	O	24.59±0.67(9)	23.60±0.34(4)
		MCT-O	24.42±0.41(10)	23.80±0.47(11)
		M	24.41±0.79(9)	24.54±0.53(7)
		MCT-M	26.25±0.82(7)a_1	26.26±0.69(10)a_2e_2
18	26.90±0.73(6)	O	20.11±0.71(9)a_3	23.59±0.52(4)a_2b_2
		MCT-O	20.28±0.57(10)a_3	25.14±0.77(11)b_3
		M	22.75±0.40(9)a_3c_2	26.68±0.83(7)b_3c_1
		MCT-M	23.08±0.29(7)a_3e_3	25.43±0.53(10)b_2
24	0.14±0.04(6)	O	0.00±0.00(9)a_2	0.02±0.03(4)
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_2	0.11±0.08(11)
		M	0.14±0.05(9)c_1	0.21±0.14(7)
		MCT-M	0.20±0.04(7)e_3	0.43±0.08(10)$a_2b_1e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 37. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.08±0.08(6)	O	0.02±0.00(10)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.20±0.10(10)	0.20±0.10(11)
		M	0.09±0.03(9)c_1	0.00±0.00(6)b_1
		MCT-M	0.13±0.05(9)	0.00±0.00(10)b_1
14	0.43±0.10(6)	O	0.24±0.07(10)	0.40±0.16(4)
		MCT-O	0.54±0.13(10)	0.61±0.28(11)
		M	0.86±0.24(9)c_1	1.66±0.88(6)
		MCT-M	1.08±0.20(9)a_1e_1	0.44±0.09(10)b_1
16	20.81±0.31(6)	O	19.50±0.58(10)	17.45±0.55(4)a_3b_1
		MCT-O	20.28±0.58(10)	20.29±0.45(11)c_2
		M	20.61±0.67(9)	22.12±0.79(6)c_2
		MCT-M	20.25±0.67(9)	22.30±0.64(10)b_1e_1
18	28.54±0.28(6)	O	24.61±0.47(10)a_3	29.17±0.73(4)b_3
		MCT-O	23.59±0.59(10)a_3	27.91±0.88(11)b_3
		M	25.78±0.95(9)a_1	27.98±0.83(6)
		MCT-M	25.73±1.02(9)a_1	28.55±0.80(10)b_1
24	0.00±0.00(6)	O	0.00±0.00(10)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.00±0.00(10)	0.10±0.08(11)
		M	0.15±0.09(9)	0.40±0.08(6)$a_3b_1c_2$
		MCT-M	0.40±0.11(9)a_2e_2	0.04±0.04(10)b_2d_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 38. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN EL FOSFATIDILINOSITOL DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	0.08±0.08(6)	O	0.03±0.03(6)	0.52±0.40(4)
		MCT-O	1.46±0.68(9)	0.40±0.26(10)
		M	0.20±0.10(8)	0.00±0.00(7)
		MCT-M	0.00±0.00(5)e_1	0.00±0.00(7)
14	4.25±2.73(6)	O	2.40±1.00(6)	4.41±1.91(4)
		MCT-O	4.28±1.19(9)	1.51±0.57(10)b_1
		M	2.35±0.89(8)	1.21±0.64(7)
		MCT-M	1.80±0.57(5)	2.55±1.36(7)
16	16.65±3.42(6)	O	13.02±2.15(6)	16.78±0.75(4)
		MCT-O	13.66±0.91(9)	8.85±0.50(10)$a_1b_3c_3$
		M	13.01±0.91(8)	13.74±2.52(7)
		MCT-M	18.29±3.58(5)	18.38±2.16(7)e_3
18	46.44±6.23(6)	O	47.28±8.11(6)	24.61±4.64(4)a_1b_1
		MCT-O	38.31±4.02(9)	44.93±0.90(10)c_2
		M	41.46±3.24(8)	45.01±2.34(7)c_2
		MCT-M	32.66±6.66(5)	42.75±1.95(7)
24	0.25±0.25(6)	O	1.24±0.30(6)a_1	0.39±0.39(4)
		MCT-O	1.15±0.35(9)a_1	0.95±0.28(10)
		M	1.15±0.53(8)	0.84±0.46(7)
		MCT-M	0.29±0.18(5)e_1	0.60±0.39(7)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 39. ACIDOS GRASOS SATURADOS EN GLUCOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
12	O	0.23±0.08(7)a_1	0.15±0.15(4)
0.01±0.00(6)	MCT-O	0.57±0.28(10)	0.41±0.12(11)a_2
	M	0.19±0.11(6)	0.67±0.58(7)
	MCT-M	0.33±0.09(9)a_2	0.89±0.36(8)a_1
14	O	2.19±0.26(7)	3.98±1.09(4)
2.89±0.62(6)	MCT-O	2.80±0.46(10)	1.71±0.48(11)
	M	2.81±1.00(6)	5.20±2.27(7)
	MCT-M	4.45±0.98(9)	4.83±0.76(8)e_2
16	O	32.61±1.27(7)	15.59±1.13(4)a_3b_3
32.25±1.62(6)	MCT-O	29.29±1.47(10)	17.07±1.10(11)a_3b_3
	M	25.50±1.89(6)a_1c_2	26.05±1.80(7)a_1c_3
	MCT-M	27.56±1.71(9)	34.27±2.00(8)$b_1d_2e_3$
18	O	16.36±0.38(7)a_3	9.90±3.11(4)a_3
26.84±1.17(6)	MCT-O	15.05±0.77(10)a_3	14.89±0.70(11)a_3
	M	17.29±2.37(6)a_2	13.69±1.22(7)a_3
	MCT-M	17.28±2.16(9)a_2	17.90±0.71(8)$a_3d_1e_2$
24	O	0.68±0.11(7)	0.25±0.09(4)a_2b_1
0.72±0.11(6)	MCT-O	0.79±0.17(10)	0.64±0.14(11)c_1
	M	0.78±0.22(6)	0.53±0.40(7)
	MCT-M	1.10±0.18(9)	0.98±0.27(8)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

alimentados con dietas que contienen aceite de oliva que en los que lo son con dietas que incorporan aceite de maíz, por lo que los niveles alcanzados son inferiores o superiores que los encontrados en los animales al destete respectivamente.

3.3.2.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9

El ácido palmitoleico (16:1w7) aun siendo un ácido graso minoritario presenta una distribución característica de cada fracción, siendo normalmente su porcentaje inferior al 2 % excepto en los glucolípidos (Tabla 44) en los que alcanza valores de hasta un 4 % . En todas las fracciones analizadas, tanto a las tres como a las cinco semanas, los porcentajes son significativamente mayores que los encontrados en el destete, observándose una ligera disminución de las tres a las cinco semanas. Los animales alimentados con las dietas que contienen aceite de oliva presentan unos porcentajes superiores a los de los animales alimentados con dietas con aceite de maíz, siendo entre los animales alimentados con estos dos grupos de dietas los valores más elevados en los que ingieren MCT.

Los porcentajes del ácido oleico (18:1w9) presentes en las distintas fracciones dependen tanto de estas como de la naturaleza de la dieta ingerida. Dentro de las fracciones analizadas, la fosfatidiletanolamina (Tabla 42 y Figura 22) y el fosfatidilinositol (Tabla 43 y Figura 22) son las que contienen un porcentaje inferior de este ácido graso (6 %) así como las fracciones que experimentan un cambio menor por efecto de la dieta y tiempo, excepto en el fosfatidilinositol de los animales alimentados con aceite de oliva que muestra un au-

TABLA 40. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.72±0.12(6)	O	2.41±0.22(10)a_3	1.12±0.21(4)b_2
		MCT-O	2.35±0.23(10)a_3	1.91±0.12(9)a_3c_2
		M	1.10±0.13(9)a_1c_3	0.92±0.04(7)
		MCT-M	1.47±0.08(7)$a_3d_1e_2$	1.35±0.15(10)$a_2d_1e_1$
18:1w9	7.96±0.71(6)	O	17.33±0.41(10)a_3	14.93±1.03(4)a_3b_1
		MCT-O	14.86±0.49(10)a_3c_2	13.85±0.29(9)a_3
		M	5.83±0.32(9)a_1c_3	7.43±0.37(7)b_2c_3
		MCT-M	6.98±0.45(7)d_1e_3	7.33±0.22(10)e_3
20:3w9	0.16±0.03(6)	O	1.80±0.13(10)a_3	1.56±0.23(4)a_3
		MCT-O	1.77±0.18(10)a_3	2.61±0.14(9)$a_3b_2c_2$
		M	0.00±0.00(9)a_3c_3	0.00±0.00(7)a_3c_3
		MCT-M	0.03±0.03(7)a_1e_3	0.00±0.00(10)a_3e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi cancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 41. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w7 Y w9 EN LA FOSFATIDIL-COLINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.80±0.11(6)	O	2.31±0.24(9)a_3	1.43±0.22(4)a_1b_1
		MCT-O	2.66±0.23(10)a_3	2.24±0.20(11)a_3c_1
		M	1.05±0.05(9)c_3	0.82±0.06(7)b_1c_1
		MCT-M	1.55±0.14(7)$a_2d_2e_3$	1.28±0.13(10)$a_1d_2e_3$
18:1w9	8.48±0.75(6)	O	16.48±0.51(9)a_3	16.68±0.83(4)a_3
		MCT-O	15.44±0.53(10)a_3	15.19±0.35(11)a_3
		M	5.41±0.19(9)a_2c_3	5.89±0.48(7)a_1c_3
		MCT-M	6.28±0.38(7)a_1e_3	6.14±0.24(10)a_2e_3
20:3w9	0.21±0.03(6)	O	2.51±0.18(9)a_3	1.87±0.27(4)a_3
		MCT-O	2.27±0.23(10)a_3	2.46±0.17(11)a_3
		M	0.00±0.00(9)a_3c_3	0.00±0.00(7)a_3c_3
		MCT-M	0.13±0.00(7)a_1e_3	0.11±0.05(10)d_1e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 42. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w9 EN LA FOSFATIDIL-ETANOLAMINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.19±0.03(6)	O	0.53±0.04(10)a_3	0.47±0.16(4)
		MCT-O	0.79±0.03(10)a_3c_3	0.63±0.05(11)a_3b_1
		M	0.35±0.04(9)a_1c_1	0.08±0.03(6)$a_1b_3c_1$
		MCT-M	0.40±0.03(9)a_3e_3	0.44±0.04(10)$a_3d_3e_1$
18:1w9	5.19±0.49(6)	O	7.18±0.27(10)a_2	8.28±0.66(4)a_2
		MCT-O	6.85±0.35(10)a_1	6.93±0.30(11)a_3
		M	4.28±0.46(9)c_3	5.93±1.05(6)
		MCT-M	4.78±0.41(9)e_2	3.73±0.33(10)a_1e_3
20:3w9	0.12±0.04(6)	O	1.59±0.14(10)a_3	0.72±0.03(4)a_3b_3
		MCT-O	1.29±0.14(10)a_3	1.40±0.08(11)a_3c_3
		M	0.00±0.00(9)a_1c_3	0.00±0.00(6)a_1c_3
		MCT-M	0.03±0.03(9)e_3	0.04±0.03(10)e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 43. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w 7 Y w 9 EN EL FOSFATIDIL-INOSITOL DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	0.33±0.33(6)	O	0.46±0.19(6)	0.18±0.12(4)
		MCT-O	0.72±0.09(9)	0.17±0.04(10)b_3
		M	0.72±0.19(8)	0.12±0.12(7)b_1
		MCT-M	0.90±0.34(5)	1.32±0.49(7)d_1e_1
18:1w9	5.18±1.11(6)	O	5.88±1.78(6)	17.81±3.63(4)a_1b_1
		MCT-O	6.43±0.89(9)	5.21±0.48(10)c_2
		M	5.85±0.79(8)	5.51±2.02(7)c_1
		MCT-M	5.25±0.87(5)	9.48±1.93(7)e_1
20:3w9	0.47±0.22(6)	O	4.08±0.99(6)a_2	1.69±0.96(4)
		MCT-O	3.62±0.37(9)a_3	6.04±0.37(10)$a_3b_3c_2$
		M	0.00±0.00(8)c_2	0.00±0.00(7)
		MCT-M	0.00±0.00(5)e_3	0.00±0.00(7)e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 44. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LAS SERIES w7 Y w9 EN LOS GLUCOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
16:1w7	1.32±0.23(6)	O	$3.93 \pm 0.20(7)a_3$	$3.98 \pm 0.74(4)a_2$
		MCT-O	$4.81 \pm 0.25(10)a_3c_1$	$4.02 \pm 0.23(11)a_3b_1$
		M	$2.96 \pm 0.29(6)a_2c_1$	$2.23 \pm 0.29(7)a_1c_1$
		MCT-M	$3.89 \pm 0.28(9)a_3d_1e_1$	$3.05 \pm 0.33(8)a_3e_1$
18:1w9	17.81±1.37(6)	O	$33.24 \pm 1.14(7)a_3$	$48.04 \pm 0.91(4)a_3b_3$
		MCT-O	$31.37 \pm 1.57(10)a_3$	$47.31 \pm 1.67(11)a_3b_3$
		M	$17.80 \pm 1.38(6)c_3$	$24.38 \pm 1.21(7)a_2b_2c_3$
		MCT-M	$21.21 \pm 1.70(9)e_3$	$19.94 \pm 1.47(8)d_1e_3$
20:3w9	0.00±0.00(6)	O	$0.00 \pm 0.00(7)$	$0.45 \pm 0.23(4)$
		MCT-O	$0.38 \pm 0.14(10)a_1c_1$	$0.00 \pm 0.00(11)b_1$
		M	$0.00 \pm 0.00(6)$	$0.00 \pm 0.00(7)$
		MCT-M	$0.05 \pm 0.05(9)e_1$	$0.00 \pm 0.00(8)$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

mento significativo en el nivel de oleico a las cinco semanas.

En general se observa que los porcentajes de ácido oleico en las fracciones lipídicas analizadas de los animales que han sido alimentados con dietas con aceite de oliva no presentan grandes diferencias entre ellos, pero sí con respecto a los animales al destete o los alimentados con dietas con aceite de maíz que presentan unos porcentajes muy inferiores y por término medio similares entre sí.

En las fracciones analizadas no hay variaciones significativas de los porcentajes entre tres y cinco semanas (Figura 16), salvo en los glucolípidos (Tabla 44) de los animales alimentados con dietas con aceite de oliva que aumentan significativamente los niveles de ácido oleico.

El 20:3w9 está prácticamente ausente en los glucolípidos mientras que en las otras fracciones participa en unos porcentajes que dependen de la dieta ingerida. Los animales alimentados con dietas con aceite de oliva presentan unos niveles significativamente mayores que los animales alimentados con dietas con aceite de maíz o los animales al destete. Estos niveles en los lotes alimentados con dietas con aceite de oliva son inferiores al 2 % salvo en el fosfatidilinositol (Tabla 43) en los que oscilan alrededor del 5 %.

3.3.3.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6

Las fracciones lipídicas analizadas muestran unos niveles de ácido linoleico que son característicos de cada una de ellas.

La fosfatidiletanolamina (Tabla 47 y Figura 23) y el fosfatidilinositol (Tabla 48 y Figura 23) son las fracciones que presentan los porcentajes más pequeños, inferiores al 6 % , así como las que experimentan cambios menos aparentes tanto por efecto de la dieta como por el tiempo de alimentación. Los glucolípidos (Tabla 49 y Figura 23) son los que presentan los niveles más elevados de ácido linoleico, sobre todo en los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz.

En todas las fracciones analizadas (Figuras 16 y 23) se observa como los niveles de linoleico en los animales alimentados con dietas con aceite de oliva permanecen prácticamente constantes en el tiempo y similares entre sí, pero significativamente menores que los de los animales al destete y los de los de los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz. Estos últimos animales tienen unos porcentajes significativamente mayores que los de los animales al destete, independientemente de que muestren una tendencia a la disminución de las tres a las cinco semanas.

El 18:3w6 y 20:2w6 presentan en todas las fracciones analizadas unos porcentajes inferiores al 1 % y experimentan muy pocos cambios.

El 20:3w6 (Figuras 17 y 24) se encuentra en unos porcentajes alrededor del 2 % en todas las fracciones analizadas siendo normalmente este porcentaje significativamente mayor que el que se encuentra en los animales al destete. Los animales que han sido alimentados con dietas que contienen aceite de oliva presentan unos porcentajes mayores que los de los animales alimentados con dietas con aceite de maíz, siendo los porcentajes entre los animales alimentados con estos grupos de dietas significativamente más elevados en los animales que

han ingerido MCT.

El ácido araquidónico presenta unos porcentajes característicos en cada fracción.En los glucolípidos (Tabla 49 y Figura 25) constituye un ácido graso insaturado minoritario (2 %) que experimenta una disminución en el tiempo con respecto al valor encontrado en los animales al destete, excepto en los animales alimentados con aceite de oliva en los que se produce un aumento a las cinco semanas. De las otras fracciones, la fosfatidiletanolamina (Tabla 47 y Figura 25), si cabe, es la que presenta el porcentaje más elevado y el comportamiento más acentuado; los animales alimentados con dietas con aceite de oliva muestran unos porcentajes constantes en el tiempo y significativamente superiores tanto frente a los que presentan los animales al destete como los alimentados con dietas con aceite de maíz. En los fosfolípidos (Tabla 45 y Figura 28), fosfatidilcolina (Tabla 46 y Figura 25), fosfatidiletanolamina (Tabla 47 y Figura 25) y fosfatidilinositol(Tabla 48 y Figura 25) se observa que los animales alimentados con dietas con aceite de maíz presentan a las tres semanas unos porcentajes de araquidónico superiores tanto frente al de los animales al destete como al de los alimentados con dietas con aceite de oliva, excepto en la fracción de fosfatidiletanolamina ya comentada. En los animales alimentados con dietas con aceite de oliva los porcentajes de ácido araquidónico son inferiores, salvo en la fosfatidiletanolamina, a los de los animales en el destete. La tendencia que presentan ambos grupos de animales a la modificación de su porcentaje de araquidónico con el tiempo de alimentación es opuesta, los alimentados con dietas con aceite de maíz experimentan una disminución, mientras que los alimentados con dietas con aceite de oliva

experimentan un aumento de tres a cinco semanas. La disminución es más patente en los lotes alimentados con dietas con aceite de maíz, por lo que sus porcentajes en ácido araquidónico suelen ser más bajos que los animales al destete a las cinco semanas de instaurada la dieta.

Los ácidos grasos 22:4w6 y 22:5w6 tienen un comportamiento paralelo, siendo de estos dos ácidos grasos el 22:5w6 el que presenta unos porcentajes mayores, normalmente el doble. De las fracciones analizadas,la fosfatidiletanolamina (Tabla 47) es en donde se localizan preferentemente estos dos ácidos grasos, ya que sus niveles, aunque muy dependientes de la dieta, son los más elevados.

En general, los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva muestran unos porcentajes que tienden a disminuir de las tres a las cinco semanas y que son, independientemente del tiempo, significativamente menores que los de los animales al destete y los alimentados con dietas que contienen aceite de maíz; estos últimos animales presentan unos porcentajes que no varían con el tiempo de alimentación y son significativamente superiores tanto frente a los de los animales al destete como frente a los de los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva. En los grupos alimentados con aceite de maíz, los animales que ingieren MCT presentan unos porcentajes más bajos que los animales que ingieren exclusivamente aceite de maíz.

El índice w 6 > 18 (Tablas 55-59 y Figuras 19 y 27) engloba todos estos cambios y pone de manifiesto que los animales alimentados con dietas con aceite de oliva, expresan pocas diferencias entre sí,así como entre los valores observados en los animales al destete, excepto en

TABLA 45. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	9.10±0.49(6)	O	6.97±0.39(10)a_2	6.80±0.41(4)a_2
		MCT-O	7.83±0.23(10)a_1	8.18±0.21(9)c_1
		M	12.72±0.52(9)a_3c_3	9.90±0.33(7)b_3c_3
		MCT-M	11.83±0.39(7)a_2e_3	10.67±0.47(10)a_1e_3
18:3w6	0.28±0.07(6)	O	0.34±0.04(10)	0.28±0.10(4)
		MCT-O	0.39±0.05(10)	0.32±0.03(9)
		M	0.47±0.04(9)a_1	0.33±0.10(7)
		MCT-M	0.38±0.08(7)	0.23±0.03(10)
20:2w6	0.40±0.06(6)	O	0.12±0.04(10)a_2	0.12±0.07(4)a_1
		MCT-O	0.25±0.03(10)a_1c_1	0.24±0.04(9)
		M	0.66±0.04(9)a_2c_3	0.53±0.08(7)c_2
		MCT-M	0.37±0.03(7)d_3e_1	0.51±0.04(10)b_1e_3
20:3w6	0.87±0.09(6)	O	1.77±0.09(10)a_3	1.68±0.14(4)a_2
		MCT-O	2.46±0.12(10)a_3c_3	2.38±0.11(9)a_3c_2
		M	0.80±0.04(9)c_3	0.76±0.07(7)c_3
		MCT-M	1.77±0.15(7)$a_3d_3e_2$	1.31±0.14(10)$a_1b_1d_2e_3$
20:4w6	17.02±1.07(6)	O	15.65±0.46(10)	17.16±1.48(4)
		MCT-O	15.92±0.67(10)	15.77±0.42(9)
		M	19.00±0.81(9)c_2	10.75±0.61(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	17.24±0.78(7)	11.26±0.85(10)$a_3b_3e_3$
22:4w6	0.96±0.08(6)	O	0.32±0.03(10)a_3	0.64±0.13(4)b_1
		MCT-O	0.70±0.05(10)a_1c_3	0.51±0.07(9)a_2
		M	1.69±0.18(9)a_2c_3	1.32±0.13(7)a_1c_2
		MCT-M	1.18±0.12(7)d_1e_2	0.97±0.12(10)e_2
22:5w6	2.07±0.17(6)	O	0.96±0.08(10)a_3	1.12±0.19(4)a_2
		MCT-O	2.07±0.13(10)c_3	1.50±0.13(9)a_1b_2
		M	3.25±0.37(9)a_1c_3	2.45±0.24(7)c_2
		MCT-M	3.16±0.53(7)	1.84±0.24(10)b_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 46. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 6 EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS,ALIMENTADAS DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	11.06±0.62(6)	O	7.95±0.47(9)a_1	8.51±0.42(4)a_2
		MCT-O	9.57±0.36(10)c_1	9.12±0.63(11)a_1
		M	14.13±0.65(9)a_2c_3	12.11±0.34(7)b_1c_3
		MCT-M	13.95±0.53(7)a_2e_3	13.35±0.63(10)a_1e_3
18:3w6	0.42±0.05(6)	O	0.54±0.05(9)	0.19±0.06(4)a_1b_2
		MCT-O	0.50±0.04(10)	0.35±0.03(11)b_1c_1
		M	0.62±0.04(9)a_1	0.40±0.08(7)b_1
		MCT-M	0.54±0.08(7)	0.33±0.03(10)b_1
20:2w6	0.50±0.10(6)	O	0.36±0.03(9)	0.22±0.12(4)
		MCT-O	0.41±0.03(10)	0.31±0.13(11)
		M	0.75±0.07(9)c_3	0.77±0.10(7)c_2
		MCT-M	0.45±0.04(7)d_2	0.44±0.04(10)d_1
20:3w6	0.90±0.09(6)	O	2.52±0.08(9)a_3	1.80±0.10(4)a_3b_3
		MCT-O	2.90±0.13(10)a_3c_1	2.42±0.22(11)a_3c_1
		M	0.99±0.06(9)c_3	1.02±0.11(7)c_3
		MCT-M	2.06±0.06(7)$a_3d_3e_3$	1.79±0.24(10)a_2d_1
20:4w6	18.80±0.89(6)	O	16.58±1.00(9)	18.22±1.00(4)
		MCT-O	14.81±0.83(10)a_2	14.55±1.06(11)a_2c_1
		M	22.33±0.58(9)a_2c_3	19.30±1.07(7)b_1
		MCT-M	20.03±0.58(7)d_1e_3	17.87±0.75(10)b_1e_1
22:4w6	0.70±0.03(6)	O	0.46±0.04(9)a_3	0.19±0.07(4)a_3b_2
		MCT-O	0.52±0.05(10)a_1	0.22±0.05(11)a_3b_2
		M	1.28±0.14(9)a_2c_3	1.48±0.12(7)a_3c_3
		MCT-M	0.80±0.17(7)d_1	1.02±0.11(10)$a_1d_1e_3$
22:5w6	2.11±0.13(6)	O	1.78±0.10(9)	1.06±0.07(4)a_3b_3
		MCT-O	1.90±0.10(10)	1.37±0.08(11)$a_3b_3c_1$
		M	3.28±0.38(9)a_1c_2	3.87±0.13(7)a_3c_3
		MCT-M	2.36±0.48(7)	2.94±0.38(10)$a_1d_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi<u>c</u>ancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 47. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	5.19±0.19(6)	O	3.38±0.19(10)a_3	5.03±0.35(4)b_2
		MCT-O	3.90±0.13(10)a_3c_1	4.14±0.36(11)a_1
		M	6.40±0.24(9)a_2c_3	5.85±0.17(6)a_1
		MCT-M	6.14±0.31(9)a_1e_3	6.51±0.42(10)a_1e_3
18:3w6	0.07±0.06(6)	O	0.25±0.03(10)a_1	0.05±0.05(4)b_2
		MCT-O	0.28±0.04(10)a_1	0.13±0.06(11)
		M	0.36±0.08(9)a_1	0.17±0.05(6)
		MCT-M	0.36±0.11(9)a_1	0.05±0.03(10)b_1
20:2w6	0.34±0.04(6)	O	0.07±0.00(10)a_3	0.00±0.00(4)a_3
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.00±0.00(11)a_3
		M	0.71±0.10(9)a_2c_3	0.44±0.09(6)c_2
		MCT-M	0.43±0.06(9)d_1e_3	0.40±0.07(10)e_3
20:3w6	0.65±0.05(6)	O	1.45±0.07(10)a_3	0.95±0.10(4)a_1b_2
		MCT-O	1.63±0.06(10)a_3	1.23±0.12(11)a_3b_2
		M	0.95±0.13(9)c_2	0.66±0.11(6)
		MCT-M	1.82±0.16(9)a_3d_3	1.34±0.18(10)a_2d_2
20:4w6	22.17±0.36(6)	O	27.74±0.45(10)a_3	27.84±0.70(4)a_3
		MCT-O	27.62±0.73(10)a_3	26.41±0.70(11)a_3
		M	22.69±1.05(9)c_3	19.08±1.52(6)c_3
		MCT-M	24.68±1.05(9)a_1e_1	23.29±1.04(10)d_1e_1
22:4w6	1.94±0.09(6)	O	0.99±0.08(10)a_3	0.65±0.05(4)a_3b_2
		MCT-O	0.91±0.10(10)a_3	0.65±0.05(11)a_3b_1
		M	3.80±0.33(9)a_3c_3	3.55±0.20(6)a_3c_3
		MCT-M	2.63±0.27(9)$a_1d_1e_3$	2.74±0.31(10)$a_1d_1e_3$
22:5w6	4.35±0.54(6)	O	3.96±0.18(10)	2.11±0.25(4)a_2b_3
		MCT-O	3.61±0.21(10)	2.80±0.17(11)$a_1b_2c_1$
		M	7.85±0.71(9)a_2c_3	8.99±0.44(6)a_3c_3
		MCT-M	6.29±0.48(9)a_1e_3	6.48±0.80(10)$a_1d_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signi ficancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 48. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w6 EN EL FOSFATIDILINOSITOL DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	3.51±0.67(6)	O	1.40±0.40(6)a_1	4.98±1.33(4)b_1
		MCT-O	2.05±0.34(9)	1.08±0.12(10)$a_2b_1c_1$
		M	3.14±0.43(8)c_1	2.68±0.13(7)
		MCT-M	5.43±1.06(5)e_1	2.48±0.14(7)b_1e_3
20:2w6	0.00±0.00(6)	O	0.16±0.11(6)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.00±0.00(9)	0.20±0.05(10)$a_2b_2c_2$
		M	0.10±0.07(8)	0.02±0.00(7)
		MCT-M	0.00±0.00(5)	0.00±0.00(7)e_2
20:3w6	0.81±0.19(6)	O	2.59±0.37(6)a_2	1.80±0.29(4)a_1
		MCT-O	2.98±0.43(9)a_3	2.22±0.15(10)a_3
		M	1.47±0.32(8)c_1	0.92±0.14(7)c_1
		MCT-M	0.97±0.28(5)e_2	1.46±0.29(7)e_1
20:4w6	17.55±2.74(6)	O	14.42±2.74(6)	21.34±3.43(4)
		MCT-O	17.49±1.78(9)	24.24±1.15(10)a_1b_2
		M	23.79±2.51(8)c_1	24.81±3.79(7)
		MCT-M	23.32±2.42(5)	16.57±2.72(7)e_1
22:4w6	0.71±0.10(6)	O	0.00±0.00(6)a_3	0.23±0.23(4)
		MCT-O	0.00±0.00(9)a_3	0.71±0.12(10)b_3
		M	1.36±0.22(8)a_1c_3	1.51±0.35(7)a_1c_1
		MCT-M	1.03±0.34(5)e_1	0.51±0.27(7)d_1
22:5w6	1.67+0.16(6)	O	2.52±0.44(6)	2.56±0.68(4)
		MCT-O	2.45±0.36(9)	2.07±0.09(10)
		M	3.19±0.18(8)a_3	3.10±0.30(7)a_2
		MCT-M	4.98±1.29(5)a_1	2.00±0.44(7)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 49. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 6 EN LOS GLUCOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:2w6	9.11±0.91(6)	O	5.39±0.36(7)a_2	9.53±0.51(4)b_3
		MCT-O	6.61±0.47(10)a_1	9.32±0.76(11)b_2
		M	22.48±1.80(6)a_3c_3	19.69±1.77(7)a_3c_3
		MCT-M	14.85±1.28(9)$a_2d_2e_3$	12.78±0.70(8)$a_2d_2e_2$
18:3w6	0.94±0.10(6)	O	0.00±0.00(7)a_3	0.31±0.03(4)a_3b_3
		MCT-O	0.42±0.06(10)a_3c_3	0.40±0.05(11)a_3
		M	1.18±0.24(6)c_3	1.36±0.19(7)c_3
		MCT-M	0.26±0.18(9)a_2d_2	0.08±0.08(8)$a_3d_3e_2$
20:2w6	0.00±0.00(6)	O	0.00±0.00(7)	0.25±0.25(4)
		MCT-O	1.56±0.33(10)a_3c_3	0.00±0.00(11)b_3
		M	1.65±0.46(6)a_2c_2	0.60±0.30(7)
		MCT-M	0.34±0.23(9)d_1e_2	0.40±0.40(8)
20:3w6	1.09±0.13(6)	O	1.71±0.16(7)a_1	1.34±0.20(4)
		MCT-O	1.62±0.18(10)a_1	1.63±0.17(11)a_1
		M	2.04±0.44(6)	1.43±0.18(7)
		MCT-M	3.13±0.56(9)a_2e_1	1.63±0.26(8)b_1
20:4w6	2.30±0.64(6)	O	1.22±0.14(7)	4.19±0.91(4)b_1
		MCT-O	1.47±0.16(10)	0.54±0.10(11)$a_1b_3c_2$
		M	1.75±0.34(6)	1.08±0.23(7)c_2
		MCT-M	1.78±0.23(9)	0.10±0.10(8)$a_2b_3d_2e_2$
22:4w6	0.80±0.15(6)	O	0.00±0.00(7)a_3	0.07±0.07(4)a_2
		MCT-O	0.00±0.00(10)a_3	0.13±0.09(11)a_2
		M	0.00±0.00(6)a_3	1.19±0.27(7)b_2c_2
		MCT-M	0.00±0.00(9)a_3	0.16±0.11(8)a_2d_2
22:5w6	1.39±0.20(6)	O	1.14±0.23(7)	1.19±0.29(4)
		MCT-O	1.16±0.12(10)	0.86±0.18(11)
		M	1.55±0.15(6)	0.82±0.18(7)b_2
		MCT-M	1.86±0.33(9)	1.54±0.45(8)

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

la fosfatidiletanolamina, que es la fracción en la que este índice está más elevado y es,así mismo,superior en todos los lotes de animales frente al de los animales al destete. Los animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz presentan unos porcentajes a las tres semanas superiores al de los animales al destete, pero muestran una tendencia a la disminución a las cinco semanas que se traduce en que algunas fracciones presenten niveles inferiores,tanto frente al destete como frente a los animales alimentados con dietas que contienen aceite de oliva,como es el caso de los fosfolípidos (Tabla 55 y Figura 19).

3.3.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3

El ácido α-linolénico (18:3w3), precursor de la serie, así como el 20:5w3 se encuentran en todas las fracciones lipídicas analizadas en unos porcentajes normalmente inferiores al 0.5 % y experimentan unos cambios mínimos.

Los ácidos grasos 22:5w3 y 22:6w3,por el contrario, participan con unos porcentajes más elevados, sobre todo el 22:6w3 cuyos valores duplican los encontrados para el 22:5w3. Los porcentajes encontrados en las fracciones analizadas dependen tanto de estas como de la naturaleza de la dieta ingerida. La fosfatidiletanolamina (Tabla 52 y Figura 26) es la fracción en donde los porcentajes encontrados son los más elevados, mientras que los glucolípidos (Tabla 54) es la fracción con unos porcentajes más bajos, no habiéndose detectado en ellos 22:6w3. En todas las fracciones analizada hay una tendencia a la disminución tanto a las tres como a las cinco

TABLA 50. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MICROSOSMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.12±0.06(6)	O	0.61±0.08(10)a_3	0.47±0.09(4)a_1
		MCT-O	0.52±0.10(10)a_2	0.32±0.03(9)a_1
		M	0.23±0.05(9)c_3	0.22±0.09(7)
		MCt-M	0.30±0.09(7)	0.27±0.03(10)a_1
20:5w3	0.09±0.06(6)	O	1.05±0.09(10)a_3	0.10±0.10(4)b_3
		MCT-O	0.39±0.03(10)a_3c_3	0.00±0.00(7)b_3
		M	0.00±0.00(9)c_3	0.00±0.00(7)
		MCT-M	0.01±0.00(7)e_3	0.04±0.04(10)
22:5w3	1.15±0.12(6)	O	0.35±0.04(10)a_3	0.34±0.06(4)a_3
		MCT-O	0.51±0.05(10)a_3c_1	0.33±0.04(7)a_3b_1
		M	0.53±0.05(9)a_3c_1	0.11±0.07(7)$a_3b_3c_1$
		MCT-M	0.44±0.03(7)a_3	0.39±0.05(10)a_3d_2
22:6w3	3.31±0.45(6)	O	0.86±0.08(10)a_3	1.84±0.26(4)a_1b_2
		MCT-O	2.63±0.18(10)c_3	1.96±0.09(7)a_1b_2
		M	1.37±0.08(9)a_3c_3	0.73±0.09(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	1.21±0.09(7)a_3e_3	0.93±0.05(10)$a_3b_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi cancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 51. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 3 EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.39±0.03(6)	O	0.46±0.05(9)	0.39±0.05(4)
		MCT-O	0.42±0.05(10)	0.26±0.05(11)a_1b_1
		M	0.36±0.03(9)	0.34±0.012(7)
		MCT-M	0.29±0.05(7)	0.06±0.05(10)$a_3b_2d_1e_2$
20:5w3	0.29±0.03(6)	O	0.45±0.03(9)a_2	0.24±0.13(4)
		MCT-O	0.64±0.07(10)a_3c_1	0.24±0.06(11)b_3
		M	0.38±0.03(9)	0.16±0.11(7)
		MCT-M	0.32±0.07(7)e_2	0.50±0.08(10)$a_1d_1e_1$
22:5w3	1.14±0.09(6)	O	0.53±0.03(9)a_3	0.19±0.07(4)a_3b_2
		MCT-O	0.44±0.06(10)a_3	0.23±0.03(11)a_3b_2
		M	0.51±0.05(9)a_3	0.53±0.03(7)a_3c_2
		MCT-M	0.31±0.06(7)a_3d_1	0.47±0.07(10)a_3e_2
22:6w3	3.39±0.20(6)	O	1.97±0.08(9)a_3	1.49±0.09(4)a_3b_2
		MCT-O	2.30±0.11(10)a_3c_1	1.58±0.10(11)a_3b_3
		M	1.13±0.09(9)a_3c_3	1.04±0.11(7)a_3c_1
		MCT-M	0.94±0.13(7)a_3e_3	0.92±0.11(10)a_3e_3

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 52. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 3 EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.17+0.08(6)	O	0.38+0.05(10)a_1	0.34+0.00(4)
		MCT-O	0.45+0.08(10)a_1	0.20+0.04(11)b_1c_1
		M	0.38+0.14(9)	0.00+0.00(6)b_1
		MCT-M	0.44+0.09(9)a_1	0.00+0.00(10)b_3e_3
20:5w3	0.24+0.00(6)	O	0.68+0.08(10)a_3	0.49+0.26(4)
		MCT-O	0.68+0.04(10)a_3	0.44+0.08(11)a_1b_1
		M	0.25+0.08(9)c_2	0.19+0.10(6)
		MCT-M	0.50+0.08(9)a_2d_1	0.30+0.09(10)
22:5w3	2.56+0.11(6)	O	1.66+0.08(10)a_3	0.79+0.10(4)a_3b_3
		MCT-O	1.11+0.11(10)a_3c_3	0.81+0.05(11)a_3b_1
		M	1.51+0.19(9)a_3	0.94+0.07(6)a_3b_1
		MCT-M	1.07+0.10(9)a_3	1.17+0.08(10)$a_3d_1e_2$
22:6w3	6.94+0.38(6)	O	5.74+0.32(10)a_1	5.23+0.22(4)a_2
		MCT-O	6.26+0.23(10)	5.10+0.17(11)a_3b_3
		M	2.99+0.14(9)a_3c_3	1.94+0.14(6)$a_3b_3c_3$
		MCT-M	2.85+0.20(9)a_3e_3	2.18+0.20(10)$a_3b_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes + S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 53. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w3 EN EL FOSFATIDILINOSITOL DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
18:3w3	0.00±0.00(6)	O	0.81±0.40(6)	0.00±0.00(4)
		MCT-O	2.02±0.68(9)a_1	0.00±0.00(10)b_2
		M	0.00±0.00(8)	0.00±0.00(7)
		MCT-M	0.00±0.00(5)e_1	0.00±0.00(7)
20:5w3	0.00±0.00(6)	O	0.30±0.14(6)a_1	0.00±0.00(4)
		MCT-O	0.00±0.00(9)c_1	0.00±0.00(10)
		M	0.00±0.00(8)c_1	0.01±0.00(7)
		MCT-M	0.00±0.00(5)	0.00±0.00(7)
22:5w3	1.45±0.12(6)	O	2.28±0.65(6)	0.14±0.14(4)a_3b_1
		MCT-O	1.68±0.19(9)	0.47±0.07(10)a_3b_3
		M	1.69±0.22(8)	0.53±0.31(7)a_1b_2
		MCT-M	3.92±1.39(5)	1.92±0.54(7)d_1e_1
22:6w3	0.63±0.10(6)	O	1.12±0.34(6)	2.55±1.41(4)
		MCT-O	1.68±0.19(9)a_3	0.95±0.08(10)a_1b_2
		M	0.52±0.30(8)	0.00±0.00(7)a_3
		MCT-M	1.17±0.50(5)	0.00±0.00(7)$a_3b_1e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significacnia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 54. ACIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA SERIE w 3 EN LOS GLUCOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
		O	$0.00\pm0.00(7)a_1$	$0.81\pm0.04(4)b_3$
18:3w3	$0.74\pm0.24(6)$	MCT-O	$0.64\pm0.19(10)c_2$	$0.58\pm0.11(11)$
		M	$0.26\pm0.26(6)$	$0.82\pm0.26(7)$
		MCT-M	$0.11\pm0.11(9)a_1e_1$	$0.00\pm0.00(8)a_1d_2e_3$
		O	$1.30\pm0.18(7)$	$0.00\pm0.00(4)a_3b_3$
22:5w3	$1.54\pm0.15(6)$	MCT-O	$1.20\pm0.11(10)$	$0.48\pm0.11(11)a_3b_3c_3$
		M	$1.78\pm0.21(6)$	$0.26\pm0.26(7)a_2b_3$
		MCT-M	$1.81\pm0.30(9)$	$1.48\pm0.40(8)d_1e_1$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

semanas, con lo que los porcentajes de 22:5w3 y 22:6w3 son inferiores en todos los lotes de animales frente a los encontrados en los animales al destete. Entre los distintos lotes se observan unos niveles mayores en los lotes alimentados con dietas que contienen aceite de oliva que en aquellos alimentados con dietas con aceite de maíz.

Todos estos cambios quedan reflejados en conjunto en el índice w 3 > 18 (Tabla 55-59 y Figuras 19 y 27) en los que se manifiestan de forma semejante los cambios que se producen entre los distintos lotes de animales y entre estos y el destete.

La relación Rw >18 se recoge en las Tablas 55-59; se observa que no existen diferencias significativas entre los distintos lotes de animales, si bien esta relación es mayor en los animales al destete que en los que han recibido alguna dieta experimental; en estos se observa una tendencia a la disminución de las tres a las cinco semanas, así como que los valores más altos corresponden a los lotes alimentados con dietas con aceite de oliva.

TABLA 55. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS FOSFOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

Destete		Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	21.60±1.23(6)	O	19.16±0.46(10)	21.02±1.53(4)
		MCT-O	21.78±0.77(10)c_2	20.72±0.46(9)
		M	25.87±1.06(9)a_1c_3	16.14±0.80(7)$a_2b_3c_1$
		MCT-M	24.09±0.47(7)e_1	16.13±1.12(10)$a_2b_3e_2$
w3>18	4.56±0.55(6)	O	2.26±0.13(10)a_2	2.28±0.32(4)a_2
		MCT-O	3.54±0.23(10)c_3	2.29±0.12(9)a_2b_3
		M	1.90±0.12(9)a_3c_1	0.84±0.16(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	1.66±0.11(7)a_3e_3	1.36±0.13(10)$a_3d_1e_3$
Rw>18	0.20±0.00(6)	O	0.11±0.00(10)	0.10±0.00(4)
		MCT-O	0.16±0.00(10)	0.11±0.00(9)
		M	0.07±0.00(9)	0.05±0.00(7)
		MCT-M	0.06±0.00(7)	0.08±0.00(10)
LINO	0.54±0.04(6)	O	0.45±0.03(10)	0.40±0.04(4)
		MCT-O	0.50±0.03(10)	0.52±0.03(9)
		M	0.67±0.03(9)a_1c_3	0.93±0.05(7)$a_3b_2c_3$
		MCT-M	0.69±0.04(7)a_1e_2	0.98±0.07(10)$a_3b_2e_3$
SAT	55.78±1.62(6)	O	49.42±0.86(10)a_2	51.80±2.40(4)
		MCT-O	47.34±0.47(10)a_3c_1	50.11±0.40(9)a_2b_3
		M	52.35±1.07(9)c_1	64.56±1.05(7)$a_3b_3c_3$
		MCT-M	53.63±0.81(7)e_3	62.88±1.54(10)$a_2b_3e_3$
UNID	140.37±7.69(6)	O	128.36±2.27(10)	132.00±8.69(4)
		MCT-O	145.95±3.24(10)c_3	135.55±2.40(9)b_1
		M	148.05±4.94(9)c_2	98.59±4.12(7)$a_3b_3c_2$
		MCT-M	139.26±2.32(7)	102.37±5.51(10)$a_2b_3e_3$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 56. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FOSFATIDILCOLINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	23.43±0.72(6)	O	22.24±0.91(9)	21.69±1.04(4)
		MCT-O	21.05±0.81(10)a_1	19.22±0.84(11)a_2
		M	29.25±0.83(9)a_3c_3	26.83±0.93(7)a_1c_2
		MCT-M	26.25±0.98(7)$a_1d_1e_3$	24.45±0.81(10)e_3
w3>18	4.82±0.26(6)	O	2.95±0.10(9)a_3	1.91±0.23(4)a_3b_2
		MCT-O	3.39±0.18(10)a_3c_1	2.04±0.14(11)a_3b_3
		M	2.03±0.13(9)a_3c_3	1.74±0.11(7)a_3
		MCT-M	1.57±0.24(7)a_3e_3	1.89±0.22(10)a_3
Rw>18	0.20±0.00(6)	O	0.13±0.00(9)	0.08±0.00(4)
		MCT-O	0.16±0.00(10)	0.10±0.00(11)
		M	0.06±0.00(9)	0.06±0.00(7)
		MCT-M	0.06±0.00(7)	0.07±0.00(10)
SAT	50.80±0.34(6)	O	45.10±0.58(9)a_3	47.51±0.79(4)a_2b_1
		MCT-O	45.22±0.55(10)a_3	49.46±0.60(11)b_3
		M	47.76±0.86(9)a_2c_1	52.26±0.60(7)b_3c_3
		MCT-M	49.99±0.69(7)e_3	52.72±0.83(10)$a_1b_1e_2$
UNID	154.24±2.25(6)	O	147.29±2.48(9)	138.35±3.89(4)a_2
		MCT-O	146.38±2.45(10)a_1	130.46±2.46(11)a_3b_3
		M	164.26±3.50(9)a_1c_2	149.92±2.70(7)b_2c_1
		MCT-M	149.60±4.69(7)d_1	142.79±3.50(10)a_1e_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi_ cancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 57. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LA FOSFATIDILETANOLAMINA DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	29.52±0.49(6)	O	34.47±0.44(10)a_3	31.61±0.49(4)$a_1 b_2$
		MCT-O	34.05±0.93(10)a_3	31.24±0.61(11)$a_1 b_1$
		M	36.35±1.24(9)a_3	32.90±1.76(6)
		MCT-M	36.21±0.77(9)a_3	34.29±0.95(10)$a_3 e_1$
w3>18	9.74±0.44(6)	O	8.09±0.34(10)a_2	6.51±0.41(4)$a_3 b_1$
		MCT-O	8.04±0.22(10)a_2	6.35±0.18(11)$a_3 b_3$
		M	4.75±0.31(9)$a_3 c_3$	3.07±0.27(6)$a_3 b_2 c_3$
		MCT-M	4.42±0.30(9)$a_3 e_3$	3.65±0.21(10)$a_3 b_1 e_3$
Rw>18	0.32±0.00(6)	O	0.23±0.00(10)	0.20±0.00(4)
		MCT-O	0.23±0.00(10)	0.20±0.00(11)
		M	0.13±0.00(9)	0.09±0.00(6)
		MCT-M	0.12±0.00(9)	0.10±0.00(10)
SAT	49.87±0.50(6)	O	44.38±0.61(10)a_3	47.03±0.81(4)$a_1 b_1$
		MCT-O	44.62±1.02(10)a_3	49.12±0.67(11)b_2
		M	47.50±1.54(9)	52.17±1.33(6)$b_1 c_1$
		MCT-M	47.59±0.95(9)$a_1 e_1$	51.33±1.11(10)b_1
UNID	193.37±4.05(6)	O	206.57±2.85(10)a_1	187.33±3.78(4)b_2
		MCT-O	205.05±4.45(10)	183.89±2.81(11)b_3
		M	195.84±6.62(9)	173.86±7.81(6).$a_1 b_1$
		MCT-M	191.88±4.32(9)e_1	179.22±4.50(10)a_1

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 58. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN EL FOSFATIDILINOSITOL DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

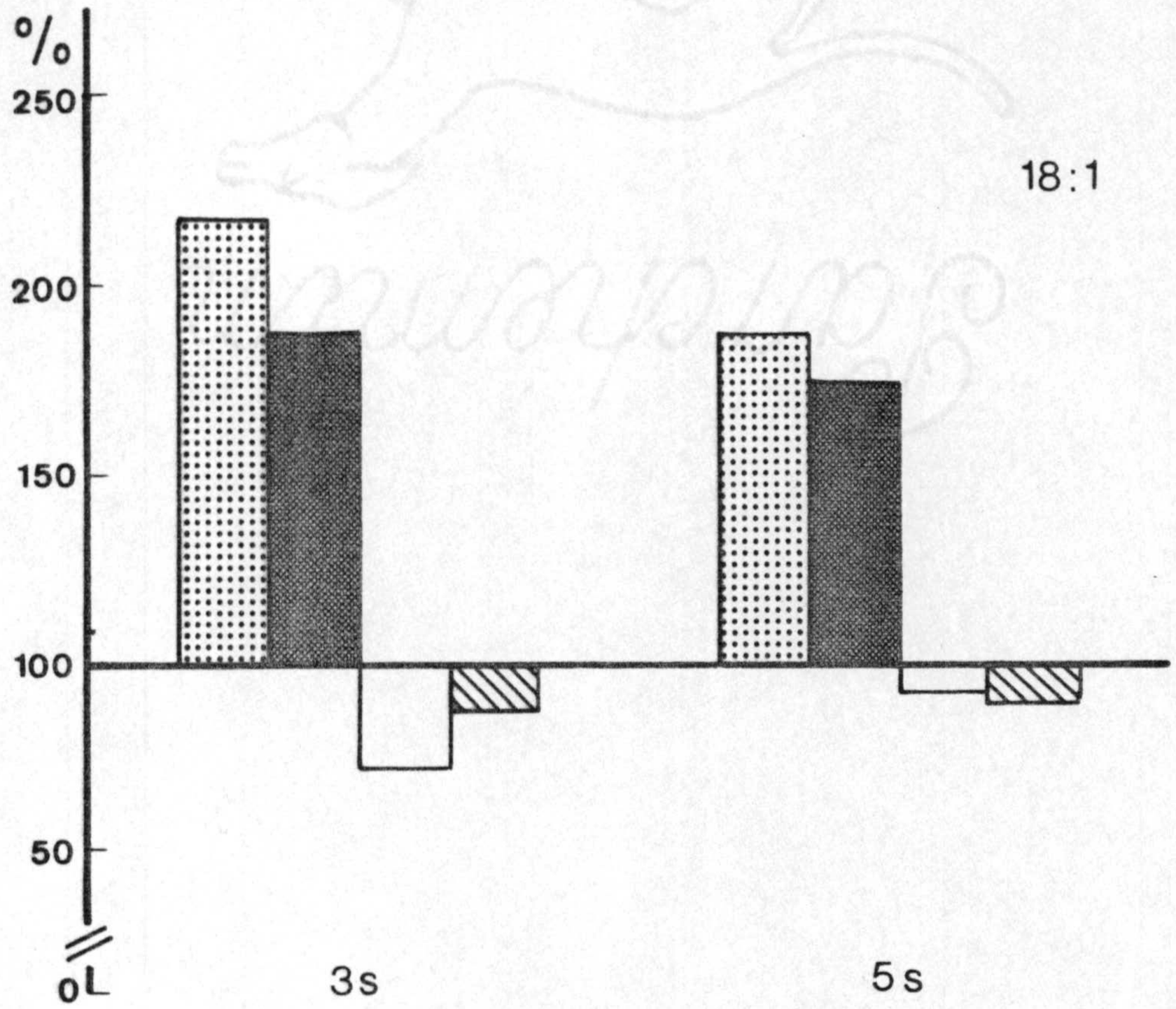
	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	20.74±2.89(6)	O	19.70±3.37(6)	25.93±3.78(4)
		MCT-O	22.92±1.83(9)	29.43±1.04(10)a_1b_2
		M	29.91±2.66(8)a_1c_1	30.35±3.89(7)
		MCT-M	30.31±2.26(5)a_1e_1	20.54±3.11(7)b_1e_1
w3>18	2.09±0.15(6)	O	3.69±0.64(6)a_1	2.69±1.35(4)
		MCT-O	3.36±0.35(9)a_2	1.42±0.12(10)a_2b_3
		M	2.22±0.32(8)	0.54±0.31(7)a_2b_2
		MCT-M	5.08±1.75(5)	1.92±0.54(7)d_1
Rw>18	0.10±0.00(6)	O	0.18±0.00(6)	0.09±0.03(4)b_1
		MCT-O	0.14±0.00(9)	0.04±0.00(10)
		M	0.07±0.00(8)	0.02±0.00(7)
		MCT-M	0.17±0.06(5)	0.13±0.07(7)
SAT	67.67±3.04(6)	O	63.97±6.20(6)	46.71±4.11(4)a_2b_1
		MCT-O	58.87±2.53(9)a_1	56.64±0.98(10)a_2c_1
		M	58.16±2.88(8)a_1	60.81±1.94(7)c_1
		MCT-M	53.04±3.48(5)a_1	64.27±1.83(7)b_1e_2
UNID	108.86±11.88(6)	O	121.80±20.89(6)	153.53±20.41(4)
		MCT-O	137.81±8.92(9)	150.89±4.63(10)a_2
		M	145.63±11.82(8)a_1	137.22±13.28(7)
		MCT-M	168.81±14.69(5)a_1	108.03±9.93(7)b_2e_2

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de signifi cancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 59. INDICES BIOQUIMICOS DE LOS ACIDOS GRASOS EN LOS GLUCOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS,DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE,CON DIFERENTES DIETAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
w6>18	6.51±0.82(6)	O	4.07±0.47(7)a_1	7.34±1.05(4)b_1
		MCT-O	6.21±0.52(10)c_2	3.56±0.31(11)$a_2b_3c_2$
		M	8.16±0.77(6)c_3	6.48±0.86(7)
		MCT-M	7.36±0.81(9)	3.89±0.60(8)$a_1b_2d_1$
w3>18	1.79±0.29(6)	O	1.30±0.18(7)	0.00±0.00(4)a_3b_3
		MCT-O	1.47±0.16(10)	0.48±0.11(11)$a_3b_3c_3$
		M	1.78±0.21(6)	0.26±0.26(7)a_2b_3
		MCT-M	1.81±0.30(9)	1.48±0.40(8)d_1e_1
Rw>18	0.27±0.03(6)	O	0.32±0.03(7)	0.00±0.00(4)a_3b_3
		MCT-O	0.23±0.03(10)	0.12±0.03(11)$a_2b_1c_2$
		M	0.21±0.00(6)c_2	0.06±0.05(7)a_2c_1
		MCT-M	0.25±0.05(9)	0.46±0.17(8)d_1
SAT	62.71±2.23(6)	O	52.07±1.49(7)a_2	29.85±2.27(4)a_3b_3
		MCT-O	48.50±1.67(10)a_3	34.72±1.77(11)a_3b_3
		M	46.57±3.81(6)a_2	46.14±2.29(7)a_3c_3
		MCT-M	50.72±2.72(9)a_2	58.86±2.04(8)$b_1d_2e_3$
UNID	74.20±5.26(6)	O	70.17±3.33(7)	103.27±6.10(4)a_2b_2
		MCT-O	80.86±2.59(10)c_1	87.19±2.77(11)a_1c_1
		M	103.06±6.86(6)a_2c_2	92.50±4.59(7)a_1
		MCT-M	91.57±4.61(9)a_1	70.59±3.30(8)$b_2d_2e_2$

Los resultados se expresan como la media de los porcentajes ± S.E.M.;entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.



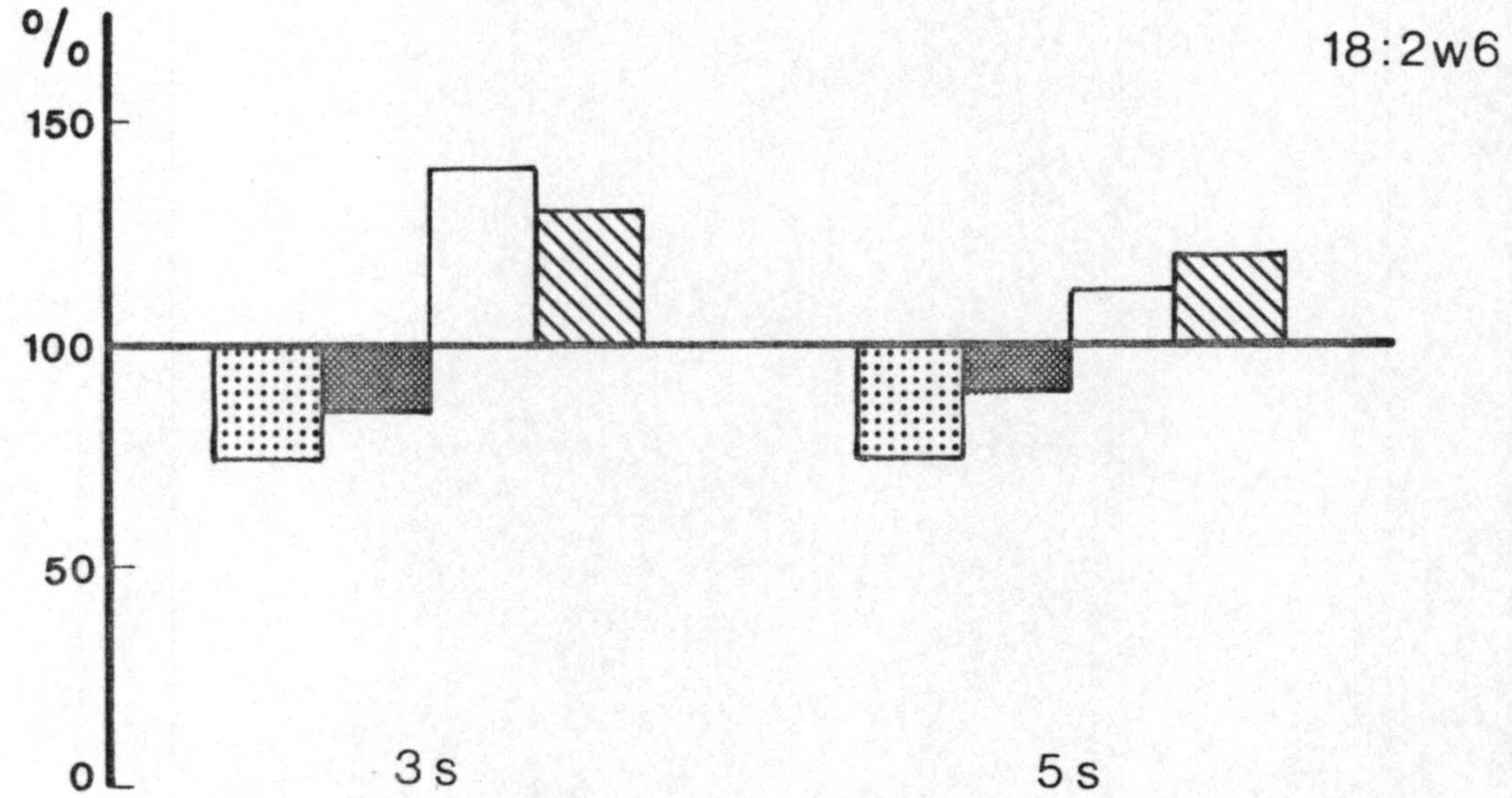


FIGURA 16. ACIDOS OLEICO Y LINOLEICO DE FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

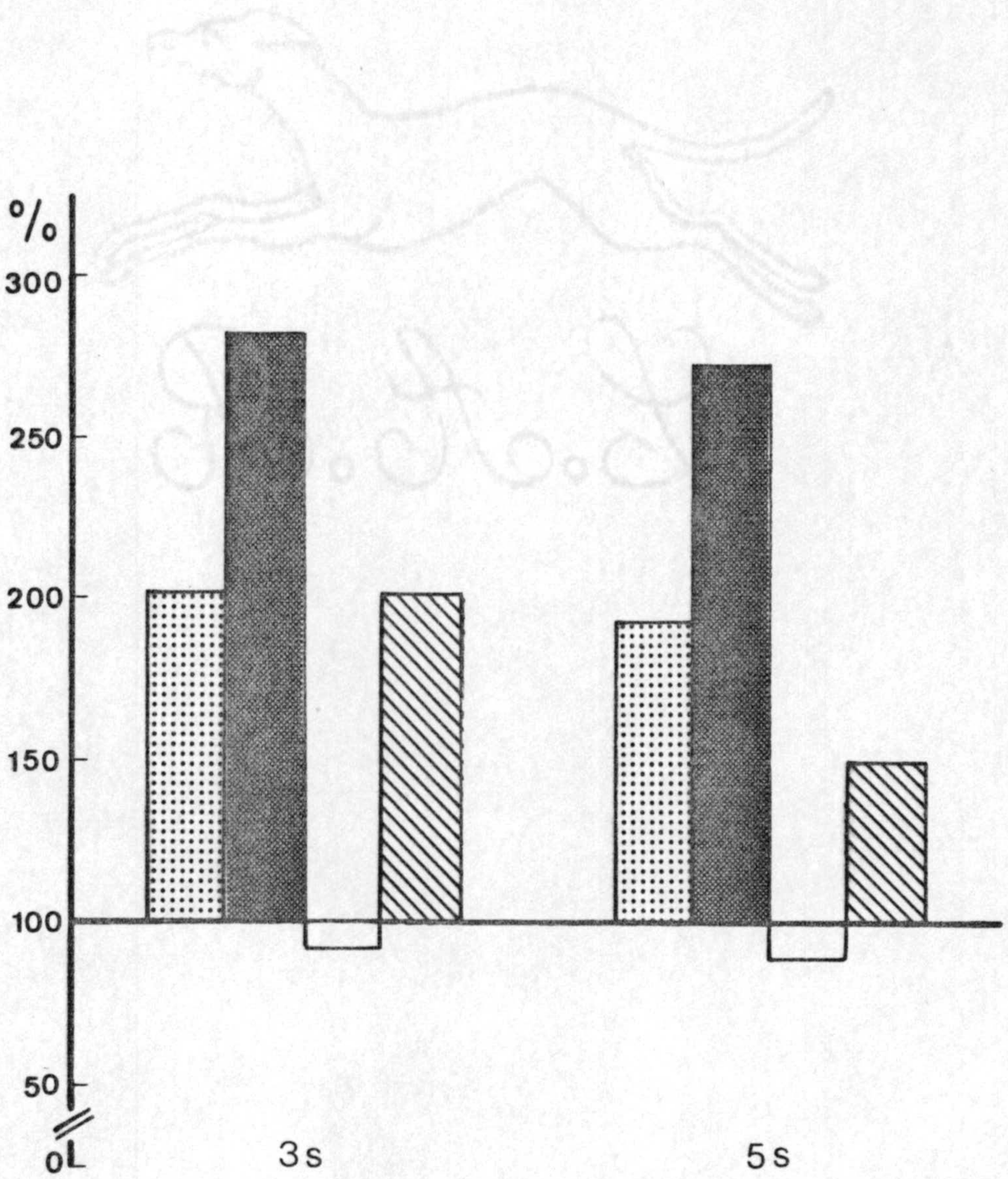
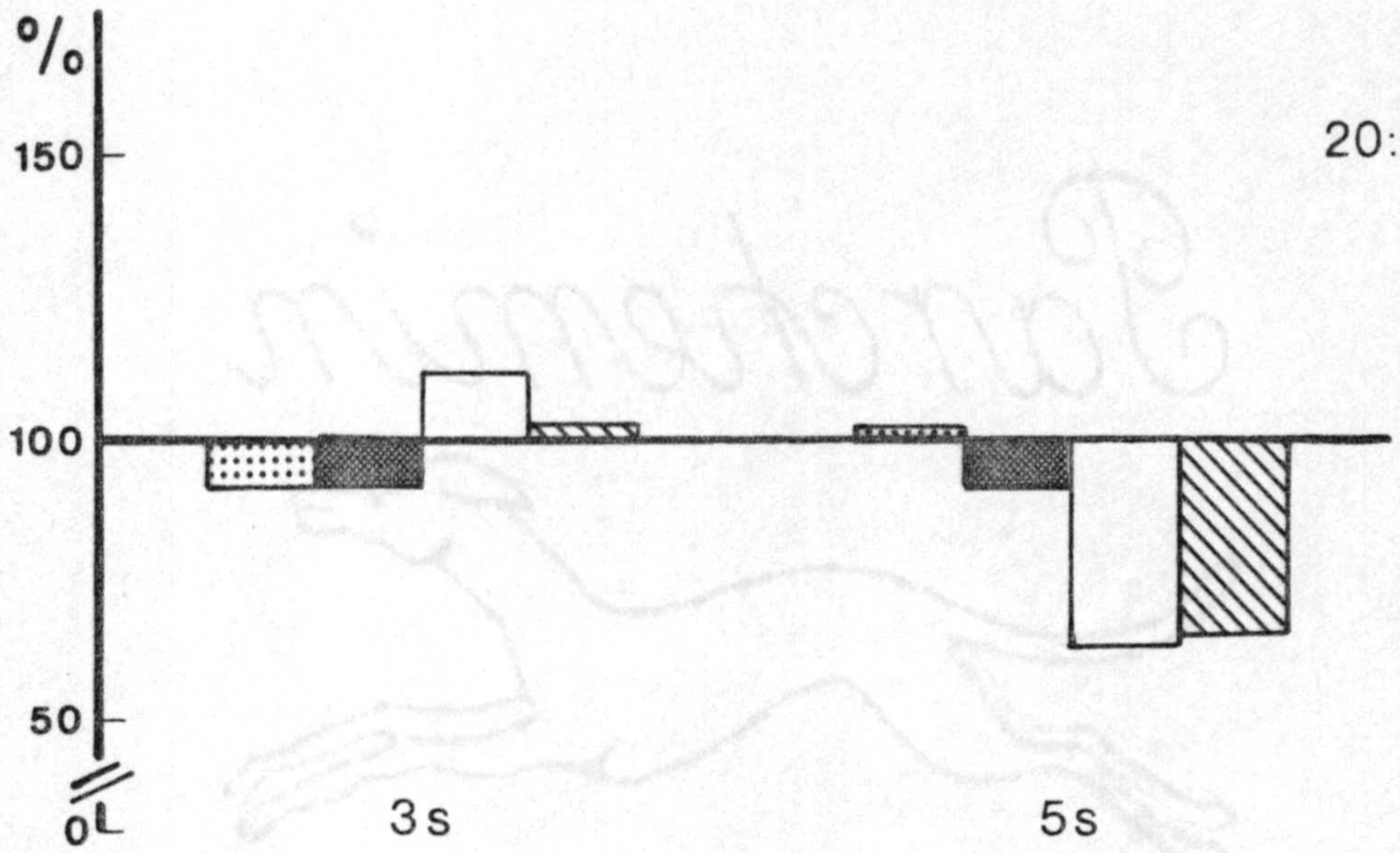


FIGURA 17. ACIDO DIHOMO -γ- LINOLENICO DE FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.



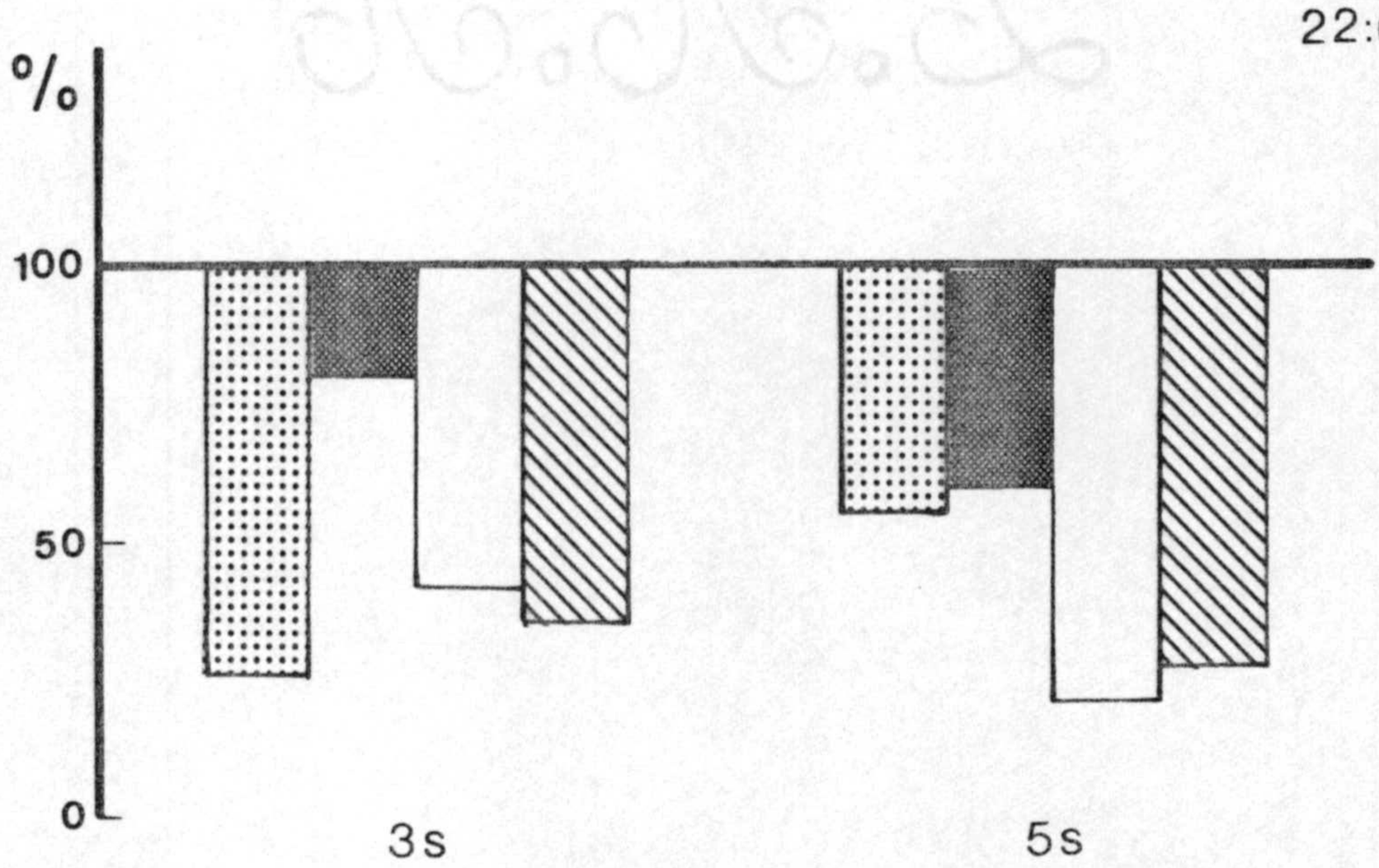


FIGURA 18. ACIDOS ARAQUIDONICO Y DOCOSAHEXENOICO DE FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

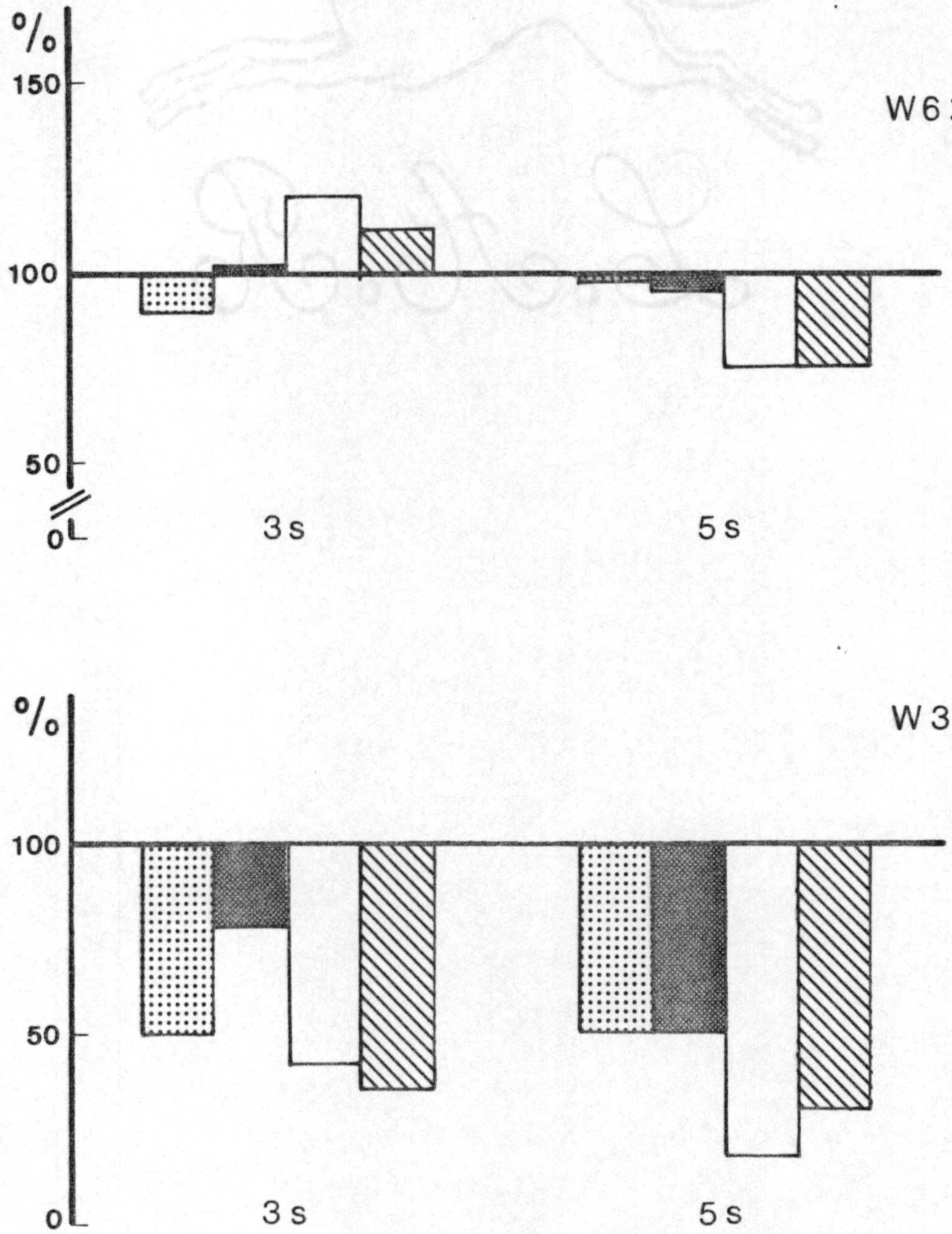
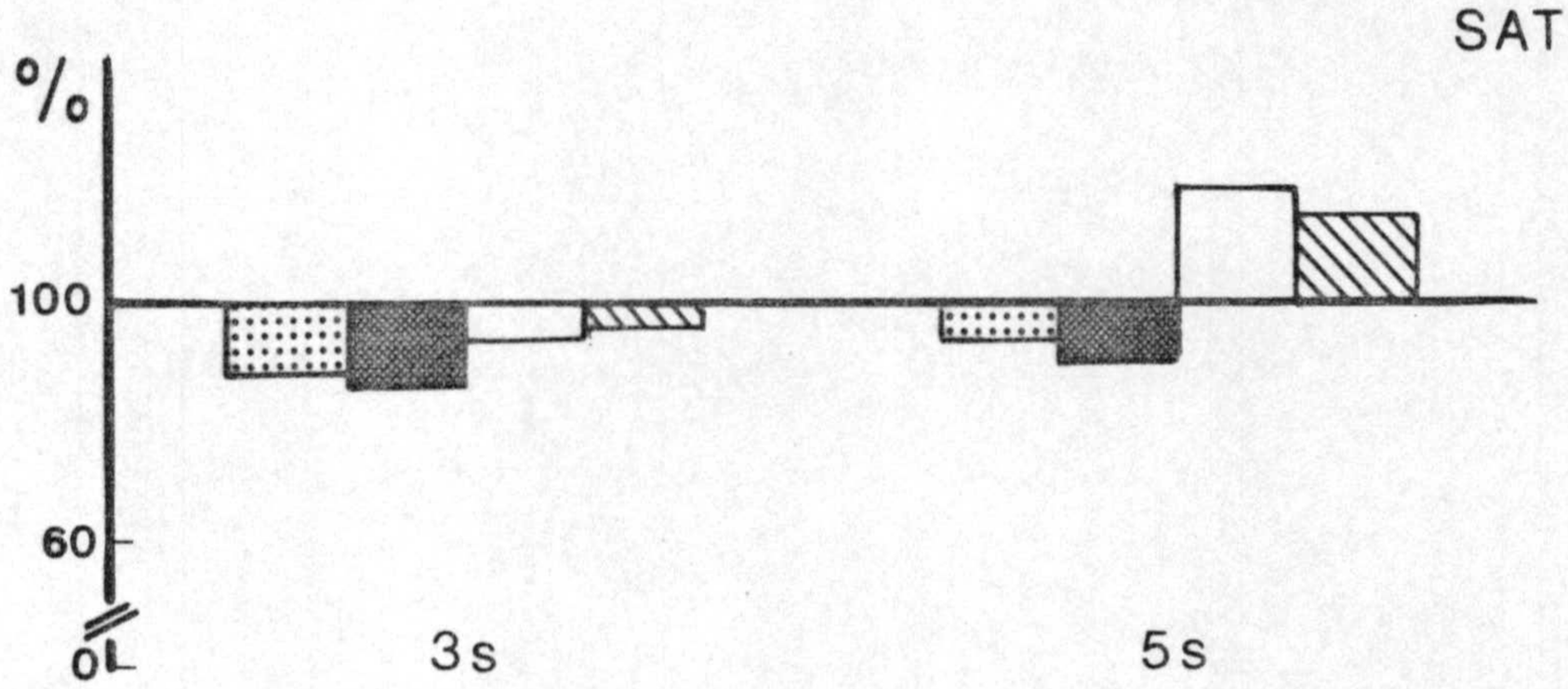


FIGURA 19. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LAS SERIES w6 Y w3 CON MAS DE DIECIOCHO ATOMOS DE CARBONO DE FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⣿ ACEITE DE OLIVA; ▒ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.



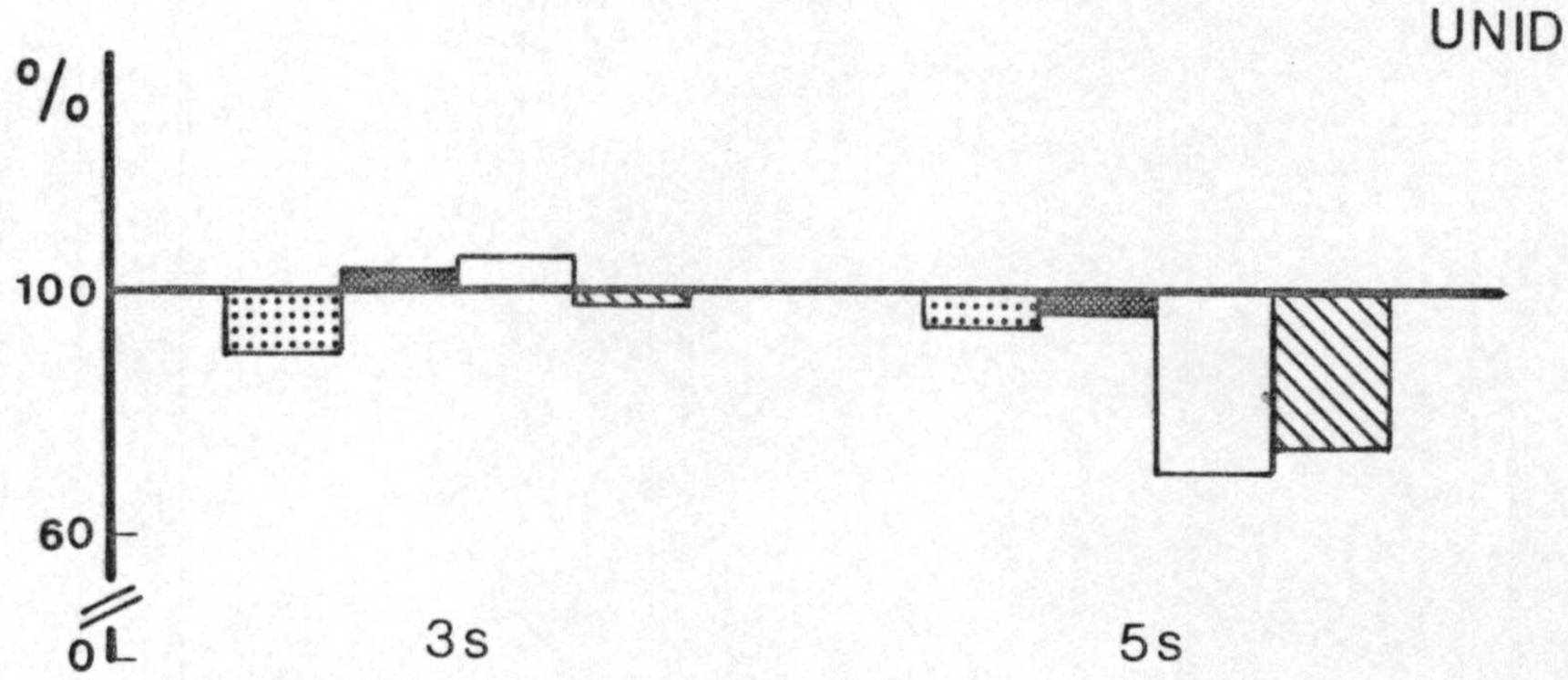


FIGURA 20. ACIDOS GRASOS SATURADOS E INDICE DE INSATURACION DE FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▧ ACEITE DE MAIZ-MCT.

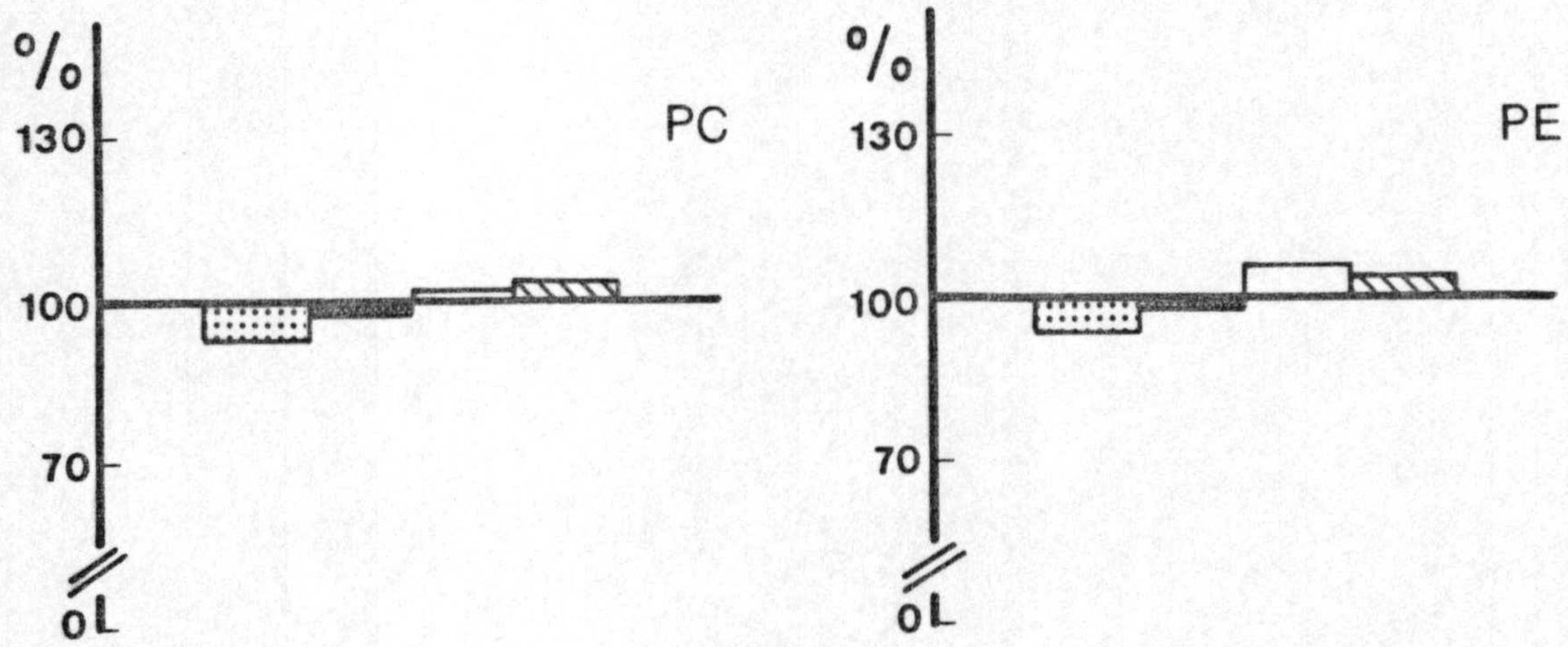


FIGURA 21. ACIDOS GRASOS SATURADOS DE FRACCIONES LIPIDICAS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE.
⊡ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ;
▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

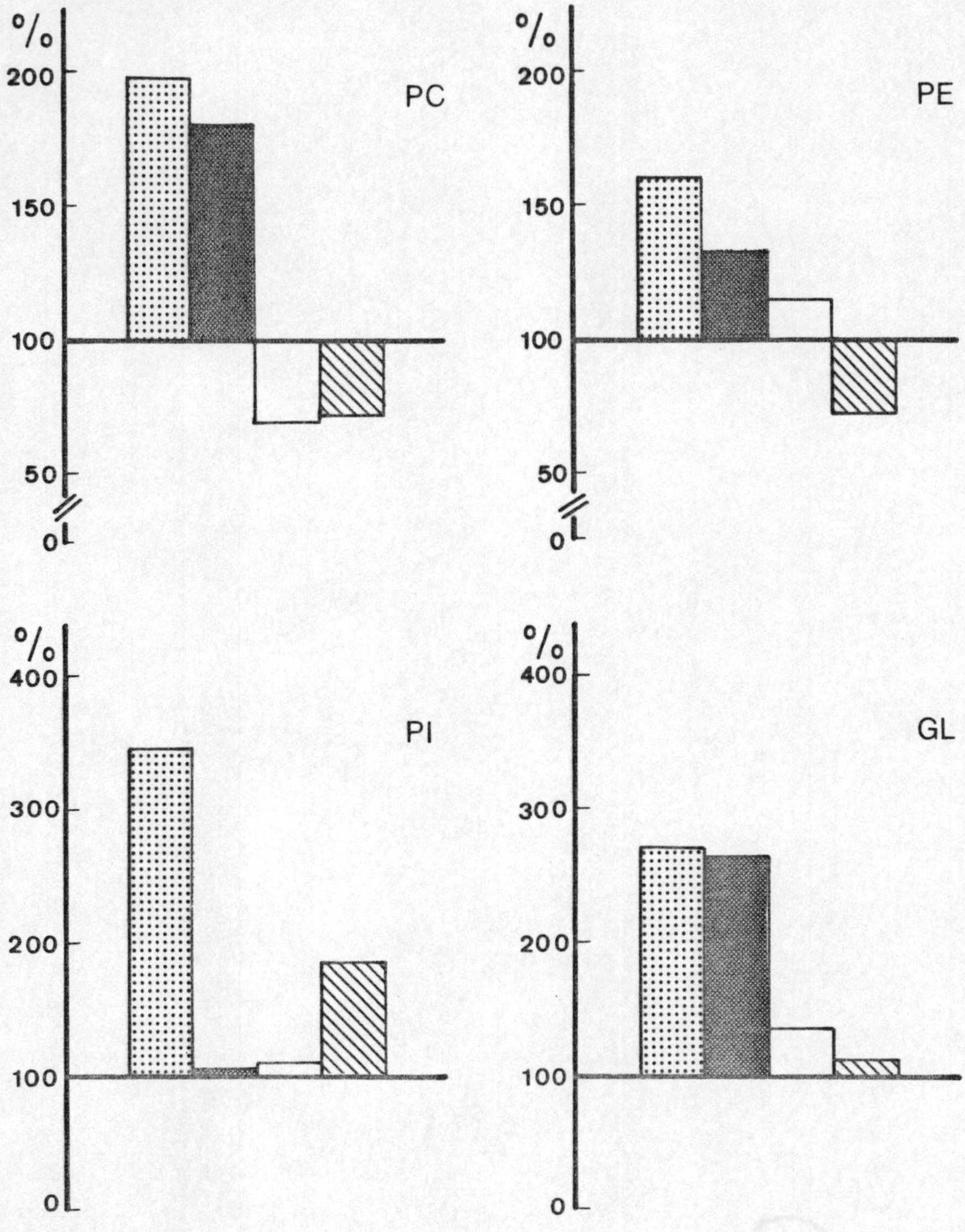


FIGURA 22. ACIDO OLEICO EN FRACCIONES LIPIDICAS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ▦ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▧ ACEITE DE MAIZ-MCT.

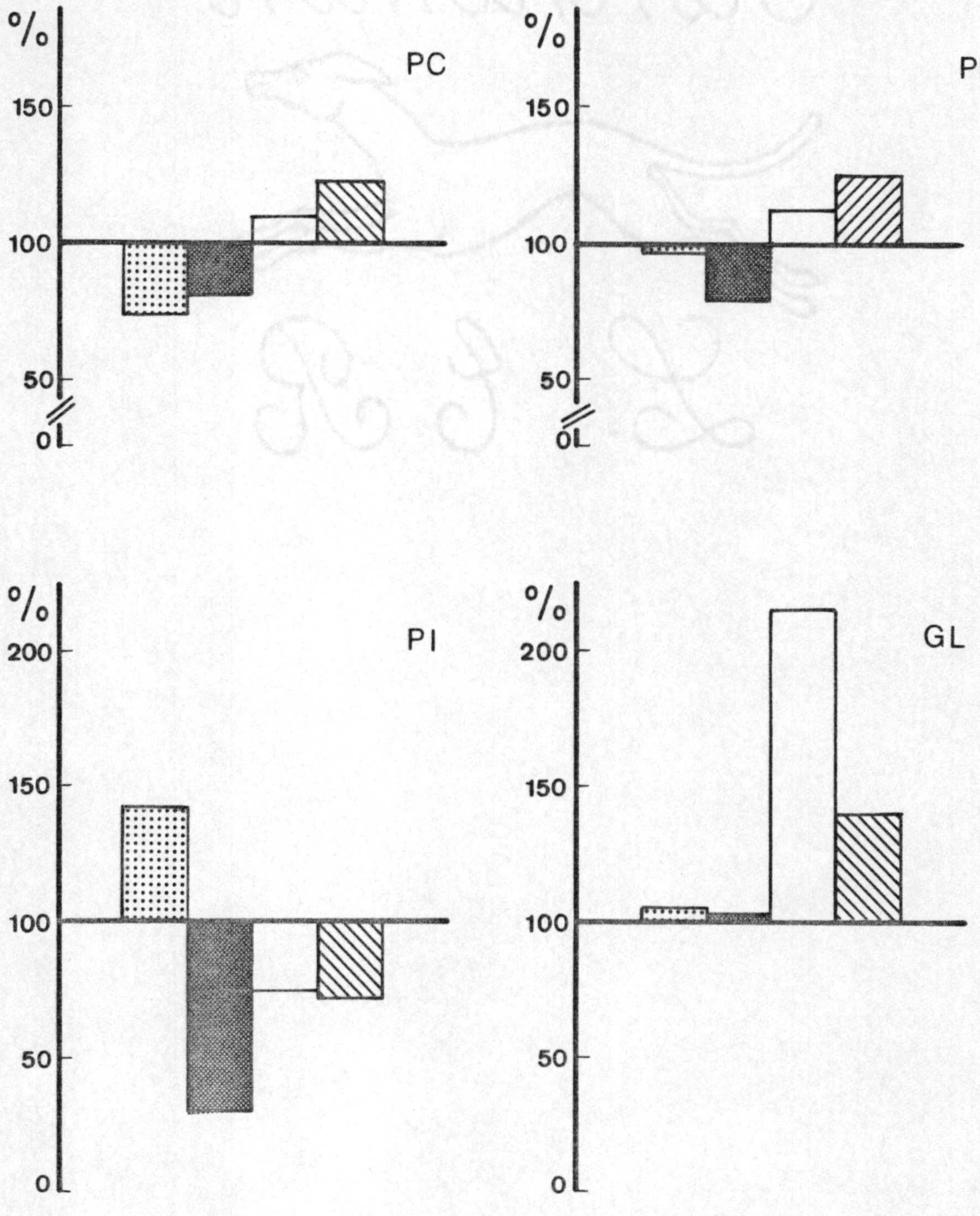


FIGURA 23. ACIDO LINOLEICO EN FRACCIONES LIPIDICAS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

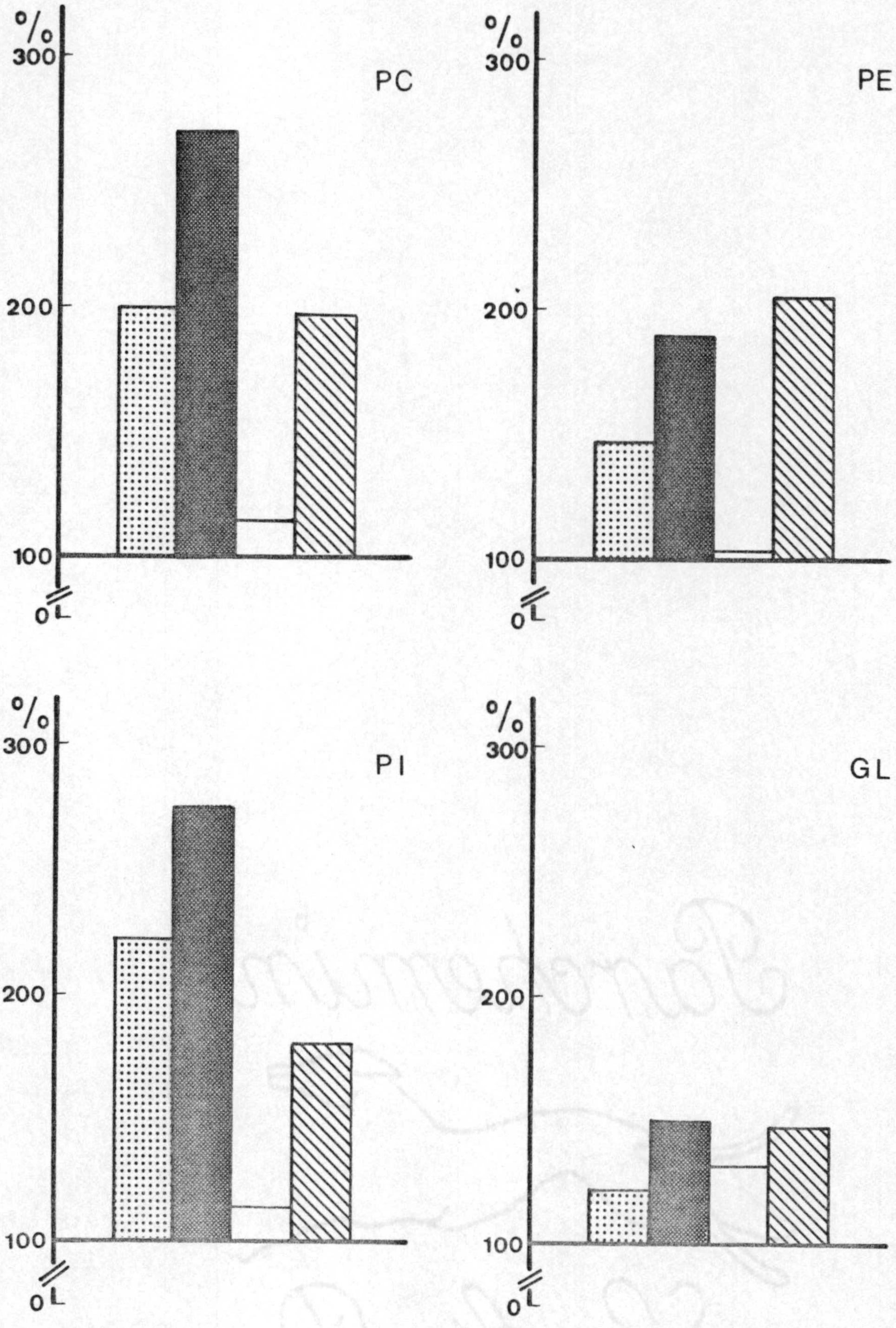


FIGURA 24. ACIDO DIHOMO-γ-LINOLENICO EN FRACCIONES LIPIDICAS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ▦ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

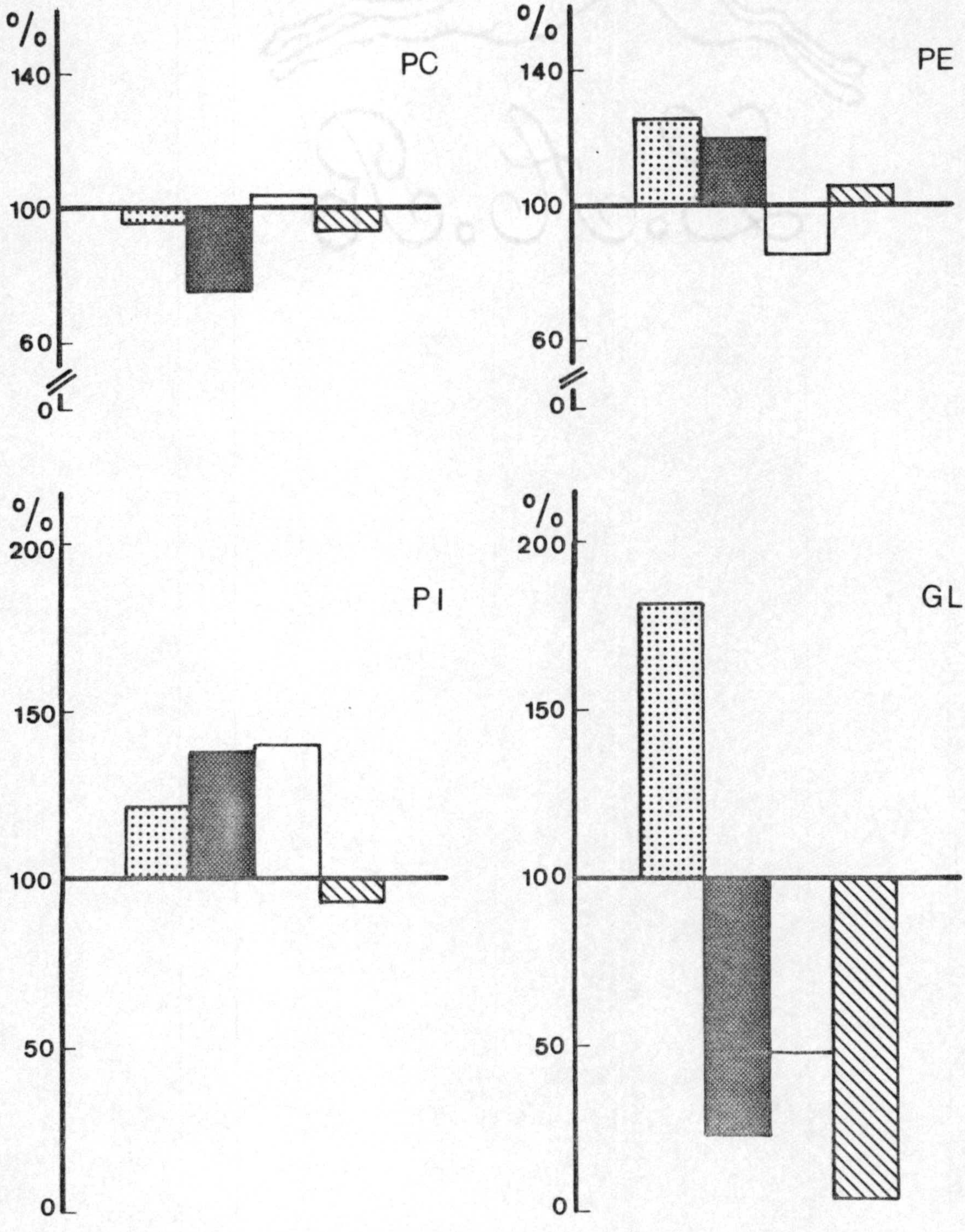


FIGURA 25. ACIDO ARAQUIDONICO EN FRACCIONES LIPIDICAS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⣿ ACEITE DE OLIVA; ▓ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

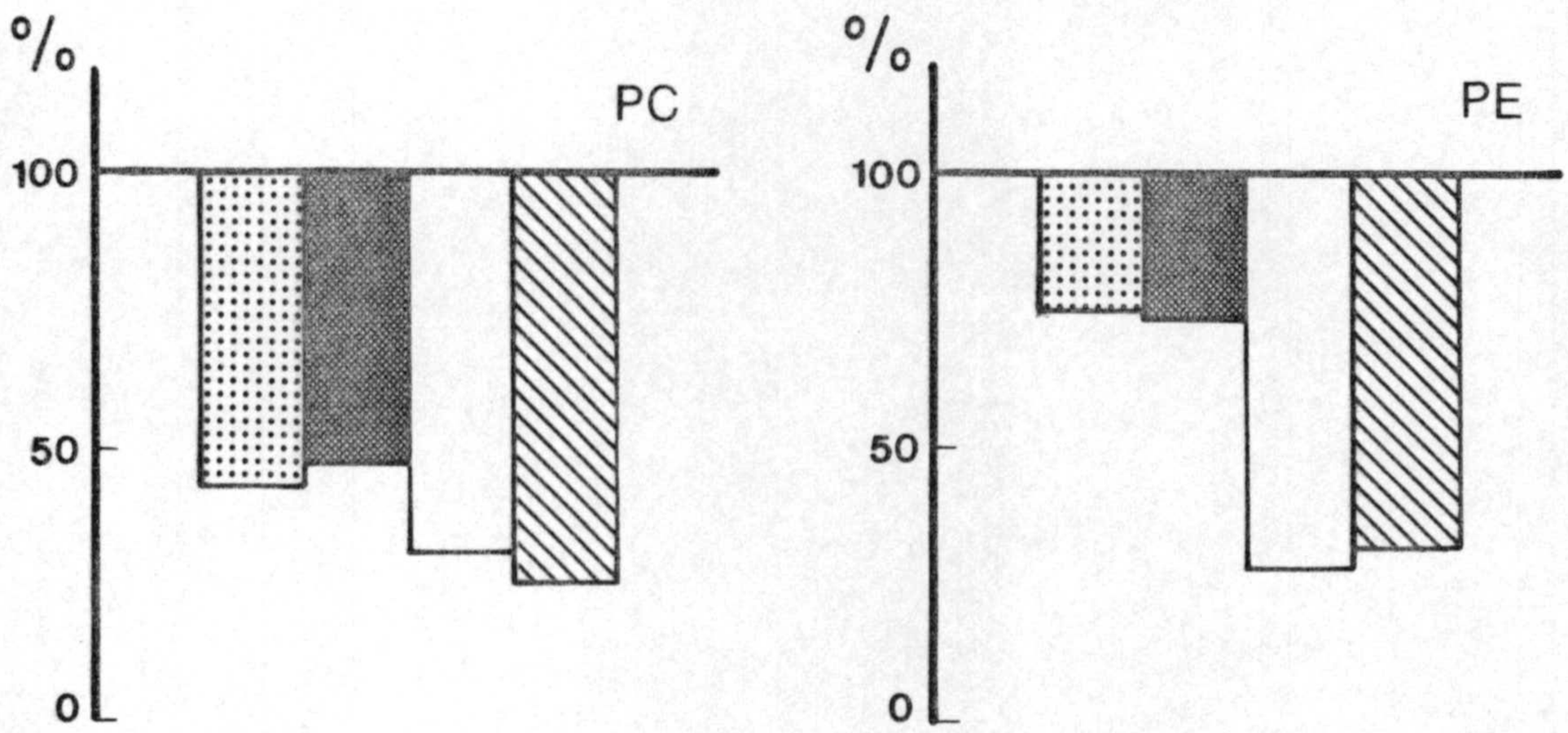


FIGURA 26. ACIDO DOCOSAHEXENOICO EN FOSFOLIPIDOS DE LOS MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFEREN - TES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPEC TO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DES TETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; ▭ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

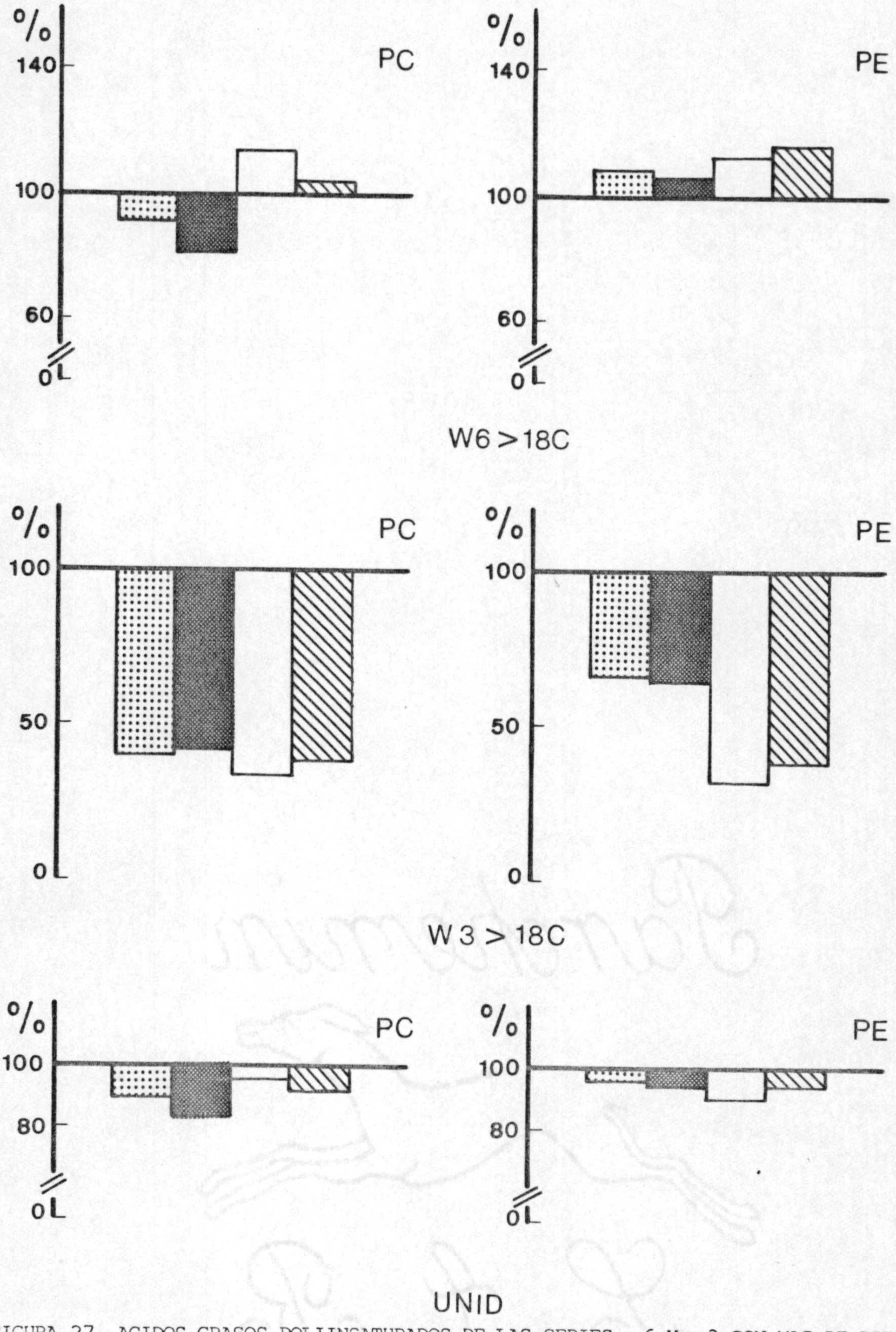


FIGURA 27. ACIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE LAS SERIES w 6 Y w 3 CON MAS DE DIECIOCHO ATOMOS DE CARBONO E INDICE DE INSATURACION DE FOSFOLIPIDOS DE MICROSOMAS HEPATICOS EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS.LOS RESULTADOS SE EXPRESAN COMO % RELATIVOS CON RESPECTO A LOS VALORES ENCONTRADOS PARA LAS RATAS EN EL MOMENTO DEL DESTETE. ⊞ ACEITE DE OLIVA; ▩ ACEITE DE OLIVA-MCT; □ ACEITE DE MAIZ; ▨ ACEITE DE MAIZ-MCT.

3.4.- Niveles de colesterol en plasma y membranas;fósforo lipídico y relación molar C/P en membranas. Efecto de la dieta y tiempo de alimentación

Los niveles plasmáticos de colesterol(mg/100ml) (Tabla 60) se han determinado a las cinco semanas de instaurada la dieta. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre los cuatro lotes de ratas, si bien los animales que ingieren MCT tienen unos valores ligeramente inferiores a los animales que ingieren únicamente aceite de oliva o aceite de maíz como única fuente lipídica.

Las membranas de eritrocitos (Tabla 61) no muestran diferencias significativas en su contenido en colesterol y fósforo lipídico, observándose únicamente cambios en la relación molar C/P que esta significativamente aumentada en los eritrocitos de las ratas que han ingerido MCT cuando se comparan frente a los lotes que ingieren exclusivamente el aceite de referencia.

Los resultados obtenidos en los microsomas hepáticos (Tabla 62) revelan un aumento significativo tanto del colesterol como del fósforo lipídico en casi todos los lotes de ratas alimentadas con las dietas experimentales, tanto a las tres como a las cinco semanas, cuando se comparan con los niveles que presentan los animales al destete, no presentandose por el contrario, entre los animales alimentados con las distintas dietas grandes diferencias significativas. El aumento de los niveles de colesterol y fósforo lipídico en los microsomas hepáticos se traduce en una relación molar C/P menor que la que presentan los animales al destete y que es muy significativa a las cinco semanas de instaurada la dieta. Las pequeñas diferencias existentes tanto en los niveles de colesterol como de fósforo lipídico en los distintos lotes de

TABLA 60. NIVELES DE COLESTEROL PLASMATICO (mg/ 100 ml) EN RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS LIPIDICAS DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE.

O	66.20± 2.92 (6)
MCT-O	60.87± 3.63 (9)
M	74.55+ 6.99 (8)
MCT-M	66.32± 2.66 (8)

Los resultados se expresan como la media ± S.E.M. ; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 61. CONTENIDO EN COLESTEROL, FOSFORO LIPIDICO Y RELACION MOLAR C/P DE LAS MEMBRANAS DE ERITROCITOS DE RATAS ALIMENTADAS DURANTE CINCO SEMANAS CON DIFERENTES DIETAS LIPIDICAS DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE.

	Dieta	5 Semanas
Colesterol (mg/mg proteína)	O	0.113± 0.005 (6)
	MCT-O	0.128± 0.005 (6)
	M	0.121± 0.006 (7)
	MCT-M	0.136± 0.007 (7)
Fósforo lipídico (µg/mg proteína)	O	15.111+ 0.870 (6)
	MCT-O	14.460± 0.760 (6)
	M	16.116± 0.844 (7)
	MCT-M	16.007± 0.558 (7)
C/P	O	0.603± 0.137 (6)
	MCT-O	0.708± 0.012 (6) c_1
	M	0.600± 0.009 (7)
	MCT-M	0.679± 0.025 (7) d_1

Los resultados se expresan como la media ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

TABLA 62. CONTENIDO EN COLESTEROL, FOSFORO LIPIDICO Y RELACION MOLAR C/P DE MICROSOMAS HEPATICOS DE RATAS ALIMENTADAS, DESDE EL MOMENTO DEL DESTETE, CON DIFERENTES DIETAS LIPIDICAS DURANTE TRES Y CINCO SEMANAS.

	Destete	Dieta	3 Semanas	5 Semanas
Colesterol (µg/mg prot)	23.01±1.68(6)	O	29.63±1.74(9)a_1	23.43±1.45(4)
		MCT-O	30.14±0.46(10)a_3	32.53±0.87(9)$a_3 b_1 c_3$
		M	28.23±0.70(10)a_2	23.62±1.69(7)b_1
		MCT-M	24.91±0.87(7)$e_3 d_2$	26.88±0.78(9)$a_1 e_3$
Fósforo lipídico (µg/mg prot)	10.24±0.83(6)	O	14.32±0.63(9)a_2	13.55±0.48(4)a_1
		MCT-O	15.03±0.36(10)a_3	17.54±0.52(9)$a_3 b_3 c_3$
		M	14.30±0.43(10)a_3	12.60±0.69(7)$a_1 b_1$
		MCT-M	13.84±0.62(7)a_2	14.62±0.71(9)$a_2 e_2$
C/P	0.18±0.01(6)	O	0.17±0.01(9)	0.14±0.01(4)a_1
		MCT-O	0.16±0.01(10)	0.15±0.01(9)a_2
		M	0.16±0.01(10)	0.15±0.01(7)
		MCT-M	0.15±0.01(7)a_2	0.15±0.01(9)a_2

Los resultados se expresan como la media ± S.E.M.; entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Los niveles de significancia se explican en la sección 2.2.14.

animales sujetos a una dieta experimental quedan amortiguadas en la relación molar C/P ya que no se observan diferencias significativas entre estos lotes.

4. DISCUSION

4. DISCUSION

4.1.- Consideraciones generales

En los últimos años se ha desarrollado una intensa investigación en torno a la influencia que la naturaleza de la grasa dietaria ejerce sobre la composición lipídica de los tejidos animales, centrándose gran parte de estos trabajos en el estudio de los cambios que se producen a nivel de las diferentes membranas celulares.

Las membranas biológicas no son únicamente barreras permeables que separan a la célula de su entorno o a los distintos compartimentos intracelulares, sino que están implicadas en el crecimiento, división y metabolismo celular. Así, por ejemplo, el transporte de solutos, el mecanismo de reconocimiento hormonal o los sistemas de transporte electrónico y fosforilación oxidativa son todos ellos procesos localizados a nivel de membrana y cuyo normal funcionamiento depende de la integridad de ésta.

El modelo de biomembrana más aceptado es el de una bicapa lipídica asimétrica en la que nos encontramos las proteínas, bien en la superficie (proteínas periféricas) o bien inmersas en la bicapa (proteínas integrales) (1, 75). Esta bicapa se encuentra en un estado fluido que depende, básicamente, del contenido en colesterol, de la composición en ácidos grasos y de los grupos polares de cabeza de los fosfolípidos (55,62,63,242). El colesterol, por la disposición de su anillo rígido entre las cadenas de ácidos grasos dificulta la movilidad conformacional de estas , con lo que disminuye la

fluidez de la membrana (55). Contrariamente, la intro — ción de dobles enlaces en los ácidos grasos y preferentemente si estos se localizan en el centro de la cadena, conduce a una disminución de la temperatura de transi — ción de las moléculas, y en consecuencia, a un aumento de la fluidez de la membrana (63,67,68).

Se sabe actualmente que la naturaleza de la grasa de la dieta puede modificar el perfil lipídico de las membranas celulares, lo que de acuerdo con lo expuesto anteriormente, debe incidir en sus propiedades fisico — químicas y funcionales. Concretamente, las dietas con un alto contenido en AGPI originan un incremento de estos compuestos así como una disminución de los ácidos grasos monoinsaturados en los fosfolípidos de las membranas. Por el contrario, si la dieta es deficitaria en ácidos grasos esenciales, se aprecia no solo un descenso de estos ácidos grasos sino también un aumento de los monoenoicos y del 20:3w9 (63,242).

Los numerosos trabajos encontrados en la literatura sobre este tema han sido realizados con dietas en las que la grasa presentaba un alto contenido en ácidos grasos saturados (grasas de origen animal), o bien un elevado porcentaje de ácido linoleico (aceites de maíz, girasol y cártamo), ∝-linolénico (aceites de soja y linaza) o, más recientemente, con AGPI de la serie w 3 de larga cadena (aceites de pescado). Sin embargo,se le ha dedicado muy escasa atención a las posibles repercusiones que el aceite de oliva, de elevado consumo en los paises mediterráneos, o los triacilglicéridos de cadena media, de importante uso en clínica, podrían tener so — bre la composición de los lípidos tisulares.

Es por ello que el objetivo primordial de este trabajo ha sido analizar la incidencia de ambos tipos

de grasa sobre el perfil lipídico del plasma, membranas de eritrocitos y microsomas hepáticos en animales de experimentación, utilizando como control el aceite de maíz.

El plasma, como único medio de transporte de los lípidos entre los distintos tejidos del organismo es el que indudablemente refleja con mayor rapidez e intensidad los cambios producidos por la dieta, por lo que se utiliza habitualmente para caracterizar algunas situaciones nutricionales tales como el déficit de AGE.

No obstante, aunque el análisis del plasma resulta en muchas ocasiones apropiado, puede dar a veces una idea falsa o incluso exagerada de una determinada situación como consecuencia, precisamente,de su elevada tasa de recambio. Es por ello que, según Sanders y cols.(243) los lípidos de la membrana eritrocitaria reflejan mejor el estado real de otros tejidos, presentando una tasa de recambio menor que la del plasma pero mayor que la de muchos tejidos. Su estudio presenta la indudable ventaja de que al ser el glóbulo rojo una célula desprovista de orgánulos citosólicos, su membrana plasmática puede obtenerse facilmente y con un elevado grado de pureza. Además, el recambio de los ácidos grasos en la membrana del eritrocito está limitado a la desacilación de los fosfolípidos endógenos y reacilación de los lisoderivados resultantes y al intercambio de moléculas intactas de fosfolípidos con otras de procedencia exógena, ya que estas células carecen del equipo enzimático necesario para efectuar la síntesis " de novo" de los ácidos grasos así como la elongación y desaturación de otras moléculas preexistentes (117,119,244,245,246).

Finalmente, hemos seleccionado los microsomas hepáticos como modelo de membrana de localización intracelular sujeta a un sistema de regulación más riguroso

que el de la membrana eritrocitaria, no estando además estas membranas en contacto directo con las lipoproteínas plasmáticas que pudieran influenciar su composición lipídica. En los microsomas, que proceden mayoritariamente del retículo endoplasmático, se localizan una gran parte de los sistemas enzimáticos que intervienen en la biosíntesis de los diferentes lípidos, por lo que su actividad puede verse afectada si su entorno lipídico se ve modificado por la dieta. Concretamente,Pugh y cols. (148,149) han mostrado la existencia de correlación entre el aumento de las actividades Δ^9 y Δ^5 desaturasas y el descenso en la fluidez de la membrana.

Para facilitar la discusión de los resultados hemos considerado conveniente agrupar los ácidos grasos en función de su grado de saturación y de la serie a la que pertenecen, estudiando, simultaneamente en el plasma y en los dos tipos de membranas analizadas, los cambios producidos por la edad y por la dieta. En el último apartado se consideran el contenido en colesterol, fósforo lipídico y la relación molar C/P en las mismas condiciones.

4.2.- Acidos grasos saturados

Es un hecho perfectamente establecido que los lípidos de la dieta modifican la composición de los ácidos grasos tanto plasmáticos como tisulares. Sin embargo, la administración de dietas con un cociente P/S muy diferente provoca cambios poco significativos sobre el nivel de ácidos grasos saturados (138,207,215,220).

En nuestro estudio se observa también en todas las fracciones lipídicas analizadas que el porcentaje de

ácidos grasos saturados se afecta escasamente por la dieta y por la edad. No obstante puede apreciarse que el menor contenido de compuestos saturados corresponde a los animales que han sido alimentados con aceite de oliva cuyos valores se situan,normalmente,por debajo de los encontrados en el momento del destete y que además, son significativamente inferiores con respecto a los encontrados en los animales alimentados con aceite de maíz. Este efecto se manifiesta más claramente a nivel plasmático y especialmente a nivel de los triacilglicéridos, donde la diferencia entre los animales alimentados con aceite de oliva o con aceite de maíz alcanza un 45 % a las cinco semanas de instaurada la dieta.

Resulta sorprendente que el aceite de maíz, que tiene una relación P/S sensiblemente mayor que la del aceite de oliva, conlleve un ligero aumento en los niveles de ácidos grasos saturados, ya que estudios realizados por diversos autores han demostrado que los AGPI de la dieta inhiben la actividad lipogénica hepática (247, 248,249,250,251). Por otra parte, no cabe pensar que las diferencias observadas sean debidas al distinto contenido de ácidos grasos saturados en los aceites ya que en ambos el porcentaje de los dos ácidos grasos mayoritarios, palmítico y esteárico, es similar.

Gibson y cols. (207) han descrito recientemente un efecto parecido al comparar una dieta altamente insaturada con otra de mayor contenido en compuestos saturados. Estos autores han sugerido que el aumento de 20:3w6 y 20:4w6 que se observa en los tejidos de los animales alimentados con dietas de alto contenido en 18:2w6 podría estar relacionado con ese ligero incremento de ácidos grasos saturados basándose en un trabajo realizado "in vitro" por Stern y cols. (225) en el que se pone de

manifiesto que en presencia de ambos ácidos grasos, el 18:1 es desplazado de la posición sn-1 de la fosfatidil colina y sustituido por un ácido graso saturado.

En general los AGPI muestran una disposición espacial cónica más abierta que la de los ácidos grasos saturados lo que puede ocasionar alteraciones importantes en la membrana si el porcentaje de insaturados aumenta por encima de los límites aceptables (59). Además, el menor punto de fusión de los AGPI provoca en los fosfolípidos una disminución de la temperatura de transición y, en consecuencia, un posible aumento en el estado de fluidez de la membrana (63,69). Cabría pensar, por ello, que el mayor contenido de 18:2w6 y de otros AGPI de la serie w 6 en los animales que han ingerido la dieta con aceite de maíz fuera compensado por la célula con la introducción de ácidos grasos saturados en los lípidos de membrana a fin de evitar alteraciones en la fluidez de ésta.

La adición de MCT a una dieta con aceite de oliva o con aceite de maíz no parece afectar sensiblemente el contenido de ácidos grasos saturados del plasma y de las membranas estudiadas, que se mantiene en las ratas alimentadas con MCT-O y MCT-M ligeramente por encima del encontrado en las ratas alimentadas con aceite de oliva pero sin que la diferencias sean, en la mayoría de los casos, significativas.

Cabe destacar la ausencia total de ácidos grasos de cadena media en los animales alimentados con MCT debido, probablemente, a la rápida oxidación que experimentan estos compuestos en el hígado y que es consecuencia de su particular metabolismo. En efecto, los ácidos grasos de cadena media pasan directamente desde el estómago o el intestino al hígado (38-41,43,44), donde la

ausencia de una acil-CoA sintetasa citosólica específica impide que estos ácidos grasos sean incorporados a las lipoproteínas (48). Sin el concurso de la carnitin-acil transferasa, pasan al interior de la mitocondria donde sufren un proceso de β-oxidación originando acetil-CoA que o bien ingresa en el ciclo de Krebs o bien se dirige hacia la síntesis mitocondrial de cuerpos cetónicos o la formación en el citosol de nuevos ácidos grasos (50,51,53).

El análisis individualizado de los dos ácidos grasos saturados mayoritarios, palmítico y esteárico,no permite establecer un comportamiento generalizado para ambos ya que los cambios experimentados en función del tiempo y de la dieta varian de unas fracciones a otras. No obstante puede observarse que, normalmente, son los animales alimentados con aceite de maíz los que muestran un porcentaje más elevado de ambos ácidos grasos, valores que son ligeramente superiores a los descritos por otros autores en ratas alimentadas con este mismo aceite (138,207,215,222).

Las distintas fracciones lipídicas analizadas presentan un perfil característico de ácidos grasos saturados, que está de acuerdo con el descrito por otros investigadores (215,221), observándose,además, que este perfil se afecta en muy distinto grado por el tiempo y por la dieta. Concretamente, en la fosfatidilcolina del eritrocito el ácido palmítico disminuye con la edad y es significativamente menor en los animales alimentados con aceite de oliva mientras que en esta misma fracción pero a nivel microsomal este ácido apenas se modifica por ninguno de estos factores. Contrariamente, el ácido esteárico aumenta a lo largo del tiempo en la PC del eritrocito mientras que en los microsomas los valores en

contrados a las cinco semanas para este compuesto son similares a los del destete. La fosfatidiletanolamina en ambas membranas muestra menores cambios aunque el ácido palmítico siempre es menor en las ratas alimenta — das con aceite de oliva a las cinco semanas de instaura da la dieta.

Este diferente comportamiento podría ser consecuencia, tanto del tipo de membrana como de la loca — lización del fosfolípido dentro de la misma. Mientras que el eritrocito, al carecer de las enzimas necesarias para efectuar la síntesis de ácidos grasos depen de íntegramente del aporte plasmático (76,117-119,121), en los microsomas la acilación de los fosfolípidos puede llevarse a cabo con ácidos grasos de origen exógeno o bien con los procedentes del propio metabolismo hepático, estando además este proceso sometido a una mayor re gulación (124). Es por ello por lo que, probablemente, la composición de los ácidos grasos de los microsomas refleja en menor grado los cambios inducidos por la dieta o por la edad.

4.3.- Acidos grasos insaturados de las series w 7 y w 9

Los ácidos grasos de la serie w 7 están exclusivamente representados en nuestro estudio por el ácido palmitoleico, compuesto que presenta niveles relativamente bajos en la mayoría de las fracciones lipídicas analizadas. Su comportamiento es bastante homogéneo ya que tanto a nivel plasmático como de membrana se produce un aumento significativo de 16:1w7 en todos los grupos de animales a las tres semanas de instaurada la dieta, descendiendo ligeramente a las cinco semanas. Con respecto al tipo de dieta, se aprecia claramente que el porcentaje de 16:1w7 más bajo corresponde a aquellos animales cuya dieta contenía aceite de maíz (con o sin MCT) aunque en general se observa que la presencia de MCT incrementa en ocasiones el contenido de este ácido graso.

Este perfil puede deberse, al menos, a tres causas: en primer lugar, al menor porcentaje de 16:1w7 presente en las dietas con aceite de maíz ya que la preferencia de la Δ^9 desaturasa por el estearoil-CoA frente al palmitoil-CoA hace que el aporte dietario de este compuesto deba ser tenido en cuenta (135,208). No obstante es poco probable que en nuestras condiciones experimentales este factor tenga una gran incidencia ya que el mayor porcentaje de 16:1w7 que corresponde a la dieta con aceite de oliva no supera el 1 %. Además, el nivel de ácido palmitoleico en la leche de rata es ligeramente superior al de las cuatro dietas utilizadas en este trabajo(252) y sin embargo las ratas en el momento del destete muestran un porcentaje inferior de este compuesto en sus lípidos.

En segundo lugar ha sido descrito que el 18:2w6

inhibe la actividad Δ^9desaturasa (138,146); este hecho ha sido confirmado en un trabajo previo realizado en nuestro laboratorio en el que se ha puesto de manifiesto que la mayor actividad para esta enzima se encontraba en el hígado de ratas que habían sido alimentadas con aceite de oliva o con este mismo aceite y MCT (253). Todo ello justificaría el bajo nivel de 16:1w7 observado en los animales alimentados con aceite de maíz.

Finalmente, se ha demostrado que las enzimas implicadas en la síntesis de ácidos grasos en el hígado muestran una mayor actividad cuando la dieta contiene MCT, hecho que se refleja más intensamente a nivel de los ácidos grasos monoinsaturados 16:1w7 y 18:1w9 (51, 254, 255). Esto podría explicar el mayor porcentaje de ácido palmitoleico en los dos lotes de animales alimentados con MCT.

El mayor contenido de ácido palmitoleico en las fracciones plasmáticas de los triacilglicéridos y ácidos grasos libres en comparación con las demás fracciones lipídicas sugiere un papel básicamente energético para este compuesto. A este respecto, Goransson (256) ha descrito que, en la rata, el 16:1w7 es retirado del plasma y oxidado en los tejidos más rápidamente que el ácido palmítico y que además, a nivel hepático, es incorporado preferentemente a los triacilglicéridos.

De los ácidos grasos de la serie w 9 hemos detectado en las distintas fracciones lipídicas la presencia de 18:1, 20:3 y 24:1, siendo indudablemente el ácido oleico el más abundante.

El contenido tan variable de ácido oleico en las cuatro dietas utilizadas en este trabajo, que oscila entre el 72 % para la de aceite de oliva y el 12 % para la

de MCT-M, explica los cambios tan significativos observados para este compuesto en todas las fracciones. Así, en aquellos animales que han sido alimentados con aceite de oliva (con o sin MCT), el porcentaje de 18:1w9 es muy superior al de aquellos a los que se les ha suministrado una dieta con aceite de maíz o con MCT-M

Sin embargo, aunque el aporte dietario es de gran importancia e incluso Kalopissis y cols. (257) han indicado que las VLDL emitidas por los hepatocitos a la circulación sanguínea contienen ácidos grasos en su mayoría de origen exógeno, no hay que olvidar que existe una síntesis endógena de ácido oleico. Puesto que los AGPI son más efectivos inhibiendo la actividad Δ^9desaturasa que el propio 18:1w9 (138,146,253), no resulta sorprendente que los niveles de este compuesto sean similares en los dos grupos de ratas alimentadas con aceite de oliva y en los dos lotes alimentados con aceite de maíz. El hecho de que los animales alimentados con MCT-O o con MCT-M muestren valores de 18:1 muy próximos a los de los animales alimentados solo con aceite de oliva o con aceite de maíz respectivamente, puede explicarse por la mayor actividad lipogénica que, posiblemente, existe en aquellos dos grupos de ratas (51, 254, 255).

Por otra parte, cuando se analizan los cambios experimentados por el 18:1w9 a lo largo del tiempo se aprecia que en las ratas alimentadas con aceite de oliva (O y MCT-O) el porcentaje de este ácido es muy superior al presente en las ratas en el momento del destete,mientras que en los otros dos grupos de animales es, generalmente,inferior. La leche de rata contiene un alto nivel de ácidos grasos de cadena media y un porcentaje de 18:1w9 similar al de la dieta MCT-M (252) lo que podría ser la causa de que sea en este grupo de animales donde

este compuesto mantiene un nivel más próximo al observado en el destete.

El ácido 5,8,11-eicosatrienoico (20:3w9) presenta porcentajes bastante bajos en todas las fracciones, no habiendo incluso sido detectado la mayoría de las veces en los animales sacrificados en el momento del destete. Su interés radica,principalmente, en que ha sido descrito por Holman (210) como indicador de un estado carencial de ácidos grasos esenciales. Sus niveles están directamente relacionados con la presencia de 18:2w6 en la dieta ya que una disminución en el contenido tisular de este ácido permite una mayor desaturación del ácido oleico hasta formar 20:3w9. Es por ello que en los dos grupos de animales alimentados con dietas de aceite de oliva los niveles de 20:3w9 aumentan significativamente en todas las fracciones; no obstante los valores alcanzados están muy por debajo de los que caracterizan una situación carencial. Es de señalar, además, que en las ratas alimentadas exclusivamente con aceite de oliva el porcentaje de 20:3w9 tiende a disminuir desde las tres a las cinco semanas, observándose el efecto contrario en aquellas que han ingerido la dieta MCT-O.

El ácido nervónico es característico de lso lípidos del tejido nervioso, siendo también representativo en las esfingomielinas de las membranas celulares. En nuestras condiciones experimentales solo ha sido detectado en porcentajes inferiores al 1 % en los fosfolípidos de la membrana eritrocitaria donde las esfingomielinas suponen un 12 % aproximadamente del total de fosfolípidos (55, 56, 78) frente al 4 % encontrado en los microsomas (55).

4.4.- Acidos grasos insaturados de la serie w 6

Los ácidos grasos de la serie w 6 son importantes componentes de los lípidos tisulares donde, además de desempeñar una función estructural, son precursores en la biosíntesis de compuestos eicosanoides. Se localizan mayoritariamente en los fosfolípidos y en los ésteres del colesterol, ya que en los triacilglicéridos es únicamente el 18:2w6 el que alcanza valores significativos.

En las fracciones lipídicas del plasma y de las membranas analizadas ha sido posible identificar la presencia del 18:2w6 y de sus derivados poliinsaturados 18:3, 20:2, 20:3, 20:4, 22:4 y 22:5.

La ausencia en los tejidos animales del equipo enzimático necesario para la síntesis de 18:2w6 hace de este un ácido graso esencial por lo que la proporción de ácido linoleico presente en los tejidos depende, en gran medida, de su contenido en la dieta. De acuerdo con este hecho cabría esperar que, en nuestras condiciones experimentales, el nivel más alto de 18:2w6 se encontrara en los animales alimentados con la dieta que contiene únicamente aceite de maíz (60 % de 18:2w6) y el más bajo en los alimentados con MCT-O (4.6 % de 18:2w6). Sin embargo,el análisis de los resultados muestra que solo en los triacilglicéridos y ácidos grasos libres del plasma los valores de ácido linoleico guardan una cierta proporcionalidad con su contenido en la dieta; es además en ambas fracciones donde las diferencias entre los dos grupos de animales alimentados con aceite de oliva y los dos grupos alimentados con aceite de maíz son más patentes.

Este hecho sugiere que el ácido linoleico se incorpora a los triacilglicéridos con preferencia a los fosfolípidos. A este respecto Flick (248) ha encontrado en ratas que tras un corto período de ayuno ingieren una dieta con alto contenido en 18:2w6, que el porcentaje de este ácido aumenta muy rápidamente en los triacilglicéridos, oponiendo la fracción de los fosfolípidos una mayor resistencia a la esterificación con este ácido graso. Por otra parte, Goheen y cols. (258) han sugerido, para explicar la diferente composición de ácidos grasos de los triacilglicéridos y fosfolípidos hepáticos, que la síntesis de ambos lípidos debe de transcurrir a nivel del retículo endoplasmático pero bajo el control de complejos enzimáticos distintos.

En todas las demás fracciones lipídicas y especialmente en los microsomas las diferencias relativas son menos aparentes aunque lógicamente el contenido de 18:2w6 es siempre menor en las ratas alimentadas con aceite de oliva que en las alimentadas con aceite de maíz. Cabe destacar, no obstante, que en la fosfatidiletanolamina del eritrocito y a las cinco semanas de iniciada la dieta, existen diferencias significativas entre los cuatro grupos de animales similares a las descritas para los ácidos grasos plasmáticos. Este paralelismo pondría de manifiesto el hecho de que este fosfoglicérido se esterifica principalmente a partir de los ácidos grasos libres plasmáticos (119).

Con respecto a los cambios producidos en función del tiempo se aprecia que en los dos lotes de animales alimentados con aceite de oliva los niveles de 18:2w6 están casi siempre por debajo de los encontrados en el momento del destete, mientras que en los alimentados con maíz estos valores son iguales o ligeramente superiores a ex

cepción nuevamente de los triacilglicéridos y ácidos grasos libres plasmáticos, donde el 18:2w6 aumenta muy por encima del valor presente en el destete. Este comportamiento es contrario al que cabría esperar de acuerdo con el contenido en ácido linoleico de la leche de rata (15 %), muy inferior al del aceite de maíz. Es posible que ello se deba a que las ratas a partir del 15º dia de vida pueden empezar a ingerir cierta cantidad de pienso cuyo contenido en 18:2w6 es muy elevado.

La síntesis de los derivados de larga cadena de la serie w 6 a partir de su precursor, el 18:2w6, se realiza en el retículo endoplasmático mediante una serie de reacciones en las que se alternan la elongación y la desaturación. De las tres desaturasas implicadas en esta ruta biosintética, es la Δ^6 la mejor conocida y donde se piensa que radica el punto más importante de regulación de la via metabólica (124,127). No obstante la Δ^5 desaturasa también responde a ciertos mecanismos de regulación (124,136,137).

El análisis del perfil que los distintos AGPI de la serie w 6 muestran en los distintos lípidos estudiados hace difícil establecer un comportamiento general. No obstante y con respecto al posible efecto ejercido por la dieta, pueden señalarse tres hechos fundamentales:

- El porcentaje de 20:3w6 es practicamente siempre superior en las ratas alimentadas con las dietas que contienen aceite de oliva respecto a las alimentadas con aceite de maíz.

- Contrariamente, los niveles de 22:4w6 y 22:5w6 son más elevados en los animales que han ingerido las dietas con aceite de maíz.

- El ácido araquidónico, el mayoritario de toda

esta serie, manifiesta un perfil diferente según la fracción considerada, si bien,puede decirse que a las cinco semanas de instaurada la dieta, el nivel presente en los animales alimentados con aceite de oliva suele ser superior o similar al de los animales alimentados con aceite de maíz.

Un estudio detenido de estos resultados sugiere la posibilidad de que en las ratas alimentadas con aceite de maíz las actividades Δ^6 y Δ^5 desaturasas sean inferiores a las de aquellas alimentadas con aceite de oliva puesto que ambas enzimas son las implicadas en la síntesis del 20:3w6 y 20:4w6. Aunque en el presente trabajo no se han medido directamente estas actividades enzimáticas, el índice 18:2w6/20:4w6 (LINO) puede servir para expresar en cierta medida la capacidad del hígado de los respectivos grupos de ratas para desaturar y elongar el ácido linoleico hasta araquidónico, apreciándose que este índice es significativamente menor en los animales alimentados con aceite de oliva que en los alimentados con aceite de maíz.

Resultados obtenidos "in vitro" por diversos autores (124,127-129) han puesto de manifiesto que la Δ^6 desaturasa se inhibe en presencia tanto de un exceso del sustrato inicial, ácido linoleico, como de los derivados de larga cadena, especialmente el 22:5w6. Más recientemente Mahfouz y cols. (138) han realizado un estudio en ratas alimentadas con un 20 % de aceite de maíz o de aceite de cártamo enriquecido con ácido oleico encontrando, al igual que en nuestro trabajo, que mientras el 18:2w6 era superior en los microsomas hepáticos de los animales alimentados con aceite de maíz, el nivel de 20:4w6 era similar en los dos grupos de ratas; sin embargo la medida de las actividades Δ^6 y Δ^5 desaturasas no mos

tró diferencias significativas en función de la dieta. Concluyen estos autores, de acuerdo con otros investigadores (156,157) que la presencia de un elevado contenido de 18:1w9 en la dieta no afecta sensiblemente al metabolismo del ácido linoleico. Sin embargo, Jeffcoat y cols. (146) en un trabajo anterior habían indicado que la ingestión de trioleina no modificaba la actividad de la Δ^6 desaturasa pero sí la de la Δ^5 desaturasa que se incrementaba notablemente respecto a otras dietas.

De todo lo expuesto resulta evidente que no se puede concluir en nuestras condiciones experimentales cuál es la causa del mayor porcentaje de 20:3w6 y 20:4w6 en las ratas alimentadas con aceite de oliva, siendo necesaria la determinación de las actividades Δ^6 y Δ^5 desaturasas para encontrar una posible respuesta a estos resultados.

El aumento de ácido araquidónico observado en los animales alimentados con la dieta de aceite de oliva es más significativo en los fosfolípidos de los eritrocitos (particularmente en la fosfatidilcolina) que en los microsomas hepáticos. A este respecto diversos autores han descrito que el contenido de este ácido graso es mayor en la membrana plasmática del glóbulo rojo que en otras membranas celulares y que, además, en una situación de deficiencia de ácidos grasos esenciales disminuye menos significativamente en estas células que en otros órganos (riñón, hígado, bazo) sugiriendo que la movilidad de los eritrocitos y su capacidad para mantener un alto nivel de ácido araquidónico podría tener una gran importancia fisiológica al permitir a otros tejidos adquirir este compuesto necesario para la síntesis de eicosanoides y de los fosfolípidos de membrana (259,260).

La presencia de un mayor porcentaje de 22:4w6 y de 22:5w6 en las ratas alimentadas con aceite de maíz podría ser consecuencia del menor contenido de 22:6w3 en estos mismos animales, ya que se ha comprobado que cuando existe un déficit nutricional de ∝-linolénico o cuando el índice 18:2w6/18:3w3 es muy elevado en la dieta, existe un mayor depósito de metabolitos de 22 átomos de carbono de la serie w 6 y particularmente de 22:5w6 en las células (209,211,214,217). En nuestro estudio es precisamente en las dietas con aceite de maíz donde el índice 18:2w6/18:3w3 es casi seis veces mayor que en las de aceite de oliva.

La adición de MCT a la dieta produce, como efecto más significativo y constante, un aumento en el contenido de 20:3w6 en los fosfolípidos de aquellos animales alimentados con MCT-O o MCT-M frente a aquellos que han ingerido solo aceite de oliva o aceite de maíz respectivamente, estando los demás metabolitos de la serie por debajo o con valores próximos a los de estos últimos animales. Ello sugiere una mayor actividad Δ^6 desaturasa en las ratas que han ingerido MCT que podría estar motivada por la moderada hiperinsulinemia que acompaña a una alimentación con MCT (53) ya que ha sido descrito que la insulina produce una activación en esta enzima (124).

La presencia de un nivel más elevado de 20:3w6 en las ratas alimentadas con las dietas de aceite de oliva podría ejercer un efecto beneficioso sobre el sistema de agregación plaquetaria ya que este ácido graso origina, por un lado, la PG E_1 que tiene caracter antiagregante y, por otro, puede transformarse a través de la lipoxigenasa en un compuesto inhibidor de la ciclo-oxigenasa, originando una menor síntesis de TX A_2 (165,170).

4.5.- Acidos grasos insaturados de la serie w 3

A diferencia de los ácidos grasos insaturados de la serie w 6, los de la serie w 3 son generalmente minoritarios en los lípidos tisulares de los mamíferos, mostrando además una distribución muy selectíva tanto a nivel de órganos como de moléculas lipídicas (261). Quizás sea esta la razón por la cual, habitualmente, se le ha prestado muy escasa atención a estos ácidos grasos. Sin embargo, actualmente el interés sobre las posibles funciones biológicas de los AGPI de la serie w 3 en los mamíferos es cada vez mayor. Se considera que podrían ser beneficiosos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares (161,162,262,263) mientras que otros datos experimentales sugieren un papel fundamental de estos compuestos en el cerebro (264,265), en el aprendizaje (213) e incluso en el comportamiento mental de los primates (266,267).

En nuestro estudio ha sido posible identificar el precursor de esta serie, el ácido α-linolénico, y tres de sus metabolitos, 20:5,22:5 y 22:6, todos ellos en porcentajes inferiores al 7 %.

El α-linolénico es un ácido graso esencial pero sus requerimientos nutricionales están mucho peor establecidos que los del ácido linoleico, cuestionandose incluso en la rata la esencialidad de este ácido graso ya que se ha demostrado que estos animales pueden sobrevivir varias generaciones alimentándose con una dieta de muy bajo contenido en 18:3w3, siempre que el resto de los nutrientes estén en concentraciones adecuadas (261).

En nuestras condiciones experimentales el nivel de α-linolénico en las diferentes fracciones lipídicas

analizadas no superó, en ningún caso, el 1 %, sin que pudieran apreciarse marcadas diferencias a lo largo del período de estudio o en función de la dieta empleada.Es conveniente indicar que el contenido de α-linolénico en las distintas dietas así como en la leche de rata oscila entre el 1 % para la de aceite de maíz y el 0.4 % para la de MCT-O por lo que no cabía esperar que estas pequeñas diferencias se vieran reflejadas en los lípidos estudiados. Además, este ácido graso no aumenta muy significativamente en los tejidos ni siquiera cuando la dieta contiene aceite de linaza (61 % de 18:3w3) lo que parece sugerir que el 18:3w3 tiene como principal función el ser precursor de sus derivados de larga cadena, siendo el excedente completamente metabolizado en las células del organismo (209).

De los tres metabolitos de la serie w 3 identificados en los diferentes lípidos, el más abundante es el 22:6w3. Cuando se consideran conjuntamente estos tres ácidos grasos se aprecian dos hechos muy significativos:

1) Los niveles más bajos corresponden a los animales alimentados con la dieta de aceite de maíz y los más altos a los dos lotes de ratas alimentadas con las dietas de aceite de oliva.

2) Existe un fuerte descenso de los AGPI de la serie w 3 de larga cadena desde el momento del destete hasta las cinco semanas de instaurada la dieta.

La proporción relativa de AGPI de la serie w 6 o de la w 3 en los tejidos de un organismo depende, más que del contenido de 18:2w6 o de 18:3w3 en la dieta, de la relación 18:2w6/18:3w3 en la misma debido al efecto competitivo existente entre estos dos ácidos grasos por la Δ^6 desaturasa. En efecto, esta enzima muestra mayor

afinidad por el α-linolénico que por el linoleico (128), de forma que una alta relación 18:2w6/18:3w3 en la dieta se traduce en una mayor síntesis de los derivados de la serie w 6 y viceversa. Ello explicaría los resultados comentados anteriormente: el aceite de oliva presenta una relación 18:2w6/18:3w3 mucho más baja (11.2) que la del aceite de maíz (59.0) por lo que la deposición de AGPI de la serie w 3 es mayor en los dos grupos de ratas alimentadas con las dietas de aceite de oliva.

Más dificil de comprender resulta el hecho de que entre los dos lotes de animales alimentados con dietas que contienen aceite de maíz, el nivel de AGPI de la serie w 3 con más de dieciocho átomos de carbono sea sensiblemente mayor en aquellos alimentados con MCT-M. Un posible factor sería la mayor actividad de la Δ^6 desaturasa como consecuencia de la moderada hiperinsulinemia a la que se hizo mención en el apartado anterior. Habría que considerar, además, que aunque en la dieta de MCT-M el cociente 18:2w6/18:3w3 es idéntico al de la dieta que lleva exclusivamente maíz, en la práctica la cantidad de ácido linoleico ingerida por las ratas alimentadas con MCT-M es la mitad de la ingerida por el otro grupo de ratas por lo que el posible efecto inhibidor del 18:2w6 sobre la actividad Δ^6 desaturasa sería considerablemente menor.

Se ha comprobado que la ingestión de dietas con un contenido relativamente alto de AGPI de la serie w 3 de larga cadena repercute en un mayor depósito de estos ácidos grasos en los tejidos (135,220). Diversos autores han señalado la presencia de 22:5w3 y 22:6w3 en la leche de rata (252,261), ácidos grasos que por el contrario están totalmente ausentes en las dietas empleadas en este trabajo. Posiblemente sea esta una de las causas que

expliquen el mayor nivel de estos metabolitos en los animales en el momento del destete que a las tres y cinco semanas de iniciada la dieta. No obstante también ha sido descrito un descenso de estos ácidos grasos durante el desarrollo postnatal (268,222).

El comportamiento descrito para el conjunto de los AGPI de la serie w 3 con más de dieciocho átomos de carbono no es válido cuando se analizan separadamente cada uno de ellos, variando el perfil en función del ácido graso considerado. Concretamente el 20:5w3, que casi siempre se mantiene en porcentajes inferiores al 1 %, aumenta claramente desde el momento del destete, especialmente en la fosfatidiletanolamina de microsomas y de eritrocitos. De Schrijver y col. (135) y Kurata y cols. (269) han puesto de manifiesto que la alimentación con una dieta rica en AGPI de la serie w 3 de larga cadena produce una disminución de la actividad Δ^6 desaturasa; además Actis Dato y cols. (270) han descrito que "in vitro" esta misma enzima se inhibe en presencia del último metabolito de esta serie, el 22:6w3. Todo ello podría justificar el menor contenido de 20:5w3 encontrado en los animales en el momento del destete a los que corresponde, también,el nivel más alto de 22:6w3.

Los otros dos metabolitos, el 22:5w3 y 22:6w3, sí disminuyen a lo largo del tiempo pero mientras el primero de ellos no se afecta por la dieta, el 22:6w3 aparece con unos porcentajes más elevados en las ratas alimentadas con aceite de oliva que en las alimentadas con aceite de maíz. Este ácido graso se localiza preferentemente en la fosfatidiletanolamina, alcanzando valores superiores al 3 % en la membrana del eritrocito y casi de un 7 % en los microsomas. Este hecho parece que es debido a la mayor afinidad de la enzima 1,2-diacil-

-sn-glicerol-etanolamina-fosfotransferasa por aquellos sustratos que contienen 22:6w3 en la posición sn-2 del glicerol (271).

La función del 22:6w3 en los tejidos no es conocida aunque su preponderancia en las células fotoreceptoras de la retina hace pensar que esté implicado en el mecanismo de la visión. Por otra parte se ha descrito que, en la rata, el 22:6w3 puede revertir hasta convertirse nuevamente en 20:5w3 (272), ácido graso precursor de un tromboxano, el TX A_3 que a diferencia del TX A_2 no tiene carácter agregante. Es posible, por tanto, que el mayor contenido de 22:6w3 en las ratas alimentadas con aceite de oliva fuera utilizado por estos animales como un depósito a partir del cual sintetizar 20:5w3 cuando fuera necesario.

Como hemos visto a lo largo de esta discusión, tanto el tiempo como la dieta afectan significativamente el contenido de ácidos grasos insaturados en los distintos lípidos del plasma y membranas. Sin embargo el índice de insaturación no experimenta cambios importantes en función de ninguno de estos factores especialmente a nivel de los fosfolípidos microsomales donde únicamente se aprecia un descenso de este índice tras cinco semanas de instaurada la dieta en los dos grupos de ratas alimentadas con aceite de maíz respecto a las alimentadas con aceite de oliva, descenso que no se manifiesta en la fosfatidiletanolamina ni en la fosfatidilcolina por lo que este debe achacarse al descenso observado en el fosfatidilinositol y en los glucolípidos. Por otra parte, aunque la relación AGPI w 3 > 18C / AGPI w 6 > 18C muestra una tendencia a ser más elevada en el momento del destete y en los animales alimentados con aceite de oliva, las diferencias no son estadísticamente significativas.

Gibson y cols. (207) han descrito un efecto muy similar en animales alimentados con una grasa saturada de origen animal o con aceite de girasol encontrando que el aumento de ácidos grasos de la serie w 6 en estos últimos animales estaba compensado por un descenso paralelo de los monoinsaturados y de los AGPI de la serie w 3, especialmente del 22:6w3. Estos autores concluyen que este control homeostático del índice de insaturación en las membranas celulares permitiría el mantenimiento de las propiedades fisicoquímicas de la bicapa lipídica, sugiriendo incluso que a través de este mecanismo los lípidos de la dieta podrían estar modulando la actividad de las enzimas asociadas a las membranas.

En la membrana del eritrocito las variaciones del índice de insaturación son algo más significativas, quizás por carecer estas células de un metabolismo tan complejo y regulado como el del hepatocito y por el hecho de encontrarse en contacto directo con el plasma con el que intercambian muy activamente sus lípidos.

4.6- Colesterol y fósforo lipídico

Debido a las implicaciones que tiene el colesterol en las enfermedades cardiovasculares, son numerosos los trabajos que pueden encontrarse actualmente en la literatura sobre la incidencia que tiene la dieta en los niveles plasmáticos de colesterol. Se puede afirmar sin lugar a dudas, que en general la grasa saturada conduce a una hipercolesterolemia mientras que, contrariamente, la presencia de AGPI en la dieta reduce los niveles de colesterol plasmático.

Menor atención se ha prestado a los efectos me-

tabólicos de los ácidos grasos monoinsaturados que han sido habitualmente considerados como neutrales en su acción sobre el colesterol plasmático. Sin embargo Kris-Etherton y cols. (273) han encontrado, recientemente, que en ratas alimentadas con aceite de oliva el nivel de colesterol plasmático era superior al de las alimentadas con aceite de maíz o de cártamo,pero analizando individualmente las distintas lipoproteínas observaron que dicho aumento era solo apreciable en los QM mientras que en las VLDL, LDL y HDL no existían diferencias en el contenido de colesterol entre los tres grupos de animales. Posteriormente Mattson y Grundy (29) han señalado que el ácido oleico añadido a la dieta reduce el colesterol de las LDL tan efectivamente como la grasa poliinsaturada, mientras que Masi y cols. (174) han descrito unos niveles similares de HDL-colesterol en conejos alimentados con aceite de oliva o con aceite de maíz. Todo ello sugiere que el aceite de oliva es al menos tan efectivo como aceites con alto contenido en AGPI a la hora de disminuir la concentración de colesterol plasmático.

Con respecto a los MCT diversos autores (49,51, 52) han descrito su efecto hipocolesterolémico, como consecuencia, probablemente, del efecto inhibidor que ejercen los AGCM sobre la actividad HMG-CoA reductasa hepática (51).

Los resultados que se presentan en esta memoria apoyan el efecto hipocolesterolémico señalado por otros autores del aceite de oliva y de los MCT ya que el nivel de colesterol plasmático fue similar en los cuatro grupos de ratas a las cinco semanas de instaurada la dieta, correspondiendo el valor más alto a los animales alimentados solo con aceite de maíz y el más bajo a los alimentados con MCT-O aunque las diferencias no fueron significativas.

Las membranas celulares también experimentan cambios en el contenido de colesterol en función de la naturaleza de la grasa dietaria. Sin embargo la concentración de los fosfolípidos o de alguna de sus especies moleculares no suele alterarse salvo bajo condiciones nutricionales muy drásticas tales como una dieta carente de AGE (274) o con un contenido graso muy elevado (275)

En las membranas de eritrocitos ni el colesterol ni el fósforo lipídico mostraron diferencias en función de la dieta; sin embargo la razón molar C/P fue significativamente mayor en las ratas alimentadas con MCT-O y MCT-M respecto a las alimentadas solo con aceite de oliva o solo con aceite de maíz respectivamente. Ello sugiere que la fluidez podría estar disminuida en la membrana eritrocitaria de los animales alimentados con MCT, especialmente en el grupo MCT-O donde el UNID es también sensiblemente inferior al del grupo alimentado con aceite de oliva.

En los microsomas hepáticos tanto el colesterol como el fósforo lipídico experimentaron un aumento en los cuatro grupos de animales con respecto al momento del destete que es más significativo a las tres semanas de iniciada la dieta. Un aumento similar en los fosfolípidos hepáticos ha sido descrito por Alling y cols.(274) a lo largo del desarrollo postnatal. La relación molar C/P, por el contrario, disminuye a lo largo del tiempo en todos los animales.

Con respecto a la dieta cabe destacar que ambos componentes lipídicos mostraron valores superiores en los animales alimentados con MCT a las cinco semanas de instaurada la dieta. Sin embargo la relación molar C/P fue idéntica en los cuatro grupos de animales lo que indica

que el aumento de colesterol y fósforo lipídico fue proporcional en los dos lotes de ratas alimentadas con MCT. No obstante y puesto que el UNID es menor en los fosfolípidos de los microsomas de las ratas alimentadas con aceite de maíz en este mismo tiempo que en los otros tres grupos de animales, es posible que la membrana del retículo endoplasmático muestre una menor fluidez en estos animales.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

1. La composición de la grasa dietaria modifica el perfil lipídico del plasma, de la membrana eritrocitaria y de los microsomas hepáticos en los cuatro grupos de ratas estudiados en este trabajo como consecuencia, básicamente, del diferente contenido de ácido oleico, ácido linoleico y ácidos grasos de cadena media de los diferentes aceites empleados.

2. La concentración relativa de ácidos grasos saturados no se modifica muy significativamente en ninguna de las fracciones lipídicas analizadas bajo las condiciones nutricionales experimentadas, aunque en general los animales alimentados exclusivamente con aceite de maíz muestran un contenido más elevado de estos ácidos grasos. Este hecho podría atribuirse a un mecanismo de compensación existente en las células de estos animales para evitar importantes alteraciones en el estado fluido de sus membranas como consecuencia del elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la serie w 6 en las mismas.

3. Los ácidos grasos monoinsaturados muestran porcentajes relativos significativamente inferiores en las ratas alimentadas con aceite de maíz o con aceite de maíz y MCT debido, tanto al bajo contenido de ácido oleico en ambas dietas, como a la menor actividad Δ^9 desaturasa hepática presente en estos animales y que es consecuencia de la inhibición que ejercen los ácidos grasos poliinsaturados sobre esta enzima. En las ratas alimentadas con MCT-maíz los niveles de los ác

dos palmitoleico y oleico son más elevados que en las alimentadas exclusivamente con aceite de maíz como consecuencia, probablemente, del efecto activador de los ácidos grasos de cadena media sobre la actividad lipogénica hepática.

4. Los ácidos grasos poliinsaturados de las series w 6 y w 3 muestran perfiles diferentes según la dieta administrada a los animales de experimentación. Mientras que los metabolitos de la serie w 6 se encuentran elevados en los animales alimentados con aceite de maíz frente a los alimentados con aceite de oliva, estos últimos presentan porcentajes superiores de los derivados de la serie w 3. Este comportamiento es debido, más que a la concentración de ácido linoleico y ácido linolénico en las cuatro dietas utilizadas, al distinto valor de la relación linoleico/ α-linolénico en las mismas. En efecto, dado que la afinidad de la enzima Δ^6desaturasa es mayor por el ácido linolénico, la presencia en la dieta de una elevada concentración de ácido linoleico favorecería que este ácido graso fuera desaturado en mayor proporción que el ácido α-linolénico, siendo en consecuencia más elevado el depósito de metabolitos de larga cadena de la serie w 6 en los tejidos.

5. La presencia de un mayor contenido de ácido dihomo-γ-linolénico en los dos grupos de animales alimentados con aceite de oliva puede tener un efecto beneficioso en casos de alteración de la agregación plaquetaria ya que este ácido es precursor de la PGE_1, una prostaglandina con carácter antiagregante y además puede transformarse por la ruta de la lipoxigenasa

en un inhibidor de la ciclo-oxigenasa.

6. El cambio más significativo observado en el perfil de ácidos grasos del plasma, microsomas hepáticos y membranas de eritrocitos a lo largo del período de tiempo estudiado, es el descenso de los ácidos grasos poliinsaturados con más de dieciocho átomos de carbono de la serie w 3 desde el momento del destete hasta las cinco semanas de instaurarse la dieta. Este hecho se atribuye a la presencia de estos ácidos grasos en la leche de rata y a su ausencia en las cuatro dietas utilizadas en nuestras condiciones experimentales.

7. Los valores de colesterol plasmático no muestran diferencias significativas en ninguno de los cuatro grupos de animales estudiados a las cinco semanas de iniciada la dieta, resultados que sugieren que tanto el aceite de oliva como los MCT ejercen un efecto hipocolesterolémico similar al descrito para el aceite de maíz.

6. BIBLIOGRAFIA

1. SINGER SJ,NICOLSON GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science 1972; 175:720-31.

2. RAISON JK. Temperature-induced phase changes in membrane lipids and their influence on metabolic regulation. Symp Soc Expt Biol 1973; 27:485-512.

3. MARTIN CE, HIRAMITSU K. Molecular control of membrane properties during temperature acclimation: fatty acid desaturase regulation of membrane fluidity in acclimating Tetrahymena cells. Biochemistry 1976; 15: 5218-27.

4. MEADE CJ, MERTON J. Fatty acids and immunity. Adv Lipid Research 1978; 16:127-166.

5. BOWER B, NEWSHOLME EA. Treatment of idiopathic polyneuritis by a polyunsaturated fatty acid diet. Lancet 1978; i:583-85.

6. CRAWFORD MA, STEVENS P. A study on essential fatty acids and multiple sclerosis. Progr Lipid Res 1981; 20:255-58.

7. NEWSHOLME EA. Mechanism for starvation suppression and refeeding activation of infection. Lancet 1977; i:654-57.

8. BLOCH K, VANCE D. Control mechanism in the synthesis of saturated fatty acids. Ann Rev Biochem 1977; 46: 263-98.

9. JEFFCOAT R. The biosynthesis of unsaturated fatty acids and its control in mammalian liver. Ess Biochem 1979; 15:1-10.

10. DEVLIN TM. Bioquímica,tomo I. Ed Reverté, Barcelona 1985.

11. HORROBIN DF, HUANG YS, CUNNANE SC, MANKU MS. Essen —

tial fatty acids in plasma, red blood cells and liver phospholipids in common laboratory animals as compared to humans. Lipids 1984; 19:806-11.

12. WHITE A, HANDLER P. Principios de bioquímica. Ed McGraw Hill. Madrid, 1983.

13. KEYS A. Coronary heart disease. The global picture. Atherosclerosis 1975; 22:149-60.

14. SHEENE DM, GREEN JB, GREEN MH. Influence of dietary fat saturation on lipid absortion in the rat. Atherosclerosis 1980; 37:301-10.

15. KROMER GW. U.S. food fat consumption gains during the seventies. Fats and oils situation - 299. U.S. Department of Agriculture 20-23; 1980.

16. BURR GO, BURR MM. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. J Biol Chem 1929; 82:345-67.

17. PUDELKEWICZ C, SEUFERT J, HOLMAN RT. Requirements of the female rats for linoleic and linolenic acids. J Nutr 1968; 94:138-46.

18. MARTINEZ JM. El aceite de oliva. Investigación y Ciencia 1977; 11:20-28.

19. GAMMAL EB, CARROLL KK, PLUNKETT ER. Effects of dietary fat on mammary carcinogenesis by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. Cancer Res 1967; 27:1737-42.

20. KORK WJ, ZONDERVAN PE, HULSMAN LOM, WEIJMA IM, HÜLSMANN WC, WESTBROEK DL. Spontaneous tumor incidence in female brown norway rats after lifelong diets high and low in linoleic acid. J Nutr Clin Invest 1985; 74:529-36.

21. KING ME, SPECTOR AA. Effect of specific fatty acyl enrichments on membrane physical properties detected

with a spin label probe. J Biol Chem 1978; 253:6493-6501.

22. SHEPHERD J, PACKARD CJ, PATSCH JR, GOTTO AM, TAUNTON OD. Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and the metabolism of apolipoprotein A-I. J Clin Invest 1978; 61:1582-92.

23. VESSBY B, GUSTAFASSON IB, BOBERG J, KARISTROEM B, LITHELL H, WERNER I. Substituting polyunsaturated for saturated fat as a single change in a Swedish diet: effects on serum lipoprotein metabolism and glucose tolerance in patients wiht hyperlipoproteinemia. Eur J Clin Invest 1980; 10:193-202.

24. VEGA GL, GOSZEK E, WOLF R, GRUNDY SM. Influence of polyunsaturated fats on composition of plasma lipoproteins and apolipoproteins. J Lipid Res 1982; 23: 811-22.

25. RUITER A, JONGBLOED AW, VAN GENT CM, DANSE LH, METZ SHM. The influence of dietary mackerel oil on the condition of organs and on blood lipid composition in the young growing pig. Am J Clin Nutr 1978; 31: 2159-66.

26. KEYS A. Diet and plasma lipids in the etiology of coronary heart disease. Coronary Heart Dis., Med - Surg Symp 1968 (Pub 1971). Ed Rusek HI. Lippincott, Pa.

27. LEWIS B, CHAIT A, SIGURDSSON G, MANCINI M, FARINARO E, ORIENTE P, CARLSON LA, ERICSON M, MICHELI H, POMETTA D. Serum lipoproteins in four European communities: a cuantitative comparison. Eur J Clin Invest 1978; 8: 165-73.

28. FERRO-LUZZI A, STRAZZULLO P, SCACCINI C. Changing the

Mediterranean diet: effects on blood lipids. Am J Clin Nutr 1984; 40:1027-37.

29. MATTSON FH, GRUNDY SM. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. J Lipid Res 1985; 26:194-202.

30. The super unsaturates. Biologue (University of Texas) vol 5, nº 1 pag 6-7 (1985).

31. KAUNITZ H. Clinical uses of medium-chain triglycerides. Drug Therapy 1978; April:91-99.

32. GREENBERGER NJ, SKILLMAN TG. Medium-chain triglicerides.Physiologic considerations and clinical implications. New Engl J Med 1969; 280:1045-58.

33. OKAMOTO E, MUTTART CR, ZUCKER CL, HEIRD WC. Use of medium-chain triglycerides in feeding the low-birth-weight infant. Am J Dis Child 1982; 136:428-31.

34. CAREY MC, SMALL DM, BLISS CM. Lipid digestion and absorption.Ann Rev Physiol 1983; 45:651-77.

35. BORGSTRÖM B, DAHLQUIST A, LUNDH G, SJOVALL JV. Intestinal digestion and absorption. J Clin Invest 1957; 36:1521-43.

36. HELANDER HF, OLIVECRONA T. Lipolysis and lipid absorption in the stomach of the suckling rat. Gastroenterol 1970; 59:22-31.

37. COHEN M, MORGAN RGH, HOFMANN AF. Lipolytic activity of human gastric and duodenal juice against medium and long-chain triglycerides. Gastroenterol 1971; 60:1-9.

38. ROY CC, ROULET M, LEFEBVRE D, CHARTRAND L, LEPAGE G, FOURNIER LA. The role of gastric lipilysis on fat ab

sortion and bile acid metabolism in the rat. Lipids 1979; 14(9):811-19.

39. ISSELBACHER KJ. Mechanisms of absorption of long and medium-chain triglycerides. Medium-chain triglycerides. Ed JR senior, Philadelphia, Univ Penn Press, 1968. 21-34.

40. CLARK SB. Limiting factors in maximal steady state absorption of medium-chain triglycerides. Medium-cha in triglycerides. Ed JR senior, Philadelphia, Univ Penn Press, 1968. 69-80.

41. HOLT PR. Studies of medium-chain triglycerides in patients with differing mechanisms for fat malabsorption. Medium-chain triglycerides. Ed JR senior, Philadelphia, Univ Penn Press, 1968. 97-110.

42. PLAYOUST SA, ISSELBACHER KJ. Studies on the intestinal absorption and intramucosal lipolysis of a medium chain triglyceride. J Clin Invest 1964; 43:878-85.

43. HASHIM SA, BERGEN SS Jr, KRELL K, VAN ITALLIE TB. Intestinal absorption and mode of transport in portal vein of medium-chain fatty acids. J Clin Invest 1964. 43:1238-45.

44. HASHIM SA, VAN ITALLIE TB. Studies of medium-chain fatty acids in transport of portal bood. Medium-chain triglycerides. Ed JR senior, Philadelphia, Univ Penn Press, 1968. 81-90.

45. ALFIN- SLATER RB, ALFERGOOD L. Lipids. Modern nutrition in health and disease. Ed RS Goodheart and ME Shils 1980. 131-47.

46. ZIEGLER EE, FOMON SJ, FILER LJ Jr, THOMAS LN. Absorption of various fats by newborn infants. Proc Internat Symp : Dietary lipids and postnatal development.

Milan. Italy 1972.

47. TANTIBHEDHYANGKUL P, HASHIM SA. Clinical and physiologic aspects of medium-chain triglycerides: alleviation of steatorrhea in premature infants. Bull, N.Y. Acad Med 1971. 47:17-25.

48. MC GARRY JD, FOSTER DW. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. Ann Rev Biochem 1980; 49:395-420.

49. YEH YY, ZEE P. Regulation of ketosis to metabolic changes induced by acute medium-chain triglyceride feeding in rats. J Nutr 1976; 106:58-67.

50. BACH A, SCHIRARDIN H, BAUER M, WERYHA A. Ketogenic response to medium-chain triglyceride load in the rat. J Nutr 1977; 107:1863-70.

51. TAKASE S, MORIMOTO A, NAKANISHI M, MUTO Y. Long-term effect of medium-chain triglyceride in hepatic enzymes catalyzing lipogenesis and cholesterogenesis in rats. J Nutr Sci Vitaminol 1977; 23:43-51.

52. IDE T, TANAKA T, SUGANO M. Dietary fat dependent changes in hepatic cholesterogenesis and the activity of 3-hydrohy-3-methylglutaryl-CoA reductase in fasted-refed rats. J Nutr 1979; 109:807-18.

53. BACH AC, BABAYAN VK. Medium-chain triglycerides: an update. Am J Clin Nutr 1982; 36:950-62.

54. HIRONO H, SUZUKI H, IGARASHI Y, KONNO T. Essential fatty acid deficiency induced by total parenteral nutrition and by medium-chain triglyceride feeding. Am J Clin Nutr 1977; 30:1670-6.

55. SIM E. Membrane lipids. Membrane biochemistry, Chapmand and Hall, N.Y. 1982. 26-42.

56. ROELOFSEN B, VAN MEER G, OP DEN KAMP JAF. The lipids of red cells membranes. Scand J Clin Invest 1981; 41 (suppl 156): 111-15.

57. ROUSER G, NELSON GJ, FLEISCHER S, SIMON G. Biological membranes,physical fact and function (Chapman D ed), Academic Press, N.Y. 1968. 1-69.

58. WHITE DA. Form and function of phospholipids(Ansell GB, Dawson RMC and Hawthorne JN eds). Elsevier, Amsterdam 1973. 441-82.

59. OP DEN KAMP JAF, ROELOFSEN B, VAN DEENEN LLM. Structural and dynamic aspect of phosphatidylcholine in the human erythrocyte membrane. TIBS 1985; 116:320-23.

60. TREWHELLA MA, COLLINS FD. Pathways of phosphatidylcholine biosynthesis in rat liver. Biochim Biophys Acta 1973; 296:51-61.

61. VAN DEENEN LLM. Progress in the chemistry of fats and other lipids (Holman RT ed), Pergamon Press (Oxford) 1965. vol 8, part 1, 37-163.

62. CHAPMAN D. The structure of lipids. Methnen and Co. London 1965. pg 122.

63. STUBBS CD, SMITH AD. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. Biochim Biophys Acta 1984; 779:89-137.

64. TARDIEN A, LUZZATI V, REMAN FC. Structure and polymorfism of the hydrocarbon chains of lipids, lecithin-water phases. J Mol Biol 1973; 75:711-33.

65. HAUSER H, PASCHER I, PEARSON RH, SNUDELL S. Preferred conformation and molecular packing of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. Biochim Biophys

Acta 1981; 650:21-51.

66. GABER BP, PETICOLAS WL. On the quantitative interpretation of biomembrane structure by Raman spectroscopy. Biochim Biophys Acta 1977; 465:260-74.

67. GUNSTONE FD, ISMAIL IA. Fatty acids.Conversion of the cis-octa-decenoic acids to their trans isomers. Chem Phys Lipids 1967; 1:264-69.

68. CHRISTIE WW, HOLMAN RT. Synthesis and characterization of the complete series of methylene-interrumped cis,-cis-octadecadienoic acids. Chem Phys Lipids 1967; 1:407-23.

69. COOLBEAR KP, BERDE CB, KEOUGH KMW. Gel to liquid-crystalline phase transitions of aqueous dispersions of polyunsaturated mixed-acid phosphatidylcholines. Biochemistry 1983; 22:1466-73.

70. VAN DIJCK PWM, VERVERGAERT PHJT, VERKLEIJ AG, VAN DEENEN LLM, GIER J. Influence of calcium and magnesium ions on the thermotropic behavior and permeability properties of liposomes prepared from dimyristoyl phosphatidylglycerol and mixtures of dymiristoyl phosphatidylcholine. Biochim Biophys Acta 1975; 406:465-78.

71. CHAPMAN D, URBINA J, KEOUGH KM. Biomembrane phase transitions. Studies on lipid-water systems using differential scanning calorimetry. J Biol Chem 1974; 249:2512-21.

72. VERMA SP, WALLACH DFH. Effect of melittin on thermotropic lipid state transitions in phosphatidylcholine liposomes. Biochim Biophys Acta 1976; 436:307-18.

73. BUSH SF, ADAMS RG, LEVIN IW. Structural reorganizations in lipid bilayer systems: effect of hydration and sterol addition on Raman spectra of dipalmitoyl-

phosphatidylcholine multilayers. Biochemistry 1980; 19:4429-36.

74. HERRERA E. Bioquímica de las membranas celulares. Bioquímica, Ed Interamericana, 1985. 882-3.

75. OP DEN KAMP JAF. Lipid asymmetry in membranes. Ann Rev Bioquem 1979; 48:47-72.

76. VAN DEENEN LLM. Topology and dynamics of phospholipids in membranes. FEBS Lett 1981; 123:3-15.

77. OP DEN KAMP JAF. The asymetric architecture of membranes. Membrane estructure, ed Finean and Michell (Elsevier), Amsterdam 1981. 83-126.

78. RENOOIJ W, VAN GOLDE LMG, ZWAAL RFA, VAN DEENEN LLM. Topological asymmetry of phospholipid metabolism in rat erythrocyte membranes. Eur J Biochem 1976; 61: 53-8.

79. VAN MEER G, POORTHUIS BJHM, WIRTZ KWA, OP DEN KAMP JAF, VAN DEENEN LLM. Transbilayer distribution and mobility of phosphatidylcholine in intact erythrocyte membranes. A study with phosphatidylcholine exchange protein. Eur J Biochem 1980; 103:283-88.

80. VAN DEN BESSELAAR AMHP, DE KRUYFF B, VAN DEN BOSCH H, VAN DEENEN LLM. Phosphatidylcholine mobility in liver microsomal membranes. Biochim Biophys Acta 1978; 510: 242-55.

81. ZILBERSMIT DB, HUGHES ME. Phospholipid exchange between membranes. Biochim Biophys Acta 1977; 469:99-110.

82. DE KRUYFF B, VAN DEN BESSELAAR AMHP, VAN DEN BOSCH H, VAN DEENEN LLM. Inside-outside distribution and diffusion of phosphatidylcholine in rat sarcoplasmic reticulum as determined by carbon-13 NMR and phosphatidylcholine exchange protein. Biochim Biophys Acta 1979;

555:181-92.

83. HWANG DH, CARROLL AE. Decreased formation of prostaglandins derived from arachidonic acid by dietary linoleate in rats. Am J Clin Nutr 1980; 33: 590-97.

84. SANDRA A, PAGANO RE. Phospholipid asymmetry in LM cell plasma membrane derivates: Polar head group and acyl chain distributions. Biochemistry 1978;17:332-38.

85. BERKALOFF A, BOURGUET J, FAVARD P, LACROIX JC. Biología y Fisiología celular, Ed Omega. Barcelona 1982. vol 1, pg 125.

86. PAGANO RE, SLEIGHT RG. Emerging problems in the cell biology of lipids. TIBS 1985; 119:421-25.

87. WISCHUT J, HOEKSTRA D. Membrane fusion: from liposomes to biological membranes. TIBS 1984; 107:479-83.

88. OWEN JS, MC INTYRE N, GILLETT PT. Lipoproteins, cell membranes and cellular functions. TIBS 1984; 101:238-42.

89. SLEIGHT RG, PAGANO RE. Transport of a fluorescent phosphatidylcholine analog from the plasma membrane to the Golgi apparatus. J Cell Biol 1984; 99:742-51.

90. BISHOP WR, BELL R. Asembly of the endoplasmic reticulum phospholipid bilayer: the phosphatidylcholine transporter. Cell 1985; 42:51-60.

91. VOELKER DR, KENNEDY EP. Cellular and enzymic synthesis of sphingomyelin. Biochemistry 1982; 21:2753-59.

92. SURESH KJ. Inositol triphosphate: an intracellular messenger produced by Ca^{2+} mobilizing hormones. TIBS 1984;106:420-21.

93. VANCE DE, PELECH SL. Enzyme translocation in the regulation of phosphatidylcholine biosynthesis.

TIBS 1984; 97:17-20.

94. GALLI C. Advances in Nutritional Research (Draper, HH ed). Plenum Press, N.Y. 1980. vol 3, 95-126.

95. RITTENHOUSE-SIMMONS S. Production of diglyceride from phosphatidylinositol in activated human platelets. J Clin Invest 1979; 63:580-7

96. MAUCO G, CHAP H, DOUSTE-BLAZY L. Characterization and properties of a phosphatidylinositol phosphodiesterase (phospholipase C) from platelet cytosol. FEBS Lett 1979;100:367-9.

97. BROEKMAN MJ,WARD JW, MARCUS AJ. Phospholipid metabolism in stimulated human platelets. Changes in phosphatidylinositol, phosphatidic acid and lysophospholipids. J Clin Invest 1980; 66:275-83.

98. HAEST CWM. Interactions between membrane skeleton proteins and the intrinsic domain of the erythrocyte membrane. Biochim Biophys Acta 1982;694:331-42.

99. SAGAWA S, SHIRAKI K. Changes of osmotic fragility of red blood cell due to repletion or depletion of cholesterol in human and rat red cells in vitro. J Nutr Sci Vitaminol 1980;26:161-9.

100. MARINETTI GV, CATTIEN K. Asymmetric metabolism of phosphatidylethanolamine in the human red cell membrane. J Biol Chem 1982;257:245-8.

101. BOIVIN P. Les maladies héréditaires du squelette membranaire du globule rouge humain. Nouv Press Med 1982; 11:2347-51.

102. GARBARZ M, DHERMY D, BOIVIN P. Le cytosquelette du globule rouge humain: structure, fonctions anomalies. Pathol Biol 1981; 29:627-39.

103. LUX SE. Dissecting the red cell membrane skeleton.

Nature 1979; 281:426-9.

104. LIU SCD, PALEK J, PRCHAL J, CASTLEBERRY RP. Altered spectrin dimer-dimer association and inestability of erythrocyte membrane skeletons in hereditary pyropoi kilocytosis. J Clin Invest 1981; 68:597-605.

105. FRANCK PFH, OP DEN KAMP JAF, LUBIN B, BERENDSEN W, JOOSTEN P, BRIËT E, VAN DEENEN LLM, ROELOFSEN B. Abnormal transbilayer mobility of phosphatidylcholine in hereditary pyropoikilocytosis reflects the increased heat sensitivity of the membrane skeleton. Biochim Biophys Acta 1985; 815:259-67.

106. FRANCK PFH, BEVERS EM, LUBIN BH, COMFURIUS P, CHIU DT-Y, OP DEN KAMP JAF, ZWAAL RFA, VAN DEENEN LLM, ROELOFSEN B. Uncoupling of the membrane skeleton from the lipid bilayer. The cause of accelerated phospholipid flip-flop leading to an enhanced procoagulant activity of sickled cells. J Clin Invest 1985; 75:183-90.

107. HUI SW, STEWRT CM, CARPENTER MP, STEWART TP. Effects of cholesterol on lipid organization in human erythrocyte membrane. J Cell Biol 1980; 85:283-91.

108. GOTTLIEB MH. Rates of cholesterol exchange between human erythrocytes and plasma lipoproteins. Biochim Biophys Acta 1980; 600:530-41.

109. LANGE I, DOLDE J, STECK TL. The rate of transmembrane movement of cholesterol in the human erythrocyte. J Biol Chem 1981; 256:5321-3.

110. GIRAUD F, M'ZALI H, CHAILLEY B, MAZET F. Changes in morphology and in polyphosphoinositide turnover of human erythrocytes after cholesterol depletion. Biochim Biophys Acta 1984; 778:191-200.

111. CHILD P, OP DEN KAMP JAF, ROELOFSEN B, VAN DEENEN LLM.

Molecular species composition of membrane phosphatidylcholine influences the rate of cholesterol efflux from human erythrocytes and vesicles of erythrocyte lipid. Biochim Biophys Acta 1985; 814:237-46.

112. LANGE Y, MOLINARO AL, CHANCEY TR, STECK TL. On the mechanism of transfer of cholesterol between human erythrocytes and plasma. J Biol Chem 1983; 258:6920-26.

113. BRUCKDORFER KR, SHERRY MK. The solubility of cholesterol and its exchange between membranes. Biochim Biophys Acta 1984; 769:187-96.

114. CULLIS PR, HOPE MJ. The bilayer stabilizing role of sphingomyelin in the presence of cholesterol. A phosphorus-31 NMR study. Biochim Biophys Acta 1980; 597: 533-42.

115. BOROCHOV I, ABBOTT HRE, SCHACHTTER D, SHINITZKY M. Modulation of erythrocyte membrane proteins by membrane cholesterol and lipid fluidity. Biochemistry 1979; 18:251-5.

116. MUCZYNSKI KA, HARRIS WE, STAHL WL. Altering erythrocyte membrane composition with phospholipid exchange protein. Int J Biochem 1981; 13:959-62.

117. DISE CA, GOODMAN DBP, RASMUSSEN H. Definition of the pathway for membrane phospholipid fatty acid turnover in human erythrocytes. J Lipid Res 1980; 21:292-300.

118. SMITH NB, RUBINSTEIN D. Exchange of phosphatidylcholine between rabbit erythrocytes and plasma in vivo. Lipids 1981; 16(12):937-9.

119. RENOOIJ W, VAN GOLDE LMG, ZWAAL RFA, ROELOFSEN B, VAN DEENEN LLM. Preferential incorporation of fatty acid at the inside of human erythrocyte membranes. Biochim Biophys Acta 1974; 363:287-92.

120. DISE CA, GOODMAN DBP, RASMUSSEN H. Selective stimulation of erythrocyte membrane phospholipid fatty acid turnover associated with decrease cell volumen. J Biol Chem 1980; 255:5201-7.

121. RENOOIJ W, VAN GOLDE LMG. The exchange of phospholipids between rats erythrocytes and plasma, and the translocation of phosphatidylcholine across the red cell membrane, one temperature dependent processes. FEBS Lett 1976; 71:321-4.

122. SHIMAKATA T, MIHARA K, SATO R. Reconstitution of hepatic microsomal stearoyl-CoA desaturase system from solubilized components. J Biochem 1972; 72:1163-9.

123. HOLLOWAY TW. A requirement for the three protein components in microsomal stearoyl-CoA desaturation. Biochemistry 1971; 10:1556-60.

124. BRENNER RR. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. Prog Lipid Res 1981; 20:41-7.

125. PUGH EL, KATES M. The dietary regulation of acyltransferase and desaturase activities in microsomal membranes of rat liver. Lipids 1984; 19:48-55.

126. JONES CT, WAHLE KWJ. Aspects of lipids metabolism in the foetal, neonatal and adult monogastric mammal. Biochem Soc Trans 1980; 8:289-90.

127. BRENNER RR. Oxidative desaturation of unsaturated fatty acid in animals. Mol Cell Biochem 1974; 3:41-52.

128. BRENNER RR, PELUFFO RO. Effect of saturated and unsaturated fatty acids on the desaturation in vitro of palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acids. J Biol Chem 1966; 241:5213-6.

129. BRENNER RR, PELUFFO RO. Regulation of unsaturated

fatty acids of 18 carbons on the microsomal desaturation of linoleic acid into γ-linolenic acid. Biochim Biophys Acta 1969; 176:471-9.

130. SPRECHER H. Polyunsaturated fatty acids (Kunan WH, Holman RT eds). Am Oils Chem Soc, Champaign, IL 1977. 1-18.

131. CASTUMA JC, CATALA A, BRENNER RR, CHRISTIE W. Regulation of the biosynthesis of fatty acids of the oleic series by competitive reactions with unsaturated fatty acids microsomal 5-desaturase step. Acta Physiol Lat Am 1974; 24:37-45.

132. NERVI AM, BRENNER RR, PELUFFO RO. Effect of arachidonic acid on the microsomal desaturation of linoleic acid into γ-linolenic acid and their simultaneous incorporation into the phospholipids. Biochim Biophys Acta 1968; 152:539-51.

133. LANDS WEM. The essential fatty acids. Proc of the Miles Symposium (Hawkins WW eds). Miles Laboratories Ltd, Rexdale Ontario 1976. 15-28.

134. BERNERT JT Jr , SPRECHER H. Studies to determine the role, rates of chain elongation and desaturation play in regulating the unsaturated fatty acid composition of rat liver lipids. Biochim Biophys Acta 1975; 398: 354-63.

135. DE SCHRIJVER R, PRIVETT OS. Effects of dietary long-chain fatty acids on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in the rat. J Nutr 1982; 112:619-26.

136. DE SCHRIJVER R, PRIVETT OS. Hepatic fatty acids and acyldesaturases in rats: effects of dietary carbohydrate and essential fatty acids. J Nutr 1983; 113: 2217-22.

137. DE GOMEZ DUMM INT, DE ALANIZ MJT, BRENNER RR. Effect of dietary fatty acids on Δ^5 desaturase activity and biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes. Lipids 1983; 18:781-8.

138. MAHFOUZ MM, SMITH TL, KUMMEROW FA. Effect of dietary fats on desaturase activities and the biosynthesis of fatty acids in rat liver microsomes. Lipids 1984; 19:214-21.

139. HUANG YS, MANKU MS, HORROBIN DS. The effects of dietary cholesterol on blood and liver polyunsaturated fatty acids on plasma cholesterol in rats fed various types of fatty acid diet. Lipids 1984; 19:664-72.

140. MERCURI O, PELUFFO RO, DE TOMAS ME. Effect of different diets on the Δ^9-desaturase activity of normal and diabetic rats. Biochim Biophys Acta 1974; 369: 264-73.

141. WORCHESTER NA, BRUCKDORFER KR, HALLINAN T, WILKINS AJ, MAN JA. The influence of diet and diabetes on stearoyl-CoA desaturase (EC 1.14.99.5) activity and fatty acid composition in rat tissues. Br J Nutr 1979; 41: 239-52.

142. JEFFCOAT R, ROBERTS PA, JAMES AT. The control of lipogenesis by dietary linoleic acid and its influence on the deposition of fat. Eur J Biochem 1979; 101: 447-53.

143. ROMSOS DR, LEVEILLE GA. Effect of dietary fructose on in vitro and in vivo synthesis in the rat. Biochim Biophys Acta 1974; 360:1-11.

144. ROMSOS DR, LEVEILLE GA. Effect of diet on activity of enzymes involved in fatty acid and cholesterol synthesis. Adv Lipid Res 1974; 12:97-146.

145. VOLPE JJ, VAGELOS PR. Regulation of mammalian fatty acid synthetase. The roles of carbohydrate and insulin. Proc Natl Acad Sci USA 1974; 71:889-93.

146. JEFFCOAT R, JAMES AT. Interrelationship between the dietary regulation of fatty acid synthesis and the fatty acyl-CoA desaturases. Lipids 1977; 12:469-74.

147. ULLMAN D, SPRECHER H. An in vitro study of the effects of linoleic, eicosa-8,11,14-trienoic and arachidonic acids on the desaturation of stearic, oleic and eicosa-8,11-dienoic acids. Biochim Biophys Acta 1971; 248:61-70.

148. PUGH EL, KATES M, SZABO AG. Fluorescence polarization studies of rat liver microsomes with altered phospholipid desaturase activities. Can J Biochem 1980; 58: 952-8.

149. PUGH EL, KATES M, SZABO AG. Studies on fluorescence polarization of 1-acyl-2-cis or trans-parinaroyl sn-3 glycerophosphorylcholines in model systems and microsomal membranes. Chem Phys Lipids 1982; 30:55-69.

150. ACTIS DATO SM, CATALA A, BRENNER RR. Circadian rhythm of fatty acid desaturation in mouse liver. Lipids 1973; 8:1-6.

151. SVENSSON L. The effect of dietary partially hydrogenated marine oils on desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. Lipids 1983; 18:171-8.

152. DOMMES V, BAUMGART C, KUNAU WH. Degradation of unsaturated fatty acids in peroxisomes. Existence of a 2,4-dienoyl-CoA reductase pathway. J Biol Chem 1981; 256:8259-62.

153. BREMER J, NORUM KR. Metabolism of very long-chain monounsaturated fatty acids (22:1) and the adaptation

to their presence in the diet. J Lipid Res 1982; 23:243-56.

154. LANDS WEM, INOUE M, SUGIURA Y, OKUYAMA H. Selective incorporation of polyunsaturated fatty acids into phosphatidylcholine by rat liver microsomes. J Biol Chem 1982; 257:14968-72.

155. IRITANI N, NARITA R. Changes of arachidonic acid and n-3 polyunsaturated fatty acids of phospholipid classes in liver, plasma and platelets during dietary fat manipulation. Biochim Biophys Acta 1984; 793:441-7.

156. MOHRHAUER H, RAHM JJ, SEUFERT J, HOLMAN RT.

J Nutr 1971; 91:521-7.

157. SHIMP JL, BRUCKNER G, KINSELLA JE. The effects of dietary trilinoelaidin of fatty acid and acyl desatu rases in rat liver. J Nutr 1982; 112:722-35.

158. MARCUA AJ, BROCKMAN MJ, SAFIER LB, ULLMAN HL, ISLAM N. Formation of leukotriens and other hydroxi acids during platelet - neutrophil interactions in vitro. Biochem Biophys Res Comm 1982; 9:130-7.

159. CRAMER EB, POLOGE L, PAWLOWSKI NA, COHN ZA, SCOTT WA. Leukotriene C promotes prostacyclin synthesis by human endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80:4109-13.

160. CROSET M, LAGARDE M. Stereospecific inhibition of PGH_2 induced platelet agregation by lipoxygenase products of eicosaenoic acids. Biochem Biophys Res Comm 1983; 112:878-83.

161. BANG HO, DYERBERG J. Plasma lipids and lipoproteins in Greenland West Coast Eskimos. Acta Med Scand 1972;

192:85-94.

162. DYERBERG J, BAUG HO. A hypothesis on the deveolpment of acute myocardial infarction in Greenlanders. Scand J Clin Lab Invest 1982; 42:7-13.

163. NORDØY A, DAVENAS E, CIAVATTI M, RENAUD S. Effect of dietary (n-3) fatty acids on platelet function and lipid metabolism in rats. Biochim Biophys Acta 1985; 835:491-500.

164. LAGARDE M. BURTIN M, SPRECHER H, DECHEVANNE M, RENAUD S. Potentiating effect of 5,8,11-eicosatrienoic acid on human platelet aggregation. Lipids 1983; 18:291-4.

165. GOODNIGHT SH Jr, HARRIS WS, COUNOR WE, ILLINGWORTH DR. Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. Arteriosclerosis 1982; 2:87-113.

166. WHITAKER MO, WYCHE A, FITZPATRICK F, SPRECHER H, NEEDLEMAN P. Triene prostaglandins: Prostaglandin D_3 and eicosapentaenoic acid as potential antithrombotic substances. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:5919-23.

167. COREY EJ, SHIH C, CASHMAN JR. Docosahexaenoic acid is a strong inhibitor of prostaglandin but not leukotriene biosynthesis. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80:3581-5.

168. FISCHER S, WEBER PC. Thromboxane A_3 ($TX A_3$) is formed in human platelets after dietary eicosapentaenoic acid (C 20:5w3). Biochem Biophys Res Commun 1983; 116:1091-9.

169. FISCHER S, SCHACKY VC, SIESS W, STRASSER TH, WEBER PC. Uptake, release and metabolism of docosahexaenoic acid (DHA, C 22:6w3) in human platelets and neutrophils. Biochem Biophys Res Commun 1984; 120:907-8.

170. HOLME S, BROX JH, KRANE H, NORDØY A. The effect of

albumin bound polyunsaturated fatty acids on human platelets. Thrombos Haemostas 1984; 51:

171. NORDØY A, SVENSSON B, HOAK JC. The effects of albumin bound fatty acids on platelet inhibitory function of human endothelial cells. Europ J Clin Invest 1979; 9:5-10.

172. HAMBERG M, SVENSSON E, WAKABAYSKI T, SAMUELSSON B. Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that cause platelet aggregation. Proc Natl Acad Sci USA 1974; 71:345-51.

173. MONCADA S, GRYGLEWSKI R, BUNTING S, VANE JR. An enzyme isolated from artery transforms prostaglandin endoperoxides to a substance that inhibits platelet aggregation. Nature 1976; 263:663-7.

174. MASI I, GIANI E, GALLI C, TREMOLI E, SIRTORI CR. Diets rich in saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids differently affect plasma lipids, platelet and arterial wall eicosanoids in rabbits. Ann Nutr Metab 1986; 30:66-72.

175. AVOGADRO P, CAZZOLATO G, BITTOLO BON G, QUINCI GB. Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis?. Lancet 1979; 1:901-3.

176. WHAYNE TF, ALAUPOVIC P, CURRY ND, LEE ET, ANDERSON PS, SCHECHTER E. Plasma apolipoprotein B and VLDL-, LDL- and HDL-cholesterol as risk factors in coronary artery disease in male patients examinated by angiography. Atherosclerosis 1981; 39:411-24.

177. YUDKIN J. Diet and coronary thrombosis. Hypothesis and fact. Lancet 1957; 273:1-9.

178. CARROLL KK, HUFF MW, ROBERTS DCK. Dietary protein, hypercholesterolemia and atherosclerosis. Atheros-

clerosis IV (Schettler G, Goto Y, Hata Y & Klose G eds), Springer-Verlag, Berlin 1979. 445-8.

179. KRITCHEVSKY D, TEPPER SA, STORY JA. Nonnutritive fiber and lipid metabolism. J Food Sci 1975;40:8-13.

180. BHATTATHIRY EP, SIPERSTEIN MD. Feed back control of cholesterol synthesis in man. J Clin Invest 1963; 42:1613-7.

181. OCKNER RK, JONES AL. An electron microscopic and functional study of very low density lipoproteins in intestinal lymph. J Lipid Res 1970; 11:284-9.

182. BOQUILLON M, PARIS R, CLEMENT J. The effects of various dietary factors on the size distribution of lymph fat particles in the rat. Lipids 1977; 12:500-4.

183. GRUNDY SM. Effects of polyunsaturated fats on lipid metabolism in patients with hypertriglyceridemia. J Clin Invest 1975; 55:269-82.

184. KELLOG TF. Steroid balance and tissue cholesterol accumulation in germfree and conventional rats fed diets containing saturated and polyunsaturated fats. J Lipid Res 1974; 15:574-9.

185. MOORE RB, ANDERSON JT, TAYLOR HL, KEYS A, FRANTZ ID Jr. Effect of dietary fat on the fecal excretion of cholesterol and its degradation products in man . J Clin Invest 1968; 47:1517-34.

186. MC GOVERN RF, QUACKENBUSH FW. Influence of dietary fat on bile acid secretion of rats after portal injection of ^{3}H cholesterol and (4-^{14}C)cholesteryl esters. Lipids 1973; 8:473-8.

187. LEWIS B, PILKINGTON TRE, HOOD KA. A mechanism for the action of unsaturated fat in reducing the serum

cholesterol. Clin Sci 1961; 20:249-54.

188. COREY JE, NICOLOSI RJ, HAYES KC. Effects of dietary fat on cholesterol turnover in old and new world monkeys. Exper Mol Path 1976; 25:311-21.

189. HORROBIN DF, MANKU MS. How do polyunsaturated fatty acids lower plasma cholesterol levels?. Lipids 1983; 18:558-62.

190. HORROBIN DF. Pharmaceutical and dietary composition comprising gamma-linolenic acids. Med Hypotheses 1980; 6:785-800.

191. CARLSON LA, ERICSSON M. Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis. Part 1. Studies in healthy men and women. Atherosclerosis 1975; 21:417-33.

192. SLACK J, NOBEL N, MEADE TW, NORTH WRS. Lipid and lipoprotein concentrations in 1604 men and women in a working population in North-West London. Br Med J 1977; 2:353-6.

193. OSTER P, SCHLIERF G, HEUCK CC, HAHN S, SZYMANSKY H SCHELLENBREG B. Diet and high density lipoproteins. Lipids 1981; 16:93-7.

194. SCHAEFER EJ, LEVY RI, ERNST ND, VAN SANT FD, BREWER HB. The effects of a low cholesterol, high polyunsaturated fat, and low fat diet on plasma lipid and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. Am J Clin Nutr 1981; 34:1758-63.

195. MENG HT, DICKINSON MA, ALBERS JJ, HAVEL RJ, CHEUNG MC, VIGNE JL. The effect of a high cholesterol and saturated fat diet on serum high-density lipoprotein-cholesterol, apoprotein A-I, and apoprotein E levels in normolipidemic humans. Am J Clin Nutr

1980;33:2559-65.

196. APPLEBAUM-BOWDEN D, HAZARD WR, CAIN J, CHEUNG MC, KUSHWAHA RS, ALBERS JJ. Short-term egg yolk feeding in humans: increase in apolipoprotein B and low density lipoprotein cholesterol. Atherosclerosis 1979; 33:385-96.

197. LUTTON C, MAGOT T, MATHE JC, SULPICE F, CHEVALLIER F. Influence des acides gras à chaîne courte ou moyenne sur la dynamique du cholestérol chez le rat. Ann Nutr Metab 1983; 27:162-71.

198. HEISS G, TAMIR I, DAVIS CE, TYROLER HA, RIFKIND BM, SCHONFELD G, JACOBS D, FRANTZ ID Jr. Lipoprotein-cholesterol distributions in selected North American populations: the Lipid Research Clinics Program Prevalence study. Circulation 1980; 61:302-15.

199. RASMUSSEN EW, HOSTMARK AI. Age-related changes in the concentration of plasma cholesterol and triglycerides in two groups of rats with inherited widely different levels of spontaneous physical activity. Cir Res 1978; 42:598-603.

200. KRITCHEVSKY D, TEPPER SA. Influence of fatty acids on serum and liver cholesterol. Am J Physiol 1964; 207:631-42.

201. MALHOTRA S, KRITCHEVSKY D. The distribution and lipid composition of ultracentrifugally separated lipoproteins of young and old rat plasma. Mech Ageing Develop 1978; 8:445-50.

202. DUPONT J, SPINDLER AA, MATHIAS MM. Dietary fat saturation and cholesterol and fatty acid synthesis in aging rats. Age 1978; 1:93-7.

203. KRITCHEVSKY D. Age-related changes in lipid metabolism. Proc Soc Exp Biol Med 1980; 165:193-9.

204. BOTTCHER CJF. Drugs affecting lipid metabolism. (Garattini S and Paoletti R, eds), pag 54. Elsevier, Amsterdam. 1961.

205. SMITH EB. Influence of age and atherosclerosis on the chemistry of aortic intima lipids. J Atheroscler Res 1965; 5:224-9.

206. DURY A. Lipolytic activity of aorta of young and old rats and influence of heparin in vivo. J Geron tol 1961; 16:114-7.

207. GIBSON RA, MC MURCHIE EJ, CHARNOCK JS, KNEEBONE GM. Homeostatic control of membrane fatty acid composition in the rat after dietary lipid treatment. Lipids 1984; 19:942-51.

208. JEFFCOAT R, BROWN PR, SAFORD R, JAMES AT. Properties of rat liver microsomal stearoyl-CoA desaturase. Biochem J 1977; 161:431-6.

209. ROSHANAI F, SANDERS TAB. Influence of different supplements of n-3 polyunsaturated fatty acids on blood and tissue lipids in rats receiving high intakes of linoleic acid. Ann Nutr Metab 1985; 29:189-96.

210. HOLMAN RT. Essential fatty acid deficiency . Progress in the chemistry of fats and other lipids. Ed Holman RT, Pergamon Press, Oxford, 1971. vol IX pag 279.

211. TINOCO J, BABCOCK R, HINCENBERGS I, MEDWADOWSKI B, MILJANICH P. Linolenic acid deficiency: changes in fatty acids patterns in female and male rats raised on a linolenic acid-deficient diet for two generations. Lipids 1978; 13:6-17.

212. HOLMAN RT, JOHNSON SB, HATCH TF. A case of human

linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. Am J Clin Nutr 1982; 35:617-23.

213. LAMPTEY MS, WALTER BL. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. J Nutr 1976; 106:86-93.

214. TINOCO J, BABCOCK R, HINCENBERGS I, MEDWADOWSKI B, MALJANICH P, WILLIAMS MA. Linolenic acid deficiency. Lipids 1979; 14:167-73.

215. MOSES MS, CRAIG WJ. Effects of dietary fat on the fatty acid composition of rat erythrocyte phospholipids. Nutrition Reports Intern 1983; 28:983-90.

216. NEELANDS PJ, CLANDININ MT. Diet fat influences liver plasma-membrane lipid composition and glucagon-stimulated adenylate cyclase activity. Biochem J 1983; 212: 573-83.

217. HØY CE, HØLMER G, KAUR N, BYRJALSEN I, KIRSTEIN D. Acyl group distributions in tissue lipids of rats fed evening primrose oil (γ-linolenic plus linoleic acid) or soybean oil (α-linolenic plus linoleic acid). Lipids 1983; 18:760-71.

218. SANDERS TAB, NAISMITH DJ. The metabolism of α-linolenic acid by the foetal rat. Br J Nutr 1980; 44:205-8.

219. SWELL L, FIELD H, TREADWELL CR. Correlation of arachidonic acid of serum cholesterol esters in different species with susceptibility to atherosclerosis. Proc Soc Exp Biol Med 1960; 104:325-8.

220. IRITANI N, FUJIKAWA S. Competitive incorporation of dietary w-3 and w-6 polyunsaturated fatty acids into the tissues phospholipids in rats. J Nutr Sci Vitaminol 1982; 28:621-9.

221. KUNIMOTO M, KAYA R, MIURA T. Composition and metabolism of fatty acids in phospholipids of density-separated red cells of rats. Lipids 1984; 19:443-8.

222. DHAMI MSI, DE LA IGLESIA FA, FEUER G. Phospholipids in the developing rat liver: fatty acid content and composition. Res Comm Chem Pathol Pharmacol 1981; 33:319-29.

223. AKESSON B. Composition of rat liver triacylglycerols and diacylglycerols. Eur J Biochem 1969; 9:463-77.

224. WOOD R, HARLOW RD. Structural studies of neutral glycerides and phosphoglycerides of rat liver. Arch Biochem Biophys 1969; 131:495-501.

225. STERN W, PULLMAN ME. Regulation of the composition and positioning of saturated and monoenoic fatty acids in phosphatidylcholine. J Biol Chem 1983; 258:11128-35.

226. MARSHALL LA, JOHSTON PV. Modulation of tissue prostaglandin synthesizing capacity by increased ratios of dietary alpha-linolenic acid to linoleic acid. Lipids 1982; 17:905-13.

227. LOPEZ JURADO M. Evolución de la utilización nutritiva de la proteína en ratas y su repercusión sobre el desarrollo fetal durante la gestación normal y con tratamiento con acetato de hidrocortisona.Tesis Doctoral, 1984.

228. BARR Committee on Animal Nutrition. 1972, revised. Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Natio Academy of Sciences, Washington, D.C. 117 pp.

229. HANAHAN DJ, EKHOLM JE. The preparation of red cell ghosts. Methods in enzymology (Fleischer S, Packer L eds.) 1974. Academic Press, New York and London.

vol XXXI, part A, pag 168-172.

230. PHILIPP BW, SHAPIRO DJ. Improved methods for the assay and activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. J Lipid Res 1979; 20:588-93.

231. HAAN GJ, VAN DER HEIDE S, WOLTHERS BG. Analysis of fatty acids from human lipids by gas chromatography. J Chromatogr 1979; 162:261-7.

232. SKIPSKI VP, BARCLAY M. Thin layer chromatography of lipids. Methods in enzimology. Lowenstein JM ed. Academic Press, New York and London 1969, vol XIV, lipids pag 548-50.

233. VITIELLO F, ZANETTA JP. Thin-layer chromatography of phospholipids. J Chromatogr 1978; 166:637-40.

234. MORRISON WR, SMITH LM . Preparations of fatty acids methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride methanol. J Lipid Res 1964; 5:600-7.

235. FISKE GH, SUBBAROW YL. J Biol Chem 1925; 65:375.

236. BARTLETT GR. Phosphorus assay in column chromatography. Biol Chem 1959; 234:466- 70.

237. ROSCHLAU P, BERNT E, GRUBER W. Cholesterol and esterified cholesterol. Methods of enzymatic analysis Bergmeyer HU ed. Academic Press, New York 1974. vol 4, pag 1990.

238. OTT PL, BIUGGELI Y, BRODBACK UA. A rapid and sensitive assay for determination of cholesterol in membrane lipid extracts. Biochim Biophys Acta 1982; 685:211-7.

239. LOWRY OH, ROSE BROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193:265-72.

240. VAN MEER G. The lipid bilayer of the ER. TIBS 1986; 125:194-5.

241. WINNER BJ. Stadistical principles in experimental design. Mc Graw Hill Book Company. New York, 1971.

242. WAHLE KWJ. Fatty acid modification and membrane lipids. Proc Nutr Soc 1983; 42(2):273-87.

243. SANDERS TAB, NAISMITH DJ. A comparison of the influence of breast-feeding and bottle-feeding on the fatty acid composition of the erythrocytes. Br J Nutr 1979; 41:619-23.

244. SHOHET SB, NATHAN DG. Incorporation of phosphatide precursors from serum into erythrocytes. Biochim Biophys Acta 1970; 202:202-5.

245. SHOHET SB. Release of phospholipid fatty acid from human erythrocytes. J Clin Invest 1970; 49:1668-78.

246. PERCY AK, SCHNELL E, EARLES BJ, LENNARZ WJ. Phospholipid biosynthesis in the membranes of immature and mature red blood cells. Biochemistry 1973; 12:2456-61.

247. FLICK PK, CHEN J, VAGELOS PR. Effect of dietary linoleate on synthesis and degradation of rat liver fatty acid synthethase. J Biol Chem 1977; 252:4242-8.

248. FLICK PK. Rapid changes in rat liver fatty acid composition during fat-free and polyunsaturated fat feeding. Nutr Rep Int 1981; 24:667-74.

249. MUTO Y, SHINOHARA N, BANPHOTKASEM S, IITOYO N, HOSAYA N. Effect of exogenous polyunsaturated fatty acids on lipogenic enzyme activity in rat liver under fixed carbohydrate consumption. J Nutr Sci Vitaminol 1975; 21:39-47.

250. ABRAHAM S, HILLYARD LA, LIN CY, SCHWARTZ RS. Effect of specific dietary fatty acids on lipogenesis in

the livers and mammary glands of lactating mice. Lipids 1983; 18:820-9.

251. HERZBERG GR, JANMOHAMED N. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary maize oil or tripalmitin in the meal-fed mouse. J Nutr 1980; 43:571-9.

252. FERNANDO-WARNAKULASURIYA GPI, STAGGERS JE, FROST SC, WELLS MA. Studies on fat digestion, absorption, and transport in the suckling rat. Fatty acid composition and concentrations of major lipid components. J Lipid Res 1981; 22:668-74.

253. SANCHEZ DEL CASTILLO MT. Determinación de actividad Δ^9 desaturasa de ácidos grasos en microsomas hepáticos de rata y cambios de actividad inducidos por diferentes dietas lipídicas. Tesina de licenciatura.Facultad de Farmacia. Granada.

254. REISER R, WILLIAMS MC, SORRELS MF, MURTY NL. Bio — synthesis of fatty acids and cholesterol as related to diet fat. Arch Biochem Biophys 1963; 102:276-85.

255. KRITCHEVSKY D, TEPPER SA. Influence of medium-chain triglyceride (MCT) on cholesterol metabolism in rats. J Nutr 1965; 86:67-72.

256. GÖRANSSON G. The metabolism of fatty acids in the rat. V. Palmitoleic acid. Acta Physiol Scand 1965; 68:428-33.

257. KALOPISSIS A. GRIGLIO S, MALEWIAK MI, ROZEN R, LE LIEPURE X. Very-low-density-lipoprotein secretion by isolated hepatocytes of fat-fed rats. Biochem J 1981; 198:373-7.

258. GOHEEN SC, LARKIN EC, RAO A. Separate pools of dyacylglycerol for phospholipid and triacylglycerol synthesis in rat liver. IRCS Med Sci 1982; 10:116-9.

259. RAO GA, SILER K, LARKIN EC. A possible role of erythrocytes in storing and distributing arachidonic acid in rat. Life Sci 1978; 23:737-42.

260. NEERHOUT RC. Erythrocyte lipds in the neonate. Pediat Res 1968; 2:172-8.

261. TINOCO J. Dietary requirements and functions of α-linolenic acid in animals. Proc Lipid Res 1982; 21:1-45.

262. HORNSTRA G, HADDEMAN E, TEN HOOR F. Fish oils, prostaglandins and arterial thrombosis. Lancet 1980; 2:1080-7.

263. NEEDLEMAN P, RAZ A, MINKES MS, FERRENDELLI JA, SPRECHER H. Triene prostaglandins: prostacyclin and thomboxane biosynthesis unique biological properties. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:944-8.

264. SVERNNERHOLM L. Distribution of phosphoglycerides in normal human brain. J Lipid Res 1968; 9:570-9.

265. BOURRE JM, CHANEZ C, DUMONT O, DURAND G, FAIVRE A, NOUVELOT A, PASCAL G, DICIOTTI M. Importance specifique des acides gràs polyunsaturès alimentaires de la serie n-3 dans l'elaboration des membranes du système nerveux. Reprod Nutr Dèvelop 1985; 25:335-40.

266. RUDIN DO. The major psychoses and neuroses as omega 3 esential fatty acid deficiency syndrome: substrate pellagra. Biol Psychiatry 1981; 16:837-50.

267. FIENNES RN, SINCLAIR AJ, CRAWFORD MA. Essential fatty acid studies in primates: linolenic acid requirement of capuchins. J Med Prinatol 1973; 2:155-69.

268. CICCOLI L, COMPORTI M. Variations of fatty acid composition of erythrocyte and plasma lipids in the rat during the first period of life. Lipids 1983; 18:363-70.

269. KURATA N, PRIVETT OS. Effect of dietary fatty acid composition on the biosynthesis of unsaturated fatty acid in rat liver microsomes. Lipids 1980; 15:512-8.

270. ACTIS DATO SM, BRENNER RR. Comparative effects of docosa-4,7,10,13,16-pentaenoic and docosa-4,7,10,-13,16,19-hexaenoic acid on the desaturation of linoleic and ∝-linolenic acid. Lipids 1970; 5:1013-5.

271. HOLUB BJ. Differential utilization of 1-palmitoyl and 1-stearoyl homologues of various unsaturated 1,2-diacyl-sn-glycerols for phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine synthesis in rat liver microsomes. J Biol Chem 1978; 253:691-6.

272. SCHELENK H, GELLERMAN JL, SAND DM. Retroconversion of polyunsaturated fatty acids in vivo by partial degradation and hydrogenation. Biochim Biophys Acta 1969; 187:201-7.

273. KRIS-ETHERTON PM, HO CY, FASMIRE MA. The effect of dietary fat saturation on plasma and hepatic lipoproteins in the rat. J Nutr 1984; 114:1675-82.

274. ALLING C, BRUCE A, KARLSSON I, SVENNERHOLM L. Effect of different dietary levels of essential fatty acids on liver and serum lipids in the rat. Nutr Metab 1976; 20:440-51.

275. ROBBLEE NM, CLANDININ MT. Effect of dietary fat level and polyunsaturated fatty acid content on the phospholipid composition of rat cardiac mitochondrial membranes and mitochondrial ATPase activity. J Nutr 1984; 114:263-9.